

Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique
Université SAAD DAHLEB de BLIDA
Faculté des Sciences Agro-Vétérinaires et Biologiques



Département de Biologie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du Diplôme de Master en Science de la nature
et de la vie

Option

Biosignalisation Cellulaire et Moléculaire, Immunologie

Thème

**RECHERCHE DE L'INFLAMMATION
PULMONAIRE CHEZ DES RATS INTOXIQUÉS
PAR L'IMIDACLOPRIDE**

Présenté par :

M^{me} KESSACI FATIMA née ARKAM

Soutenu le : 26/06/2013

Devant le jury composé de:

M^{me} BOUDALI S.	MAA	USDB	Présidente
M^{me} CHAKHMA A.	MAA	USDB	Examinatrice
M^{me} MATALLAH R.	MAA	USDB	Examinatrice
M^{me} SAADI L.	MCB	USDB	Promotrice

Promotion 2012-2013

Remerciements

Avant toute chose, je tiens à remercier **Dieu**, le tous puissant de m'avoir donné le courage, la volonté et la santé afin d'accomplir ce travail.

Pour ses encouragements, sa patience et son aide précieuse, je me trouve incapable de formuler mes remerciements à ma promotrice **M^{me} SAADIA**, Maître de conférences. Je lui exprime toute ma reconnaissance et ma profonde gratitude.

Je tiens à exprimer mes vifs remerciements à **M^{me} BOUDALI S.**, Maître assistante, d'avoir fait l'honneur de présider le jury de ce travail, ainsi qu'à **M^{me} MATALLAH R.**, Maître assistante au département de biologie, et **Mr KHALED H.**, Maître assistant au département des Sciences Vétérinaires d'avoir accepté l'examen de ce travail.

Mes remerciements s'adressent au **Pr ABDELLALI M.** au CHU-Hussein Dey ainsi qu'à tous ceux qui m'ont aidé à bien faire mon stage pratique au niveau de l'ENS de Kouba, CHU-Hussein Dey et au laboratoire d'analyses médicales de Blida.

Mes profonds remerciements vont à tous les enseignants du département de biologie ainsi que tous les membres de l'administration et du laboratoire. Sans oublier toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de mon travail.

Dédicaces

J'ai le grand plaisir de dédier ce modeste travail en témoignage de mes grandes
et mes profonds remerciements à:

Mes très chères parents qui m'ont suivi dans mes études, guidé vers la réussite
avec grand amour, pour leur disponibilité et leur judicieux conseils.

Je voudrais exprimer un infini merci à mon mari, RACHID
pour sa grande patience, son aide précieuse et ses vifs encouragements.

J'espère que ce travail soit l'expression de ma pleine reconnaissance et gratitude à vous,
Mes beaux parents, pour votre amour, votre affection et votre compréhension.

Mes frères Amine et Brahim et mes très tendres sœurs: Selma, Souad et Nessrine.

Mon beau frère Samir, sa femme Fatima et leur enfants Amine et Meriem

Mes belles sœurs Fatima et Lamiya, leur maris et les enfants Lili et Ahmed

Mes grand parents, mes tantes et mes oncles, chacun par son nom

Toutes mes amies

Tous ceux qui m'aiment et que j'aime

et à tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin.

FATIMA

LISTE DES ABREVIATIONS

Abreviation	Signification
ACh	Acétylcholine
ADN	Acide Désoxyrbo Nucléotide
CRP	Protéine Réactive-C
DL50	Dose Létale 50
DT 50	Demie vie 50
EDTA	Acide Ethylène Diamine Tétracétique
FNS	Formule Numération Sanguine
GB	Globules Blanc
GR	Globule Rouge
Gr	Grossissement
HCT	Hématocrite
HE	Hématoxyline-Eosine
HB	Hémoglobine
Ig	Immunoglobuline
IL	Interleukine
IMI	Imidaclopride
nAChRs	Récepteurs nicotiques de l'acétylcholine
PLT	Plaquettes
ROS	Espèce Réactive d'Oxygene
TNF	Facteur de Nécrose des Tumeur

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....1

CHAPITRE I : RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

I- Rappels sur l'imidaclopride.....4

I-1- Propriétés de l'imidaclopride.....4

I-2- Domaines d'application de l'imidaclopride.....6

I-3- Voies d'administration de l'imidaclopride.....6

I-4- Toxicité de l'imidaclopride.....7

I-4-1- Toxicité environnementale.....7

I-4-2- Toxicité sur la santé animale et humaine.....7

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

II.1. MATERIEL

II.1.1. Animaux.....13

II.1.2. Insecticide.....13

II.2. METHODES

II.2.1. Expérimentation.....14

II.2.2. Sacrifice et prélèvement des échantillons.....14

II.2.3. Détermination de la formule de numération sanguine.....15

II.2.4. Détermination de la protéine réactive C.....15

II.2.5. Etude histologique.....16

II.2.6. Etude statistique.....19

CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSION

III.1 RESULTATS

III.1.1. Evolution pondérale.....	20
III.1.1.1. Poids corporel.....	20
III.1.1.2. Poids des poumons.....	21
III.1.2. Détermination des paramètres hématologiques.....	22
III.1.3. Etude histologique.....	28
III.1.3.1. Parenchyme pulmonaire des rats témoins.....	28
III.1.3.1. Parenchyme pulmonaire des rats traités.....	30
III.2.	
DISCUSSION	33
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	37
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	39
ANNEXES	
Annexe 1	52
Annexe 2	54
Annexe 3	60

RESUME

De nombreux xénobiotiques (solvants, pesticides...) sont susceptibles de jouer un rôle dans le développement des maladies inflammatoires diagnostiquées au cours de ce dernier siècle. Dans ce cadre, nous nous sommes proposé d'étudier l'impact d'un insecticide néonicotinoïde, imidaclopride, utilisé en Algérie sur la structure pulmonaire et sur le taux de quelques paramètres hématologiques chez des rats femelles de souche wistar. Les rats sont répartis en deux lots. Les témoins (n=5) sont abreuvés de l'eau distillée seule chaque jour pendant 30 jours. Les traités (n=10) sont gavés quotidiennement, durant la même période, d'une solution aqueuse contenant de l'imidaclopride à raison de 4,98 mg/kg/jr (1/85 DL50). Après une décapitation rapide des animaux, le sang recueilli est destiné à la détermination du taux plasmatique des paramètres hématologiques. Des fragments de poumon sont prélevés et fixés dans le formol afin de réaliser l'étude histopathologique. L'exposition chronique à cet insecticide a induit la présence d'un processus inflammatoire témoigné par l'épaississement des parois alvéolaires, la congestion sanguine et l'infiltration cellulaire. Ces images de l'inflammation sont associées d'une augmentation de la concentration de la protéine réactive-C, du nombre des plaquettes sanguines et des leucocytes et la diminution des érythrocytes, de l'hématocrite et du taux de l'hémoglobine. D'après ces anomalies hématologiques et histologiques, nous pouvons conclure que la dose sans effet toxique observable reste inférieure à 1/85 DL50.

Mots clés : Imidaclopride; Toxicité, Poumons ; Rat Wistar ; 1/85 DL50.

ABSTRACT

Many xénobiotics (solvents, pesticides...) are likely to play a part in the development of the inflammatory diseases diagnosed during this last century. Within this framework, we proposed to search the imidacloprid, néonicotinoïd insecticid, used in Algeria, impact on the pulmonary structure and the rate of some hematologic parameters in rats females of wistar strain. The rats are divided into two groups. The control rats (n=5) are gorging only with distilled water every day during 30 days. The treated rats (n=10) are gaved daily by an aqueous solution containing the imidacloprid at a rate of 4,98 mg/kg/jr (1/85 DL50) during the same period. After rapid decapitation of the animals, the collected blood is intended for the rate determination of the plasmatic hematologic parameters. Fragments of lung are removed and fixed in formol in order to perform a histopathological study. The chronic insecticide exposure induced the presence of an inflammatory process shown by thickening in alveolar walls, the blood congestion and the cellular infiltration. These images of the inflammation are associated with an increase in the concentration of reactive-C protein, the blood plates and leucocytes number and the decrease in rate of the erythrocytes, hematocrit and hemoglobin. According to these hematologic and histological anomalies, we can conclude that the amount without observable toxic effect is lower than 1/85 DL50.

Key words: Imidacloprid; Toxicity, Lungs; Inflammation; Rat Wistar; 1/85 DL50.

ملخص

الكثير من المواد اللاحيوية (محاليل، مبيدات.....) تلعب دورا في تطور الأمراض الإلتهابية المشخصة في هذا القرن الأخير. في هذا الإطار، تطرقنا إلى دراسة تأثير المبيد الحشري الثيونيكوتينيدي، إيميداكلوبريد، المستعمل في الجزائر، على البنية النسيجية للرئتين و على بعض الضوابط الدموية لدى الجرذان الإناث من سلالة ويستار. قسمت الجرذان إلى مجموعتين: الشاهدة (ن=5)، تمت معالجتها بالماء المقطر فقط كل يوم مدة ثلاثين يوما. المعالجة (ن=10)، تمت معالجتها يوميا، خلال نفس الفترة، بمحلول مائي يحتوي على الإيميداكلوبريد

بتركيز 4.98 مغ/كغ/يوم DL 50 85/1

بعد فصل الرأس السريع للحيوانات، تم جمع الدم من أجل دراسة التركيز البلازمي للضوابط الدموية. كما تم استئصال و ضبط الرئتين في الفورمول من أجل الدراسة النسيجية المرضية. التعرض المزمّن لهذا المبيد الحشري كشف عن وجود تفاعل إتهابي موضح عن طريق زيادة سمك جدار الأيسناخ ، احتقان الدم و نسلك الخلايا المناعية. ترتبط صور هذا الإلتهاب بارتفاع تركيز البروتين التفاعلي، عدد الصفائح الدموية و الكريات الدموية البيضاء و إنخفاض في عدد الكريات الحمراء و كمية مكداس الدم و الهيموغلوبين. نستطيع من خلال هذه الاضطرابات الدموية و النسيجية الاستنتاج أنه يبقى التركيز بدون تأثير سلبي واضح أقل من

DL 50 85/1

الكلمات المفتاحية: إيميداكلوبريد، التسمم ، الرئتين، الإلتهاب، الجرذ ويستار ، DL 50 85/1

INTRODUCTION

Environ 75% des espèces animales dans le monde sont des insectes, certains sont des prédateurs et des pollinisateurs salutaires, d'autre sont des vecteurs de maladies infectieuses, mais beaucoup sont des parasites, agissant en tant que concurrents pour la nourriture (Duffus et Worth, 2006).

Pour les combattre, l'homme a toujours essayé de développer différents biocides qui ont beaucoup contribué à l'augmentation du rendement agricole (Kammon et *al.*, 2010). Plus de 20.000 produits pesticides avec près de 900 matières actives sont connus pour être utilisés comme insecticides, acaricides, herbicides, rodenticides, nématicides et fongicides (Abou-Donia et *al.*, 2008).

Avec l'introduction des néonicotinoïdes, un avantage économique important a été obtenue dans l'amélioration de la productivité agro-alimentaire (Bhardwaj et *al.*, 2010). Ces insecticides incluent diverses molécules actives comme imidaclopride, acetamipride, clothianidine et thiamethoxame (Tomizawa et Casida 2003; Thany et *al.*, 2010).

En raison de son excellente action insecticide (Demsia et *al.*, 2007), son mode d'action systémique (Mohany et *al.*, 2011) et sa toxicité modérée pour les mammifères (Anatra-Cordone et Durkin, 2005), l'imidaclopride (IMI) était la substance la plus utilisée par rapport à d'autres insecticides (Felsot et Ruppert, 2002). Sa substance active présente un large spectre d'efficacité sur les insectes piqueurs suceurs, certains coléoptères et lépidoptères (Sohrabi et Shishehbor, 2011). C'est une molécule neurotoxique qui interfère la transmission des stimuli nerveux au niveau des neurones poste synaptiques (Sohrabi et Shishehbor, 2011). Spécifiquement, l'IMI cause un blocage irréversible de la voie neuronale nicotinergique en se liant agonistiquement aux récepteurs de l'acétylcholine (nAChR) (Zhang et *al.*, 2000; Bourg, 2006; Azevedo et *al.*, 2011). Cette voie est plus abondante chez les insectes que chez les animaux à sang chaud, donnant un degré de toxicité sélective pour les insectes (Duffus et Worth, 2006). Ce mode d'action est unique aux néonicotinoïdes (Liu et Casida, 1993; Mohany et *al.*, 2011).

Cependant, l'utilisation étendue de l'IMI a été -ces dernières années- critiquée due à sa persistance dans l'environnement et à son accumulation dans les tissus des organismes vivants (Mohany *et al.*, 2011). Bien que des études précédentes ont trouvé sa faible toxicité sur la santé humaine et animale (Anatra-Cordone et Durkin, 2005).

Plusieurs travaux ont signalé des signes de toxicité par des concentrations inférieurs à la dose létale d'IMI chez les mammifères. Ces signes comportent des altérations morpho-fonctionnelles au niveau de certains organes vitaux tels que le foie, les reins, les poumons et le cerveau (Yu *et al.*, 2008; El-Gendy *et al.*, 2010) avec perturbations des paramètres hématologiques et biochimiques associées aux processus inflammatoire (Eiben, 1991; Chao et Casida, 1997; Haifaa, 2007; Bhardwaj *et al.*, 2010; Kammon *et al.*, 2010; Mohany *et al.*, 2011). Les altérations tissulaires peuvent être associées à la production de radicaux libres dans la cellule qui engendrent un stress oxydatif causant des changements dans la fluidité membranaire, la peroxydation des lipides et des dommages de l'acide désoxyribonucléotique (ADN) (Singh *et al.*, 2006; Zama *et al.*, 2007; Balani, 2011).

Au niveau des poumons, des études épidémiologiques rapportent que l'exposition aux insecticides par différentes voies s'avère très toxique et peut accroître la prévalence des maladies respiratoires (Salaméh *et al.*, 2003). Actuellement, plusieurs travaux ont signalé la présence d'acétylcholine extraneuronale au niveau des cellules indépendantes telles que les cellules inflammatoires des voies aériennes qui jouent un rôle important dans la physiopathologie des maladies pulmonaires (Wessler *et al.*, 1998). La présence des récepteurs cholinergiques au niveau de ces cellules permet de suggérer que ces dernières pourraient être des cibles à d'autres nicotinoïdes tel que l'imidaclopride (Eglen, 2006).

Les travaux menés au niveau de notre laboratoire réalisés sur des rats femelles de souche wistar intoxiquées avec différentes doses d'IMI: 1/40, 1/25, 1/15 et 1/10 DL50 suggèrent son effet inflammatoire sur les poumons. Cette intoxication est provoquée par l'augmentation de la vitesse de sédimentation, du nombre des leucocytes et du taux sérique de la protéine réactive-C ainsi que l'altération du parenchyme pulmonaire (Boukenoui et Mahboubi, 2010; Boukerzi, 2012).

Dans le but de rechercher la dose la plus faible et sans effet toxique observable de l'IMI sur le plan morpho-fonctionnelle, nous nous sommes proposés, dans cette étude, de chercher l'effet de l'IMI à raison de 1/85 de DL50 pendant 30 jours chez les rats femelles de souche wistar. Notre étude porte sur l'évaluation des taux de quelques paramètres hématologiques et sur la structure microscopique du parenchyme pulmonaire.

Après une introduction, nous rapportons dans ce travail des rappels sur la toxicité de l'IMI, synthétisés dans un premier chapitre. Nous exposons le matériel et les différentes techniques utilisées dans le deuxième chapitre. L'ensemble des résultats obtenus sont rapportés et discutés dans le troisième chapitre suivis par une conclusion.

PDF Create! 4 Trial
www.nuance.com

I- Rappels sur l'imidaclopride

Le grand succès commercial des néonicotinoïdes arrive avec la mise sur le marché de l'imidaclopride (Guez, 2001), premier membre de la famille des chloronicotinyl nitroguanidine (Mohany et *al.*, 2011; Asam Riaz, 2011) (tableau I, annexe 1). Cet insecticide affecte un large éventail d'insectes ravageurs agricoles tels que les pucerons les cochenilles, les cicadelles, les psylles et les coléoptères (Mullins, 1993; Sohrabi et Shishehbor, 2011). Son utilisation a permis une production alimentaire suffisante pour une population en grande croissance (Elbert, 199; Goyal, 2010) et a contribué à l'amélioration de la santé publique en luttant contre certains insectes et moustiques vecteurs de maladies infectieuses (Braquenier, 2009; Asam Riaz, 2011).

I-1- Propriétés générale de l'imidaclopride

L'imidaclopride possède trois principales caractéristiques toxicologiques soit la persistance, l'action systémique et la neurotoxicité.

I-1-1- Persistance

Dans le sol, l'IMI est hydrosoluble, non ionisable, incapable d'adhérer aux particules et il est non-volatile sur le terrain. La demi-vie est entre un an et deux ans, elle tend à augmenter avec le pH du sol et avec l'absence de la lumière (Laramee, 2007). Cet insecticide est plus persistant dans le sol nu que dans le sol couvert de plantes. Ce qui le rend le produit phytosanitaire le plus utilisé pour le contrôle de la *Coccinelle doryphore* de la pomme de terre (Kemp et Rogers, 2002) et le plus approprié au traitement de graines (Fossen, 2006). L'insecticide présente une persistance basse jusqu'aux eaux souterraines, possibilité de contamination de ces dernières et ainsi contamination des cultures non traités (Laramee, 2007).

