



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Larbi Tébessi –Tébessa-
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Département : Biologie Appliquée

Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences Biologiques

Option : Toxicologie Fondamentale et Appliquée

Intitulé :

Néphrotoxicité D'un Néonicotinoïde Chez Les Rats *Wistar*

Présenté par :

Nadji Yamina

Charafa Rabiaa

Moumeni Wafa

Devant le jury :

M. Menaceur Fouad	Pr.	Président
M. Gasmi Salim	MCA	Examineur
M. Rouabhi Rachid	Pr.	Rapporteur

Date de soutenance : 15/06/2022

الملخص

الهدف من هذا العمل هو تسليط الضوء على التأثيرات السامة لجرعتين مختلفتين من الإيميداكلوبريد (5 & 50 مجم / كجم / يوم) لمدة 40 يومًا على مستوى الكلى ولهذا قمنا بتطبيق تجريبي على فئران من نوع "Wistar" كنموذج حيواني للتجارب. استهدفت تجاربنا عدة مجالات أساسية للتجربة، بدءًا بعمل إنزيمات الخلية وصولًا إلى موت الخلايا. تنقسم دراستنا إلى ثلاثة محاور مهمة للدراسة، ودراسات وهي الإجهاد التأكسدي (MDA، GSH، GPX، GST)، المؤشرات البيوكيميائية (اليوريا (جم / لتر)؛ الكرياتينين (ملغم / لتر)؛ حمض اليوريك (ملغم / لتر))، متغيرات الفيزيولوجية (نسبة الوزن النسبي للعضو). أظهرت النتائج أن عقار إيميداكلوبريد يسبب تأثيرات ضارة على الجسم عن طريق زيادة نشاط المؤشرات البيولوجية للأكسدة وانخفاض إنزيمات مضادات الأكسدة في خلايا الكلى مقارنة بالشواهد. كما ان تزداد شدة السمية مع زيادة الجرعة وهذا ما اظهرته النتائج بين الجرعتين 5 و 50 ملغم / كجم / يوم. كل هذه المؤشرات هي علامات على السمية الكلوية المحتملة.

الكلمات المفتاحية: فئران ويستار، الإجهاد التأكسدي، نيونيكوتينويد، إيميداكلوبريد.

ABSTRACT

The objective of this work is to highlight the toxic effects of two doses of Imidacloprid (5 & 50mg/kg/day) for 40 days at the renal level and we have carried out the experimental application on “*Wistar*” type rats as an animal model of experimentation. Our experiments have targeted several basic areas of experimentation; start with the work of cell enzymes and cell death.

Our study is divided into three important axes of study, studies of the parameters of oxidative stress (MDA, GSH, GPX, GST), biochemical parameters (Urea (g/l); Creatinine (mg/l); Uric acid (mg/l)), morphology parameters (relative organ weight %). Our results show that Imidacloprid causes harmful effects on the body resulting by an increase in the activity of biological indicators of oxidation and decrease antioxidant enzymes in kidney cell juices compared to controls. And the intensity of toxicity increases with increasing dose, and this is what the results showed between the two doses 5 and 50 mg/kg/day. All of these parameters are signs of possible nephrotoxicity.

Keywords: *Wistar* Rats, Oxidative Stress, Neonicotinoids, Imidacloprid.

Résumé

L'objectif de ce travail est de mettre en lumière les effets toxiques de deux doses d'Imidaclopride (**5 & 50 mg/kg/jour**) Pendant **40** jours au niveau rénale et nous avons procédé à l'application expérimentale sur des rats du type « *Wistar* » comme modèle animal d'expérimentation. Nos expériences ont ciblé plusieurs domaines d'expérimentation de base, à commencer par le travail des enzymes cellulaires et la mort cellulaire.

Notre étude est divisée en trois importants axes d'études, études des paramètres de stress oxydatif (**MDA, GSH, GPX, GST**), paramètres biochimiques (**Urée (g/l) ; Créatinine (mg/l) ; Acide urique (mg/l)**), paramètres morphologies (**Poids relative d'organe %**). Nos résultats montrent que L'imidaclopride provoque des effets nocifs sur l'organisme se traduit par une augmentation de l'activité des indicateurs biologiques d'oxydation et une diminution des enzymes antioxydants dans les sucs cellulaires des reins par rapport aux témoins. Et que l'intensité de toxicité augmente avec l'augmentation de la dose, et c'est ce que les résultats ont montré entre les deux doses 5 et 50 mg/kg/jour.

L'ensemble de ces paramètres sont des signes d'une éventuelle Néphro-toxicité.

Mots clés: Rats *Wistar*, Stress Oxydant, Néonicotinoïdes, Imidaclopride.



Remerciement

Louange à Dieu, dont la grâce de bonnes
**Actions sont accomplies et par son succès les fins sont
atteintes, et prières et paix soient sur la miséricorde accordée à
notre maître et prophète Muhammad, que Dieu le bénisse et lui
accorde la paix.**

**Nous adressons nos sincères remerciements à tous les
enseignants et professeurs qui nous ont soutenus depuis le début
de notre parcours académique, et un merci particulier au
Pr. « Rouabhi Rachid » qui ne nous a pas épargné ses
connaissances et ses conseils. Dr « Sarra Zouaoui » et à tous les
amis, collègues, famille et proches**

**Nous remercierons vivement les jurys
D'avoir accepté de juger le contenu du présent mémoire.
Et à la fin, nous ne pouvons que dire que nous remercions
Dieu, qui nous a accordé sa grâce, nous a guidés avec son don et
nous a fourni sa connaissance pour nous placer parmi les justes, et
notre dernière revendication est que la louange soit à Dieu,
Seigneur.**



Dédicaces

A mes chers parents mon père qui m'ont donné les clés pour devenir ce que je suis aujourd'hui. Merci pour leur amour inestimable, leur confiance, leur soutien et leurs sacrifices.

A mes frères pour leur encouragement continu.

A ma chère amie et trinôme Amína et wafa pour les moments inoubliables et Qu'on a passé

Ensemble durant la préparation de notre projet.

*A tous mes camarades de la promotion de Master
Toxicologie*

Remerciement spécial à

*Mme Zouaoui Sarra, et à tous mes amis, en particulier
(Manel. Wafa. Salima. Ishrak. Amína. Houda)*

A tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, à me remonter le moral et me soutenir dans les moments difficiles.

Merci d'être toujours là pour moi.

Rabíaa

Dédicaces

Dieu soit loué, tous mes remerciements et tous, pour m'aider et m'accorder de la patience face aux difficultés que j'ai rencontrées pour accomplir cet humble travail, et les prières et la paix soient sur cette nation.

Je dédie mon diplôme à celui qui a vidé la tasse vide pour me donner une goutte d'amour à celui qui a récolté des épines sur mon chemin pour m'ouvrir la voie de la connaissance Mon père et Ma mère .dieu a étendu leur vie, à tous les membre de ma famille , et je voudrais mentionner mes frère « Lazher ;Ismaïl ; Nasr el dîne » et mes sœurs « Fouzia ; Zineb ;Nada » . À tous mes amis sans exception. Et tous ceux qui ont partagé avec moi la prière mon grand-père et mon grand-mère. A tous mes amis en particulièrement (manel.rabiaa. Ichrak. Salima. Wafa. Houda. Abir).

A tous mes camarades de la promotion de Master Toxicologie.

Remerciement spécial à Mme Zouaoui Sarra.

En fin :

Pour tous ceux qui ont dit que je ne serai pas ici grâce à

Dieu,

NADJI YAMINA

Dédicaces

En premier lieu je remercie Allah le tout puissant de m'avoir donnée la volonté, la santé et le courage pour réaliser ce travail.

Je dédie ce mémoire à:

Mes très chers parents, pour leurs encouragements, leurs patience, leurs soutien.

Mes frères et mes sœurs qui m'avez toujours soutenu et encouragé durant ces années d'études.

A tout ma famille, source d'espoir et de motivation.

A tous mes amis en particulièrement (manel.rabíaa.

Ichrak. Salíma. Amína. houđa)

Wafa

Liste des figures

N de la figure	Titre	Page
1	Structure macroscopique des reins	03
2	Vue macroscopique de rein	04
3	Segmentation anatomique et fonctionnelle du néphron	05
4	Rat Wistar	07
5	Les différentes espèces oxygénées activées (EOA) et des antioxydants régulateurs de leur production	10
6	Pesticides	13
7	Les processus impliqués dans le devenir des pesticides dans les sols conditionnent leur disponibilité et, par conséquent, leur efficacité phytosanitaire ou la manifestation de leur caractère polluant	15
8	Modes d'exposition des êtres vivants aux pesticides	17
9	La structure chimique de l'imidaclopride	19
10	Rat male <i>Rattus</i> de la race <i>Wistar</i>	23
11	Conditions d'élevage des rats <i>Rattus</i>	24
12	Méthode de traitement par voie orale	25
13	Mesure du poids des rats dans laboratoire	25
14	Le sacrifice de rat	26
15	Prélèvement des organes	26
16	Schéma récapitulatif du protocole expérimental.	27
17	Poids relatif du rein chez les rats témoins et traités par l'Imidaclopride (IMI) après 40 jours de traitement.	37
18	Variation de teneur rénale en GSH, MDA chez les rats témoins et traités par l'Imidaclopride (IMI) après 40 jours de traitement.	38
19	Grand matériel de laboratoire et appareils	39
20	Petit matériel de laboratoire	39

Liste Des Tableaux

N de Tableaux	Titre	Page
01	Classification de rat	07
02	Sources de stress oxydant endogènes et exogènes	09
03	Classification des pesticides selon les cibles	13
04	Mode d'action de trois grands groupes des pesticides	15
05	Classification de toxicité imidaclopride	22
06	Variation de poids relative du rein chez les différents groupes expérimentaux.	35
07	Effet du l'Imidaclopride (IMI) sur les paramètres de stress dans le rein chez différents groupes expérimentaux.	36
08	Concentration d'acide urique, urée et créatinine chez le groupe témoin et les groupes traités.	38

Liste des abréviations

Abréviation	Désignation
°C	Celsius
BBC	Microlitre Bleu brillant de coumassie
Ca ⁺⁺	Calcium ⁺⁺
CAS	Chemical Abstracts Service
CAT	Catalase
CDNB	1-chloro2, 4 di nitrobenzène
COX ²	Cyclooxygenase
Cu ²⁺	ion cuivrique
DO	Densité optique
DTNB	Acide 5,5`-dithio-bis-2-nitrobenzoïque
E 171- TiO ₂	Dioxyde de titane (colorant alimentaire blanc)
EDTA	Acide éthylène diamine tétra acétique
EGF	Epidermal growth factor
EOA	Espèces oxygénées actives
ERO	Espèces réactives oxydantes
Fd	Facteur de dilution
FGF	Fibroblastgrowth factor
G	Gramme
GPx	Glutathions peroxydases
GPX	glutathion peroxydases
GR	La glutathion réductase
GSH	Glutathion
GSSG	Glutathion oxydé
GST	Glutathion-S-transférase
GST	glutathion -S-Transférase
H	Heure
H ₂	Dihydrogène
H ₂ O	Eau
H ₂ O ₂	Peroxyde d'hydrogène
HCl	Acide chlorhydrique
HO	hydroxyle.
HO ₂ [•]	Radicalhydroperoxyde
HOCl	Acidehypochlorique
Inos	Inducible nitric oxide synthas

K	kelvin unité système international de température thermodynamique
K /j/mol	Kilo/joule /mole
Kg	Kilogramme
KHz	Kilohertz
L	Longueur
LOX	protein-lysine 6-oxidase
M	Mole
MDA	Malonyldialdéhyde
Mg	Milligramme
Min	Minute
ml	Millilitre
OC	Organochlorés
SOD	Superoxydes dismutases
UICPA	'Union internationale de chimie pure et appliquée
M-1cm-1	Mole ⁻¹ centimètre ⁻¹

Sommaire

المخلص

ABSTRACT

RESUME

Remerciement

Dédicace

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Sommaire

INTRODUCTION.....1

Partie bibliographique

Chapitre 01

1.1. Généralité sur les reins.....	03
1.1. Morphologie générale	03
1.2. Aspect macroscopique	03
1.3. Aspect microscopique.....	05
2. Fonctions rénales	05
3. Les Rats.....	06
3.1. Généralité.....	06
3.2. Classification	07
3.3. Utilisation en recherches scientifiques2002).	07
4. Stress oxydatif.....	08
4.1. Sources de stress oxydant	08
4.2. Les Radicaux libres.....	09
4.3. Le système antioxydant enzymatique	10
4.3.1. Les superoxydes dismutases (SOD)	10
4.3.2. Les glutathion peroxydases (GPx).....	11

4.3.3. La catalase (CAT)	11
4.3.4. Le glutathion -S-Transférase (GST)	11
4.4. Le système antioxydant non-enzymatique.....	11
5. Les conséquences biologiques du stress oxydant	12

Chapitre 02

Généralité sur les pesticides

1. Définition	13
2. Classification	13
2.1. Classements selon les cibles	13
2.2. Classement selon le groupe chimique.....	14
3. Dynamique environnementale des pesticides	14
4. Mode d'action des pesticides	15
5. Intérêt d'utilisation des pesticides	16
5.1. Dans le monde	16
5.2. En Algérie	16
6. Exposition de l'homme aux pesticides	16
7. Effet des pesticides sur la santé humaine	17

Chapitre 03

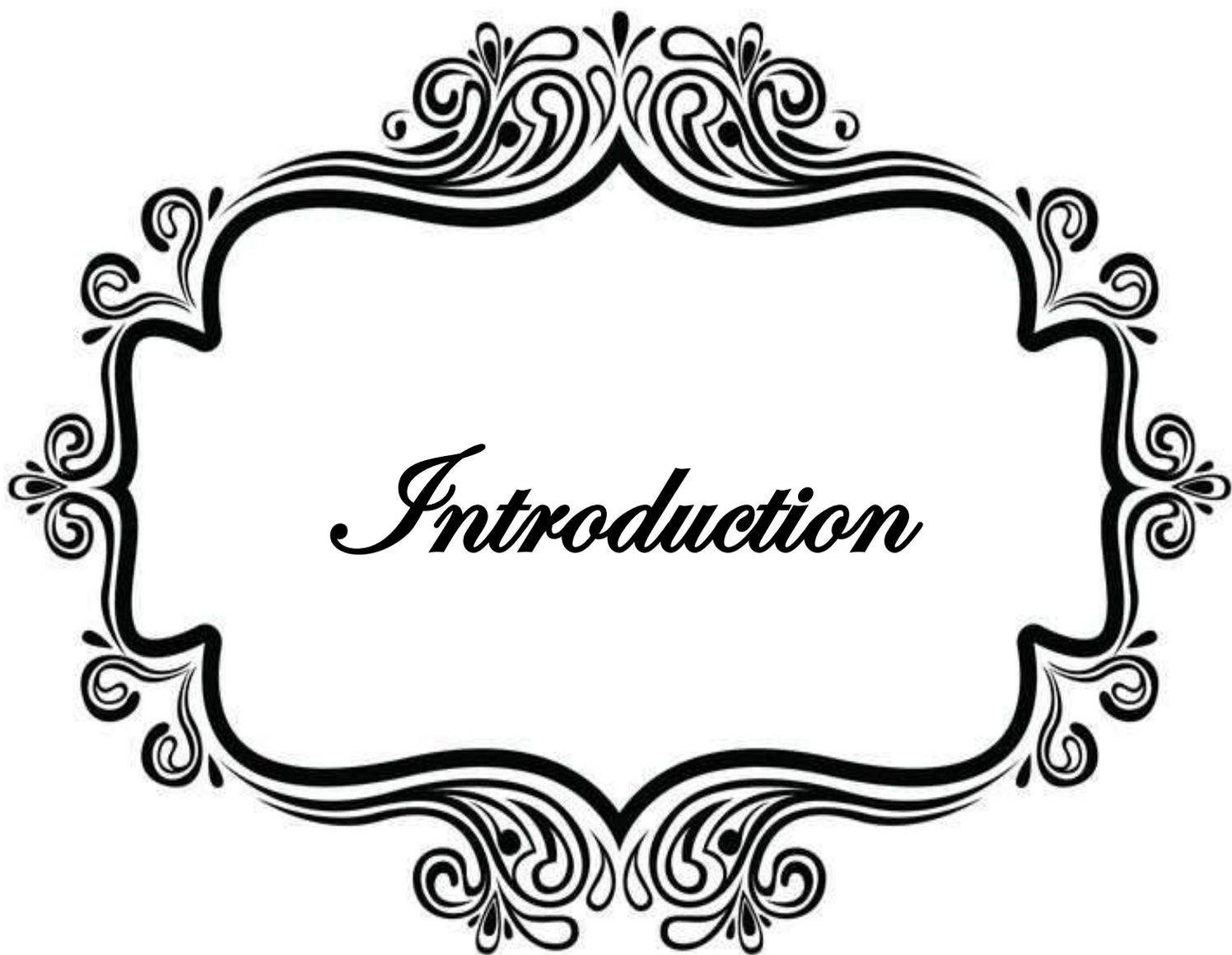
1. Les néonicotinoïdes.....	18
1.1. Définition	18
1.2. Classement des Néonicotinoïdes	18
1.3. Les applications des Néonicotinoïdes.....	18
2. Imidaclopride	19
2.1. Définition	19
2. Propriétés physiques/chimiques.....	19
2.3. Les usages	20

2.4. Mécanisme d'action	20
2.5. Métabolisme d'imidaclopride.....	20
2.6. Effets toxicologiques	20
2.6.1. Toxicité aiguë	20
2.6. Toxicité chronique	21
2.6.3. Perturbateur endocrinien	21
2.6.4. Effets cancérogènes	21
2.6.5. Toxicité pour la reproduction.....	21
2.6.6. Effets Neurotoxique	21
2.6.7. Effets tératogènes.....	21

PARTIE PRATIQUE

1. Matériels	23
1.1. Matériel biologique et condition d'élevage	24
1.2. Matériel chimique	24
1.2.1. Préparation de la solution de Néonicotinoïdes (IMI).....	24
2. Matériels et Méthodes.....	24
2.1. Lotissement.....	24
2.1.1. Mesure du poids.....	25
2.2. Sacrifice et prélèvement d'organes.....	25
2.3. Estimation du poids relatif du rein.....	26
3. Paramètres du stress oxydative	28
3.1. Biomarqueurs non enzymatiques	28
3.1.1. Dosage du glutathion (GSH).....	28
3.1.2. Dosage du Malondialdéhyde (MDA)	29
3.2. Biomarqueurs enzymatiques.....	30
3.2.1. Dosage de l'activité du glutathion peroxydase (GPx)	30

3.3. Dosage de quelques paramètres biochimiques	33
3.3.1. Dosage de l'urée	33
3.3.2. Dosage de la créatinine	33
3.3.3. Dosage de l'acide urique.....	33
4. Etude statistique	34
Résultats & Discussion	35
Conclusion	
Annexe	
Références Bibliographies	



Introduction

INTRODUCTION

Introduction

Les pesticides contiennent des substances biologiquement actives qui agissent sur les êtres vivants, d'où les tests approfondis dont ils font normalement l'objet pour déterminer leurs effets sur l'homme et sur l'environnement. Les néonicotinoïdes, qui figurent parmi les insecticides synthétiques les plus utilisés au monde, visent ainsi le système nerveux central des insectes (**Errante, 2013**). Ils constituent une classe d'insecticides en pleine expansion malgré la mise en cause de leur éventuelle écotoxicité, notamment sur des insectes pollinisateurs (abeilles) (**Yves, 2013**). L'enjeu économique qu'ils représentent est important pour les industriels, notamment pour les trois molécules pour lesquelles est demandé le moratoire, parmi lesquelles figure le thiaméthoxame produit par la firme Syngenta (**Errante, 2013**).

