

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieure et de la Recherche scientifique
Université SAAD DAHLEB de BLIDA
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département Biologie et Physiologie Cellulaire



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du Diplôme de Master en Biologie

Option : Biochimie

Thème

**Recherche de l'inflammation cérébrale chez les
rats Wistar femelles intoxiquées avec un
insecticide néonicotinoïde**

Présenté par :

Melle **MEGUELLATI Souhir**

Melle **BAIRI Yasmine**

Melle **BOURZA Amina**

Soutenues le : **21/09/2020**

Devant le jury composé de :

Mme LOUERRAD Y.

MCB

UB1

Présidente.

Mme MOKRANE A.

MCB

UB1

Examinatrice.

Mme KESSACI-ARKAM F.

Assistante

UB1

Promotrice.

2019/2020

REMERCIEMENTS

Tout d'abord, nous remercions Dieu, le tout puissant, de nous avoir donné le courage, La volonté, la santé afin d'accomplir ce travail.

*Nous tenons à remercier très chaleureusement notre promotrice **Dr KESSACI-ARKAME F.**, pour son aide, ses conseils, son orientation et sa grande gentillesse.*

*Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements à **M^{me} LOUERRAD Y.**, Maitre de conférences d'avoir fait l'honneur de présider le jury de ce travail. Ainsi qu'à **M^{me} MOKRANE A.**, Maitre de conférences d'avoir accepté l'examen de notre travail.*

*Notre profond respect s'adresse également à l'ensemble des membres de laboratoire d'anatomopathologie à l'hôpital **PARNEY** d'**ALGER** qui nous ont aidés à bien faire notre stage pratique.*

Nos profonds remerciements vont à tous les enseignants du département, ainsi que 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 notre travail.

Dédicaces

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

À l'hommage de mon très cher père. Aujourd'hui, en arrivant à ce niveau, j'espère avoir atteint le seuil de tes espérances. Tu garderas une grande place dans ma mémoire et mon cœur. Repose-toi en paix, que Dieu t'accueille dans son vaste Paradis.

À ma très chère mère. Qui a consacré sa vie pour mon éducation et ma réussite. Elle m'a toujours encouragé. C'est la meilleure mère dans le monde pour sa patience, sacrifices et son soutien tout au long de mes études. Que dieu la garde et la protège pour nous.

À mes chère(s) sœurs et frères. Merci pour leur présence, soutien et leurs encouragements.

À mes adorables neveux bien aimés.

À mes chers amis. Avec qui j'ai partagé des moments de joie et de bonheur.

À tous mes enseignants qui ont contribué à ma formation.

Et

À toute ma famille.

Yasmine

Dédicaces

J'ai le grand plaisir de dédier ce modeste travail à mes parents pour l'éducation qu'ils m'ont prodiguée et pour leurs soutiens, leurs confiances ainsi que leurs prières tout au long de mes études. Sans eux je ne serais jamais arrivé à ce stade de ma vie, que dieu vous accorde santé, longue vie et vous garde à mes coté.

À mes chère(s) sœurs et frères. Merci pour leur présence, soutien et leurs encouragements.

À mes chers amis. Avec qui j'ai partagé des moments de joie et de bonheur.

À tous mes enseignants qui ont contribué à ma formation.

Et

À toute ma famille.

Souhir

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à mes très chers parents source de vie, d'Amour et d'affection, ma mère ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles.

Mon père tu as toujours été à mes côtés pour me soutenir et m'encourager que ce travail traduit ma gratitude et mon affection.

À ma sœur qui m'avez toujours soutenu et m'encourager durant ces années d'étude et mes petites nièces, mon cher frère.

À mon oncle Hamid qui m'a dirigé et orienter vers la bonne voie.

À ma tante Malika et mes cousines Anissa et ikram et leurs enfants. Tous mes amis tout particulièrement souhir.

À tout ma famille BOURZA et BENAOUDA

Sans oublier tous les professeurs

Amina

RESUME

La neurotoxicité de l'imidaclopride chez les espèces non cibles fait l'objet de plusieurs travaux. Notre présent travail a comme objectif la recherche des altérations tissulaires au niveau du cortex cérébral, cervelet et l'hippocampe des rats femelles de souche Wistar traitées pendant 29 jours a raison de 1/10 et 1/80 DL50 de MIDA ®. 15 rats femelles Wistar sont répartis en trois groupes (n=5), le lot témoin administré de l'eau distillé. Deux lots traités par l'imidaclopride à 1/10 DL50 (42,4 mg/kg/jr) et 1/80 DL50 (5,3 mg/kg/jr) par gavage par voie orale. Nous avons suivis le comportement et la croissance pondérale. Après 29 jours, les rats sont sacrifiés. Le cerveau et cervelet sont prélevés et destinés à l'étude histopathologique.

Nous avons remarqué la diminution de l'activité et de la voracité chez les rats intoxiqués. Le suivie de l'évolution pondérale des rats témoins et traités par l'imidaclopride montre des changements statistiques hautement significatifs du poids corporel par rapport au début de l'expérimentation cependant l'augmentation relative du poids corporel révèle des différences non significatives. En comparaison avec le témoin, l'examen histologique révèle de multiples lésions neurodégénératives qui s'accroissent avec la forte dose 1/10 DL50 de MIDA ® (42,4 mg/kg/jr). Comme, la présence d'halo périvasculaire, l'atypie et dégénérescence de quelques neurones du cortex cérébral. La présence d'œdème, d'hémorragie et de congestion sanguine au niveau de l'hippocampe et du cervelet. L'élargissement et la désorganisation de la couche de Purkinje avec nécrose de quelques neurones.

L'imidaclopride peut être neurotoxique à l'échelle cellulaire et moléculaire et peut affecter le fonctionnement du système nerveux central.

Mots clés : neurotoxicité, imidaclopride, rats Wistar femelles, cortex cérébral, cervelet, hippocampe.

ABSTRACT

The imidacloprid's neurotoxicity in non-target species is the subject of several studies. In this context, our present work aims to search for tissue alterations in the cerebral cortex, cerebellum and hippocampus of female Wistar rats treated for 29 days at 1/10 and 1/80 LD50 of MIDA ®.15 female Wistar rats are divided into three groups (n = 5), the control lot administered with distilled water. Two batches treated with imidacloprid at 1/10 LD50 (42.4 mg / kg / day) and 1/80 LD50 (5.3 mg / kg / day) by oral gavage. We followed behavior and weight growth. After 29 days, the rats are sacrificed. The brain and cerebellum are intended for histopathological study.

We noticed the decrease in activity and voracity in the intoxicated rats. The relative increase in body weight reveals non-significant differences. Monitoring of weight changes in control and imidacloprid-treated rats shows highly significant statistical changes in body weight compared to the start of the experiment however, the relative increase in body weight reveals non-significant differences. Compared to the control, histological examination revealed multiple neurodegenerative lesions that increased with the high dose 1/10 LD50 (42.4 mg / kg / day). Namely, presence of perivascular halo, atypia and degeneration of some neurons in the cerebral cortex. The presence of edema, hemorrhage and blood congestion in the hippocampus and cerebellum. Enlargement and disorganization of the Purkinje layer with necrosis of some neurons.

Imidacloprid can be neurotoxic at the cellular and molecular level and can affect the nervous central system function.

Key words: neurotoxicity, imidacloprid, female Wistar rats, cerebral cortex, cerebellum, hippocampus.

المخلص

تعد السمية العصبية للإيميداكلوبريد لدى الأنواع غير المستهدفة موضوعاً لعدد من الدراسات. في هذا السياق، يهدف عملنا الحالي إلى البحث عن تغييرات الأنسجة في القشرة المخية والمخيخ والحصين لإنات الفئران من سلالة ويستار التي عولجت لمدة 29 يوماً بمعدل 10/1 و LD50 80/1 من Mida®. تم تقسيم 15 أنثى من جرذان ويستار إلى ثلاث مجموعات (ن = 5). تم تقديم الماء المقطر للمجموعة الشاهدة. تمت معالجة مجموعتان بالإيميداكلوبريد بتركيز 10/1 LD50 (42.4 مجم / كجم / يوم) و LD50 80/1 (5.3 مجم / كجم / يوم) بالتجريب عن طريق الفم. تابعنا السلوك ونمو الوزن الجسمي. بعد 29 يوماً، يتم التضحية بالجرذان. يتم استئصال المخ والمخيخ وإجراء الدراسة النسيجية.

لاحظنا انخفاض في النشاط والشراهة لدى الجرذان المسمومة. متابعة تطور الوزن الجسمي لجرذان المجموعة الشاهدة والمجموعة المعالجة تظهر تغييرات إحصائية كبيرة في الوزن الجسمي مقارنة مع بداية التجربة. ومع ذلك، فإن الزيادة النسبية في وزن الجسم تكشف عن اختلافات غير معتبرة. بالمقارنة مع الجرذان الشاهدة، يظهر الفحص النسيجي عن وجود تلف تنكسي عصبي متعدد وهو متفام مع الجرعة العالية LD50 10/1 (42.4 مجم / كجم / يوم). مثل وجود هالة حول الأوعية الدموية، عدم نمطية وانحلال بعض الخلايا العصبية لقشرة الدماغ. وجود وذمة، نزيف واحتقان الدم في الحُصين والمخيخ. تضخم وعدم انتظام طبقة بركنجي ونخر بعض العصبونات.

يمكن أن يكون الاميداكلوبريد ساماً للأعصاب على المستوى الخلوي والجزيئي مما قد يؤثر على عمل الجهاز العصبي المركزي.

الكلمات المفتاحية: السمية العصبية، إيميداكلوبريد، إنات جرذان ويستار، قشرة الدماغ، المخيخ، الحصين

Glossaire

L'atrophie cellulaire : est la diminution de la masse fonctionnelle d'une cellule habituellement liée à une diminution de son activité. Elle se traduit par une diminution du volume cellulaire en rapport avec une diminution du nombre et de la taille des constituants normaux de la cellule (**Collège Français des Pathologistes (CoPath), 2012**).

CAT : est présente principalement dans les peroxysomes, lysosomes et les mitochondries. Neutralise le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau et oxygène moléculaire. La *CAT* et la *GPx* ayant des niveaux faibles dans le cerveau par rapport au niveau de *SOD*, c'est pourquoi un effort oxydant créé par un taux élevé de métabolisme peut favoriser les maladies neurodégénératives (**Casetta et al., 2005**).

Glutathion (GSH) : Le glutathion réduit est un tripeptide caractérisé par la présence d'un groupement sulfidryle, ce dernier est responsable de la réduction des radicaux libres (**Gardès-Albert, et al., 2003**),

Glutathion peroxydase (GPx) : C'est la deuxième ligne de défense enzymatique, empêche la formation des radicaux libres, chez les mammifères. C'est une enzyme à sélénium présente dans le cytosol et la mitochondrie. Elle peut réduire d'une part l' H_2O_2 en H_2O et d'autre part les hydroperoxydes organiques (ROOH) en alcool (ROH) (**Favier, 2003 ; Fontaine, 2007**).

Inflammation : constitue la réponse des tissus vivants à l'agression. Les quatre signes cardinaux : rougeur, chaleur, œdème et douleur démontrent la mobilisation des défenses de l'hôte (**Iarck RSB et al., 1994**).

Maladie de Parkinson : maladie neurodégénérative qui résulte de la mort lente et progressive des neurones d'une zone du cerveau qui joue un rôle important dans le contrôle de nos

mouvements. C'est pourquoi les personnes atteintes font peu à peu des gestes rigides, saccadés et incontrôlables (**Defebvre et Vérin, 2006 ; Verkhatsky & Butt, 2007**).

Maladie d'Alzheimer : La maladie d'Alzheimer est une affection neurodégénérative qui entraîne un dommage progressif définitif et irréversible des cellules nerveuses, qui commence par la perte de mémoire des événements récents puis la perte des fonctions cognitives (aphasie, apraxie, agnosie) (**Kelley, 2011 ; Wang et al., 2016 ; Bonda et al., 2015**).

Nécrose cellulaire : est une forme de mort cellulaire et s'oppose en de nombreux points à l'apoptose.

La nécrose cellulaire désigne les modifications morphologiques irréversibles coïncidant avec la mort cellulaire. Ces modifications touchent aussi bien le noyau que le cytoplasme. (**Collège Français des Pathologistes (CoPath), 2012**).

Neurotoxicité est un changement structural ou une altération fonctionnelle du système nerveux, qui trouve son origine dans l'exposition des agents biologique, physique ou chimique (**Philbert et al., 2000 ; Bear et al., 2016**).

Neurotransmetteurs sont des substances chimiques libérées par un neurone au niveau d'une synapse qui modifie de manière spécifique l'activité d'une autre cellule. Ils sont diffusent vers la région post-synaptique pour activer leurs récepteurs puis sont rapidement éliminés (**Guénard, 2001**).

Superoxyde dismutase (SOD) Est la première ligne de défense enzymatique, catalyse la conversion de l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) produit par la chaîne respiratoire mitochondrial en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), Chez les mammifères on trouve la *SOD* cytoplasmique (*Cu-Zn-SOD*), la *SOD* mitochondrial (*MnSOD*) (**Badary et al., 2003**).

Liste des abréviations

Abréviation	Signification
Ach	Acétylcholine
AchE	Acétylcholine Estérase
ADN	Acide Désoxyribonucléique
BC	Cellules de Betz
CA	Corne d'Ammon
CAT	Catalase
DL50	Dose létale 50
FSH	Hormone folliculo stimulante
GABA	Acide gamma amino-butyrique
GD	Gyrus denté
GPx	Glutathion peroxydase
GSH	Teneur réduite de glutathion
HE	Hématoxyline éosine
LH	Hormone Lutéinisante
LPO	Peroxydation lipidique
MAPK	Protéine Kinase activée par les mitogènes P38
MIDA	Imidaclopride
NaCl	Chlorure de Sodium
nAchR	Récepteur post-synaptique à l'acétylcholine
NCB	Corps de cellule nerveuse
NGB	Couche Pyramidale externe
PC	Poids corporel
ROS	Espèces réactive à l'oxygène
SDH	Sorbitol déshydrogénase
SNC	Système Nerveux central
SNP	Système Nerveux Périphérique
SOD	Superoxyde dismutase
UV	Ultraviolet

Liste des figures

Figure	Titre	Page
1	Structures chimiques de certains insecticides néonicotinoïdes les plus utilisés	3
2	Représentation schématique d'une synapse cholinergique avec les cibles principales des néonicotinoïdes	4
3	A. Une combinaison de métabolites de l'imidaclopride détectée dans différentes plantes cultivées B. Similitudes structurelles entre l'imidaclopride, la nicotine et les composés couramment utilisé comme inhibiteur des poly (ADP-ribose) polymérase	6
4	Mode d'action induit par le stress oxydatif provoqué par les néonicotinoïdes	12
5	Vues ventrale (A) et dorsale (B) d'un encéphale de rat	16
6	Organisation anatomique de l'encéphale montrant le cervelet et l'hippocampe	17
7	Evolution du poids corporel absolu (a) et relatif (b) chez les rats témoins et traités par 1/10 et 1/80 DL50	27
8	Variations des poids absolus (a) et des poids relatifs (b) de l'encéphale chez les rats témoins et traités à raison de 1/10 et 1/80 DL50 de MIDA®	28
9	Structure histologique du cortex cérébral chez le rat Wistar femelle témoin.	30
10	Structure histologique du cortex cérébral chez le rat traité avec 1/80 DL50 MIDA	33
11	Structure histologique du cortex cérébral chez traités avec 1/10 DL50 MIDA® Z : Gr avec zoom	36
12	Structure histologique du cervelet chez les rats Wistar femelles témoins	39
13	Structure histologique au niveau du cervelet chez les rats Wistar traités avec 1/80 DL50	41

14	Structure histologique du cervelet chez les rats Wistar traités avec 1/10 DL50	44
-----------	---	-----------

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
I	Effet des différents traitements avec MIDA® sur l'évolution du poids corporel des rats Wistar et sur le poids absolu et relatif de l'encéphale	26

Sommaire

INTRODUCTION	1
CHAPITRE I : Rappels Bibliographiques	
I.1. Généralités sur la toxicité des insecticides néonicotinoïdes	3
I. 2. Généralités sur l’Imidaclopride	5
I.2.1. Métabolisme de l’imidaclopride	5
I.2.2. Acteurs anciens et émergents de la résistance des insectes à l’imidaclopride ...6	
I.2.3. Toxicité de l’imidaclopride	7
I.2.3.1. Toxicité environnementale	8
I.2.3.2. Toxicité chez les espèces aquatiques	8
I.2.3.3. Toxicité chez l’homme	9
I.2.3.4. Toxicité chez les animaux	9
I.2.4. Stress oxydatif induit par l’imidaclopride	11
I.2.5. Neurotoxicité et insecticides chimiques	15
I.3. Généralités sur le système nerveux central chez le rat	16
I.3.1. Organisation anatomique de l’encéphale	17
I.2.2. Organisation anatomique de l’Hippocampe	17
CHAPITRE II : Matériel et Méthodes	
II.1.MATERIEL	
II.1.1. Matériel animal et technique	18
II.2. METHODES	
II.2.1. Elevage des animaux	21
II.2.2.Expérimentation	22
II.2.3.Sacrifice des animaux et prélèvement des échantillons	23
II.2.4. Effet des traitements sur le poids corporel et sur le poids de l’encéphale	23
II.2.5.Etude histologique	24
II.2.6.Etude statistique	25

CHAPITRE III : Résultats et Discussion

III. 1.RESULTATS

III.1.1. Effet des traitements sur le comportement des rats.....26

III.1.2. Evolution pondérale.....26

III.1.2.1. Poids corporel.....27

III.1.2.2. Poids de l'encéphale.....28

III.1.3. Eude histopathologique.....29

III.1.3.1. Histologie du cortex cérébrale.....30

III.1.3.2. Histologie du cervelet.....39

III.2.DISCUSSION.....47

CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....51

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

Annexe 1

Annexe 2

INTRODUCTION

Bien que l'application des insecticides vise principalement les insectes ravageurs agricoles, un grand nombre de ses composés et métabolites peuvent toucher des organismes non-ciblés (**Mustard et al., 2020**). Et peuvent entraîner des intoxications et des problèmes de santé humaine et animale les plus graves (**Gamet et Lukowicz, 2017; Girard et al, 2020**). En effet, la gravité de l'intoxication dépend de la toxicité du produit en cause, du mode de pénétration, de la dose absorbée, de la physiologie et de l'âge du sujet (**De Miguel-Bouzas et al., 2012**). Malheureusement, le grand public est très peu informé des risques, sur la santé et l'environnement, des insecticides autorisés pour l'utilisation domestique et en milieu agricole.

L'imidaclopride (MIDA[®]) a rapidement gagné la popularité comme premier néonicotinoïde le plus commercialisé. Sa relation avec l'agriculture est liée à la protection des grandes cultures contre une gamme d'insectes ravageurs perceurs et suceurs. Cependant, les applications de l'imidaclopride (pulvérisation foliaire, traitement de sol et des semences, médecine vétérinaire) sont devenues étroitement liées aux impacts négatifs sur les écosystèmes, y compris la mort d'insectes à grande valeur économique, les pollinisateurs, les fournisseurs de miel et les antiparasitaire (**Motaung, 2020**).

L'utilisation intensive de MIDA se traduit inévitablement par une détection fréquente dans l'environnement (**Morrissey et al., 2015 ; Xiong et al.,2019**), l'alimentation (**Lu et al.,2018 ; Mitchell et al., 2017**) et dans les organismes non cibles (**Byholm et al.,2018**).

L'exposition aiguë à l'imidaclopride entraîne des effets oxydatifs et inflammatoires au niveau du foie et du système nerveux central des rats (**Duzguner et Erdogan, 2010 ; Ahmed et Nasr., 2015**). En plus du déséquilibre antioxydant, l'apoptose, la fragmentation de l'ADN et des changements morphologiques dans le système reproducteur des rats mâles en développement (**Bal et al., 2012**). L'exposition chronique à l'imidaclopride cause des déficits neurocomportementaux et de développement chez les petits rats suite à une exposition dans l'utérus (**Donia et al., 2008**). Plusieurs études expérimentales soulignent l'effet neurotoxique et histopathologique au niveau cérébral (**El-Gendy, 2010 ; Vohra et Khera, 2014 ; Lonare et al., 2014 ; Kishandar, 2013 ; Farag et al., 2019**).

Les travaux de **Yan et al. (2020)** viennent confirmer l'implication du stress oxydatif dans le mode d'action des néonicotinoïdes, chez les mammifères, sur le métabolisme des acides aminés à travers la libération des espèces réactives de l'oxygène (ROS), le déséquilibre de la balance antioxydants /radicaux libres provoquant ainsi une peroxydation des lipides cellulaires et une perturbation de l'acide désoxyribonucléique (ADN) et par conséquence,

l'apparition des dégâts irréversibles pour la survie cellulaire (**Annabi et al., 2019**). Face à ces composants toxiques, le corps développe des systèmes de défense par la libération des antioxydants qui empêchent les radicaux libres d'atteindre leurs cibles et de les endommager (**Desmier, 2016**). Cependant, chaque individu ne possède pas le même potentiel antioxydant. Celui-ci est en fonction du mode de vie, des caractéristiques génétiques mais également de l'environnement.