I-1-2- Systémique

L'imidaclopride est un produit systémique (Tomlin, 2000) en traversant les racines vers tout le système vasculaire de la plante à travers la sève (Tomizawa, 2000; Fossen, 2006; Mohany et *al.*, 2011). Cette propriété assure à la plante une protection contre les ravageurs racinaires et aériens puisqu'il est efficace de la levée jusqu'au

stade de floraison de la plante (AL-SAYDA, 2008). L'IMI peut se retrouver facilement dans le nectar et le pollen (Suchail et *al.*, 2003).

I-1-3- Neurotoxicité

En raison de la similarité structurale, l'IMI devient neurotoxique par mimétisme avec la nicotine sur les sites de fixation aux récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine (nAChR) (Benhamou, 2000; Flores et *al.*, 2006; Azevedo et *al.*, 2011). Cependant, l'activité neurotoxique de l'insecticide est beaucoup plus spécifique que celle de la nicotine (Tomizawa et Casida, 2003, 2005).

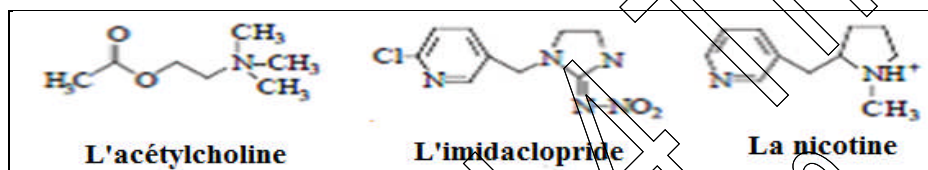


Figure 1: La structure de l'imidaclopride comparée avec celles de l'acétylcholine et de la nicotine (Buckingham et *al.*, 1997; modifié).

L'IMI perturbe la transmission synaptique des stimuli nerveux, en causant un blocage irréversible des nAChR, ce qui conduit à l'accumulation de l'acétylcholine dans les fentes synaptiques (Yamamoto, 1995; Bourg, 2006; Herron, 2011). Comme l'acétylcholine-estérase n'a aucun effet sur l'IMI, le nerf est continuellement surstimulé et se dépolarise rapidement (Galvis, 2006; Thany, 2010). Ce qui conduit à la rupture du système nerveux, à la paralysie puis à la mort de l'insecte (Buckingham et *al.*, 1997; Anatra-Cordone et Durkin, 2005).

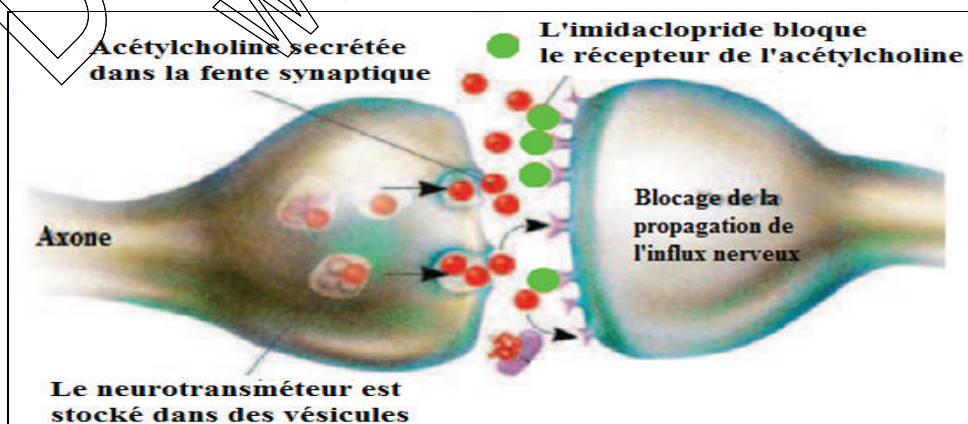


Figure 2: Mode d'action de l'imidaclopride au niveau des synapses nerveuses des insectes (Asam Riaz, 2011; modifié).

I-2- Domaines d'application de l'imidaclopride

En Algérie, cet insecticide est largement utilisé sur les cultures et les arbres fruitiers et pour la protection des récoltes agricoles ciblant les insectes ravageurs y compris les sauterelles, les mouches, les termites, les coccinelles et les insectes de l'herbe du sol, des plantes et des arbres (Djouber, 2011).

Les domaines d'application de l'IMI sont multiples (Jeschke et *al.*, 2010), il est appliqué sur le feuillage, dans l'enrobage des semences ou injecté dans le sol ou dans les tiges pour protéger les arbres fruitiers et les plantes (Danjana et *al.*, 2008). Les récoltes sur lesquelles l'IMI est appliqué comprennent diverses céréales: riz, maïs, fruits, légumes, tournesol, tabac, coton etc. (Kagabu, 1997).

L'IMI est aussi employé dans le traitement des graines, pour la lutte contre les parasites de gazon, des pelouses de ménage, des parcs et des domaines sportifs (Struger et *al.* 2002). Son emploi en médecine vétérinaire est connu. Il est introduit dans des médicaments destinés aux chats et aux chiens (Struger et *al.* 2002) pour contrôler les puces sur ces animaux domestiques (Tomlin, 2000).

I-3- Principale voies d'administration de l'imidaclopride

Les risques d'exposition aux pesticides sont multiples et plusieurs facteurs peuvent en être responsables (Samuel et Saint-Laurent, 2001; Craig, 2005).

I-3-1- Voie cutanée

Parmi les situations pouvant mener à une intoxication par la voie cutanée sont le mélange à mains nues de la bouillie, les éclaboussures de produits sur la peau et dans les yeux, l'application sans vêtements de protection ainsi que l'application de produits dans un espace confiné et clos.

I-3-2- Voie respiratoire

La voie respiratoire constitue la voie d'intoxication la plus rapide et la plus directe. Les pesticides qui sont normalement appliqués sous forme d'aérosol, de brouillard ou de gaz peuvent être facilement inhalés.

I-3-3- Voie orale

L'imidaclopride est fortement toxique par voie orale. Chez les travailleurs, l'absorption de pesticides par la voie gastro-intestinale se produit principalement par un contact de la bouche avec les mains contaminées.

I-4- Toxicité de l'imidaclopride

L'application excessive et aveugle de l'IMI dans le domaine de l'agriculture et les pratiques vétérinaires a provoqué l'apparition des signes évidents de toxicité, associée à de nombreux problèmes de santé chez l'Homme et les animaux (Eriksson et al., 1992; Snedeker, 2001; Sanborn et al., 2002; Yang et al., 2008; Goyal, 2010).

I-4-1- Toxicité environnementale

L'imidaclopride est classé par l'agence de protection de l'environnement dans la classe de toxicité III (Benbrook, 1991) vue sa persistance dans l'environnement, son accumulation biologique dans la chaîne alimentaire (Sanborn et al., 2002), dans les tissus et les organes vitaux (Fossen, 2006; Mohany et al., 2009) et dans les produits biologiques des animaux tels que le lait, la viande et l'œuf (Kutches et al., 1970; Krohn, 2002; Bonde et al., 2008).

I-4-2- Toxicité sur la santé animale et humaine

La toxicité de l'IMI pour les mammifères est relativement basse en raison de sa faible affinité pour les récepteurs des vertébrés que pour ceux des insectes (Mullins, 1993; Zwart et al., 1992, 1994). En plus, la barrière hémato-encéphalique des vertébrés bloque l'accès de l'IMI réduisant ainsi sa toxicité (Bourg, 2006).

La métabolisation de l'IMI par les isoenzymes du cytochrome P450 hépatique peut libérer des métabolites plus toxiques (Suchail et al., 2003) qui provoquent l'inhibition du cytochrome C oxydase et par conséquent l'augmentation de la génération des radicaux libres (Sudakin, 2005). Ce stress cellulaire est confirmé par l'augmentation du taux de malondialdéhyde, le produit final de la peroxydation des lipides (Muniz et al., 2007; Mohany et al., 2011). Cette augmentation favorise la production des cytokines pro-inflammatoires telles que le facteur de nécrose des tumeurs α (TNF α) et les interleukines Il 1B et Il 6 par les cellules impliquées dans la

réponse immunitaire (Iho, 2003; Beachet et Whalen., 2006). Ainsi que la production des espèces réactives d'oxygène (ROS), ce qui engendre un stress oxydatif en inhibant la capacité antioxydante de la cellule et par conséquent la présence des dommages au niveau des tissus et des organes vitaux tels que le foie, les reins et le cerveau (Yu et *al.*, 2008; El-Gendy et *al.*, 2010).

Ces dommages touchent les macromolécules comme les acides nucléiques, les lipides et les protéines ce qui entraîne des altérations fonctionnelles de la cellule cible et accélère sa mort (Stephan et *al.*, 1997; Tuzmen et *al.*, 2008). Les métabolites de l'IMI peuvent aussi se lier aux acides ribonucléiques entraînant des anomalies génétiques, de ce fait, l'insecticide peut être faiblement mutagénique (Cantoreggi et Lutz, 1993).

Des études sur l'imidaclopride ont montré sa génotoxicité chez les rats (Karabay et Oguz, 2005) et sur les cultures lymphocytaires humaines (Demsia et *al.*, 2007). L'IMI entraîne des dysfonctionnements des systèmes immunitaire et endocrinien (Mohany et *al.*, 2011), des troubles de la reproduction et du développement (Kumar, 2004). Ainsi que des dysfonctionnements neurologiques (Paolini et *al.*, 2004; Abou-Donia et *al.*, 2008).

Chez l'Homme, les signes d'intoxication aigue par l'imidaclopride sont: la diarrhée, la salivation, la faiblesse, le trouble de respiration, hypothermie, la convulsion, les crampes, l'incoordination des mouvements, l'immobilité et léthargie (Proença, 2005).

Chez les mammifères, les études de la toxicité de l'imidaclopride rapportent différents effets tels que le disfonctionnement et les altérations de certains organes vitaux (Eiben, 1991; Chao et Casida, 1997; Haifaa, 2007; Bhardwaj et *al.*, 2010; Mohany et *al.*, 2011).

I-4-2-1- Au niveau du foie

Le foie est le premier site de détoxification des xénobiotiques dont les pesticides, ce qui le rend un organe très sensible aux produits toxiques (Guyton, 1995).

Le foie est le site principale de la toxicité orale par l'IC, qui se manifeste par la nécrose hépatique ou hypertrophie; l'augmentation des taux sériques de transaminase,

de phosphatase alcaline et/ou de glutamate déshydrogénase; et l'altération des autres paramètres biochimiques, comme l'acide urique, glucose, cholestérol, protéine totale et l'albumine (Kammon et *al.*, 2010).

Les travaux de Bhardwaj et *al.*, (2010) ont montré que chez les rats femelles de souche wistar, la toxicité orale de l'IMI (20 mg/kg/j) entraîne une augmentation significative du taux sérique des enzymes hépatiques: transaminase, aspartate aminotransférase, alanine aminotransférase, phosphatase alcaline et glutamate déshydrogénase.

Des résultats similaires ont été notés par Mohany et *al.*, (2011). Ces chercheurs ont travaillé sur les rats wistar traités par 1/100 de DL 50 d'IMI et ils ont observé des altérations au niveau du parenchyme hépatique tels que l'infiltration des cellules immunitaires et la présence des hépatocytes nécrosés, marqués par des noyaux pyknotiques, et des sinusoides centraux fortement encombrés de sang.

Les travaux de Boukenoui et Mahboubi, (2011) ont montré que les doses 1/15 et 1/25 d'IMI provoquent une hépatotoxicité qui se manifeste par une nécrose ou hypertrophie cellulaire et d'autres signes d'inflammation (congestion et infiltration cellulaires).

I-4-2-2- Au niveau des reins

Le rein est hautement sensible à l'action des toxines en raison de son intense activité métabolique et de ses multiples fonctions, notamment celles d'excrétion et de concentration des xénobiotiques (Hfaïedh et *al.*, 2005; Kammon et *al.*, 2010). Les travaux de Bhardwaj et *al.*, (2010) ont montré que l'intoxication des rats par l'IMI entraîne des altérations rénales pathologiques marquées par une augmentation du poids des reins et une hypercréatinémie. L'histopathologie rénale révèle des lésions au niveau du parenchyme telles que des dommages tubulaires avec la nécrose de quelques tubules et une congestion sanguine. Le traitement des rats femelles de souche wistar avec la dose 1/20 de DL50 d'IMI (14,67 mg/kg/jr) pendant 50 jours provoque une perturbation des paramètres biochimiques rénaux: diminution du taux plasmatique de l'urée et de l'acide urique et une forte augmentation du taux de la créatinine. A l'échelle structurale, le parenchyme rénal montre une congestion sanguine au niveau du cortex et de la medulla, un rétrécissement de quelques

glomérules rénaux et une dégénérescence de certains tubes rénaux proximaux. Ces modifications suggèrent une néphrotoxicité évidente (Saadi *et al.*, 2011).

I-4-2-4- Au niveau de la rate

Les travaux de Mohany *et al.* (2011) ont rapporté que le traitement des rats à 1/100 de DL50 d'IMI a induit l'altération du tissu de la rate marquée par la présence d'un nombre peu élevé de lymphocytes dans la pulpe blanche, dont certaines semblent être pycnotiques et forment des agrégats. Cependant, les fibroblastes sont produits en plus grands nombres. Au niveau de la pulpe rouge, ces chercheurs ont observé une augmentation du nombre des macrophages et des neutrophiles avec présence de nids de cellules pycnotiques.

Des changements semblables observés dans les travaux de Hsu et Mountz, (2003) et Balani *et al.* (2008) chez des rats traités oralement par de faible dose d'IMI. Ces chercheurs révèlent au niveau des coupes histologiques de la rate l'invasion des fibroblastes, de grands faisceaux de fibres avec une augmentation du nombre des macrophages, des neutrophiles et des nids de cellules pycnotiques liés à l'augmentation de la susceptibilité des cellules T à l'apoptose.

I-4-2-5- Au niveau du thymus

Le thymus est le site de la différenciation et de la maturation des cellules T. Le tissu thymique des rats traités avec 1/100 DL50 d'IMI pendant 4 semaines a montré, dans le cortex et la médulla, un épuisement lymphocytaire avec la présence des noyaux pycnotiques, des signes de nécrose cellulaire, des éosinophiles occasionnelles et des secteurs focaux de l'activité des macrophages. Cette architecture histologique indique l'involution thymique ou atrophie (Mohany *et al.*, 2011).

1-4-2-6- Au niveau de la glande thyroïde

L'étude de Benherira (2013) réalisée sur des rats femelles de souche wistar traitées avec l'IMI à raison de 1/15 DL 50 pendant 22, 85 et 150 jours, a montré une augmentation du taux des hormones thyroïdiennes, la thyroxine libre et la triiodothyronine libre après 22 jour de traitement, mais cette modification s'atténue après 85 ou 150 jours. Le taux de l'hormone thyroïdienne a diminué dans toutes les conditions expérimentales. A l'échelle histologique, la thyroïde des rats traités pendant 22 jours présente une réaction inflammatoire marquée par une augmentation du nombre des microfollicules, une perte de colloïde et l'apparition du tissu adipeux entre les follicules. L'exposition subchronique ou chronique au traitement provoque une vacuolisation des cellules du parenchyme thyroïdien. Ainsi que l'apparition de cellules squameuses.

Inchem, (2001) et Matsuda et *al.*, (2001) ont révélé, chez les rats intoxiqués chroniquement par l'IMI, une diminution du poids corporel et une augmentation du taux du cholestérol sanguin. Leurs observations histologiques ont montré des lésions accrues de la thyroïde, l'atrophie des follicules thyroïdiens, l'hypothyroïdie et vieillissement de cette glande. Des résultats similaires rapportés par Boukenoui et Mahboubi (2011) après le traitement des rats avec 1/20 et 1/15 DL50 d'IMI pendant 22 jours. Ces résultats montrent que l'IMI est un perturbateur endocrinien provoquant un dysfonctionnement de la thyroïde.

I-4-2-7- Au niveau des poumons

L'observation histologique du parenchyme pulmonaire des rats intoxiqués avec 1/25 et 1/15 DL50 d'IMI pendant 22 jours révèlent l'altération du parenchyme pulmonaire et de l'épithélium bronchiolaire marquées par l'épaississement du septum interalvéolaire et des parois alvéolaires, la vacuolisation et le bourgeonnement des cellules de Clara, la congestion sanguine et la présence des macrophages alvéolaires gonflés et chargés présentant des images de phagocytose d'hématie issus d'une hémorragie (Boukenoui et Mahboubi, 2011).

Les travaux de Boukerzi, (2012), menés chez les rats femelles de souche wistar ayant reçu une dose de 1/15 DL50 d'IMI pendant deux périodes (15 semaines

et 25 semaines) ont montré des changements significatifs des paramètres hématologiques: une augmentation de la protéine réactive C (CRP), de la vitesse de sédimentation (VS) et du nombre des globules blanc (GB), des globules rouges (GR) et des plaquettes (PLT) avec une diminution de l'hémoglobine (HB) et de l'hématocrite (HT) par rapport aux rats témoins. La perturbation des paramètres hématologiques confirme l'observation histologique, qui se manifeste par une altération de l'épithélium, une présence de cellules immunitaires dans le parenchyme pulmonaire (macrophage et lymphocytes) et une hémorragie. Ces changements suggèrent l'effet inflammatoire de l'IMI.

