

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

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



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

*Option : Génie Biologique*

*Thème*

*RECHERCHE DES EFFETS TOXIQUES DE  
L'ACETAMIPRIDE SUR LE FOIE ET LES POUMONS CHEZ  
DES SOURIS FEMELLES*

*Présenté par :*

*M<sup>lle</sup> Abdelaziz Insaf                      et                      M<sup>lle</sup> Bencherchali Kawther*

*Soutenu le 17.09.2016 à 9h00*

*Devant le jury composé de :*

|                      |                              |            |                     |
|----------------------|------------------------------|------------|---------------------|
| <i>Mme Chakhma A</i> | <i>Maitre Assistante</i>     | <i>UB1</i> | <i>Présidente</i>   |
| <i>Mme ROUAKI F.</i> | <i>Maitre de conférences</i> | <i>UB1</i> | <i>Examinatrice</i> |
| <i>Mme SAADI L</i>   | <i>Maitre de Conférences</i> | <i>UB1</i> | <i>Promotrice</i>   |

*Promotion : 2015-2016*

# Remerciements

*Nous tenons tout d'abord à remercier **ALLAH** le tout puissant, qui nous a donné la force et la patience et la volonté afin de mener à terme ce travail.*

*Nous exprimant notre gratitude :*

*A Madame , **SAADI L.**, Maître de Conférences au Département de Biologie et Physiologie Cellulaire qui a bien voulu nous proposer ce sujet et nous orienter tout au long de sa réalisation. Qu'elle accepte nos sincères remerciements, hommage respectueux.*

*A Madame **CHAKHMAA.**, Maître Assistante au Département de Biologie et Physiologie Cellulaire pour avoir accepté de juger ce travail et participer à ce jury en qualité présidente.*

*A Madame **Rouakí F.**, Maître de conférences au Département de Biologie et Physiologie Cellulaire qui a accepté l'examen de notre travail.*

*Nous remercions vivement :*

*Monsieur **ABDELALI M.**, Professeur au service de Cytologie au CHU **N'FFISA HAMOUD** à Alger, qui a bien voulu nous accueillir au sein du laboratoire de cytologie pour la réalisation de la technique histologique.*

*A Monsieur le coordinateur **MERASLI**, de l'hôpital de koléa, et pour toutes l'équipe de cet labo d'anatomie.*

*Le personnel du Laboratoire d'analyses biochimiques du docteur **KHATIB** à Blida.*

*Tous ceux qui ont aidés, soutenus, et encouragés pour la réalisation de ce modeste travail.*

# DEDICACES

*Je dédie ce mémoire*

*A mon papa, qui peut être fier de moi. Papa, a travers ce mémoire, tu retrouveras le résultat de longues années de sacrifices et de privation pour m'aider a avancer dans mes études. Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi mon très cher papa. Que dieu te protège.*

*A ma mère pour sa confiance, son soutien moral et physique, son amour et tous ses sacrifices consentis et pour son assistance et sa présence dans ma vie.*

*A mon cher frère Tahar*

*A toute ma famille*

*Et à mes amies.*

*Insaf*

# *je dédie ce mémoire*

*A ma très chère mère*

*Affable, honorable, aimable : Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte. Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.*

*A mon cher Père*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.*

*A ma petite sœur Chérie Khdaoudj, je te souhaite une bonne continuation.*

*A mon très cher frère zizou , Je t'exprime à travers ce travail mes sentiments de fraternité et d'amour.*

*A mes grands parents et mon oncle, qui m'ont toujours soutenue et épaulée dans la vie ainsi que tout le long de mon cursus scolaire.*

*A tous mes cousins, amis et tous ceux que j'aime.*

*Sans oublier ma chère binôme insaf .*

*Kawther*

## RESUME

L'acétamipride, membre de la famille des néonicotinoïdes, est la matière active la plus utilisée pour améliorer la productivité et lutter contre les ravageurs en Algérie. Cependant, cet insecticide présente une toxicité non seulement chez les insectes mais également chez les autres animaux. Dans ce contexte, nous nous sommes intéressées dans notre travail par la recherche des effets néfastes de 1/20DL50 d'acétamipride administré quotidiennement par voie orale chez des souris femelles. Afin d'atteindre cet objectif, une étude histologique des parenchymes hépatique et pulmonaire et un dosage plasmatique des transaminases ainsi que la bilirubine totale sont réalisés chez des souris témoins et traitées après 20 jours d'expérimentation.

Le suivi du poids corporel des souris a montré une légère augmentation statistiquement non significative du poids des traités par rapport aux témoins. Les résultats des dosages biochimiques ont montrés une légère diminution du taux de l'aspartate aminotransférase et l'alanine aminotransférase, ainsi qu'une légère augmentation du taux de la bilirubine totale. Ces changements restent statistiquement non significatifs. A l'échelle structurale, le foie a montré des signes d'inflammation témoignés par une désorganisation architecturale, une congestion sanguine, des infiltrations cellulaires, une vacuolisation du cytoplasme et une hypertrophie hépatocytaire. Au niveau des poumons, les altérations sont plus ou moins importantes : épaissement des cloisons inter alvéolaires, réduction du diamètre des sacs alvéolaires et des alvéoles et installation d'une congestion sanguine.

D'après ces résultats, nous pouvons conclure que la 1/20DL50 d'acétamipride a des effets toxiques chez les souris femelles. Cette dose entraîne une hépatotoxicité et une pneumotoxicité au niveau cellulaire. La dose expérimentale non toxique d'acétamipride chez les souris femelles reste à rechercher.

**Mots clés :** Acétamipride ; DL50 ; Toxicité ; Dose expérimentale non toxique ; Souris femelles.

## ABSTRACT

The acetamipride, a member of the family of neonicotinoides, is the active material the most used to improve the productivity and fight against pests in Algeria. However, this insecticide presents a toxicity not only to insects but also to other animals.

In this context, we are interested in our work by looking for the adverse effects of 1 / 20DL50 acetamiprid administered daily orally in female mice. To achieve this, a histological study of the hepatic and lung parenchymes and a dosage plasmatic transaminases as well as total bilirubin are made in control and treated mice after 20 days of experimentation.

Monitoring the body weight of mice showed a slight increase statistically significant weight of treated versus controls. The results of biochemical assays have shown a slight decrease in aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase and a slight increase in the rate of total bilirubin.

These changes are statistically insignificant. At the structural level, the liver showed signs of inflammation testified by architectural disorganization, blood congestion, cellular infiltration, cytoplasmic vacuolization and hepatocyte hypertrophy. In the lungs, the alterations are more or less important: thickening of the walls inter-cellular, reducing the diameter of the alveolar sacs and alveoli and installation of a blood congestion.

From these results, we can conclude that the 1 / 20DL50 acetamiprid has toxic effects in female mice. This dose causes a hepatotoxicity and pneumotoxicity at the cellular level. Nontoxic experimental dose acetamiprid in female mice remains to be ascertained.

Keywords: Acetamiprid; LD50; toxicity; Experimental nontoxic dose; female mice.+

## ملخص

أسيتامبريد ، ينتمي لعائلة النيكوتينويد ، يستخدم لتحسين الإنتاجية ومكافحة الحشرات الضارة في الجزائر . ومع ذلك، فإن لهذا المبيد الحشري سمية ليس فقط على الحشرات ولكن أيضا على غيرها من الحيوانات.

و في هذا السياق ، نحن مهتمون في عملنا هذا بالبحث عن الآثار السلبية ل 1/20 ج م 50 من أسيتامبريد ماخوذة يوميا عن طريق الفم على فئران اناث. ولتحقيق ذلك ، قمنا بإجراء دراسة نسيجية للكبد و الرئتين و فحص مستوى الترانساميناسات و البيليروبين في البلازما لفئران شاهدة و فئران تجريبية بعد المعالجة لمدة 20 يوم .

ان استعمال المبيدات الحشرية ضروري لزيادة جودة المنتجات الزراعية و في غياب هذه المواد 30 إلى 40 بالمائة من المحاصيل الزراعية تتلف عن طريق الامراض او الحشرات عبر العالم . لكن تأثير هذه المواد على البيئة و على الكائنات الحية اصبح مصدر قلق عالمي. و في هذا الاطار نقترح دراسة الآثار السلبية لمبيد حشري الاسيتامبريد المستعمل في الجزائر على مستوى النسيج الكلوي و النسيج الطحالي و على مستوى بعض التحاليل البيوكيميائية عند فئران اناث بالغة

قسمت الفئران الى قسمين فئران شاهدة (ن=6) اعطت لها نفس الجرعة من الماء المقطر فقط يوميا لمدة 15 يوم بينما الفئران التجريبية (ن=8) اعطت لها 9.2 مغ/كغ/يوم من الاسيتامبريد في نفس الفترة الزمنية

قتلت الحيوانات عن طريق الخلع الرقيبي ،بعدها تم جمع الدم لتحديد مستويات القياسات البيوكيميائية (اليوريا والكرياتينين )و تم إزالة أجزاء من الكلى والطحال لتحقيق الدراسة النسيجية. ادى تناول المبيد الحشري الى ظهور عدة تغيرات نسيجية على المستوى الخلوي و خصيصا على مستوى الكلى تتضح من خلال ضمور الكبيبة و تغير هيكله الانابيب الملتفة القريبة و البعيدة و تعدد البؤر النزفية. كما تتجسد هذه التغيرات في تضخم اللب الابيض اندماج العقيدات البؤر النزفية و اضمحلال الخلايا اللمفاوية على مستوى النسيج الطحالي . اضافة الى ارتفاع طفيف في مستوى التراكيز البلازمية كرياتينين و انخفاض طفيف في مستوى اليوريا على عكس الوزن الذي سجل ارتفاع ملحوظ حسابيا.

انطلاقا من النتائج المتحصل عليها اتضح ان مبيد الاسيتامبريد ذو سمية على المستوى الخلوي و الجزيئي لدى فئران اناث بالغة.

الكلمات المفتاحية الاسيتامبريد سمية عن طريق الفم. الوظيفة الكلوية، الطحال، التشريح المرضي. الجرعة المميتة. اناث فئران بالغات.

## LISTE D'ABREVIATION

ACE : acétamipride

ALAT : alanine amino transférase

ASAT : aspartate amino transférase

DJA : dose journalière admissible

DL50 : dose létale pour tuer 50 % de la populations

GOT : GlutamateTransaminase

GPT : Glutamyl-PyruvateTransaminase

H.E : l'hématoxyline-éosine

LDH : lactate déshydrogénase

MDH : malate déshydrogénase

nAChR : récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine

PAL : phosphatase alcaline

Xn : nocif

$\gamma$ GT : la gamma-glutamyl transférase

# Liste des tableaux

| <b>tableau</b> | <b>Titre</b>  | <b>page</b> |
|----------------|---|-------------|
| <b>I</b>       | <b>Caractéristiques générales des substances désignées sous le terme « néonicotinoïdes », d'après le portail substance chimique de l'INERIS1 , AGRITOX3 , the Pesticide Manual.,2006 et sigma-aldrich .</b> | <b>1</b>    |
| <b>II</b>      | <b>Principales caractéristiques physicochimiques et réglementaires de l'acétamipride employé en agriculture.</b>  | <b>3</b>    |
| <b>III</b>     | <b>composition de l'alimentation.</b>   | <b>1</b>    |
| <b>IV</b>      | <b>Étapes de dosage du taux de la bilirubine</b>  | <b>17</b>   |
| <b>V</b>       | <b>Evolution de la masse corporelle des souris témoins au cours des semaines.</b>   | <b>3</b>    |
| <b>VI</b>      | <b>Evolution de la masse corporelle des souris traités au cours des semaines.</b>   | <b>3</b>    |
| <b>VII</b>     | <b>Concentration de certains paramètres biochimiques chez les souris témoins.</b>   | <b>3</b>    |
| <b>VIII</b>    | <b>Concentration de certains paramètres biochimiques chez les souris traitées.</b>  | <b>3</b>    |

## LISTE DES FIGURES

| <b>Figures</b> | <b>Titre</b>  | <b>Page</b> |
|----------------|---|-------------|
| <b>1</b>       | <b>Architecture tridimensionnelle du parenchyme hépatique chez les mammifères.</b>  | <b>6</b>    |
| <b>2</b>       | <b>Structure des poumons.</b>   | <b>8</b>    |
| <b>3</b>       | <b>Evolution du poids corporels des souris femelles témoins et traitées par 1/20 DL 50 de l'acétamipride.</b>   | <b>19</b>   |
| <b>4</b>       | <b>Effet de l'acétamipride sur le taux plasmatique de l'aspartate aminotransférase (UI/L) chez des souris femelles témoins et traitées.</b>   | <b>20</b>   |
| <b>5</b>       | <b>Effet de l'acétamipride sur le taux plasmatique de l'alanine aminotransférase (UI/L) chez des souris femelles témoins et traitées.</b>   | <b>21</b>   |
| <b>6</b>       | <b>Effet de l'acétamipride sur le taux de la bilirubine (mg/l) chez des souris femelles témoins et traitées.</b>  | <b>21</b>   |
| <b>7</b>       | <b>Structure du parenchyme hépatique chez la souris témoin, Coloration: HE; Grossissement: x100 (a) ; x400 (b, c, d).</b>   | <b>23</b>   |
| <b>8</b>       | <b>Structure du parenchyme hépatique chez les souris témoins (a) et traités par 1/20 DL50 d'acétamipride (b, c et d).<br/>Coloration : HE (a, c et d) et Trichrome de Masson (b) ;<br/>Grossissements : x100 (a et b) et x400 (c et d).</b> | <b>24</b>   |
| <b>9</b>       | <b>Structure du parenchyme hépatique chez les souris témoin (a) et traités par 1/20 DL50 d'acétamipride (b et c).<br/>coloration : HE (a) et trichrome de Masson (b et c);<br/>grossissement x400 (a, b et c)</b>                           | <b>25</b>   |
| <b>10</b>      | <b>Structure du parenchyme hépatique chez les souris traités par 1/20 DL50 d'acetamipride (a, b, c, et d)<br/>coloration HE ; grossissement x400</b>  | <b>26</b>   |
| <b>11</b>      | <b>Structure du parenchyme hépatique chez les souris témoin (a) et traités par 1/20 DL50 d'acétamipride (b et c).<br/>Coloration : HE (a et b) et trichrome de Masson (c);<br/>grossissement x400 (a, b et c).</b>                          | <b>27</b>   |
| <b>12</b>      | <b>Structure du parenchyme hépatique chez les souris témoin (a) et traités par 1/20 DL50 d'acétamipride (b et c).</b>   | <b>28</b>   |

|           |  |           |
|-----------|--|-----------|
|           | <b>Coloration : HE (a et b) et trichrome de Masson (c);<br/>grossissement x400 (a, b et c).</b>  |           |
| <b>13</b> | <b>Structure du parenchyme pulmonaire chez les souris<br/>femelles témoins.<br/>Coloration : Trichrome de Masson: (a et b) ; H.E: (c).<br/>Grossissements : x400(a, b et c).</b>         | <b>30</b> |
| <b>14</b> | <b>Structure du parenchyme pulmonaire chez les souris<br/>femelles traitées.<br/>Coloration : Trichrome de Masson: (a) ; H.E: (b, c et d).<br/>Grossissements : x400 (a, b, c et d).</b> | <b>31</b> |

# SOMMAIRE

|   |    |
|---|----|
| <b>INTRODUCTION</b> .....   | 1  |
| <b>CHAPITRE I : RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES</b>                        |    |
| I.1.GENERALITES SUR L'ACETAMEPRIDE.....                             | 3  |
| I.1.1. Caractéristiques physico chimiques.....                      | 3  |
| I.1.2. Toxicocinétique de l'Acétamipride.....                       | 4  |
| I.1.3. Utilisation de l'acétamipride.....                           | 4  |
| I.1.4. Principales voies d'exposition .....                         | 4  |
| I.1.5. Toxicité et mode d'action.....                               | 6  |
| I.2. GENERALITES SUR CERTAINS ORGANES CHEZ LES MAMMIFERES           |    |
| I.2.1. Structure et fonction du foie.....                           | 6  |
| I.2.2. Structure et pneumotoxicité.....                             | 8  |
| <b>CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES</b>                           |    |
| II.1. MATERIEL .....  | 11 |
| II.1.1. Animaux .....   | 11 |
| II.1.2. Insecticides .....  | 11 |
| II.1.3. Appareillage et réactifs .....                              | 12 |
| II.2. METHODES  |    |
| II.2.1. Expérimentation .....                                       | 12 |
| II.2.2. Sacrifice des animaux et prélèvement des échantillons ..... | 13 |
| II.2.3. Etude histologique.....                                     | 13 |
| II.2.4. Dosage des enzymes hépatiques.....                          | 15 |

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

### **III. RESULTATS**

|   |           |
|---|-----------|
| III.1.Evolution du poids corporel.....          | 19        |
| III.2.Evolution des taux des transaminases..... | 19        |
| III.3.Evolution du taux de la bilirubine.....   | 19        |
| III.4.Etude histologique .....                  | 22        |
| III.4.1.parenchyme hépatique .....              | 22        |
| III.4.2.parenchyme pulmonaire.....              | 29        |
| III.2. DISCUSSION .....                         | 32        |
| <b>CONCLUSION ET PERSPECTIVES .....</b>         | <b>34</b> |
| <b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....</b>        | <b>35</b> |

### **ANNEXES**

# *INTRODUCTION*

## INTRODUCTION

Les insecticides chimiques sont des produits spécifiquement fabriqués pour tuer ou repousser des organismes entrant en compétition avec les plantes cultivées (RECA, 2013). Leur usage répand de plus en plus avec le développement de l'agriculture (Bouziani, 2007), en réduisant les pertes dues aux ravageurs des cultures, mais cela n'a pas été sans contrepartie (Bourbia-Ait Hamlet., 2012). Les insecticides peuvent exercer leur impact sur les vertébrés soit directement, par leur toxicité, soit indirectement, en réduisant la ressource alimentaire (Gibbons et al., 2014).