Il est difficile d'estimer les risques sanitaires de l'exposition alimentaire aux néonicotinoïde, notamment en raison d'un manque de connaissances sur les effets neurologiques et endocriniens qui peuvent présenter des risques sérieux pour la reproduction et le développement avec des conséquences à long terme à l'âge adulte. Ces incertitudes viennent mettre en évidence le besoin de poursuivre des études pour mieux documenter les risques sanitaires liés à l'exposition cumulée à MIDA®, et ce, principalement pour le système nerveux central des groupes à risque comme les jeunes enfants et les femmes enceintes.

Dans le but d'appuyer sur la neurotoxicité de l'imidaclopride au niveau du système nerveux centrale (SNC) des mammifères, nous nous sommes proposé de rechercher les lésions tissulaires au niveau du cerveau et du cervelet des rattes Wistar traitées pendant 29 jours à raison de 1/10 et 1/80 DL50 de MIDA®.

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

I.1. GENERALITES SUR LA TOXICITE DES INSECTICIDES NEONICOTINOIDES

Les récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine sont les principaux récepteurs des neurotransmetteurs excitateurs (Millar et Denholm, 2007), leur grande abondance dans le système nerveux central des insectes a conduit à la mise au point d'insecticides néonicotinoïdes (Tomizawa et Casida, 2002; Liu et al., 2008; Jeschke et al., 2011). Sept substances néonicotinoïdes ont été exploitées depuis leur introduction sur le marché comme insecticides systémiques à large spectre et médicaments vétérinaires: l'imidaclopride, la clothianidine, le dinotéfurane, le nitenpyrame, le thiaclopride, le thiaméthoxame et l'acetamipride (Figure 1) (Wang et al., 2018).

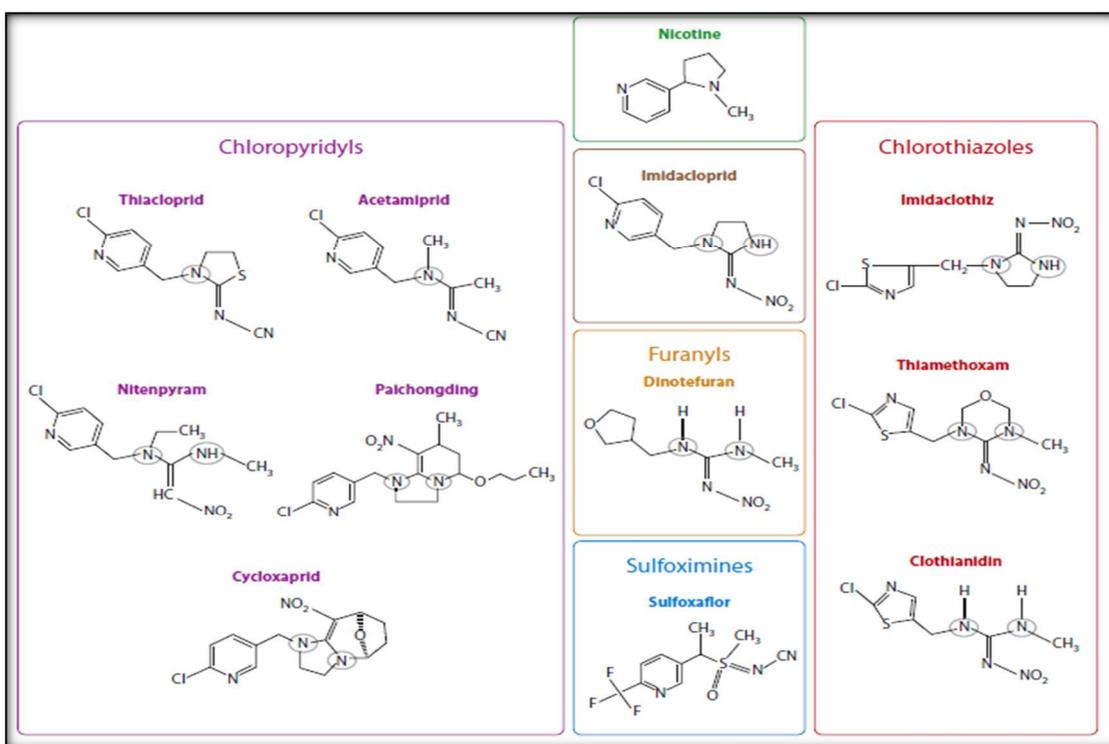


Figure 1 : Structures chimiques de certains insecticides néonicotinoïdes les plus utilisés (Wang et al., 2018)

I.1.1 Mode d'action des insecticides néonicotinoïdes

- Action des néonicotinoïdes chez les insectes

Les insecticides néonicotinoïdes sont neurotoxiques qui ciblent sélectivement les récepteurs post-synaptique à l'acétylcholine (nAChR) (Seifert et al., 2005). Et interfèrent principalement les canaux ioniques et l'acétylcholine estérase (AChE) en empêchant la transmission de l'influx nerveux (Kanthasamy et al., 2012) (Figure2).

L'imidaclopride joue un rôle d'inhibiteur irréversible sur l'AChE laissant une concentration élevée de l'ACh dans la fente synaptique et favorisant une sensibilisation continue des nAChR (Ware et Whitacre, 2004). L'activation soutenue des récepteurs résulte de l'incapacité de l'AChE à dégrader l'insecticide (Matsuda et Sattelle, 2005). Suivi par l'échec du neurone à propager tout type de signal dont le blocage induit la paralysie et la mort de l'insecte (Sheets, 2001), suite à une série de troubles tels qu'incoordination, paralysie, perte d'orientation et de thermorégulation (Gomez, 2013 et Garcia et al., 2018).

Plusieurs études confirment des effets délétères des néonicotinoïdes pour les pollinisateurs, en particulier chez l'abeille domestique *Apis mellifera* (Laycock et al., 2012), en réduisant les capacités cognitives, modifier les modèles de vol, réduire l'endurance de vol et généralement réduire la capacité de polliniser (Blacquiere et al., 2012). Les effets sur les pollinisateurs peuvent avoir un effet secondaire significatif en réduisant les autres populations d'insectes et d'oiseaux en raison de la réduction des plantes produites après la pollinisation (Blacquiere et al., 2012 et Simon-Delso et al., 2015).

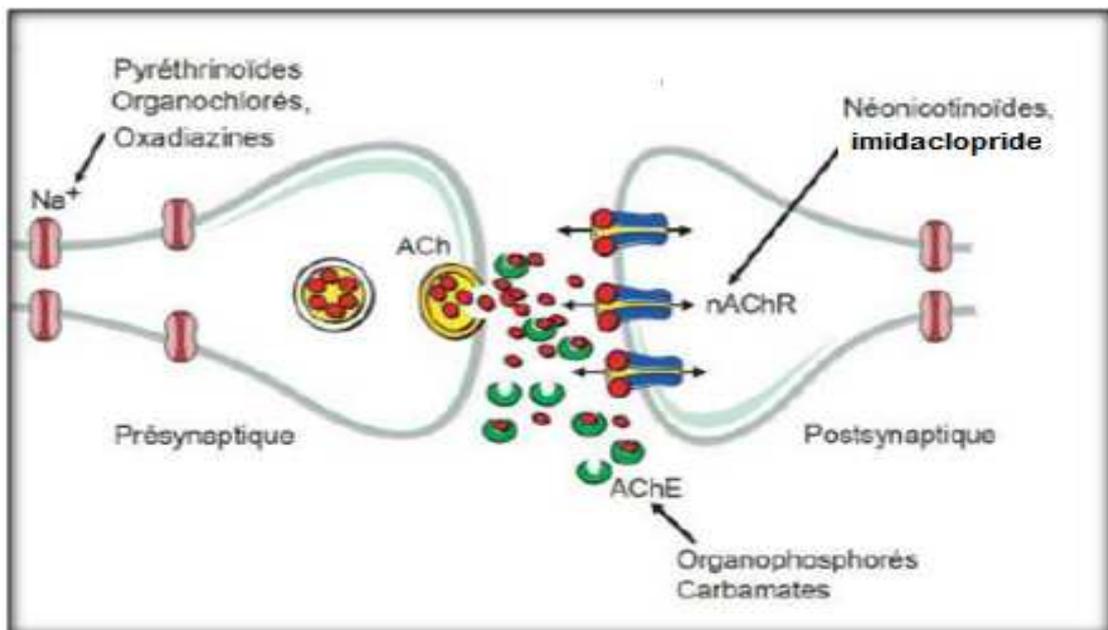


Figure 2 : Représentation schématique d'une synapse cholinergique avec les cibles principales des néonicotinoïdes (Modifié d'après Raymond-Delpech et al., 2005)

ACh : acétylcholine ; AChE : acétylcholinestérase ; nAChR : récepteur cholinergique de type nicotinique ; Na : canal sodium.

I.1.2 Action des néonicotinoïdes chez les espèces non cibles

Les récepteurs nicotiniques des mammifères sont composés d'un certain nombre de sous-unités. Contrairement aux insectes, ces récepteurs sont présents aux jonctions neuromusculaires ainsi que dans le système nerveux central (Sheets, 2001). La sélectivité de la cible a été confirmée par l'inhibition sélective de la neurotransmission pour les deux nAChR d'insecte, et la liaison à haute et faible affinité à nAChR pour les insectes et les mammifères, respectivement (Casida, 2018 ; Matsuda *et al.*, 2001). Cela semble être vrai pour d'autres vertébrés, y compris les oiseaux (Matsuda *et al.*, 1998 et Tomizawa et Casida, 2011).

Les néonicotinoïdes ont des effets négatifs sur la physiologie et la survie pour un large éventail d'invertébrés terrestres, aquatiques et marines non-cibles (Pisa *et al.*, 2015). L'intoxication des mammifères par ces insecticides a des effets néfastes sur le système immunitaire et endocrinien, sur le développement et la cancérogénèse (Samuel, 2001). Les effets sur la reproduction ont été prouvés chez plusieurs animaux. L'étude de Robitaille, (2014) a rapporté une augmentation de la testostérone chez des humains exposés aux néonicotinoïdes dans un milieu agricole.

I. 2. GENERALITES SUR L'IMIDACLOPRIDE

Imidaclopride, 1-(6 – chloro-3 pyridylmethyl) - N -nitroimidazolidine -2-ylideneamine) est un néonicotinoïde qui appartient à la famille chimique, nitrochloronicotinyl (Kumar *et al.*, 2013). Cet insecticide est conçu pour être efficace par contact dermique ou par ingestion (Tomlin, 2006). C'est un insecticide systémique qui se déplace rapidement dans les tissus végétaux à travers la sève (Fossen, 2006)

I.2.1. Métabolisme de l'imidaclopride

D'après Santé Canada, (2016), les données collectives sur le métabolisme de l'imidaclopride (MIDA) chez les mammifères indiquent deux grandes voies de biotransformation. La première voie consiste en une hydroxylation du cycle imidazolidine par le CYP3A4, qui mène à la formation des métabolites 4-hydroxy et 5-hydroxy. Ces métabolites peuvent former du dihydroxy-imidaclopride, subir une glucuronidation ou perdre de l'eau pour former le métabolite oléfinique.

Le clivage oxydatif du métabolite 5-hydroxy produit de l'acide 6-chloronicotinique. La deuxième voie consiste en une nitroréduction par les enzymes P450 microsomiales ou par l'alternative oxydase, qui produit de la nitrosimine, des dérivés d' amino-guanidine et du desnitro-imidaclopride. Le desnitro-imidaclopride subit un clivage oxydatif qui le transforme en imidazolidine et en acide 6-chloronicotinique. L'acide 6-chloronicotinique issu des deux voies de transformation subit par la suite une conjugaison au glutathion. La variation individuelle des isoenzymes du cytochrome450 impliquées dans le métabolisme oxydatif de l'imidaclopride peut contribuer à une toxicité variable (Tomizawa et Casida ,2005).

Pour les végétaux, certains métabolites et composés synthétiques analogues à l'imidaclopride (Figure 3) semblent influencer considérablement les processus biochimiques des plantes et reflètent ainsi le potentiel de l'imidaclopride à sélectionner des caractères importants pour protéger les plantes contre les stress environnementaux (Motaung, 2020).

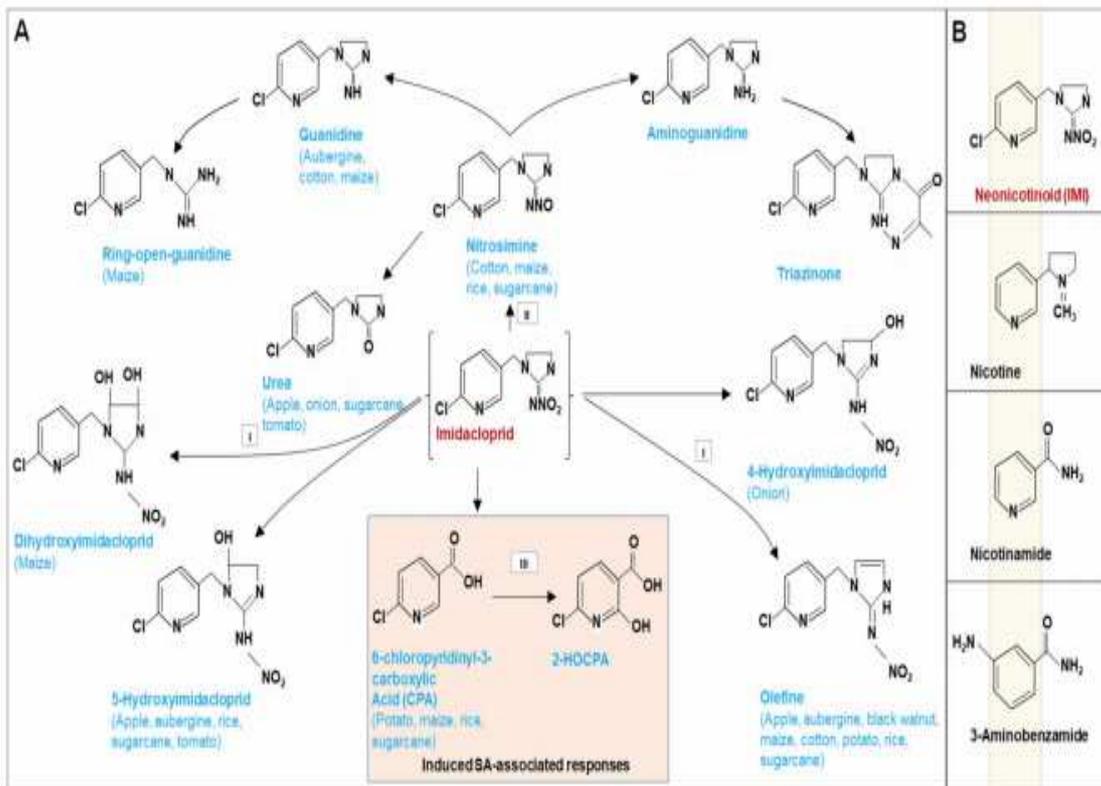


Figure 3 : A. Une combinaison de métabolites de l'imidaclopride détectée dans différentes plantes cultivées

B. Similitudes structurelles entre l'imidaclopride, la nicotine et les composés couramment utilisé comme inhibiteur des poly (ADP-ribose) polymérase (Motaung , 2020)

I.2.2. Acteurs anciens et émergents de la résistance des insectes à l'imidaclopride

Les insectes ravageurs sont devenus notoirement résistants vers plusieurs classes d'insecticides, y compris les néonicotinoïdes (**Hawkins et al., 2019**). Cela a conduit à des appels à un strict respect des directives d'utilisation correcte pour gérer les risques de résistance (**Jeschke et al., 2011**). L'expression de mécanismes de résistance élaborés, notamment la résistance métabolique et la résistance du site cible sont des voies courantes qui y mènent (**Motaung, 2020**). La résistance métabolique entraîne une surexpression des enzymes métaboliques tandis que la résistance côté cible implique l'introduction de mutations ponctuelles dans les sous-unités nAChR (**Bass et Field, 2018**). Le succès de certains des insectes ravageurs agricole les plus nuisant, peut être attribuée à un potentiel accru de vaincre la toxicité néonique (**Bass et al., 2015**). La réduction des niveaux d'expression des sous-unités $\alpha 1$ et $\beta 1$ de nAChR provoquent une résistance à l'imidaclopride chez certaines espèces d'insectes (**Chen et al., 2017 ; Qu et al., 2016 ; Wang et al., 2018**).

Souvent, les processus de résistances sont étudiés indépendamment bien qu'ils puissent avoir un effet additif ou alternatif dans la nature. De plus, des mécanismes moins fréquemment rapportés peuvent émerger comme des acteurs de la résistance néonique (**Motaung, 2020**). Les ATP transporteurs et reliure de cassettes (ABC), qui font partie d'une superfamille de protéines membranaires intégrales qui hydrolysent l'ATP en molécules navettes à travers les membranes lipidiques, sont récemment apparues comme importantes dans la résistance à l'imidaclopride (**Motaung, 2020**). Dans deux rapports indépendants, un groupe de recherche a identifié un certain nombre de protéines ABC qui s'exprime différemment en réponse et induit une résistance à l'imidaclopride (**He et al., 2019 et Tian et al., 2017**).

I.2.3. Toxicité de l'imidaclopride

L'imidaclopride peut présenter des risques de toxicité soit en raison de ses propriétés physico-chimiques (**Tableau I voir annexe 1**) soit en raison de la réactivité chimique de ses métabolites vis-à-vis de l'environnement et des organismes.

I.2.3.1. Toxicité environnementale

Les principales voies de dissipation de l'imidaclopride dans l'environnement sont la photolyse en milieux aqueux, la dégradation microbienne (**Fritz et Hellpointer, 1991**). L'abondance de végétation augmente considérablement son taux d'absorption et de dégradation dans le sol (**Scholz, 1992**). L'imidaclopride est rapidement photodégradée dans l'eau avec une demi-vie de 4 heures (**Anderson, 1991**) par rapport au sol avec une demi-vie de 171 jours. Il est stable à l'hydrolyse à un pH normal, tandis qu'il est lentement hydrolysé dans les solutions alcalines stériles (**Yoshida, 1990**). L'insecticide est modérément mobile dans le sol et engendre une contamination des eaux de surface par le ruissellement (**MAPAQ et al., 2012**). L'utilisation intensive et croissante des insecticides néonicotinoïdes a fait la manchette plusieurs fois au cours des dernières années. Des données ont récemment été compilées par **Craddock et al. (2019)** sur les tendances temporelles de la présence de 7 néonicotinoïdes dans les aliments et la contamination de l'eau aux États-Unis. Ces insecticides sont principalement détectés dans les fruits et légumes et parce qu'ils se distribuent dans tout l'aliment, et qu'il est presque impossible de les éliminer par le lavage ou le pelage.

I.2.3.2. Toxicité chez les espèces aquatiques

Ozdemir et al. (2018) ont exposé des poissons « Carpe commune » à 140 mg/l et 280 mg/l de l'imidaclopride pendant 24h, 48h, 72h, 96h. Ces résultats, indiquent que la toxicité aigüe cause des lésions histopathologiques graves, une inflammation, une dégénérescence des hépatocytes, une nécrose et un stress oxydatif avec l'activation de (8-OHDG), (iNOS) et le facteur de nécrose tumorale- α (TNF- α) dans le foie des poissons.

De jeunes vairons rares chinois *Gobiocypris rarus* ont été exposés à différentes doses d'insecticides néonicotinoïdes. Les résultats sur le stress oxydatif et les dommages de l'ADN ont démontré que l'imidaclopride et le nitenpyram pouvaient avoir des effets néfastes sur ces espèces aquatiques (**Tian et al., 2018 et Tian et al., 2020**).

I.2.3.3. Toxicité chez l'homme

Les métabolites de l'imidaclopride présentent une grande toxicité pour les mammifères par rapport à l'imidaclopride lui-même (**Wong et al., 2019**). L'insecticide est très faible toxique par voie cutanée (**Wismer, 2004**) et modérément toxique s'il est ingéré ; l'inhalation de poussière est considérée comme légèrement toxique, mais la forme d'aérosol est très toxique avec dose létale 50 (DL50) par inhalation est de 0,05 mg/L (**Kumar et al., 2013**). Des rapports d'intoxication humaine avec MIDA décrits des signes de toxicité tels que somnolence, étourdissements, vomissements, désorientation et fièvre (**Wu et al., 2001 ; Agarwal et Srinivas, 2007 ; Shadnia et Moghaddam, 2008**). En plus de l'augmentation du rythme cardiaque et respiratoire, la transpiration et le décès 12h après l'ingestion de produit contenant 9,6% imidaclopride (**Huang et al., 2006**).

I.2.3.4. Toxicité chez les animaux

Des centaines d'études de la toxicité expérimentale ont mis en évidence les effets néfastes des doses sub-létales de l'imidaclopride au niveau de plusieurs organes. de sorte qu'il s'est avéré être un agent puissant de l'hépatotoxicité (**Hassan et al., 2019 ; El-Halwagy et al., 2018 ; Nasr et al., 2019**), la néphrotoxicité (**Arafat et al., 2014, Hassan et al., 2019**), et de la pneumotoxicité (**Saadi et al., 2019**).