I-4-2-8- - Au niveau du système immunitaire

Les travaux de Mohany *et al.* (2011) ont rapporté que l'exposition orale des rats à l'IMI à raison de 1/100 de DE₅₀ pendant 4 semaines provoque une immunotoxicité, une peroxydation de lipide et engendre un stress oxydatif. Cette étude montre bien l'inhibition de l'immunité innée marquée par l'altération des paramètres immunologiques: une augmentation significative du nombre des leucocytes, des immunoglobulines totales particulièrement IgG sans changements significatifs dans les niveaux d'IgM. L'étude révèle aussi des diminutions progressives et proportionnelles du titrage d'anticorps hémagglutinants, du type retardé de la réponse d'hypersensibilité. La chimiokinèse, le chimiotactisme, la migration leucocytaire et l'activité phagocytaire sont également réduits (Gatne, 2006; Balani *et al.*, 2008). L'imidaclopride supprime la mobilité des macrophages et des neutrophiles et leur capacité d'atteindre les foyers inflammatoires suggérant ces effets immunotoxiques (EL-Gohary *et al.*, 2005; Blanchet, 2007).

Notre travail porte sur la recherche des aspects de la toxicité de l'imidaclopride à raison de 1/85 de la DL50 administrée par voie orale quotidiennement par la méthode de gavage chez les rats femelles en croissance de souche wistar pendant 30 jours. Cette étude est basée sur l'évaluation des effets de cet insecticide sur le poids corporel, le poids des poumons et sur le profil de quelques paramètres hématologiques et histopathologie du parenchyme pulmonaire.

Le travail est réalisé au niveau de différents laboratoires: d'histologie et de biologie animale de l'ENS de Kouba, d'analyses médicales à Blida et le laboratoire de cytologie et d'anatomopathologie CHU-Hussein Dey, Alger sur une période étalée du mois de décembre 2012 au mois de mars 2013.

II.1 MATERIEL

II.1.1. Animaux

Notre expérimentation est réalisée sur 15 rats femelles en croissance de souche wistar; dont le poids corporel moyen est de 114.105g. Dès leurs arrivées à l'animalerie depuis l'institut Pasteur de Kouba, les rats sont soumises à une période d'acclimatation, pendant 1 semaine, à température ambiante et à une photopériode alternée de 12 heures d'obscurité suivie de 12 heures de lumière artificielle. L'alimentation et l'eau sont fournis "ad libitum". Les rats sont hébergés dans des cages en plastique transparentes d'une longueur de 55 cm, une largeur de 33 cm et d'une hauteur de 19 cm, munies d'un couvercle, d'une mangeoire et d'une bouteille d'eau.

II.1.2. Insecticide

L'imidaclopride est utilisé sous forme de solution mère concentrée de 200 mg/ml. A partir de la DL50 qui est de 424 mg/kg/jour chez les rats femelles de souche wistar (Mulye, 1996 ; Laramée, 2007), la 1/85 de la DL50 (5,1 mg/kg) est calculée comme suit:

200 mg de matière active d'IMI \longrightarrow 1 ml de solution mère d'IMI

1/85 de DL50 = 4.988 mg d'IMI/Kg \longrightarrow V1

V1 = volume de 1/85 de la DL 50 d'IMI = 0.0255 ml pour 1000 g
de poids corporel de l'animal

0.0249 ml \longrightarrow 1000 g

V2 \longrightarrow Poids corporel de l'animal

$$V2 = (0.0249 \text{ ml} \times \text{poids corporel de l'animal traité}) / 1000$$

V2 = volume journalier de l'IMI administré à chaque animal.

Le volume est recalculé en cas de changement de poids corporel.

II.2. METHODES

II.2.1. Expérimentation

Après un séjour d'adaptation aux conditions du laboratoire, les 15 rats femelles en croissance utilisées dans notre expérimentation sont répartis en deux lots.

- Le premier lot comporte 10 rats, gavés quotidiennement pendant 30 jours par 1/85 de DL 50 d'IMI diluée dans l'eau distillée.

- Le deuxième lot est composé de 5 rats témoins abreuvés quotidiennement par de l'eau distillé pendant 30 jours.

Les rats traités sont pesées chaque 5 jours à compter du premier jour de l'expérimentation. La dernière pesée est effectuée le jour du sacrifice. Durant toute la période d'expérimentation, les rats reçoivent la nourriture et l'eau "*ad-libitum*".

II.2.2. Sacrifice et prélèvement des échantillons

Après la prise des pesées corporelles et une légère anesthésie au chloroforme, les sacrifices sont réalisés par décapitation rapide et cela la matinée de 9h à 11h afin

d'éviter les variations hormonales pendant la journée. Le sang artériovoineux est recueilli dans des tubes secs et des tubes contenant 10% de l'acide éthylène diamine tétra-acétique (EDTA), destinés pour le dosage sérique de la protéine réactive C (CRP) et la détermination de la formule numérique sanguine (FNS) respectivement. Les poumons sont rapidement prélevés sur un lit de glace, puis pesés et plongés dans le formol à 10% pour les fixer. Cet organe est destiné à l'étude histopathologique.

II.2.3. Détermination de la formule de numération sanguine

a- Principe

La détermination quantitative des éléments figurés du sang, globules rouges, globules blancs, plaquettes, hémoglobine et hématoците est réalisée par cytométrie en flux utilisé sur un automate d'hématologie de type sysmex-3000. La fraction du faisceau lumineux qui dévie ses éléments permet de les quantifier.

b- Quantification des éléments figurés

Le tube contenant du sang frais mélangé à l'EDTA est mis au dessous de l'aiguille d'absorption de façon qu'elle y soit plongée. L'opération d'absorption peut prendre quelques secondes.

c- Lecture

Le résultat est obtenu directement par l'automate précisant la quantification de chaque élément.

II.2.4. Détermination de la protéine réactive C

a- Principe

Le dosage sérique de la CRP est effectué à l'aide d'un appareil Cobas Integra 400 plus, dont le principe du dosage est le test de turbidimétrie amélioré des particules. La CRP s'agglutine avec les particules de latex couverts par l'anticorps anti CRP. La concentration est mesurée en calculant la diminution, due à l'absorbance, de l'intensité d'un rayon lumineux de longueur d'onde de 552 nm traversant la suspension.

b- Dosage

Nous mettons le plasma après centrifugation à 6000 tours /min au dessous de l'aiguille d'absorption de façon qu'elle y soit plongée. Le dosage nécessite l'absorption d'un ml de sérum.

c- Lecture

Après un temps de latence (20 minutes), les résultats sont affichés directement sur l'écran de l'ordinateur annexé à l'automate, précisant la concentration de la CRP en milligramme / litre.

II.2.5. Etude histologique

L'étude de la structure des tissus en microscopie repose sur la bonne préparation de leurs échantillons. La technique histologique passe par plusieurs étapes successives indispensables pour avoir de bons résultats. Dans notre étude, nous avons suivi les étapes présentés par Gabe, (1961).

II.2.5.1. Fixation et rincage

La fixation a pour but d'immobiliser les structures en respectant dans la mesure du possible leur morphologie, de les conserver et de permettre la confection des coupes sur une préparation permanente.

Des fragments de poumons sont fixés dans le formol à 10% pendant 48 heures puis rincés à l'eau courante écouler pendant 24 heures.

II.2.5.2. Déshydratation et éclaircissement

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

- Trois bains d'alcool 70°30 minutes chacun.
- Trois bains d'alcool 95°30 minutes chacun.
- Trois bains d'alcool 100°30 minutes chacun.

L'éclaircissement est effectué dans deux bains de xylène pendant 20 minutes chacun. Cette étape permet d'éliminer l'alcool à partir du tissu et de le remplacer par le réactif de compensation.

II.2.5.3. Imprégnation

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

Ces trois dernières étapes sont réalisées à l'aide d'un appareil de circulation de type « Leica ».

II.2.5.4. Inclusion et mise en bloc

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

- Ecoulement de la paraffine dans des moules métalliques
- Inclusion et orientation des fragments dans la paraffine
- Placement des cassettes, sur lesquelles est inscrit l'état de l'organe et le numéro de l'animale
- Refroidissement des blocs de paraffine sur une plaque métallique réfrigérée environ 10 minutes.

II.2.5.5. Confection des coupes

Les blocs obtenus sont coupés au microtome de type «Leica» avec une épaisseur de 5µm.

II.2.5.6. Collage des rubans des coupes et leur séchage

Les rubans des coupes sont étalés dans un bain d'eau thermostatée (37°) puis récupérés et collés sur les lames gélatinées et ensuite séchées dans l'étuve à 37°C pendant 24 à 48 heures.

II.2.5.7. Déparaffinage et hydratation

Le déparaffinage sert à enlever la paraffine du tissu afin que les colorants puissent le pénétrer. Les coupes sont passées dans deux bains de xylène pendant 15 minutes chacun.

L'hydratation a pour objet de retirer le xylène du tissu et de le remplacer par l'eau. Les fragments sont passés dans trois bains d'éthanol décroissant. 100°, 96°, 70° d'une durée de trois minutes chacun.

II.2.5.8. Coloration

Le but de la coloration est de visualiser les divers composants tissulaires et cellulaires. Dans notre étude nous avons appliqué deux types de coloration. (Annexe)

a- Coloration de l'hématoxyline éosine

C'est une coloration topographique, permet de déterminer la structure tissulaire générale des organes.

b- Coloration de Trichrome de Masson

C'est une coloration spécifique, permet de visualiser les fibres de collagène ainsi que les altérations tissulaires tel que les fibroses et les inclusions.

La coloration doit être suivie par une déshydratation en faisant passer les coupes dans les bains suivant :

- Un bain d'alcool 70%3 minutes.
- Un bain d'alcool 90%3 minutes.
- Un bain d'alcool 100%3 minutes.

Les lames colorées sont en suite plongées dans deux bains de xylène pendant 20 minutes chacun pour l'éclaircissement de la coloration.

II.2.5.9. Montage et observation

Après le montage d'une lamelle sur chaque coupe à l'aide d'un Eukit, les lames sont séchées sur papier absorbant, nettoyées au xylène puis observées au microscope photonique aux différents grossissements x 100, x 400, x 1000.

La prise des photos est effectuée par un photomicroscope «Zeis» du laboratoire d'histologie à l'Ecole Normale Supérieure de Kouba.

II.2.6. Etude statistique

Les résultats sont présentés sous forme de moyennes \pm écart type. Des tests t de *student* sont effectués pour la comparaison des différents paramètres étudiés entre les rats témoins et les rats traités.

La différence est jugée statistiquement :

- Non significative (NS) quand $p > 0.05$.
- Significative (*) quand $0.02 < p < 0.05$.
- Très significative (**) quand $0.01 < p < 0.02$.
- Hautement significative (***) quand $p < 0.01$.

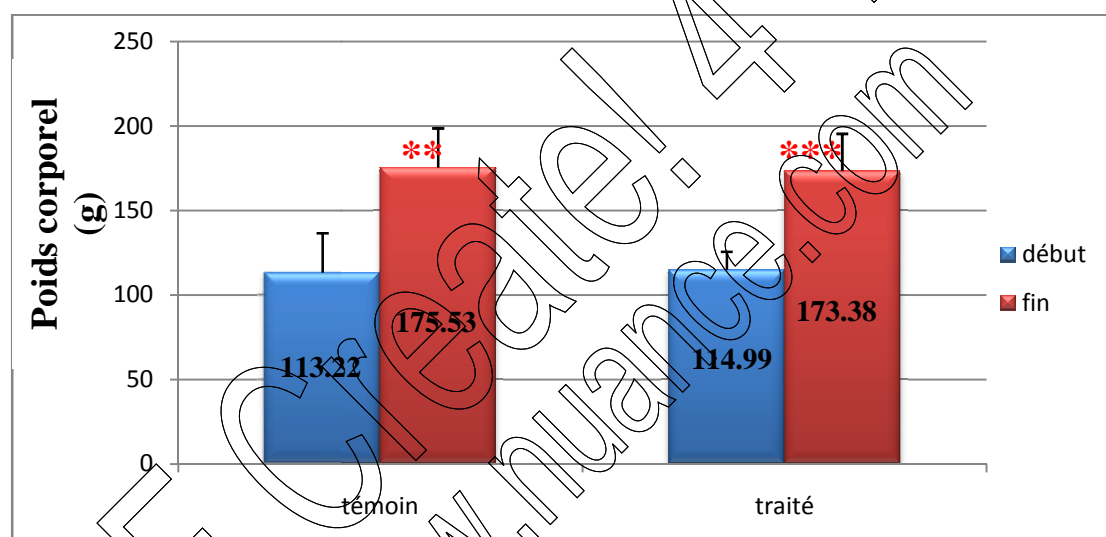
III.1. RESULTATS

La recherche des aspects de la toxicité d'IMI à raison de 1/85 DL50 pendant 30 jours est basée sur l'étude de l'évolution pondérale, du profil de quelques paramètres hématologiques et l'histopathologie du parenchyme pulmonaire

III.1.1. Evolution pondérale

III.1.1.1. Poids corporel

Les résultats de la variation pondérale chez les rats femelles témoins et traités par 1/85 DL50 d'IMI et leurs significations statistiques sont rassemblés dans la figure 3 et les tableaux V, VII, VIII et XI de l'annexe 3.



** La différence est très significative par rapport au début de l'expérimentation.

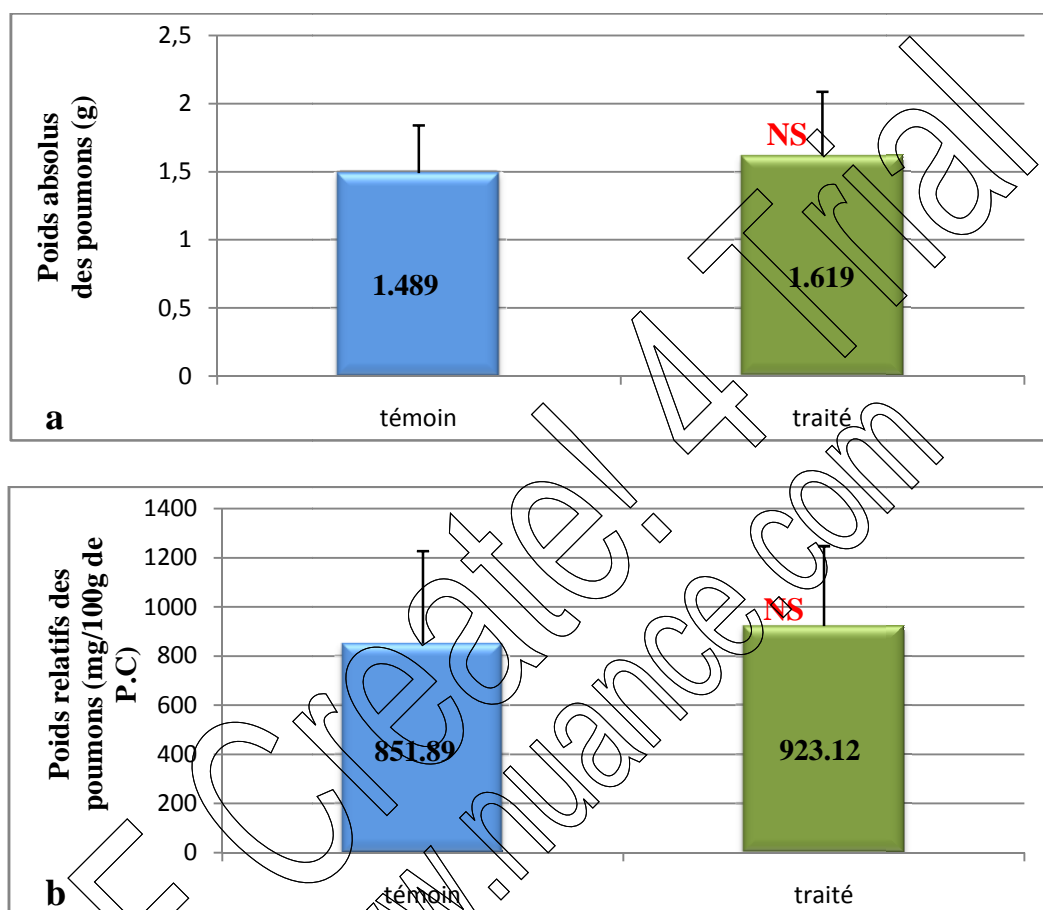
*** La différence est hautement significative par rapport au début de l'expérimentation.

Figure 3: Evolution du poids corporels (g) chez rats témoins et traités par 1/85 DL 50 d'imidaclopride.

D'après nos résultats, tous les rats témoins et traités ont montré une croissance pondérale au cours de l'expérimentation. Cette augmentation est de l'ordre de 55,03 % chez les rats témoins (113,22g ± 23,4036 vs 175,53g ± 23,114) et de 50,78 % chez les rats traités (114,99g ± 10,6928 vs 173,39g ± 22,072). L'analyse statistique des différences en poids par rapport au début de l'expérimentation montre un changement hautement significatif pour les rats traité ($p > 0.01$) et très significatif pour les rats témoins ($0.02 > p > 0,01$).