Selon un communiqué de presse de la FAO (2001), environ 30% des pesticides commercialisés dans les pays en voie de développement ne sont pas conformes aux standards de qualité internationaux, car ils contiennent beaucoup d'impuretés très toxiques (Bourbia-Ait Hamlet, 2012). Les effets directs peuvent être le résultat de plusieurs et différentes voies d'exposition : par contact cutané, par ingestion ou par inhalation (Bourbia-Ait Hamlet, 2012).

Parmi les insecticides les plus utilisés au monde sont ceux de la famille des néonicotinoïdes (Gibbons et al., 2014) grâce à leur large spectre d'activité et leur mode d'action systémique (Maienfisch et al., 2001). Ils sont appelés ainsi à cause de leur mode d'action neurotoxique, car ils agissent spécifiquement au niveau des récepteurs nicotiniques postsynaptiques (Tomisawa et Casida, 2002 ; Regnault-Roger, 2005) dont le blocage de ces récepteurs induit la paralysie et la mort de l'insecte (Testud, 2014).

L'acétamepride (ACE) membre de la famille des néonicotinoïdes le plus utilisé en Algérie par les agriculteurs afin d'améliorer la productivité et lutter contre les ravageurs grâce à son bon rapport qualité/prix. Cependant, plusieurs études expérimentales ont montré que l'ACE présente une toxicité non seulement chez les insectes mais également chez les vertébrés et les mammifères. Parmi elles, l'étude de Singh et al. (2012) qui a montré que l'administration par voie orale de l'ACE chez des souris à raison de 1/5 et 1/10 DL50 provoque des symptômes de toxicité, alors que la dose de 10 mg/kg/j (1/20 DL50) n'a pas d'effet néfaste sur certains paramètres biochimiques et hématologiques. Par conséquent, ces chercheurs ont considéré la dernière dose comme dose non toxique.

Le présent travail a pour objectif de rechercher les effets du traitement avec 1/20 DL50 d'ACE sur les taux des enzymes hépatiques ainsi que sur la structure des parenchymes hépatique et pulmonaire chez des souris femelles adultes.

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

*Chapitre I*

*RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES*

## I.1.GENERALITES SUR L'ACETAMEPRIDE

L'acétamipride (ACE) fait partie des sept insecticides néonicotinoïdes qui ont été exploitées depuis leur introduction sur le marché dans les années 90 (Elbert et *al.*, 1991, 1998) (Tableau I, Annexe 1). Il est largement utilisé, à travers le monde, dans la protection globale des cultures en raison de son large spectre d'efficacité (Zhang et *al.*, 2010 ; Hebert, 2012 ; Tjeerd, 2012).

### I.1.1. Caractéristiques physico chimiques

Le tableau ci-dessous présente les caractéristiques physicochimiques et réglementaires de l'acétamipride.

**Tableau II : Principales caractéristiques physicochimiques et réglementaires de l'acétamipride employé en agriculture.**

| Propriété                              | Résultat  |
|--|---|
| État physique et couleur               | Poudre de couleur blanc cassé   |
| Odeur                                  | Inodore   |
| Famille chimique                       | Chloronicotiniles (néonicotinoïdes)   |
| Formule chimique                       | C <sub>10</sub> H <sub>11</sub> ClN <sub>4</sub> ou (E)-N1-((6-chloro-3-pyridyl)methyl)-N2-cyno-N1-methylacetamidine.     |
| Solubilité                             | Soluble dans l'eau (2,5g/l à 25°C) et dans les solvants organiques  |
| Le coefficient de partage octanol /eau | l'acétamipride ne se lie pas fortement à la matière organique et a donc peu de potentiel de bioaccumulation               |
| pH                                     | Entre 4 et 7  |
| Dose journalière                       | 0,07mg/Kg/jour  |
| Persistance d'action                   | Demi-vie sur le sol comprise entre 1 et 8 jours<br>délais d'emploie avant récolte : 3 à 14 jours selon le type de culture |

(Jeschkel et *al.*, 2011 ; Couteux et *al.*, 2012)

### I.1.2. Toxico-cinétique de l'Acétamipride

Selon (Mattock, 2005), L'acetamepride est absorbé rapidement, avec une concentration maximale dans le sang étant atteint dans environ 2-3 heures.

Cet insecticide est largement distribué dans les tissus avec des concentrations plus élevées étant trouvés dans la glande surrénale, le foie et les reins après administration orale chez le rat, La voie urinaire est la principale voie d'élimination d'ACE (53-65 %).

### **I.1.3. Utilisation de l'acétamipride**

L'acétamipride est la matière active la plus utilisée pour améliorer la productivité et pour la protection phytosanitaire de l'élevage et de la pêche (Delauney et *al.*, 2010). Il est utilisé pour lutter contre les hémiptères, principalement les pucerons, les thysanoptères et lépidoptères sur divers cultures, en particulier les légumes, les fruits et le thé ( Sanchez et *al.*, 2003).

### **I.1.4. Principales voies d'exposition**

Les risques d'exposition à l'acétamépride sont multiples et plusieurs facteurs peuvent en être responsables (Samuel et *a.l*, 2001 ; Craig, 2005).

- Voie cutanée : Parmi les situations pouvant mener à une intoxication par la voie cutanée sont le mélange à mains nue, 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. La contamination de la voie gastro-intestinale se produit principalement par un contact de la bouche avec les mains contaminées.

### **I.1.5. Toxicité et mode d'action**

#### **I.1.5.1. Toxicité**

- Chez les insectes : L'acétamipride présente une toxicité sélective pour les insectes car il a une grande affinité pour les récepteurs nicotiniques des insectes que celles des mammifères (Liu, 1993). Il affecte les récepteurs nicotiniques du système nerveux central provoquant ainsi une paralysie et par conséquent la mort de l'insecte (Takahashi, 1993 ; Nicolle, 2015).

- Chez les mammifères : L'acétamipride a une large gamme d'influence sur les fonctions physiologiques chez les mammifères présentant une toxicité aiguë et chronique. Cette toxicité reste inférieure à ce qu'elle est pour les insectes (Tomizawa et *al.*, 2005 ; Jeschke et *al.*, 2011). Chez les humains, les manifestations cliniques d'empoisonnement aigu d'acétamipride après inhalation incluent des vomissements, l'hypotension, la tachycardie, le coma (Chen et *al.*, 2007). L'acétamipride est considéré comme un perturbateur endocrinien touchant principalement la thyroïde (Michel, 2015).

- - Chez les abeilles, les signes d'intoxication à l'acétamipride sont multiples, selon (Lambing et *al.*, 2001 ; Nauen et *al.*, 2001 ; Medrzycki et *al.*, 2003 ; Colin et *al.*, 2004) :
- Perte du sens de l'orientation.
- Altération de la mémoire et du système immunitaire.
- Incapacité à remplir adéquatement les tâches vitales pour la survie de la colonie.
- Effets néfaste sur la reproduction.
- Problème de mobilité accompagnée de plusieurs symptômes tels que des tremblements, des mouvements non coordonnés et l'hyperactivité.

#### **I.1.5.2. Mode d'action**

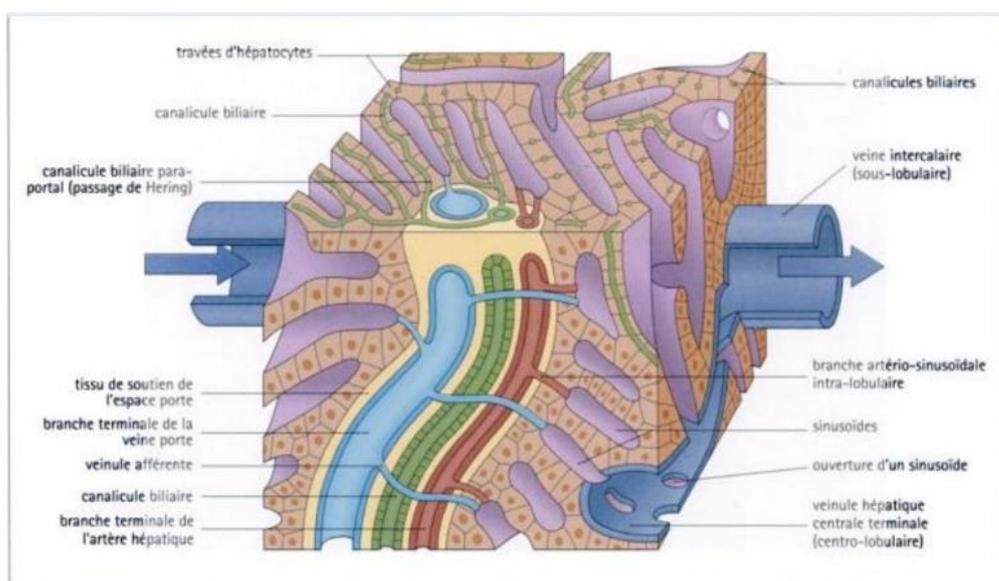
L'acétamipride (ACE) un membre du groupe d'insecticide néonicotinoïdes, qui se lie aux récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine (nAChR) et imitent l'action de l'acétylcholine par l'ouverture des canaux de Na<sup>+</sup> et Ca<sup>2+</sup> dans les cellules (EFSA, 2014). L'activation de nAChRs se traduit souvent par une augmentation de Ca<sup>2+</sup> libre intracellulaire, tandis que leur suractivation génère un blocage engendrant une paralysie mortelle. Iwasa (2004) a décrit la paralysie et la mort des insectes suite à l'accumulation de l'acétylcholine au niveau du système nerveux central de l'insecte.

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

### **I.2.1. Structure et fonction du foie**

### I.2.1.1. Structure

Le foie est une glande volumineuse amphicrine homotypique. Il possède toutes les caractéristiques d'une glande exocrine d'une part, en étant responsable de la sécrétion de la bile, et d'une glande endocrine d'autre part correspondant à la libération dans le sang de nombreuses substances (Dadoune., 1998). Le foie est entouré par une capsule conjonctive très fine appelée capsule de Glisson (Kohler, 2011). Il est formé de lobules centré sur des veines centrales (Lullmann-rauch 2006). Les hépatocytes (Figure 1) sont disposées en travées le long des capillaires sinusoides, travées de REMAK.



**Figure 1: Architecture tridimensionnelle du parenchyme hépatique chez les mammifères (Stevens et Lowe, 1997 ).**

Les capillaires sont séparés des hépatocytes par un espace appelé espace de Disse (Kohler, 2011). Les hépatocytes représentent 80% des cellules hépatiques. Elles sont des cellules polyédriques polarisées riches en organites intra cytoplasmiques (Dadoune., 1998; Stevens et *al.*, 1997). Les cellules de Kupffer qui bordent les sinusoides hépatiques, sont des cellules phagocytaires différenciées dérivant des monocytes. (Kohler, 2011). Les cellules endothéliales limitent le sinusoides et empêchent le sang de s'immiscer dans l'espace de Disse tout en autorisant, par son système de pores, les échanges entre le plasma et l'hépatocyte. Ces cellules reposent sur une lame basale discontinue (Gandillet, 2004). Les cellules de Ito, encore appelées cellules étoilées du foie, se localisent dans l'espace de Disse à proximité des sinusoides hépatiques. Ces cellules, d'origine mésenchymateuse, contiennent de la graisse et sont impliquées dans le stockage et le métabolisme de la vitamine A. Dans des conditions

pathologiques, les cellules étoilées du foie se transforment en cellules productrices de collagène (Kierszenbaum, 2006).

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

Le foie assure plusieurs rôles :

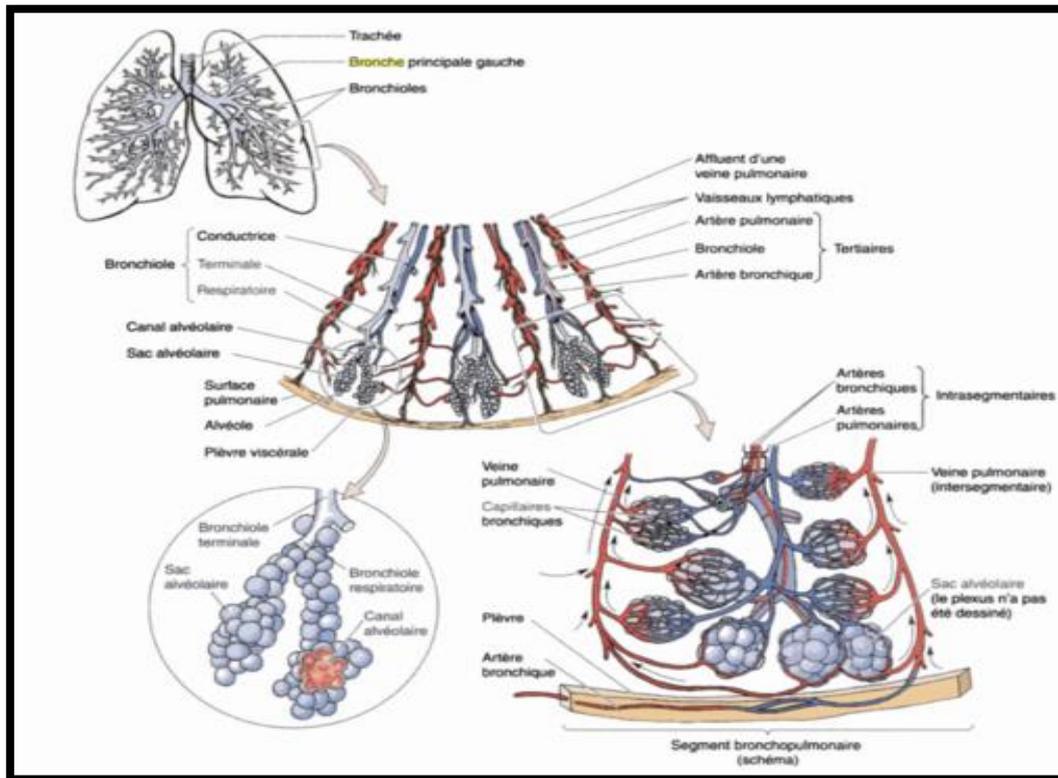
- métabolisme des lipides : oxydation des triglycérides, synthèse de lipoprotéines plasmatiques, synthèse du cholestérol et de phospholipides.
- métabolisme des glucides : glycogénèse, glycogénolyse, néoglucogénèse.
- métabolisme protéique : synthèse de protéines plasmatiques, incluant l'albumine et des facteurs de coagulation, synthèse d'acides aminés non essentiels, désamination des acides aminés et production d'urée.
- métabolisme intermédiaire : détoxification de médicaments et toxiques variés (Alcool...).
- conjugaison et dégradation chimique des toxines.
- stockage de glycogène, de vitamines, de fer, triglycérides.
- synthèse et sécrétion de la bile.
- excrétion de la bilirubine (Heath et *al.*, 2006).
- les hépatocytes présentent le pouvoir de combler des pertes tissulaires ou de restaurer des lésions dues à des agents toxiques ou viraux. En cas de lésions chroniques, la réparation du parenchyme se fait de moins en moins bien, et celui-ci est alors remplacé par un tissu conjonctif (Dadoune., 1998)
- Rôle immunitaire par les cellules de Kupffer.