L'exposition des modèles animaux à l'imidaclopride entraîne des altérations morpho-fonctionnelles doses -dépendantes qui se manifestent par une augmentation de l'activité enzymatique hépatique (transaminase, phosphatase alcaline, lactate déshydrogénase) (**Arkam, 2019 ; Nasr et al., 2019**), des paramètres biochimiques rénaux (créatinémie et urémie) (**Arkam, 2019 ; Hassan et al., 2019**). la perturbation des paramètres hématologiques (la formule de numération sanguine, la protéine réactive C et la vitesse de sédimentation) (**Saadi et al., 2019**) et diminution de l'activité acétylcholinestérase (AChE) dans le cerveau (**Vohra et Khera, 2015**) et le plasma (**Bhardwaj et al., 2010 ; Vohra et Khera, 2015**).

Au niveau tissulaires, la toxicité à l'imidaclopride est révélée par la présence de lésions histopathologiques caractéristiques de l'inflammation comme la congestion sanguine, la diapédèse leucocytaire et la fibrose (**Duzguner et Erdogan 2012; Harmandeep et al., (2013) et Arkam, 2019**) et des altérations ultrastructurales des hépatocytes marquées par des changements graisseux, des noyaux gonflés, une chromatine perturbée, une taille et une forme variées des mitochondries et du réticulum endoplasmique rugueux. (**Soujanya et al., 2013**).

L'imidaclopride peut également agir comme un perturbateur physiologique (**Abou-Dounia et al., 2008; Gu et al., 2013; Cimino et al., 2017 ; Mesnage et al., 2018**) et endocrinien (EDC) ; affecte le fonctionnement de la thyroïde (**Nicole-Mirr, 2011 ; Saadi et al., 2014**), des ovaires (**Nabiuni et al., (2015)**) et des testicules par l'augmentation du stress oxydatif testiculaire et réduit les concentrations de la testostérone, l'hormone lutéinisante LH et l'hormones folliculo-stimulantes (FSH). (**Tetsatsi et al., 2019**). MIDA peut perturber l'homéostasie métabolique et la stéroïdogénèse en inhibant les activités enzymatiques du cytochrome P450 (CYP) (**Bhaskar et al., 2014 et Mikolic et Karaconj, 2018**).

Des effets néfastes de l'imidaclopride sur la capacité de reproduction à la fois chez les animaux parents ainsi que sur le développement de la progéniture. (**Nabiuni et al., 2015 ; Mikolic et Karaconj, 2018 ; Tetsatsi et al., 2019**).

Plusieurs études ont révélé que l'imidaclopride contribue à l'obésité, potentialise l'adipogénèse dans les 3T3-L1 adipocytes, augmente l'adiposité riche en matière grasse et induit une insulino-résistance dans les myotubes. L'insulino-résistance observée chez les souris C57BL/6 mâles n'a pas été confirmée chez les femelles, ce qui s'explique par des différences potentielles entre les deux sexes (**Park et al., 2013 ; Kim et al., 2013**).

Des données ont révélé que l'imidaclopride est immuno-toxique provoquant des effets indésirables dépendant de l'âge sur l'immunité en développement, qui étaient aggravés lorsque l'exposition se poursuivait tout au long du développement, conduisant à un système immunitaire affaibli (**Gawade et al., 2013**).

I.2.4. Stress oxydatif induit par l'imidaclopride

a- Stress oxydatif

Le stress oxydatif est défini comme une agression biologique complexe des cellules due à une insuffisance en apport d'antioxydants suite à un excès des radicaux libres (**Favier, 2006**) (**Figure 4**) ou bien un déséquilibre entre la production des espèces réactives de l'oxygène / azote (ERO) et la capacité antioxydante cellulaire (**Migdal et Serres, 2011**).

b- Mécanisme d'action

Les pesticides peuvent induire un stress oxydatif conduisant à générer des radicaux libres et à altérer le système enzymatique antioxydant ou anti-radicalaire (**El Gendy et al., 2010**). Le stress oxydatif induit par les néonicotinoïdes (**figure 5**) a un rôle important dans la stimulation de l'apoptose et les voies de signalisation cellulaire (**Kusuyama et al., 2015 ; Wang et al., 2018**).

Etant donné que l'imidaclopride est un membre de la famille des néonicotinoïdes, il peut induire un stress oxydatif conduisant à la génération des radicaux libres : espèces réactives de l'oxygène (ROS) ou des espèces réactives oxygénées et azotées (RNS) et aux effets toxiques cellulaires associés (**Duzguner et Erdogan, 2012 ; El-Gendy et al., 2010 ; Yan et al., 2015 ; Nemmiche, 2017**). Une génération accrue de ROS et de RNS ainsi qu'une altération du statut antioxydant, peuvent induire une oxydation des lipides, des protéines, des glucides et de l'acide désoxyribonucléique (ADN), entraînant diverses toxicités et apoptose via les voies ERK, p38, AKT, Ca²⁺ et CAR/PXR (**Wang et al., 2018**). La protéine kinase activée par les mitogènes p38 (MAPK) est phosphorylée en réponse au stress oxydatif, qui pourrait bloquer la prolifération ou favoriser l'apoptose (**Ballard et al., 2008 ; Watanabe et al., 2015**).

La peroxydation de lipides fournit ainsi une grande variété de produits, dont certains peuvent réagir avec les protéines et l'ADN et induire des dommages de l'ADN. Parmi les produits formés lors de la peroxydation lipidique, l'isoprostane, le malonyldialdéhyde (MDA) et le 4-hydroxynonéal (4-HNE) ont été étudiés comme marqueur de la peroxydation lipidique (**Favier, 2003**). La lipoperoxydation des membranes va altérer leur fonctionnalité (modification de leur perméabilité, de leur fluidité, perte d'activité d'enzymes, de récepteurs...) (**Cillard et Cillard, 2006**).

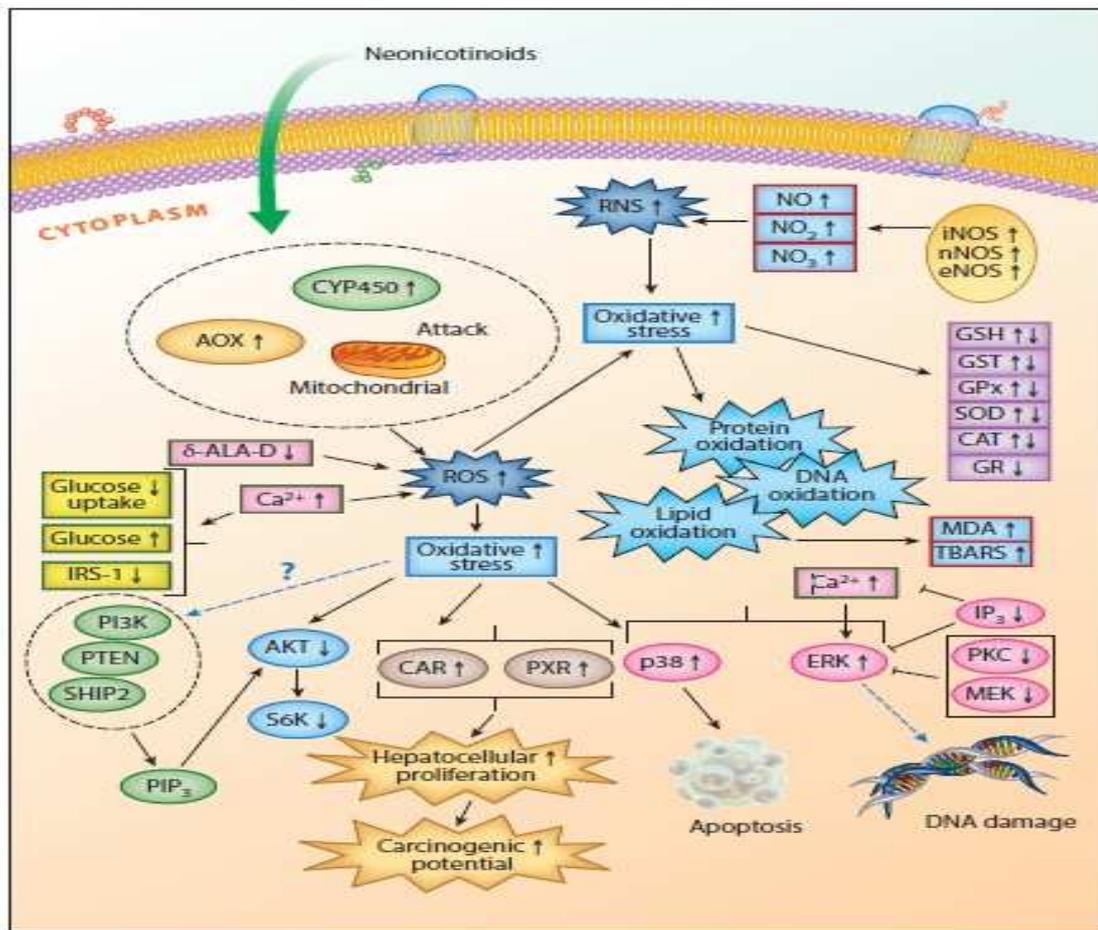


Figure 4 : Mode d'action induit par le stress oxydatif provoqué par les néonicotinoïdes (Wang et al., 2018).

c- Induction du stress oxydatif par l'imidaclopride

Les travaux de **Kapoor-Upsana et al. (2010)** ont étudié chez les rats femelles l'effet de la dose sans effet observé (NOEL) de MIDA sur le stress oxydatif et la peroxydation des lipides. L'imidaclopride à 5 et 10 mg / kg / jour n'a pas produit de changements dans les activités de la superoxyde dismutase (SOD), de la catalase (CAT), de la glutathion peroxydase (GPx) et de la teneur réduite de glutathion (GSH) et de la peroxydation lipidique (LPO) dans le foie, le cerveau et les reins. Cependant, 20 mg / kg / jour a produit des changements significatifs de SOD, CAT, GPx, GSH, LPO dans le foie ; SOD, CAT et GPx dans le cerveau et LPO dans le rein.

Par conséquent, il est conclu que l'imidaclopride n'a pas généré de stress oxydatif à 5 et 10 mg / kg / jour mais induit des changements à 20 mg / kg / jour. Par conséquent, 10 mg / kg / jour peuvent être considérés comme NOEL par le biais d'enzymes antioxydantes et de LPO chez les rats femelles.

Les travaux de **Shao et al. (2020)** et **Nasr et al. (2019)** démontrent que l'administration de l'imidaclopride à des animaux de laboratoire engendre une hépatotoxicité qui se manifeste par une inflammation, un stress oxydatif hépatique et une apoptose conduisant à la mort des hépatocytes suite à l'altération du système antioxydant. D'après les études réalisés par **Duzguner et Erdogan (2010)** et **Soujanya et al., (2013)** chez les rats, l'hépatotoxicité peut être attribuée aux ROS induites par l'imidaclopride, témoignée par une concentration significativement réduite de GSH de dans le tissu hépatique. Selon les mêmes auteurs, la génération de radicaux libres qui ont induit un stress oxydatif après un traitement à l'imidaclopride est attribuée à l'utilisation directe du GSH en tant qu'antioxydant pour neutraliser et mettre fin à la nocivité des radicaux libres ce qui entraîne l'épuisement du GSH pendant le stress oxydatif.

Les travaux récents de **Yan et al., (2020)** approfondissent la compréhension des effets toxicologiques des néonicotinoïdes sur le stress oxydant chez les mammifères. Dans cette étude, les effets toxiques de trois insecticides (dinotéfurane, nitenpyram et acétamipride) ont été évalués chez des souris ICR. Après 30 jours d'exposition aux néonicotinoïdes (1/200 DL50). Tous les groupes de traitement ont montré des signes de troubles du métabolisme des acides aminés, en particulier des acides aminés à chaîne ramifiée élevés et de la phénylalanine. De plus, les animaux traités aux néonicotinoïdes avaient des taux de lipides élevés, ce qui induisait un stress oxydatif. Cette recherche confirme que l'accumulation de lipides induite par un trouble du métabolisme des acides aminés peut être la cause du stress oxydatif. Et que ce dernier est un effet toxique courant de l'exposition à l'imidaclopride.

Une autre étude récente de **Tian et al., (2020)** cherche les effets des insecticides néonicotinoïdes sur les marqueurs biologiques du stress oxydatif et les dommages de l'ADN, chez les poissons. De jeunes vairons rares chinois (*Gobiocypris rarus*) ont été exposés à 0,1, 0,5 ou 2,0 mg / L d'insecticides néonicotinoïdes (imidaclopride, nitenpyram et dinotéfurane) pendant 60 jours. Les résultats confirment la perturbation des taux d'expression des ARNm et des paramètres du stress oxydatif ce qui confirme les effets néfastes des néonicotinoïdes chez le poisson *Gobiocypris rarus*.

d- Atténuation du stress oxydatif dû à l'imidaclopride par suppléments d'antioxydants

Le rôle potentiel du stress oxydatif suggère que la supplémentation en antioxydants peut atténuer la toxicité induite par l'imidaclopride (**Abd-El-Ghaney, 2002**).

La vitamine C en tant qu'agent antioxydant joue un rôle primordial dans la neutralisation des radicaux et peut agir à la fois à l'intérieur et à l'extérieur des cellules pour lutter contre les dommages cellulaires. Les radicaux libres chercheront un électron pour retrouver leur stabilité ; la vitamine C est une excellente source d'électrons et, par conséquent, elle peut donner des électrons à des radicaux libres tels que les radicaux hydroxyle et superoxyde et éteindre leur réactivité (**Bindhumol et al., 2003**). D'après **El-Gendy et al. (2010)** et **Soujanya et al. (2013)**, la supplémentation en vitamine C chez les souris recevant de l'imidaclopride peut apporter une protection modérée contre la toxicité et le stress oxydatif hépatique induits par l'insecticide. L'effet protecteur du prétraitement à la vitamine C est meilleur que le post traitement. Cette protection est révélée par l'amélioration des paramètres hépatiques, de l'histoarchitecture du foie et la diminution de la LPO et en corrigeant le système de défense antioxydant dans le foie avec le rétablissement des taux de GSH à la normale.

D'après **Lonare et al. (2016)**, les effets toxiques sur la reproduction masculine induits par l'imidaclopride pourraient être améliorés par une co-administration orale de l'anti oxydant la curcumine (100 mg / kg de poids corporel). Dans cette étude, les indicateurs de stress oxydatif ont été estimés dans les testicules et plasma chez les rats suite à une exposition à l'imidaclopride pendant 28 jours (45 et 90 mg / kg). Les paramètres de toxicité pour la reproduction, les indicateurs de stress oxydatif et les changements histopathologiques ont été minimisés et des restaurations fonctionnelles des testicules ont été remarquées. Ces résultats révèlent une augmentation significative de la LPO et une diminution significative du niveau de GSH ainsi qu'une diminution des activités de CAT, SOD, GPx et GST (gamma-glutamyl transpeptidase).

De même, et selon l'expérimentation décrite ci-dessus, la co-administration de la curcumine (curcuma) avec le traitement à l'imidaclopride chez les rats Wistar, a restauré le niveau des marqueurs biochimiques de la neurotoxicité et du système antioxydant au niveau du cerveau avec une diminution de la LPO et a minimisé les lésions histologique au niveau du parenchyme cérébrale induites par l'imidaclopride (**Lonare et al., 2014**).

Selon l'étude réalisée par **Farag et al., (2019)**, l'utilisation de l'antioxydant le Gingembre peut atténuer la toxicité cérébrale induite par l'exposition orale des rats à 0.1 ml de l'imidaclopride pendant 90 jours. L'extrait aqueux de *Zingiber officinale Roscoe* réussit à moduler l'effet neurotoxique et des changements dans l'architecture du cerveau surtout lorsque le gingembre est administrés simultanément avec MIDA.

I.2.5. Neurotoxicité et insecticides chimiques

a- Neurotoxicité

La neurotoxicité est définie comme un changement histopathologique ou une altération fonctionnelle du système nerveux, qui trouve son origine dans l'exposition aux agents biologiques, physiques ou chimiques (**Philbert et al., 2000 ; Bear et al., 2016**).

b- Cible et conséquences principales

Malgré que la barrière hémato-encéphalique des vertébrés empêche l'accès de l'imidaclopride au SNC, réduisant ainsi sa neurotoxicité (**Sheets, 2001**) ; les néonicotinoïdes touchent principalement le cerveau par une hyperstimulation des récepteurs cholinergiques qui mène à une induction enzymatique chronique des cytochromes P450 (**Kimura et al., 2012 ; Nawaz et al., 2015 ; EFSA, 2016**).

Plusieurs études suggèrent que l'exposition professionnelle aux pesticides, dont les néonicotinoïdes, est associée à une diminution progressive des capacités neurocomportementales (**Stephens et al., 1995**) et à l'apparition de troubles neuropsychologiques tels que difficultés de concentration, troubles de la mémoire ou anxiété (**Baldi et al., 2001 ; Van Wandel de Jood et al., 2001**).

Plusieurs chercheurs ont constaté que l'imidaclopride exerce des effets toxiques dans le cerveau des mammifères en activant et modulant $\alpha 4\beta 2$ (**Ping et al., 2011**) le sous-type le plus proéminent des nAChRs, et l'altération de la densité du $\alpha 4\beta 2$ a été liée à plusieurs troubles dans le système nerveux central, y compris la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson et la dépression (**Chen et al., 2014**).

L'exposition au insecticides néonicotinoïdes lors du stade de développement réduit le nombre des cellules nerveuses, ce qui contribue à des déficits neurocomportementaux et engendre un changement transcriptionnel des gènes du cycle cellulaire et favorise l'apoptose neuronal (**Hung et al., 2005**).

De plus, la mise en évidence *post mortem* de taux élevés de pesticides dans des structures

cérébrales (Priyadarshi *et al.*, 2000; Ritz et Yu, 2000; Priyadarshi *et al.*, 2001; Baldi *et al.*, 2003; Ascherio *et al.*, 2006; Elbaz et Tranchant, 2007).

I. 3. GENERALITES SUR LE SYSTEME NERVEUX CENTRALE

Le système nerveux central (SNC) reçoit les informations et intègre pour élaborer une réponse. Il est impliqué dans les fonctions les plus complexes du système nerveux, comme l'apprentissage mais aussi dans les aspects les plus élémentaires comme les réflexes (Berzowski *et al.*, 2016). Le SNC se compose de l'encéphale et de la moelle épinière. L'encéphale est lui-même être divisé en cerveau (télencéphale et diencephale), qui correspond à la partie antérieure, le cervelet (métencéphale dorsal) et tronc cérébral (mésencéphale, métencéphale ventral, myélocéphale) qui est en continuité avec la moelle épinière (Tachdjian *et al.*, 2016) (Figure 5).

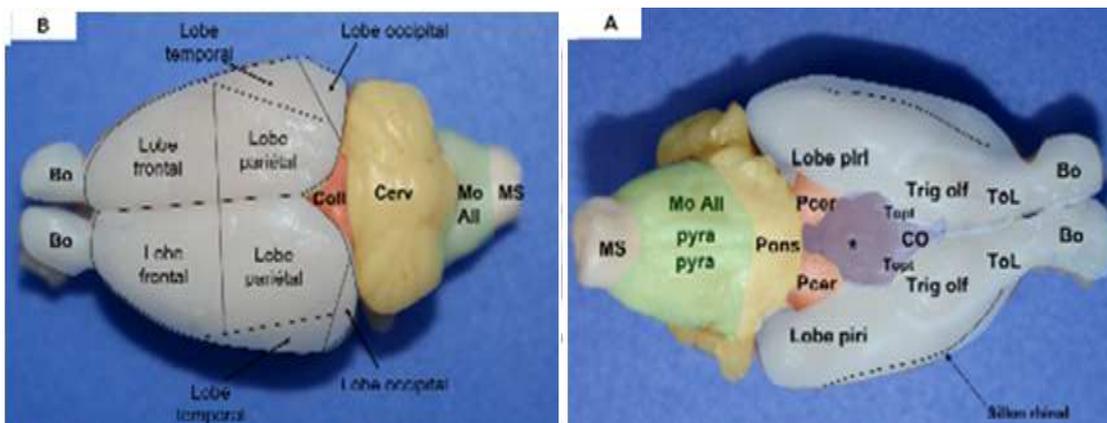


Figure 5 : Vues ventrale (A) et dorsale (B) d'un encéphale de rat (Deviers, 2013)

(A), (B) : Bo : bulbe olfactif, Cerv : cervelet, CO : chiasma optique, Coll : colliculus, Lobe piri : lobe piriforme, Mo All : moelle allongée, MS : moelle spinale, Pcer : pédoncule cérébral, pyra : pyramide, ToL : tractus olfactif, T opt : tractus optique, Trig olf : trigone olfactif, *: récessus infundibulaire du III^o ventricule.

I.3.1. Organisation anatomique de l'encéphale

➤ **Le Cerveau** : Appelé aussi cerveau antérieur, il est le siège de la régulation de toutes les fonctions vitales et assure les fonctions motrices et cognitives (Ben Amar et Leonard, 2009). Il est subdivisé en :

♣ **Télencéphale** : il correspond aux deux hémisphères cérébraux droit et gauche. Sa surface externe est constituée d'une substance grise formée de neurone amyélinisés Cette couche superficielle est appelée le cortex cérébral.