III.1.1.2. Poids des poumons

Les résultats de la figure 4 et des tableaux V, VII, VIII et XI de l'annexe 3 présentent l'évolution des poids des poumons et la signification statistique des différences.



NS : La différence est statistiquement non significative par rapport au témoin.

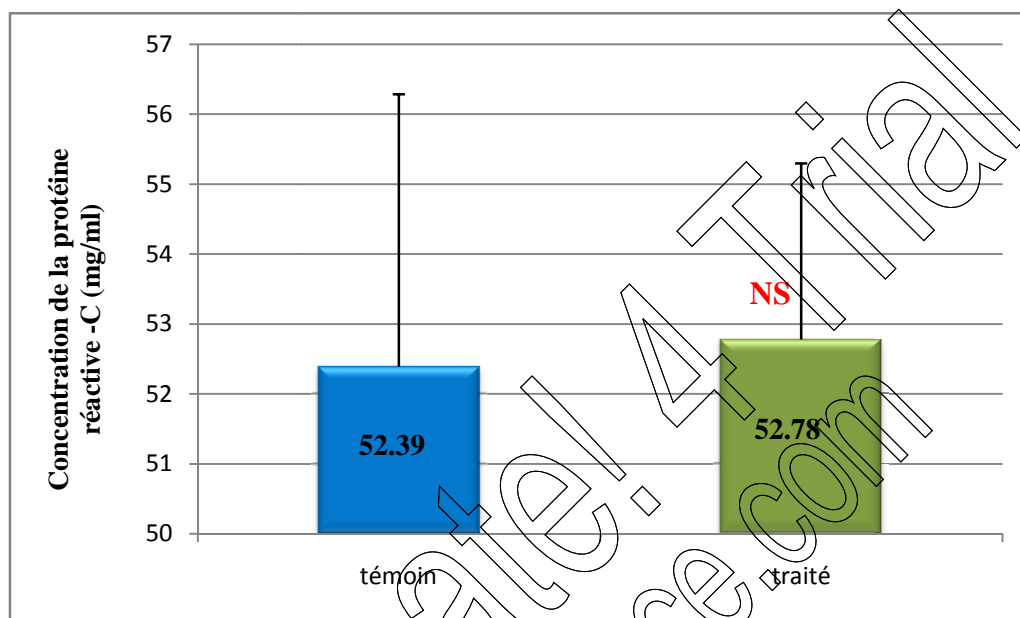
Figure 4: Effet du traitement à l'imidaclopride sur le poids absolu (a) et le poids relatif (b) des poumons des rats femelles. PC : Poids Corporel.

Selon les résultats obtenus sur les poids absolus des poumons, il semble que le traitement par l'imidaclopride à raison de 1/85 DL 50 a induit une augmentation ($1,62\text{g} \pm 0,46$) statistiquement non significative ($p < 0,05$) chez les rats traités par rapport à ceux des rats témoins ($1,49\text{g} \pm 0,35$). Les poids relatifs des poumons ont aussi montré une augmentation ($923,12\text{ mg/100g de P.C} \pm 324,83$) qui reste statistiquement non significative ($p < 0,05$) par rapport aux rats témoins ($851,84\text{ mg/100g de P.C} \pm 376,11$).

III.1.2. Détermination des paramètres hématologiques

L'analyse des résultats hématologiques obtenus sont illustrés dans les figures 5, 6, 7, 8, 9 et 10 et les tableaux VI, IX, X et XII de l'annexe 3.

III.1.2.1. Taux de la protéine réactive C

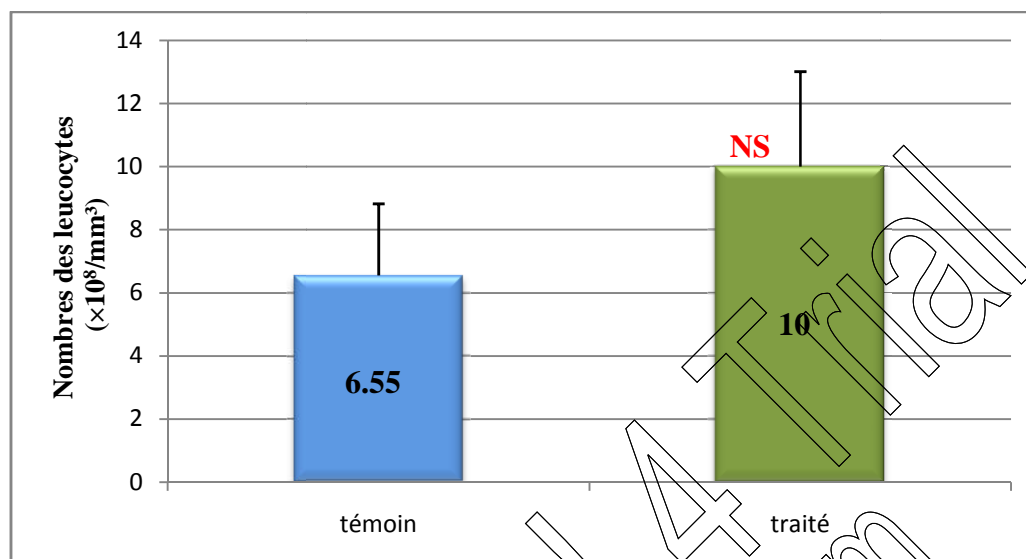


NS : La différence est statistiquement non significative par rapport au témoin

Figure 5: Effet de la 1/85 DL50 d'imidaclopride sur le taux de la protéine réactive-C (mg/ml) chez les rats femelles.

Les résultats du dosage sérique révèlent une petite augmentation de la protéine réactive-C ($52,78 \text{ mg/ml} \pm 2,52$) chez les rats traités à l'imidaclopride par rapport aux rats témoins ($52,39 \text{ mg/ml} \pm 3,9$). Cette différence est statistiquement non significative ($p < 0,05$) (figure 5 et tableaux V, VII, VIII et XI de l'annexe 3).

III.1.2.2. Nombre des leucocytes



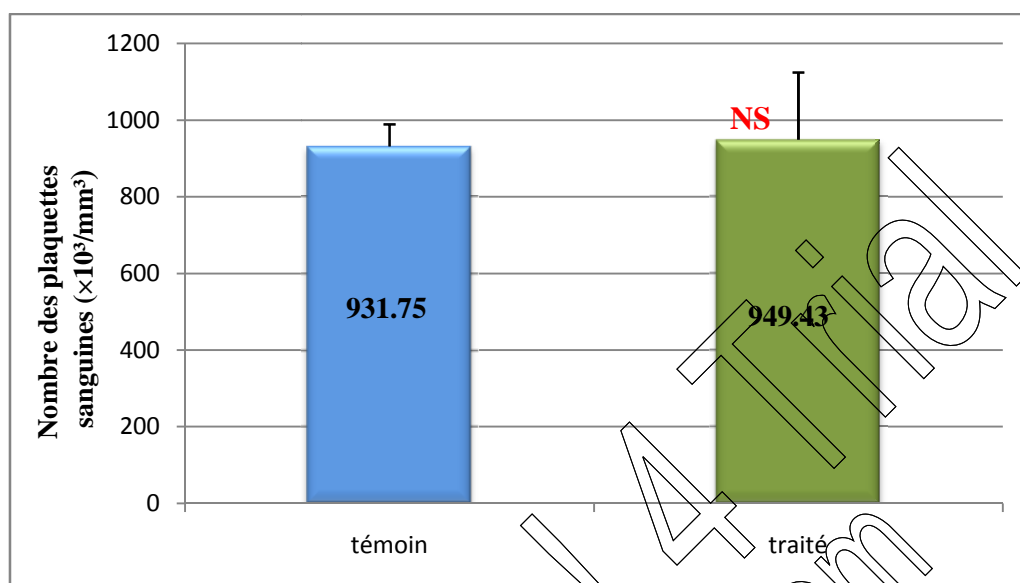
NS : La différence est statistiquement non significative par rapport au témoin.

Figure 6: Effet de la 1/85 DL50 d'imidaclopride sur le nombre des leucocytes ($\times 10^8/\text{mm}^3$) chez les rats femelles.

D'après les résultats de notre étude, il semble que le traitement à l'IMI à entrainé une augmentation du nombre des leucocytes ($10 \times 10^8/\text{mm}^3 \pm 3,01$) qui reste statistiquement non significative ($p < 0,05$) en comparaison avec celui des rats témoins ($6,55 \times 10^8/\text{mm}^3 \pm 2,77$) (figure 6 et tableaux V, VII, VIII et XI de l'annexe

3).

III.1.2.3. Nombre des plaquettes sanguines

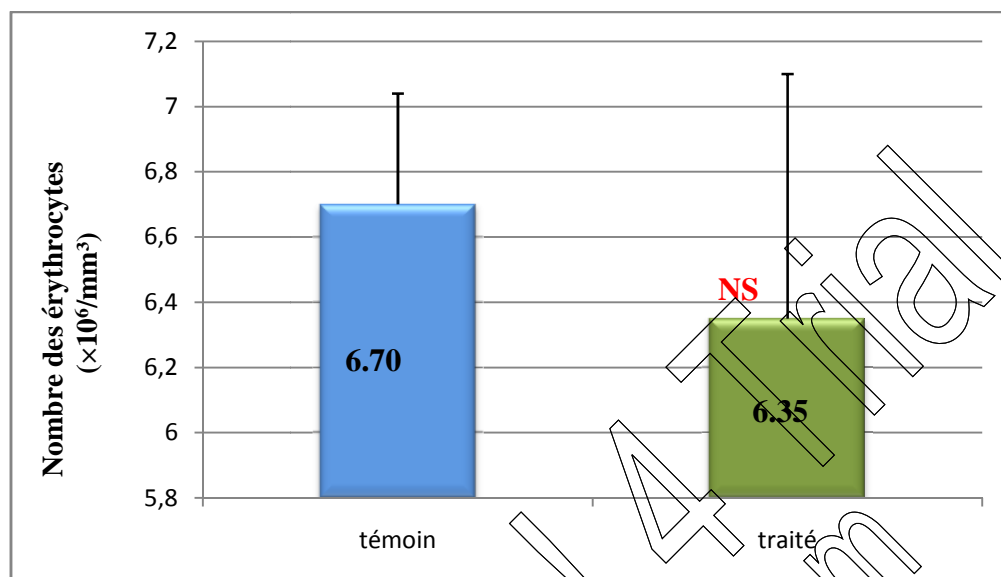


NS : La différence est statistiquement non significative par rapport au témoin.

Figure 7: Effet de la 1/85 DL50 d'imidaclopride sur le nombre des plaquettes sanguines ($\times 10^3/\text{mm}^3$) chez les rats femelles.

Après un traitement de 30 jours à 1/85 DL50 d'imidaclopride, le nombre des plaquettes sanguines a subi une augmentation ($949,43 \times 10^6/\text{mm}^3 \pm 175,20$) chez les rats traités par rapport aux rats témoins ($931,75 \times 10^6/\text{mm}^3 \pm 57,46$). Les différences enregistrées restent statistiquement non significatives ($p < 0,05$) (figure 7 et tableaux V, VII, VIII et XI de l'annexe 3).

III.1.2.4. Nombre des érythrocytes

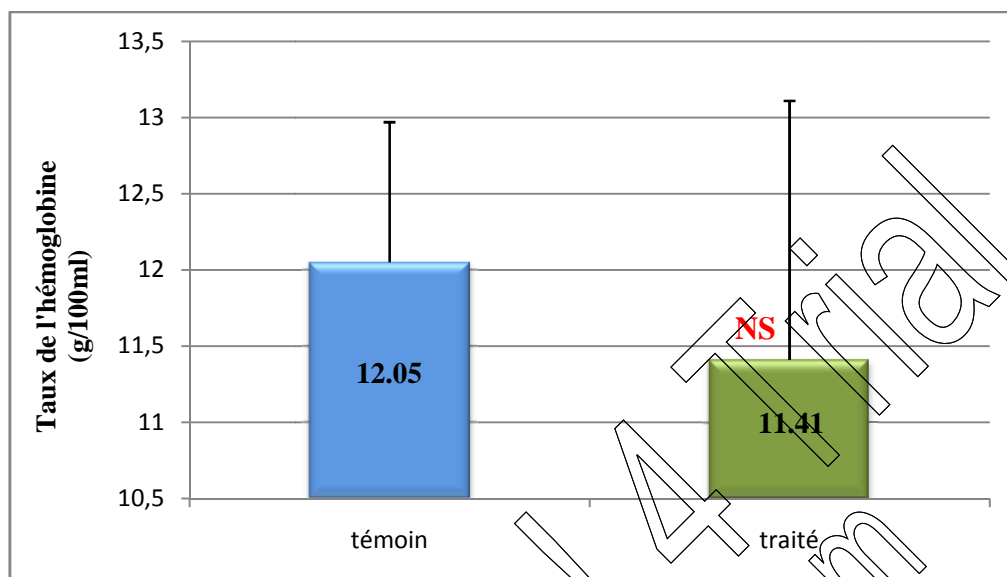


NS : La différence est statistiquement non significative par rapport au témoin.

Figure 8: Effet de la 1/85 DL50 d'imidaclopride sur le nombre des érythrocytes ($\times 10^6/\text{mm}^3$) chez les rats femelles.

Le traitement à 1/85 DL 50 d'imidaclopride induit une petite régression du nombre des érythrocytes chez les rats traités par rapport aux rats témoins, nous notons respectivement, ($6,35 \times 10^6/\text{mm}^3 \pm 0,75$) et ($6,70 \times 10^6/\text{mm}^3 \pm 0,34$). Cette diminution est statistiquement non significative ($p < 0,05$) (figure 8 et tableaux V, VII, VIII et XI de l'annexe 3).

III.1.2.5. Taux de l'hémoglobine

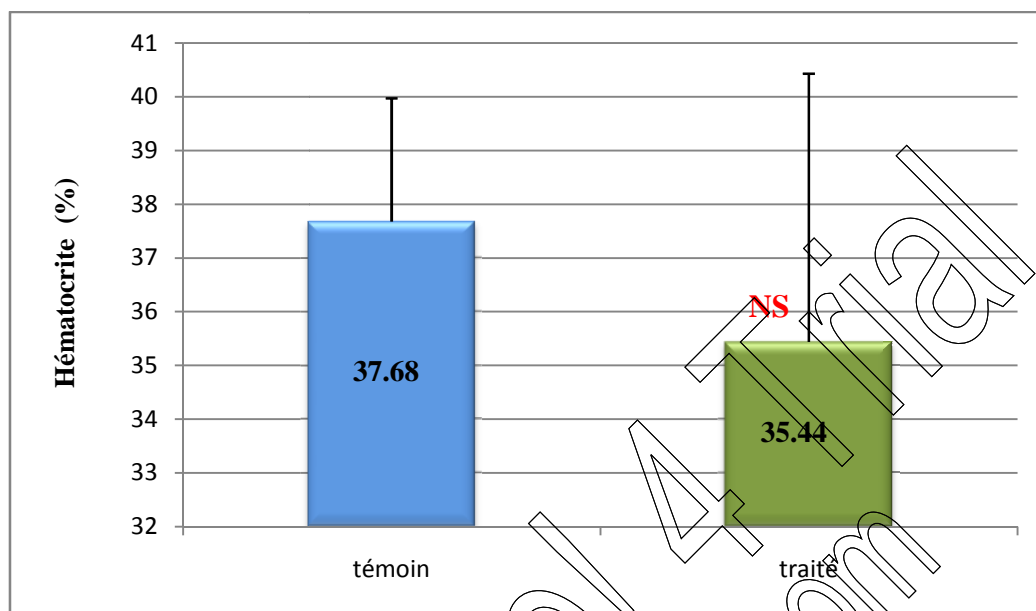


NS : La différence est statistiquement non significative par rapport au témoin.

Figure 9: Effet de la 1/85 DL50 d'imidaclopride sur le taux de l'hémoglobine (g/100ml) chez les rats femelles.

D'après les résultats de l'étude hématologique rapportés par notre étude, le taux de l'hémoglobine présente une régression statistiquement non significative ($p < 0,05$) chez les rats traités à l'imidaclopride par rapport aux rats témoins. Le taux est respectivement $11,41 \text{ g/100ml} \pm 1,70$ et $12,05 \text{ g/100ml} \pm 0,92$ (figure 9 et tableaux V, VII, VIII et XI de l'annexe 3).

III.1.2.6. Taux de l'hématocrite



NS : La différence est statistiquement non significative par rapport au témoin

Figure 10: Effet de la 1/85 DL 50 d'imidaclopride sur le taux de l'hématocrite (%) chez les rats femelles.

Le dosage de l'hématocrite a révélé une petite régression du taux chez les rats traités ($35,44 \% \pm 4,99$) par rapport à ($37,68 \% \pm 2,29$) enregistré chez les rats témoins. Les différences restent statistiquement non significatives ($p < 0,05$) (figure 10 et tableaux V, VII, VIII et XI de l'annexe 3).

III.1.3. Etude histopathologique

III.1.3.1. Parenchyme pulmonaire des rats témoins

L'observation des coupes histologiques du parenchyme pulmonaire des rats témoins à permet de mettre en évidence de très nombreux alvéoles qui représentent les unités terminales du système respiratoire (figure 11a). Ces alvéoles sont séparées les unes des autres par des petits cloisons interalvéolaires qui contiennent des cellules aplatis et se connectent aux canaux alvéolaires (figure 11b).