Les principales enzymes analysées en routine pour évaluer la fonction hépatique sont l'alanine amino transférase (ALAT ou GPT), l'aspartate amino transférase (ASAT ou GOT), la gamma-glutamyl transférase ( $\gamma$ GT) et de la phosphatase alcaline (PAL). Ces enzymes se regroupent respectivement sous les termes transaminases (pour les deux premiers) (N.Brakch et D.Kesseler., 2011), qui sont normalement présentes en faible quantité dans le plasma ou le sérum. Leur activité est élevée dans certains tissus, en particulier le foie (ALAT, ou ASAT à un moindre degré), le cœur et le muscle (principalement ASAT). En cas de nécrose de ces tissus, les enzymes sont libérées dans la circulation et leur activité sérique augmente (Legrand.A et *al.*,2007). enzymes cholestatique (pour les deux derniers). (N.Brakch, D.Kesseler 2011).

### **I.2.2. Structure et pneumotoxicité**

### I.2.2.1. Structure

Les poumons sont les organes vitaux de la respiration (Gartner et *al.*, 1997 ; Keith et *al.*, 1999). La partie intrapulmonaire de l'appareil respiratoire est composée de bronches intrapulmonaires qui se divisent en bronchioles. De là partent les canaux alvéolaires qui mènent aux sacs alvéolaires, puis aux alvéoles pulmonaires tapissées d'abondants capillaires, dont la paroi mince permet les échanges gazeux (Figure 2).



**Figure 2 : Structure des poumons (Keith et *al.*, 1999) .**

La structure des bronches diffère selon le calibre et la localisation. Les bronches principales, extra-pulmonaires, ont une structure identique à celle de la trachée. Leurs dimensions sont moindres et l'armature cartilagineuse comprend des anneaux entiers. Les bronches intra-pulmonaires, segmentaires et sous-segmentaires présentent des particularités structurales (Dadoue, 1998). La structure de base de la paroi d'une bronche principale, qui contient :

-Un épithélium respiratoire qui contient moins de cellules caliciformes (Young et *al.*, 2008), des cellules caliciformes dont leur nombre augmente au cours des affections respiratoires chroniques (Stevens et *al.*, 1997).

-Le chorion est séparé de la sous-muqueuse par une couche de muscle lisse dont l'épaisseur augmente progressivement tandis que le calibre de la voie aérienne diminue. Le muscle lisse persiste dans les parois des voies aériennes jusqu'aux plus petites bronches (bronchioles).

-la sous muqueuse ne contient que quelques glandes séro-muqueuses.

-la charpente cartilagineuse se présente sous forme de plaques aplaties reliées entre elles plutôt que comme des anneaux distincts (Young et *al.*, 2008).

Chaque bronchiole terminale se divise en ramifications courtes à paroi très mince appelées : bronchioles respiratoires qui contiennent dans leur paroi un petit nombre d'alvéoles isolées. L'épithélium des bronchioles respiratoires ; dépourvu de cellules caliciformes est essentiellement constitué de cellules cubiques ciliées et d'un petit nombre de cellules de clara, non ciliées.

Les cloisons interalvéolaires sont des espaces conjonctifs qui séparent les alvéoles voisins, constituant un interstitium pulmonaire commun à travers lequel les cellules interstitielles et le liquide interstitiel se déplacent d'un point à un autre. Les cloisons interalvéolaires renferment des fibres, des cellules et des capillaires (Dadoune, 1998).

la paroi alvéolaire comporte un épithélium qui forme un revêtement continu autour de chaque alvéole et est constitué de deux types de cellules : la majeure partie de la surface alvéolaire est recouverte de volumineuses cellules pavimenteuses appelées : pneumocytes types I (cellules bordantes alvéolaires) (Young et *al.*, 2008). Un second type de cellules épithéliales appelées pneumocytes types II qui secrètent un agent superficiel tensio-actif ; le surfactant, réduisant la tension superficielle à l'intérieur des alvéoles. Les pneumocytes de type II gardent la capacité de se diviser et peuvent se différencier en pneumocytes types I en cas de lésion du revêtement alvéolaire (Young et *al.*, 2008).

Le poumon contient des macrophages, à la fois sous forme libre dans les espaces alvéolaires et dans les cloisons interalvéolaires. Les macrophages dérivent des monocytes sanguins circulants bien que certains d'entre eux paraissent provenir de la division mitotique de macrophages résidant dans le poumon. Ces cellules sont responsables de la phagocytose des bactéries et d'autres substances particulières inhalées ayant réussi à atteindre les espaces aériques (Young et *al.*, 2008).

### **I.2.2.2. Pneumotoxicité**

A l'échelle tissulaire, la pneumotoxicité est souvent liée à la présence d'hémorragies (Mondal et *al.*, 2014), des œdèmes intra-alvéolaires, un épaissement des vaisseaux sanguins pulmonaires et la destruction des parois alvéolaires (Malih et *al.*, 2009).

L'étude des coupes histologiques des poumons des rats femelles traitées par l'imidaclopride, insecticide néonicotinoïde, a montré des altérations au niveau du parenchyme pulmonaire par un épaississement des parois des bronchioles terminales bordés d'un épithélium altéré, irrégulièrement épais, bourgeonnement de la membrane cytoplasmique dans sa face apicale, des débris cellulaires intenses, une congestion des vaisseaux sanguins et une hémorragie modérée et une fibrose excessive qui est entourée de fibres de collagène néoformés (Arkam, 2013).

*CHAPITRE II*  
*MATÉRIEL ET MÉTHODES*

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

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

## **II.1. Matériel**

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

Notre étude est réalisée sur 14 souris blanches femelles adultes de la souche Naval Medical Research Institute (N.M.R.I) provenant de Saidal de Médéa, dont le poids corporel moyen est entre 15g et 35g.

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

Tous les animaux reçoivent de l'eau et de la nourriture « *ad-libitum* ». La nourriture est composée d'un concentré équilibré en protéines, glucides, lipides, vitamines et sels minéraux (Tableau III de l'annexe 2).

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

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

La dose (9.2 mg/Kg/j)  $\longrightarrow$  1000g

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

$$X = (\text{poids corporel} \times \text{dose}) / 1000$$

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

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

$$Y = (X \times 100) / 20$$

Exemple : pour une souris traitée par 1/20 DL 50 de l'acétamipride avec un poids corporel de 28 g.

$$X = \frac{28 \times 9.2}{1000} = 0.27 \text{ mg} ; Y = \frac{0.27 \times 100}{20} = 13.8 \text{ mg.}$$

### **II.1.3. Appareillage et réactif**

Une gamme de matériel non biologique est utilisée afin de réaliser notre expérimentation. Le détail de l'appareillage et des réactifs est illustré dans l'annexe 2.

## **II.2. METHODES**

### **II.2.1. Expérimentation**

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

- Lot des témoins comporte six souris qui sont gavées quotidiennement par l'eau distillée.
- Lot de huit souris traitées qui sont gavées quotidiennement par 1/20 DL 50 d'acétamipride. L'expérimentation a duré 20 jours.

Les souris traitées sont pesées chaque semaine à compter du premier jour de l'expérimentation afin de recalculer la 1/20 DL 50 pour chaque animal et pour le suivre leur poids corporel. Les souris témoins sont aussi pesées.

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

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

A la fin de la période du traitement, les souris sont mises à jeun pendant une nuit, les sacrifices sont réalisés la matinée entre 9h à 11h afin d'éviter les variations hormonales pendant la journée et cela par décapitation rapide (annexe2). Le sang artérioveineux est recueilli dans des tubes héparinés portant un numéro d'identification de chaque souris. Le plasma est obtenu après une centrifugation à 3000 tours/min pendant 20 minutes. Il est utilisé pour le dosage des enzymes hépatiques qui est effectué avec un automate et un spectrophotomètre.

Le foie et les poumons sont rapidement prélevés et plongés dans le fixateur. Ces organes sont destinés à l'étude histologique afin de chercher des altérations tissulaires.

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

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

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

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

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

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

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

- Un bain d'Alcool 100° pendant 1 heure

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

#### **II.2.3.3. Imprégnation**

Dans une étuve réglée à 58°C (annexe 2), les organes sont imprégnés dans deux bains successifs durant une heure chacun. Le premier bain composé de 50% de xylène et 50% de paraffine et le deuxième bain ne contient que la paraffine pure.

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

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

- Ecoulement de la paraffine dans des moules métalliques.
- Inclusion et orientation des pièces dans la paraffine.
- Placement des cassettes sur lesquelles est inscrit le type d'organe et le numéro de l'animal.
- Refroidissement des blocs de paraffine sur une plaque métallique réfrigérée environ 10 minutes (annexe 2)

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

La réalisation des coupes minces de 3 microns est possible est réalisée par le microtomes de type Leica (annexe 2).

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

Les rubans sont étalés dans un bain marie à 37°C (annexe 2) puis récupérés et collés sur des lames propres, puis séchés dans une étuve réglée à 25°C pendant 24 heures.

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

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

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

Le but de la coloration est de visualiser des différents composants tissulaires et cellulaires. Dans notre étude, nous avons appliqué deux types de coloration (annexe 2):

- Coloration d'hématoxyline-éosine

C'est une coloration topographique qui permet de visualiser la morphologie des cellules (noyau bleu et cytoplasme rose violacé) afin de déterminer leur répartition, architecture et structure (annexe 2).

- Coloration de Trichrome de Masson

C'est une coloration spécifique. Elle est utilisée pour mettre en évidence les éléments du tissu de soutien, en particulier le collagène ainsi les altérations tissulaires tel que les fibres et les inclusions (annexe 2).

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

Après la coloration, les lames sont mises dans un bain de xylène pour l'éclaircissement. Une lamelle est fixée sur chaque lame par l'Eukitt. A la fin, les lames sont nettoyées au xylène puis séchées et observées au microscope photonique aux différents grossissements (x40, x100 et x400) (annexe 2). La prise des photos est effectuée à l'aide d'un appareil photos numérique.

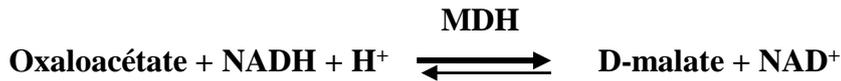
## **II.2.4. Dosage des enzymes hépatiques**

### **II.2.4.1. Principe**

#### **a- Aspartate aminotransférase**

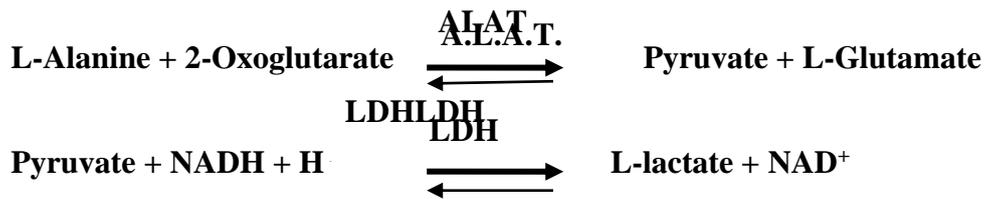
L'aspartate aminotransférase (ASAT) catalyse la transformation de l'aspartate en oxaloacétate. L'oxaloacétate formé est réduit en malate en présence d'une quantité connue de coenzyme NADH<sup>'H</sup><sup>+</sup> et du malate déshydrogénase (MDH). La cinétique de cette dernière réaction est déterminée par les mesures successives de l'absorbance du coenzyme NADH<sup>'H</sup><sup>+</sup> à 340 nm. De cette cinétique est déduite la concentration de l'ASAT (Thomas, 1998).





b- Alanine aminotransférase

La transamination de l'alanine en pyruvate est réalisée en présence de l'alanine aminotransférase (ALAT). Le pyruvate obtenu est réduit en lactate en présence du coenzyme NADH'H<sup>+</sup> et du lactate déshydrogénase (LDH). La cinétique de cette dernière réaction permet de déterminer la concentration de l'ALAT (Thomas, 1998).



#### II.2.4.2. Mode opératoire

Les contenants des deux flacons R1 et R2 du kit des Transaminases (annexe 2 ) sont mélangés pour obtenir un réactif final stable pendant 21 jours (8°C). Lors du dosage, nous prenons 100 µl du plasma/calibrant avec 1000 µl de R1. Après agitation et incubation pendant 5 minutes, nous ajoutons 250 µl du R2.

Après l'agitation du 2 eme mélange, l'absorbance est lue le première fois après une minute. Une 2 eme lecture est refaite à nouveau après 1,2 puis 3 minutes le réglage de l'automate.

|                       |                              |
|-----------------------|------------------------------|
| Longueur d'onde       | 340 nm, Hg 365 nm, Hg 334 nm |
| Trajet optique        | 1cm                          |
| Température de mesure | 37°C                         |

#### II.2.4. 3. Lecteur

Le calcul de la concentration est réalisé directement par l'automate.

### II.2.5. Dosage de la bilirubine

#### II.2.5.1. principe

La bilirubine directe forme un azocomposé coloré en rouge avec la 2,4-dichloroaniline diazotée en milieu acide. Un mélange spécifique de détergents permet la détermination fiable de la bilirubine totale (Thomas, 1998).

### **II.2.5.2. Mode opératoire**

La détermination du taux de la bilirubine est faite selon les étapes figurées dans le tableau IV.

**Tableau IV : Etapes du dosage du taux de la bilirubine.**

|   | Blanc   | Plasma/calibrant |
|---|---------|------------------|
| Plasma /calibrant   | -       | 25 µl            |
| Eau distillée   | 25 µl   | -                |
| Réactif 1   | 1000 µl | 1000 µl          |
| Ces solutions sont mélangées et incubées pendant 5 minutes à 37°C.<br>Après la lecture de l'absorbance, nous ajoutons le réactif 2. |         |                  |
| Réactif 2   | 250 µl  | 250 µl           |
| Le mélange est agité puis incubé durant 5 minutes à 37°C.<br>Ensuite, l'absorbance est lue.   |         |                  |

Longueur d'onde      546 nm (540 – 560 nm)

Trajet optique      1cm

Température de mesure    entre + 20°C et + 25°C/37°C

Mesure                    contre le blanc réactif

### **II.2.5.1. Lecture**

La mesure de la concentration de la bilirubine totale est faite directement par un automate.

### **II.2.6. Calcul statistique**

Les résultats sont présentés sous forme de moyennes ± Ecart-type (annexe 2). Les comparaisons intergroupes des témoins et des traités sont réalisées selon le test de *Student* et les différences sont considérées statistiquement comme :

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

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

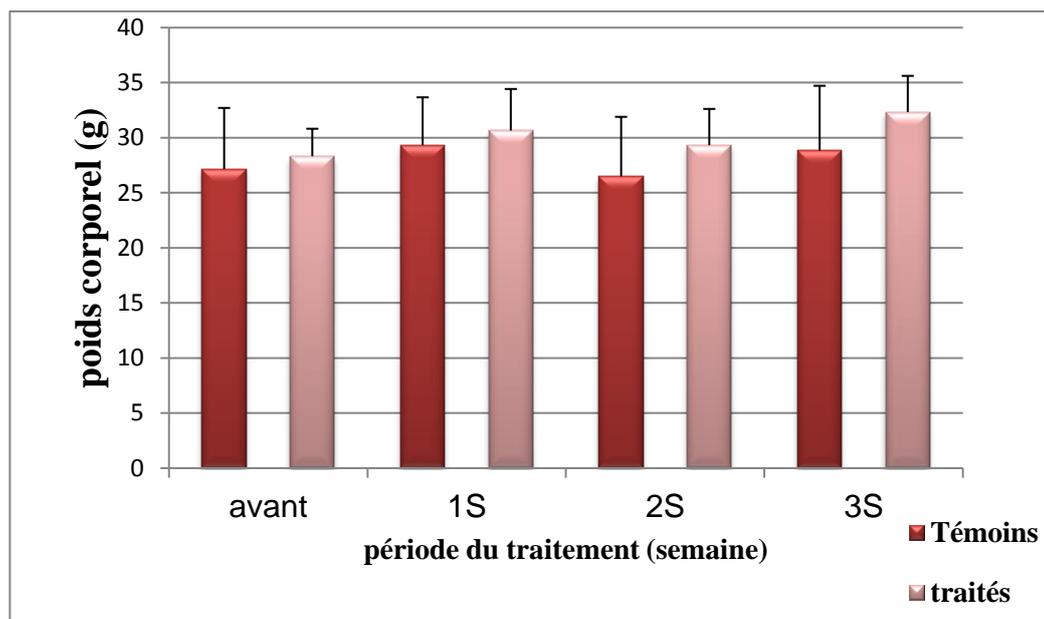
*CHAPITRE III*  
*RÉSULTATS ET DISCUSSION*

**III. RÉSULTATS**

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

### **III.1. Evolution du poids corporel**

Les résultats de la variation pondérale des souris témoins et traitées et leurs significations statistiques sont rassemblés dans la figure 3 tableau V et VI dans l'annexe 3.