♣ **Diencéphale** : Cette partie du cerveau est recouverte en presque totalité par les deux hémisphères cérébraux. Elle est répartie principalement en thalamus et hypothalamus (Purves et al., 2005).

➤ **Tronc cérébral** : On appelle collectivement tronc cérébral l'ensemble formé par le bulbe rachidien, le pont et le mésencéphale ventral. Il est impliqué dans une multitude de fonctions parmi lesquelles, le contrôle du rythme cardiaque, de la pression artérielle et de la respiration (Crossman, 2004).

➤ **Le cervelet** : il occupe la majeure partie de la fosse cérébrale postérieure en se plaçant en arrière du tronc cérébrale auquel il est rattaché de manière symétrique par les pédoncules cérébelleux. Cet emplacement stratégique explique ses modalités d'action sur les grandes voies nerveuses ascendantes et descendantes. À sa surface, le cervelet est parcouru par de nombreuses fissures et sillons transversaux, plus ou moins profonds et concentriques, qui contribuent à délimiter les lobules et les lobes (Vuillier et al., 2011).

▪ **Organisation de l'hippocampe**

L'hippocampe est une structure cérébrale qui compose la partie interne du cortex, adjacente au cortex olfactif, chez les mammifères supérieurs. Il est le centre d'un réseau neuronal complexe le mettant en contact avec de nombreuses structures cérébrales tel que l'amygdale, le septum et le thalamus pour former le système limbique appelés < le berceau des émotions > de plus, sa capacité à moduler sa morphologie en réponse à des modifications environnementales lui permet de jouer un rôle crucial dans le processus de mémorisation et d'apprentissage (Nadam, 2007). L'hippocampe est formé de deux couches neurales interconnectées en forme de U inversé, le gyrus denté (GD) et le corne d'Ammon (CA), subdivisé-elle-même en trois régions (CA1, CA2, CA3) (Figure 6).



Figure 6 : Organisation anatomique de l'encéphale montrant le cervelet et l'hippocampe (Khaldoun-Oularbi et al., 2017)

Les essais de la toxicité expérimentale permettent d'évaluer les effets toxiques qui apparaissent dans un temps court après l'administration d'une substance ou de xénobiotiques.

Notre travail est une contribution à la recherche de la neurotoxicité expérimentale de l'insecticide néonicotinoïde MIDA®, à raison de 1/10 et 1/80 de la dose létale 50 (DL50), chez les rats femelles de souche Wistar traitées par voie orale pendant quatre semaines.

Notre étude est basée sur l'évaluation des effets de cet insecticide chimique sur le poids corporel et le poids de l'encéphale. Le cerveau et le cervelet font l'objet d'une étude histopathologique afin de chercher les altérations au niveau des parenchymes.

L'élevage et le traitement des animaux ont été menées conformément aux normes établies par l'Organisation de Coopération et de Développement Economiques, Guideline-407, adopté le 03 octobre 2008.

- L'expérimentation animale a été réalisée au niveau de la station expérimentale de la Faculté SNV à l'Université Blida-1 durant la période de septembre - octobre 2018.
- La préparation des doses de traitement et la dissection des animaux sont réalisés au niveau du laboratoire de recherche, Biotechnologies, Environnement et Santé, université de Blida1.
- La technique histologique a été réalisée au laboratoire d'histologie au service de Cytologie à l'Hôpital Nafissa Hamoud d'Alger durant le mois de février 2020.
- L'observation microscopique et l'étude histopathologique des photomicrographies sont réalisés au laboratoire des projets de fin d'étude de la Faculté SNV à l'Université Blida-1

II.1.MATERIEL

- **Matériel animal**

Notre étude a été menée sur un échantillon de 15 rats femelles adultes de souche *Rattus norvigicus* Wistar, acquièrent de l'animalerie de l'institut pasteur de Kouba- Alger. Le poids corporels moyen des animaux est $137g \pm 7,13$.

- **Matériel technique**

L'ensemble des appareillages, verreries, solutions et des réactifs utiles pour l'expérimentation et l'étude histologique sont présentés dans l'annexe 1.

MIDA®, le nom commercial d'un insecticide néonicotinoïde de la famille des chloronicotinyloxyde, dont la matière active est l'imidaclopride. Ce produit chimique est présenté dans un flacon contenant 250 ml de solution concentrée à 20% (200 mg/ml), (Figure 7). L'insecticide est testé sous forme diluée en solution aqueuse selon les doses choisies (1/10 et 1/80 DL50) et d'après le poids corporels des rats.

➤ **Calcul de la première dose :**

Pour l'Imidaclopride (MIDA) DL50 est de 424mg/kg/jour chez la femelle des rats Wistar (Laramee, 2007), A partir de cette DL50 nous avons calculé la première dose, 1/10 DL50 d'IMI :

DL50 \longrightarrow 424 mg/kg

$$X = \frac{424}{10} = 42,4 \text{ mg/kg}$$

1/10 DL50 \longrightarrow X

$$X = 1/10 \text{ DL50 de MIDA} = 42,4 \text{ mg/kg}$$

Pour trouver le volume à prélever de la solution mère de l'insecticide, nous avons :

200mg \longrightarrow 1 ml

$$X_1 = \frac{42,4}{200} = 0,212 \text{ ml} = 212 \text{ } \mu\text{l}$$

42,4 mg \longrightarrow X₁

$$X_1 = \text{volume de } 1/10 \text{ DL50 de MIDA} = 212 \text{ } \mu\text{l}$$

Chercher une DL50 par rapport à un rat :

La dose administrée pour chaque rat est calculée par la suite en fonction de son poids,

Exemple : si le poids corporel de rat X est de 130g, la dose administrée sera par conséquent :

$$\begin{array}{l}
 1000\text{g} \longrightarrow 0,210 \text{ ml} \\
 130 \text{ g} \longrightarrow X_2
 \end{array}
 \qquad
 X_2 = \frac{130 \times 0,210}{1000} = 0,0273 \text{ ml} = 27,3 \mu\text{l}$$

X₂ = volume de 1/10 DL50 de MIDA administré pour le rat (130g) = 27,3 µl

➤ **Calcule de la deuxième dose :**

A partir de la DL50 nous avons calculé la deuxième dose choisie à 1/80 DL50 de MIDA :

$$\begin{array}{l}
 \text{DL50} \longrightarrow 424 \text{ mg/kg} \\
 1/80 \text{ DL50} \longrightarrow X_3
 \end{array}
 \qquad
 X_3 = \frac{424}{80} = 5,3 \text{ mg/kg}$$

X₃ = 1/80 DL50 de MIDA = 5,3 mg /kg

Pour trouver le volume à prélever de la solution mère, nous avons :

$$\begin{array}{l}
 200 \text{ mg} \longrightarrow 1 \text{ ml} \\
 5,3 \text{ mg} \longrightarrow X_4
 \end{array}
 \qquad
 X_4 = \frac{5,3}{200} = 0,0265 \text{ ml}$$

X₄ = volume de 1/80 DL50 de MIDA = 0,0265 ml = 26,5 µl

Chercher la 1/80 DL50 par rapport à un rat :

Exemple : si le poids corporel de rat X est de 135 g, la dose administrée sera par conséquent :

$$\begin{array}{l}
 1000\text{g} \longrightarrow 0,0265 \text{ ml} \\
 135 \text{ g} \longrightarrow X_2
 \end{array}
 \qquad
 X_2 = \frac{135 \times 0,0265}{1000} = 0,00357 \text{ ml} = 3,57 \mu\text{l}$$

$X_2 =$ volume de 1/80 DL50 de MIDA administré pour le rat (135 g) = 3,57 μl

II.2. METHODES**II.2.1. Elevage des animaux :**

Pour réaliser notre expérimentation, nous avons utilisé un modèle animale, les rats femelles de souche *Rattus norvegicus* Wistar. Les animaux acquièrent auprès de l'institut pasteur de Kouba- Alger. Les rattes sont réparties dans des cages de polypropylène de 30cm /40cm /15cm. Les cages, comportant une litière de copeaux de bois, ont été nettoyées une fois sur deux jours tout au long de l'expérimentation (Figure 8).

Dès leur arrivées à l'animalerie, les rattes sont soumises à une période d'acclimatation, pendant 1 semaine, à température ambiante ($24 \pm 1^\circ\text{C}$), et une photo période naturelle de 12h /12h. L'aliment et l'eau ont été fournis *ad libitum*. Tous les animaux reçoivent de l'eau par des biberons et un régime alimentaire standard équilibré sous forme de granulés. L'aliment est composé d'un concentré équilibrée glucides, protéines, lipides, vitamines et minéraux (49,80%, 34,50%, 10% et 5,70% respectivement) provenant de la société industrielle de concentré à Bouzerea, Alger.

Les manipulations sur les rates ont été effectuées dans le respect de leur bien-être, excluant tout type de stress susceptible d'interférer avec les résultats. Ces manipulations expérimentales ont été menées conformément au Comité d'Ethique de l'Université de Blida 1 et à la législation Algérienne de la protection des animaux d'expérimentation utilisées à des fins scientifiques [loi n°12-235 /2012 ; Décret exécutif n° 10-90].

II.2.2. Expérimentation

II.2.2.1. Réalisation de l'inoculation des rats femelles Wistar

Après la période d'adaptation, les rates ont été réparties en trois lots de cinq individus chacun ayant des poids corporels moyens rapprochés

Les rats des deux lots traités reçoivent 1 ml de la solution aqueuse de l'insecticide préparée (le volume calculé de l'insecticide complété à 1 ml avec de l'eau distillé stérile).

L'administration quotidienne de l'inoculum de traitement se fait par voie orale à l'aide d'une seringue munie d'une canule de gavage pendant 29 jours.

Les rats sont pesées chaque semaine à compter du premier jour de l'expérimentation à fin de recalculer la dose qui correspond à la DL 50 des animaux traités :

✚ **Lot 1** : Les rates du lot témoin reçoivent 1 ml d'eau distillée stérile par gavage.

✚ **Lot2** : Les rates ont été administrées quotidiennement par voie orale de 42,4 mg/kg/j (1/10 DL50 MIDA®) dissoute dans 1ml d'eau distillée stérile.

✚ **Lot3** : Les rates ont été traitées par gavage gastrique avec 5,3 mg/kg/j (1/10 DL50 MIDA®) dissoute dans 1ml d'eau distillée stérile.

Les cages de rats ont été approvisionnées de l'eau et la nourriture à volonté durant les 29 jours d'expérimentation.

Les doses ont été ajustées chaque semaine en cas de changement du poids corporel des deux lots traités par l'imidaclopride. Pour chaque lot, la masse vive moyenne de cinq rates engagées est retenue pour recalculer le volume administré de l'insecticide par rapport à l'évolution du poids corporel.

Durant la période de traitement, une attention particulière est accordée pour le suivi du comportement des rats femelles. Et cela pour la recherche de probables signes de toxicité ou d'allergie suite à l'administration de MIDA® en comparaison avec le lot témoin

II.2.3. Sacrifice des animaux et prélèvement des échantillons

Après la durée requise pour notre test de toxicité subchronique (29 jours de gavage quotidien), tous les animaux sont sacrifiés à la fin de l'expérimentation (J 30). Les rats de chaque lot sont pesés puis anesthésiés par l'éther éthylique à l'aide d'un coton légèrement imbibé de cette solution.

Les sacrifices sont réalisés la matinée, entre 8h et 11h afin d'éviter les variations hormonales pendant la journée.

Après décapitation rapide de la tête, le rat est placé sur sa partie ventrale dans la cuve à dissection. Nous avons coupé la peau à partir du nez jusqu'à l'arrière du cou, nous avons tiré sur la peau pour voir le crâne. Et on tient la tête par la peau avec le pouce et les doigts et à l'aide du scalpel placé à l'horizontale, on coupe soigneusement les os du crâne pour exposer l'encéphale et on utilise les pinces de la pince à dissection pour retirer les petits fragments d'os. L'encéphale est soigneusement prélevé et rincé avec une solution de chlorure de sodium (NaCl) à 0,9% et nettoyé ainsi du sang et des tissus adhérents.

L'encéphale est composé du cerveau (télencéphale), du tronc cérébral (diencéphale, mésencéphale, métencéphale ventral, myélocéphale) et du cervelet (métencéphale dorsal).

II.2.4. Effet des traitements sur le poids corporel et sur le poids de l'encéphale

Afin de suivre l'évolution de la masse corporelle et de recalculer le volume d'insecticide à administrer, l'ensemble des rats a fait l'objet de pesées hebdomadaires juste avant l'opération de traitement journalier.

La prise de poids corporel a été renouvelée cinq fois : avant le premier gavage (J1), après chaque 7 jours (J8), (J16), (J23) et les animaux ont été pesés également à la fin de l'expérimentation juste avant sacrifice (J30).

Après rinçage rapide, l'encéphale est récupéré de la solution NaCl, essuie avec du papier absorbant et en suite pesé avec une balance de précision (poids absolu de l'organe).

L'augmentation relative du poids corporels et le poids relatif de l'encéphale pour chaque animal ont été calculé comme suit :

$$\text{Augmentation relative du poids corporel (\%)} = \frac{(\text{Poids corporel à la fin de l'expérimentation (mg)} \times 100) - 100}{\text{Poids corporel au début de l'expérimentation (mg)}}$$

$$\text{Poids relatif de l'organe (\%)} = \frac{\text{Poids absolu de l'organe (mg)} \times 100}{\text{Poids corporel du rat le jour de sacrifice (mg)}}$$

II.2.5. Etude histologique

Afin d'obtenir des coupes histologiques colorées à l'hématoxyline-éosine prêtes à l'observation microscopique, le cerveau et le cervelet de chaque rats ont été imprégné dans plusieurs solutions suivant la technique adoptée par Martoja et Martoja (1967) (Voire les images de l'annexe 1).

II.2.5.1. Fixation et rinçage des tissus

La fixation a pour but d'immobiliser les cellules tout en conservant leurs morphologies. Le cerveau et le cervelet, sans être séparées, ont été plongés dans le formol commercialisé dilué à 10% pendant 48 heures, puis rincés à l'eau courante écoulée pendant 24 heures. Les organes ont été mis dans des cassettes afin de permettre le passage des liquides au cours de la manipulation.

II.2.5.2. Déshydratation, éclaircissement et inclusion

Les cassettes ont été ensuite placées dans un automate à l'histologie (un appareil de circulation) (figure... de l'annexe) qui sert à assurer la déshydratation, l'éclaircissement des tissus et l'inclusion à la paraffine. Chaque cassette passe dans plusieurs bains d'éthanol de concentration croissante (70°, 90°, et 100°) pendant 1 heure chacun afin d'éliminer l'eau des tissus. Ensuite, les cassettes ont été plongées dans deux bains successifs de xylène pendant 1 heure puis dans un bain de mélange xylène-paraffine 50% de chaque et ensuite dans un bain de

paraffine pure. Les blocs de paraffine ont été confectionnés dans des moules en métallique puis réfrigérés.

II.2.5.3. Confection des coupes

Les coupes ont été effectuées au microtome de type «Leica » à 4 à 5µm d'épaisseur.

II.2.5.4. Collage des rubans et séchage

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

II.2.5.5. Déparaffinage, réhydratation et coloration

Cette étape sert à retirer la paraffine du tissu et la remplacer par l'eau pour permettre la pénétration des colorants (les colorants sont hydrosolubles). Le déparaffinage a été réalisé dans un bain de xylène pendant 30 minutes et suivi par une réhydratation en immergeant les lames dans des bains d'alcool de degrés décroissant puis dans l'eau distillée. Les coupes ont été ensuite colorées à l'hématoxyline-éosine. Cette coloration topographique permet de visualiser la morphologie des cellules, le noyau en bleu et cytoplasme en rose violacé afin de déterminer leur répartition, architecture et structure.

II.2.5.6. Montage et observation

Après la coloration, les lames ont été mises dans un bain de xylène pour l'éclaircissement. Le montage a été effectué avec une lamelle fixée par l'Eukitt. Les lames ont été ensuite nettoyées au xylène puis séchées et observées au microscope optique aux différents grossissements (×100, ×400 et ×1000). La prise des photos a été effectuée à l'aide d'un appareil photos Samsung prime 5.

II.2.6. Etude statistique

Les résultats ont été représentés sous forme de moyennes avec leur écart-type (Moyenne ± SEM). L'analyse des données a été effectuée par le test de Student, qui est basé sur la comparaison des moyens inters et intra groupes. Le test ANOVA unidirectionnel avec le test *posthoc* de Tukey ont été appliqués pour comparer les différences entre les groupes expérimentaux. Le logiciel SPSS statistique version 23 a été utilisé pour analyser les données.

Les différences sont considérées comme :

- Significatives : lorsque $P < 0,05$.
- Hautement significatives : lorsque ($P < 0,01$).
- Très hautement significatives : lorsque ($P < 0,001$).

III. 1. RESULTATS

La recherche de quelques aspects de la neurotoxicité de l’insecticide MIDA®, à raison de 1 /10 DL50 (42,4mg/kg/jr) et 1/80 DL50 (5,3 mg/kg/jr), est basée sur l’étude de l’évolution pondérale et l’examen histopathologique au niveau du cerveau et du cervelet chez les rats femelles Wistar traitées pendant 29 jours par gavage.

III.1.1. Effet des traitements sur le comportement des rats

Nous avons remarqué, au cours de la quatrième semaine de traitement avec l’imidaclopride, une diminution de la voracité et de la quantité d’aliment ingérée par les rats. Nous avons constaté un changement de comportement. Les animaux intoxiqués présentent une diminution de l’activité avec tendance de rester dans les coins des cages par rapport aux individus témoins à comportement normal.

III.1.2. Evolution pondérale

Tableau I : Effet des différents traitements avec MIDA® sur l’évolution du poids corporel (PC) des rats Wistar et sur le poids absolu et relatif de l’encéphale

	Poids	Témoin	1/10 DL50	1/80 DL50
Corporel	Début exp. J1 (g)	132,80 ± 3,114	145,00 ± 5,099	133,20 ± 5,020
	Fin exp. J30 (g)	181 ± 4,00000 (***)	190 ± 5,52268 (***)	180,4 ± 6,34823 (***)
	Augmentation relative (%)	36,322 ± 2,955 (a)	31,166 ± 6,090 (a)	35,450 ± 1,754 (a)
Encéphale	Poids absolu (mg)	1739,92 ± 27,626 (b)	1719,32 ± 23,059 (a) (b)	1671,96 ± 53,599 (*) (a)
	Poids relatif (%)	0,960 ± ,0346 (b)	0,9020 ± ,0178 (*) (a)	0,924 ± 0 ,030 (a) (b)

Valeurs en moyennes ± écart type de 5 rats de chaque lot. (***) : Différence (entre J1 et J30) hautement significative à p <0,01. (*) : Différence significative à p < 0,05 en comparaison avec le témoin. (a) et (b) : groupes homogènes (non significativement différents) d’après test de Tukey au seuil de signification 0,05

III.1.2.1. Poids corporel

Les résultats de la croissance pondérale chez les rats témoins et traités par 1/10 et 1/80 DL50 MIDA® et leurs variations statistiques sont rassemblés dans la figure 9 (a et b), le tableau I et détaillés sur les tableaux III, IV, V et VII de l'annexe 2.