Chaque canal alvéolaire fonctionne structurellement comme un couloir qui se connecte à plusieurs sacs alvéolaires et alvéoles. Chaque sac alvéolaire est composé de deux ou plusieurs alvéoles qui partagent une ouverture commune (figure 11 c). Chaque alvéole est entouré par un épithélium très aplatis celui-ci comprend deux types de cellules: les pneumocytes de type 1, cellules pavimenteuses possédant un noyau aplatis, sombre et ovale avec un cytoplasme très mince et les pneumocytes de type 2, peu nombreuses, possédant des noyaux volumineux arrondis (figure 11 d).

Les bronchioles sont constituées, du centre à la périphérie, d'une lumière plus au moins large bordée par un épithélium disposé sur un tissu conjonctif fin. Le chorion est entouré par une couche musculaire lisse peu épaisse (figure 11b). Des bronchioles terminales, de petits diamètres, sont observées dont la lumière est bordée par un épithélium cubique simple (figure 11 a et c).

Le parenchyme pulmonaire présente un nodule lymphatique (figure 11 b) et de petits vaisseaux sanguins répartis entre les alvéoles (figure 11 a).

Figure 11: Structure du parenchyme pulmonaire chez les rats femelles témoins.
Coloration : Trichrome de Masson. Grossissements : x100 (a); x400 (b) et (c); x1000 (d).

B: Bronchiole; **BT:** Bronchiole terminale; **CA:** canal alvéolaire; **E:** Epithélium;
M: Muscle lisse; **SA:** Sac alvéolaire; **CH:** Chorion; **CL:** Cloison alvéolaire.
AL: Alvéole; **MA:** Macrophage alvéolaire; **PII:** Pneumocyte type 2; **PI:** Pneumocyte type 1.

- (a) Coupe de poumon chez des rats témoins présentant l'architecture normale du parenchyme pulmonaire constitué d'une bronchiole et des bronchioles terminales.
- (b) Détail de la coupe de poumon présente un épithélium bronchial normal et des cloisons alvéolaires intactes.
- (c) Coupe de poumon chez des rats témoins présentant un canal alvéolaire, un sac alvéolaire et plusieurs alvéoles associés.
- (d) Détail de la coupe c présentant les composantes cellulaires de la paroi alvéolaire.

III-1-3-2- Parenchyme pulmonaire des rats traités

L'étude du parenchyme pulmonaire en microscopie optique chez les rats femelles traitées par l'imidaclopride à raison de 1/85 DL 50 (4,98 mg/kg/j) pendant 30 jours révèle des altérations plus ou moins importantes :

- l'épaississement du septum intra-alvéolaire et par conséquent la réduction du diamètre des sacs alvéolaires et des alvéoles (figure 12 a et b).
- L'épaississement des parois bronchiales terminales (figure 12 c, d et e). Leur épithélium est altéré et il est localement desquamé avec un cytoplasme vacuolisé.
- La lumière des bronchioles terminales contient des débris cellulaires (figure 12 d).
- la présence des images de congestion sanguine associée à l'accumulation des hématies et une vasodilatation (figure 13 a, b, d et c).
- Le phénomène de l'infiltration cellulaire est aussi observé au sein du parenchyme pulmonaire (figure 13 d).

Figure 12: Structure du parenchyme pulmonaire chez les rats femelles témoins (a) et (d) et les rats traitées avec l'IMI (b), (c) et (e). Coloration : Trichrome de Masson : (b) et (d); HE : (a), (c) et (e). Grossissements : x 400.

B: Bronchiole; **BT:** Bronchiole terminale; **CA:** canal alvéolaire; **E:** Epithélium;
M: Muscle lisse; **SA:** Sac alvéolaire; **VS:** Vaisseau sanguin; **CH:** Chorion; **AL:** Alvéole;
CS: Congestion sanguine; **D:** Débris; **CL:** Cloison alvéolaire; **Ep:** Epaissement ;
* : Desquamation.

- (a) Coupe de poumon chez des rats témoins présentant des cloisons alvéolaires intactes et des alvéoles à parois fines.
- (b) Coupe de poumon des rats traités montrant l'épaississement du septum intra-alvéolaire avec régression de la lumière alvéolaire.
- (c) Coupe de poumon des rats traités présentant l'épaississement des parois bronchiales terminales.
- (d) Coupe de poumon des rats témoins montrant un épithélium bronchiolaire intact.

Figure 13: Structure du parenchyme pulmonaire chez les rats femelles traitées avec l'IMI. Coloration: Trichrome de Masson: (d); HE: (a), (b) et (c). Grossissements: x100 (a) ; x400 (b), (c) et (d).

B: Bronchiole; **BT:** Bronchiole terminale; **CA:** canal alvéolaire; **E :** Epithélium; **M:** Muscle lisse; **SA:** Sac alvéolaire; **VS :**Vaisseau sanguin; **CH :** Chorion ; **CL:** Cloison alvéolaire; **AL:** Alvéole; **CS :** Congestion sanguine; **H:** Hématie; **D:** Débris. **MA:** Macrophage alvéolaire; **Ly :** Lymphocyte ; **PII:** Pneumocyte de type 2; **PI:** Pneumocyte de type 1.

- (a) Coupe de poumon présentant la structure du parenchyme pulmonaire à faible grossissement chez les rats traités présentant une bronchiole et des bronchioles terminales.
- (b) Coupe de poumon présentant la congestion sanguine et l'épaississement de la paroi bronchiale terminale dont la lumière contient des débris.
- (c) Coupe de poumon présentant l'accumulation des hématies et une vasodilatation du vaisseau sanguin.
- (d) Coupe de poumon présentant l'infiltration des cellules immunitaires au sein de la congestion sanguine.

III.2. DISCUSSION

L'imidaclopride est connu par son incidence élevée contre de nombreux organismes nuisibles (Wang, 2003; Azevedo et al., 2011). Malgré sa faible toxicité chez les mammifères (Anatra-Cordone et Durkin, 2005; Bourg, 2006), l'IMI présente de sérieux dommages à l'échelle morpho-fonctionnelle chez les rats. Ces effets sont marqués par des altérations sur le plan systémique et cyto-architectural (Ammar et al., 2003; Haifaa, 2007; Yu et al., 2008; Bhardwaj et al., 2010; El-Gendy et al., 2010; Mohany et al., 2009, 2011).

Le présent travail porte sur la recherche de la toxicité par voie orale d'IMI à raison de 1/85 DL50 pendant 30 jours chez les rats femelles de souche wistar. Aucun changement de comportement chez les animaux n'est signalé au cours de l'expérimentation. D'après Bhardwaj et al. (2010) une salivation et une diarrhée sont observées chez les rats femelles de souche wistar traitées par 20 mg/kg/jr d'IMI pendant 90 jours. Cela revient probablement à la période du traitement imposé aux rats.

Dans nos conditions expérimentales, tous les rats témoins et traités ont présenté une augmentation du poids corporels, ce qui reflète une surcharge calorique et augmentation de la taille des adipocytes (Donath et al., 1999 ; Palani et al., 1999). Cette croissance est supposée due à la disponibilité d'une nourriture abondante (Venu, 2007) et peut être aussi en partie causé par le mode de vie sédimentaire provoqué chez les rats. Cependant, Bhardwaj et al. (2010) ont rapporté que les rats traités avec l'IMI à raison de 20 mg/kg/jr présentent une diminution significative du poids corporel qu'ils expliquent par la faible consommation alimentaire par les animaux. Ces chercheurs considèrent la régression du poids corporel comme signe de toxicité.

La croissance pondérale ne semble pas corrélée avec le poids relatif des poumons. Les résultats de notre étude ne montrent un changement statistiquement significatif. Cependant, les études de Mahdeb (2002) et de Benouadah (2009) ont révélé une augmentation significative de la masse relative des poumons et des reins des rats traités dans les conditions de toxicité subchronique par différents xénobiotiques. Plusieurs auteurs expliquent cette augmentation par une congestion sanguine des veines centro-lobulaires du foie (Kara, 2008) et par des œdèmes (Dominique et al., 2005).

Notre étude montre que le traitement à l'IMI ne semble pas perturber significativement le taux des paramètres hématologiques. Des augmentations statistiquement non significatives du taux sérique de la protéine réactive C (CRP), du nombre des leucocytes (GB) et des thrombocytes (PLT) sont enregistrées. Des diminutions statistiquement non significatives du nombre des érythrocytes (GR) ainsi que du taux d'hémoglobine (HB) et de l'hématocrite (HTC) sont aussi notées chez les rats traités.

Différentes études cliniques et expérimentales ont rapporté que les pesticides, y compris les néonicotinoïdes, provoquent souvent des troubles hématologiques (Ammar et al., 2003; Celik et Suzek, 2008; Mohany et al., 2009, Goyal et al., 2010). L'augmentation du taux de la CRP indique la présence d'un processus inflammatoire systémique (Wilson, 2008). Cette protéine est synthétisée sous l'influence des cytokines (Packard et Libby, 2008) libérées par différents leucocytes qui semblent être proliférés suite à une agression (Adedeji et al., 2009; Celik et al., 2009 ; Mohany et al., 2009).

L'augmentation du nombre des leucocytes est souvent considérée comme un signe évident de l'activation du système immunitaire de l'organisme et suggère la présence d'œdème et d'inflammation tissulaire (Yousef et al., 2003 ; Kantari et al., 2008).

Les résultats sont conformes à ceux trouvés par Ammar et al, (2003) qui ont rapporté que 1/10 et 1/25 de DL50 d'IMI induisent une croissance significative du nombre des leucocytes chez les rats. Des résultats similaires sont aussi rapportés par Mohany et al, (2011) chez des rats wistar traités par 1/100 de DL 50 d'IMI. Ces chercheurs suggèrent que l'IMI affecte l'immunité innée et stimule la libération des immunoglobulines, les IgG en particulier. Cependant, nos résultats sont en contradiction avec ceux rapportés par Diker et al. (2006) et Benouadah (2009) qui ont signalé une diminution du nombre des leucocytes et des plaquettes. De même pour Lalita et al. (2012) qui ont décrit une diminution du nombre de toutes les cellules sanguines des rats intoxiqués. Ces chercheurs ont expliqué cette diminution par l'effet immunosuppresseur sur l'activité hématopoïétique de la moelle osseuse.

Selon les travaux de Marizvikuru *et al.* (2012) réalisés sur des rats traités dans les conditions de toxicité chronique, les niveaux élevés de PLT pourraient être attribués à l'élévation du taux des acides gras tels que l'acide gamma-linoléique et des prostaglandines qui ont des effets bénéfiques sur l'agrégation des trombocytes (Venu, 2007). Il a été montré que l'inflammation pulmonaire systémique stimule l'agrégation plaquettaire (Nemmar *et al.*, 2008). La production de l'IL6 au cours de l'inflammation contribue à la stimulation de la thrombopoïèse, donnant lieu à une hyperplaquettose qui est accompagné souvent par une augmentation de la CRP et de la vitesse de sédimentation (Samama *et al.*, 2004).

Nos résultats sont en accord avec ceux rapportés par Morowati, (1998) qui suggère que la réduction des taux d'hémoglobine et du nombre des érythrocytes est due à une hémorragie et aux effets toxiques du pesticide sur la moelle osseuse causant des dysfonctionnements du système hématopoïétique.

Benouadah (2009) suggère que la diminution significative des GR, de l'HTC et de l'HG est due à des effets sur l'érythropoïèse ou à des effets hémolytiques directs sur les hématies. Les mêmes résultats sont obtenus par Kara (2008). Ces modifications pourraient être le résultat d'une inhibition de l'hémossynthèse (Mongi *et al.*, 2011) dont la Delta-amino levulinic acid dehydase, enzyme impliquée dans la voie de biosynthèse de l'hème, qui est très affecté par les xénobiotiques (Fox *et al.*, 1988; Walker *et al.*, 1996).

L'étude en microscopie photonique des poumons des rats traités montrent des altérations au niveau du parenchyme pulmonaire. Ces altérations sont marquées par l'épaississement du septum inter-alvéolaire, plusieurs alvéoles montrent des collapsés et leurs parois sont œdémateuses et fortement épaisses. Les bronchioles terminaux sont bordés avec un épithélium altéré, irrégulièrement épais et parfois desquamés et discontinu. La lumière bronchiale présente de débris cellulaires. La congestion des vaisseaux sanguins et une hémorragie modérées ont été également observées.

Plusieurs chercheurs ont trouvé des altérations similaires au niveau du parenchyme pulmonaire des animaux traités par divers produits toxiques témoignant clairement le développement de l'inflammation pulmonaire (Shen *et al.*, 1988 ; Morgan *et al.*, 1993 ; Kostka *et al.*, 2000 ; Morowati, 1998 ; Rady, 2009, Gokce *et al.*, 2010).

Les macrophages pulmonaires font partie du système de défenses pulmonaire. Leur abondance indique une inflammation du tissu pulmonaire (Dominique et *al.*, 2005). Le processus inflammatoire endommageant les poumons dépend de plusieurs facteurs endogènes y compris les cytokines pro-inflammatoires (Witschi et Last, 1991). Newland et Richter (2008) ont montré que l'épithélium pulmonaire joue un rôle crucial au cours de l'inflammation en synthétisant les IL1 et IL 13. Ces interleukines stimulent la diapédèse leucocytaire au cours de l'inflammation ce qui entraîne l'infiltration cellulaires observées au niveau du chorion pulmonaire (Iho, 2003; Oltmanns et *al.*, 2005).

Des résultats similaires sont observés dans les travaux de Deb et *al.* (2010) qui suggèrent que l'épaississement des parois alvéolaires est dû à la prolifération du tissu fibreux, à l'infiltration des cellules mononucléaires et à la présence des fibroblastes immature. Les cloisons inter alvéolaires sont très épais par augmentation du nombres des cellules épithéliales pulmonaires, les pneumocytes de types II en particulier et de leurs volumes cellulaires (hyperplasie et hypertrophie) et par augmentation de la matrice extra cellulaire (Chen et *al.*, 2003). Cela entraîne la diminution du volume alvéolaire observée chez les rats traités par rapport aux rats témoins (Paul et *al.*, 2002).

Selon Zhao et *al.* (2001), l'épaississement des parois alvéolaires est du par l'augmentation du nombre des cellules épithéliales, les pneumocytes II en particulier. Ces cellules sont capables de synthétiser des cytokines jouant ainsi le rôle chémo-attractif et activateur des monocytes qui se différencient en macrophages au niveau du parenchyme pulmonaire où ils exercent leur effet inflammatoire (Koyama et *al.*, 1997).

Les cellules de Clara sont des cellules non ciliées localisées principalement dans les bronchioles terminales. Nos observations montrent que ces cellules riches en P450 sont vacuolisées et bourgeonnées. Elles ont été identifiées comme productrice d'une microprotéine qui sert comme biomarqueur de toxicité pulmonaire et qui agit comme un immunorégulateur naturel protecteur des voies respiratoires contre les réactions inflammatoires (Boyd, 1977; Bernard et *al.*, 1992).

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

A travers cette étude menée chez les rats femelles de souche wistar, nous avons recherché l'effet de l'IMI à raison de 4,98 mg /Kg /j (1/85 DL50) durant 30 jours sur la structure du parenchyme pulmonaire et sur les taux de quelques paramètres hématologiques.

D'après les résultats obtenus nous pouvons conclure que :

- L'exposition à une dose très faible d'IMI (4,98 mg /Kg /j) entraîne aussi des effets délétères à l'échelle structurale qui sont présentés par des images de l'inflammation au niveau du parenchyme pulmonaire.
- Ces images correspondent à :
 - l'infiltration des cellules immunitaires dans le parenchyme pulmonaire,
 - l'épaississement des parois alvéolaires,
 - la desquamation des cellules épithéliales,
 - la congestion sanguine et
 - l'accumulation des débris.
- Elles sont associées à l'augmentation du nombre des leucocytes, des plaquettes et du taux de la protéine réactive-C et à la diminution du nombre des érythrocytes, du taux de l'hémoglobine et de l'hématocrite. Les perturbations des paramètres hématologiques sont jugées non significatives, ce qui nous laisse suggérer que la toxicité de 1/85 DL50 d'IMI est modérée.

Il serait intéressant de compléter et de comparer ces résultats obtenus en conditions de laboratoire à ceux des enquêtes et des dosages sanguins réalisés chez les agriculteurs et les citoyens qui se trouvent en contact direct avec les pesticides.

En perspective nous proposons de réaliser une étude plus approfondie

- Recherche de l'effet de cette dose sur les autres organes vitaux.

- Recherche de l'implication du système immunitaire dans la génération du processus inflammatoire par le dosage des cytokines, des immunoglobulines et de la vitesse de sédimentation.
- Poursuivre la recherche sur la dose sans effet observable.

PDF Create! 4 Trial
www.nuance.com

ABOU-DONIA M.B., GOLDSTEIN L.B., BULLMAN S., TU T., KHAN W.A., DECHKOVSKAIA A.M. and ABDEL-RAHMANA A., 2008- Imidacloprid induces neurobehavioral deficits and increases expression of glial fibrillary acidic protein in the motor cortex and hippocampus in offspring rats following in utero exposure. *J. Toxicol. Environ. Health.* **71**: 119-130.

