Annexe

Annexe 1 : Matériels et réactifs utilisés dans le laboratoire

- **Grands matériels**

			
Centrifugeuse	**Spectrophotomètre**	**Bain marie**	**Compteur d'FNS**

- **Petits matériels**

			
Micropipette	**Support**	**les ampoules**	**Plaque de CRP**

Annexe

- **Les Tubes**

Nom de Tube	Couleur de bouchon	Examen biologique
Tube Sec (rouge)		Bilan biochimique et sérologie.
Tube Héparine (vert)		Ionogramme.
Tube EDTA (violet)		FNS. Groupage.
Tube Citrate (bleu)		TP, VS.

- **Réactifs**

				
Latex-CRP	**Urée**	**Créatine**	**Glucose**	**TGO/TGP**

Annexe 2 : Listes des phrases des Risque (R).

R40 : Effet cancérogène suspecté : preuves insuffisante.

R43 : Peut entraine une sensibilisation par contact avec la peau.

R45 : Peut provoquer le cancer.

R49 : Peut provoquer le cancer par inhalation.

R60 : Peut altères la fertilité.

R64 : Risque possible pour les bébés nourris au lait maternel.

Annexe 3 : Des informations sur le sang.

1. Hématologie

L'hématologie est une science établie sur validée approches méthodologiques, et il a vu beaucoup de progrès réalisés au cours des deux dernières décennies grâce au la croissance de la connaissance des fonctions des cellules sanguines et les interactions **(Bailly & Duprat, 1990)**.

2. Sang

Le sang est un indice sensible des modifications physiologiques d'un animal à tout environnement, polluants et il est bien connu que le stress toxique de toute nature montrerait de façon évidente et changements significatifs dans les paramètres hématologiques **(Jain et *al*., 2009)**.

2.1. Quantités prélevées

Le volume sanguin total d'un rat est de **50 à 70 ml/kg**, ce qui équivaut à **6-7%** du poids corporel, et le volume maximum disponible lors d'une exsanguination est de 20 ml/kg. La quantité de sang ponctionnable s'exprime donc soit en ml/kg, ce qui équivaut à un pourcentage du poids total, soit en pourcentage du volume sanguin total **(Descat, 2002).**

2.2. Caractéristiques des cellules sanguines

a. Globules rouges

C'est une cellule anucléée en forme de disque biconcave aplati en son centre. Ces cellules sont très faciles à reconnaître sur un frottis, mais il est important de les observer minutieusement pour reconnaître les variations de taille, de forme, de couleur, de structure et De répartition **(Bailly&Duprat, 1990).**

En microscopie photonique l'érythrocyte apparaît comme un disque gris rosé, plus petit qu'un globule rouge humain avec un diamètre de 5,5 à 7 µm. Ces valeurs extrêmes sont à moduler en fonction de l'âge, les jeunes rats de 2 à 4 semaines ayant des érythrocytes plus gros que ceux des adultes de plus de 8 semaines. On peut caractériser les érythrocytes d'après leur diamètre et leur VGM; on parle alors de macrocytose, de microcytose ou de normocytose. Le terme d'anisocytose est employé lorsqu'il y a une très grande variation du diamètre des hématies sur l'ensemble du frottis.

Les globules rouges sont aussi caractérisés par les paramètres numériques érythrocytaires suivants:

- L'hématocrite (**Ht**) est le pourcentage du volume sanguin occupé par les globules rouges.
- La concentration en hémoglobine [**Hb**] est une protéine, dont la principale fonction est le transport du dioxygène dans l'organisme. Elle se trouve essentiellement à l'intérieur des globules rouges et est responsable de la couleur rouge du sang **(Descat, 2002).**

b. Plaquettes ou thrombocytes

Les thrombocytes sont de petits fragments anucléés de cytoplasme, issus des mégacaryocytes. Ils sont de taille très variable dans le sang circulant mais toujours comprise Entre 1 et 4 µm et leur volume est d'environ 5 fl. Leur couleur est mauve avec quelques granules azurophiles plus roses. Leur rôle étant principalement d'assurer la fonction d'agrégation plaquettaire dans la coagulation **(Boussarie, 1999).**