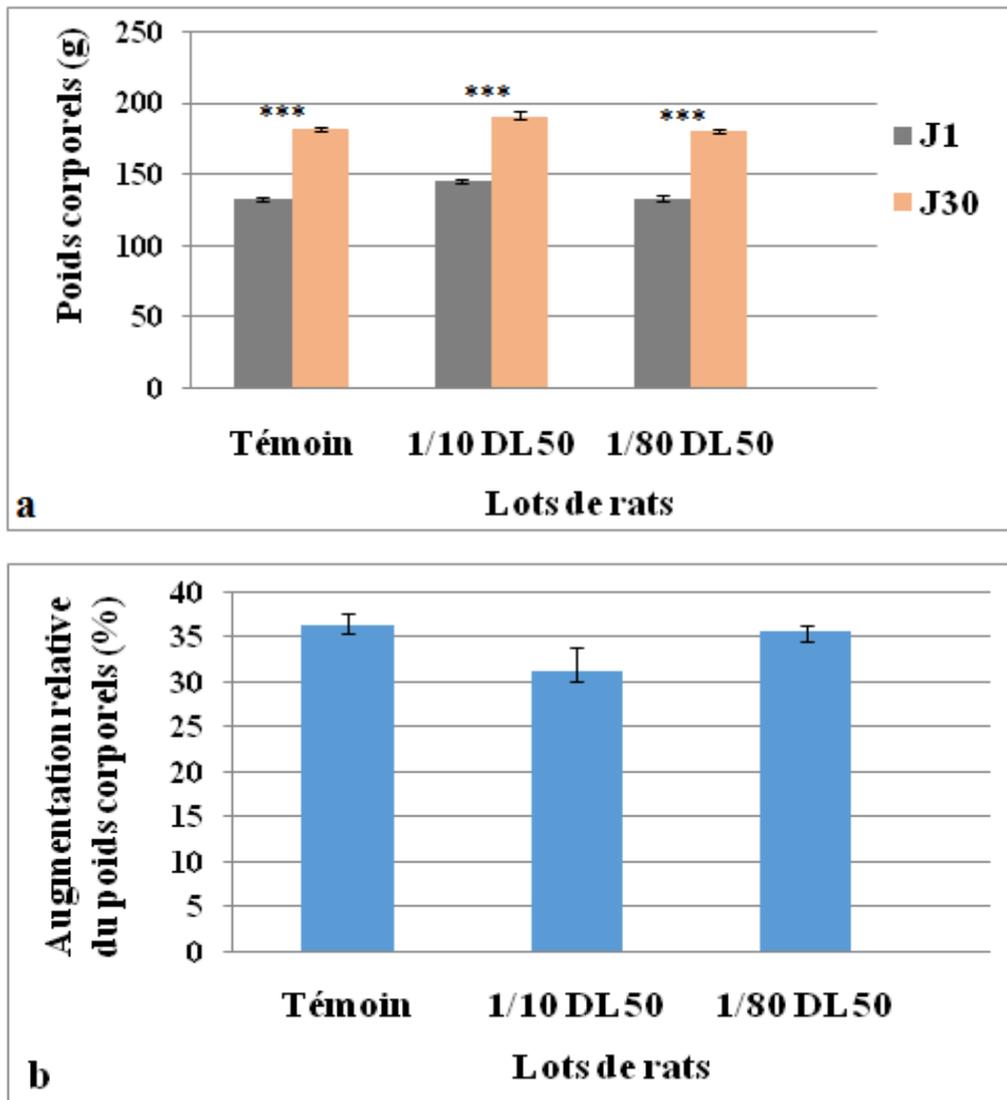


Figure 7 (a et b) : Evolution du de poids corporel absolu (a) et relatif (b) chez les rats témoins et traités par 1/10 et 1/80 DL50

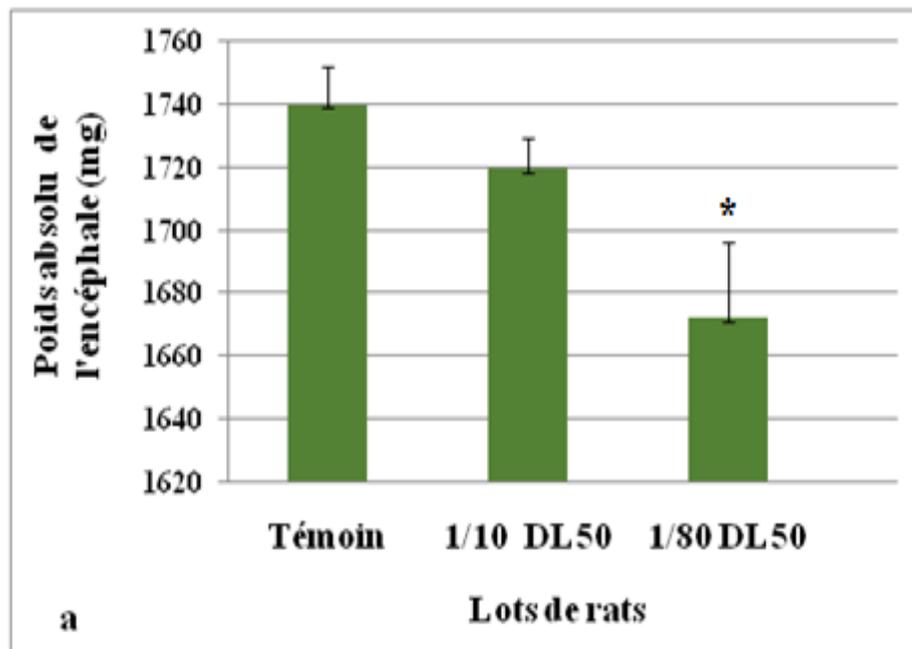
J1 : le premier jour de l'expérimentation. **J30 :** le jour du sacrifice. (***) : Différence statistiquement hautement significative

Selon les résultats obtenus après 30 jours d'expérimentation, nous avons enregistré une croissance pondérale chez tous les rats témoins et traités. Cette augmentation est de l'ordre de 36.32% chez les rats témoins ($132,8 \text{ g} \pm 3,114$ vs $181 \text{ g} \pm 4,00$) et de 31.16% chez les rats traités par 1/10 DL50 de MIDA ($145 \pm 5,099$ vs $190 \pm 5,52$) et de 35.45% chez les rats traités par 1/80 DL50 de MIDA ($133,20 \pm 5,020$ vs $180,40 \pm 6,348$).

L'analyse statistique de l'évolution pondérale entre le début et la fin de l'expérimentation montre un changement hautement significatif ($p < 0,01$) pour les rats témoins et traités. Cependant, l'analyse de la variance relative à l'effet des traitements sur l'augmentation relative du poids corporel révèle des différences non significatives ($p = 0,139$).

III.1.2.2. Poids de l'encéphale

Les résultats illustrés sur la figure 8 (a et b) et le tableau 1 présentent les variations des poids de l'encéphale chez les rats expérimentés. Les détails de l'étude statistique sont mentionnés sur les tableaux III, IV, V et VIII et VIII de l'annexe 2.



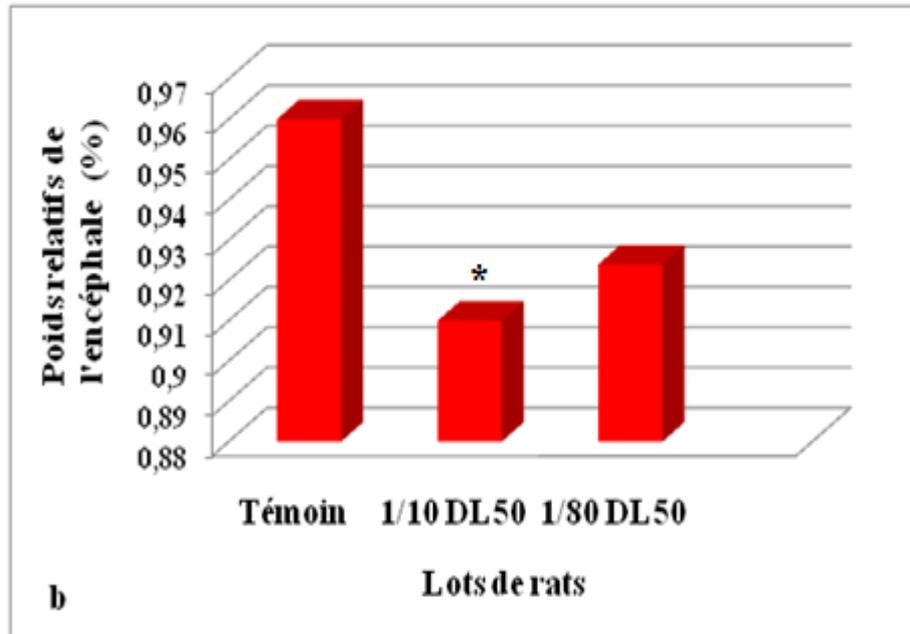


Figure 8 (a et b) : Variations des poids absolus (a) et des poids relatifs (b) de l'encéphale chez les rats témoins et traités à raison de 1/10 et 1/80 DL50 de MIDA®
Différence significative (*) en comparaison avec le témoin

Selon l'analyse de la variance relative à l'effet des traitements sur le poids de l'encéphale, les résultats montrent des différences significatives sur le poids relatif ($p=0,038$) et absolue ($p=0,023$) de l'encéphale.

D'après le test de comparaison multiple de Tukey, le regroupement de lots non significativement différents ainsi que la signification statistique en comparaison avec le témoin est mentionné sur le tableau 1.

III.1.3. Eude histopathologique

Les coupes histologiques du cerveau, l'hippocampe et de cervelets colorés à l'hématoxyline-éosine (H&E) des animaux du groupe témoin et ceux des groupes traités par l'imidaclopride ont été observées dans le but de mettre en évidence d'éventuelles altérations tissulaires provoquées par cet insecticide.

III.1.3.1. Histologie du cortex cérébrale

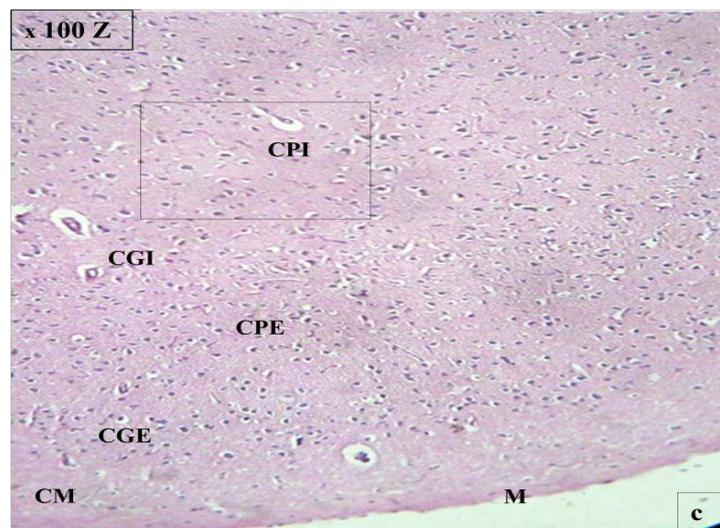
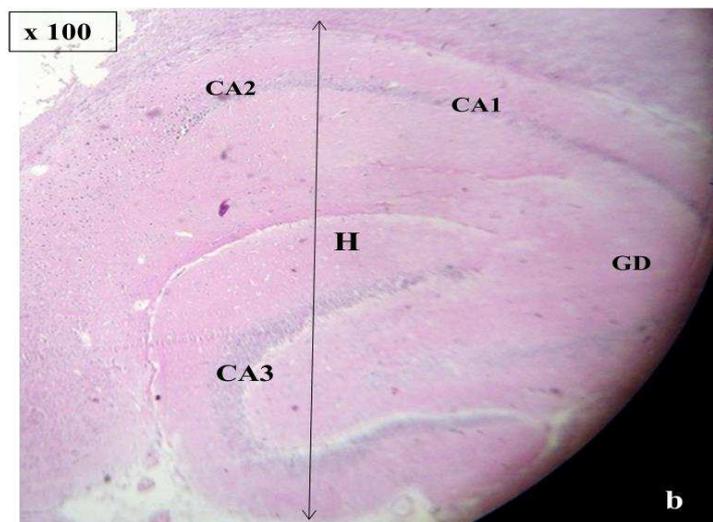
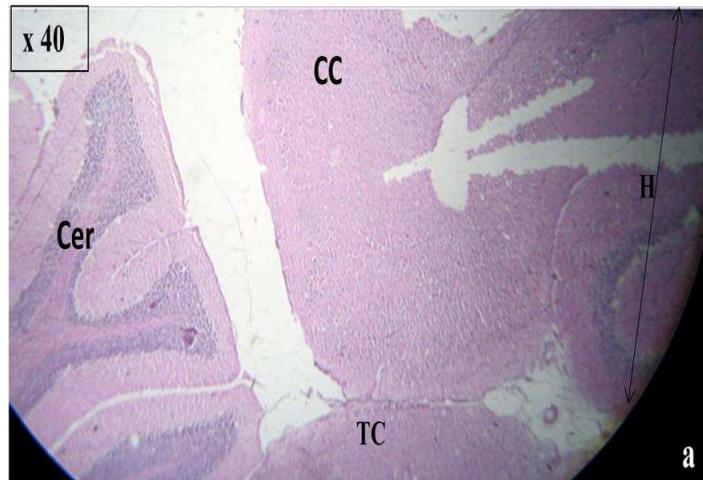
➤ Etude des coupes cérébrales chez les rats témoins

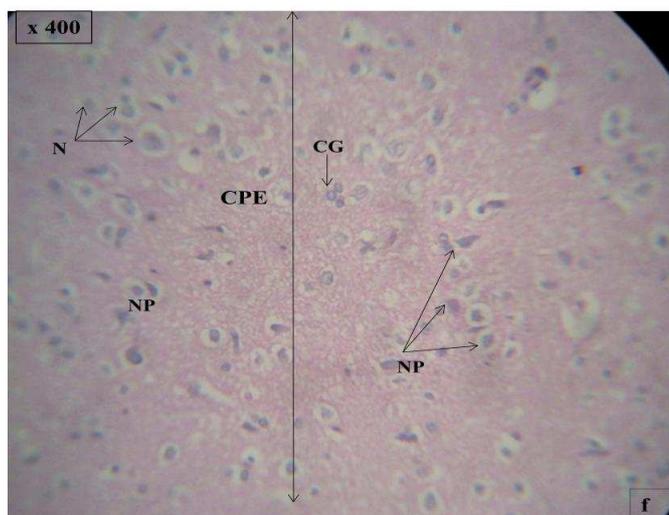
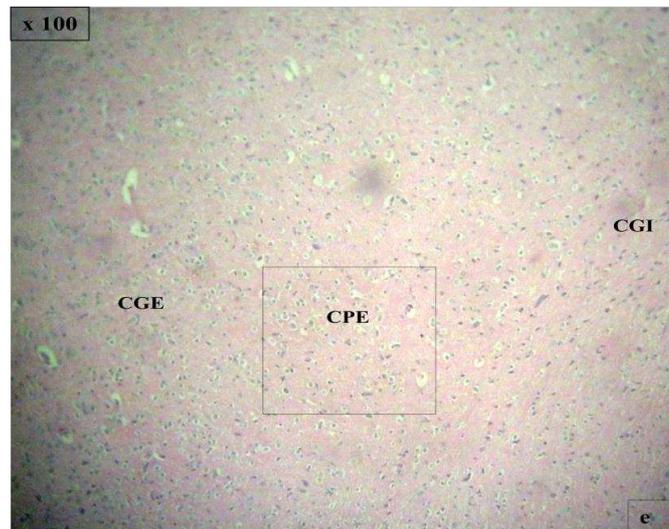
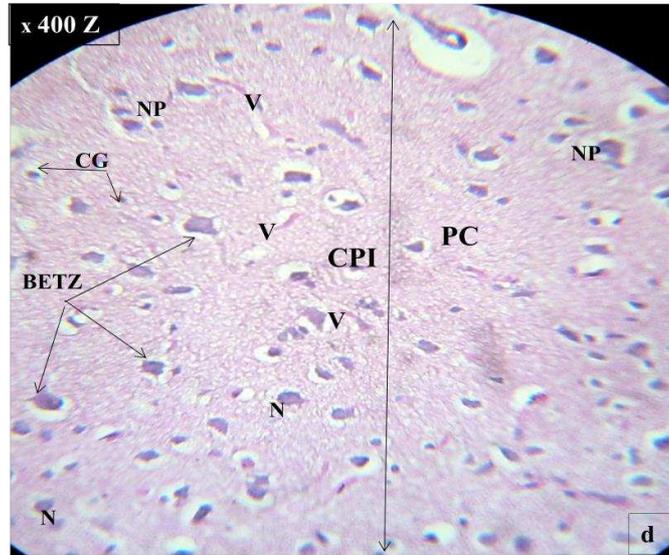
L'observation microscopique du tissu cérébral des rats témoins a permis de constater la conservation de la structure normale du cortex cérébral.

- L'analyse des coupes histologiques de l'hippocampe montre une architecture classique sans lésion visible au niveau des cornes d'Ammon et du gyrus denté. Il y'a une répartition cellulaire homogène (Figure 9- a et b).
- Le cortex cérébral, couche extérieure de la matière grise, est entourée avec une membrane cellulaire intacte, la pie mère (méninge interne) (Figure 9 - a et c).
- Nous observons des espaces périvasculaires normaux aux tours des capillaires et vaisseaux sanguins (Figure 9- c, d et f).
- Le cortex cérébral est organisé en plusieurs couches, mal délimitées les unes des autres, de composants différents et de structure intacte (Figure 9 c, d, e et f).
- Le parenchyme cérébral contient des corps cellulaires neuronaux de divers types et tailles (pyramidaux, ganglionnaires, cellules de BETZ), abondantes dendrites, des cellules gliales (astrocytes et cellules microgliales), et les portions amyélinisées des axones (Figure 9- d et f).

Figure 9 (a, b, c, d, e et f) : Structure histologique du cortex cérébral chez le rat Wistar femelle témoin (résultat original 2020)

CA : Corne d'Ammon; **GD** : Gyrus Denté ; **M** : Membrane de méninge; **H** : Hypocampe = **CA1+CA2+CA3 + GD** ; **CC** : cortex cérébral ; **Cer** : cervelet ; **TC** : tronc cérébral ; **CM**: couche moléculaire; **CGE**: couche granulaire externe; **CPE** : couche pyramidale externe ; **CGI**: couche granulaire interne, **CPI**: couche pyramidale interne, **NP** : neurones pyramidaux petits et moyens; **N** : neurones non pyramidaux ; **cellule de BETZ** : grandes cellules neurale pyramidale ; **CG** : cellules gliales ; **V** : vaisseaux sanguins ; **PC** : parenchyme cérébrale. **CC** : cortex cérébral.





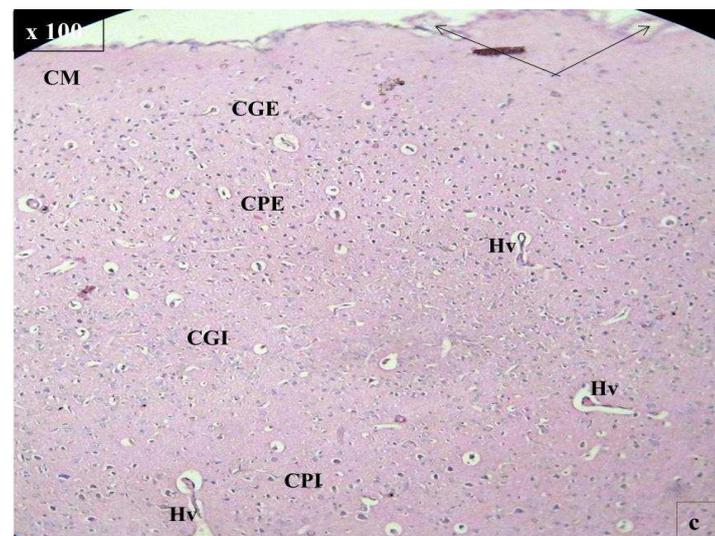
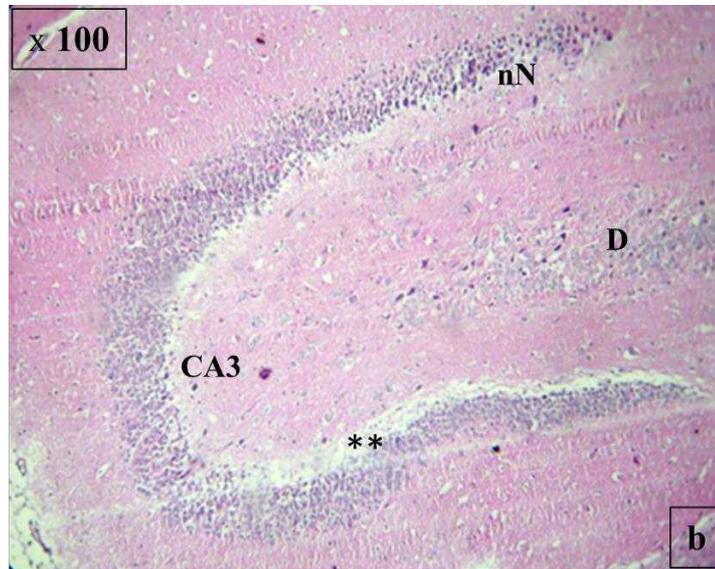
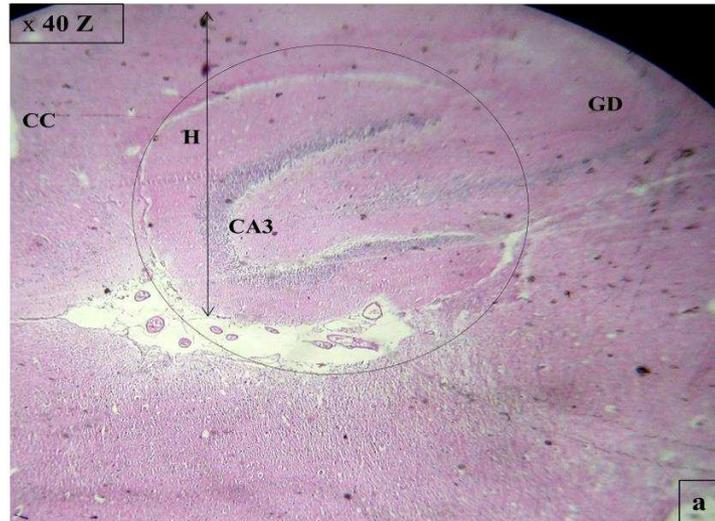
➤ **Etude des coupes cérébrales chez les rats traités avec 1/80 DL50 MIDA® pendant 29 jours**