**Figure 3 : Evolution du poids corporels moyen des souris femelles témoins et traitées par 1/20 DL 50 d'acétamipride**

D'après nos résultats, toutes les souris témoins ont montré une légère croissance pondérale qui est de l'ordre de  $26 \pm 7,21$  vs  $27,16 \pm 7,05$ . Cette augmentation reste statistiquement non significative. Cependant, chez les souris traitées, nous avons enregistré une prise de poids statistiquement non significative ( $p > 0,05$ ) de l'ordre de  $25,87 \pm 5,37$  vs  $30 \pm 3,25$ .

En parallèle, nous n'avons constaté aucun changement de comportement chez les souris pendant toute la période d'expérimentation.

### **III.2. Evolution des taux des transaminases**

#### **III.2.1. Aspartate aminotransférase**

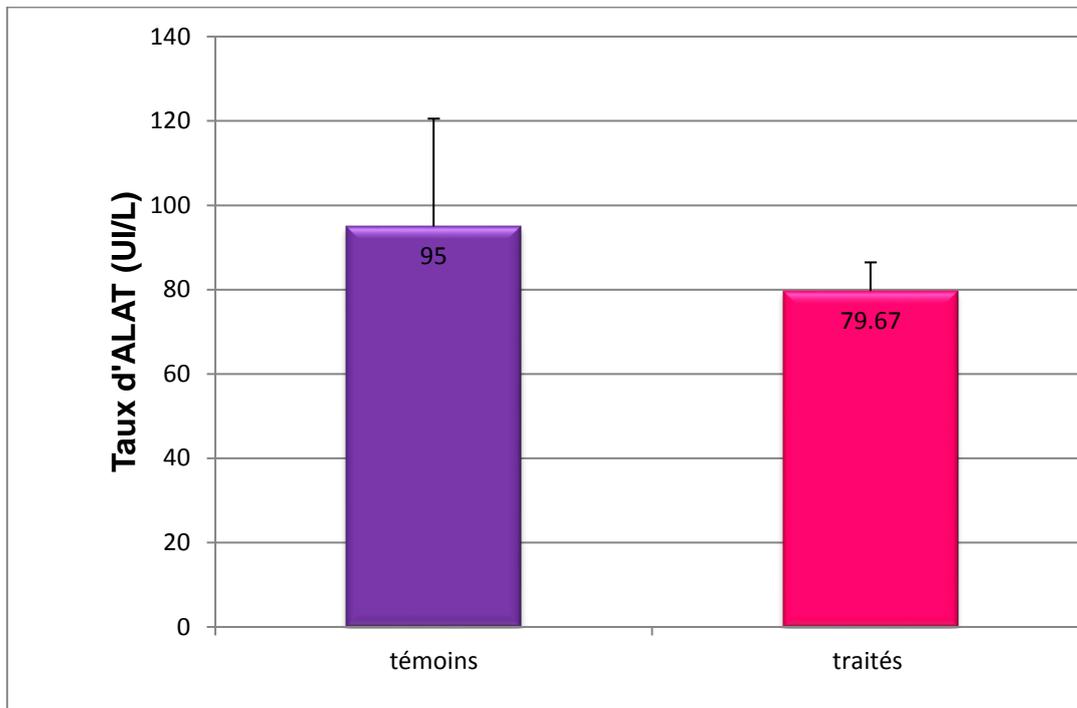
D'après les résultats obtenues, il semble que le traitement à 1/20DL50 d'ACE induit une diminution statistiquement non significative du taux de l'aspartate aminotransférase. Nous notons 335,33 UI/L  $\pm$  74,76 chez les traitées par rapport à 349 UI/L  $\pm$  57,65 chez les souris témoins (figure 4 et tableaux VII et VIII de l'annexe 3).



**Figure 4 : Effet de l'acétamipride sur le taux plasmatique de l'Aspartate aminotransférase (UI/L) chez des souris femelles adultes témoins et traitées.**

### III.2.2. Alanine aminotransférase

Chez les souris traitées par 1/20DL50 d'ACE, le taux de l'Alanine aminotransférase sanguine a diminuer d'une façon statistiquement non significative ( $p > 0,05$ ) par rapport à celui des témoins. Nous notons ainsi 95 UI/L  $\pm$  25,55 chez les témoins et 79,67 UI/L  $\pm$  6,79 chez les traitées (figure 5 et tableaux VII et VIII de l'annexe 3).



**Figure 5** : Effet de l'acétamipride sur le taux de l'alanine aminotransférase (UI/L) chez les souris femelles adultes témoins et traitées.

### **III.3. Evolution du taux de la bilirubine totale**

Les résultats des effets de l'acétamipride sur le taux de bilirubine totale et leurs significations sont représentés dans la figure 6 et les tableaux VII et VIII Annexe 3.



**Figure 6** : Effet de l'acétamipride sur le taux de bilirubine totale (mg/l) chez les souris femelles adultes témoins et traitées.

D'après les résultats obtenus, le groupe de souris traitées par 1/20DL50 montre une augmentation négligeable du taux plasmatique de la bilirubine totale qui est de l'ordre de  $2,65 \text{ mg/l} \pm 0,32$  vs  $2,63 \text{ mg/l} \pm 0,50$  chez les témoins. La différence entre les témoins et les traités reste statistiquement non significative ( $p > 0.05$ ).

### **III.4. Etude histologique**

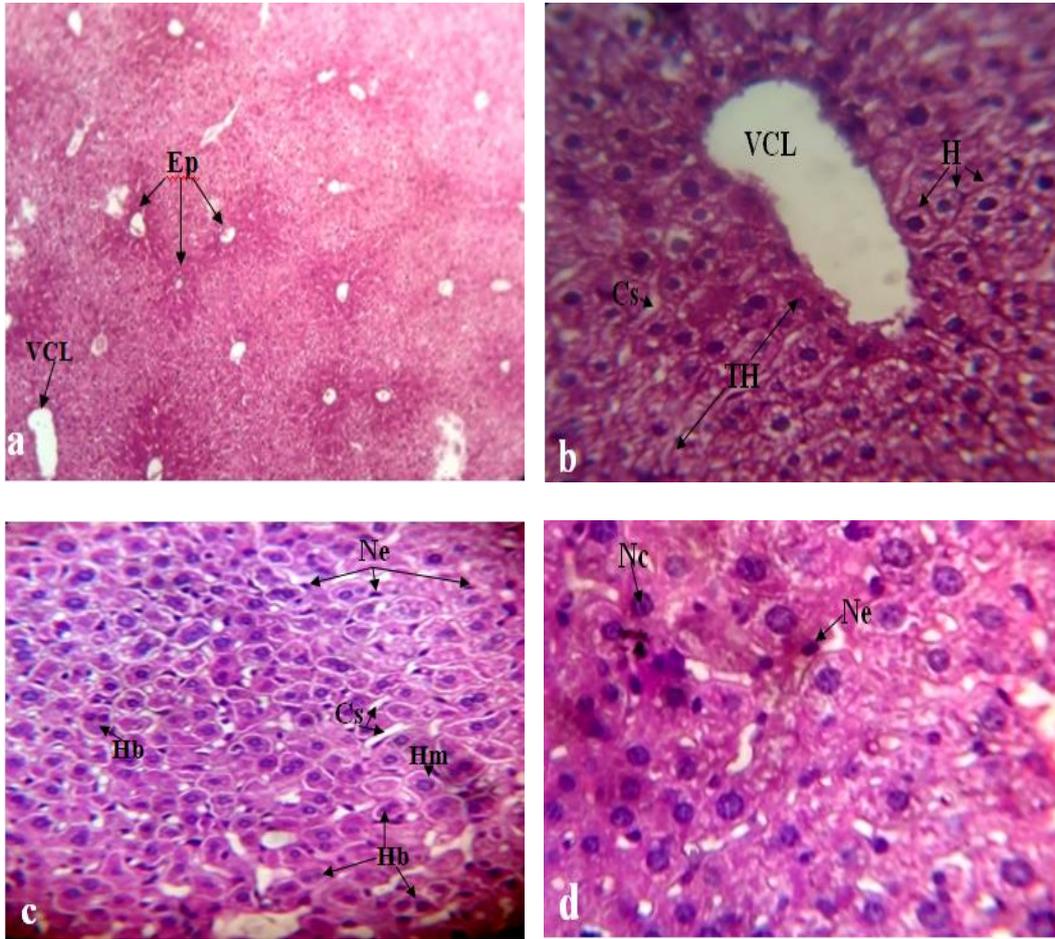
#### **III.4.1. Parenchyme hépatique**

##### **a. Chez les souris témoins**

Les coupes en microscopie optique du foie des souris témoins montrent une organisation structurale normale (Figure 7.a), avec une architecture lobulaire, marquée par la disposition des travées hépatocytaires sous forme radiaire au tour d'une veine centrolobulaire (Figure 7.b). Les travées sont séparées par des capillaires sinusoides dotées de cellules endothéliales avec des noyaux petits et aplatis. Les hépatocytes présentent un ou deux noyaux arrondis de taille variable, avec ou sans nucléole et un cytoplasme dense et granuleux (Figure 7 c, d).

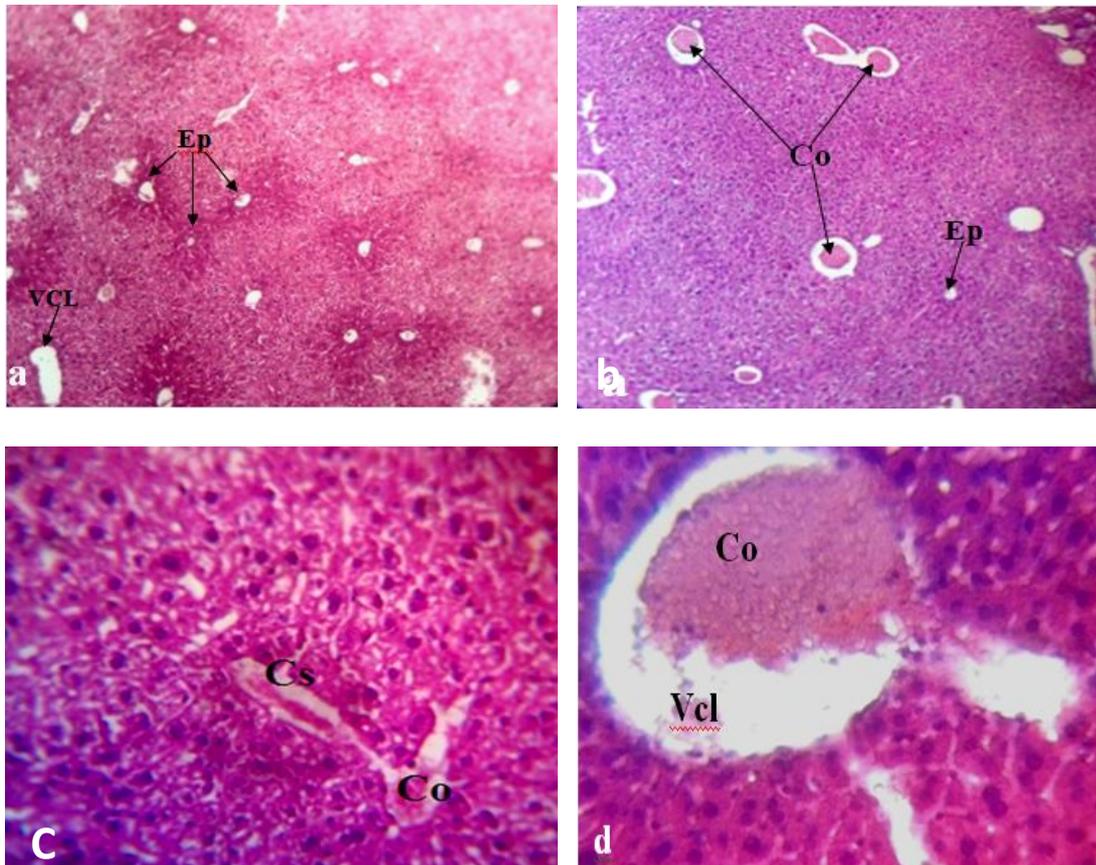
##### **b. Chez les souris traitées par 1/20 DL50 de l'acétamipride**

En comparaison avec celles des témoins, les coupes du parenchyme hépatique des souris traitées montrent une perte d'organisation architecturale lobulaire du parenchyme hépatique (Figure 8 a, b) et des congestions sanguines au niveau des veines centrolobulaires et des espaces portes (Figure 8 a, b, c et d). Au niveau capillaires sinusoides, nous remarquons une dilatation nette (Figure 9 a, b et c) et l'apparition des images de diapédèse et d'infiltration à proximité des veines (Figure 10 a, b et c) et au sein du parenchyme (Figure 10 d). Les hépatocytes sont marquées par une hypertrophie. Les cellules deviennent grandes et des noyaux volumineux et denses (Figure 11a, b et c). Le cytoplasme devient vésiculé (Figure 12 a, b et c).



**Ep** : espace porte ; **VCL** : veine centrolobulaire ; **H** : Hépatocyte ; **Cs** : capillaire sinusoïde ; **TH** : travées Hépatocytaires ; **Ne** : Noyau endothélial ; **Hb** : Hépatocyte bi nucléaire ; **Hm** : Hépatocyte mononucléaire ; **Nc** : nucléole.

**Figure 7** : Structure du parenchyme hépatique chez la souris témoin, Coloration: HE; Grossissement: x100 (a) ; x400 (b, c, d).

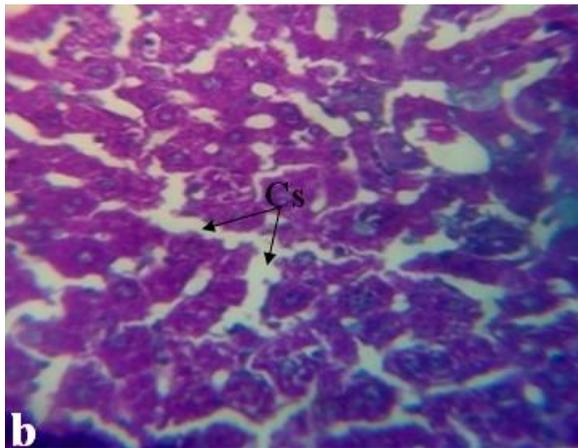
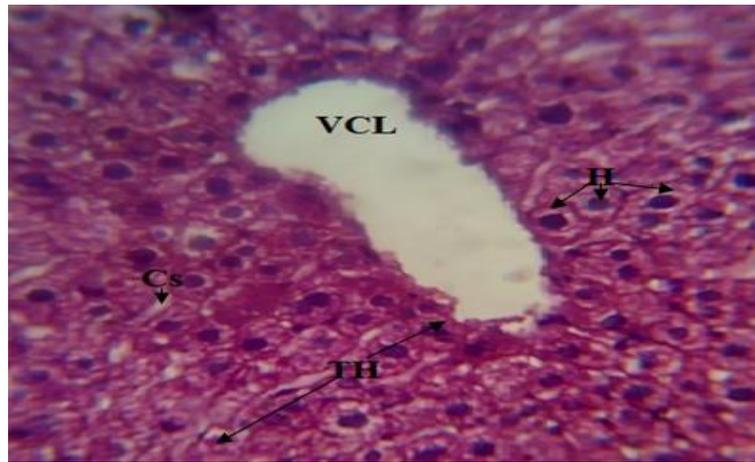


**Co** : congestion sanguine **VCL** : veine centrolobulaire **Cs** : capillaire sinusoidé **Ep** : Espace porte.

Le parenchyme hépatique chez les traités présente une perte d'organisation architecturale, une congestion sanguine et une dilatation des veines centrolobulaires et des espaces porte chez les souris traitées.

**Figure8**: Structure du parenchyme hépatique chez les souris témoins (a) et traités par 1/20 DL50 d'acétamipride (b,c et d).