Les néonicotinoïdes sont des analogues synthétiques de la nicotine, utilisée depuis des siècles comme insecticide. Les néonicotinoïdes sont des neurotoxiques: leur cible est le récepteur post-synaptique à l'acétylcholine dont le blocage induit paralysie et mort de l'insecte (**Thany, 2010**). Les néonicotinoïdes sont homologués en agriculture dans plus de 120 pays. Leur chef de file est l'imidaclopride : commercialisé pour la première fois en France depuis 1994, il est à ce jour l'insecticide le plus vendu dans le monde (**Testud, 2014**), est considéré comme un remplaçant possible pour l'organophosphoré diazinon, est utilisé dans le monde entier pour les insectes nuisibles et la lutte contre les puces chez le chat et le chien (**Lohiya et al., 2017**).

L'imidaclopride, (IMI) [1-(6-chloro-3-pyridylmethyl)-N-nitroimidazolidin-2-lideneamine), est un insecticide néonicotinoïde qui était largement utilisé dans le Monde (**Chao et Casida, 1997 ; Demsia et al., 2007**). Depuis sa mise sur le marché au début des années 1990 par la société « Bayer », divers problèmes affectant les colonies d'abeilles lui ont été associés. En Algérie, l'IMI est utilisé sur les cultures. Maraîchères, les arbres fruitiers et même les plantes d'ornementation (**Djouber, 2011**).

Les reins sont des organes qui font partie de l'appareil urinaire. L'une de leurs fonctions principales est de maintenir l'homéostasie de l'organisme. Ils participent également à la régulation de l'équilibre acido-basique, à l'élimination des produits terminaux du métabolisme (par exemple : urée, acide urique) et des substances étrangères (par exemple : médicaments, toxines) mais aussi à la conservation simultanée des composants essentiels comme le glucose ou les acides aminés. Enfin, les reins possèdent de véritable fonction

INTRODUCTION

endocrine puisqu'il synthétise des facteurs hormonaux agissant sur lui-même ou sur des organes cibles (**Vaubourdolle, 2007**).

Néphro-toxicité de L'imidaclopride en utilisant un modèle animal, le rat *Wistar*. Les objectifs de ce travail sont les suivants :

- Déterminer l'effet toxique de l'imidaclopride sur les reins (poids relatif).
- Déterminer quelques paramètres de stress oxydatif : (MDA, GSH, GST, GPX) et paramètres biochimiques (Urée (g/l) ; Créatinine (mg/l) ; Acide urique (mg/l))

Donc notre problématique de recherche consiste à démontrer la toxicité d'imidaclopride chez les rats à deux doses admissibles 5 et 50 mg/kg/jour au niveau de reins.

Pour répondre à cette problématique une étude bibliographique à travers une analyse des articles était consacrée à la démonstration de l'impact des pesticides. Dans le même but une expérimentation était menée et des protocoles expérimentaux adoptés dans le souci de bien ciblé les biomarqueurs toxicologiques et biochimiques qui nous permettent de comprendre la réalité toxique de la néonicotinoïde (Imidaclopride)

A decorative frame with intricate scrollwork and floral patterns, surrounding the central text.

Partie bibliographique

A decorative frame with intricate scrollwork and floral patterns, surrounding the text. The frame is composed of thick black lines with elegant, symmetrical flourishes at the top, bottom, and sides.

Chapitre 01

Généralité

1. Généralité

1.1. Morphologie générale

Les reins sont deux organes localisés dans la partie postérieure de l'abdomen, de part et d'autre de la colonne vertébrale. Chaque rein mesure environ 11 cm de long, 6 cm de large et a une épaisseur de 3 cm, et est relié à l'artère aorte et à la veine cave inférieure par l'artère et la veine rénale. Topographiquement, les reins ne sont pas exactement symétriques. Le rein droit est situé plus bas, le rein gauche souvent un peu plus volumineux et un peu moins large et plus allongé (Pellet, 1977).

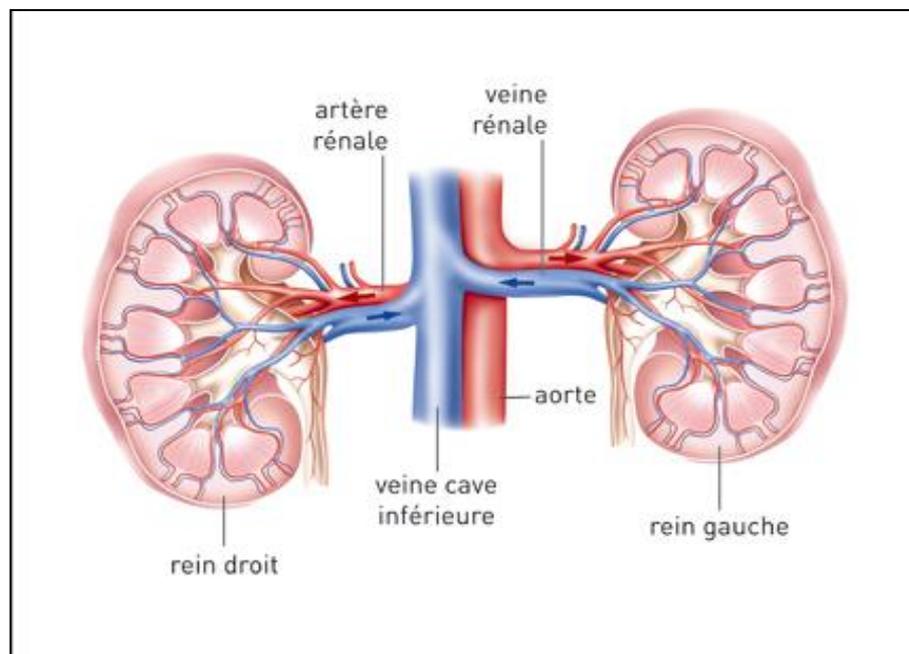


Figure 01 : structure macroscopique des reins. (Pellet, 1977).

1.2. Aspect macroscopique

On distingue :

- Une zone périphérique, foncée, granuleuse, c'est la zone corticale, ou cortex du rein qui prolonge en direction du hile par des travées convergentes : les colonnes de Bertin.
- Une zone centrale, plus claire, striée longitudinalement, occupe les espaces compris entre les colonnes de Bertin : c'est la zone médullaire cette zone possède 8 à 12 pyramides striées appelées pyramides de Malpighi, dont le nombre varie entre espèces.

La base de ces pyramides est recouverte par le cortex alors que le sommet de chaque pyramide se projette vers le centre du rein donnant le calice mineur. Chaque calice

Chapitre 01 : Généralité

mineur collecte l'urine d'une pyramide, et converge pour former les calices majeurs qui forment à leur tour le bassinnet qui se jette dans l'uretère (Lüllmann *et al.*, 1998).

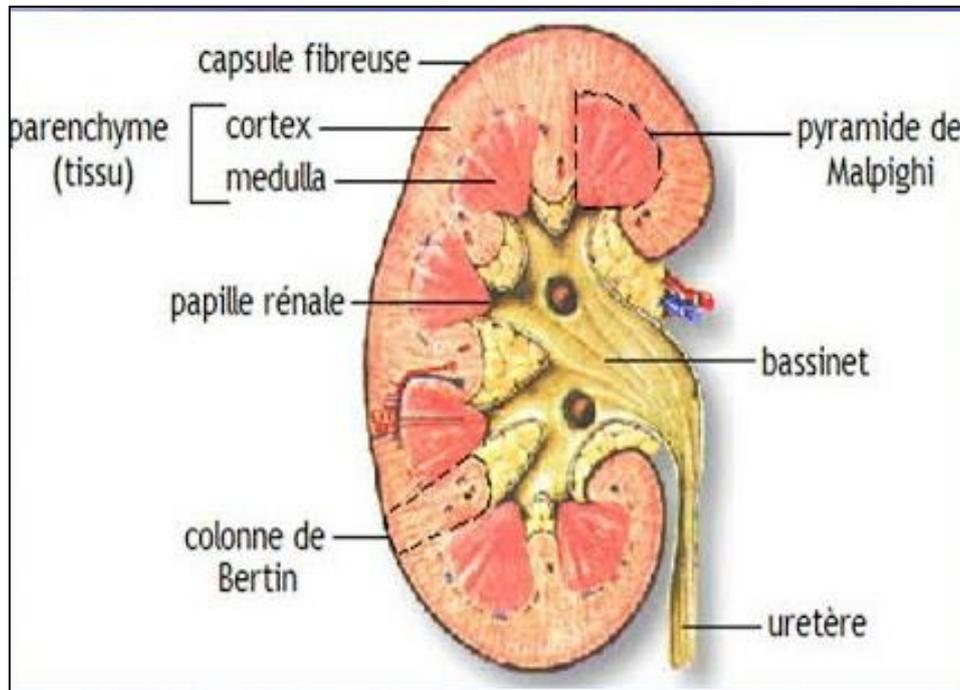


Figure 02 : Vue macroscopique de rein Lüllmann *et al.*, 1998).

1.3. Aspect microscopique

Le parenchyme rénal est essentiellement constitué par un très grand nombre d'unités anatomiques appelées néphron, il comporte deux parties physiologiquement et anatomiquement distinctes : un glomérule et un tubule (Pellet, 1977).

- Le glomérule est un réseau de petits vaisseaux sanguins, les capillaires, entourés d'une structure appelée capsule glomérulaire, qui sert de filtre. Dans le glomérule, la membrane basale du capillaire délimite deux espaces : l'un situé en dedans, appelé espace endocapillaire ou endomembraneux ; l'autre situé en dehors, appelé espace extracapillaire ou extramembraneux (Magali *et al.*, 2008).

Le tubule se subdivise en trois parties fonctionnelles :

- Tubule proximal : situé après la capsule de Bowman et avant l'anse de Henle il participe à la réabsorption de certaines substances. L'anse de Henle c'est la section du néphron conduisant du tubule proximal au tubule distal. Elle est responsable en grande partie de la concentration des urines, ceci avec l'urée.
- Tubule distal sa partie contournée est en contact avec l'artériole afférente de son néphron au niveau d'une structure appelée l'appareil juxtaglomérulaire. C'est à ce niveau

que se fait la sécrétion de rénine, hormone phare du contrôle de la tension artérielle par le rein.

Tubule collecteur qui représente la portion droite terminale du tubule contourné distal (Blanchard,2008).

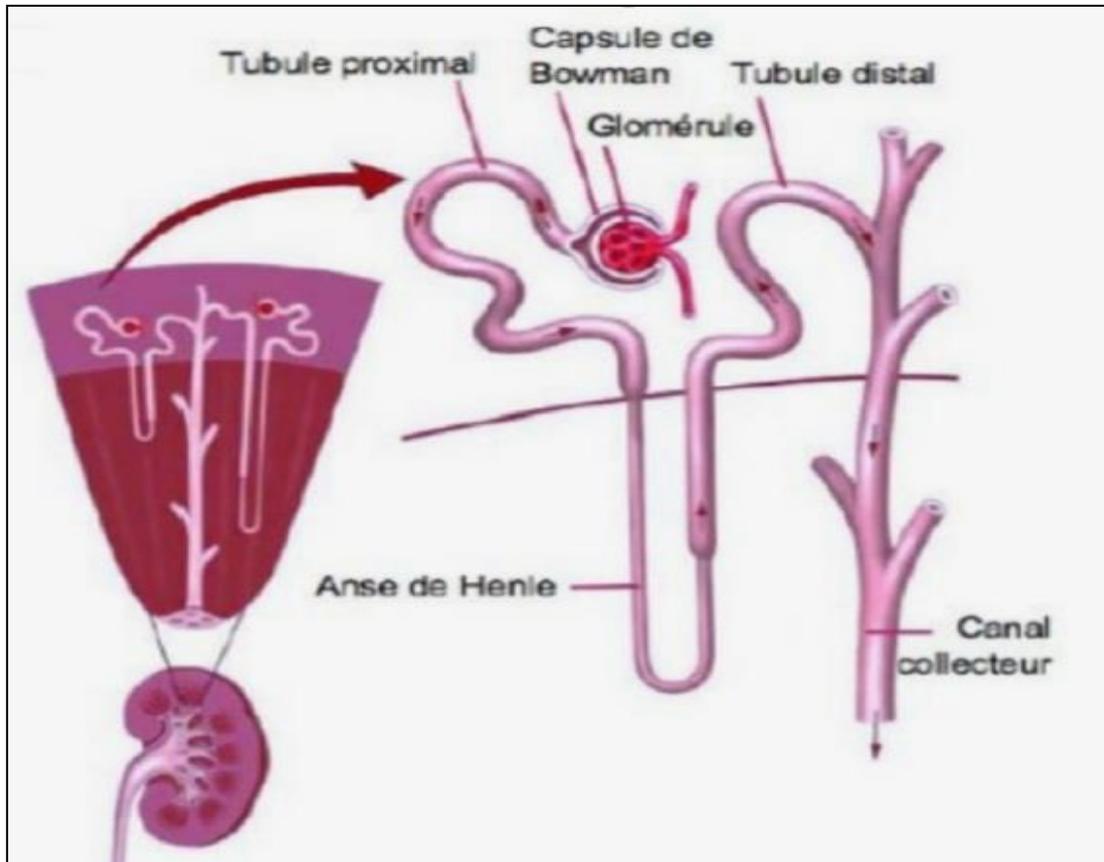


Figure 03 : Segmentation anatomique et fonctionnelle du néphron (Klein, 2009)

2. Fonctions rénales

Le rôle vital des reins est intimement lié à leur fonction dans l'homéostasie du milieu intérieur, permettant de protéger les cellules vis-à-vis des conséquences des variations environnementales de l'organisme (Lüllmann et al., 1998).

Le rein exerce plusieurs fonctions vitales :

- Filtration glomérulaire : forme la première étape dans la formation de l'urine. Le plasma filtre au travers du glomérule vers l'espace de Bowman selon un débit de filtration dans les capillaires glomérulaires (Bangert et Steven, 2004).

Chapitre 01 : Généralité

- Réabsorption et sécrétion tubulaire : les glomérules filtrent par jour 180 litres de fluides dépourvus de protéines mais contenant de nombreux électrolytes et produit de déchets (**Pellet, 1977**).
- Epuration du milieu intérieur : élimination des déchets (urée, ammoniac), des toxiques (substances médicamenteuses) et des fluides en excès dans l'organisme.
- Contrôle et maintien de l'équilibre en certains minéraux et électrolytes : sodium, potassium, calcium, phosphore, etc. (**Marchall et Bangert, 2004**).
- Maintien de l'équilibre acido-basique de l'organisme (concentration en ions (H^+)). Ils remplissent cette fonction grâce à une réabsorption de bicarbonates et une élimination active de protons (**Blanchard, 2008**).
- Rôle endocrine : sécrétion de plusieurs hormones, parmi lesquelles la rénine, qui participe au maintien la tension artérielle. Ainsi, le rein produit les prostaglandines E et les prostacyclines (**Bangert et Steven. 2004**).
- Activation de la synthèse de la vitamine D, qui permis l'absorption du calcium D'origine alimentaire par l'intestin et son utilisation dans la structure des os.
- Fonction hématopoïétiques : le rein est le principal effecteur du contrôle de L'érythropoïèse. Un état d'hypoxie consécutif par exemple a une baisse du nombre des hématies, entraine la sécrétion par le rein de l'érythrogénine cette enzyme active immédiatement un facteur plasmatique : l'érythropoïétine qui stimule la production d'hématies par la moelle osseuse (**Marchall et Bangert, 2004**).

3. Les Rats

3.1. Généralité

On appelle rat de laboratoire des souches ou lignées de rats sélectionnées et élevés et reproduits pour les besoins de l'expérimentation animale en laboratoires, ou parfois pour les leçons d'anatomie et de dissection (**George, 2000**).

Le rat *WISTAR* est un rat albinos non consanguin. Cette race a été développée à l'Institut *WISTAR* en 1906 pour la recherche biologique et médicale, Plus de la moitié de toutes les souches de rats de laboratoire descendent de la colonie originale établie par le physiologiste Henry Donaldson, l'administrateur scientifique Milton J. Greenman, et la chercheuse en génétique / embryologiste Helen Dean King (**Site 3**).

Chapitre 01 : Généralité

En toxicologie et en pharmacotoxicologie, le Rat WISTAR est devenu une espèce de choix en raison des similarités métaboliques avec l'espèce humaine. Il est un Omnivore Opportuniste qui se caractérise par sa tête large, ses longues oreilles et sa longueur de queue toujours inférieure à la longueur de son corps (35 à 50 cm avec la queue, longueur de la queue de 17 à 23 cm) et d'un poids de 150g à 500g avec une moyenne autour de 300g pour les femelles, et 250 à 500g, avec une moyenne de 450g à 500g pour les mâles, sa nature relativement docile, sa faible longévité (2 – 3 ans), et sa courte période de gestation (21 à 23 jours) (Descat, 2002).



Figure 04: Rat *Wistar* (George, 2000)

3.2. Classification

Tableau01 : Classification de rat (Descat, 2002)

L'embranchement	Classe	Ordre	Sous- ordre	Famille	Sous famille
Vertébré	Mammifères	Rongeurs	Myomorphes	Muridés	Muridés

On distingue quatre grandes variétés de souches : les souches consanguines, les souches non consanguines, les hybrides de première génération et les souches mutantes. Il existe au total plus de 1400 souches et sous-souches répertoriées et utilisées en recherche biomédicale (Descat, 2002).

3.3. Utilisation en recherches scientifique

Après la souris d'expérimentation, le rat est le mammifère d'expérimentation le plus utilisé comptant pour à peu près 20 % du nombre total de mammifères utilisés en recherche (Festing, 1979).

Depuis les quatre-vingts dernières années, le rat a été utilisé dans presque tous les aspects de la recherche biomédicale et comportementale et de la toxicologie. Les mutations génétiques et la sélection ont produit de nombreux modèles de recherche extrêmement valables dont nous donnerons des exemples à l'item trois Sélection. Une publication récente sur les applications en recherche biomédicale donne une liste de domaines de recherche dans lesquels le rat est largement utilisé et particulièrement utile: toxicologie, tératologie, oncologie expérimentale, gérontologie expérimentale, recherche cardiovasculaire, immunologie, recherche dentaire, immunogénétique et parasitologie expérimentale (**Baker et al., 1980**).