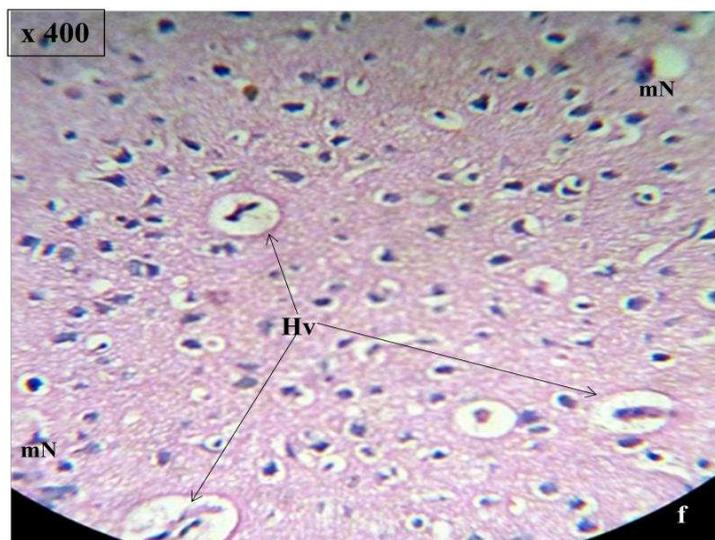
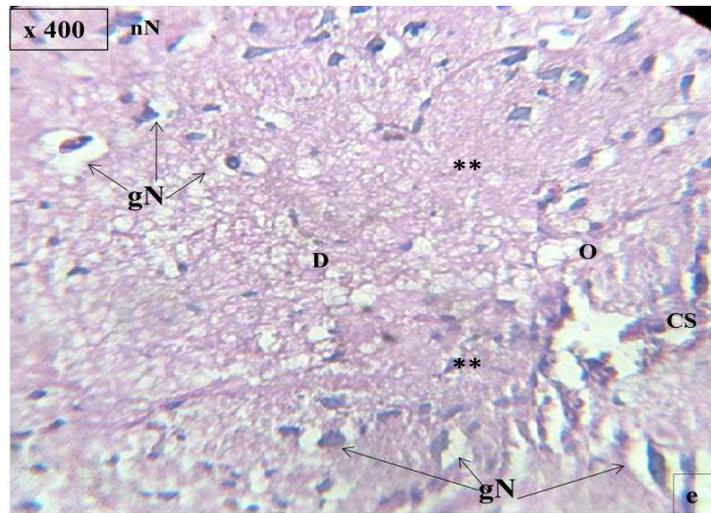
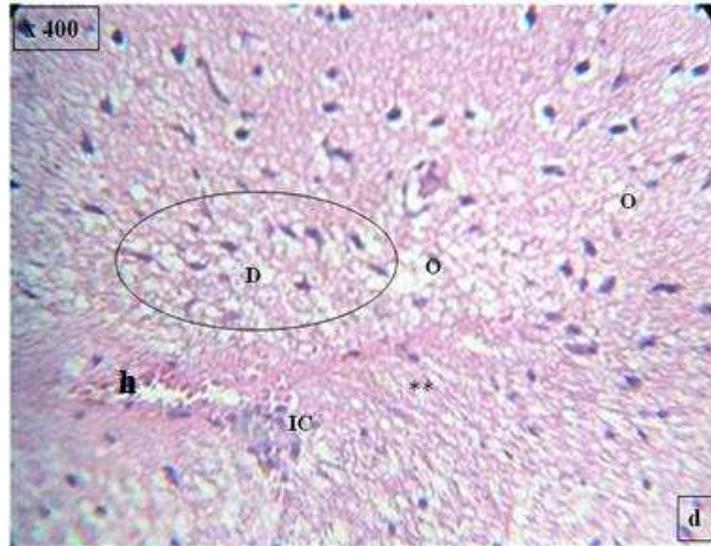
L'étude histologique du cortex cérébral chez les rats femelles traitées par gavage à 5,3 mg/kg/jr de l'imidaclopride, révèle des lésions cyto.-architecturales plus au moins importantes, marquées principalement par :

- Les cellules nerveuses de l'hippocampe montrent un aspect altéré en termes de morphologie, d'arrangement et de distribution cellulaires. Le tissu hippocampique est le siège d'un œdème. Nous observons par endroit noircissement de neurones, signe de nécrose (Figure 10 a et b).
- Présence de congestion méningiale et d'halo périvasculaire (Figure 10- c).
- Une atypie cellulaire neuronale focale, une hémorragie avec infiltration de leucocytes, œdème interstitiel (Figure 10- d).
- Présence de neurones dégénératifs à noyaux pycnotiques et un gonflement de neurones par vacuolisation autour du corps cellulaire neuronal, perte neurale, dégénérescence du parenchyme, congestion sanguine modérée (Figure 10-e).
- Présence de quelques neurones à noyaux pycnotiques, migration nucléaire et chromatolyse avec présence d'halo clair pericellulaire et périvasculaire (Figure 10-f).

Figure 10 (a, b, c, d, e et f) : Structure histologique du cortex cérébral chez le rat traité avec 1/80 DL50 MIDA (résultat original 2020)

nN : Noircissement neuronal à noyaux pycnotique ; **O** : Œdème ; ****** : Perte neuronale ; **flèche** : lésion de membrane, **D** : dégénérescence du parenchyme cérébrale ; **Cercle** : atypie et lésions de cellules neurales ; **H** : hémorragie ; **IC** : infiltrat cellulaire ; **gN** : gonflement de neurone ; **Cs** : congestion sanguine.. **mN** : migration des noyaux neurales ; **Hv** : Halo périvasculaire ; **CA** : Corne d'Ammon ; **GD** : Gyrus Denté ; **H** : Hypocampe ; **CC** : cortex cérébral ; **CM** : couche moléculaire ; **CGE** : couche granulaire externe ; **CPE** : couche pyramidale externe ; **CGI** : couche granulaire interne, **CPI** : couche pyramidale interne.





➤ **Etude des coupes cérébrales chez les rats traités avec 1/10 DL50 MIDA® pendant 29 jours**

Chez les rats administrés de 42,4 mg/kg/jr de l'imidaclopride, l'histologie du cortex cérébral montre des altérations neurodégénératives plus accentuées par rapport à celle observées avec le traitement à 1/80DL50. Les principales lésions histologiques sont les suivantes :

- Au niveau de l'hypocampe, nous observons une congestion sanguine et hémorragie importantes au niveau du gyrus denté, un dommage locale du parenchyme associés à la désorganisation et nécrose de quelques cellules nerveuses (Figure 11 a).

- Dégénérescence locale du parenchyme cérébrale avec perte neurale et œdème. La présence d'halo clair périvasculaire et noircissement neurale (Figure 11- b et c).

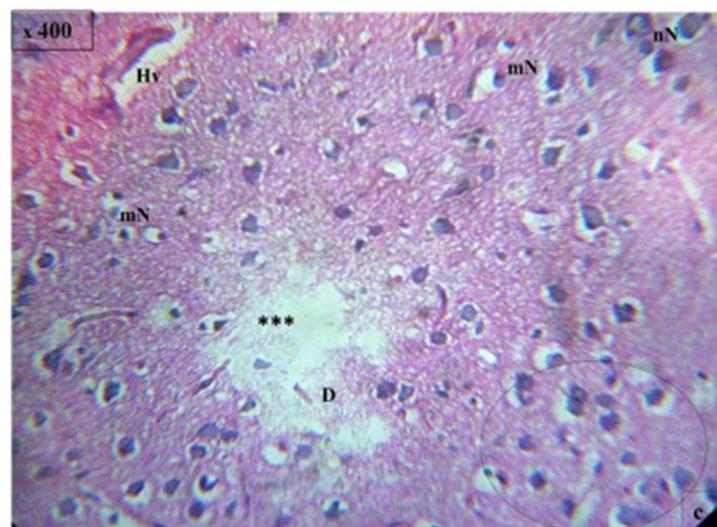
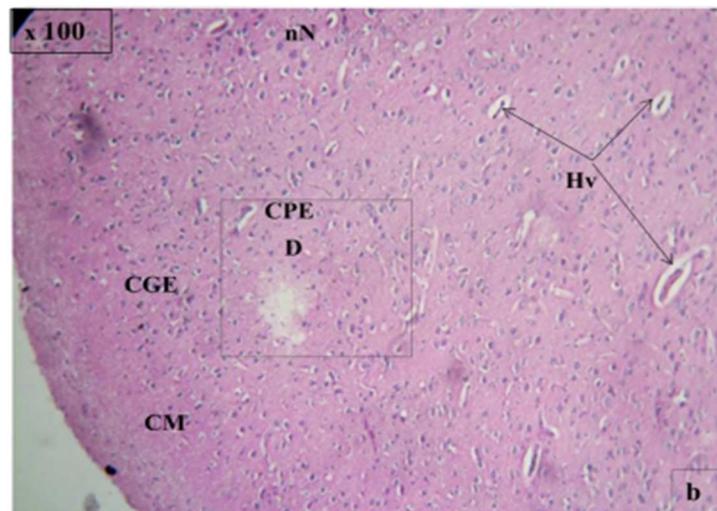
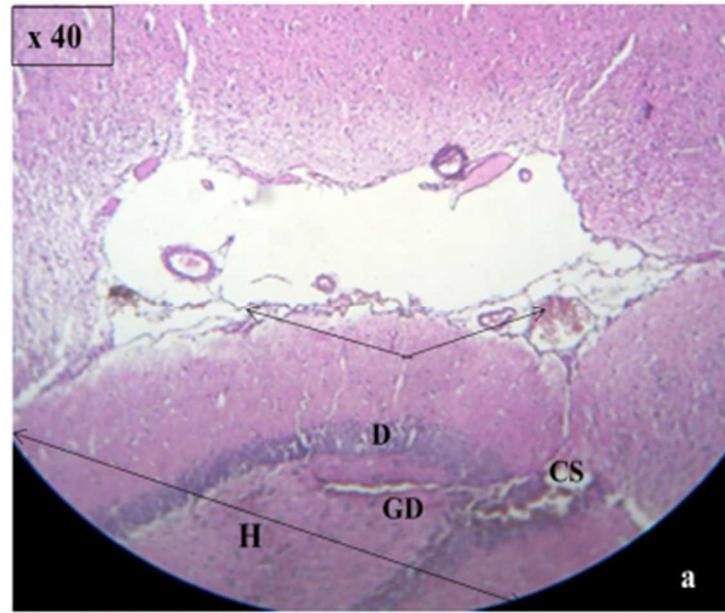
- Une lésion membranaire de la pie-mère et congestion modérée au niveau de méninges (Figure 11- a et d).

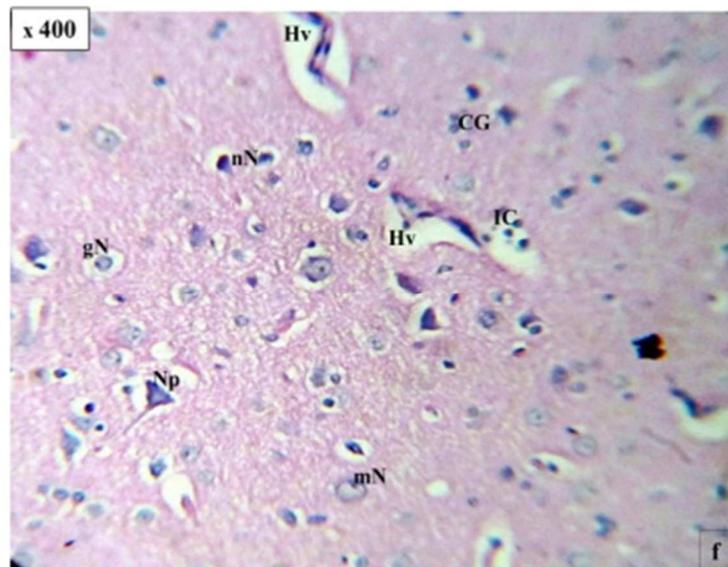
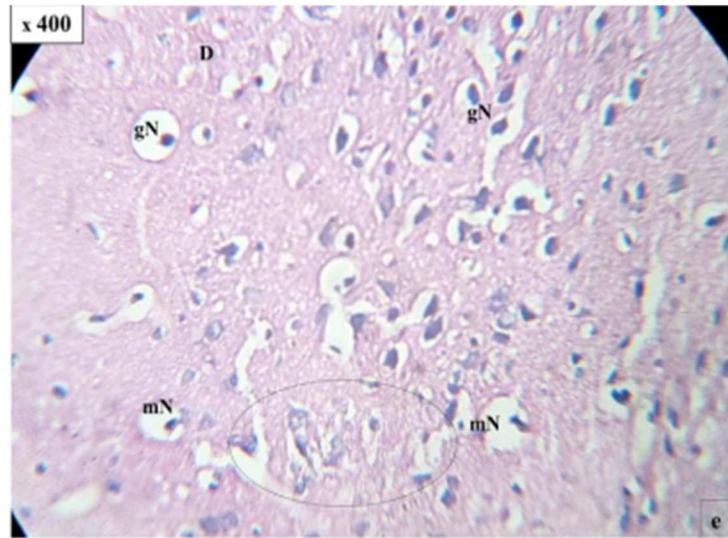
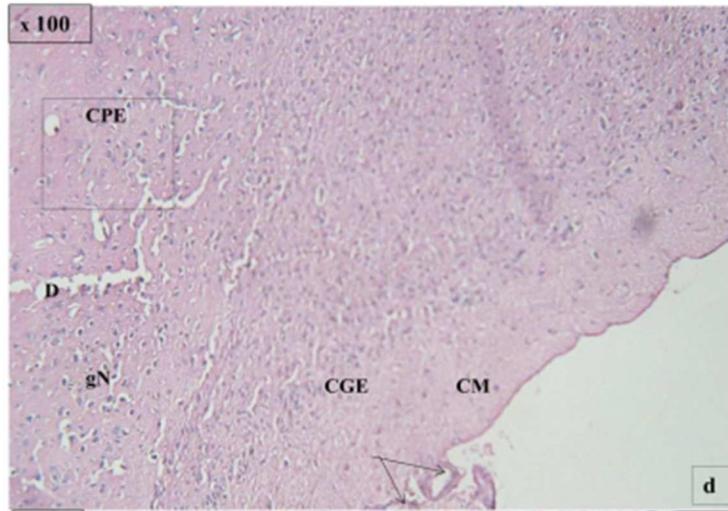
- Quelques cellules nerveuses présentent un aspect atypique, des neurones dégénératifs avec des noyaux pycnotiques, gonflement neurale par vacuolisation autour des neurones et migration nucléaire (Figure 11 -d, e et f).

- Nécrose de quelques neurones, présence d'halo clair périvasculaire associée à une infiltration cellulaire modérée (Figure 11- f).

Figure 11 (a, b,c, d, e, f) : Structure histologique du cortex cérébral chez traités avec 1/10 DL50 MIDA® Z : Gr avec zoom (résultat original 2020)

nN : Noircissement neuronal à noyaux pycnotiques ; **O** : Œdème ; ******* : Perte neuronale ; **flèche** : lésion de membrane pie mère, **D** : dégénérescence du parenchyme cérébrale : **Cercle** : atypie et lésions de cellules neurales ; **h** : hémorragie ; **IC** :infiltrat cellulaire ; **gN** : gonflement de neurone ; **Cs** :congestion sanguine.. **mN** :migration des noyaux neurales ; **Hv** : Halo périvasculaire ;





III.1.2.1. Histologie du cervelet

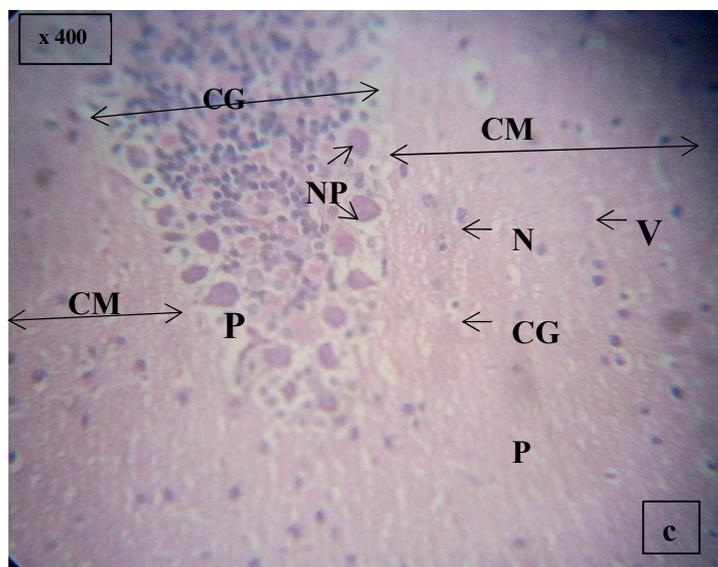
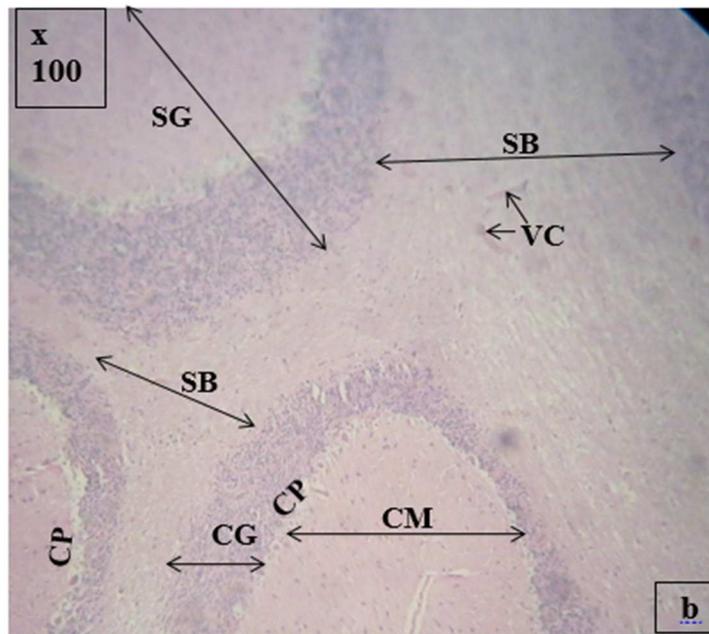
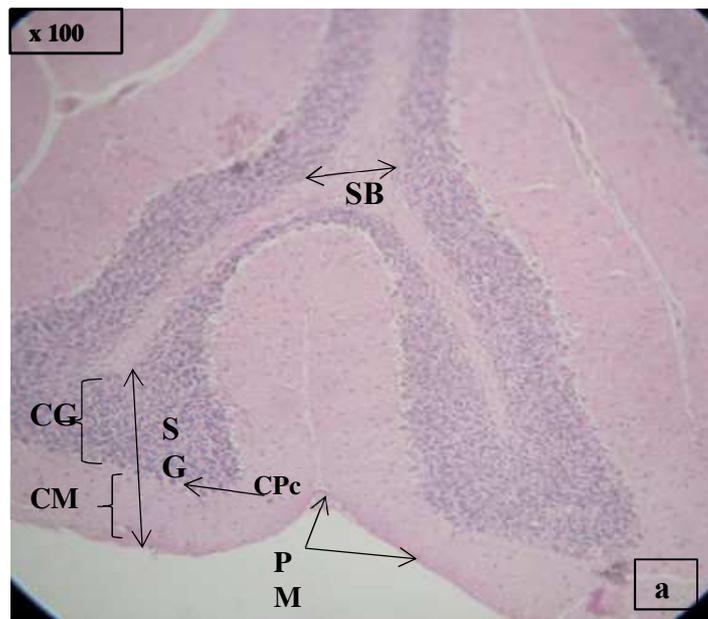
➤ **Etude des coupes histologiques du cervelet chez les rats Wistar femelles témoins**

L'étude histologique du cervelet chez les individus témoins montre une architecture histologique normale.

- Le cervelet est entouré de méninge, la pie mère intacte (Figure 12- a).
- La substance grise contient tous les corps cellulaires neuronaux. La substance blanche contient les faisceaux d'axones myélinisés. Les vaisseaux et capillaires ainsi que différents types de cellules gliales (astrocytes, oligodendrocytes et smicrogliales) y sont représentés aussi bien dans la substance grise que dans la substance blanche (Figure 12- b).
- La substance grise du cortex cérébelleux est composée de trois couches bien délimitées avec une répartition cellulaire homogène. La couche moléculaire, externe, contient l'arbre dendritique des cellules de Purkinje traversées de fibres parallèles. La couche de neurones multipolaires de Purkinje et la couche granulaire interne avec cellules dites en graines (Figure 12 a, b et c).

Figure 12 (a, b et c) : Structure histologique du cervelet chez les rats Wistar femelles témoins (résultat original 2020)

SB : substance blanche ; **SG** : substance grise ; **CM** : Couche Moléculaire ; **CG** : Couche Granulaire, **VC** : Vaisseau Congestive ; **CP** : Couche de cellules nerveuses de Purkinje. **NP** : Noyau de cellule de Purkinje. **PC** : Parenchyme du cervelet, **G** : cellule gliale, **V** : vaisseaux. **VC** : vaisseaux congestive.