**Coloration** : HE (a, c et d) et Trichrome de Masson (b) ; **Grossissements** : x100 (a et b) et x400 (c et d).

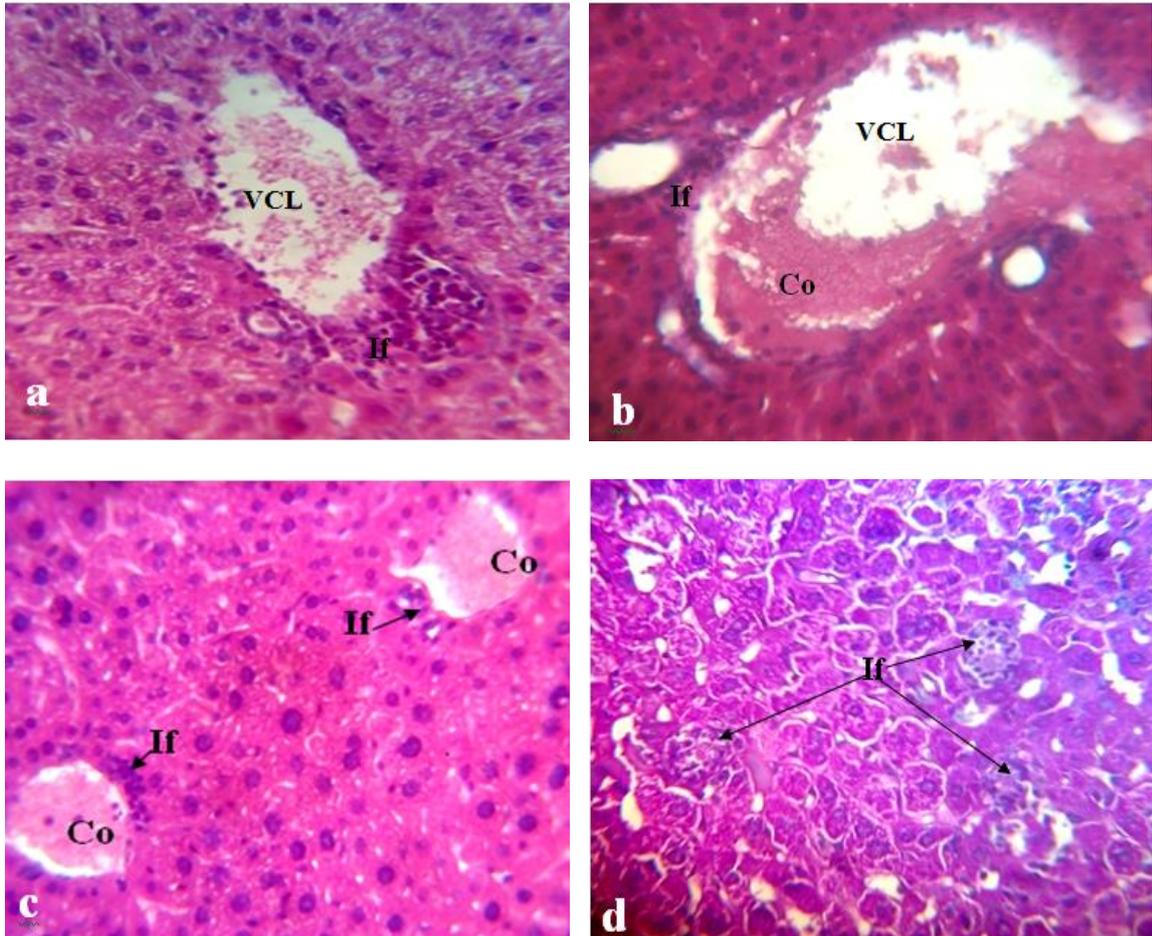


VCL : veine centrolobulaire H : Hépatocytes Cs : capillaire sinusöide TH : travées Hépatocytaire.

Le parenchyme hépatique chez les traités présente une dilatation des capillaires sinusoides.

**Figure 9 : Structure du parenchyme hépatique chez les souris témoin (a) et traités par 1/20 DL50 d'acétamipride (b et c).**

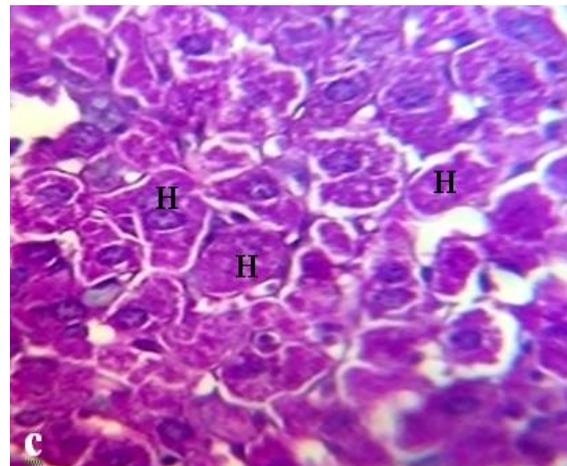
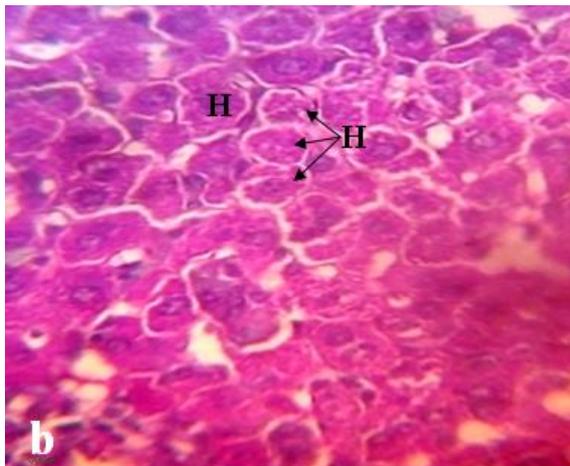
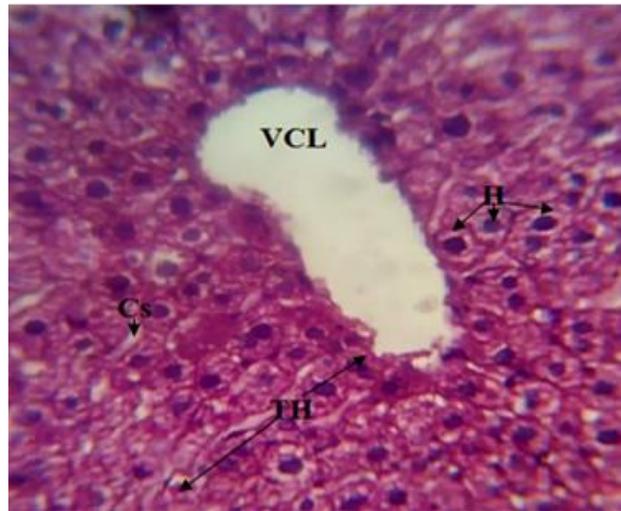
coloration : HE (a) et trichrome de Masson (b et c); grossissement x400 (a, b et c)



VCL : veine centrolobulaire Co : congestion sanguine ; If : infiltrat inflammatoire

Le parenchyme hépatique chez les traités présente une infiltration cellulaire.

**Figure 10:** Structure du parenchyme hépatique chez les souris traités par 1/20 DL50 d'acetamipride (a, b, c, et d). coloration HE ; grossissement x400 .

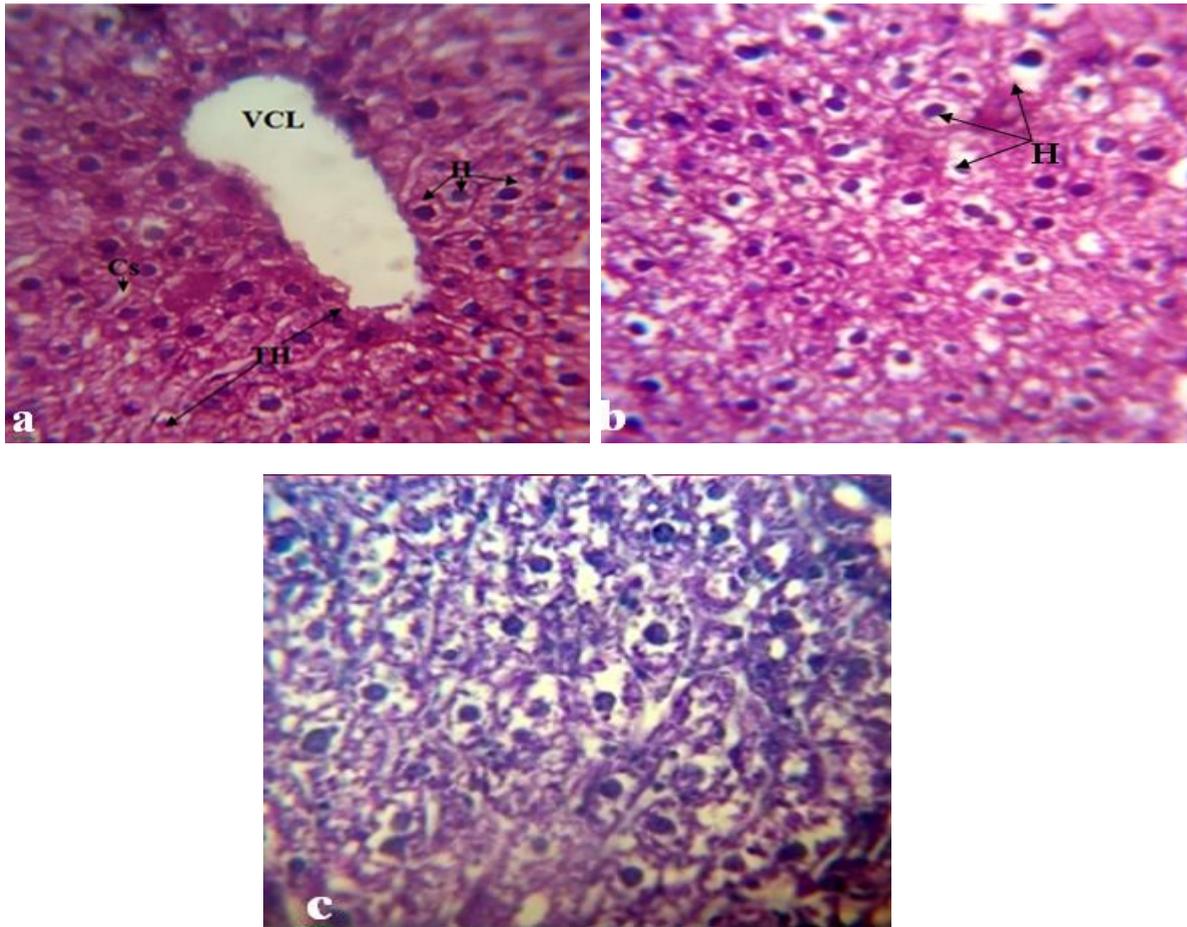


**H** : Hépatocyte ; **VCL** : Veine centrolobulaire ; **TH** : travées Hépatocytaires ; **Cs** : Capillaire sinusoïde

Le parenchyme hépatique chez les traités présente une augmentation de la taille des Hépatocytes.

**Figure 11** : Structure du parenchyme hépatique chez les souris témoin (a) et traités par 1/20 DL50 d'acétamipride (b et c).

Coloration : HE (a et b) et trichrome de Masson (c); grossissement x400 (a, b et c).



**H** : Hépatocyte ; **VCL** : Veine centrolobulaire ; **TH** : travées Hépatocytaires ; **Cs** : Capillaire sinusoidal

Le parenchyme hépatique chez les traités présente d'un aspect cytoplasmique vésiculaire.

**Figure 12** : Structure du parenchyme hépatique chez les souris témoin (a) et traités par 1/20 DL50 d'acétamipride (b et c).

**Coloration** : HE (a et b) et trichrome de Masson (c); grossissement x400 (a, b et c).

### **III.4.2. Parenchyme pulmonaire**

#### **a. Chez les souris témoins**

L'observation des coupes histologiques du parenchyme pulmonaire des souris témoins à permet de mètre en évidence de très nombreux alvéoles qui sont séparées les unes des autres par des petits cloisons inter alvéolaires et ils se connectent aux canaux alvéolaires (Figure 13 a, b et c).

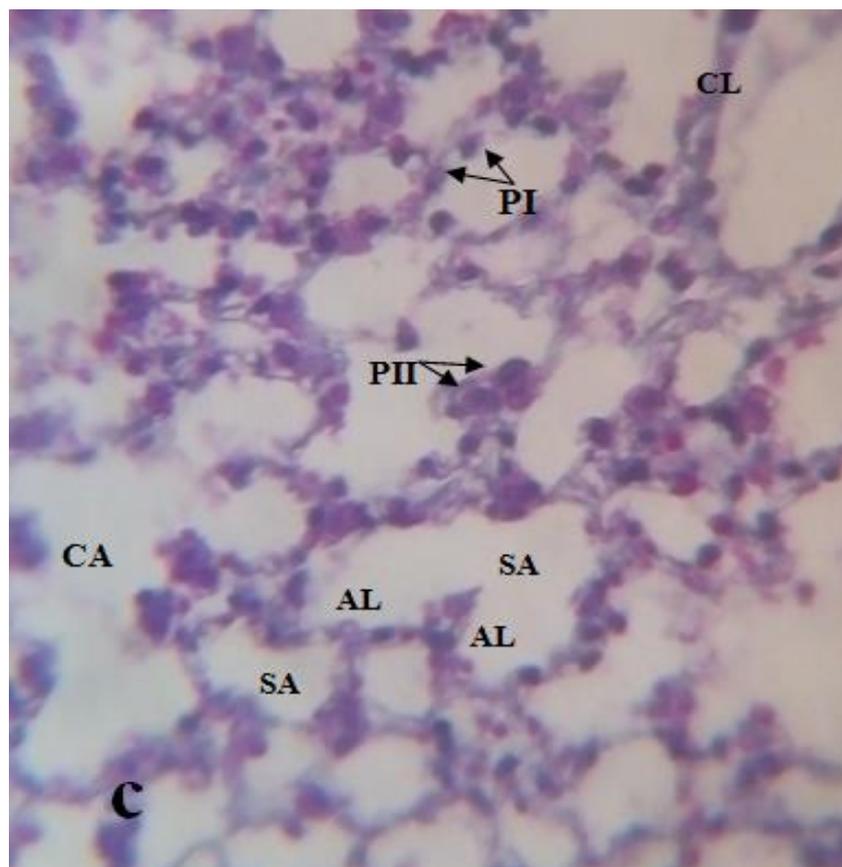
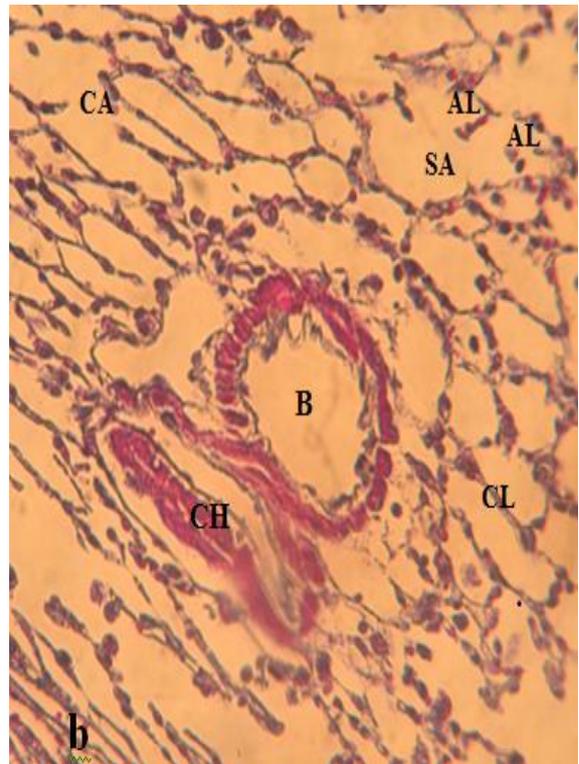
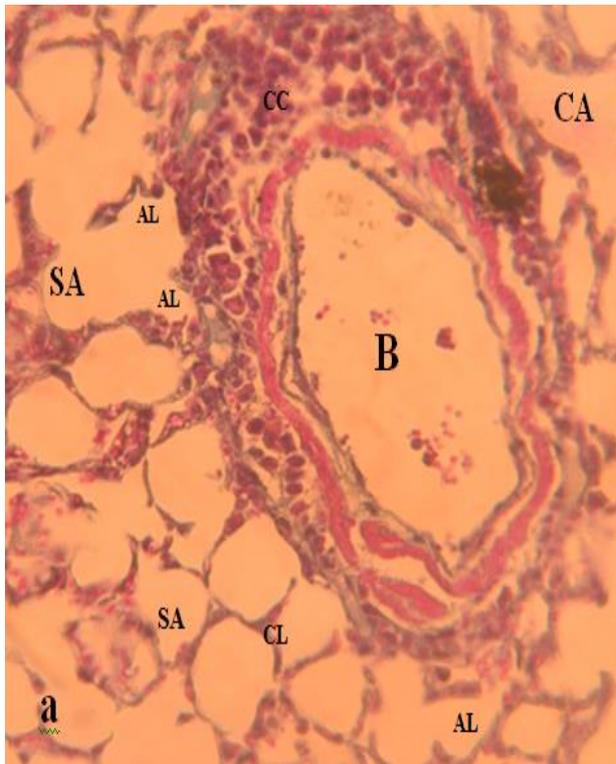
Le canal alvéolaire fonctionne structurellement comme un couloir, qui se connecte à plusieurs sacs alvéolaires et alvéole. Chaque sac alvéolaire est composé de deux ou plusieurs alvéoles qui partagent une ouverture commune (Figure 13 a, b et c). L'épithélium alvéolaire comprend deux types de cellules, les pneumocytes de type I, cellules pavimenteuses possédant un noyau aplatis, sombre et ovale, avec un cytoplasme très mince et les pneumocytes de type II qui possèdent des noyaux volumineux et arrondis (Figure 13 c).