Les cultures cellulaires représentent actuellement la plus grande partie de ce qu'on appelle « méthodes alternatives » à l'expérimentation animale. Elles sont utilisées pour le criblage de nouvelles molécules, pour l'étude de la toxicité organospécifique en complément de l'expérimentation animale et pour les études sur le mécanisme d'action des Xénobiotique. Cette présentation avait pour but de montrer, à partir d'exemples, en quoi elles pouvaient apporter des réponses aux questions posées par la pharmacologie et la toxicologie ainsi que les limites de leur utilisation (**Stal, 2006**).

4- Stress oxydatif

Dans les systèmes biologiques, le stress oxydatif se définit comme un déséquilibre de la balance oxydants/antioxydants en faveur des oxydants, entraînant des dommages cellulaires (**Atamer et al., 2008**).

Il se développe lorsque les radicaux libres (molécules oxydantes) sont produits plus rapidement qu'ils ne peuvent être neutralisés par les systèmes de défense antioxydants. Ce déséquilibre peut avoir diverses origines, telles que la surproduction endogène d'agents pro-oxydants d'origine inflammatoire (**Picchi et al., 2006**).

4.1. Sources de stress oxydant

Un déficit nutritionnel en antioxydants ou même une exposition environnementale à des facteurs prooxydants (tabac, alcool, médicaments, rayons gamma, rayons ultraviolets, pollution atmosphérique, métaux toxiques) (**Valko et al, 2006**).

Chapitre 01 : Généralité

Tableau 02 : Sources de stress oxydant endogènes et exogènes (Haleng *et al*, 2007)

Mode de vie	Environnement	Mécanismes biochimiques
<ul style="list-style-type: none">• Tabagisme• Faible consommation en fruits et légumes• Alcool• Médicaments• Pilule contraceptive• Exposition au soleil• Exercice intense ou mal géré	<ul style="list-style-type: none">• Pollution• Ozone• Amiante• Radiations• Contacts avec des substances cancérogènes	<ul style="list-style-type: none">• Xanthine-oxydase• (ischémie-reperfusion)• Inflammation• Altération de la fonction endothéliale• Surcharge en fer• Oxydation de l'hémoglobine• Altérations mitochondriales• Biosynthèse des prostaglandines• Interventions chirurgicales (Circulation extracorporelle, transplantations)

4.2- . Les Radicaux libres

Les radicaux libres sont des espèces chimiques (atomes ou molécules) possédant au moins un électron célibataire (ou non apparié) sur leur couche externe. Ils sont en général très réactifs et instables (Gilbert, 2000).

Les radicaux libres impliquant un ou plusieurs atomes d'oxygène se nomment espèces réactives de l'oxygène (ROS). L'anion superoxyde (O_2^-) est la forme primaire des ROS, et est formé par l'addition d'un électron à l'oxygène moléculaire (O_2). L'anion superoxyde peut ensuite être converti en ROS secondaires tels que le radical hydroxyle ($\bullet OH$), le radical peroxy ($ROO\bullet$) ou le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Ce dernier n'étant pas un radical libre puisqu'il ne contient pas d'électrons non appariés, mais se révèle tout de même réactif. Les radicaux libres impliquant plutôt un atome d'azote se nomment espèces réactives de l'azote (RNS). Parmi ces molécules, il y a le monoxyde d'azote ($NO\bullet$) et le peroxy-nitrite ($ONOO^-$) (Tremellen, 2008).

Les radicaux libres jouent un rôle essentiel dans certaines fonctions biologiques telles que la phagocytose, la régulation de la croissance cellulaire et des signaux intercellulaires et la synthèse d'importants composés organiques (Ignarro, 2002).

Cependant, en concentrations élevées, ils deviennent hautement cytotoxiques en engendrant diverses altérations biochimiques intracellulaires telles que l'oxydation de l'ADN (Loft *et al.*, 2008), des protéines (Davies, 2003), ou encore la peroxydation des lipides (Spiteller *et al.*, 2007).

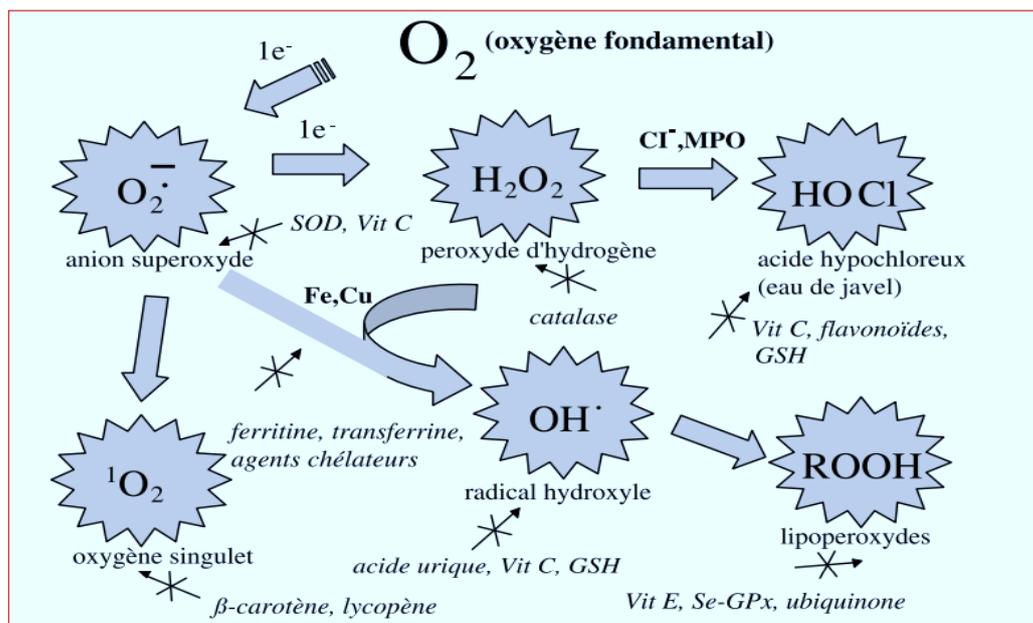


Figure 05: les différentes espèces oxygénées activées (EOA) et des antioxydants régulateurs de leur production (Haleng *et al.*, 2007).

4.3. Le système antioxydant enzymatique

Ce système est principalement composé des superoxydes dismutases (SOD), des catalases (CAT), des glutathions peroxydases (GPx) (Higashi *et al.*, 2009).

4.3.1. Les superoxydes dismutases (SOD)

Ces métalloprotéines, qui représentent une des premières lignes de défense contre le stress oxydant, assurent l'élimination de l'anion superoxyde $O_2^{\cdot-}$ par une réaction de dismutation, en le transformant en peroxyde d'hydrogène et en oxygène. Chez l'homme, on décrit 3 isoenzymes : la Cu/Zn-SOD1 cytosolique, la Mn-SOD2 mitochondriale et la Cu/Zn-SOD3, qui diffèrent par la localisation chromosomique du gène, leur contenu métallique, leur structure quaternaire et leur localisation cellulaire. (Haleng *et al.*, 2007).

4.3.2. Les glutathion peroxydases (GPx)

La GPx est une sélénoprotéine (cinq isoformes) qui réduit les peroxydes aux dépens de son substrat spécifique, le glutathion réduit (GSH). Son rôle principal consiste en l'élimination des peroxydes lipidiques résultant de l'action du stress oxydant sur les acides gras polyinsaturés.

La GPx est effondrée en cas de déficit majeur en sélénium, elle est donc un bon reflet de cette carence. Toutefois, pour un apport adéquat en sélénium, les teneurs en GPx atteignent un plateau. Le dosage en GPx ne peut donc être utilisé comme marqueur d'une intoxication en sélénium. Cependant, sa synthèse étant rénale et hépatique, d'autres facteurs tels que l'insuffisance rénale ou la cytolyse hépatique peuvent modifier sa concentration. (**Haleng et al., 2007**).

4.3.3. La catalase (CAT)

Enzyme héminique ubiquitaire située à l'intérieur des globules rouges, elle élimine H₂O₂ par dismutation qui se fait en deux étapes (**Bensakhria, 2018**)

- ❖ Catalase + H₂O₂ → Catalase H₂O₂
- ❖ Catalase H₂O₂ + H₂O₂ → Catalase + H₂O + O₂

4.3.4. Le glutathion -S-Transférase (GST)

Les glutathion-S-transférases appartiennent à une famille d'enzyme multifonctionnelle essentiellement cytosolique, impliqués dans le transport et la biosynthèse intracellulaire, elles catalysent des réactions de conjugaison entre un peptide endogène, le glutathion, et des molécules réactives comportant des sites électrophiles (**Fetoui et al., 2010**).

4.4. Le système antioxydant non-enzymatique

Contrairement aux enzymes antioxydants, la plupart des antioxydants non enzymatiques ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent être apportés par l'alimentation. Dans cette catégorie, nous retrouvons le glutathion réduit (GSH), la vitamine C et aussi les oligoéléments (**Vertuani et al., 2004**)

4.4.1. La glutathion GSH

Est un cofacteur de l'enzyme GPx. C'est un tripeptide naturel, la L- γ -glutamyl-Lcystéinylglycine hydrosoluble (cytoplasme, noyau, mitochondries) dont le GSH constitue 90% de sa teneur totale.

Le glutathion est le cofacteur de nombreuses enzymes antioxydants (GPx) il permet la réduction protéines oxydées par conjugaison aux espèces électrophiles selon les réactions suivantes :

- $\text{GSH} + \text{R}^\circ \rightarrow \text{GS}^\circ + \text{RH}$
- $\text{GS}^\circ + \text{GS}^\circ \rightarrow \text{GSSG}$

Le glutathion permet l'élimination des espèces OH° , IO_2 par interaction directe. L'interaction GSH - 4-HNE conduit à la formation d'adduits non toxiques (**Bensakhria, 2018**).

4.4.2. La vitamine C

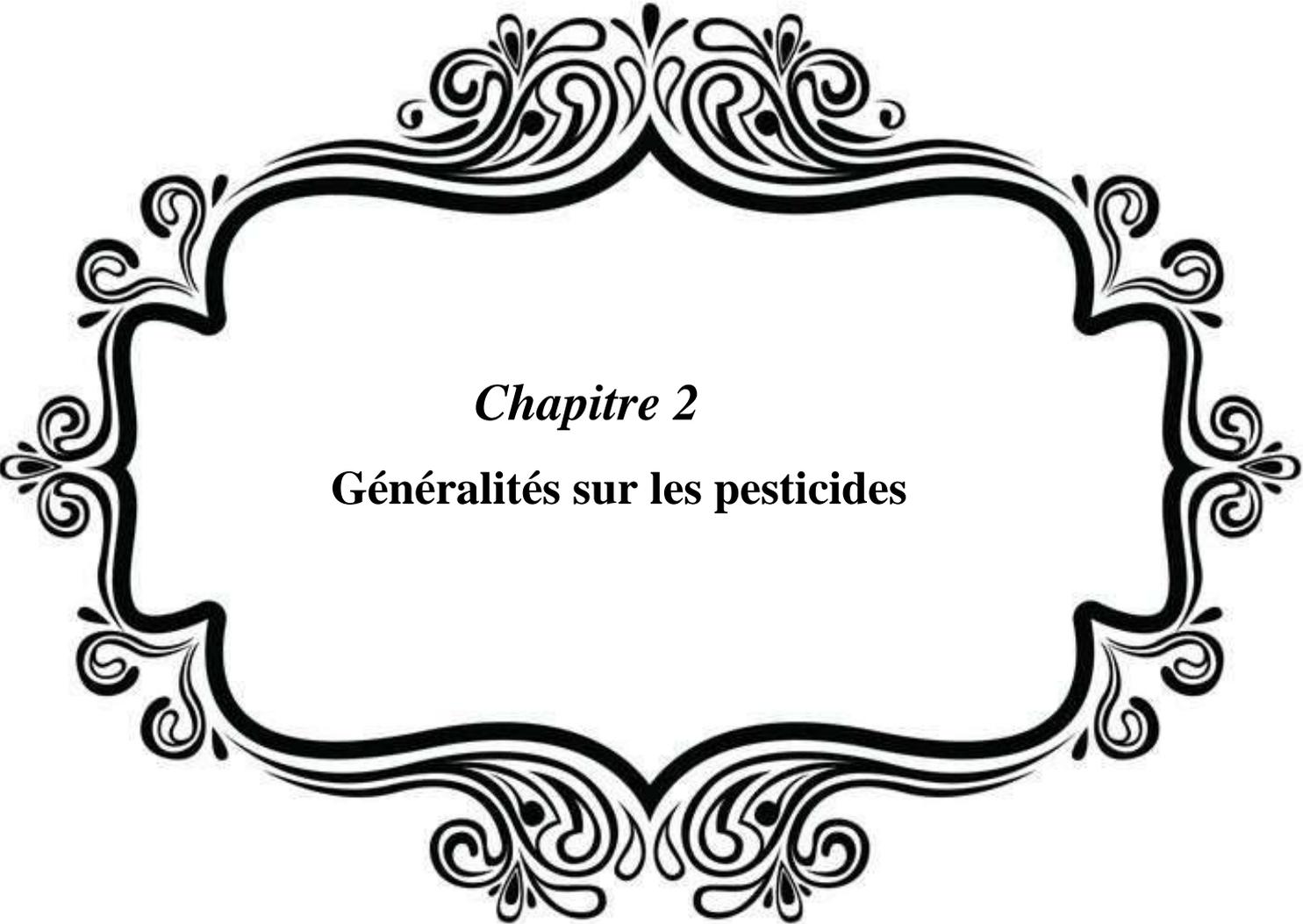
La plupart des mammifères sont capables de synthétiser la vitamine C dans leur foie ou dans leurs reins. Ce n'est pas le cas de l'homme qui doit assurer un apport journalier d'environ 100 mg via une alimentation riche en fruits. La vitamine C est, avant tout, un excellent piègeur des EOA (HO^\bullet ou $\text{O}_2^{\bullet-}$). Elle inhibe également la peroxydation lipidique en régénérant la vitamine E à partir de la forme radicalaire issue de sa réaction avec des radicaux lipidiques. Ses fonctions sont nombreuses : contribution au bon fonctionnement du système immunitaire, implication dans la synthèse du collagène et des globules rouges ainsi que dans les mécanismes de métabolisation du fer (**Haleng et al ., 2007**).

4.4.3. Les oligoéléments

Des oligo-éléments participent également à la défense de l'organisme en permettant aux systèmes anti-oxydatifs protecteurs d'être constamment actifs pour faire face au stress oxydatif. Certains oligo-éléments sont nécessaires à l'activité d'enzymes qui vont lutter contre ce stress oxydatif. Parmi ces systèmes enzymatiques anti-radicalaires, on trouve notamment les superoxydes dismutases à cuivre et à zinc, ou à manganèse et les glutathion peroxydases séléno-dépendantes. Ainsi, le cuivre, le zinc, le manganèse et le sélénium sont appelés oligo-éléments antioxydants (**Favier, 2006**).

5. Les conséquences biologiques du stress oxydant

- Seront extrêmement variables selon la dose et le type cellulaire (**Favier, 2003**).
- De légers stress augmenteront la prolifération cellulaire et l'expression de protéines d'adhésion, des stress moyens faciliteront l'Apoptose, alors que de forts stress provoqueront une nécrose et des stress violents désorganiseront la membrane cellulaire, entraînant des lyses immédiates (**Favier, 2003**).
- De nombreuses autres anomalies biologiques sont induites par le stress oxydant: mutation, carcinogénèse, malformation des fœtus, dépôt de protéines anormales, fibrose, formation d'auto-anticorps, dépôt de lipides oxydés, immunosuppression (**Favier, 2003**).

A decorative black and white frame with ornate, symmetrical scrollwork and floral motifs surrounding the text.

Chapitre 2
Généralités sur les pesticides

Chapitre 2 : Généralités sur les pesticides

1. Définition

Le terme pesticide regroupe toute substance destinée à repousser, détruire ou combattre les ravageurs, les vecteurs des maladies humaines ou animales, et les espèces indésirables de plantes ou d'animaux causant des dommages ou se montrant nuisible durant la production, le stockage, le transport des produits agricoles, ou qui peut être administrée aux animaux pour combattre les insectes, les arachnides et d'autre parasites dans ou sur leur corps. (Ait Hamlet, 2013; Inserm, 2013; OMS, 1991; Dorothée, 2011; Calvet, 2005).



Figure 06 : pesticides (site3)

2. Classification

Les pesticides peuvent être classés en fonction de leur cible et de leur groupe chimique. (Gasmi, 2018).

2.1. Classements selon les cibles

Ce sont le plus souvent classés en fonction du ravageur visé.

Tableau03 : Classification des pesticides selon les cibles (Rousseau, 2007).

Les Pesticides	Les cibles
insecticides	Insectes
larvicides	Larves
herbicides	plantes indésirables
fongicides	Champignons
molluscicides	Mollusques
hélicides	Escargots
rodenticides	Rongeurs
corvicides	Oiseaux
Termicides	Termites

Chapitre 2 : Généralités sur les pesticides

2.2. Classement selon le groupe chimique

Les pesticides sont parfois aussi classés en fonction de leur substance active, autrement dit leur groupe chimique. On peut ainsi parler de pesticides organochlorés, de pesticides organophosphorés, de carbamates, de pyréthrinoides ou encore de triazines, les phtalimides, les chlorantraniliproles, les flubendiamides et les cyantraniliproles (**Garcia et al., 2012**).

Les trois principales familles sont :

- **Les organochlorés (OC)** : sont les premiers insecticides synthétisés et utilisés à une plus grande échelle (**Lanoixet Roy, 1976**). Ils sont composés de carbone, d'hydrogène et de chlore (**Periquet et al., 2004**).
- **Les carbamates** : sont des esters dérivés de l'acide carbamique, utilisés autant qu'insecticides, fongicides, herbicides et nématicides (**Periquet et al., 2004 ; Garcia et al., 2012**).
- **Les organophosphorés (OP)** : sont des composés possédant au moins un atome de phosphore (P), ils constituent le plus grand groupe d'insecticides vendus dans le monde (**Hatcheret al., 2017**).

3. Dynamique environnementale des pesticides

Malgré un souci croissant de protection de l'environnement, lors de l'utilisation des pesticides, une certaine quantité de ces substances se retrouve dans l'environnement, principalement dans l'air par dérive sous forme de gouttelettes ou sur le sol. (**Wolfe, 1990**).