C. Globules blancs ou leucocytes

●Monocyte

C'est une cellule de la lignée macrophagique qui mesure de 12 à 20 µm de diamètre. C'est donc le plus gros des globules blancs. Le noyau de forme variable et irrégulière (arrondie ou en haricot) est très gros et sa chromatine est fine. Le cytoplasme est gris bleuté et renferme parfois des vacuoles ou de fines granulations azurophiles **(Valli, 1990).**

●Les lymphocytes

Les lymphocytes se caractérisent par : leur forme, régulière, arrondie ; leur taille, le plus souvent petite (voisine de celle d'un globule rouge) ; toutefois, à côté de ces petits lymphocytes, on distingue des moyens et des grands lymphocytes, de taille plus grande ; leur noyau, sphérique, foncé, sans nucléole visible, occupant la presque totalité du volume de la cellule ; leur cytoplasme, réduit à une mince couronne contenant les organites cellulaires habituels en quantité très restreinte. Ce sont les cellules effectrices du système immunitaire **(Benallal, 2016).**

2.3. Quelques propriétés des hématies

- **Durée de vie des érythrocytes**

La durée de vie moyenne des globules rouges du rat est de 45 à 68 jours, ce qui est beaucoup plus faible que chez le chien (100 à 120 jours) et que chez l'homme (127 jours) mais cette durée de vie réduite est compensée par un plus grand nombre de globules rouges circulants **(Descat, 2002).**

- **Hémoglobine**

Comme chez les autres mammifères il existe plusieurs sortes d'hémoglobines : il n'y a pas d'hémoglobine embryonnaire mais au moins un type d'hémoglobine fœtale (1 ou 2 selon les auteurs) et au moins 4 types chez l'adulte. L'architecture générale comporte cinq chaînes de globines : 2 alpha et 3 bêta **(Descat, 2002).**

Annexe 4 : Tableaux de la Variation des paramètres hématologiques et biochimiques et sérologiques chez les rats.

Annexe 4a : Tableau de variation du nombre des globules rouges par litre de sang dans les différents lots expérimentaux (m± δ, n=5).

Lot expérimentale	Témoin	Traité par 0.025mg/kg/j	Traité par 0.05mg/kg/j	Traité par 0.075mg/kg/j	Traité par 0.1mg/kg/j
Nombre des globules rouges (10^{12}/L)	8.00±0.41	7.81±1.05	7.6±0.27	6.51±0.87 **	5.98±0.57 **

Annexe 4b : Tableau de variation de la concentration d'hémoglobine dans les différents lots expérimentaux (m± δ, n=5).

Lot expérimentale	Témoin	Traité par 0.025mg/kg/j	Traité par 0.05mg/kg/j	Traité par 0.075mg/kg/j	Traité par 0.1mg/kg/j
Concentration d'hémoglobine (g/dl)	14.66±0.95	14.38±0.90	13.66±0.64	12.9±0.54 **	12.42±0.46 **

Annexe 4c : Tableau de variation de Pourcentage d'hématocrite dans les différents lots expérimentaux (m± δ, n=5).

Lot expérimentale	Témoin	Traité par 0.025mg/kg/j	Traité par 0.05mg/kg/j	Traité par 0.075mg/kg/j	Traité par 0.1mg/kg/j
Pourcentage d'hématocrite%	45.26±1.53	42.92±7.80	42.02±2.15	38.88±2.08	36.98±3.67 *

Annexe 4d : Tableau de variation du nombre des globules blanc par litre de sang dans les différents lots expérimentaux (m± δ, n=5).

Lot expérimentale	Témoin	Traité par 0.025mg/kg/j	Traité par 0.05mg/kg/j	Traité par 0.075mg/kg/j	Traité par 0.1mg/kg/j
Nombre des globules blancs (10^9/L)	10.48±2.01	11.54±0.84	14.3±0.51 ***	14.92±2.39 ***	16.66±1.59 ***

Annexe 4e : Tableau de variation du pourcentage de lymphocytes dans les différents lots expérimentaux (m± δ, n=5).