ADEDEJI O.B., ADEYEMO O.K., AGBEDE S.A., 2009- Effects of diazinon on blood parameters in the African catfish (*Clarias Gariepinus*). *Afr. J. Biotech.*, **8**: 3940-3946.

AL-SAYDA H. 2007- Transfert d'un insecticide systémique, l'imidaclopride chez la tomate: implication du transport phloémien. *Thèse de Doctorat. Insit National Polytechnique. Toulouse* Pp.174.

AMMAR M, RABEIH K, ABOU EL-KHEAR A, NEMA M, 2003- Hematological studies of some pesticides on albino rats, *Rattus norvegicus albinus*. *Alex J. Pharmaceut. Sci. Egy.*, **17**: 21-27.

ANATRA-Cordone .M., and DURKIN P., 2005 –Imidacloprid Human health assessment and ecological risk assessment Final report. *Syracuse Environmental Research Associates, Inc., New York, SERA TR 05- 43-24-03a.*

AZEVEDO P.H., LEMOS M. and SOARES A., 2011- Effects of imidacloprid exposure on *Chironomus riparius* Meigen larvae: Linking acetylcholine esterase activity to behavior. *Ecotoxicology and Environmental Safety.* **74**: 1210-1215.

BALANI T, AGRAWAL S and THAKER AM, 2011- Hematological and biochemical changes due to short-term oral administration of imidacloprid. *Toxicol. Int.*, **18(1)**: 2-4.

BALANI T, AGRAWAL S. and THAKER A.M., 2008- Effects of imidacloprid a neonicotinoid insecticide on the immune system of white leghorn cockerels. *J. Vet. Pharm. Toxicol.* **7**: 27-30

BEACHET M. and WHALEN M.M., 2006- Effects of organochlorine pesticides on interleukin secretion from lymphocytes. *Hum. Exp. Toxicol.* **25**: 651-659.

BEN AMARA I, SOUDANI N., TROUDI A., HAKIM A., ZEGHAL K.M., BOUDAWARA T., ZEGHAL N., 2012- Dimethoate Induced Oxidative Damage and Histopathological Changes in lung of Adult rats: Modulatory effects of selenium and/or vitamin E. *Biomed. Environ. Sci.* **25 (3)**: 340-351.

BENBROOK C. M., 1991- Sustainable Agriculture Research and Education in the Field, *National Academy Press. Washington, DC.*

BENHAMMOU K., LEE M., STROOK M., SULLIVAN B., LOGEL J. and RASCHEN K., 2000- [3H] Nicotine binding in peripheral blood cells of smokers is

correlated with the number of cigarettes smoked per day. *Neuropharmacology*. **39**: 2818-2829.

BENHERIRA N., 2013- Recherche des aspects de la toxicité par voie orale de la 1/15 DL50 d'imidaclopride sur la glane thyroïde chez les rats femelles de souche wistar. *Mémoire de magistère. Ecole Normale Supérieure de Kouba*. Pp44.

BENOUADAH Z. 2009- Etude de l'effet de la toxicité du *Datura stramonium* L. sur le rein du rat blanc (Albinos Wistars). *Thèse de Magistère en Biologie et Physiologie Animale. Université de Constantine*. pp. 70-78. .

BERNARD A., ROELS H., LAUWERYS R., WITTERS R., GIELENS C., SOUMILLION A., VAN DAMME J. and DE LEY M., 1992- Human urinary protein1: evidence for identity with the Clara cell protein and occurrence in respiratory tract and urogenital tract secretions. *Clin. Chim. Acta*. **207**: 239-249.

BETTY C., 2007- Hematology in practice, *Davis Company*. Pp. 39-41.

BHARDWADJ S., SRIVASTAVA M.K., KAPOOR U. and SRIVASTAVA L.P., 2010- A 90 days oral toxicity of imidacloprid in female rats: Morphological, biochemical and histopathological evaluations. *Food and Chemical Toxicology*. **48**: 1185- 1190.

BLANCHET M.R., LANGLOIS A., ISRAËL-ASSAYAG E., BEAULIEU M.J., FERLAND C., LAVIOLETTE M., 2007- Modulation of eosinophil activation in vitro by a nicotinic receptor agonist. *J leukoc Biol*. **81**: 1245-1251.

BONDE J., TOFT P., RYLANDER G., RIGNELLHYDBOM L., GIWERCMAN A., SPANO A., MANICARD M., BIZZARO G. C., LUDWICKI D., ZVYEZDAY J. K., BONEFELD V., JØRGENSEN E., PEDERSEN C., JONSSON H. S. and THULSTRUP A. M., 2008- Fertility and markers of male reproductive function in Inuit and European populations spanning large contrasts in blood levels of persistent organochlorines. *Environ Health Perspect* **116**: 269-277.

BOUKENOUI K., et MAHBOUBI Y., 2011- Recherche des aspects de la toxicité orale d'une dose supplémentaire d'imidaclopride et effet de la *Vandula Stoecha* chez les rats adultes de souche wistar. *Thèse d'ingénieur en biologie. Université de Blida*.

BOUKERSI H., 2012- Recherche d'indice d'inflammation subchronique et chronique chez les rats femelles de souche wistar traitées à l'imidaclopride. *Thèse de Magistère. Ecole Normale Supérieure –Kouba-Alger*.

BOURG S. 2006- Abeille et insecticide phytosanitaire. *Thèse de doctorat. Ecole Nationale Vétérinaire. Paris*. 125p.

BOYD M.R., 1977- Evidence for the Clara cells as a site of cytochrome P-450 dependent mixed-function oxydase activity in lung. *Nature*. **269**: 713- 715.

BRAQUENIER J.B., 2009- Etude de la toxicité développementale d'insecticides organophosphorés: Analyse comportementale de la souris CD1. *Thèse de doctorat. Université de Liege. Pp. 1-10*

BUCKINGHAM S.D.; LAPIED B.; CORRONC H. L.; GROLLEAU F. and SATTELLE D. B., 1997- Imidacloprid actions on insect neuronal acetylcholine receptors. *Journal of Experimental Biology* **200**: 2685–2692.

CANTOREGGI S. et LUTZ W.K 1993– Covalent binding of styrene to DNA in rat and mouse. *Carcinogenesis*. **14**: 355-360.

CASTRANOVA V., PORTER D., MILLECCHIA L., MA J.Y., HUBBS A.F., TEASS A., 2002- Effect of inhaled amorphous silica in a rat model: time course of pulmonary reactions. *Mol. Cell. Biochem.* 234–236 (1-2) 177–184

Ceballos L., 2012- Evaluation toxicologique des pesticides. *Rev. Le champ de la terre*

CELIK I. and SUZEK H., 2008- The hematological effects of methyl parathion in rats. *J. Hazard. Mater.* **153**: 1117-1121.

CELIK I., YILMAZ Z. and TURKOGLU. V., 2009- Hematotoxic and hepatotoxic effects of Dichlorvos at sublethal dosages in rats. *Environ. Toxicol.* **24**: 128-132.

CEMEK M., BÜYÜKOKUROGLU M.E., BÜYÜKBEN A., 2010- Effects of vitamin E and selenium on tissue bio-element status in organophosphate toxicity of rats. *Pestic Biochem Physiol.* **98**: 9-18.

CHAMBERS J.E., CARR R. BOONE S., 2001- The metabolism of organophosphorus insecticides; *Handbook of Pesticide Toxicology Ed. II, Academic Press.* **2**: 919-27.

CHAO L.S. and CASIDA J.E., 1997- Interaction of imidacloprid metabolites and analogs with the nicotinic acetylcholine receptor of mouse brain in relation to toxicity. *Pestic. Biochem. Physiol.* **58**: 77-88.

CHEN J., CUI Y., SUN Y., LOU J., LIU Z., 2003- Experimental study on fibrogenic effect of fur dust on rat lung. *Environ. Health Prev. Med.* **7 (6)**: 292–294.

COLBORN T., 2006- A case for revisiting the safety of pesticides: a closer look at neurodevelopment. *Environ Health Perspect* **114**: 10-17.

COSTA L. G., ASCHNER M., VITALONE A., SYVERSEN T. and SOLDIN O.P. -2004. -Developmental neuropathology of environmental agents. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **44**: 87-110.

COX C. 2001- Insecticide Fact Sheet: Imidacloprid. *Journal of Pesticide Reform.* **21(1)**:15-21.

- CRAIG M.S., GUPTA R.C., CANDERY T.D. and BRITTON D.A., 2005-** Human exposure to imidacloprid from dogs treated with Advantage. *Toxicol Mech Method.* **15:** 287.
- DAMJANA D., MATEJA B., CORNELIS A.M., VAN G., VLADKA L., PRIMOZ Z., ANITA J. and POLLONCA T. 2008 -** Toxicity of imidacloprid to the terrestrial isopod *Porcellio Scaber* Isopoda Crustacea *Chemosphere.* **71:** 1326-1334.
- DANESHVAR N. ABERS S.KHANI A. KHATAEE A.R. 2007-** Study of imidacloprid removal from aqueous solution by absorption into granular activated carbon using a spectrophotometric analysis system. *Jornal of Hazardous Materials* **144:** 47-51.
- Deb U., Lomash V., Raghuvanshi S., Pant S.C. Vijayaraghavana R., 2012-** Effects of 28 days silicon dioxide aerosol exposure on respiratory parameters, blood biochemical variables and lung histopathology in rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology.* **23:** 977-984.
- DEMSIA G., VLASTOS D., GOUMENOU M., MALHOPOULOS D.P. 2007-** Assessment of the genotoxicity of imidacloprid and metalaxyl in cultured human lymphocytes and rat bone-marrow. *Mutation research.* **634:** 32-39.
- DIKER D., D. MARKOVITZ., M. ROTHMAN., U. SENDOVSKI- 2006.** Coma as a presenting sign of *Datura stramonium* seed tea poisoning. *European Journal of Internal Medicine.* **18:** 336-338.
- DJOUBER F., 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 en sciences Agronomiques. Université De Tizi-Ouzou.* Pp39.
- DOMINIQUE B., VICTOR O. and ROY R., 2005-** Use of toxicogenomics for identifying genetic markers of pulmonary oedema. *Toxicology and Applied Pharmacology.* **204:** 101-108.
- DONATH M.Y., GROSS DJ., GARASI F. and KAISSER N. 1999-** Hyperglycemia induced beta-cell apoptosis in pancreatic islets of *Psammomys oboeus* during development of diabetes. *Diabetes. Apr.* **48(4):** 738-748.
- DUFFUS J.H. and WORTH H G.J., 2006-** Fundamental toxicology. *The Royal Society of Chemistry.* Pp. 154-160
- DUGAN G.M., GUMBMAN M.R., FRIEDMAN M., 1989-** Toxicological evaluation of Jimson weed (*Datura stramonium*) seed. *FD Chem.Toxic.* **27 (8):** 501-510.
- EGLIN R.M., 2006-** Muscarinic receptor subtypes in neuronal and nonneuronal cholinergic function. *Auton Autacoid Pharmacol.* **26:** 219-233.

- EIBEN R.**, 1991- Pilot Rang- funding Study for a chronic Toxicity on Wistar Rats. Ninety Eight Day Feeding Study. Bayer AG. Fachbereich Toxicologie Wuppertal, Germany. Study No. 99672. DPR Vol. 51950-0012 ≠ 119477.
- ELBERT A., BECKER B., HARTWIG J. and ERDELEN C.**, 1991- Imidacloprid, a new systemic insecticide. *Pflanzenschutz –Nachr. Bayer.* **44**: 113-136.
- EL-GENDY K.S., ALY N.M., MAHMOUD F.H., KENAWY A. and EL-SEBAE A.K.**, 2010- The role of vitamin C as antioxidant in protection of oxidative stress induced by imidacloprid. *Food chem. Toxicol.* **48**: 215-221.
- EL-GOHARY M.S., SAFINAZ G.M., KHALIL R.H., EL-BANNA S. and SOLIMAN M.K.** 2005- Immunosuppressive effects of metrifonate on *Oreochromis Niloticus*. *Egy. J. Aquat. Res.* **31**: 1110-0354.
- ERIKSSON P., AHLBOM J. and FREDRIKSSON A.**, 1992- Exposure to DDT during a defined period in neonatal life induces permanent changes in brain muscarinic receptors and behaviour in adult mice. *Brain Res.* **582**: 277-281.
- FELSOT A.S. and RUPPERT JR.**, 2002- Imidacloprid residues in Willapa Bay (Washington State) water and sediment following application for control of burrowing shrimp. *J. Agric. Food Chem.* **50**: 4417-4423.
- FLORES C.F., FERNANDEZ P.M., VILAFRANCA S.M. and GONZALEZ P.E.**, 2006- Cosorption study of organic pollutants and dissolved organic matter in a soil. *Environmental Pollution.* **142**: 449-456.
- FOSSEN M.** 2006. -Environmental Fate of Imidacloprid. *California Dept of Pesticide Regulation. Pp. 10-15.*
- FOX G.A., KENNEDY S.W., NORSTROM R.J. and WIGFIELD D.C.**, 1988- Porphyria in herring gulls: a biochemical response to chemical contamination of Great Lakes food chains. *Environ. Toxicol. Chem.* **7**: 831.
- GABE M.**, 1968- Techniques histologiques, Masson et Cie, Pp.12-18.
- GALVIS G., LIPS K.S., and KUMMER W.**, 2006- Expression of nicotinic acetylcholine receptors on murine alveolar macrophages. *J Mol Neurosci.* **30**: 107-108.
- GATNE M.M., RAMESH M.M., BHOIR P.S. and DEORE M.D.**, 2006- Immunotoxicity studies of imidacloprid in rats. *Toxicol. Int.* **13**: 89-92.
- Gokce Uzun F., Demir F., Kalender S., Bas H., Kalender y.** 2010- Protective effect of catechin and quercetin on chlorpyrifos-induced lung toxicity in male rats. *Food and Chemical Toxicology* **48**: 1714–1720.

GOYAL S., SANDHU H. S. and BRAR R. S., 2010- Histopathological alterations induced after oral sub-acute thiacloprid toxicity in *Gallus domesticus*. *Vet. arhiv* **80**: 673-682.

GUEZ. D 2001 -Effets sublétaux de l'imidaclopride sur le comportement de l'abeille domestique (*Apis mellifera*). *Thèse de doctorat. Université Pierre Et Marie Curie*.

GUYTON A.C.1995 –Text book of Medical Physiology. 13rd edn., *W. B.Saunders Company. Philadelphia and London*. Pp. 230

GUYTON C.A., 1976- Text book of medical physiology. 8th Edition. Pp. 506-521.

HAIFAA A., 2007- Transfert d'un insecticide systémique, l'imidaclopride, chez la tomate : implication du transport phloémien. *Thèse de doctorat. L'institut national polytechnique de Toulouse*. Pp. 145.

HERRON, G. A., and L. J. WILSON. 2011 -Neonicotinoid resistance in *Aphis gossypii* Glover (Aphididae: Hemiptera) from Australian cotton. *Australian Journal of Entomology*. **50**: 93-98.

HFAÏEDH N., ALLAQUI M S., CROUTE F., SOLEILHAVOUP J.P, JAMMOUSSI K., FATMA MAKNI F., AYADI, KAMMOUN A., EL FEKI A., 2005- Interaction du jeûne intermittent sur les effets cytotoxiques rénaux du nickel chez le rat pubère, *C. R. Biologies*. **328**: 648–660

HOLSAPPLE M.P., 2003- Developmental immunotoxicity testing. *A review Toxicology*. **185**: 193-203.

HSU H.C. and MOUNTZ J.D., 2003- Origin of late-onset autoimmune disease. *Immunol. Allergy Clin. North. Am.* **23**: 65-82.

IHO S., TANAKA Y., TAKAUI R., KOBAYASHI C., MURAMATSU I. and IWASAKI H., 2003- Nicotine induces human neutrophils to produce IL-8 through the generation of peroxynitrite and subsequent activation of NF- κ B. *J Leukoc Biol.* **74**: 942-951.

INCHEM., 2001- Toxicological Evaluation: *Imidacloprid International Program on Chemical Safety*. **2**: 23.

JAKOBY W.B., ZIEGLERDM.,1990- The enzymes of detoxication. *J. Biol. Chem.* 29715-8.

JESCHKE, P., R. NAUEN, M. SCHINDLER, and A. ELBERT. 2010 - Overview of the status and global strategy for neonicotinoids (dagger). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **59**: 2897-2908.

KAGABU S., 1997- Chloronicotiny insecticides, discovery, application and future perspective. *Reviews in Toxicology* **1**: 75-129.

KAMMON A.M., BRAR R.S., BANGA H.S. and SODHI S., 2010- Patho-biochemical studies on hepatotoxicity and nephrotoxicity on exposure to chlorpyrifos and imidacloprid in layer chickens. *Veterinarski Arhiv.* **80:** 663-672.

KANTARI C., PEDERZOLI-RIBEIL M. and WITKO-SARSAT V. 2008- The role of neutrophils and monocytes in innate immunity. *Contrib. Microbiol.*, **15:** 118-146.

KARA N. 2008- Toxicité du *Datura stramonium* chez les animaux d'élevage: Enquête et expérimentation sur les animaux de laboratoire. *Thèse de Magistère. Université Farhet Abbas Sétif.* pp. 63.

KARABAY N.U. and OGUZ M.G., 2005- Cytogenetic and genotoxic effects of the insecticides, imidacloprid and methamidophos. *Genet. Mol. Res.* **4:** 653-662.