Ils peuvent alors être soumis à différents processus :

- La photo-dégradation.
- La dégradation par le phénomène d'hydrolyse aqueuse ou de biodégradation grâce aux micro-organismes présents dans le sol.
- La rétention dans le sol jusqu'à la formation de résidus liés (adsorption)
- Le transport vers d'autres compartiments environnementaux par des processus physicochimiques (volatilisation) ou via un vecteur, l'eau par lixiviation ou ruissellement ou les particules de sol (désorption) (**Van Der Werf, 1996**)

Chapitre 2 : Généralités sur les pesticides

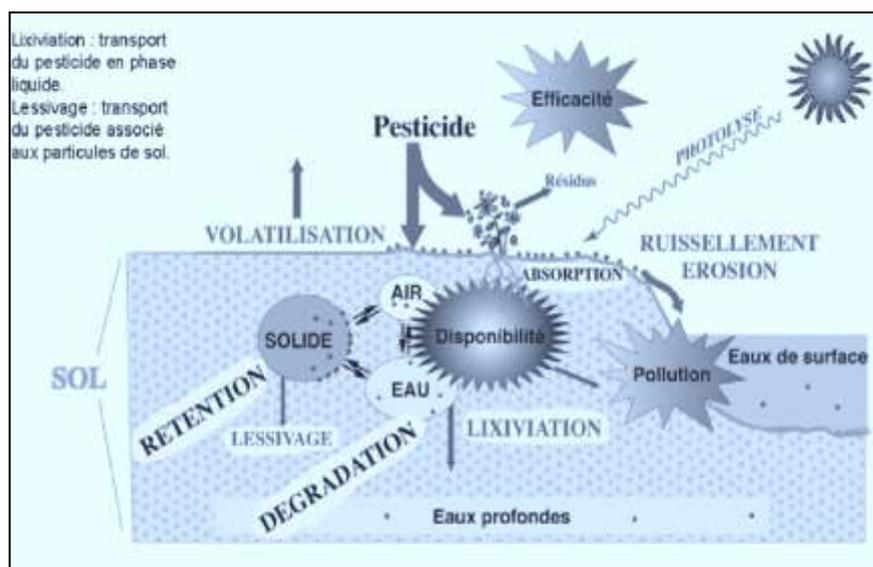


Figure 07 : Les processus impliqués dans le devenir des pesticides dans les sols conditionnent leur disponibilité et, par conséquent, leur efficacité phytosanitaire ou la manifestation de leur caractère polluant (**Barriuso et al ., 1996**)

4. Mode d'action des pesticides

Les substances actives des pesticides agissent sur les fonctions physiologiques nécessaires à la survie de l'organisme (photosynthèse, reproduction, respiration) inhibiteurs respiratoires.

Tableau04: Mode d'action de trois grands groupes des pesticides (**El_Mrabet et al. ,2007**).

Insecticides	Fongicides	Herbicides
Interviennent en éliminant les insectes ou en empêchant leur reproduction. Différents types existent : - Les neurotoxiques. - Les régulateurs de croissance. - Ceux agissant sur la respiration cellulaire.	Peuvent agir différemment : - Soit en inhibant le système respiratoire ou la division cellulaire. - Soit en perturbant la biosynthèse des acides aminés, des protéines ou le métabolisme des glucides.	Possèdent différents modes d'action sur les plantes, ils peuvent être : -des perturbateurs de la régulation d'une hormone « auxine » (des inhibiteurs de la division cellulaire, de la synthèse des lipides, de cellulose ou des acides aminés

5. Intérêt d'utilisation des pesticides

5.1. Dans le monde

L'usage des pesticides a connu un très fort développement au cours des dernières décennies, les rendant à priori quasiment indispensables à la plupart des pratiques agricoles, quel que soit le niveau de développement économique des pays. La production mondiale de pesticides a connu une augmentation remarquable depuis 1945 jusqu'à 2005 (Carvalho, 2006).

5.2. En Algérie

L'importation des pesticides en Algérie a connu une évolution remarquable ces dernières années. À partir de 2002 on note une évolution exponentielle de cette importation, probablement suite à la restriction de ces produits en Europe et leur orientation vers le marché Algérien à des prix bas (FAO, 2010).

6. Exposition de l'homme aux pesticides

La contamination de l'homme par les pesticides peut se faire par différentes voies. Il peut les absorber via les aliments, l'eau, par contact avec la peau ou encore par inhalation (El-Mrabet, 2007).

La grande variété de produits et rend difficile l'évaluation des expositions des populations, qu'il s'agisse de la population exposée professionnellement ou de la population générale (CPP, 2002).

- ❖ Exposition professionnelle : concerne essentiellement les personnes manipulant les produits, au moment de la préparation, de l'application et de nettoyage des appareils de traitement. Les agriculteurs constituent une population particulièrement exposée (CPP, 2002).
- ❖ Exposition non professionnelle : l'ensemble de la population peut être exposé aux pesticides lors des usages domestiques ou d'entretien des jardins, mais surtout à des pesticides au travers de son environnement et de son alimentation (EC, 2007).
- ❖ Exposition de l'enfant : l'exposition de l'enfant aux pesticides peut avoir lieu très tôt, in utero via le placenta suite à l'exposition de la mère (Saunders et al., 2004), mais également après la naissance, soit directement par exposition aux contaminations domestiques (Eea et Who, 2002) ou via le lait maternel (Jurewicz et al., 2006).

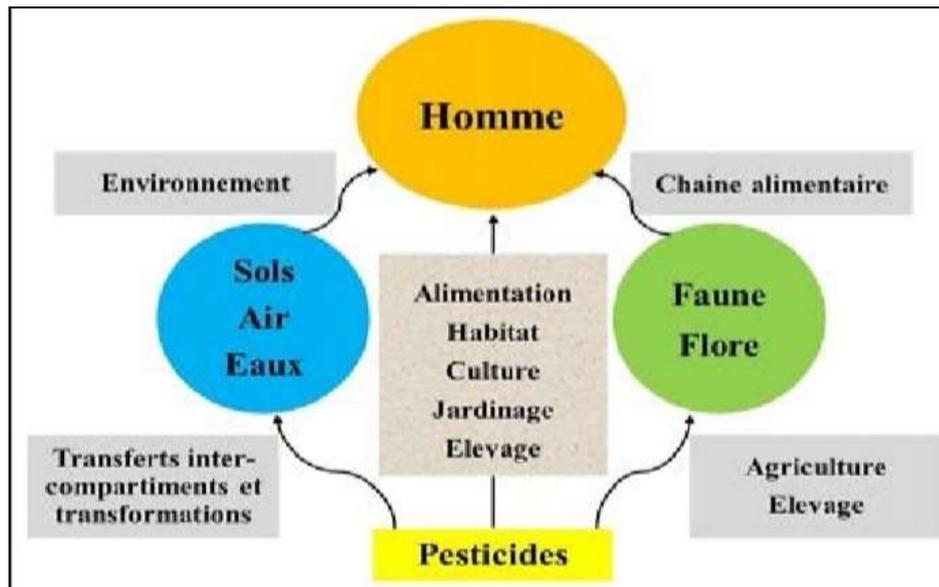


Figure 08 : Modes d'exposition des êtres vivants aux pesticides (CPP, 2002).

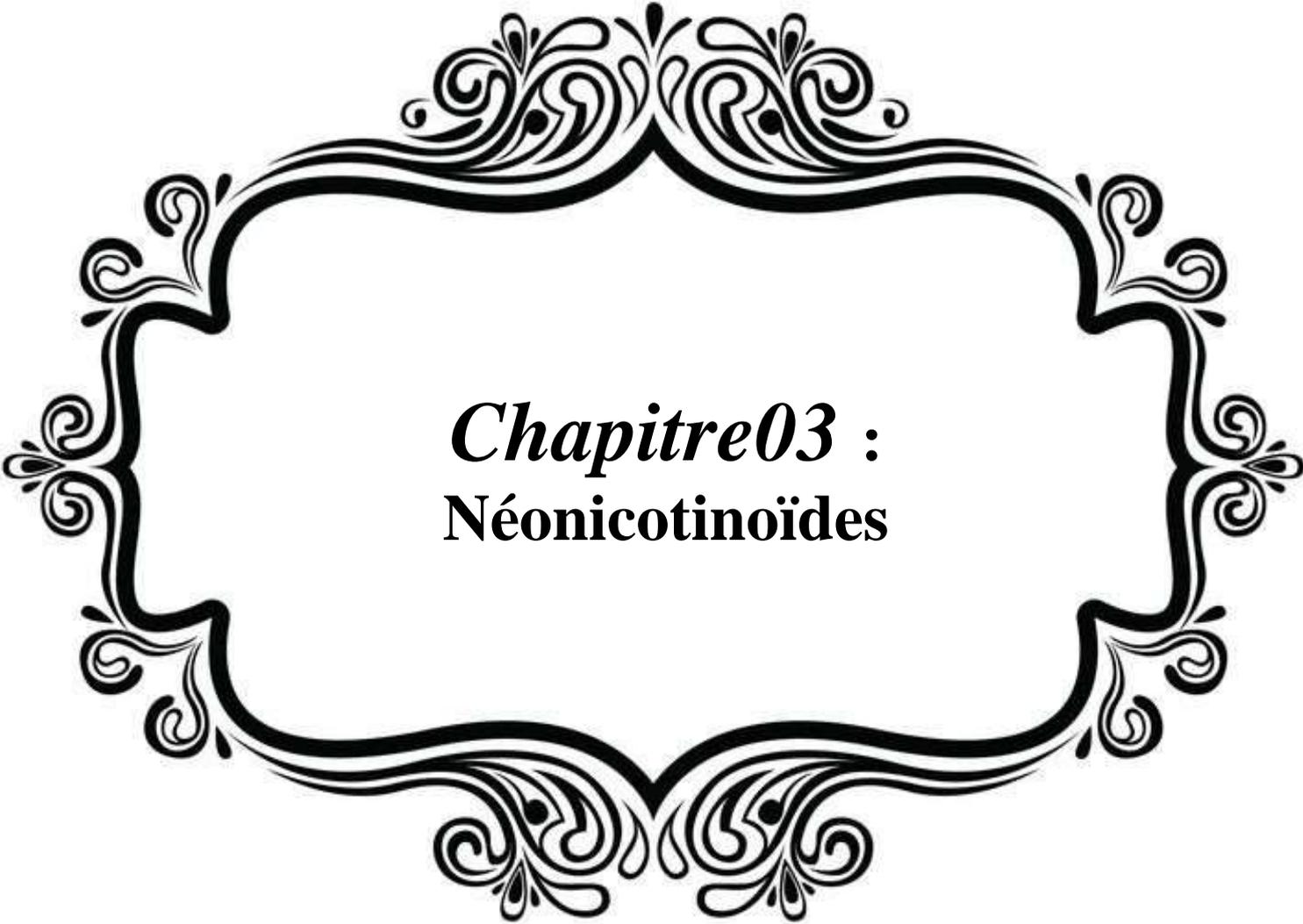
7. Effet des pesticides sur la santé humaine

L'exposition aux produits phytosanitaires peut occasionner deux types de dangers sur la santé humaine : effets aigus ou effets chroniques (Margoun, 2003).

Les effets aigus et leurs conséquences sont le plus souvent immédiats, alors que les effets chroniques se développent sur une période plus longue et peuvent persister longtemps après le fait (Ould Kankou, 2004).

Les manifestations peuvent se limiter à des signes locaux : irritations cutanéo-muqueuses, réactions allergiques cutanées ou oculaires, vomissements, toux, gêne respiratoire ou bien traduire l'atteinte d'un ou plusieurs organes ou systèmes : foie, rein, système nerveux central... on parle alors d'effets systémiques.

L'intoxication massive peut avoir des conséquences graves, parfois mortelles. Les effets peuvent être de nature cancérigène ; d'ordre neurologique, causant ainsi des troubles psychologiques, en particuliers des syndromes dépressifs ; ou bien se traduisent par l'atteinte de la reproduction, du développement et du système endocrinien, (Kersante, 2003).

A decorative black and white frame with intricate scrollwork and floral patterns, surrounding the central text.

Chapitre03 :
Néonicotinoïdes

1. Les Néonicotinoïdes

1.1. Définition

Les néonicotinoïdes sont des insecticides relativement nouveaux, ils représentent la nouvelle famille de pesticides la plus importante des trois dernières décennies (**Tomisawa et Casida, 2003**). Ils sont appelés ainsi à cause de leur mode d'action neurotoxique, car ils agissent au niveau des récepteurs nicotiniques post synaptiques (**Regnault-Roger, 2005**).

Depuis leur commercialisation au début des années 90, les néonicotinoïdes ont acquis une part importante du marché des insecticides, ils sont devenus les 1^{er} classe d'insecticides la plus vendue dans le monde, avec une part de marché supérieure à 23%. (**Elbert et al., 2008 et Jeschke et al., 2011**).

1.2. Classement des Néonicotinoïdes

La classe des néonicotinoïdes est composée de huit membres principaux en incluant la ni thiazine (Imidaclopride, Acétamipride, Nitenpyrame, Thiaméthoxame, Thiaclopride, Clothianidine, Dinotefuran) (**Kayser et al., 2004**).

Les néonicotinoïdes sont semblables à la molécule de la nicotine par leur mode d'action et partiellement par leur structure. Ils se différencient des autres classes chimiques de pesticides par leurs propriétés chimiques et biologiques uniques tels qu'un large spectre d'activité insecticide, des taux d'application bas, un nouveau mode d'action et un profil sécuritaire favorable (**Maienfisch et al., 2001**). Ils sont sélectifs grâce à la spécificité des récepteurs nicotiniques des insectes et des mammifères (**Tomisawa et Casida, 2003**).

1.3. Les applications des Néonicotinoïdes

Selon Gupta et Gajbhiye (2007) et Hatcher et ses collaborateurs (2008), les néonicotinoïdes sont les seuls insecticides possédant les 3 modes d'applications efficaces, pouvant en partie expliquer leur succès. Ces 3 modes sont les suivants :

- ❖ Traitements des parties aériennes des plantes : Imidaclopride, Acétamipride, Thiaclopride, Thiaméthoxame, Dinotefuran.
- ❖ Traitements du sol : Imidaclopride, Clothianidine.
- ❖ Enrobage des semences : Imidaclopride, Thiaméthoxame, Clothianidine.

2. Imidaclopride

2.1. Définition

- L'imidaclopride est un insecticide néonicotinoïde de la famille chimique des chloronicotinyl nitroguanidines .(**Wismer , T et Tomlin 2004**).
- Le nom de l'Union internationale de chimie pure et appliquée (UICPA) est 1-(6-chloro-3-pyridylméthyl)-N-nitroimidazolidin-2-ylidèneamine et le numéro d'enregistrement du Chemical Abstracts Service (CAS) est 138261-41- 3.(**Tomlin et al., 2006**).
- Les insecticides néonicotinoïdes sont des dérivés synthétiques de la nicotine, un composé alcaloïde présent dans les feuilles de nombreuses plantes en plus du tabac (**Costa et al., 2008**).

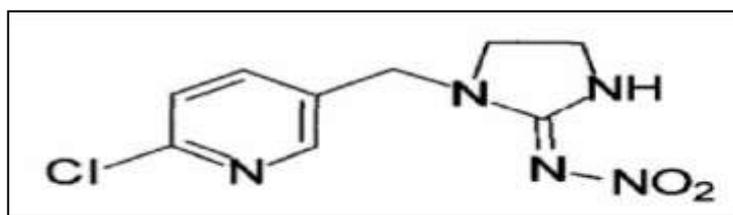


Figure 09 : La structure chimique de l'imidaclopride (**Wamhoff et Schneider, 1999**).

2.2. Propriétés physiques/chimiques

- L'imidaclopride est constituée de cristaux incolores à l'odeur légère mais caractéristique. ²
- Pression de vapeur: 3×10^{-12} mm Hg à 20 °C
- Coefficient de partage octanol-eau (K_{oc}) (**Tomlin 2006**) : 0,57 à 21 °C
- Constante d'Henry (**Tomlin 2006**) : $1,7 \times 10^{-10}$ Pa·m³ /mol
- Masse moléculaire (**Tomlin 2006**) 255,7 g/mol
- Solubilité (eau) :(**Tomlin 2006**) 0,61 g/L (610 mg/L) à 20 °C
- Coefficient d'absorption du sol (K_{co}) .3+-: 156-960, valeurs moyennes 249-336. (**Olivier, DP et al 2005**) ;(**Oi, M et al., 1999**) .

2.3. Les usages

L'imidaclopride est utilisée pour contrôler les insectes suceurs, certains insectes broyeur, y compris les termites, les insectes du sol et les puces sur les animaux de compagnie. En plus de son utilisation topique sur les animaux de compagnie, l'imidaclopride peut être appliqué sur les structures, les cultures, le sol et comme traitement des semences (Tomlin, Fossen, M ; 2006).

2.4. Mécanisme d'action

Le mode d'action des insecticides nicotinoïdes a été décrit par Schroeder et Flattum (1984) comme un effet sur les synapses cholinergiques qui entraîne un blocage post synaptique conséquent dans le système nerveux du Cafard américain. Nous comprenons maintenant que l'imidaclopride au récepteurs nicotinerigiques de l'acétylcholine. Cette liaison est très spécifique, impliquant uniquement des récepteurs nicotiniques et non muscariniques, qui déclenchent une toxicité typique des réactions nicotiniques (Thyssen et Machemer, 1999).

2.5. Métabolisme d'imidaclopride

Le métabolisme de l'imidaclopride est simple; il existe deux voies principales de métabolisme dans les systèmes mammifères. Le premier est le clivage oxydatif en imidazolidine, qui ne semble pas être métabolisé davantage, et l'acide nicotinique 6-Cl. Le fragment imidazolidine est excrété directement via l'urine, et le fragment nicotinique est dégradé via une conjugaison au GSH eu dérivé d'acide mercapturique et ensuite au l'acide méthylmercaptotonicotinique. La deuxième importante voie de biotransformation est l'hydroxylation de la molécule dans l'anneau imidazolidine suivi de l'élimination de l'eau sous la formation d'un métabolite insaturé (Thyssen et Machemer, 1999). L'imidaclopride est rapidement absorbée par le tractus intestinal et rapidement distribué dans le système mammifère, il est rapidement absorbée, métabolisé dans le foie et excrété principalement via l'urine (Vardavas et al ., 2018).

2.6. Effets toxicologiques

2.6.1. Toxicité aiguë

Selon l'OMS et l'agence de protection de l'environnement des États-Unis, l'imidaclopride est classée dans la catégorie «modérément toxique» classe II ou III, et présente une toxicité aiguë par voie orale plus importante chez la souris que chez le rat : la DL50 orale est de 450 mg.kg-1 de poids corporel chez le rat et 131 mg.kg-1 chez la souris (Ajermoun et al ., 2021).

2-6-2- Toxicité chronique

Plusieurs études illustrent la toxicité de l'IMI par ses différents mécanismes et leurs effets sur différents organes comme le cœur, les reins, le système nerveux et même la mort. Des études récentes montrent des effets de toxicité de l'IMI sur le système immunitaire, en plus des effets sur la reproduction chez les rats mâles (**Hassan et al., 2019**).

L'exposition chronique à l'imidaclopride induit une inflammation et un stress oxydatif dans le foie et les reins et même dans le système nerveux central chez le rat (**Duzguner et al., 2010; Sonphule et al., 2019**).