Les bronchioles sont constituées du centre à la périphérie d'une lumière plus au moins large bordée par un épithélium composé de nombreuses cellules de Clara (Figure 13 a). Ces cellules possèdent des noyaux plus au moins allongés, volumineux et sombres. L'épithélium est disposé sur un tissu conjonctif lâche fin, le chorion (Figure 13 b).

#### **b. Chez les souris traitées**

L'étude des coupes histologiques des poumons des souris femelles traitées par l'acétamipride (ACE) à raison d'une faible dose 1/20 de la DL50 pendant 15 jours montre des altérations au niveau du parenchyme pulmonaire. Ces altérations sont marquées par :

- L'épaississement des cloisons inter alvéolaires et la réduction du diamètre des sacs alvéolaires et des alvéoles (Figure 14 a, c et d).
- La présence d'un épaississement des parois des bronches et des bronchioles terminales (Figure 14 a, b, c et d).
- L'installation d'une congestion sanguine au niveau des bronches et des bronchioles qui donne des images d'hémorragie (Figure 14 a, b, c et d).



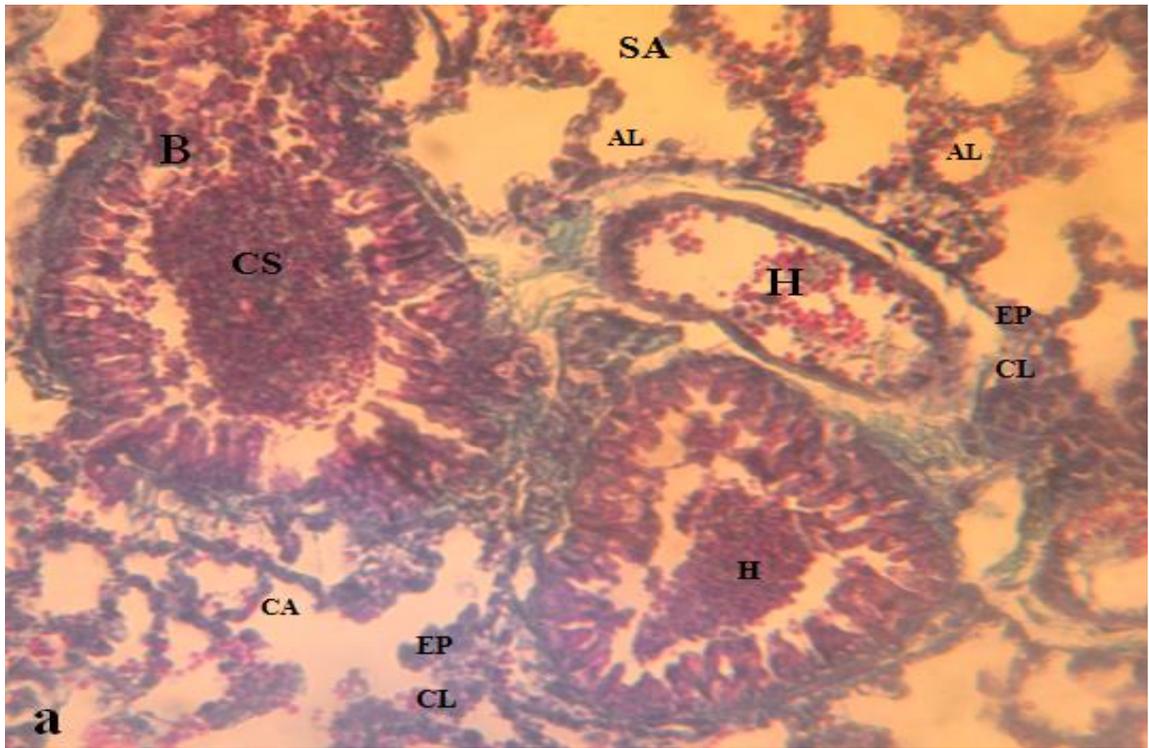
**AL:** Alvéole ; **B:** Bronchiole; **CA:** canal alvéolaire; **CL :** cloison interalvéolaire ; **CH:** Chorion ;  
**SA:** Sac alvéolaire ; **PI :** Pneumocytes de types I ; **PII :** Pneumocytes de types II.

Le parenchyme présente :

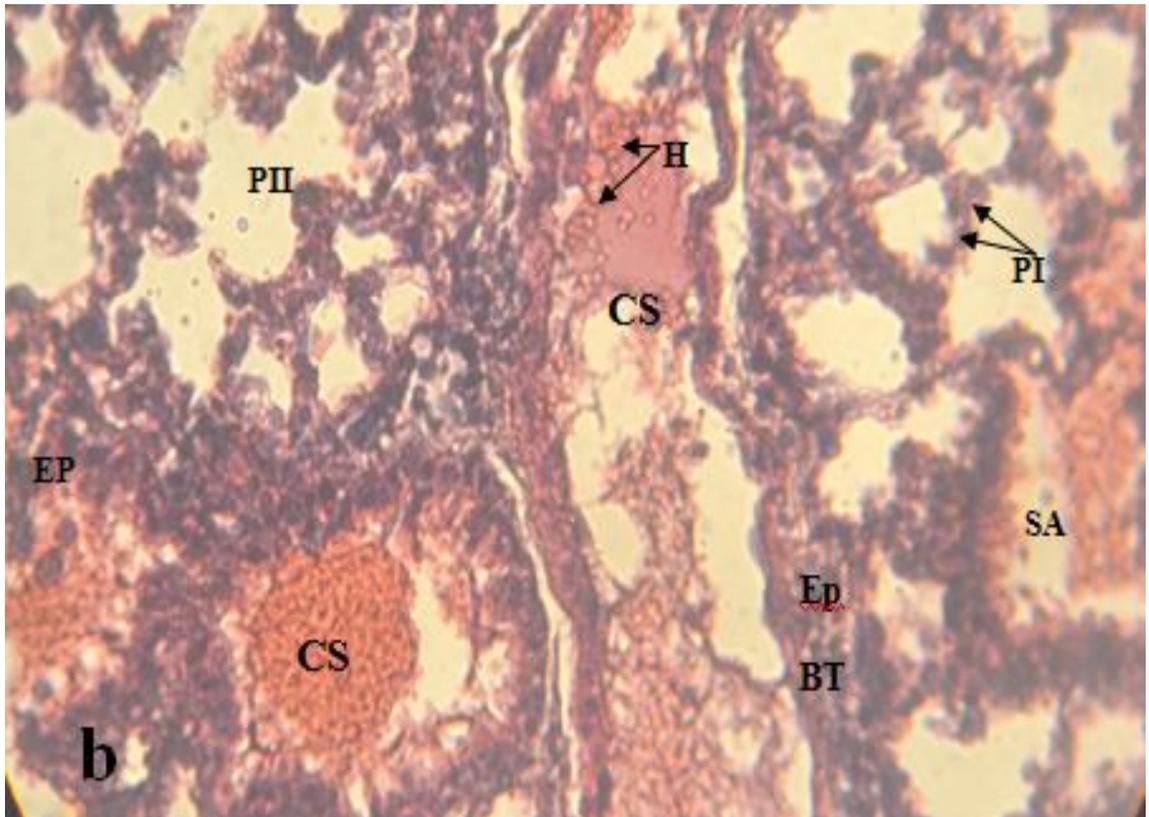
- a- Une architecture normale.
- b- Un canal alvéolaire et un chorion et des cloisons alvéolaires.
- c- des composantes cellulaires de la paroi alvéolaire (pneumocytes de type I et II).

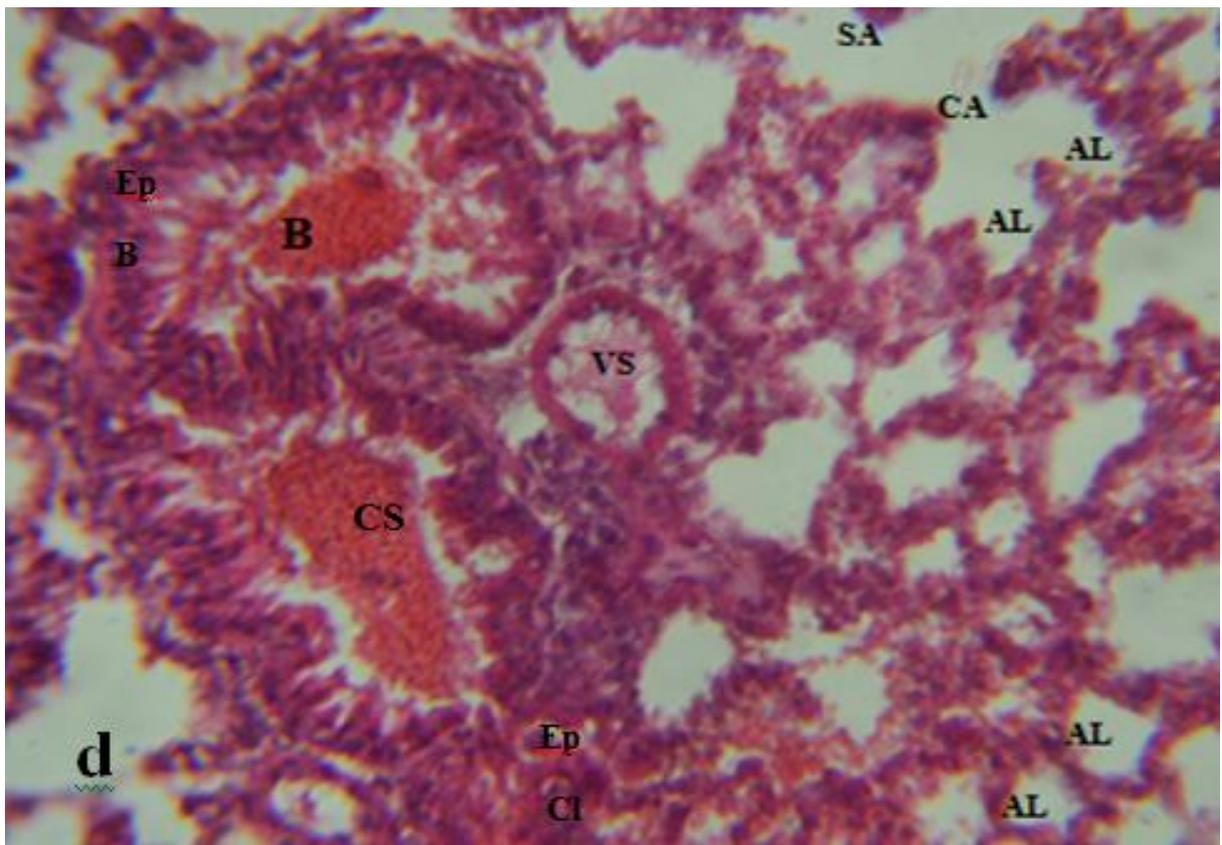
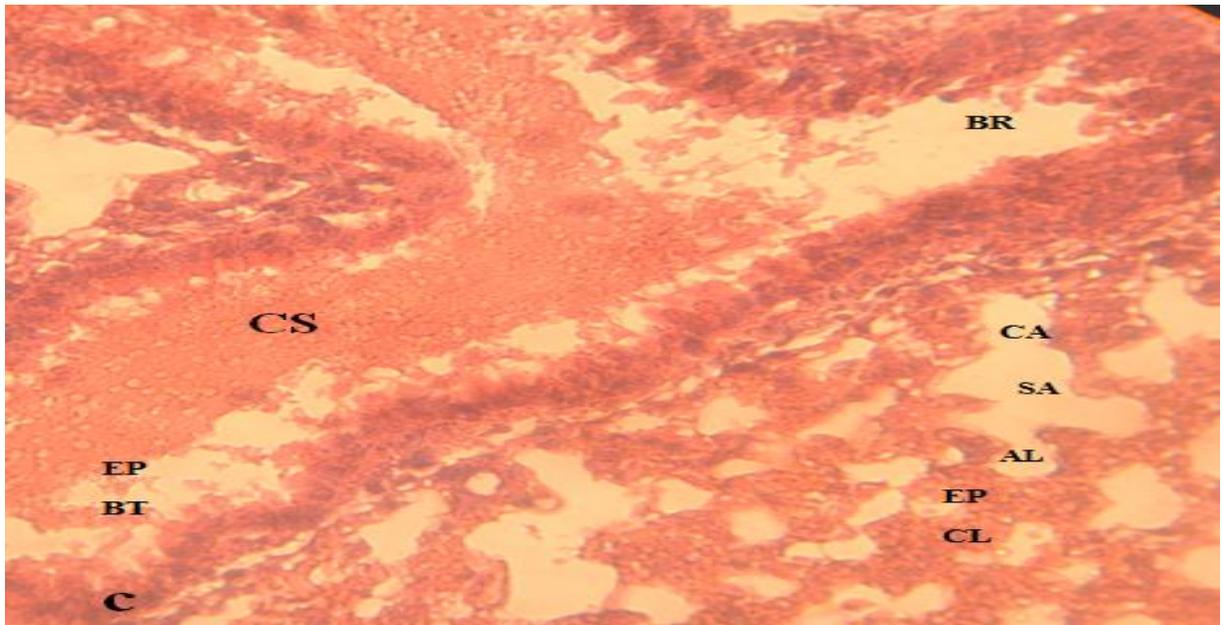
**Figure 13 : Structure du parenchyme pulmonaire chez les souris femelles témoins.**

**Coloration : Trichrome de Masson: (a et b) ; H.E: (c). Grossissements : x400(a, b et c).**



\*





**AL:** Alvéole ; **B:** Bronchiole; **BT :** Bronchiole terminale ; **CA:** Canal alvéolaire; **CH:** Chorion ; **CS :** Congestion sanguine ; **SA:** Sac alvéolaire; **H :** Hématies ; **PI :** Pneumocytes de types I ; **PII :** Pneumocytes de types II ; **EP :** Epaissement ; **VS :** Vaisseau sanguin .

Les altérations au niveau du parenchyme pulmonaire sont :

- a- L'épaississement des parois des bronches, dont la lumière contient des hématies.
- b- L'épaississement de paroi des bronchioles terminale, avec la présence de congestion sanguine.
- c- L'épaississement des cloisons inter alvéolaires et la réduction du diamètre des sacs alvéolaires et des alvéoles, avec l'installation d'une congestion sanguine.
- d- La congestion sanguine au niveau des bronches.

**Figure 14 : Structure du parenchyme pulmonaire chez les souris femelles traitées.**

**Coloration : Trichrome de Masson: (a ) ; H.E: (b, c et d). Grossissements : x400 (a, b, c et d).**

La nécessité d'une production agricole plus élevée que l'un des conditions préalables à l'amélioration du niveau de vie de la population implique l'utilisation de divers produits chimiques. Pesticides pour prévenir les pertes de plantes cultivées, nourriture et le stress de l'alimentation animale (Bahadur Singh et al., 2012).

Les pesticides sont des polluants les plus dangereux pour la santé humaine et l'environnement en raison de leurs effets toxiques et de l'accumulation de leurs caractéristiques dangereuses, ils se propagent rapidement autour, par divers agents tels que l'eau, l'air, et de la chaîne alimentaire (Rasgele, 2015)

L'Acétamipride (ACE), est un insecticide néonicotinoïde, largement utilisé pour lutter contre les insectes suceurs (Rasgele, 2015), présente une plus grande affinité pour les récepteurs nicotiques des insectes par rapport à ceux des vertébrés, chez les mammifères ACE à une large gamme d'influence sur les fonctions physiologiques (Zhang et al., 2011 ; Wallace, 2014)

La présente étude a pour objectif la recherche d'une hépatotoxicité et une pneumotoxicité chez des souris femelles adultes suite au traitement par voie orale de 1/20 DL50 d'ACE pendant 20 jours. D'après les résultats obtenus, aucun changement de comportement chez les souris n'est signalé pendant toute la période d'expérimentation. Ces résultats ne corroborent pas avec ceux de Singh et al. (2012) qui ont remarqué **une dépression sur des souris qui ont été traité par une dose de 1/20 DL50 (10mg/Kg) pendant 28 jours, cela revient probablement a la période du traitement imposé au souris. Tandis qu'une salivation très douce a été observée selon Mondal et al. (2014) chez des rats femelles traitées par 25mg/Kg d'acetamipride pendant 28 jours (par voie oral).**

Dans notre expérimentation et selon le suivi de la variation des poids corporel des souris au cours du traitement pendant 20 jours, toutes les souris témoins et traités on présentés une augmentation non significative du poids corporel. Des résultats similaires sont rapportés par Singh et al. (2012) chez les souris males traités par 10mg/Kg d'ACE pendant 28 jours.