KEMP J.R and ROGERS R.E 2002- Imidacloprid (Admire®) residues levels following in future application in potato fields in Prince, Edward, Island and New Brunswick Kentville, *Nouvelle Ecosse.* 4p.

KOSTKA D., PALUT J., KOPEC S. and LUDWIKI J.K. 2000- Early hepatic changes in rats induced by permethrin in comparison with DDT. *Toxicologie.* **142:** 135-142.

KOYAMA S., SATO E., NOMURA H., KUBO K., NAGAI, S IZUMI T. 1997 – Type II pneumocytes elase chemoattractant activity for monocytes constitutively. *Am. J. Physiol.* **272 (5):** 830-837.

KROHN, J. and HELLPOINTNER, E., 2002 -Environmental fate of imidacloprid. *Pflanzenschutz Nachrichten Bayer. Special Edition.* Volume **55.**

KUMAR S., 2004- Occupational exposure associated with reproductive dysfunction. *J. Occup. Health.* **46 (1):** 1-19.

KUTHES A. J., CHURCH D.C. and DURYEE F. L., 1970- Toxicological effects of pesticides on rumen functions in vitro. *Agricul. Food Chem.* **18:** 430-433.

LALITA G, SHRUTA S.D., RAGHIB H. et MADHUMANJIRI G., 2012- A detailed study of developmental immunotoxicity of imidacloprid in Wistar rats. *Food and Chemecal Toxicology* **51:** 61-70.

LARAMEE S. 2007– L'abeille domestique comme bio-indicateur ecotoxicologique de pollution le cas de l'insecticide imidaclopride apicole de recherche et d'information. *Université catholique de Louvain.* 15p

Li K., Keeling B., Churg A., 1996- Mineral dusts cause elastin and collagen breakdown in the rat lung: a potential mechanism of dust-induced emphysema. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **153(2):** 644–649.

LIU M.Y. and CASIDA J. E., 1993- High affinity binding of [3H] imidacloprid in the insect acetylcholine receptor. *Pesticide Biochemistry and Physiology* **46**: 40–46.

LIU Z., WILLIAMSON M.S., LANSDELL S.J., DENHOLM I., HAN Z. and MILLAR N.S., 2005- A nicotinic acetylcholine receptor mutation conferring target-site resistance to imidacloprid in *Nilaparvata Lugens* (brown planthopper). *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **14**: 8420-8425.

LUKOWICZ-RATAJCZAK J. and KRECHNIAK J., 1992- Effects of deltamethrin on the immune system in mice. *Environ. Res.* **59**: 2 467-75.

MAHDEB N. 2002- Etudes toxiques du *Datura Stramonium L.* Effet de l'extrait des feuilles sur le cerveau et le foie des rats. *Thèse de Magistère. Université Farhat Abbas Sétif.* pp. 77-78.

MARIZVIKURU M., MASIKA P.J., 2012- Toxicological studies on the leaf extract of *Aloe ferox* Mill. (Aloaceae) *Scientific Research and Essay.* **7 (15)**: 1605-1613,

MATSUDA K., BUCKINGHAM S.D., KLIER D., RAUH J.J., MARTA G. and SATTELLE D.B., 2001- Néonicotinoides insecticides acting on insect nicotinic acetylcholine receptors, *Trends Pharmacol. Sci.* **22**: 573-580.

MOHANY M., BADR G., REFAAT I. AND EL-FEKI M., 2011- Immunological and histological effects of exposure to imidacloprid insecticide in male albino rats. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology.* **5 (18)**: 2106-2114.

MOHSSEN M., 2001 -Biochemical and histopathological changes in serum creatinine and kidney induced by inhalation of Thimet (Phorate) in male Swiss albino mouse, *Mus musculus.* *Environ Res.* **87**: (1) 6-31.

MONGI S., MAHFOUD M., AMEL B. and KAMEJAMOSSI A.E.F., 2011- Protective effects of vitamin C against haematological and biochemical toxicity induced by deltamethrin in male Wistar rats, *Ecotoxicology and Environmental Safety.* **74**: 1765-1769.

MORGAN D.L., MAHLER J.F., PRICE H.C. and ADKENS B. 1993- Styrene inhalation toxicity studies in mice. *Fund. Appl. Toxicol.*, **20** : 325-335.

MOROWATI. M., 1998- Inhalation toxicity studies of Thimet (Phorate) in the male swiss albino mouse, *Mus musculus*: II. Lung histopathology, pseudocholinesterase level and haematological studies. *Environmental Pollution* **103**: 309-315

MULLINS J.W., 1993- Imidacloprid. A new nitroguanidine insecticide. *Am. Chem. Soc.* Pp.183-198.

MULYE H.S ., 1996- Supplementary review of imidacloprid technical and the end-use product, Admire 240 F insecticide. *Environmental Evaluation Division, Pest Management Regulatory Agency, Health Canada.* **94:** 1705-1706.

MUNIZ J., MC CUALEY L., SCHERER J., LSAREV M., KOSHY M. and KOW Y.W., 2007- Biomarker of oxidative stress and DNA damage in agricultural workers: A Pilot study. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **227(1):** 97-107.

NAUEN R. and DENHOLM I., 2005- Resistance of insect pests to neonicotinoid insecticides: current status and future prospects. *Archives of insect biochemistry and physiology.* **58:** 15-200.

NEMMAR A., MELGHIT K. and ALI B.H., 2008- The acute proinflammatory and prothrombotic effects of pulmonary exposure to rutile TiO₂ nanorods in rats. *Exp. Biol. Med. (Maywood)* **233:** 610-619.

NEUMANN S., RAZEN M., HABERMEHL P., MEYER C.U., ZEPP F. and KIRKPATRICK C.J., 2007- The non-neuronal cholinergic system in peripheral blood cells: effects of nicotinic and muscarinic receptor antagonists on phagocytosis, respiratory burst and migration. *Life Sci.* **80:** 2361-2364.

NEUMANN S., RAZEN M., HABERMEHL P., MEYER C.U., ZEPP F. and KIRKPATRICK C.J., 2007- The non-neuronal cholinergic system in peripheral blood cells: effects of nicotinic and muscarinic receptor antagonists on phagocytosis, respiratory burst and migration. *Life Sci.* **80:** 2361-2364.

NEWLAND N. and RICHTER, A. 2008 - Agents associated with lung inflammation induce similar responses in NCI-H292 (lung epithelial cells). *Toxicology in vitro.* **Pp.7**

OLTMANN S. U., CHUNG K.F., WALTERS M., JOHN M. and MITCHELL J.A. 2005- Cigarette smoke induces IL-8 but inhibits eotaxin and RANTES release from airway smooth muscle. *Respiratory Research* **6:** 74.

OMIAMA S.E., 2004- Protective effect of vitamin C and glutathione against the histopathological changes induced by imidacloprid in the liver and testis of Japanese quail. *Egy. J. Hosp. Med.,* **16:** 39-54.

PACKARD R.R., and LIBBY P., 2008- Inflammation in atherosclerosis: from vascular biology to biomarker discovery and risk prediction. *Clin. Chem.* **54:** 24-38.

PALANI V., SENTHIKUMARAN R.K. and GOVINDAWAMY S., 1999- Biochemical evaluation of antitumor effect of Muthu marunthu (a herbal formulation) on experimental fibrosarcoma in rats. *J. Ethnopharmacol.* **65:** 257-265.

PAOLINI M., SAPANE A. and GONZALEZ F.J., 2004- Parkinson's disease, pesticides and individual vulnerability. *Trends pharmacol. Sci.* **25 :**124-129.

Paul B.N., Prakash A., Kumar S., Yadav A.K., Mani U., Saxena A.K., Sahu A.P., Lal K., Dutta K.K., 2002- Silica induced early fibrogenic reaction in lung of mice ameliorated by *Nyctanthes arbortristis* extract. *Biomed. Environ. Sci.* **15 (3):** 215–222.

PROENÇA P., TEIXEIRA H., CASTANHEIRAF., PINHEIRO J., MONSANTO PV, MARQUES EP., VIEIRA DN., 2005- Two fatal intoxication cases with imidacloprid: LC/MS analysis. *Forensic. Sci. Int.* **153:** 75-80.

quercetin on chlorpyrifos-induced lung toxicity in male rats. *Food Chem Toxicol.* **48:** 1714-20.

RADHIKA P. and KALI WAL B.B., 2001- Monocrotophos induced dysfunction on estrous cycle and follicular development in mice. *Ind. Health.* **40:** 237-244.

RIAZ M., 2011- Bases moléculaires de la résistance métabolique au néonicotinoïde imidaclopride chez le moustique *Aedes aegypti*. *Thèse de doctorat. Université de Grenoble Biodiv. Ecol. Environ.* Pp. 8-19.

RIAZ M., POUPARDINA R., REYNAUDA S., STRODEB C., RANSONB H. and DAVIDA J-P., 2009 -Impact of glyphosate and benzo[a]pyrene on the tolerance of mosquito larvae to chemical insecticides. Role of detoxification genes in response to xenobiotics **93:** 61–69.

SAADI L., MATALLAH R., YAHIA M., AOUFA F., 2011- Recherche des signes de toxicité d'un insecticide néonicotinoïde au niveau rénale chez des rats adultes. *Département de biologie, Université de BLIDA, Laboratoire de physiologie, Ecole Normale Supérieure de Kouba-Alger.*

SABA A.B; OLA-DAVIES O; OYEYEMI M.O and AJALA O.; 2000– The toxic effects of prolonged administration of chloramphenicol on the liver and kidney of rats. *African Journal of Biomedical Research.* **3:** (3) 133-137.

SALAMEH P.R., BALDI I, RAHERISON C., ABI SALEH B. and SALAMON R., 2003- Respiratory symptoms in children and exposure to pesticides. *Eur.Respir. J.* **22:** 507-512.

SALONI G., HRPAL S.S and RAJINDER S.B., 2010- Histopathological alterations induced after oral sub-acute thiacloprid toxicity in *gallus domesticus*, *Veterinarski Arhiv* **80(5):** 673-682.

SAMAMA M.M., ELALAMY I., CONARD J., ACHKAR A., HORELLOU MH., 2004- Hémorragies et thromboses du diagnostic au traitement. *Masson, paris.* **60:**15-16.

SANBORN M. D., OLE C. D., ABELSOHN A. and WEIR E., 2002- Identifying and managing adverse environmental health effects of pesticides. *Can. Med. Assoc. J.* **166:** 1431-1436.

SHEN A.S., HASLETT C., FELDSIEN D.C., HENSON P.M. and CHERNIACK R.M., 1988- The intensity of chronic lung inflammation and fibrosis after bleomycin is directly related to the severity of acute injury. *Am. Rev. Respir. Dis.* **137:** 564- 571.

SINGH M., SANDHIR R. and KIRAN R., 2006- Erythrocyte antioxidant enzymes in toxicological evaluation of commonly used organophosphate pesticides. *Indian J Exp. Biol.* **44:** 580- 583.

SNEDEKER S. M., 2001 -Pesticides and breast cancer risk: a review of DDT, DDE, and dieldrin. *Environ Health Perspect* **109 Suppl. 1:** 35-47.

SOKAR Z., GADHI C.A., BENHARREF A. and JANA M. 2003- Toxic effect of *Herniaria cinerea* DC on the stomach, intestine, lung, and kidney of rats. *Journal of Ethnopharmacology.* **88:** 149–153

STEPHAN B., KYLE L. and YONG X., 1997- Role of oxidative stress in the mechanism of dieldrin's hepatotoxicity. *Ann. Clin. Lab. Sci.* **27:** 196–208.

STRUGER, FLETCHER J., MARTOS T. P., RIPLEY B., and GRIS G., 2002- Pesticide concentrations in the Don and Humber River Watersheds (1998-2000). *Environment Canada, Ontario Ministry of the Environment, and City of Toronto.* Pp 21.

SUCHAIL S., GUEZ D., BELZUNES L.P. 2003- Discrepancy between acute and chronic toxicity induced by imidacloprid and its metabolites in *Apis Mellifera*. *Environ. Toxicol. Chem.* **20:**2482-2486.

SUDAKIN D.L. 2005- Occupational exposure to aluminium phosphide and phosphine gas. A suspected case report and review of the literature. *Hum. Exp. Toxicol.* **24:** 27-33.

SUDHEER P.S., HALL J.E., DONEV R., READ G., ROWBOTTOM A., and WILLIAMS P.E., 2006- Nicotinic acetylcholine receptors on basophils and mastocyte cells. *Anaesthesia.* **61:** 1170-1174.

SUDHEER P.S., HALL J.E., DONEV R., READ G., ROWBOTTOM A., and WILLIAMS P.E., 2006- Nicotinic acetylcholine receptors on basophils and mast cells. *Anaesthesia.* **61:** 1170-1174.

TAMAGAWA E., BAI N., MORIMOTO K., GRAY C., MUI T., YATERA K., ZHANG X., XING L., LI Y., LAHER I., SUN D.D., MAN S.F., and VAN EEDEN S.F., 2008- Particulate matter exposure induces persistent lung inflammation and endothelial dysfunction. *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol.* **295:** L79- L85.

THANY S.H., 2010- Neonicotinoid insecticides historical evolution and resistance mechanisms. *The Edinburgh Centre for Toxicology.* Pp: 75-83.

TOMIZAWA M. and CASIDA J. E., 2003- Selective toxicity of neonicotinoids attributable to specificity of insect and mammalian nicotinic receptors. *Annual Review of Entomology*. **48**: 339-64.

TOMIZAWA M. and CASIDA J. E., 2005- Neonicotinoid insecticide toxicology: mechanisms of selective action. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*. **45**: 247-68.

TOMIZAWA M., 2000- Insect nicotinic acetylcholine receptors: Mode of action of insecticide and functional architecture of thereceptor. *Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology* **44**: 1–15.

TUZMEN N., CANDAN N., KAYA E. and DEMIRYAS N., 2008- Biochemical effects of chlorpyrifos and deltamethrin on altered antioxidant defense mechanisms and lipid peroxidation in rat liver. *Cell Biochem. Funct.* **26**: 119-124.

UZUN F.G.,DEMIR F., KALENDER S., 2010-Protective effect of catechin and

WALKER C.H., HOPKIN S.P., SIBLY R.M. and PEAKALL D.B. 1996- Principles of Ecotoxicology. *Taylor and Francis*: London. P.p. 175-194.

WANG H., YU M., AMELLA C.A., TANOVIC M. and SUSARLA S., 2003- Nicotinic acetylcholine receptor $\alpha 7$ subunit is an essential regulator of inflammation. *Nature* **421**: 384-388.

WESSLER I., KIRKPATRICK C.J. and RACKE K., 1998- Non-neuronal acetylcholine, a locally acting molecule, widely distributed in biological systems: expression and function in humans. *Pharmacol Ther.* **77**: 59-79.

WILSON P.W., 2008- Evidence of systemic inflammation and estimation of coronary artery disease risk : a population perspective. *Am.J.Med.* **121**: S15-S21.

WITSCHI H.P. and LAST J.O., Toxic responses of the respiratory system. In: **KLASSEN C.D., 1991-** Cassarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of poison. *Mc Graw Hill*, New York. Pp. 515-534.

YAMAMOTO I., YABUTA G., TOMIZAWA M., SAITO T., MIYAMOTO T. and KAGABU. S., 1995- Molecular mechanism for selective toxicity of nicotinoids and neonicotinoids. *Pesticides Science.* **20**: 33-40.

YANG E.C., CHUANG Y.C., CHEN Y.L., and CHANG L.H., 2008 -Abnormal foraging behavior induced by sublethal dosage of imidacloprid in the honey bee (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Economic Entomology* **101 (6)**: 1743-1748.

YOUSEF M.I., EL-DEMERDASH F.M., KAMEL K.I. and AL-SALHEN K.S., 2003- Changes in some hematological and biochemical indices of rabbits induced bu insoflavones and cypermethrin. *Toxicology.* **189**: 223-234.

YU F., WANG Z., JU B., WANG Y., WANG J. and BAI D., 2008 -Apoptotic effect of organophosphorus insecticide chlorpyrifos on mouse retina in vivo via oxidative stress and protection of combination of vitamin C and E. *Exp. Toxicol. Pathol.* **59**: 415–423.

ZAMA D., MERAIHI A., TEBIBEL S., BENAÏSSA W., BENAYACHE F., BENAYACHE S. and VLITINCK A.J., 2007 -Chlorpyrifos induced oxidative stress and tissue damage in the liver, kidney, brain and fetus in pregnant rats: the protective role of the butanolic extract of *Paronychia argentea* L. *Indian Pharmacol.* **39**:145-150.

ZHANG Y., ZHONG Y., LUO Y. and KONG Z. M. 2000 -Genotoxicity of two novel pesticides for the earthworm, *Eisenia fetida*. *Environ. Pollut.* **108**: 271-278.

ZHAO M.Q., AMIR, M.K., RICE, W.R., ENELÖW R.I. 2001 -Type II pneumocyte CD8 T- cell interaction relationship between target cell cytotoxicity and activation. *Am. J. Respir Cell. Mol Biol.* **25(3)**: 362-369.

ZWART R., OORTGIESEN, M. and VIJVERBERG H.P.M., 1994- Nitromethylene heterocycles: selective agonists of nicotinic receptors on locust neurons compared to mouse *NE-115* and *BC3H1* cells. *Pestic. Biochem. Physiol.* **48**: 202–213.