2.6.3. Perturbateur endocrinien

L'imidaclopride peut agir comme perturbateur endocrinien et peut perturber le métabolisme et l'homéostasie et contribuent à l'obésité et perturbent la stéroïdogénèse en inhibant les activités enzymatiques du cytochrome P450. Tous ces effets indésirables de l'imidaclopride peuvent présenter un grand risque pour la reproduction et le développement à long terme (Conséquences à l'âge adulte) (**Mikolić et Brčić Karačonji, 2018**).

2.6.4. Effets cancérigènes

L'imidaclopride est classé comme cancérigène du «groupe E», ce qui signifie qu'il n'y a aucune preuve de cancérigénicité chez l'homme (**Mikolić et Brčić Karačonji, 2018**).

2.6.5. Toxicité pour la reproduction

Une affection d'organe reproducteur chez les rats mâle, exposé trois mois à des doses d'imidaclopride inférieure à la dose sans effet observable (NOEL) qui est de 5 à 10 mg kg⁻¹ et diminution de la masse des organes sexuels accessoires, une diminution également du niveau de la testostérone et la concentration de sperme, avec une distorsion des spermatozoïdes, une modification des lipide qui composent le tissu testiculaire, une fragmentation de l'ADN séminal et l'Apoptose des cellules spermatogénèse (**Bal et al., 2012**).

2.6.6. Effets Neurotoxique

Dans une étude chez le rat administré par sonde gastrique jusqu'à 45 et 90 mg/kg de poids corporel pendant 28 jours provoquent une baisse significative de la activité locomotrice spontanée et douleur seuil chez le rat. Il existe également des études de neurotoxicité chronique et même aigue (**Lonare et al., 2014**).

2.6.7. Effets tératogènes

Une étude de toxicité développementale réalisée sur 400 œufs fertiles de poule qui sont exposés à différentes doses d'imidaclopride. Le 21e jour, les coquilles d'œufs ont été détruites et les embryons ont été prélevés retard de croissance entraînant un échec de la rétraction du sac vitellin, des anomalies des membres, grossissement du tête, ectopie

Chapitre03 : Néonicotinoïdes

viscérale et diminution du poids du poussin, de la longueur de la couronne et du croupion par rapport aux témoins (Hussein et Singh, 2016).

Tableau 05 : Classification de toxicité imidaclopride

CLASSIFICATION				
	Haute toxicité	Toxicité modérée	Faible toxicité	Très faible toxicité
DL orale aiguë 50	Jusqu'à 50 mg/kg inclus (≤ 50 mg/kg)	Plus de 50 à 500 mg/kg (>50-500 mg/kg)	Plus de 500 à 5000 mg/kg (>500-5000 mg/kg)	Supérieure à 5000 mg/kg (>5000 mg/kg)
Inhalation CL ₅₀	Jusqu'à 0,05 mg/L inclus (≤0,05 mg/L)	Supérieur à 0,05 à 0,5 mg/L (>0,05-0,5 mg/L)	Supérieur à 0,5 à 2,0 mg/L (>0,5-2,0 mg/L)	Supérieure à 2,0 mg/L (>2,0 mg/L)
DL ₅₀ cutanée	Jusqu'à 200 mg/kg inclus (≤ 200 mg/kg)	Plus de 200 à 2000 mg/kg (>200-2000 mg/kg)	Plus de 2000 à 5000 mg/kg (>2000-5000 mg/kg)	Supérieure à 5000 mg/kg (>5000 mg/kg)
Irritation primaire des yeux	Corrosif (destruction irréversible du tissu oculaire) ou atteinte ou irritation de la cornée persistant plus de 21 jours	Atteinte cornéenne ou autre irritation oculaire disparaissant en 8 à 21 jours	Atteinte cornéenne ou autre irritation oculaire disparaissant en 7 jours ou moins	Efficacité minimale des effets en moins de 24 heures
	Corrosif (destruction des tissus dans le derme et/ou cicatrisation)	Irritation sévère à 72 heures (érythème ou œdème sévère)	Irritation modérée à 72 heures (érythème modéré)	Irritation légère ou légère à 72 heures (pas d'irritation ni d'érythème)

A decorative frame with intricate scrollwork and floral patterns, surrounding the text. The frame is composed of thick black lines with elegant, symmetrical flourishes at the top, bottom, and sides.

Partie Pratique

1. Matériel

1.1. Matériel biologique et condition d'élevage

Les expérimentations ont été effectuées au niveau de laboratoire de l'université L'Arbi Tébessi de Tébessa. Nous avons utilisé 30 rats blancs mâles *Rattus Rattus* de la souche *Wistar*, provenant de l'institut pasteur d'Alger (Centre d'élevages El Kouba, Alger). Agés de neuf semaines, d'un poids corporel vif moyen de 170 à 300 g. Après la souris d'expérimentation, le rat est le mammifère d'expérimentation de l'ordre des rongeurs le plus utilisé en recherche scientifique.



Figure 10 : Rat male *Rattus* de la race *Wistar*

Ces rats ont été soumis à une période d'adaptation de 30 jours, aux conditions de l'animalerie ; à une température de $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ et une photopériode naturelle.

Les rats sont élevés dans des cages en polyéthylène qui sont tapissées d'une litière constituée de copeaux de bois. Les cages ont été nettoyées et la litière changée quotidiennement.



Figure 11 : Conditions d'élevage des rats *Rattus rattus*

1-2-Matériel chimique

Dans ce travail, nous avons utilisé Les Néonicotinoïdes à base l'Imidaclopride (IMI) pour le traitement des rats sous forme solution à deux doses 5 et 50 mg/kg/jour pour le traitement des rat.

1-2-1 Préparation de la solution de Néonicotinoïdes (IMI)

La solution d'IMI a été préparée en utilisant de l'eau dés-ionisée (DI), agitée pendant 24 heures. Pour la préparation des solutions on met (0.24mg et 2.4 mg) de pesticide en poudre avec 100 ml d'eau distille dans deux flacons différents après l'agitation des solutions avec un agitateur.

2- Méthode

2-1- Lotissement

Les rats mâles ont été répartis en 3 groupes de 10 rats chacun, il s'agit de :

Lots n° 1 : Contient 10 rats comme témoin ne subit aucun traitement.

Lots n° 2 : Contient 10 rats traités par l'IMI en raison de 5 mg/kg par voie orale

Lots n° 3 : Contient 10 rats traités par l'IMI en raison de 50 mg/kg par voie orale (chaque jour pendant 40 jours).



Figure 12: Méthode de traitement par voie orale

2-1-1 -Mesure du poids

La mesure de poids est effectuée sur les rats tous les jours d'une façon régulière pendant la durée d'élevage, soit au cours d'adaptation ou traitement (avant le traitement) à l'aide de balance électronique.



Figure 13 : Mesure du poids des rats dans laboratoire

2-2- Sacrifice et prélèvement d'organes

Après 40 jours de traitement les rats de 3 lots ont été sacrifiés, les reins ont été rapidement prélevés après la dissection et rincés dans une solution de chlorure de sodium (NaCl) à 0,9% puis pesées et conservées a température (-20°C), pour les dosages des différents paramètres.



Figure 14 : Le sacrifice de rat.



Figure 15: Prélèvement des organes

2- 3- Estimation du poids relatif du rein

Le poids relatif des reins extraits des rats PRp [g/100g de poids corporel]) est calculé par rapport au poids total du rat selon la formule suivant :

$$\underline{\underline{\text{PRP (g/100g de PT) = PR/PT x 100}}}$$

- ❖ **PR:** poids du rein (g).
- ❖ **PT :** poids total de rat (g).
- ❖ **PRp :** poids relatif du rein (g)

Partie pratique

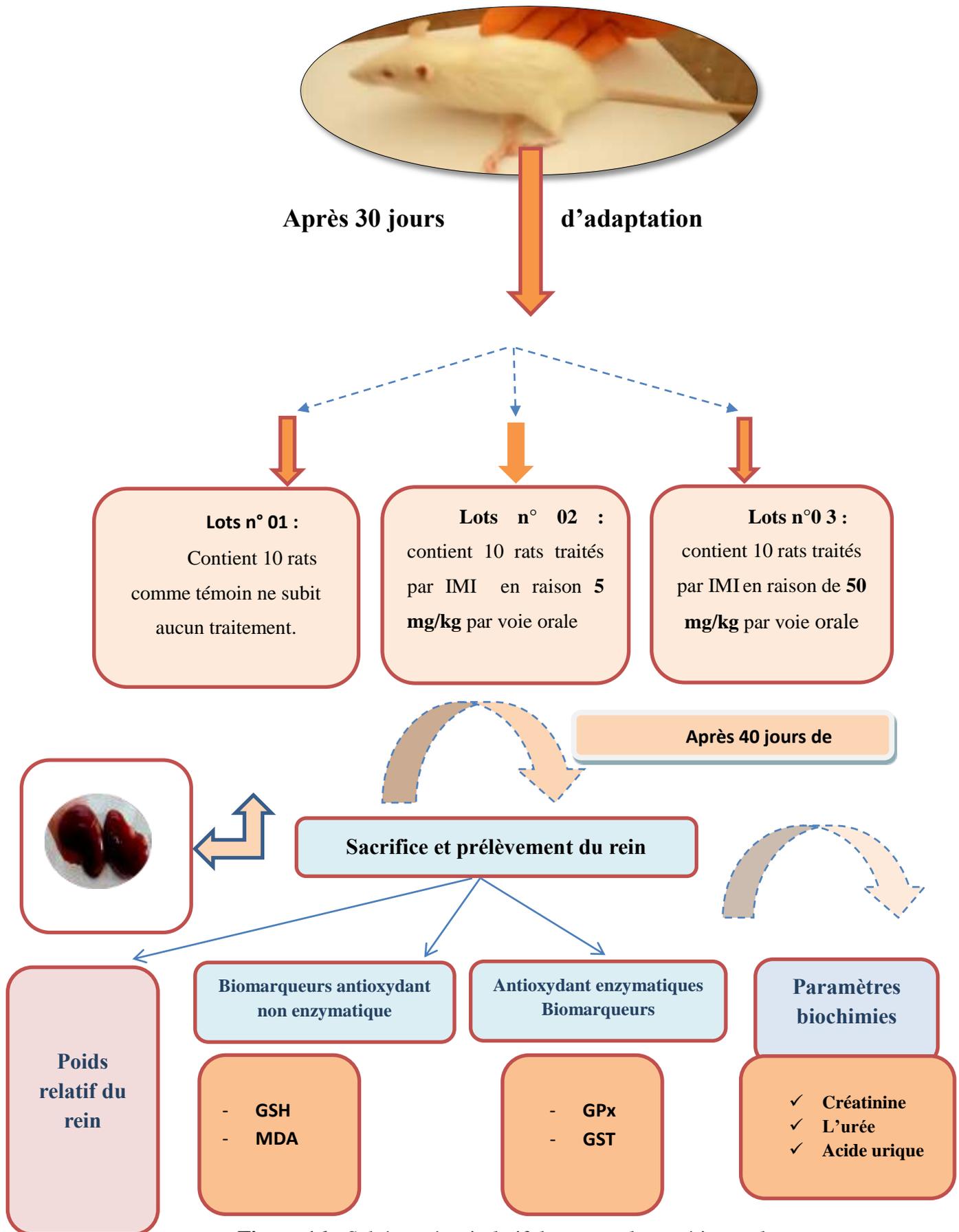


Figure 16 : Schéma récapitulatif du protocole expérimental.

3- Paramètres du stress oxydative

Qui comprend des paramètres enzymatiques et non enzymatiques.

3.1 -Biomarqueurs non enzymatiques

3-1-1- Dosage du glutathion (GSH)

- **Principe de la méthode**

Le principe de ce dosage repose sur la mesure de la densité optique de l'acide 2-nitro-5-mercaptopurique. Ce dernier résulte de la réduction de l'acide 5,5'-dithio-2-nitrobenzoïque (réactif d'Ellman ou DTNB) par les groupements (-SH) du glutathion. Une fois préparé, l'homogénat doit subir une déprotéinisation par l'acide sulfosalicylique à 0,25% afin de protéger les groupements (-SH) du glutathion selon la méthode de **(Weckbeker & Cory,1988)**.

- **Protocole expérimental**

- ✓ Préparer les homogénats à partir de 1ml de culture avec tampon phosphate EDTA (0,02M);
- ✓ Prélever 0,8ml de l'homogénat auquel y ajouter 0,2ml d'une solution d'acide sulfosalicylique (SSA) 0,25%;
- ✓ Agiter le mélange et laisser pendant 15 min dans un bain de glace;
- ✓ Centrifuger à la vitesse de 1000 tours/min pendant 5min;
- ✓ Prélever 0,5 de surnageant;
- ✓ Ajouter au mélange : 1ml de tampon Tris-EDTA (0,02M d'EDTA, pH 9,6), 0,025ml de DTNB et 0,5ml du surnageant.
- ✓ Laisser reposer pendant 5 minutes à température ambiante pour la stabilisation de la couleur. La réaction colorimétrique se développe instantanément;
- ✓ Mesurer les absorbances à 412 nm contre le blanc.

La concentration du glutathion est obtenue après application de la formule suivante :

$$GSH \left[M \frac{GSH}{mg} \right] = \frac{DO \times 1 \times 1,525}{13100 \times 0,8 \times 0,5}$$

- ✓ **DO** : la densité optique.
- ✓ **1**: Le volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation (0,8 ml de l'homogénat + 0,2ml de l'acide salicylique).

Partie pratique

- ✓ **1,525** : Le volume total des solutions utilisées dans le dosage du GSH au niveau du surnageant (0,5ml surnageant + 1ml Tris-EDTA + 0,025ml DTNB).
- ✓ **13100** : Coefficient d'absorbance (concernant le groupement (-SH) à 412 nm).
- ✓ **0,8**: Le volume de l'homogénat.
- ✓ **0,5** : Le volume du surnageant trouvé dans un 1,25ml

La concentration de GSH est mesurée par rapport à 1mg de protéine. C'est pour cela ce dosage doit être accompagné par le dosage des protéines.

3.1.2- Dosage du Malondialdéhyde (MDA)

Le MDA est l'un des produits terminaux formés lors de la décomposition des acides gras polyinsaturés (PUFA) méditées par les radicaux libres.

• Principe

Les malondialdéhydes (MDA) sont dosés selon la méthode (**d'Esterbauer et al., 1992**). Cette méthode est basée sur la mesure colorimétrique de la réaction entre l'acide thiobarbiturique (TBA) et le malondialdéhyde (MDA) dans un milieu acide et chaud (100°C) en donnant un produit rouge brun dont l'intensité de la coloration est mesurée à une longueur d'onde de 530 nm.

• Protocole expérimental

- Préparer les homogénats à partir de 200mg d'organe avec tampon d'homogénéation TP (pH 7,4);
- Centrifuger à 3000 tours/min pendant 10 min;
- Prélever 375 µl de surnageant;
- Ajouter 150 µl de solution tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM pH 7.4);
- Ajouter 375 µl de solution TCA-BHT (TCA 20%, BHT 1%);
- Agiter et centrifuger à 1000 tours/min pendant 10 min;
- Prélever 400 µl de surnageant;
- Ajouter 80 µl d'HCl 0.6 M;
- Ajouter 320 µl de solution Tris-TBA (Tris 26 mM, TBA 120 mM);
- Mélanger et incuber au bain marie à une température de 80°C pendant 10 min;
- Lire La densité optique à $\lambda = 530$ nm.

L'absorbance est directement proportionnelle à la quantité de MDA formé, donnant ainsi une évaluation précise des lipides peroxydés. La concentration du MDA est calculée

Partie pratique

selon la loi de Beer-Lambert (DO = E.C.L) :

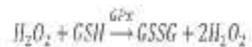
$$[C] \left(\frac{\text{nmol}}{\text{mg}} \text{ de protéines} \right) = \frac{DO \times 10^5}{E \times L \times X \times Fd}$$

- **C** : la concentration en nmole /mg de protéines.
- **DO** : densité optique lue à 530 nm.
- **E**: Coefficient d'extinction molaire du MDA = $1.56 \cdot 10^5$ M-/cm.
- **L** : Longueur de la cuve utilisée (1cm).
- **X** : concentration de l'extrait en protéines (mg/ml)
- **F.d** : Facteur de dilution (Fd = 0.2083).

3.2- Biomarqueurs enzymatiques

3.2.1-Dosage de l'activité du glutathion peroxydase (GPx)

L'activité enzymatique du glutathion peroxydase (GPx) a été mesurée par la méthode de (**Flohe & Gunzler. 1984**). Cette méthode est basée sur la réduction de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en présence du glutathion réduit (GSH), ce dernier est transformé en (GSSG) sous l'influence de GPx selon la réaction suivante :



Protocole expérimental

- Préparer les homogénats à partir de 200mg d'organe avec tampon d'homogénéation TP (pH 7.4)
- Centrifuger à 3000 tours/min pendant 10 min
- Prélever 0.2 ml de surnageant
- Ajouter 0.4 ml de GSH (0.1 mM)
- Ajouter 0.2 ml de solution tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7.4)
- Incuber au bain marie à 25°C, pendant 5 min
- Ajouter 0.2 ml de H_2O_2 (1.3 mM) pour initier la réaction, laissé agir pendant 10 min
- Ajouter 1 ml de TCA (1%) pour arrêter la réaction
- Mettre le mélange dans un bain de glace pendant 30 min
- Centrifuger durant 10 minutes à 3000 tours /min

Partie pratique

- Prélever 0.48ml de surnageant
- Ajouter 2.2ml de solution tampon TBS
- 4Ajouter 0.32ml de DTNB (1mM)
- Mélanger et après 5 minutes lire les densités optiques à 412 nm.

La détermination de l'activité enzymatique de la GSH-Px se fait à l'aide de la formule suivante:

$$\text{GPx}(\mu\text{mol. mg de protéine}) = \frac{(\text{DOe} - \text{DOb}) \cdot 0,04}{\text{DOb}}$$

- **DO:** échantillon : Densité optique de l'échantillon.
- **DO étalon:** Densité optique de l'étalon.
- **0.04:** Concentration de substrat (GSH).

Calcule l'activité GPx

La détermination (calcule) de l'activité de la GPx se fait de la façon suivant:

- Activité de GSH consommée/min/gr de protéine.
- Blanc=0.04 micro mole de GSH réduit →DOb.
- Extrait=0.04 micro mole de GSH réduit → DOe.

Donc la concentration de GSH réduit qui sera oxydée (disparue) = DOe-DOb

$X = (\text{DOe} - \text{DOb}) \times 0.04 / \text{DO b}$ = quantité de GSH réduit disparue (oxydée) dans 0.2 extrait dans 1ml.