Ces souris ont montré une augmentation du poids jusqu'au 20ème jour du traitement suivi par une diminution à partir du 21ème jour. L'augmentation du poids corporel de nos souris montre que la dose utilisée n'a pas d'effet toxique sur la croissance des souris.

Afin de rechercher une affection hépatique et pulmonaire chez les souris traitées par 1/20 DL 50 d'ACE, une étude histologique et les dosages sanguins des taux d'ALAT, ASAT et bilirubine sont réalisés. Les résultats obtenus ont indiqué une légère baisse qui reste non significative des taux d'ALAT et ASAT par rapport aux témoins. Cette baisse ne reflète pas une atteinte hépatique car cette dernière est généralement associée avec l'augmentation des transaminases (Guyader, 2005 ; Werner et al., 2013 )

Il n'existe aucune information, à notre connaissance, au sujet de la baisse de l'ALAT quelle que soit l'espèce considérée. Et puisque la baisse est faible et non significative on peut la considérer normale.

Le taux de bilirubine totale reste inchangé par rapport à celui des souris témoins, donc 1/20DL50 d'ACE n'a pas affecté les taux sanguins de la bilirubine et des transaminases.

L'étude en microscope optique a révélé des modifications structurales remarquables au niveau du parenchyme hépatique chez presque toutes les souris traitées :

Une congestion sanguine, une dilatation vasculaire et une dilatation sinusoidale et des infiltrations à proximité de la veine et au sein du parenchyme. Certaines hépatocytes sont hypertrophiées avec un cytoplasme clair et une chromatine dense. Des résultats similaires sont retrouvés chez des souris traitées par Acétamipride et propineb (Rasgele et *al.*, 2015; Mondal et *al.*, 2014) et sur des rats femelles de souche Wistar traités par l'ACE.

L'étude en microscopie photonique des poumons des souris traitées montrent des altérations au niveau du parenchyme pulmonaire. Ces altérations sont marquées par l'épaississement des cloisons inter-alvéolaires, les parois des alvéoles sont fortement épaisses. Les bronchioles terminaux sont bordées avec un épithélium altéré, irrégulièrement épais et discontinu. La lumière bronchiale présente de débris cellulaires. La congestion des vaisseaux sanguins et une hémorragie modérées ont également observées. Cet insecticide (ACE) montre des altérations au niveau des foyers de cet organe, pas tout l'organe, donc Le degré d'altération augmente en fonction de la dose et la durée.

Plusieurs chercheurs ont trouvés des altérations similaires au niveau du parenchyme pulmonaire chez des rats femelles de souche wistar Pour une dose de 25 mg/kg/j pendant 28 jours. Ces altérations ont été considérées comme des signes de toxicité (Mondal et *al.*, 2014).

L'ensemble de ces résultats montrent que l'acétamipride induit des lésions considérables au niveau des structures tissulaires dans ces organes (Malih et *al.*, 2009).

# CONCLUSION ET PERSPECTIVES

A travers cette étude nous nous sommes intéressées d'une part au contrôle de conformité de quelques paramètres biochimiques (ASAT, ALAT et Bilirubin), suite à l'administration d'une faible dose : 1/20 de la DL 50 d'Acétamipride par voie orale et d'autre part à l'évaluation de sa toxicité sur l'aspect morpho-fonctionnel hépatique et pulmonaire chez des souris femelles.

A la lumière des résultats du bilan biochimiques, il s'avère que la faible dose d'ACE : 1/20 DL 50 n'est pas toxique.

Par contre, l'examen histologique s'est caractérisé par des modifications structurales plus ou moins importantes au niveau hépatique et pulmonaire. En effet des altérations remarquables du parenchyme hépatique se sont manifestées par :

- dilatation des capillaires sinusoides,
- congestion sanguine et dilatation centro-lobulaire,
- infiltration cellulaire,
- augmentation de la taille des hépatocytes,
- perte d'organisation architecturale du parenchyme hépatique et présence d'un aspect cytoplasmique vésiculaire.

L'atteinte du parenchyme pulmonaire est marquée par :

- l'épaississement du cloisons interalvéolaire,
- réduction du diamètre des sacs alvéolaires et des alvéoles,
- congestion sanguine,
- l'accumulation des débris.

L'ensemble de ces altérations confirment l'effet hépatotoxique et pneumotoxique de l'ACE à raison de 1/20 de la DL50 chez les souris femelles.

Cette étude reste toujours insuffisante, par rapport à la dose administrée, la durée respectée, les paramètres et les fonctions étudiées. Pour cela nous recommandons d'explorer d'autres fonctions, d'autres doses et aussi que des études de toxicité chronique soient réaliser sur l'acétamipride afin de pouvoir extrapoler les effets toxiques à l'être humain.

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

# ANNEXES

## ALAT

### Réactifs :

#### Composants et concentrations :

**R1 :** tris                      PH 7.15                      140 mmol/L

   L-Alanine                      700 mmol/L

   LDH (lactate déshydrogénase)                       $\geq 2300$  U/L

**R2 :** 2- oxoglutarat                      85 mmol/L

   NADH                      1 mmol/L

#### Pyridoxal-5-phosphat FS

   Tampon de Good      PH 9.6                      100 mmol/L

   Pyridoxal-5-phosphat                      13 mmol/L

### Mode opératoire :

Longueur d'onde                      340 nm, Hg 365 nm, Hg 334 nm

Trajet optique                      1cm

Température de mesure      37°C

Mesure                      contre l'air

|                         |              |
|-------------------------|--------------|
| Echantillon / calibrant | 100 $\mu$ L  |
| Réactif 1               | 1000 $\mu$ L |
| Réactif 2               | 250 $\mu$ L  |

Mélanger, incuber échantillon/Calibrant et le réactif 1 pendant 5 min. puis ajouter le réactif 2, puis mélanger, lire l'absorbance après 1 min. et déclencher le chronomètre . lire l'absorbance à nouveau après 1,2 puis 3 min.

### Calcul :

Calculer le  $\Delta A/\text{min}$ , à partir des mesures d'absorbance et multiplier par le facteur correspondant à la table ci-dessous :

$\Delta A/\text{min} \times \text{facteur} = \text{activité de ALAT [ U/L]}$ .

|        | Démarrage par le substrat | Démarrage par l'échantillon |
|--------|---------------------------|-----------------------------|
| 340 nm | 2143                      | 1745                        |
| 334 nm | 2184                      | 1780                        |
| 365 nm | 3971                      | 3235                        |

Avec le calibrant

$$\text{ALAT [ U/L]} = \frac{\Delta A/\text{min échantillon}}{\Delta A/\text{min calibrant}} \times \text{Con. Calibrant [ U/L]}$$

## ASAT

### Réactifs :

#### Composants et concentrations :

|                               |         |                 |
|-------------------------------|---------|-----------------|
| <b>R1 :</b> tris              | PH 7.65 | 110 mmol/L      |
| L-Aspartate                   |         | 320 mmol/L      |
| MDH ( malate déshydrogénase)  |         | $\geq 800$ U/L  |
| LDH ( lactate déshydrogénase) |         | $\geq 1200$ U/L |
| <b>R2 :</b> 2- oxoglutarat    |         | 65 mmol/L       |
| NADH                          |         | 1 mmol/L        |

#### Pyridoxal-5-phosphat FS

|                      |        |            |
|----------------------|--------|------------|
| Tampon de Good       | PH 9.6 | 100 mmol/L |
| Pyridoxal-5-phosphat |        | 13 mmol/L  |

### Mode opératoire :

( le même mode que l'ALAT)

|                         |                    |
|-------------------------|--------------------|
| Echantillon / calibrant | 100 $\mu\text{L}$  |
| Réactif 1               | 1000 $\mu\text{L}$ |
| Réactif 2               | 250 $\mu\text{L}$  |

-mélanger, incuber l'échantillon avec le réactif 1, pendant 5 min. puis ajouter le réactif 2, mélanger, lire l'absorbance après 1 min. et démarrer le chronomètre, lire l'absorbance à nouveau après 1,2 puis 3 min.

**Calcul :**

**Avec facteur**

A partir des lectures d'absorbance, calculer le  $\Delta A/\text{min}$  et multiplier par le facteur correspondant du tableau ci-dessous :

**$\Delta A/\text{min} \times \text{facteur} = \text{activité de ASAT [ U/L ]}$**

|                             |      |
|-----------------------------|------|
| Démarrage par le substrat   |      |
| 340 nm                      | 2143 |
| 334 nm                      | 2184 |
| 365 nm                      | 3971 |
| Démarrage par l'échantillon |      |
| 340 nm                      | 1745 |
| 334 nm                      | 1780 |
| 365 nm                      | 3235 |

Avec le calibrant

$$\text{ASAT [ U/L ]} = \frac{\Delta A/\text{min échantillon}}{\Delta A/\text{min calibrant}} \times \text{Con. Calibrant [ U/L]}$$

**Bilirubine :**

**Réactifs :**

**R1 :** tampon phosphate 50 mmol/L

Nacl (Détergent, stabilisants) 150 mmol/L

**R2 :** 2 ,4-sel de dichlorophényl-diazonium 5 mmo/L

Hcl (détergent)

130 mmol/L

**Mode opératoire :**

Longueur d'onde 546 nm (540 – 560 nm)

Trajet optique 1cm

Température de mesure entre + 20°C et + 25°C/37°C

Mesure contre le blanc reactif

|                              | <b>Blanc</b> | <b>Echantillon /calibrant</b> |
|------------------------------|--------------|-------------------------------|
| <b>Echantillon/calibrant</b> | -            | 25 µL                         |
| <b>Eau distillée</b>         | 25 µL        | -                             |
| <b>Réactif 1</b>             | 1000 µL      | 1000 µL                       |
| <b>Réactif 2</b>             | 250 µL       | 250 µL                        |

$$\Delta A = [ ( A2 - A1 ) \text{ Echantillon/ Calibrant } ]$$

**Calcul :**

Avec calibrant

$$\text{Bilirubine [mg/L]} = \frac{\Delta A \text{ échantillon}}{\Delta A \text{ cal}} \times \text{Conc. Cal. [mg/L]}$$

Facteur de conversion :

$$\text{Bilirubine [mg/L]} \times 1.71 = \text{bilirubine [ }\mu\text{mol/L]}$$

**Tableau 2: composition de l'alimentation**

| Composition des bouchons                       |       |
|--|-------|
| Protéine (%)                                   | 20    |
| Matière grasse brute (%)                       | 4     |
| Centre brute                                   | 6.5   |
| Cellulose brute (%)                            | 5.5   |
| Calcium (%)                                    | 1.1   |
| Phosphore (%)                                  | 0.8   |
| Vitamine A (UL/kg)                             | 22000 |
| Vitamine D3 (UL/kg)                            | 2200  |
| Vitamine E (UL/kg)                             | 100   |
| Sulfate de cuivre pentahydraté/ cuivre (mg/kg) | 8     |

**Dans la période d'adaptation:**





Souris en cages / bouteilles d'eau / bouchons

**Dans la période du gavage :**

**موبيستوب**  
20 % من الأسيثامبريد  
**MOPISTOP**  
ACETAMIPRIDE 20 % SP  
SAPHYTO  
La Défense des Végétaux

Composition: Acetamipride  
Concentration: 20 %  
Formulation: SP  
Classification: Xn  
C.H.P.P.U.A.: 07 45 048

50 غرام Grammes

التكوين: أسيتامبريد  
التركيز: 20 %  
الصيغة: أس بي  
التصنيف: Xn  
رقصة البيع: 07 45 048

Fabriqué par la société: GEORGE-DARAS S.A  
14 rue FORTIA B.P. 1978-13222  
Marseille cedex 1- France - Tél: 491.04.88.08

Produit Importé Par SARL SAPHYTO  
rue N° 2 villa n° 7 Lot B Les Vergers Bir Mourad  
Rais ALGER - Tél: 021.54.37.97 / 021.44.04.61

ملحوظة: شركة جورج من غراس من أ  
14 شارع فورتيا ب.ب. 13222 - 1878  
مربطها بملصق قرمض  
ميد مستورد من طرف شركة سافيتو  
شارع رقم 2 فيلا رقم 7 قطعة ب حي البستانين  
بئر مراد راس - الجزائر  
هاتف: 021.54.37.97 / 021.44.04.61

01 نوفمبر 2015 تاريخ الإنتاج  
01 نوفمبر 2015 Date Fabrication  
01 نوفمبر 2017 تاريخ الصفاة  
01 نوفمبر 2017 Date de Peremption

MOPISTOP est une poudre mouillable  
MOPISTOP est un insecticide systémique il est absorbé par les plantes.  
MOPISTOP est compatible avec la plupart des produits phyto-sanitaires.

MOPISTOP n'est pas toxique pour les abeilles.  
MOPISTOP est autorisé pendant la floraison.

DOSES:  
\* Arbres fruitiers 10 à 12.5 g/ha  
\* Pucerons / Aleurodes  
\* Cultures maraichères 10 à 12,5 g/ha

DELAI AVANT RECOLTE:  
\* Arbres fruitiers 14 Jours  
\* Cultures maraichères 7 Jours

Precautions et recommandations durant la manipulation  
- Lire attentivement l'étiquette avant utilisation.  
- Ce produit est toxique par ingestion ou par inhalation. - En utilisant ce produit il faut porter un matériel de protection (gants, masque etc...). - Laver les mains après l'utilisation. - Ne pas manger ni boire ni fumer durant l'utilisation. - Ne pas laisser le produit à la portée des enfants ni à côté des fourrages ou des aliments. Au cas d'accidents, consulter un docteur et si s'est possible lui montrer l'étiquette. Eviter le contact avec les yeux, la peau, et les vêtements. Au cas de contact, laver au moins durant 15 minutes.  
- Garder à l'écart des aliments et boissons y compris ceux des animaux. - stocker uniquement dans l'emballage d'origine dans un endroit ventilé, sec et à l'abri de la lumière et bien fermer.

موبيستوب مسحوق قابل للتذويب  
موبيستوب مبيد حشري جهازى جهازي من قبل  
النبات  
موبيستوب يتوافق مع معظم المنتجات الصحية  
النباتية  
موبيستوب ليس خطير على النحل  
موبيستوب مسموح به أثناء الإزهار

التغذية  
الفاكهة / الخضراوات / حشرة الين  
الأشجار المثمرة من 10 إلى 12.5 غ/هـ  
حشرة الخن / الحباب الأبيض  
الحشرات من 10 إلى 12.5 غ/هـ  
بصلة قبل الحصاد  
الأشجار المثمرة  
14 يوما  
07 أشهر

إحتياطات الإستعمال:  
- قراءة الإرشادات بعناية قبل الاستخدام - هذا  
المنتج عبارة عن معلق مائي سائل من الأبياع  
أو الأستحقاق - عند استخدام هذا المنتج يجب  
ارتداء معدات وقائية (قفازات، الألبسة الخ...)  
- غسل اليدين بعد الاستخدام لا تأكل أو تشرب  
أو تدخن أثناء الاستخدام - لا تدع هذا المنتج في  
منازل الأطفال أو بجانب المكب أو القمامة - في  
حالات وقوع حوادث يجب استشارة الطبيب وإذا كان  
ممكن إظهار الملصق كتحجب ملاحظة الخلد والحيوان  
والإنسان في حالة حدوث ملاحظة مقلدة بالعين  
والخلد وتطلى لا يقل عن 15 دقيقة - احفظ به  
بعيدا عن الطعام والشراب وكذا أغذية الحيوانات  
- كما يحزن لفظ في الحاوية الأصلية في مكان فيه تهوية  
جيدة وجاف بعيد عن الضوء ومعلقة بإحكام

مركز عبد النعم بالمرات  
م.س.ح/باب الواد  
021.97.98.98  
م.س.ح/باب الواد  
Centre Anti-poison d'Alger  
C.H. El Bab El Oued  
Tél: 021.97.98.98

Insecticide : Acétamipride



Aiguille



seringue



cathéter



Quantité de la matière active pour chaque souris



Gavage par voie orale

**Dans la période du sacrifice :**



Fiole



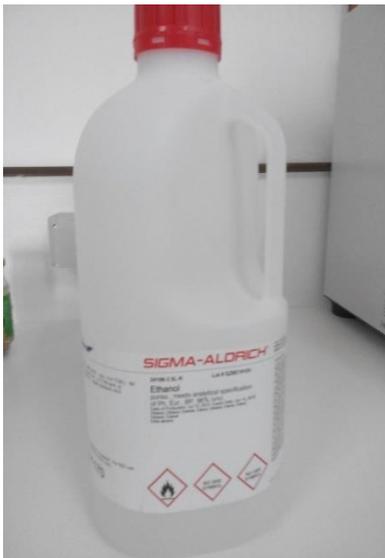
Pinces



Eprouvette graduée et entonnoir



Ciseau



Alcool



formol



Eau distillée



**Etude histopathologique du foie et des poumons :**



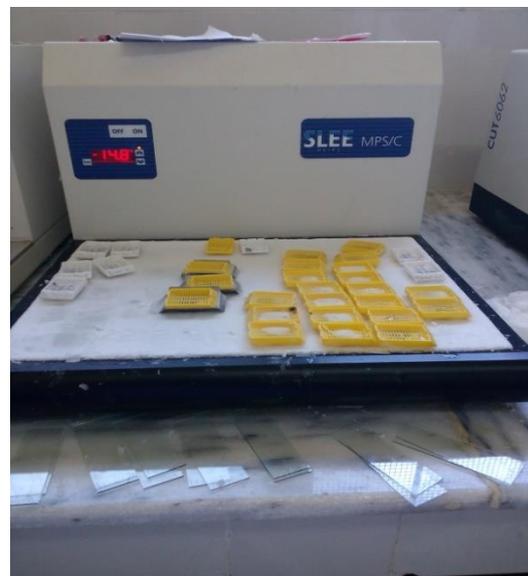
Automate



Etuve



Distributeur de paraffine



Confection des blocs de paraffine



Microtome



Bain marie



Porte lames et lames



Batterie de coloration l'Eukitt



Automate de coloration



Microscope photonique de Leica

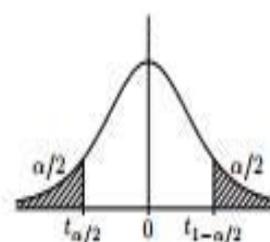
**Tableau 3:** tableau de student.