Lot expérimentale	Témoin	Traité par 0.025mg/kg/j	Traité par 0.05mg/kg/j	Traité par 0.075mg/kg/j	Traité par 0.1mg/kg/j
Pourcentage de lymphocyte%	77.32±4.57	78.48±6.62	79.68±2.79	84.72±4.77	86.24±3.98 *

Annexe 4f : Tableau de variation du pourcentage de monocytes dans les différents lots expérimentaux (m± δ, n=5).

Lot expérimentale	Témoin	Traité par 0.025mg/kg/j	Traité par 0.05mg/kg/j	Traité par 0.075mg/kg/j	Traité par 0.1mg/kg/j
Pourcentage de monocytes %	7.74±0.97	16.9±1.09 ***	19.34±1.34 ***	19.5±0.97 ***	20.84±3.87 ***

Annexe 4g : Tableau de variation de nombre de plaquettes dans les différents lots expérimentaux (m± δ, n=5).

Lot expérimentale	Témoin	Traité par 0.025mg/kg/j	Traité par 0.05mg/kg/j	Traité par 0.075mg/kg/j	Traité par 0.1mg/kg/j
Nombre de Plaquette (10^9/L).	659.4±23.07	863.4±46.07	1093±74.73 ***	1186.6±269.40 ***	1200.2±112.04 ***

Annexe 4h : Tableau de variation de la concentration de l'urée dans les différents lots expérimentaux (m± δ, n=5).

Lot expérimentale	Témoin	Traité par 0.025mg/kg/j	Traité par 0.05mg/kg/j	Traité par 0.075mg/kg/j	Traité par 0.1mg/kg/j
Concentration de l'urée sanguine(g/l)	0.41±0.09	0.44±0.10	0.45±0.07	0.47±0.09	0.60±0.03 *

Annexe 4i : Tableau de variation de la concentration de la créatinine dans les différents lots expérimentaux (m± δ, n=5).

Lot expérimentale	Témoin	Traité par 0.025mg/kg/j	Traité par 0.05mg/kg/j	Traité par 0.075mg/kg/j	Traité par 0.1mg/kg/j
Concentration de la créatinine (g/L)	6.22±0.47	5.21±0.58	5.16±0.82	5.45±0.69	6.43±0.61 *

Annexe 4j : Tableau de variation de l'activité du TGO dans les différents lots expérimentaux (m± δ, n=5).

Lot expérimentale	Témoin	Traité par 0.025mg/kg/j	Traité par 0.05mg/kg/j	Traité par 0.075mg/kg/j	Traité par 0.1mg/kg/j
Activité de TGO (µl/l)	72.49±2.36	142.81±31.83 ***	163.20±28.92 ***	149.12±46.11 ***	184.4±13.24 ***

Annexe 4k : Tableau de variation de l'activité du TGP dans les différents lots expérimentaux (m± δ, n=5).

Lot expérimentale	Témoin	Traité par 0.025mg/kg/j	Traité par 0.05mg/kg/j	Traité par 0.075mg/kg/j	Traité par 0.1mg/kg/j
Activité du TGP (µl/l)	29.27±2.91	45.57±13.63	51.92±13.40	47.97±14.65	86.14±28.84 **

Annexe 4l : Tableau de variation de concentration de glucose dans les différents lots expérimentaux (m± δ, n=5).

Lot expérimentale	Témoin	Traité par 0.025mg/kg/j	Traité par 0.05mg/kg/j	Traité par 0.075mg/kg/j	Traité par 0.1mg/kg/j
Concentration de glucose (g/l)	0.88±0.07	1.25±0.19 ***	1.28±0.12 ***	1.39±0.12 ***	1.47±0.21 ***

Annexe 4m : Tableau de variation de taux de PAL dans les différents lots expérimentaux (m± δ, n=5).

Lot expérimentale	Témoin	Traité par 0.025mg/kg/j	Traité par 0.05mg/kg/j	Traité par 0.075mg/kg/j	Traité par 0.1mg/kg/j
Taux de PAL (µl/l)	229.69±51.25	312.75±80.55	248.15±13.05	305.27±89.99	358.12±72.60 *