L'activité de la GPx = la quantité de GSH réduit oxydée disparue

$$X = \frac{5}{\text{prot éine}}$$

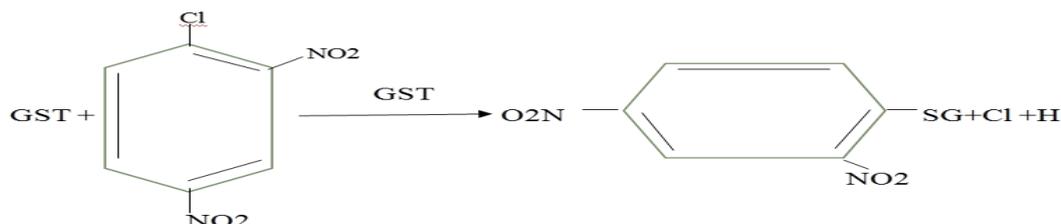
3.2.2- Dosage de l'activité de glutathion S-Transférase (GST)

Les glutathion S-transférases appartiennent à une famille d'enzyme multifonctionnelle essentiellement cytosolique, impliqués dans le transport et la biosynthèse intracellulaire, elles catalysent des réactions de conjugaison entre un peptide endogène, le glutathion, et des molécules réactives comportant des sites électrophiles.

Partie pratique

La mesure de l'activité de glutathion S-Transférase (GST) est déterminée selon la méthode de (**Habig et al., 1974**). elle mesure la cinétique de formation entre un substrat modèle, le chlorodinitrobenzène (C-DNB) et le glutathion ; Elle est basée sur la réaction de conjugaison entre la GST et un substrat, le CDNB (1-Chloro2, 4 di nitrobenzène) en d'un cofacteur le glutathion (GST), la conjugaison entraîne la formation d'une molécule nouvelle.

1-S-Glutathionyle 2-4Di nitrobenzène permettant de mesurer l'activité de GST selon la réaction suivante:



La valeur de la densité optique mesurée est directement proportionnelle à la quantité de conjugué formé elle-même liée à l'intensité de l'activité GST.

Pour cela, nous avons procédé aux étapes suivantes:

- Homogénéisation par 1 ml de tampon phosphate (0.1 M, pH 06).
- L'homogénat est centrifugé à 14000 t/min pendant 30 min et le surnageant récupéré servira comme source d'enzymes.
- Le dosage consiste à faire réagir 200 μ l du surnageant avec 1.2 ml du mélange CDNB (1mM), GSH (5mM) [20.26 mg CDNB, 153.65mg GSH, 1 ml éthanol, 100 ml tampon phosphate (0.1 M, pH 06)].
- La lecture des absorbances est effectuée pendant une minute et chaque 15 secondes à une longueur d'onde de 340 nm contre un blanc contenant 200 μ l d'eau distillée remplaçant la quantité de surnageant.
- La lecture de l'absorbance se fait à 340 nm après 30 s en intervalle de 3 min. La concentration de la GST est obtenue par la formule suivante :

$$\text{GST}(\text{nmol GST}/\text{min}/\text{mg protéine}) = \frac{(\text{DO échant}/\text{min} - \text{DO blanc}/\text{min})}{9,6 \times \text{mg de protéine}}$$

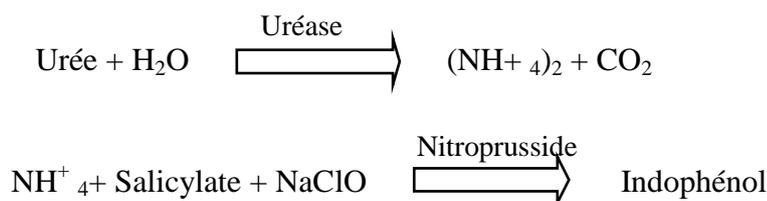
- ❖ $\Delta \text{DO échantillon} - \Delta \text{DO blanc}$: moyenne des DO des échantillons par minute – moyenne des DO des Blancs par minute.
- ❖ ϵ : Coefficient d'extinction moléculaire du C-DNB, ϵ C-DNB=9.6 mM \cdot l.cm $^{-1}$
- ❖ L: Trajet optique de la cuve =1cm.

3.3-Dosage de quelques paramètres biochimiques

3.3.1-Dosage de l'urée

Principe

L'Uréase hydrolyse l'urée en ammoniacque (NH_4^+) et en dioxyde de carbone (CO_2). L'ion ammonium réagit avec le salicylate et hypochlorite dans une réaction catalysée par le nitroprusside pour donner indophénol vert, selon les réactions :



L'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration d'urée dans l'échantillon (Kaplan, 1984).

3.3.2- Dosage de la créatinine

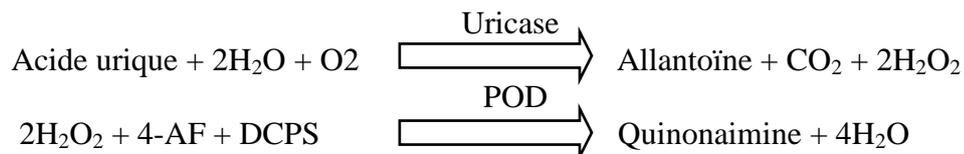
Principe

La créatinine réagit avec le picrate alcalin en formant un complexe de couleur rouge. L'intervalle de temps choisi pour les lectures permet d'éliminer une grande partie des interférences connue pour la méthode. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de créatinine présente dans l'échantillon testé (Murray, 1984).

3.3.3- Dosage de l'acide urique

Principe

L'acide urique est oxydé par l'uricase à l'allantoïne et le peroxyde d'hydrogène ($2\text{H}_2\text{O}_2$) qui, en présence de la peroxydase (POD), 4- aminophénazone (4-AF) et du 2-4 Diclorophénol sulphonate (DCPS) forme un composé rosacé:



L'intensité de quinonamine rouge formée est proportionnelle à la concentration d'acide urique présente dans l'échantillon testé (Schultz, 1984).

4. Etude statistique

- Ces calculs ont été effectués à l'aide de logiciel MINITAB d'analyse et de traitement statistique des données (version 18.01).
- Les résultats obtenus sont traités sous la forme de (moyenne \pm écartype) et en suites ont représenté en des graphes à l'aide de Microsoft office Excel 2010.
- La signification de différence entre le lot témoin et les lots traités est vérifiée en utilisant le test de Dunette et de Tukey.
- La valeur trouvée par le calcul du test peut affirmer que les populations sont différentes avec un risque d'erreur p tel que :
 - $p > 0,05$ = la différence n'est pas significative ns
 - $0,05 > p > 0,01$ = la différence est significative*
 - $0,01 > p > 0,001$ = la différence est hautement significative**
 - $p < 0,001$ = la différence est très hautement significative***
- Nous avons déterminé, grâce aux statistiques élémentaire ; les paramètres statistiques pour chaque lot expérimental. Les données ont été analysées par l'analyse de la variance à un seul critère de classification (ANOVA I).

*Résultats &
Discussion*

Partie Pratique

Résultats

2.1- Effet de l'Imidaclopride (IMI) sur le Poids relatif du rein (%) des rats

Nous avons suivi l'évolution des poids absolus (PA) et relatifs (PR) du rein chez les rats témoins et les rats traités par l'Imidaclopride (IMI) (**Tableau 06 ; Figure 17**).

Pour le suivi des changements des poids relatif du rein des rats pendant la période de traitement. Nous remarquons une diminution significative ($p < 0.05$) du poids relatif du rein chez le groupe traité par l'Imidaclopride (IMI) à dose (50mg/kg/j) comparant au groupes témoins. Tandis que, on enregistre une diminution non significative ($p > 0.05$) chez le groupe traité par l'Imidaclopride (IMI) à dose (5mg/kg/j) par rapport aux témoins.

Tableau 06 : Variation du poids relative du rein chez les différents groupes expérimentaux.

Groupe	Témoin	IMI (5mg/kg)	IMI (50mg/kg)
Poids Relatif du rein (%)	0.67±0.04	0.61±0.05	0.53±0.06*
* : Différence significative comparant au témoin ($P \leq 0.05$). ** : Différence hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0.01$). *** : Différence très hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0.001$). P : Seuil de signification.			

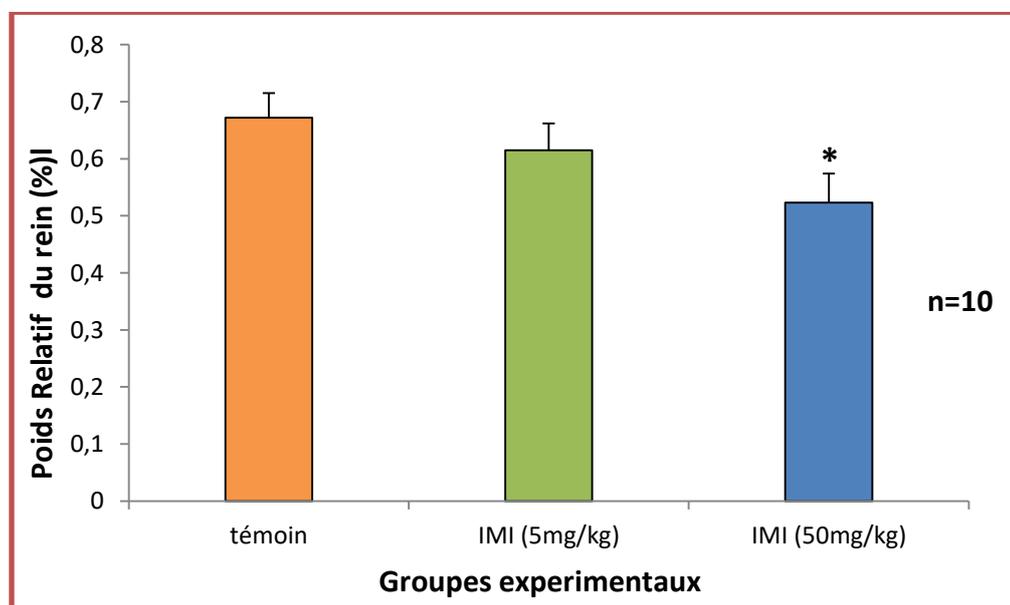


Figure 17: Poids relatif du rein chez les rats témoins et traités par l'Imidaclopride (IMI) après 40 jours de traitement.

Partie Pratique

II.1.2.Effet du l'Imidaclopride (IMI) sur les paramètres de stress dans le rein

Les résultats présentés dans (le tableau 07 et la figure 18 et 19) représentent la variation de taux de GSH, MDA, et la variation de l'activité de GPx et GST chez les rats traités par l'Imidaclopride (IMI) par rapport les témoins.

Tableau 07: Effet du l'Imidaclopride (IMI) sur les paramètres de stress dans le rein chez différents groupes expérimentaux.

Paramètres		Groupes des rats		
		Témoin	IMI (5mg/kg)	IMI (50mg/kg)
P. Non enzymatique	GSH ($\mu\text{mol}/\text{mg}$ de protéine)	7.063E-06 \pm 4.0004E-07	6.042E-06 \pm 3.592E-07*	2.982E-06 \pm 1.76E-07***
	MDA ($\mu\text{mol}/\text{mg}$ de protéine)	0.29 \pm 0.01	0.302 \pm 0.02	0.389 \pm 0.03*
P. Enzymatique	GST ($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine)	1.15 \pm 0.08	1.08 \pm 0.06	0.81 \pm 0.05**
	GPx ($\mu\text{mol}/\text{mg}$ de protéine)	0.14 \pm 0.01	0.19 \pm 0.02*	0.301 \pm 0.02**
* : Différence significative comparant au témoin ($P \leq 0.05$). ** : Différence hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0.01$). *** : Différence très hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0.001$). P : Seuil de signification.				

2.2.1. Effet sur les paramètres non enzymatiques

2.2.1.1. Effet sur le taux de GSH

Cette figure (17) représente la variation de taux de GSH chez les rats traités par L'Imidaclopride (IMI) par rapport les témoins.

Dans notre travaille nous observons une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) chez le lot traitée par l'Imidaclopride (IMI) à dose (50 mg/kg/jour) aussi une diminution significative ($p < 0.05$) chez le lot traitée par l'Imidaclopride (IMI) à dose (5mg/kg/jour).

2.2.1.2. Effet sur le taux de Malondialdéhyde (MDA)

D'après les résultats présentés dans la figure (17) et tableau (07).On observe une augmentation significative ($p < 0.05$) du taux de MDA rénale chez les rats traité par l'IMI (50mg/kg)et une augmentation non significative ($p > 0.05$) chez les rats traité par l'IMI (5mg/kg) par rapport aux témoins.

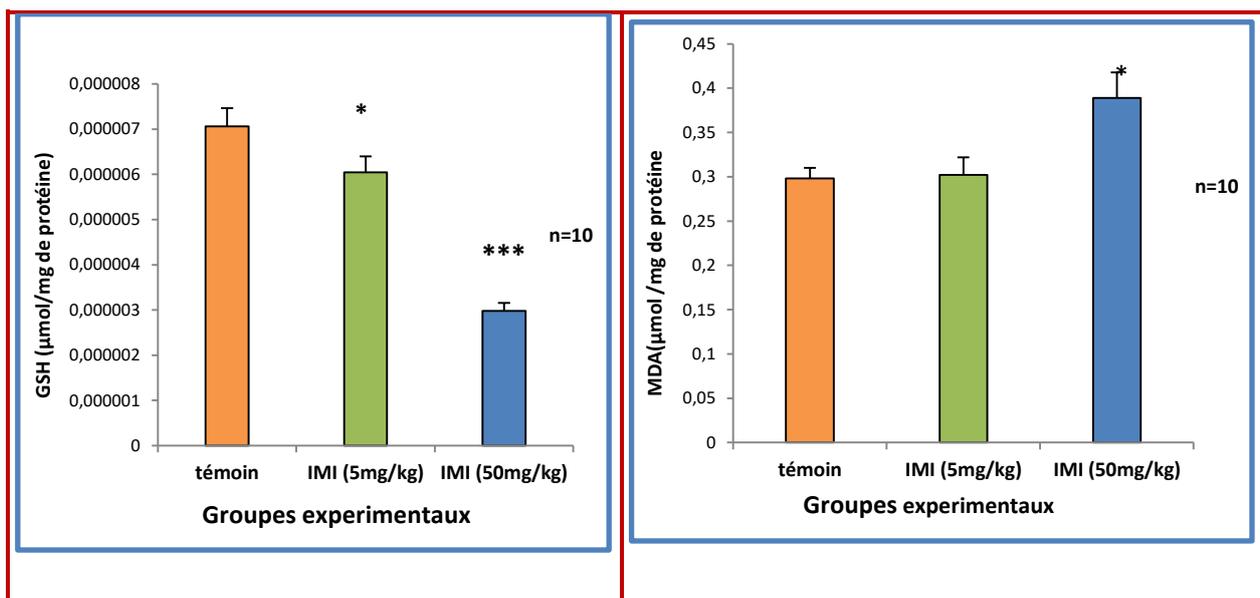


Figure 17: Variation de teneur rénale en GSH, MDA chez les rats témoins et traités par l'Imidaclopride (IMI) après 40 jours de traitement.

2.2.2. Effet sur les paramètres enzymatiques

2.2.2.1. Effet sur l'activité de GPx

La **figure (18)** représente la variation de GPx chez les rats traités par l'Imidaclopride (IMI). Nous observons dans cette présent qui il y a une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) dans les lots traitée par l'Imidaclopride (IMI) à dose (50mg/kg/jour) et il y a une augmentation significative ($p < 0.05$) chez le lot traitée par l'Imidaclopride (IMI) à dose (5mg/kg/jour) par apport au groupe témoin.

2.2.2.2. Effet sur les variations de l'activité GST (Glutathion –S-transférase)

Cette **figure (18)** représente la variation de l'activité de GST traités par l'Imidaclopride (IMI), dans notre travaille nous observons qui il y a une diminution hautement significative ($P < 0.01$) chez le lot traitée par l'Imidaclopride (IMI) à dose (50 mg/kg/j) et une non significative ($p > 0.05$) chez le lot traité par l'Imidaclopride (IMI) à dose (5mg/kg/j) par apport ou groupe témoins.

Partie Pratique

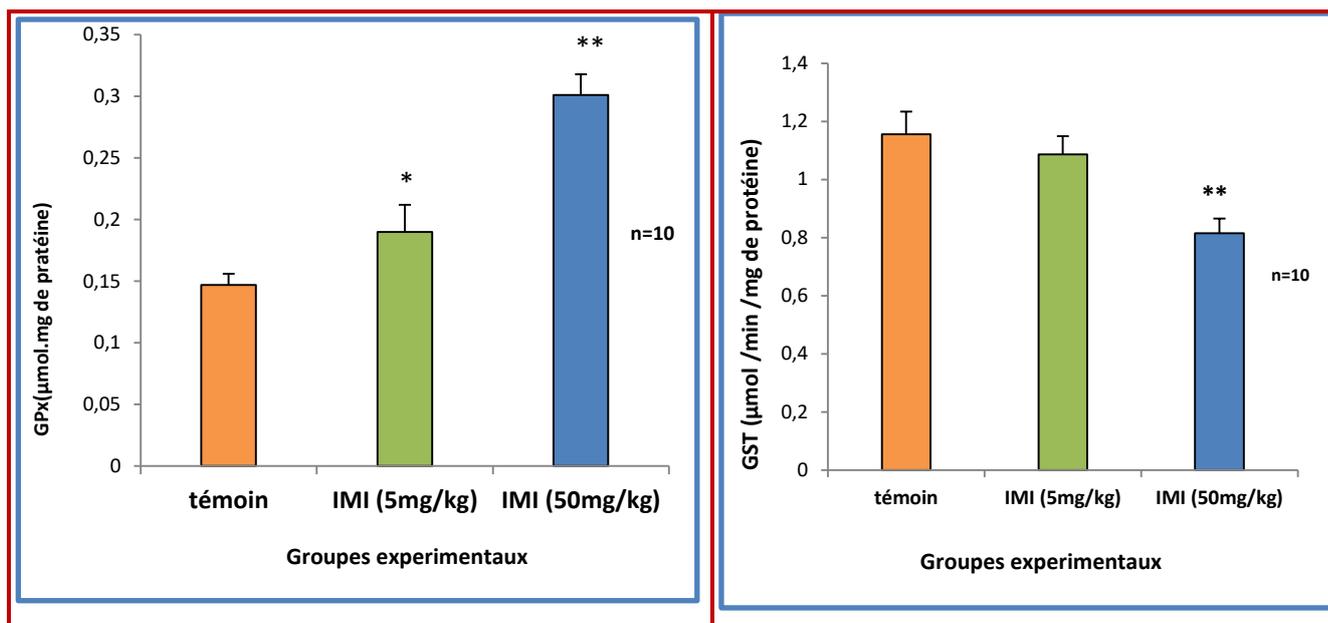


Figure 18: Variation de teneur rénale en GST, GPx chez les rats témoins et traités par l'Imidaclopride (IMI) après 40 jours de traitement.

II.1.3. Evaluation des paramètres biochimiques

Les résultats représentés dans le **tableau (08)** montrent que l'administration de l'Imidaclopride induit une augmentation significative ($p < 0.05$) du taux d'urée, du taux de créatinine et l'acide urique chez le groupe traité par l'Imidaclopride (IMI) à dose (5mg/kg/j) comparant au groupe témoin. Tandis que, on enregistre une et une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) du taux d'urée, du taux de créatinine et l'acide urique et du taux d'acide urique chez le groupe traité par l'Imidaclopride (IMI) à dose (50mg/kg/j) par rapport aux témoins.