➤ **Etude des coupes histologiques du cervelet chez les rats traités avec 1/80 DL50 MIDA®**

L'observation au microscope optique du cervelet provenant des individus traités avec la faible dose de l'imidaclopride, soit 5,3 mg/kg/jr, révèle des altérations structurales du parenchyme, résumées comme suit :

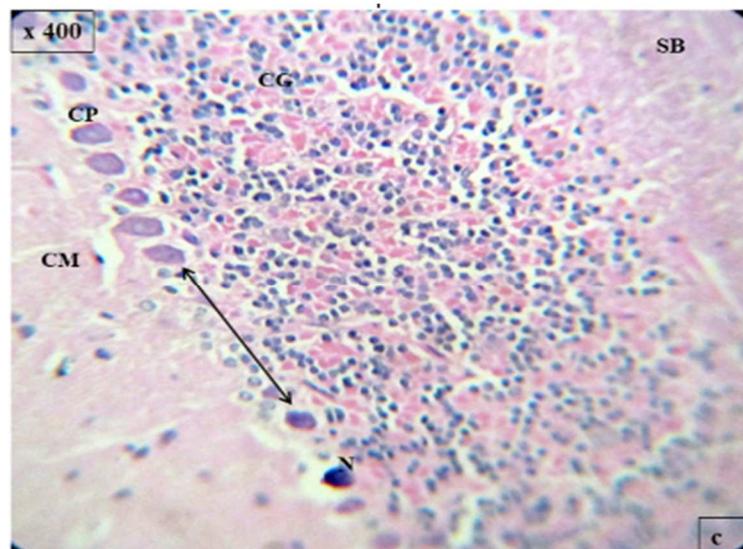
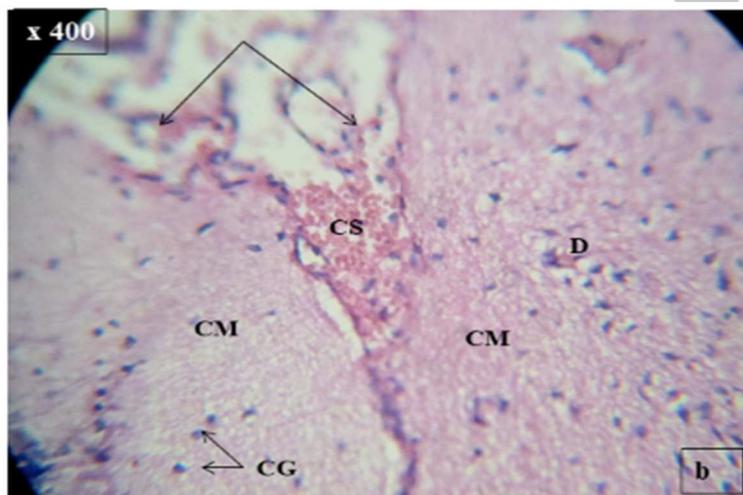
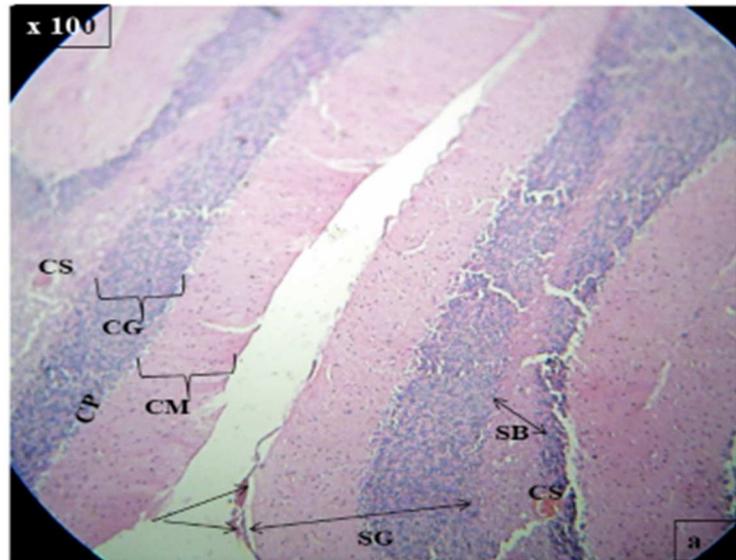
- Des congestions sanguines marquées du cervelet au niveau de la membrane de méninge (Figure 13- a et b) et la substance blanche (Figure 13- a et e).
- Modification de l'architecture de la couche moléculaire et des changements de dégénérescence des cellules gliales (Figure 13- b).
- Les cellules de Purkinje apparaissent espacées et rétractées. Avec noircissement neurale et perte de dendrites (Figure 13- c et d).
- Elargissement et désorganisation de la couche de Purkinje avec œdème important associé à une atrophie et nécrose de quelques neurones de Purkinje (Figure 13-d).
- Au niveau de la substance blanche, nous remarquons l'atypie de quelques cellules gliales, la dégénérescence du parenchyme associé à un œdème, hémorragie et infiltration cellulaire (Figure 13-e).

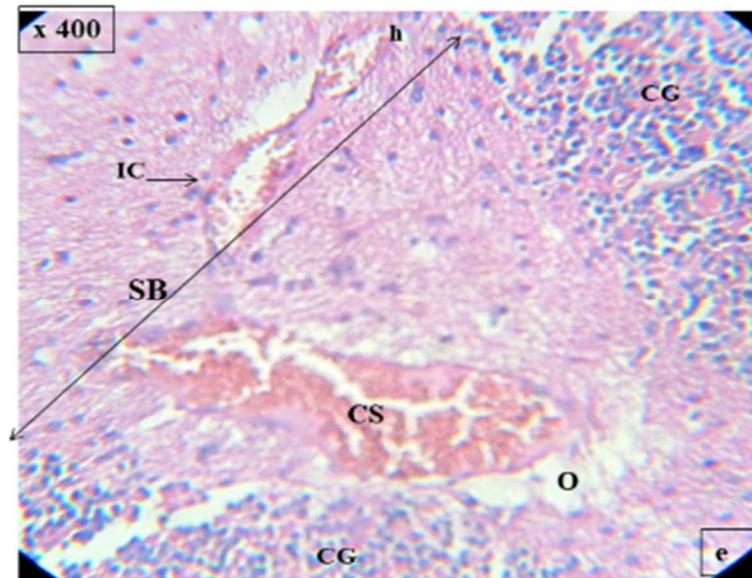
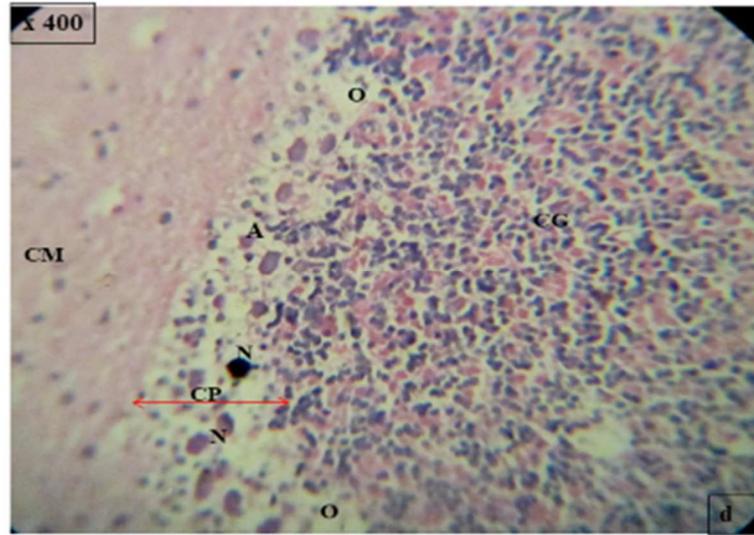
Figure 13 (a, b , c, d et e) : Structure histologique au niveau du cervelet chez les rats

Wistar traités avec 1/80 DL50 (résultat original 2020)

SB : substance blanche ; **SG** : substance grise ; **CM** : Couche Moléculaire ; **CG** : Couche Granulaire, **CP** : Couche de cellules nerveuses de Purkinje. **V** : vaisseaux.

CS : congestion sanguine ; **flèche** : lésion de la membrane méningée ; **G** : cellules gliale ; **D** : changement dégénératif des astrocytes ; **double flèche noire** : espacements entre deux cellules de Purkinje ; **double flèche rouge** : élargissement de la couche cellulaire de Purkinje ; **N** : nécrose et noyaux pycnotiques des cellules de Purkinje ; **A** : atrophie des cellules de Purkinje avec perte de dendrites ; **h** : hémorragie ; **O** : œdème ; **IC** : infiltration cellulaire.





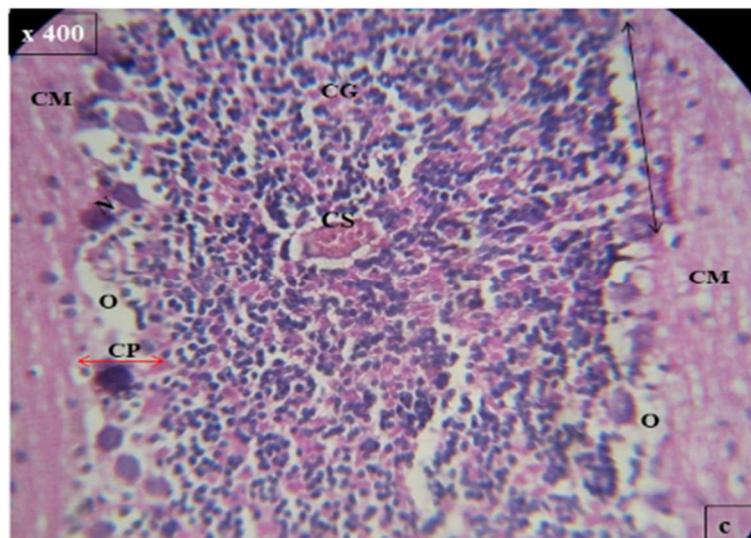
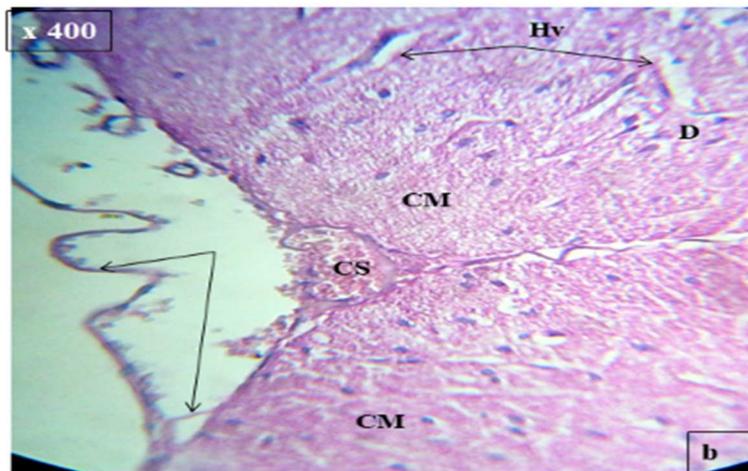
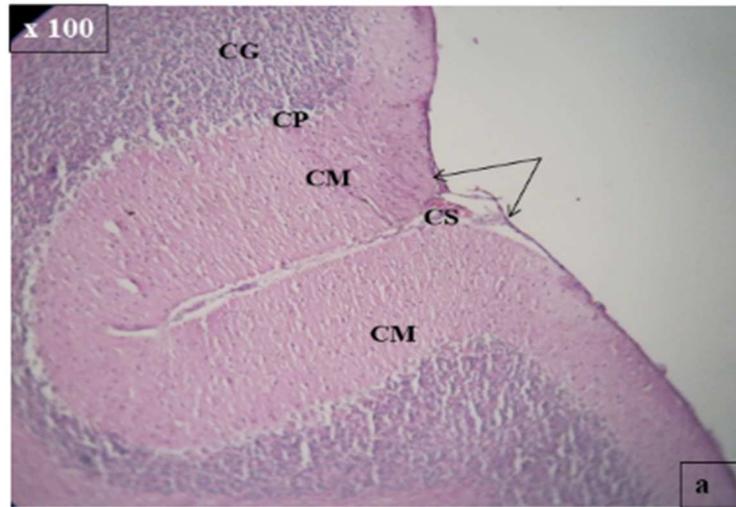
➤ **Etude des coupes cérébrales chez les rats traités avec 1/10 DL50**

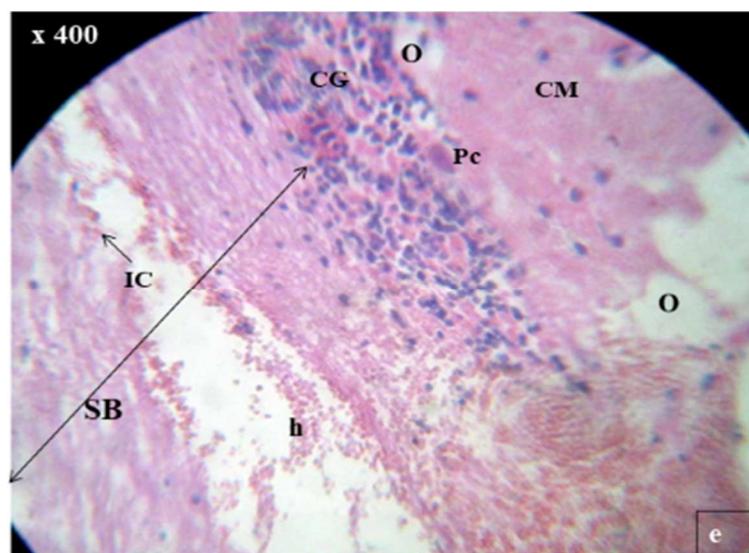
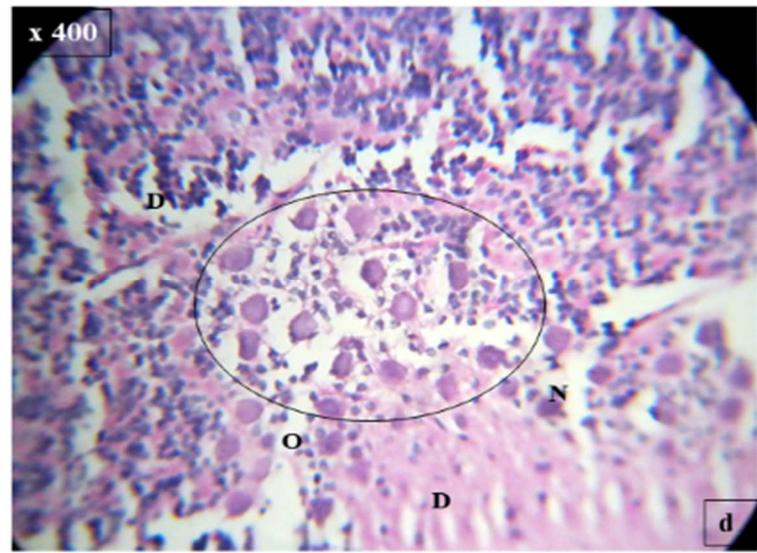
Les tissus cérébelleux provenant des individus traités avec l'imidaclopride à 42,4 mg/kg/jr pendant 29 jours présente des altérations structurales plus au moins semblables à celles observées avec le traitement à faible dose et illustrés comme suit :

- Détachement de la membrane cellulaire de la pie mère et congestion sanguine modérée (Figure 14- a et b).
- La couche moléculaire présente des vaisseaux congestifs dilatés et lésion du parenchyme par endroit (Figure 14- b et e).
- La couche de Purkinje montre quelques neurones dégénératifs à noyaux pycnotiques avec perte de dendrites et espacement entre les neurones ce qui suggère une perte neurale (Figure 14 -c).
- La désorganisation et de la couche de Purkinje et un œdème important, ce qui explique un élargissement de cette couche (Figure 14 -d).
- La couche granulaire est altérée par endroit et présente une congestion modérée et perte de quelques cellules granulaires (Figure 14- c et d).
- Changements dégénératifs et hémorragie diffuse dans la substance blanche du tissu cérébelleux (Figure 14 -e).

Figure 14 (a, b, c, d et e) : Structure histologique du cervelet chez les rats Wistar traités avec 1/10 DL50 (résultat original 2020)

SB : substance blanche ; **CM** : couche moléculaire ; **CG** : couche granulaire, **CP** : couche de neurones de Purkinje. **Cercle** : Désorganisation architecturale de la couche des cellules de Purkinje ; **G** : cellule gliale, **V** : vaisseaux. **VC** : vaisseaux congestive ; **CS** : congestion sanguine ; **flèche** : lésion de la membrane méningée **D** : changement dégénératif ; **double flèche noire** : espacements entre deux cellules de Purkinje ; **double flèche rouge** : élargissement de la couche cellulaire de Purkinje ; **N** : nécrose et noyaux pycnotiques des cellules de Purkinje ; **A** : atrophie des cellules de Purkinje avec perte de dendrites ; **h** : hémorragie ; **O** : œdème ; **IC** : infiltration cellulaire.





II. Discussion

Le présent travail porte sur la recherche de la neurotoxicité de MIDA[®] à raison de 1/10 DL50 (42,3 mg/kg/jr) et 1/80 DL50 (5,3 mg/kg/jr) pendant 29 jours par voie orale chez les rats femelles Wistar.

Nous avons remarqué une diminution de la voracité et de l'activité des rats à la quatrième semaine de traitement. Ces résultats sont en accord avec les travaux d'**Anadn et al. (1991)** et **Bourbia (2013)**, qui ont signalé une réduction dans la consommation de la nourriture chez les rats males survenue à une toxicité subchronique à l'imidaclopride. **Bhardwaj et al., (2010)** ont enregistré une salivation, une diarrhée et une mal nutrition chez les rats femelles Wistar traitées par 20 mg/kg/jr d'imidaclopride pendant 90 jours.

Dans nos conditions expérimentales, tous les rats témoins et traités ont présenté une évolution pondérale, cependant les traitements n'ont pas d'effet significatif sur l'augmentation relatives du poids corporel. Les travaux de **Bhardwaj et al., (2010)**, **Ichai et al., (2011)** et **Vargas-lopez et al., (2015)** suggèrent que l'administration des pesticides néonicotinoïdes provoque une diminution significative de la croissance corporelle considérée comme signe de toxicité et peut être traduite par la perturbation du métabolisme cellulaire sous l'effet du stress oxydatif engendré par les ROS ainsi que par d'autres médiateurs chimiques tels que certaine cytokine proinflammatoire que l'organisme puisse libérer après les effets toxiques des pesticides.

Le cerveau est le plus grand consommateur d'énergie d'où la production intense des radicaux libres. Cette évidence explique l'importance du cerveau dans le corps, mais aussi sa sensibilité aux xénobiotiques qui affectent globalement les enzymes mitochondriales, les enzymes de détoxification, les neurotransmetteurs ou encore induisent la voie de signalisation apoptotique, la nécrose cellulaire dans le cerveau (**Baltazar et al., 2014**).

Nos résultats histopathologiques montrent que l'imidaclopride a provoqué de multiples changements neurodégénératifs, dans le cortex cérébrale et le cervelet, et peut être neurotoxique à l'échelle cellulaire, affectant l'intégrité structurale du SNC et peut avoir des conséquences de dysfonctionnement.

Plusieurs études de toxicité rapportent des dommages histopathologiques similaires à nos observations chez des modèles animaux traités avec l'imidaclopride.

D'après **Vohra et Khera (2015)**, les coupes cérébrales de rats traités avec à 1 / 22e DL50 (20 mg/kg/jr) ont montré une hémorragie périvasculaire et migration nucléaire des neurones. Le traitement à l'imidaclopride à la dose 1/45e DL50 (10 mg/kg/jr) a montré des neurones dégénératifs avec des noyaux pycnotiques et un gonflement dans les neurones, une congestion méningée dans le cerveau et changements dégénératifs dans les cellules de Purkinje.

Il a été rapporté par **Soujanya et al. (2012)** que des coupes de cerveau de rats traités avec l'imidaclopride à 80 mg / kg a révélé une congestion marquée du cervelet, une dégénérescence des cellules de Purkinje avec perte de dendrites, vacuolisation autour des neurones et des neurones rétrécis au 14e jour de l'expérience. Le 28e jour, des coupes cérébrales révélées vacuolisation autour du corps cellulaire neuronal, chromatolyse et congestion marquée.

De même, **Bhardwaj et al., (2010)** ont révélé une vacuolisation autour du corps cellulaire neuronal, une chromatolyse une congestion une, nécrose des cellules de Purkinji avec perte de dendrites et de granules dans la couche granulaire du cervelet.

Nos résultats sont en accord avec ceux rapportés par **Karabay et Oguz (2005)** les coupes histologiques du cerveau traité par 1 / 45ème DL50 d'imidaclopride ont montré des neurones dégénératifs avec des noyaux pycnotiques et un gonflement des neurones. L'activité AChE cérébrale et plasmatique était significativement réduite à 1 / 22ème DL50 d'imidaclopride.

Nellore et al., (2013) rapportent les lésions observées dans différentes régions de l'encéphale chez les rats traités par voie orale à l'imidaclopride en doses multiples de 1 / 5ème DL50, c'est-à-dire 80 mg / kg à des intervalles de 48 heures et jusqu'au 25ème jour. L'hippocampe montre des noyaux vésiculaires dans les cellules gliales, moins de nerf, les corps des cellules gliales sont totalement dégénéré et apparaît comme un noyau vésiculaire. D'après la même étude le cortex cérébral montre la dégénérescence en cellules BETZ et nécrose dans le corps des cellules neurales. La nécrose se produit également dans les corps des cellules nerveuses. Le cervelet montre des changements dégénératifs et nécrotiques clairs dans les cellules de Purkinje et dans la couche granulaire et la couche moléculaire.