PDF Create
www.nuance.com

I. Matériel

I.1. Appareillage

Balance électrique.
Balance de précision.
Centrifugeuse.
Bain Marie
Etuve.
Distributeur de paraffine de type « Leica ».
Platine refroidissante de type « Leica ».
Automate Cobas Integra 400 plus.
Automate Sysmex SF- 3000
Appareil de circulation de type « Leica ».
Microtome de type « Leica ».
Microscope optique de type « Leica ».
Appareil photos numérique.

I.2. Petit matériel

Les cages en plastiques.
Mangeoires et bouches d'eau.
Seringue et aiguille de gavage.
La trousse de dissection.
Entonnoir.
Eppovette graduée
Les cassettes en plastiques.
Les moules en métal (Port-cassettes).
Les lames types « SLIDES »
Les port- lames.
Les lamelles
Les boites d'alcool et de coloration.
Tubes de prélèvement

I.3. Réactifs

L'insecticide Imidaclopride.

L'anti coagulant EDTA.

Liquide de fixation « Formol commercialisé à 35% ».

Alcool (100%, 90%, 70%).

Xylène.

La gélatine.

Les colorants.

Liquide de montage (Eukit).

L'eau acidifiée.

L'eau distillée

Tableau III : Composition de l'alimentation

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

II. Fiches techniques :

II.1. Fiche technique N°1 : Fixation

Fixateur : formol à 10%

Formule chimique : CH₂O

Poids moléculaire : M= 30,03

Composés :

Eau distillé.....	99 ml
Chlorure de sodium.....	85 à 0,90g.
Formol concentré.....	10 ml

II.2. Fiche technique N°2 : Collage des rubans

Gélatine

Gélatine en poudre	4 g
Eau distillée	100 ml

II.3. Fiche technique N°3: Coloration

Les étapes des deux colorations réalisées sans notre étude sont les suivantes

a. Coloration de Trichrome de Masson :

- Un bain d'hématoxyline de Groat.....3 minutes.
- Rinçage à l'eau courante.
- Un bain de Fuchine Ponceau.....30 secondes.
- Rinçage à l'eau acidifiée 1%.
- Un bain d'orange G Molybidique.....30 secondes.
- Rinçage à l'eau acidifiée 1%.
- Un bain de Vert lumière30 secondes.
- Rinçage à l'eau acidifiée 1%.

b- Coloration de l'hématoxyline éosine (HE)

- Deux bains d'hématoxyline 2 minutes chacun.
- Rinçage à l'eau courante.
- Un bain d'acide chlorhydrique2 minutes.
- Rinçage à l'eau courante.
- Un bain d'ammoniac 2 minutes.
- Rinçage à l'eau courante.
- Un bain d'éosine30 secondes.
- Rinçage rapide.

Tableau IV: Dilution des alcools (d'après la table de GAU-LUSSAC).Quantité d'eau en cm³ à ajouter à 100 cm³ d'alcool à diluer

Concentration finale	Concentration initiale												
	100	99	98	97	96	95	90	85	80	75	70	65	60
95	6,5	5,15	3,83	2,53	1,2								
90	13,3	11,8	10,4	9,0	7,7	6,41							
85	20,5	19,1	17,6	16,2	14,7	13,2	11,6						
80	28,6	27,1	25,5	24	22,5	21	13,8	6,83					
75	37,6	35,7	34,1	32,7	31,1	29,5	21,9	14,5	7,2				
70	47,8	46	44,3	43,5	40,9	39,2	31,1	23,1	15,4	7,64			
65	59,1	57,5	55,6	53,8	52	50,2	41,5	33	24,7	16,4	8,15		
60	71,8	70,8	68,8	65,9	64,9	63	53,7	44,5	35,4	26,5	17,6	8,76	
55	88,6	86,4	84,3	82,2	80,1	78	67,9	57,9	48,1	38,3	28,6	19	9,47
50	107	105	103	100	98,2	95,9	84,7	73,9	63	52,4	41,7	31,3	20,5
45	130	128	125	123	120	118	105	93,3	81,4	69,5	57,8	46,1	34,5
40	159	156	153	150	147	144	131	117	104	90,8	77,6	64,5	51,4
35	195	191	188	185	182	179	163	148	133	118	103	87,9	73,1
30	242	239	235	231	228	224	206	189	171	154	136	119	102
25	309	305	300	296	292	287	266	245	224	204	183	162	142
20	409	403	398	392	387	382	356	330	304	278	253	227	201
15	575	567	561	554	547	540	505	471	437	403	369	335	301
10	907	897	886	876	865	855	805	754	703	652	602	551	501

III. Calcul statistique

III.1. La moyenne

Soit $x_1, x_2, x_3, \dots, x_n$ une suite finie de nombre.

La moyenne arithmétique est le rapport :

$$= \frac{x_1 + x_2 + x_3 + \dots + x_n}{n} = \frac{\sum x_i}{n}$$

\bar{x} : La moyenne arithmétique

n : L'effectif

x_i : Caractère quantitatif

III.2. L'écart type

L'écart type est la racine carrée de la variance.

σ : L'écart type

s^2 : La variance

III.3. La variance

La variance d'une série des valeurs du caractère est la valeur moyenne arithmétique des carrés des écarts des ces valeurs par à leur moyenne arithmétique.

$$= \frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n}$$

s^2 : La variance

n : L'effectif

\bar{x} : La moyenne arithmétique

x_i : Caractère quantitatif

III.4. Test d'homogénéité de deux échantillons

* n < 30: Loi de Student

Hypothèse nulle (Ho): Les deux échantillons sont semblables; le traitement n'a pas d'effet.

On va calculer "la variance commune estimée" :

$$= \frac{\frac{\sum x_1^2}{n_1} + \frac{\sum x_2^2}{n_2}}{n_1 + n_2}$$

En suite **écart réduit** :

$$= \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{s^2}{n_1} + \frac{s^2}{n_2}}}$$

: L'écart réduit.

: La moyenne arithmétique de l'échantillon 1

: La moyenne arithmétique de l'échantillon 2

: La variance commune estimée

: Nombre d'échantillon 1

: Nombre d'échantillon 2

On compare ce () calculé avec la valeur de % (= + - 2) théorique $t_{\alpha/2}$ de la table de Student.

* Si $t_{\text{calculé}} < t_{\alpha/2}$: L'hypothèse nulle est retenue; la différence n'est pas significative, le traitement n'a pas d'effet.

* Si $t_{\text{calculé}} > t_{\alpha/2}$: L'hypothèse nulle est rejetée; la différence est significative donc le traitement a un effet.

Tableau V : Poids corporels et pulmonaires des rats femelles témoins et traitées par 1/85 de DL 50 d'imidaclopride

Rats	Poids corporels au début de l'exp (g)	Poids corporels à la fin de l'exp (g)	Poids absolus des poumons (mg)	Poids relatifs des poumons (mg/100g de PC)
témoins	113,22± 23,40367	175,534± ** 23.1143	1,4896± 0,35019	0,8518394± 0,1563991
traités	114,99 ± 10.6928	173,387± *** 22.0725	1,6196± 0,46638	0,923121± 0,169555

PC : Poids corporel, exp : expérimentation

** Très significatif par rapport au début de l'expérimentation.

*** Hautement significatif par rapport au début de l'expérimentation.

Tableau VI : Les valeurs hématologiques moyennes des rats femelles témoins et traitées par la dose de 1/85 de DL 50 d'imidaclopride.

Rats	CRP (mg/l)	FNS				
		GB (×10 ⁸ /mm ³)	GR (×10 ⁶ /mm ³)	HB (g/100ml)	HT (%)	PLT (×10 ³ /mm ³)
Témoins	52,39 ± 3.90	6.55 ± 2.77	6.70 ± 0.34	12.05 ± 0.92	37.68 ± 2.29	931.75 ± 57.46
Traitées	52.78 ± 2.52	10 ± 3.01	6.35 ± 0.75	11.41 ± 1.70	35.44 ± 4.99	949.43 ± 175.20

CRP : Protéine réactive-C ; GB : Globule blanc ; GR : Globule rouge ;

HG: hémoglobine; HC: hématocrite; PLT: Plaquette

Tableau VII : Poids corporels et pulmonaires des rats femelles traitées par 1/85 DL50 d'imidaclopride.

Rats	Poids corporels au début de l'exp (g)	Poids corporels à la fin de l'exp (g)	Poids absolus des poumons (mg)	Poids relatifs des poumons (mg/100g de PC)
1	110	193.09	2.431	1,258998
2	117.6	175.62	1.421	0,809133
3	107	178.40	1.376	0,771300
4	104.7	180.33	1.893	1,049742
5	137.8	209.07	1.910	0,913570
6	108.2	144.97	1.057	0,729116
7	124.5	180.26	2.029	1,125596
8	115.4	173.82	1.718	0,988379
39	103.5	166.70	1.304	0,782244
10	121.2	131.61	1.057	0,803130
Moyenne	114,99	173,387	1,6196	0,923121
Ecart type	10.6928	22.0725	0,46638	0,169555

PC: Poids corporel, exp: expérimentation

Tableau VIII: Poids corporels et pulmonaires des rats femelles témoins.

Rats	Poids corporels au début de l'exp (g)	Poids corporels à la fin de l'exp (g)	Poids absolus des poumons (mg)	Poids relatifs des poumons (mg/100g de PC)
1	120.20	176.32	1.717	0,97379764
2	124.60	187.15	1.910	1,02057173
3	142.40	206.18	1.281	0,62130178
4	93.40	162.25	1.420	0,8751926
5	85.5	145.77	1.120	0,76833368
Moyenne	113,22	175,534	1,4896	0,85183949
Ecart type	23.4036	23.1143	0,35019	0,15639919

PC : Poids corporel, exp : expérimentation

Tableau IX: Les valeurs hématologiques moyennes des rats femelles traitées par 1/85 de DL 50 d'imidaclopride.

Rats	CRP (mg/ml)	FNS				
		GB ($\times 10^8/\text{mm}^3$)	GR ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	HB (g/100ml)	HT (%)	PLT ($\times 10^3/\text{mm}^3$)
1	52,74	5,8	6,56	11,7	36,4	975
2	56,25	/	/	/	/	/
3	53,31	/	/	/	/	/
4	48,5	9,3	7,02	13,7	41,4	877
5	53,01	7,6	7,26	12,8	39,8	1041
6	/	13,1	5,27	9,7	29,4	784
7	50,88	13,9	6,19	10,7	33,1	1101
8	54,75	8,5	6,63	12,3	38,9	690
9	/	11,8	5,49	9	29,1	1178
Moyenne	52,78	10	6,35	11,41	35,44	949,43
Ecart type	2,52	3,01	0,75	1,70	4,99	175,20

CRP : Protéine réactive-C ; GB : Globule blanc ; GR : Globule rouge ;

HG : hémoglobine; HC : hématocrite; PLT: Plaquette

Tableau X : Les valeurs hématologiques moyennes des rats femelles témoins

Rats	CRP (mg/ml)	FNS				
		GB ($\times 10^8/\text{mm}^3$)	GR ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	HB (g/100ml)	HT (%)	PLT ($\times 10^3/\text{mm}^3$)
1	54,59	5,4	6,73	12,3	38,5	920
2	56,68	5	6,64	13	38,5	942
3	49,96	10,7	6,31	10,8	34,3	1002
4	48,33	5,1	7,13	12,1	39,4	863
Moyenne	52,39	6,55	6,70	12,05	37,68	931,75
Ecart type	3,90	2,77	0,34	0,92	2,29	57,46

CRP : Protéine réactive-C ; GB : Globule blanc ; GR : Globule rouge ;

HG : hémoglobine; HC : hématocrite; PLT: Plaquette

Tableau XI : Comparaison entre les poids corporels et pulmonaires des rats témoins et traités par 1/85 de DL 50 d'IMI et leurs signification statistique

Paramètres	Calculs	Rats témoins	Rats traités
Poids corporel au début de l'exp (g)	Moy±ecart type	113,22 ± 23,4036	114,99 ± 10,6928
	Ecart réduit	t = 0.18	
	% de risque (p)	ddl= 13	p= 2,16
Signification	La différence	Non significative	
Poids corporel à la fin de l'exp (g)	Moy±ecart type	175,534± 23.114	173,387 ±22.0725
	Ecart réduit	t = 0.16	
	% de risque (p)	ddl= 13	p= 2,16
Signification	La différence	Non significative	
Poids absolus des poumons (mg)	Moy±ecart type	1,4896±0,35019	1,6196± 0,46638
	Ecart réduit	t = 1.77	
	% de risque (p)	ddl= 13	p= 2,16
Signification	La différence	Non significative	
Poids relatifs des poumons (mg/100g de PC)	Moy±ecart type	0,8518394±0,1563991	0,923121±0,169555
	Ecart réduit	t = 0.72	
	% de risque (p)	ddl= 13	p= 2,16
Signification	La différence	Non significative	

Paramètres	Calculs	Poids corporel au début de l'exp (g)	Poids corporel à la fin de l'exp (g)
Rats témoins	Moy±ecart type	113,22 ± 23,403	175,534± 23.114
	Ecart réduit	t = 3.788	
	% de risque (p)	ddl= 8	p= 2,30
Signification	La différence	Très significative	
Rats traités	Moy±ecart type	114,99 ± 10,6928	173,387 ±22.0725
	Ecart réduit	t = 7.143	
	% de risque (p)	ddl= 18	p= 2,10
Signification	La différence	Hautement significative	

PC : Poids corporel, **exp** : expérimentation

Tableau XII : Comparaison entre les paramètres hématologiques des rats femelles témoins et traités par 1/85 de DL 50 d'IMI et leurs significations statistiques

Paramètres	Calculs	Rats témoins	Rats traités
Protéine réactive-C (mg/l)	Moy ± écart type	52,39 ± 3,90	52,78 ± 2,52
	Ecart réduit (t)	t = 0,1819	
	% de risque (p)	ddl= 9	p= 2.26
Signification	La différence	Non significative	
Globules blanc (×10⁸/mm³)	Moy ± écart type	6.55 ± 2.77	10 ± 3.01
	Ecart réduit	t =1, 70	
	% de risque (p)	ddl = 9	p = 2,26
Signification	La différence	Non significative	
Plaquettes (×10³/mm³)	Moy ± écart type	931.75 ± 57.46	949.43 ± 175.20
	Ecart réduit	t= 0, 177	
	% risque (p)	ddl = 9	p = 2,26
Signification	La différence	Non significative	
Globules rouges (×10⁶/mm³)	Moy ± écart type	6.70 ± 0.34	6.35 ± 0.75
	Ecart réduit	t= 0, 798	
	% risque (p)	ddl = 9	p = 2,26
Signification	La différence	Non significative	
Hémoglobine (g/100ml)	Moy ± écart type	12.05 ± 0.92	11.41 ± 1.70
	Ecart réduit	t= 0, 630	
	% risque (p)	ddl = 9	p = 2,26
Signification	La différence	Non significative	
Hématocrite (%)	Moy ± écart type	37.68 ± 2.29	35.44 ± 4.99
	Ecart réduit	t= 0, 767	
	% risque (p)	ddl = 9	p = 2,26
Signification	La différence	Non significative	

Tableau XIII: Table de Student.

$\alpha\%$ ddl	20%	10%	5%	2%	1%	0,10%
1	3,078	6,314	12,706	31,821	63,657	636,619
2	1,886	2,92	4,303	6,965	9,925	31,598
3	1,638	2,353	3,182	4,541	5,841	12,924
4	1,533	2,132	2,776	3,747	4,604	8,61
5	1,476	2,015	2,571	3,365	4,032	6,869
6	1,44	1,943	2,447	3,143	3,707	5,959
7	1,415	1,895	2,365	2,998	3,499	5,408
8	1,397	1,86	2,306	2,896	3,355	5,041
9	1,383	1,833	2,262	2,821	3,25	4,781
10	1,372	1,812	2,228	2,764	3,169	4,587
11	1,363	1,796	2,201	2,718	3,106	4,437
12	1,356	1,782	2,179	2,681	3,055	4,318
13	1,35	1,771	2,16	2,65	3,012	4,221
14	1,345	1,761	2,145	2,624	2,977	4,14
15	1,341	1,753	2,131	2,602	2,947	4,073
16	1,337	1,746	2,12	2,583	2,921	4,015
17	1,333	1,74	2,11	2,567	2,898	3,965
18	1,33	1,734	2,101	2,552	2,878	3,922
19	1,328	1,729	2,093	2,539	2,861	3,883
20	1,325	1,725	2,086	2,528	2,845	3,85
21	1,323	1,721	2,08	2,518	2,831	3,819
22	1,321	1,717	2,074	2,508	2,819	3,792
23	1,319	1,714	2,069	2,5	2,807	3,767
24	1,318	1,711	2,064	2,492	2,797	3,745
25	1,316	1,708	2,06	2,485	2,787	3,725
26	1,315	1,706	2,056	2,479	2,779	3,707
27	1,314	1,703	2,052	2,473	2,771	3,69
28	1,313	1,701	2,048	2,467	2,763	3,674
29	1,311	1,699	2,045	2,462	2,756	3,659
30	1,31	1,697	2,042	2,457	2,75	3,646
∞	1,282	1,645	1,96	2,326	2,576	3,291