Tableau 08 : Concentration d'acide urique, urée et créatinine chez le groupe témoin et les groupes traités.

Paramètre	Groupes des rats		
	Témoin	IMI (5mg/kg)	IMI (50mg/kg)
l'urée (g/l)	0.42±0.019	0.47±0.04*	0.59±0.056**
La créatinine (mg/l)	10.13±0.27	13.21±0.43*	18.07±0.58**
l'acide urique (mg/dl)	24.06±2.08	37.33±1.58*	49.76±2.43**
* : Différence significative comparant au témoin ($P \leq 0.05$). ** : Différence hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0.01$). *** : Différence très hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0.001$). P : Seuil de signification.			

Partie Pratique

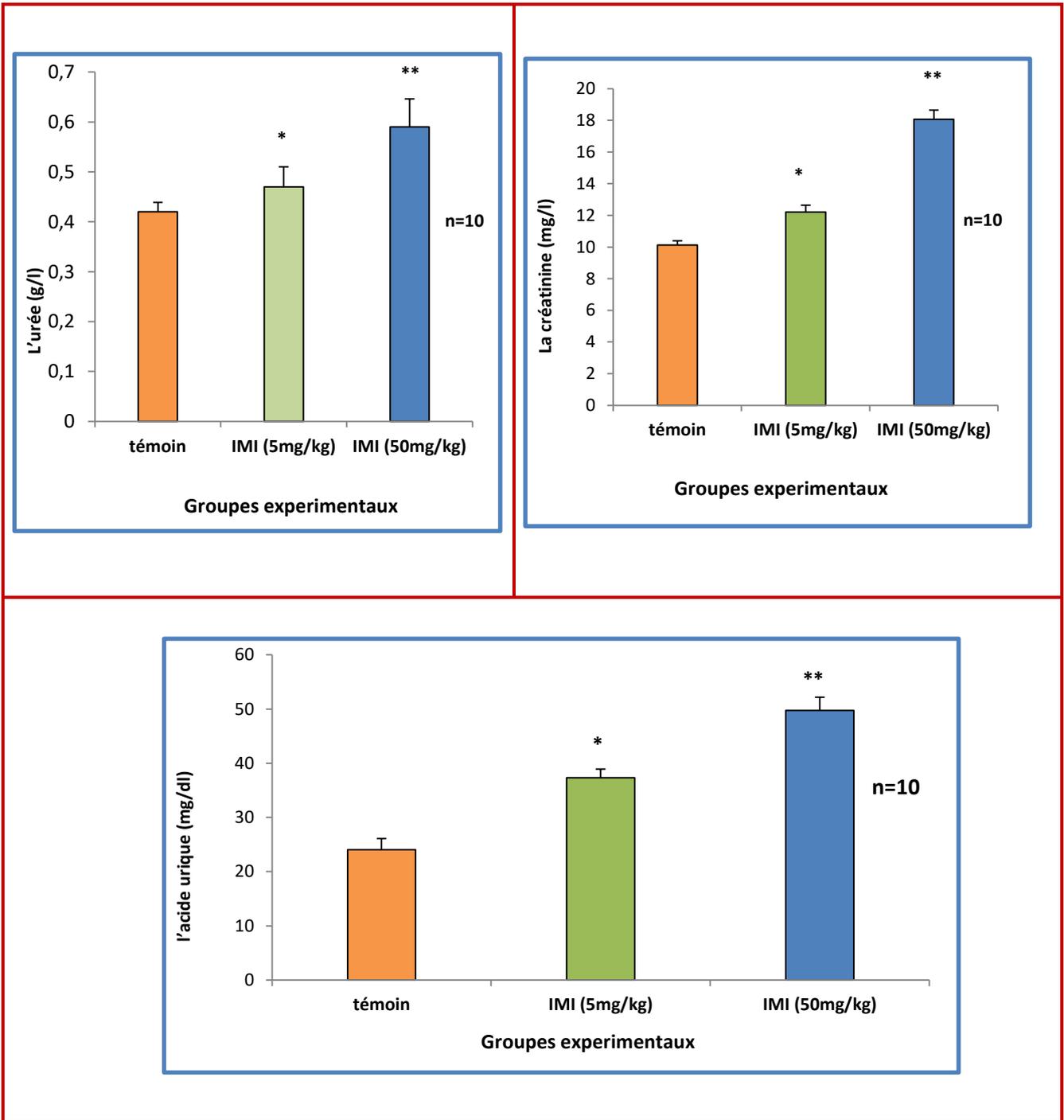


Figure19 : Concentration d'acide urique, urée et créatinine chez le groupe témoin et les groupes traités par l'Imidaclopride (IMI) après 40 jours de traitement.

Discussion

Le stress oxydant est le résultat des processus de multi-étapes causant par un déséquilibre dans la balance entre les pro-oxydants et les antioxydants (enzymatique et non enzymatique) et menant aux dommages tissulaires conduisant en premier lieu à de nombreuses maladies et finalement à l'apoptose. (Lee et al., 2016).

Les pesticides sont des composés chimiques touchent presque l'ensemble des organes de l'être humain à travers la chaîne trophique (Valcheva et al., 2012).; par conséquent cette étude a été basée sur la néphrotoxicité de l'Imidaclopride (IMI) chez les rats *Wistar*, à cause de la similarité qui existe entre les poumons humains et ceux des rongeurs, aussi les rongeurs présentent un bon outil pour étudier les changements pathologiques *in vivo*

I. Effet de l'imidaclopride sur le poids du rein

Dans notre travail nous remarquons une diminution significative ($p < 0.05$) du poids relatif du rein chez le groupe traité par l'Imidaclopride (IMI) à dose (50 mg/kg/j) comparant au groupe témoin. Tandis que, on enregistre une diminution non significative ($p > 0.05$) chez le groupe traité par l'Imidaclopride (IMI) à dose (5mg/kg/j) par rapport aux témoins.

D'abord, nous expliquons la différence des résultats entre les deux doses d'imidaclopride 5 et 50 mg /kg par le principe de toxicologie de la relation dose/effet.

En ce qui concerne les reins, le poids relatif a atteint une diminution significative qui est expliquée par l'hypotrophie des tissus rénaux causée par l'imidaclopride. Et il est probablement due à la dégradation des cellules rénales et l'activation de l'excrétion des lipides d'une part et l'augmentation de la libération des molécules réactives d'oxygène et provoquent l'oxydation accrue des protéines qui causent la mort cellulaire ou réduisant ainsi les cellules. Ces résultats étaient incompatibles avec (Mithlesh Kumar Srivastava, 2010) qui trouve durant de leur expérimentation subaiguë sur les souris avec la même molécule à dose 4 mg/kg que l'IMI ne touche pas le poids du rein.

II. Effet de L'imidaclopride sur les paramètres biochimiques (Créatinine, urée, l'acide urique)

Le rein est un organe particulièrement sensible à l'action des toxiques, en raison de son intense activité métabolique et de ses multiples fonctions, notamment celles d'excrétion et de concentration des xénobiotiques. Les variations des concentrations des paramètres sériques sont utilisées comme marqueurs de diagnostic des lésions rénales; leurs augmentations ou leurs diminutions reflètent un dysfonctionnement rénal.

Les variations des concentrations des paramètres sériques sont utilisées comme marqueurs de diagnostic des lésions rénales; leurs augmentations ou leurs diminutions reflètent un dysfonctionnement rénal.

La créatinine sérique est un déchet métabolique azoté, produit terminal du catabolisme de la créatine musculaire. On considère que la filtration glomérulaire est le mécanisme essentiel de l'élimination de la créatinine (**Mamczaret *al*, 2005**).

L'augmentation significative de la concentration de la créatinine dans le sérum des rats traités par l'IMI dans notre étude pourrait avoir résulté de son excrétion diminuée qui, alternativement, est liée à l'insuffisance rénale. La concentration de la créatinine dans le sang est connue pour se corrélérer inversement avec le volume de filtration glomérulaire (**Uboh et *al*, 2012**).

En outre, la concentration accrue d'urée sérique chez les rats traités par l'IMI impliquent que la fonction rénale est altérée. Les niveaux élevés d'urée dans le sang peuvent résulter d'une diminution du taux de sécrétion dans les urines, qui peut résulter probablement d'une insuffisance rénale, l'une des causes les plus fréquentes de l'augmentation de l'urée sans rapport avec une altération rénale est une augmentation du catabolisme protéique (**Maurey, 2005; Hernandez-Serrato et Teresa, 2009**). Il est aussi probable que l'IMI empêche l'incorporation des acides aminés dans les protéines causant une augmentation du catabolisme des protéines et des niveaux de l'urée et de la créatinine qui sont les métabolites principaux du métabolisme des protéines (**Garouietal, 2011; Salem, 2011**).

L'acide urique sérique est augmenté alors qu'il est diminué dans les urines chez les rattes traitées par l'IMI ; en tant qu'un produit final de dégradation des purines libres (l'adénine, la guanine, la xanthine et l'hypoxanthine) qui proviennent elles-mêmes du catabolisme des acides nucléiques. L'acide urique sert de biomarqueur car son augmentation, même faible, peut être associée au développement de divers effets pathologiques, tels que

Partie Pratique

l'hypertension artérielle, le diabète sucré, des maladies cardiovasculaires ou encore de maladies rénales (**Emond et Krzkwowski, 2012**). **Modanet et al., 1987** expliquent cette élévation soit par la production accélérée de l'acide urique, soit par la diminution de sa sécrétion. Et comme l'acide urique est l'un des plus importants antioxydants, il est capable d'éliminer jusqu'à 60% des radicaux libres. L'excès ou le taux élevé de l'acide urique circulant, peut être un indicateur de défense de l'organisme contre les effets délétères des radicaux libres (**Madero et al., 2009**).

III. Effet de l'imidaclopride sur les paramètres du stress oxydatif

L'organisme se protège en permanence contre la formation et l'agression des oxydants par différents mécanismes de défense, enzymatiques et non enzymatiques (**Mithilish et al., 2010**).

1. Paramètre non enzymatique

1.1. Effet sur la GSH

On trouve principalement le glutathion réduit (GSH) : c'est un antioxydant puissant, important pour la protection cellulaire, la détoxification des ERO, la conjugaison et l'excrétion des molécules toxiques (**shipra bhardawaj et al ;.2010**).

Nos résultats montrent une diminution des taux pulmonaires de GSH après exposition à l'imidaclopride. Cette diminution est en réponse au stress oxydatif induit par l'imidaclopride (**Kumar et al, 2017**). Ce résultat est en accord avec (**shipra Bhardwj et al;.2010**) qui avaient étudié l'impact de l'imidaclopride sur l'enzyme détoxifiante GSH de *Folsomia candida* (collemba), Le résultat suggère que l'altération du taux de GSH pourrait être impliquée dans la réponse des rats à l'exposition à l'imidaclopride et peut être utilisé comme biomarqueurs pour surveiller les effets toxiques de l'imidaclopride,

Lors du traitement des animaux avec l'imidaclopride, les niveaux de GSH sont nettement réduits suite à leur action pour neutraliser les radicaux libres générés par l'imidaclopride (**laxman prasad srivastava et al;. 2010**). Et que L'imidaclopride interagit directement avec une forte affinité pour les groupements thiol (-SH) du GSH (**Szkudelski., 2001 ; Nermeen et al., 2010**).

Selon plusieurs auteurs, la conjugaison du GSH à des pesticides ou aux métabolites in vivo pourrait être la voie majeure de leur détoxification (**EL-Demerdash et al., 2012**). On suppose donc que le glutathion a été consommé dans le processus de piégeage des (ERO)

Partie Pratique

limitant les dommages oxydatifs induits par l'insecticide. C'est un piègeur direct de radicaux libres, un co-substrat nécessaire à l'activité GPx et GST (**shipra bhardawaj et al ., 2010**).

1.2. Effet sur le MDA

Le Malondialdéhyde (MDA) est l'un des indicateurs les plus fréquemment utilisés de la peroxydation lipidique où il est produit lors de la peroxydation des lipides polyinsaturés (**Geyuet et al., 2014**).

D'après les résultats présentés. On observe une augmentation significative du taux de MDA rénale chez les rats traité par l'IMI par rapport aux témoins au dose 50 mg/kg. L'augmentation de MDA peut être expliquée par des dommages oxydatifs au niveau des membranes résultant de la production des ERO (**Eun et al, 2015**).

La peroxydation lipidique chez les rats traités à l'imidaclopride indiquant l'absence d'une génération excessive de radicaux libres provenant du métabolisme dès l'imidaclopride dans les reins. L'augmentation de la peroxydation lipidique a conduit à la perturbation de l'intégrité de la membrane des cellules rénale et à la fuite d'enzymes cytoplasmiques.

Ce résultat est en accord avec les résultats d'autres études qui ont mis en évidence une augmentation de la peroxydation lipidique après traitement par les pesticides (**Kehrer et al. 1993; Ahmed et al., 2000**). Et aussi nos résultats sont cohérents avec plusieurs études telles que celle publiée par (**shipra Bhardawaj et al;2010**) Ce que nous avons trouvé explique que la concentration 50 mg est une concentration toxique et 5 mg est NOËL.

2. Paramètre enzymatique

2.1. Effet sur la GPx

La GPX est une enzyme antioxydant clé qui régule le niveau des ROS (la GPX et capable de nos seulement de réduire le peroxyde d'hydrogène en eau, mais aussi les hydroxyl peroxydes résultant de l'oxydation de acides gras insaturées) et donc protégé les cellules. (**Weber et al, 2002**)

Nous observons que il y a une augmentation hautement significative ($p < 0.01$) dans les lots traitée par l'Imidaclopride (IMI) à dose (50mg/kg/jour) et il y a une augmentation significative ($p < 0.05$) chez le lot traitée par l'Imidaclopride (IMI) à dose (5mg/kg/jour) par rapport au groupe témoin.

L'augmentation de l'activité de cette enzyme est une réponse physiologique pour compenser les dommages qui sont dus aux radicaux libres. Elle est due à leur activité accrue dans le but de neutralisation de radicaux libres formé par le pesticide l'activation de système

Partie Pratique

antioxydants ce que prouve par l'induction de taux de GSH (e l'utilisation du GSH). Le même résultat a été obtenu par (**Upasana Kapoor ;2010**),

3. Effet sur les variations de l'activité GST (Glutathion –S-transférase)

La glutathion S-transférase est une enzyme jouant un rôle important dans la détoxification des xénobiotiques et la protection contre les métabolites nocifs générés après la dégradation des macromolécules (**Hayes et Pulford., 1995**).

Dans notre travail nous observons qu'il y a une diminution hautement significative ($P < 0.01$) chez le lot traité par l'Imidaclopride (IMI) à dose (50 mg/kg/j) et une non significative ($p > 0.05$) chez le lot traité par l'Imidaclopride (IMI) à dose (5mg/kg/j) par rapport au groupe témoins. Le même résultat a été obtenu par (**Mithilish Kumar Srivastava;2010**).

Cette diminution de l'activité enzymatique de GST est due à cause de la formation des complexes avec les protéines d'une manière générale et endommager les enzymes y compris ceux à l'activité antioxydant. (**Boumaza, (2017)**)

A decorative black and white frame with intricate scrollwork and floral patterns. The frame is rectangular with rounded corners and features elaborate flourishes at the top, bottom, and sides. The word "Conclusion" is centered within the frame in a cursive font.

Conclusion

Conclusion et perspective

L'objectif de la présente étude était d'évaluer la néphro-toxicité de pesticide qui il est l'Imidaclopride (IMI) chez le rat de *Wistar* qui provoque une perturbation des paramètres de stress oxydant qui diffèrent en fonction de la dose d'administration .a la lumière des résultats obtenus, on peut conclure que le gavage de l'Imidaclopride (IMI) par voie orale à dose 5mg/kg/jour et 50 mg/kg/jour du poids corporel chez les rats mâles adultes a induit des perturbations sur les paramètres de stress oxydatif des rats, nous avons trouvé qu'il y'a une perturbation au niveau des paramètres évaluer conclure comme suivant :

- Une diminution significative au poids relative d'organe.
- Une diminution hautement significative dans l'activité de GST.
- Une diminution significative (5mg/kg) et très hautement significative (50mg/kg) dans le taux de GSH.
- Une augmentation non significative (5mg/kg) et significative (50mg/kg) dans le taux de MDA.
- Une augmentation significative (5mg/kg) et hautement significative (50mg/kg) dans l'activité de de GPx.
- Une augmentation très hautement significative et hautement significative dans les paramètres biochimiques (Créatinine, urée, l'acide urique).

Et comme perspective, il est nécessaire de faire des études histopathologies et Physiologiques, même comportementales pour bien étudier les effets de cette Néonicotinoïde.