Si  $T$  est une variable aléatoire suivant la loi de Student à  $\nu$  degrés de liberté, la table donne, pour  $\alpha$  fixé, la valeur  $t_{1-\alpha/2}$  telle que

$$P\{|T| \geq t_{1-\alpha/2}\} = \alpha.$$

Ainsi,  $t_{1-\alpha/2}$  est le quantile d'ordre  $1 - \alpha/2$  de la loi de Student à  $\nu$  degrés de liberté.



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

**Tableau 4:** évolution de la masse corporelle des souris témoins au cours des semaines.

| <b>Poids (g)</b><br><b>Témoins</b> | <b>avant<br/>l'expérimentation</b> | <b>1ere semaine<br/>d'expérimentation</b> | <b>2<sup>ème</sup><br/>semaine</b> | <b>3<sup>ème</sup> semaine<br/>(fin<br/>d'expérimentation)</b> |
|------------------------------------|------------------------------------|---|------------------------------------|--|
| <b>1</b>                           | 24                                 | 26  | 25                                 | 26   |
| <b>2</b>                           | 20                                 | 31  | 21                                 | 21   |
| <b>3</b>                           | 34                                 | 35  | 33                                 | 36   |
| <b>4</b>                           | 29                                 | 29  | 28                                 | 28   |
| <b>5</b>                           | 22                                 | 22  | 19                                 | 18   |
| <b>6</b>                           | 34                                 | 33  | 33                                 | 34   |
| <b>Moyenne</b>                     | 27,16                              | 29,33                                     | 26,5                               | 28,83  |
| <b>Ecart type</b>                  | 5,55                               | 4,34                                      | 5,40                               | 5,89   |

**Tableau 5** : évolution de la masse corporelle des souris traitées au cours des semaines.

| <b>Poids(g)</b><br><b>Traités</b> | <b>avant<br/>l'expérimentation</b> | <b>1<sup>ère</sup><br/>semaine<br/>d'expérimentation</b> | <b>2<sup>ème</sup><br/>semaine</b> | <b>3<sup>ème</sup> semaine<br/>(fin<br/>d'expérimentation)</b> |
|-----------------------------------|------------------------------------|--|------------------------------------|--|
| <b>1</b>                          | 31                                 | 36   | 34                                 | 37   |
| <b>2</b>                          | 29                                 | 28   | 27                                 | 30   |
| <b>3</b>                          | 25                                 | 28   | 27                                 | 30   |
| <b>Moyenne</b>                    | 28,33                              | 30,66  | 29,33                              | 32,33  |
| <b>Ecart type</b>                 | 2,49                               | 3,77   | 3,29                               | 3,29   |

**Tableau 6**: Concentration de certains paramètres biochimiques chez les souris témoins.  
(n=6)

| <b>Témoin</b> | <b>Taux<br/>ASAT<br/>(UI/L)</b> | <b>Taux<br/>ALAT<br/>(UI/L)</b> | <b>Bilirubine<br/>Totale<br/>(mg/l)</b> | <b>Bilirubine<br/>directe<br/>(mg/l)</b> | <b>Bilirubine<br/>indirecte<br/>(mg/l)</b> |
|---------------|---------------------------------|---------------------------------|---|--|--|
| <b>1</b>      | 386                             | 149                             | 3,01                                    | 2,81                                     | 0,20                                       |
| <b>2</b>      | 410                             | 96                              | 2,12                                    | 0,98                                     | 1,14                                       |
| <b>3</b>      | 252                             | 69                              | 2,48                                    | 0,00                                     | 2,48                                       |
| <b>4</b>      | 339                             | 80                              | 2,38                                    | 1,18                                     | 1,20                                       |
| <b>5</b>      | 405                             | 89                              | 3,57                                    | 1,30                                     | 2,27                                       |
| <b>6</b>      | 302                             | 87                              | 2,26                                    | 1,16                                     | 1,10                                       |

|                   |        |        |       |       |       |
|-------------------|--------|--------|-------|-------|-------|
|                   |        |        |       |       |       |
| <b>Moyenne</b>    | 349    | 95     | 2,636 | 1,238 | 1,398 |
| <b>Ecart type</b> | 57,654 | 25,553 | 0,501 | 0,824 | 0,770 |

**ALAT** : Alanine amino transférase ; **ASAT** : Aspartate amino transférase.

**Tableau 7 : Concentration de certains paramètres biochimiques chez les souris traitées.**  
(n=3)

| <b>Traités</b>    | <b>Taux ASAT<br/>(UI/L)</b> | <b>Taux ALAT<br/>(UI/L)</b> | <b>Bilirubine<br/>Totale<br/>(mg/l)</b> | <b>Bilirubine<br/>directe<br/>(mg/l)</b> | <b>Bilirubine<br/>indirecte<br/>(mg/l)</b> |
|-------------------|-----------------------------|-----------------------------|---|--|--|
| <b>1</b>          | 396                         | 89                          | 2,60                                    | 1,20                                     | 1,40                                       |
| <b>2</b>          | 338                         | 73                          | 3,08                                    | 1,25                                     | 1,83                                       |
| <b>3</b>          | 230                         | 77                          | 2,29                                    | 1,09                                     | 1,20                                       |
| <b>Moyenne</b>    | 335,33                      | 79,67                       | 2,656                                   | 1,18                                     | 1,476                                      |
| <b>Ecart type</b> | 74,767                      | 6,798                       | 0,324                                   | 0,066                                    | 0,262                                      |

## **Fiches techniques :**

### **Fiche technique N°1 : Fixation**

**Fixateur :** formol à 10%

**Formule chimique :**

**Poids moléculaire :**

**Composés :**

Eau distillé .....90 ml

Chlorure de sodium.....0.85 à 0.90 g

Formol concentré.....10 ml

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

**Gélatine**

Gélatine en poudre .....4g

Eau distillée.....100 ml

### **Fiche technique N°3 :Coloration**

Les étapes des colorations réalisées sont les suivantes :

#### **a- Coloration de Trichrome de Masson :**

-un bain d'alcool 70% .....(3 minutes).

-un bain d'alcool 90% .....(3 minutes).

-un bain d'alcool 100% .....(3 minutes).

-rinçage à l'eau courante.

-un bain d'hématoxyline de Groat .....(2 minutes).

-rinçage à l'eau courante.

-un bain de fushine de ponceau .....(30 secondes).

-rinçage à l'eau courante.

-un bain de phosphomolyptique phosphotongstique .....(5minutes).

- un bain de vert lumière .....(3 à 4 minutes).
- rinçage à l'eau courante.
- un bain d'alcool de 100 % .....( 5 secondes).
- un bain de xylène .....(3 minutes)

**b- Coloration de l'hématoxyline-éosine (HE) :**

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

# Références bibliographiques

**Aragon G (2010).** When and how to evaluate mildly elevated liver enzymes in apparently healthy patients. *Cleveland Clinic J of medicine*. Vol.77, n°3, p :195-204.

**Bloomquist J.R. (1996)** Insecticides : chemistries and characteristics. In: E. B. Radcliffe and W. D. Hutchison [eds.], *Radcliffe's IPM World Textbook*.

**Bourbia.Ait hamlet Smina.,(2012).** Evaluation de la toxicité de mixtures de pesticides sur un bioindicateur de la pollution des sols *Helix aspersa*/ these en vue de l'obtention d'un diplôme de doctorat, Université Badji mokhtar-annaba.

**Bouziati M., (2007).** L'usage immodéré des pesticides. De graves conséquences sanitaires. Le guide de médecine et de la santé. *Santémaghreb*.

**Brignon J.M, Gouzy.A.(2016).** INERIS, 2015. Données technico-économiques sur les substances chimiques en France : Néonicotinoïdes, DRC-15-136881-07690, p.43.

**Buckingham S.D., Lapied B., L Corronc H., (1997).** Imidacloprid actions on insect neuronal acetylcholine receptors. *The Journal of Experimental Biology*. 200: 2685-2692.

**Dadoune.J.P.,Siffroi.J.P.,Vendrely.E.,(1997).** Histologie de la biologie à la clinique, ed :Médecine-Sciences , pp.173-178.

**Dadoune.J.P.,Siffroi.J.P.,Vendrely.E.,(1997).** Histologie de la biologie à la clinique, ed :Médecine-Sciences , pp.236-243.

**El Heni.J, Messaoudi.I, Hamouda.F, Kerkeni.A.,(2008).** Protective effects of selenium(Se) and Zinc (Zn) on cadmium (Cd) toxicity in the liver and kidney of the rat: Histology and Cd accumulation. Elsevier Inc.

**Gabrisch K. ; Zwart P.,(1992).** La consultation des nouveaux animaux de compagnie, Editions du Point Vétérinaire, Paris, pp : 1-76.

**Gandillet.A.(2004).** Evaluation de la cinétique de régénération hépatique et de l'efficacité de transplantation d'hépatocytes dans différents modèles murins d'insuffisance hépatique/ Thèse présentée pour obtenir le grade de Docteur de l'université Louis Pasteur Strasbourg I, p.170.

**Gartner L. P., Hiatt J.L., (1997).** Atlas en Couleur d'Histologie. Ed., Pradel, France, 397p.

**Gibbons.D, Morrissey.C, Mineau.P., (2014).** Examen des effets directs et indirects des néonicotinoïdes et du fipronil sur la faune des vertébrés.

**Heath J.W, Lowe.J, Stevens.A, Yong.B., (2006).** Weather's Functional Histology, ed.5, p.413.

**Heath J.W, Lowe.J, Stevens.A, Yong.B., (2006).** Weather's Functional Histology, ed.5, p.210-215.

**Hillyer ; Quesenberry ferrets.(1996).** rabbits and rodents clinical medicine and

**Hould.R.(1982).** Histologie descriptive. P:154-155.

<http://ipmworld.umn.edu>, University of Minnesota, St. Paul, MN.

**Jeschke P.,Nauen R, Schindler M et Elbert A.(2011).** overview of the status and global strategy for neonicotinoids. Journal and Agricultural and Food Chemistry, 59:2897-2908.

**Keith L.Moore., Arthur F.Dalley . (1999)** Anatomie médicale aspects fondamentaux et applications cliniques de boeck, vol. 66, p.100-102.

**Kierszenbaum A. L., (2006).** Histologie et Biologie Cellulaire : une Introduction à l'Anatomie Pathologique. Ed., de Boeck & Larcier, Espagne, p.593.

**Kierszenbaum A. L., (2006).** Histologie et Biologie Cellulaire : une Introduction à l'Anatomie Pathologique. Ed., de Boeck & Larcier, Espagne, p.361.

**Kohler C., (2010-2011).** Collège universitaire et hospitalier des histologistes, embryologistes, cytologistes et cytogénéticiens (CHEC).

**Legrand.A., Del Corso.A.,Garnotel.R.,(2007).** Le guide des examens biologiques. Guide réalisé avec le soutien des laboratoires Merck Génériques/Mylan et avec la collaboration de la Société Française de Biologie Clinique et de la section G de l'ordre des pharmaciens.

**Lullmann.R.(2006).** Histologie.

**Maiensfish, P., M. Angst, F. Brandi, W. Fischer, D. Hofer, H. Kayser, W. kobel, A. Rindlisbacter, R. Senn, A. Steinemann et H. Widmer. (2001).** «Chemistry and biology of thiamethoxan: a second generation neonicotinoid». *Pest Management Science*, vol. 57, p. 906-913.

**Maiensfish, P., H. Huerlimann, A. Rindlisbacher, L. Gsell, H. Deltwiler, J. Haettenschwiler, E. Sieger, and M. Walti. (2001).** The cliscovery oh thiamethoxam: a seconcl-generation neonicotinoid. *Pest manag. Sci.* 57 : 167-176.

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

**Martoja, R., Martoja-Pierson, M. (1967).** Initiation aux Techniques de l'Histologie animale. Paris: Masson 345 p.

**Matsuda K., Buckingham S.D., Kleier D., Rauh J.J., Grauso M., Sattelle D.B., (2001).** Neonicotinoids : insecticides acting on insect nicotinic acetylcholine receptors. *Trends in Pharmacological Sciences.* 22 (11): 573-580.

**Medjour,(2014).** Cours de toxicologie 3ème Année Biochimie, licence LMD. Université D'El-Oued, 1-30.

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

**Mondal S., Ghosh R. C., Mukhopadhyaya S. K. (2011).** Studies on the Electrolytes and Microelements in Wistar rat Following Multiple Exposures to Acetamiprid. *Toxicology and Industrial Health,* 28: 422-427.

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

**RECA.(2013)** – Programme de productivité agricole en Afrique de l'ouest – PPAAO Niger, en collaboration avec l'INRAN et la DGPV.

**Regnault R. (2005).** Enjeux phytosanitaires pour l'agriculture et l'environnement. Londres-Paris-New York : TEC & DOC, p.1013.

**Singh T. B., Mukhopadhyayi S. K., Sar T. K., Ganguly S., (2012).** Acetamiprid Induces Toxicity in Mice under Experimental Conditions with Prominent Effect on the Hematobiochemical Parameters. *Journal of drug and metabolism toxicology,* 6: 1-5.

**Stevens A., Lowe J., 1997-** Histologie Humaine. Ed., De Boeck & Larcier, Belgique, p : 406. surgery, W.B. Saunders, Philadelphie 1997, 432p.

**Tej Bahadur Singh<sup>1</sup>, Sunit Kumar Mukhopadhyay<sup>1\*</sup>, Tapas Kumar Sar<sup>2</sup> AND Subha ganguly<sup>3</sup> , ( 2012)** Acetamiprid Induces Toxicity in Mice under Experimental Conditions with Prominent Effect on the Hematobiochemical Parameters.

**Testud F. (2014).** Insecticides néonicotinoides. EMC- pathologie professionnelle et de l'environnement.

Thomas L.(1998). Clinical Laboratory Diagnostics. 1<sup>st</sup> ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft, P.192-202.

**Tomizawa M., Casida J. E., (2005).** Neonicotinoid Insecticide Toxicology: Mechanisms of Selective Action. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol., 45: 247–268.

**Wallece.,(2014).** Acetamiprid. Elsevier Inc. Encyclopedia of Toxicology.1.

**Wallece.,(2014).** Center for Health Sciences, Oklahoma State University, Tulsa, OK, USA.

**Wheater P. R., Young B., Heath J. W., (2004).** Histologie Fonctionnelle. Ed., De Boeck & Larcier, Espagne, 413p.

**Zhang JJ, Wang Y, Xiang hy, LI MX, LI WH, ET AL. (2010)** Oxidative stress: Role in acetamiprid induced impairment of the male mice reproductive system. Agricultural Sciences in China 10: 786-796.

**Zoumenou B., Aïna M. P., Agbohessi P., Imorou Toko I., Scippo M. L., (2015).** Effets Toxicologiques et Méthodes d'Analyse de la Lambda-cyhalothrine et de l'Acétamipride Utilisés Dans la Protection Phytosanitaire du Cotonnier au Bénin. Int. J. Biol. Chem. Sci., 4: 2184-2199.