Références Bibliographiques

- **Ahmed RS, Seth V, Pasha ST, Banerjee BD.** Influence of dietary (Zingiber officinales Rose) on oxidative stress induced by malathion in rats. Food Chem Toxicol.2000 ; 38 : 443-50
- **Assessment of the genotoxicity** of imidacloprid and metalaxy in cultured human lymphocytes and rat bone marrow. Mutat. Res., 634: 32–39.
- **Atamer, A., Bilici, A., Yenice, N., Selek, S., Ilhan, N., Atamer, Y. 2008.** The importance of paraoxonase 1 activity, nitric oxide and lipid peroxidation in hepatosteatosis. J. Int. Med. Res 36, 771-776.
- **Bangert, M.W.J., Steven, K. 2004.** Biochimie médicale: Physiopathologie et Diagnostic .5 emeedition .Elsevier. pp. 70-94.
- **Bensakhria, A. 2018.**toxicologie générale. Chapitre IX. le stress oxydatif .from<https://www.researchgate.net/publication/326107870>.
- **Blanchard A., Poussou R. et Houillier P. 2008.** Exploration des fonctions tubulaires rénales. Néphrologie & Thérapeutique. 5 : 68-83.
- **Boumaza .A. 2017.**Etude analytique et épidémiologique de la toxicité des pesticides utilisés dans l’Est Algérien. Thèse Doctorat, Université Mentouri de Constantine. 98p.
- **Carvalho F. P. 2006.** Agriculture, pesticides, food security and food safety. 9: 685-692.
- **CHAO, S.L. and CASIDA, J.E. 1997:** Interaction of imidacloprid metabolites and analogs with the nicotinic acetylcholine receptor of mouse brain in relation to toxicity. Pest. Biochem. Physiol., 58: 77-88.
- **Comité de la Prévention et de la Protection (CPP). 2002.** Risques sanitaires liés à l'utilisation des produits phytosanitaires. <http://www.ecologie.gouv.fr/PPP-Rapport-2002-02- Risques.html>.
- **Davies, M.J. (2003).** Singlet oxygen-mediated damage to proteins and its consequences. Biochem. Biophys. Res. Commun 305, 761-770.
- **DEMSIA, G. D., VIASTOS, M. and GOUMENOU, D.P. 2007:** Mathopoulos,
- **Descat, F. 2002.** Hématologie Du Rat: Hémogramme et Myélogramme. Thèse : Ecole nationale vétérinaire de Toulouse.Disponible : <http://oatao.univtoulouse.fr/678/>.
- **Djouber, 2011.** contribution à l'étude des effets sublétaux de l'imidaclopride sur la physiologie des ouvrières et des reines de l'abeille domestique (apis mellifera intermissa).Mémoire de magistère. Université Mouloud Mammeri de tizi -ouzou

-
- **Dorothee, B.,1122.** L'impact des pesticides sur la santé humaine. Université Henri Poincaré. Faculté de Pharmacie. Lorraine. Pp : 6-21.
 - **Eea et Who E. 2002.** Children's Health and Environment: A review of evidence
 - **El-Mrabet K., Le-Diouron V., Yardin C., Lalere B., Hervouet G. et Pichon V. (2007).** Méthode d'analyse multirésidus de pesticides par dilution isotopique associée à la chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem. Thèse de doctorat publiée, Université Pierre ET Marie Curie, France.
 - **Errante S. 2013.** L'interdiction de certains pesticides responsables de la mortalité des abeilles. Rapport n° 872. Commission du Développement Durable et de l'Aménagement de Territoire, France.
 - **Esterbauer H., Gebicki J., Puhl H., Jurgens G. 1992.** The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. p : 341-349.
 - **European Commission (EC). 2007.** Monitoring of pesticides residues in products of plant origin in the European Union. Norway, Iceland and Liechtenstein. http://ec.europa.eu/health/risk_en.htm.
 - **Feoui, H., Makni, M., Garoui, M. et Zeghal, N. 2010.** Toxic effects of lambda-cyhalothrin, a synthetic pyrethroid pesticide on the rat kidney: Involvement of oxidative stress and protective role of ascorbic acid. Experimental and Toxicologic Pathology, Volume 62(6), 593-599. doi :10.1016/j.etp.2009.08.004.
 - **Festing, M.F.W. (1979) .** Suitability of the Rat for Different Investigations. In: Inbred and Genetically Defined Strains of Laboratory Animals, Part I, Mouse and Rat (P.L Altman, D.D. Katz, eds.). Fed. Am. Soc. Exper. Biol. Bethesda, MD. pp. 237-238.
 - **Flohe & Gunzler. 1984.** Analysis of glutathione peroxidase, Methods Enzymol. (105). P: 114-121.
 - **Food and Agriculture Organization (FAO). 2010.** International Code of Conduct on the Distribution and Use of Pesticides. FAO-STAT, Rome
 - **Fossen, M.** Devenir environnemental de l'imidaclopride; California Department of Pesticide Regulation, Environmental Monitoring: Sacramento, CA, 2006.
 - **Garcia1 f. cortes s. oyarzun j. ceruelo a. vazquez p., 2012 .**Pesticides Classification, Uses and Toxicity. Measures of Exposure and Genotoxic Risks, Article, Journal of Research in Environmental Science and Toxicology

-
- **George, J. Krinke. 2000.** The Laboratory Rat (Handbook of Experimental Animals, Academic Press, 15 juin, 3–16 p. (ISBN 0-124-26400-X), History, Strains and Models.
 - **Gilbert, 2000).**
 - **Habig W.H., Pabst M.J., Jakoby W.B. 1974.** Glutathione-S-transferase the first step in mercapturic acid formation. *Journal of Biology and Chemistry.* (249).p: 7130-7139.
 - **Haleng, J., Pincemail, J., Defraigne, J.O., Charlier, C., Chapelle, J . 2007.** Le stress oxydant, Service de Biologie clinique, CHU Sart Tilman, 4000 Liège, Belgique. *Rev Med Liege* , 62 : 10 : 628-638.
 - **Hatcher, J. M., et al., 2017.**"Parkinson's disease and pesticides: a toxicological.
 - **Hernandez AF, Lacasana M, Gil F, Rodriguez-Barranco M, Pla A, Lopez-Guarnido O.** Evaluation of pesticide-induced oxidative stress from a gene-environment interaction perspective. *Toxicol*, 2013; 307: 95-102.
 - **Higashi, Y., Noma, K., Yoshizumi, M., Kihara, Y. 2009.** Endothelial function and oxidative stress in cardiovascular diseases. *Circ. J* 73, 411-418.
 - <https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fwww.e-cancer.fr>
 - **HUSSEIN, M. & SINGH, V. J. J. O. T. A. S. O. I. 2016.** Effect on chick embryos development after exposure to neonicotinoid insecticide imidacloprid. 65, 83-89.
 - **Ignarro, L.J. (2002).** Nitric oxide as a unique signaling molecule in the vascular system: a historical overview. *J. Physiol. Pharmacol* 53, 503-514.
 - **Inserm., 2013.** (Institut National de la Santé Et de la Recherche Médicale) Expertise collective. Pesticides, effets sur la santé (<http://editions.inserm.fr/zh5/109743>).
 - **Jurewicz J., Hanke W., Johansson C., Lundqvist C., Ceccatelli S., Van Den Hazel P., Saunders M. et Zetterstrom R. 2006.** Adverse health effects of children's exposure to pesticides: what do we really know and what can be done about it. *Acta Pediatric Suppl.*95(453), 71-80.
 - **Kehrer JP.** Free radical as mediator of tissue injury and disease. *Crit Rev Toxicol* 1993 ; 23 : 21-48..
 - **Klein J. 2009.** Le récepteur B1 des kinines dans la fibrose rénale : des mécanismes au potentiel thérapeutique. Thèse de doctorat, Université de Toulouse. 146p
 - **Lanoix, N., Roy, M.L., 1976.** Manuel du technicien sanitaire, Genève Organisation Mondiale de la Santé (OMS). 1-193.

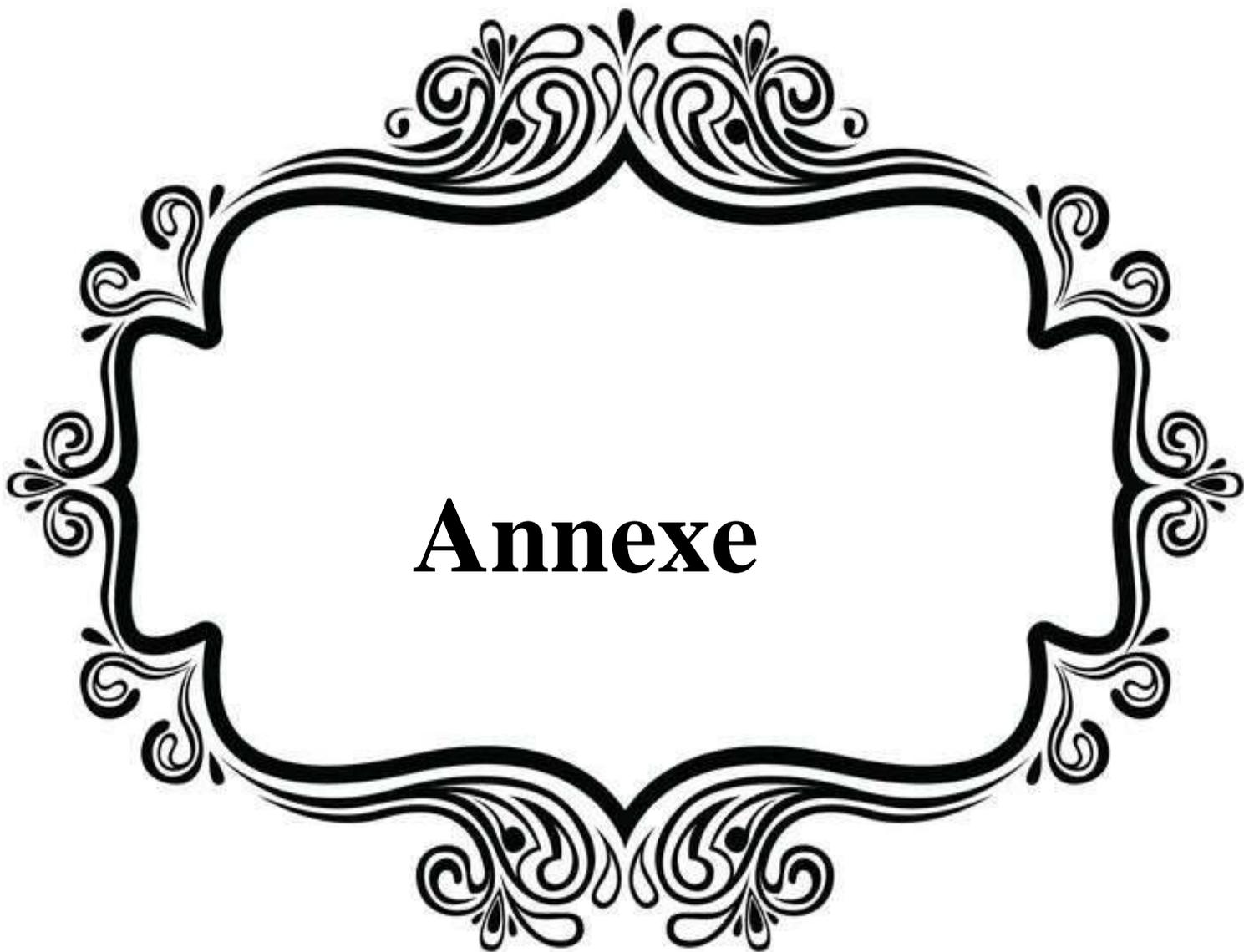
-
- **Loft, S., Møller, P., Cooke, M.S., Rozalski, R., Olinski, R. 2008.** Antioxidant vitamins and cancer risk: is oxidative damage to DNA a relevant biomarker? *Eur J Nutr* 47 Suppl 2, 19-28.
 - **LOHIYA, A., KUMAR, V. & PUNIA, J. 2017a.** Imidacloprid induced oxidative stress and histopathological changes in liver of rats. *Indian J. Anim. Res*, 51, 531-536.
 - **Lüllmann H., Mohr K. et Ziegler A. 1998.** Atlas de poche de pharmacologie. Médecine-Sciences: Flammarion, 2ème édition. Paris. 32-42.
 - **Lüllmann H., Mohr K. et Ziegler A. 1998.** Atlas de poche de pharmacologie. Médecine-Sciences: Flammarion, 2ème édition. Paris. 32-42.
 - **Magali, C Deleuze, Callard, P, 2008.** Lésion élémentaires des glomérules chez l'adulte. *Néphrologie & Thérapeutique*. 4 :617-627.
 - **Marchall W.J. et Bangert S.K. 2004.** Biochimie médicale: physiopathologie et diagnostic. 5ème édition Française Elsevier. France. 59-87.
 - **Marchall W.J. et Bangert S.K. 2004.** Biochimie médicale: physiopathologie et diagnostic. 5ème édition Française Elsevier. France. 59-87.
 - **Margoum C.G.B. 2003.** Contribution à l'étude du devenir des produits phytosanitaires lors d'écoulement dans les fossés : caractéristique physico-chimique et hydrodynamiques. In: saïba A. étude de l'adsorption d'un herbicide - la Métribuzine - sur un sol cultivé. Mémoire de Magister, école Nationale polytechnique, El-Harrach, Algérie. p102.
 - **MIKOLIĆ, A. & BRČIĆ KARAČONJI, I. J. A. Z. H. R. I. T. 2018.** Imidacloprid as reproductive toxicant and endocrine disruptor: investigations in laboratory animals. *P* 69, 103-108.
 - **Murray RL. Alanine aminotransferase. In: Kaplan LA and Pesce AJ. Eds.** Clinical Chemistry: Theory, Analysis and Correlation. St Louis. Toronto. Princeton: The C. V. Mosby Company; 2005a: 1088-1090
 - **Oi, M.** Sorption on fonction du temps de l'imidaclopride dans deux sols different. *J. Ag. Chimie alimentaire*. 1999, 47, 327-332.
 - **Olivier, DP; kookana, RS; Quintana, B.** Sorption des pesticides dans les sols tropicaux et tempérés d'Australie et des Philippines. *J. Ag. chimie alimentaire*. 2005, 53, 6420-6425.
 - **Organisation Mondiale de la santé (OMS) ., 1991.** L'utilisation des pesticides en agriculture et ses conséquences pour la santé. Genève, pp11-12.

-
- **Ould kankou M.O.S.A. 2004** vulnèrabilite des eaux et des sols de la rive droit du fleuve sènègal en Mauritanie :étude en laboratoire du comportements de deux pesticides. In: saiba A. étude de absorption d'un herbicide -la Mètribuzine-sur un sol cultivè. Mèmoire de magister ,ecol Nationale polytechnique -Harrach ,Algèrie .102p
 - - **Ozarowski, M., Mikolajczak, P. L., Piasecka, A., Kachlicki, P., Kujawski, R., Bogacz, A., BartkowiakWieczorek, J., Szulc, M., Kaminska, E., Kujawska, M., Jodynys-Liebert, J., Gryszczynska, A., Opala, B., Lowicki, Z., Seremak-Mrozikiewicz, A., & Czerny, B. 2016.** Influence of the Melissa officinalis Leaf Extract on Long-Term Memory in Scopolamine Animal Model with Assessment of Mechanism of Action. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/9729818>
 - **Pellet M.V. 1977.** Le milieu intérieur : le rein. Physiologie humaine. 2ème partie. Edition
 - **Periquet, A., Boisset, M., Casse, F., Catteau, M., Lecer, J.M., Leguille, C., Laville, J. and Barnat, S.,2004.**Pesticides, risques et sécurité alimentaire . France Comité Sécurité Alimentaire d'Aprifel,pp 1-216.
 - **Picchi,A.et al. 2006** .Tumor necrosis factor-alpha induces endothelial dysfunction in the prediabetic metabolic syndrome. Circ. Res 99, 69-77.
 - **Romani A, et al.,2006** Analysis of condensed and hydrolysable tannins from commercial plant extracts, J Pharm Biomed Anal 41(2):415-20.
 - **Rousseau, A., Grenier, I., Quilbe, R., 2007.**Classification des pesticides a l'aide de cartes auto-organisatrices de kohonen en vue du developpement de normes de performance agro-environnementale atteignables (npa) a l'echelle des bassins versants, rapport n° r-932, centre eau, terre et environnement, institut national de la recherche scientifique (inrs-ete), quebec, canada, pp4.
 - **Saunders M., Fox D., Salisbury C., Strokes V., Palmer A. et Preece A. 2004.** Placental transfer and foetal uptake of pesticides. Toxicology and applied pharmacology.197 341.
 - **Spiteller, G. 2007.** The important role of lipid peroxidation processes in aging and age dependent diseases. Mol. Biotechnol. 37, 5-12.
 - **TESTUD, F. 2014.** Insecticides néonicotinoïdes. *EMC - Toxicologie-Pathologie*
 - **THANY, S. H. 2010.** Neonicotinoid Insecticides. In: THANY, S. H. (ed.) *Insect Nicotinic Acetylcholine Receptors*. New York, NY: Springer New York.

-
- **Uboh FE , Asuquo EN, Eteng MU, Akpanyung EO.** Endosulfan induces renal toxicity independent of the route of exposure in rats. *Am J BiochemMolBiol.* 2011; 1: 359-367.
 - **Valcheva-Kuzmanova S. 2012,** Effect of aronla melanocarpa fruit juice on the activity of antioxidant enzymes in a rat model of amiodaroneinduced pneumotoxicity. *J Biomed.* 5(2).
 - **Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., Izakovic, M. and Mazur, M. 2006.** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem. Biol. Interact* 160, 1-40.
 - **Van der Werf, H., 1996.** Assessing the impact of pesticides on the environment. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 60(2-3), pp.81-96.
 - **Vaubourdolle Michel .2007.** Biochimie hématologie.3éme édition. Edition Le Moniteur. P 262.
 - **Vertuani, S., Angusti, A., Manfredini, S. 2004.**The antioxidants and pro-antioxidants network: an overview. *CurrPharm Des.* 10(14):1677-94.
 - **Weber S., Dorman D.C., Lash L.H., Erikson K., Vrana K.E., and Aschner M. 2002.** Effects of Manganese on the Developing Rat Brain: oxidative-stress relatedendpoints, *Neurotoxicology.* 23(2): 169-175
 - **Weckbercker G., Cory J.G. 1988.** Ribonucleotidereductase activity and growth of Glutathione depended mouse Leukemia L1210 cells in vitro. *Cancer Letter.* (40).p: 257- 264.
 - **Wolfe, N., Mingelgrin, U., Miller, G., 1990.** Abiotic transformations in: Water, sediments and soils. Soil Science Society of America. Madison, Wisconsin, USA, pp433.
 - **Yves J. 2013.** Vers la conception rationnelle d'insecticides néonicotinoïdes. Université de Nantes, CEISAM-UMR CNRS 6230, France.

Références webographies :

- **site 1 :** <https://www.google.com/url?sa=i&url=https%3A%2F%2Fwww.e-cancer.fr>
http://ec.europa.eu/health/risk_en.htm
- **Site 2 :** slideplayer.fr/amp/1213272
- **Site 3 :** <http://www.ratoupedia.org/>
- **Site 4 :** pesticides © generations-futures.com



Annexe

• **Matériel utilisé dans les différentes étapes de l'étude**

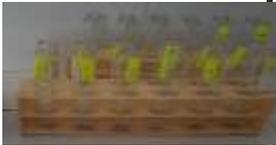
		
• tubes à essais	• Mortiers	• Verreries
		<ul style="list-style-type: none"> • Barreau magnétique. • Extracteur des barreaux magnétiques. • Embouts. • Cuvette pour la spectrophotométrie (en plastique et en verre).
• Micropipettes	• tubes épindorphes	
<ul style="list-style-type: none"> • Micropipettes de 100µl et 1000µl. • Pipettes graduées. • Pipettes pasteurs. 	<ul style="list-style-type: none"> • Portoirs pour différents types des tubes. • Tubes secs en verre et en plastique. 	<ul style="list-style-type: none"> • Papier d'aluminium. • Papier hygiénique • Béchers • Erlenmeyers. • Epruvettes graduées.

Figure 20: Grand matériel de laboratoire et appareils

Figure 21: Petit matériel de laboratoire

			
- Balance de précision (KERN).	- Centrifugeuse (SELECTA).	- Bain mari (MEMMERT).	- Agitateur magnétique (WITEG).
			
- Spectrophotomètre (UV mini 1240, SHIMADZU).	- Bain de sable	- Vortex (THERMOS).	- Réfrigérateur

Matériel chimique

- * TCA (Trichloro acétique).
- * Anthrone.
- * Acide sulfurique.
- * Acide orthophosphorique (à 85%).
- * Ether.
- * Chloroforme.
- * Ethanol (à 95%).
- * BSA (Albumine sérum de boeuf).
- * Sodium phosphate dibasique.
- * ASS (Acide sulfosalicylique).
- * Sodium phosphate monobasique.
- * Tris.
- * HCl.
- * Na OH.
- * Méthanol absolu.
- * EDTA (Acide éthylène diamine tétracétique).
- * DTNB (l'acide 5-5'-dithio-bis-2-nitrobénoïque).