Les résultats de **Duzguner, et Erdogan (2010)** suggèrent que l'imidaclopride provoque un stress oxydatif et une inflammation du système nerveux central et du foie chez le rat. Le traitement par l'imidaclopride a augmenté le niveau de la transcription d'ARNm des cytokines inflammatoires ; du TNF-a, de l'IL-6 et de l'IL-1b de 2,5 à 5,2 fois dans le cerveau et le foie.

Inversement, l'ARNm de l'IL-10 médiateur anti-inflammatoire a été régulé à la baisse dans les deux organes.

Duzguner et Erdogan (2012) ont observé que la synthèse de l'oxyde nitrique synthase (iNOS) a augmenté dans le foie et le système nerveux central des rats exposés à l'imidaclopride et que sa toxicité induit un stress oxydatif et une inflammation chez le rat au niveau du foie et le cerveau.

Dans une autre étude réalisée par **Lonare et al. (2014)** pour évaluer l'effet neurotoxique de l'exposition orale à l'imidaclopride (45 et 90 mg / kg/jr; pendant 28 jours) chez les rats Wistar. Les résultats révèlent une augmentation significative de la LPO et des diminutions significatives de l'activité locomotrice spontanée (SLA) et du seuil de douleur, des taux d'acétylcholinestérase, d'ATPase et des diminutions significatives des substances biochimiques sériques telles que la créatine kinase, la lactate déshydrogénase (LDH), la sorbitol déshydrogénase (SDH) et la phosphatase alcaline (PA). En plus de lésions histopathologiques au niveau du cerveau.

Les travaux de **Taibi et al., (2020)** ont démontré que l'exposition à l'imidaclopride pendant 28 jours chez des rats Wistar engendre une diminution significative de l'activité locomotrice qui a révélé l'accumulation de l'imidaclopride ou ses métabolites dans le cerveau. L'imidaclopride a un effet dépressif, il exerce une dépression légère sur le système nerveux.

Selon l'étude réalisé par **Farag et al., (2019)**, le traitement des rats Wistar à 0,1 ml d'imidaclopride pendant 90 jours a provoqué la neurotoxicité révélé par une diminution significative de taux de l'acide gamma aminobutyrique (GABA), augmentation significative de la sorbitol déshydrogénase (SDH), diminution significative du glutathion (GSH), la superoxyde dismutase (SOD) n'a pas été affectée par l'exposition à l'IMI. Exposition IMI régule à la hausse le gène du récepteur 2 (TLR2) dans le cerveau, réactivité immuno-positif intense de TLR2 dans le cerveau. Histopathologiquement, des altérations significatives du cerveau ont été observés, comme la dégénérescence neuronale, la démyélinisation, neuronophagie à côté des hémorragies, nécrose. En plus de congestions modérées à légères du cerveau et des vaisseaux sanguins méningés ont été remarqués. L'hyperplasie et dégénérescence dans la zone de l'hippocampe, l'hyperplasie épendymaire et choroïde, gliose multifocale et / ou diffuse avec agrégations d'oligodendrocytes sont observés.

L'étude de **Khaldoun-Oularbi, et al., (2017)** montre que l'administration orale subchronique de l'insecticide thiaméthoxame à des rats a causé des dommages histopathologiques des effets destructeurs sur l'hippocampe et le cervelet du rat montrant une neuro-dégradation des neurones pyramidaux et des cellules à granules, une structure de mousse entre les neurones de l'hippocampe, dégénérescence et décollement de la couche cellulaire pyramidale et dégénérescence de couche de cellules de Purkinje dans le cervelet.

Des résultats similaires sur l'altération du SNC et le stress oxydatif cérébrale ont été rapportés chez les espèces non-mammifères traités avec l'imidaclopride.

D'après **Tian et al. (2018)**, la réponse de la toxicité cérébrale chronique des poissons *Gobiocypris rarus* aux insecticides néonicotinoïdes imidaclopride et nitenpyram a été étudié en déterminant le stress oxydatif. Les résultats indiquent que l'imidaclopride pourrait avoir des effets indésirables plus importants sur le cerveau des vairons rares chinois. Les activités de la superoxyde dismutase (SOD) n'ont pas changé de manière significative. Une augmentation notable des activités de la catalase (CAT) a été observée sur les tissus cérébraux sous 0,1 mg / L d'imidaclopride. La teneur en malondialdéhyde (MDA) a nettement augmenté sous les traitements d'imidaclopride à 2,0 mg / L. La teneur en glutathion (GSH) dans le cerveau a augmenté de manière significative sous 0,5 et 2,0 mg / L d'imidaclopride ($p < 0,05$). Une diminution significative a été observée des taux d'ARNm. 2,0 mg / Les activités de l'AChE ont augmenté de façon marquée sous 0,5 mg / L d'imidaclopride.

D'après **Rawi et al., (2019)**, des cailles japonaises traités par une dose unique d'imidaclopride (1/4 DL50) par voie orale, ont montré une diminution significative dans l'activité enzymatique de l'AChE après 72h de l'exposition et une augmentation significative des deux hormones corticales NE et 5-HT. La dose administrée a fortement affecté la structure histologique du cortex cérébral des cailles. L'IMI a causé une congestion neurale des vaisseaux sanguins, une neurodégénérescence au niveau du cortex cérébral, une pyknose et un brassage périvasculaire avec les cellules gliales.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

La neurotoxicité des insecticides chimiques chez les mammifères et les troubles neurologiques consécutives constituent une préoccupation majeure.

L'objectif de la présente étude est d'évaluer la neurotoxicité d'un insecticide néonicotinoïde MIDA[®], largement utilisé en Algérie à raison de 1/10 et 1/80 DL50 de l'imidaclopride soit respectivement 42,3 mg/kg/jr et 5,3 mg/kg/jr pendant 29 jours par gavage des rats femelles Wistar.

A la lumière des résultats obtenus, nous pouvons conclure les notes suivantes :

- Les différents traitements n'ont pas d'effets significatifs sur l'augmentation relative du poids corporel.
- L'analyse de la variance révèle une différence significative du poids absolue et relatif de l'encéphale entre les différents groupes de rats.
- En comparaison avec le témoin, l'étude histopathologique des parenchymes cérébral et cérébelleux révèle de multiples lésions. Les dommages tissulaires sont plus ou moins importants et s'accroissent en fonction de la dose administrée.

Les principales lésions observées sont les suivantes :

- Au niveau du cortex cérébral :

Une congestion méningée modérée, l'installation des changements dégénératifs au niveau du parenchyme (la présence d'un œdème interstitiel et d'halo claire périvasculaire, perte de cellules nerveuses...)

Atypie de quelques neurones (migration nucléaire, vacuolisation, noyaux pycnotiques, cellules nerveuses rétractées et nécrosés ...).

- Au niveau de l'hippocampe :

Un œdème, une congestion sanguine importante et une désorganisation de l'architecture du tissu.

- Au niveau du tissu cérébelleux :

Le cortex cérébelleux montre une lésion et congestion de la pie mère.

L'altération de la structure des couches moléculaire (vaisseaux congestifs) et granulaire (pertes de cellules à granules et congestion modérée).

L'élargissement et la désorganisation de la couche de Purkinje, conséquentes à un œdème important associé l'espacement de neurones de Purkinje ayant un aspect rétractés et nécrosés avec perte de dendrites.

La substance blanche du cervelet montre un aspect dégénéré et hémorragique par endroit.

Ces altérations neurodégénératives suggèrent la cérébro-toxicité et la cérébelleux- toxicité de l'imidaclopride chez les mammifères. L'insecticide MIDA[®] peut être neurotoxique à l'échelle cellulaire et moléculaire affectant le fonctionnement du SNC

Au terme de notre étude nous formulons les perspectives suivantes :

- Il serait intéressant de chercher la toxicité chronique et l'évaluation des paramètres de stress oxydatif cérébral.
- Reprendre une étude neuro-toxicologique plus détailler sur des rats femelles gestantes et évaluer la neurotoxicité chronique de ce xénobiotique chez les descendants pour chercher les effets néfastes sur le développement du SNC.
- Chercher la dose NOEL sans effets histopathologiques au niveau du SNC et sur la batterie du stress oxydatif.
- Rechercher les effets améliorais des traitements avec l'imidaclopride associée à la supplémentation de différents types d'antioxydants sur la neurotoxicité et le stress oxydatif.
- Utiliser la microscopie électronique afin de chercher les lésions à l'échelle ultra-structurale.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abd-El-Ghaney, A. (2002).** Study the effect of imidacloprid insecticide on some physiological parameters in Japanese quail. *Al-Azhar University*.
- Abou-Donia, M. B., Goldstein, L. B., Bullman, S., Tu, T., Khan, W. A., Dechkovskaia, A. M., & Abdel-Rahman, A. 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. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 71(2), 119-130.
- Agarwal, R., & Srinivas, R. (2007).** Severe neuropsychiatric manifestations and rhabdomyolysis in a patient with imidacloprid poisoning. *American Journal of Emergency Medicine*, 7(25), 844-845.
- Ahmed, M. M., & Nasr, S. A. (2015).** Protective effect of broccoli and ferulic acid on imidacloprid-induced neurotoxicity in rats. *Journal of Biomedical and Pharmaceutical Research*, 4(4), 82-89.
- Anadón, A., Martínez-Larrañaga, M. R., Díaz, M. J., Bringas, P., & Fernandez, M. C. (1991).** Effect of deltamethrin on antipyrine pharmacokinetics and metabolism in rat. *Archives of toxicology*, 65(2), 156-159.
- Anderson, C. (1991).** Photodegradation of NTN 33893 in water. *Miles Inc. Study*, (99708), 51950-0027.
- Annabi, E., Ben Salem, I., & Abid-Essefi, S. (2019).** Acetamiprid, a neonicotinoid insecticide, induced cytotoxicity and genotoxicity in PC12 cells. *Toxicology mechanisms and methods*, 29(8), 580-586.
- Arfat, Y., Mahmood, N., Tahir, M. U., Rashid, M., Anjum, S., Zhao, F., ... & Yin, C. (2014).** Effect of imidacloprid on hepatotoxicity and nephrotoxicity in male albino mice. *Toxicology reports*, 1, 554-561.
- Arkam, F.(2019).** *Evaluation de la toxicité de l'imidaclopride (insecticide chimique, néonicotinoïde) et Métarhizium anisopliae (Bio-insecticide entomo-pathogène) sur terrain et en conditions contrôlées* (Doctoral dissertation, Université Blida1-Saad Dahlab), 158-166.
- Ascherio, A., Chen, H., Weiskopf, M. G., O'Reilly, E., McCullough, M. L., Calle, E. E., ... & Thun, M. J. (2006).** Pesticide exposure and risk for Parkinson's disease. *Annals of*

Neurology: Official Journal of the American Neurological Association and the Child Neurology Society, 60(2), 197-203.

Badawy, M. H., Ahmed, N. S., & Attia, A. M. (2018). Sub-acute oral toxicity of imidacloprid and fipronil pesticide mixture in male albino rats; biochemical and reproductive toxicity evaluation. *J Mater Environ Sci*, 9, 2431-7.

Bal, R., Naziroğlu, M., Türk, G., Yilmaz, Ö., Kuloğlu, T., Etem, E., & Baydas, G. (2012). Insecticide imidacloprid induces morphological and DNA damage through oxidative toxicity on the reproductive organs of developing male rats. *Cell biochemistry and function*, 30(6), 492-499.

Baldi, I., Cordier, S., Coumoul, X., Elbaz, A. (2003) : Pesticides, effets sur la santé. Exp collect Inserm 8-12.

Baldi, I., Filleul, L., Mohammed-Brahim, B., Fabrigoule, C., Dartigues, J. F., Schwall, S., ... & Brochard, P. (2001). Neuropsychologic effects of long-term exposure to pesticides: results from the French Phytoner study. *Environmental health perspectives*, 109(8), 839-844.

Ballard-Croft, C., Locklar, A. C., Keith, B. J., Mentzer Jr, R. M., & Lasley, R. D. (2008). Oxidative stress and adenosine A1 receptor activation differentially modulate subcellular cardiomyocyte MAPKs. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 294(1), H263-H271.

Baltazar, M. T., Dinis-Oliveira, R. J., de Lourdes Bastos, M., Tsatsakis, A. M., Duarte, J. A., & Carvalho, F. (2014). Pesticides exposure as etiological factors of Parkinson's disease and other neurodegenerative diseases—a mechanistic approach. *Toxicology letters*, 230(2), 85-103.

Bass, C., Denholm, I., Williamson, M. S., & Nauen, R. (2015). The global status of insect resistance to neonicotinoid insecticides. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 121, 78-87.

Bass, C., & Field, L. M. (2018). Neonicotinoids. *Current Biology*, 28(14), R772-R773.

Bear, M. F., Connors, B. W., & Paradiso, M. A. (2016). *Neurosciences: à la découverte du cerveau*. Editions Pradel, John Libbey Eurotext.

Benamar, M. and Léonard. (2009). Les psychotrope pharmacologie et toxicomanie. Montréal:PUM. p894 .

Bérézowski, V., Canu, M. H., Duriez, P., Langlet, C., Mariot, P., & Pétrault, O. (2016). *Physiologie humaine-Tout le cours en fiches: Licence, STAPS, Santé.* Dunod.

Bhardwaj, S., Srivastava, M. K., Kapoor, U., & Srivastava, L. P. (2010). A 90 days oral toxicity of imidacloprid in female rats: morphological, biochemical and histopathological evaluations. *Food and chemical toxicology*, 48(5), 1185-1190.

Bhaskar, R., Mishra, A. K., & Mohanty, B. (2014). Effects of mancozeb and imidacloprid pesticides on activities of steroid biosynthetic enzymes cytochromes P450. *J Kalash Sci*, 2, 1-6

Bindhumol, V., Chitra, K. C., & Mathur, P. P. (2003). Bisphenol A induces reactive oxygen species generation in the liver of male rats. *Toxicology*, 188(2-3), 117-124.

Blacquiere, T., Smaghe, G., Van Gestel, C. A., & Mommaerts, V. (2012). Neonicotinoids in bees: a review on concentrations, side-effects and risk assessment. *Ecotoxicology*, 21(4), 973-992.

Bourbia, S. (2013). Évaluation de la toxicité de mixtures de pesticides sur un bio-indicateur de la pollution des sols *Helix aspersa*, Doctorat Thesis. *Univ Annaba pp177*.

Brunet, J. L., Maresca, M., Fantini, J., & Belzunces, L. P. (2004). Human intestinal absorption of imidacloprid with Caco-2 cells as enterocyte model. *Toxicology and applied pharmacology*, 194(1), 1-9.

Byholm, P., Mäkeläinen, S., Santangeli, A., & Goulson, D. (2018). First evidence of neonicotinoid residues in a long-distance migratory raptor, the European honey buzzard (*Pernis apivorus*). *Science of the Total Environment*, 639, 929-933.

Casida, J. E. (2018). Neonicotinoids and other insect nicotinic receptor competitive modulators: progress and prospects. *Annual review of entomology*, 63, 125-144.

Chen, M., Tao, L., McLean, J., & Lu, C. (2014). Quantitative analysis of neonicotinoid insecticide residues in foods: implication for dietary exposures. *Journal of agricultural and food chemistry*, 62(26), 6082-6090.

Chen, X., Li, F., Chen, A., Ma, K., Liang, P., Liu, Y., ... & Gao, X. (2017). Both point mutations and low expression levels of the nicotinic acetylcholine receptor $\beta 1$ subunit are associated with imidacloprid resistance in an *Aphis gossypii* (Glover) population from a Bt cotton field in China. *Pesticide biochemistry and physiology*, 141, 1-8.

- Cillard, J., & Cillard, P. (2006).** Mécanismes de la peroxydation lipidique et des anti-oxydations. *Oleagineux, corps gras, lipides*, 13(1), 24-29.
- Cimino, A. M., Boyles, A. L., Thayer, K. A., & Perry, M. J. (2017).** Effects of neonicotinoid pesticide exposure on human health: a systematic review. *Environmental health perspectives*, 125(2), 155-162.
- Craddock, H. A., Huang, D., Turner, P. C., Quirós-Alcalá, L., & Payne-Sturges, D. C. (2019).** Trends in neonicotinoid pesticide residues in food and water in the United States, 1999–2015. *Environmental Health*, 18(1), 7.
- Crossman, A.R. and Neavy, D. (2004).** Neuroanatomie. Paris: Elsevier Masson. 174 P.
- Desmier, T. (2016).** *Les antioxydants de nos jours : définition et applications. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie.* Université de Limoges, France. P88.
- Deviers, A. (2013).** *Evaluation morphologique des lésions nerveuses induites par un produit chimique : validation chez le rat* (Doctoral dissertation). Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 79 p.
- Duzguner, V., & Erdogan, S. (2010).** Acute oxidant and inflammatory effects of imidacloprid on the mammalian central nervous system and liver in rats. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 97(1), 13-18.
- Duzguner, V., & Erdogan, S. (2012).** Chronic exposure to imidacloprid induces inflammation and oxidative stress in the liver & central nervous system of rats. *Pesticide biochemistry and physiology*, 104(1), 58-64.
- Elbaz, A., & Tranchant, C. (2007).** Epidemiologic studies of environmental exposures in Parkinson's disease. *Journal of the neurological sciences*, 262(1-2), 37-44.
- El-Gendy, K. S., Aly, N. M., Mahmoud, F. H., Kenawy, A., & El-Sebae, A. K. H. (2010).** The role of vitamin C as antioxidant in protection of oxidative stress induced by imidacloprid. *Food and chemical Toxicology*, 48(1), 215-221.
- El-Halwagy, M. E., Hussein, R. H., Hamza, A. H., & Al-Bishri, W. M. (2018).** Hepatoprotective Effect of Alpha lipoic Acid versus Intoxication with Imidacloprid Widely Used in KSA in Albino Rats. *INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICAL RESEARCH AND ALLIED SCIENCES*, 7(3), 224-+.
- European Food Safety Authority (EFSA). (2016).** Peer review of the pesticide risk assessment of the active substance pendimethalin. *EFSA Journal*, 14(3), 4420.

- Farag, M. R., Abou-EL Fotoh, M. F., EL-Sayed, G. G., & EL-Sayed, E. W. (2019).** Modulatory Effect of Ginger Aqueous Extract against Imidacloprid-Induced Neurotoxicity in Rats. *Zagazig Veterinary Journal*, 47(4), 432-446.
- Favier, A. (2003).** Le stress oxydant: Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Actualité chimique*, (11/12), 108-115.
- Fossen, M. (2006).** Environmental fate of imidacloprid. *California Department of Pesticide Regulation*, 1-16.
- Fritz, R., & Hellpointer, E. (1991).** Degradation of pesticides under anaerobic conditions in the system water/sediment: Imidacloprid.
- Gamet-Payraastre, L., & Lukowicz, C. (2017).** Les effets des mélanges de pesticides. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 52(5), 234-238.
- Gawade, L., Dadarkar, S. S., Husain, R., & Gatne, M. (2013).** A detailed study of developmental immunotoxicity of imidacloprid in Wistar rats. *Food and chemical toxicology*, 51, 61-70.
- Girard, L., Reix, N., & Mathelin, C. (2020).** Impact des pesticides perturbateurs endocriniens sur le cancer du sein. *Gynécologie Obstétrique Fertilité & Sénologie*, 48(2), 187-195.
- Gómez Pajuelo, A. (2013).** Neonicotinoides versus abejas.
- Gu, Y. H., Li, Y., Huang, X. F., Zheng, J. F., Yang, J., Diao, H., ... & Xu, W. P. (2013).** Reproductive effects of two neonicotinoid insecticides on mouse sperm function and early embryonic development in vitro. *PloS one*, 8(7), e70112.
- Hassan, A.M.S, El-Ela, F. I. A., Abdel-Aziz, A. M. (2019).** Investigating the potential protective effects of natural product quercetin against imidacloprid-induced biochemical toxicity and DNA damage in adults rats. *Toxicology reports*, 6, 727-735.
- He, C., Liang, J., Liu, S., Wang, S., Wu, Q., Xie, W., & Zhang, Y. (2019).** Changes in the expression of four ABC transporter genes in response to imidacloprid in Bemisia tabaci Q (Hemiptera: Aleyrodidae). *Pesticide biochemistry and physiology*, 153, 136-143.
- Huang, N. C., Lin, S. L., Chou, C. H., Hung, Y. M., Chung, H. M., & Huang, S. T. (2006).** Fatal ventricular fibrillation in a patient with acute imidacloprid poisoning. *The American journal of emergency medicine*, 24(7), 883-885

Hung, Y. M., & Meier, K. H. (2005). Acute® Confidor (imidacloprid-N-methyl pyrrolidone) insecticides intoxication with mimicking cholinergic syndrome. *Toxicology and Industrial Health*, 21(3-4), 137-140.

Ichai, C., Quintard, H., & Orban, J. C. (2011). *Désordres métaboliques et réanimation: de la physiopathologie au traitement* (pp. 427-428). Springer-Verlag France.

Jeschke, P., Nauen, R., Schindler, M., & Elbert, A. (2011). Overview of the status and global strategy for neonicotinoids. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(7), 2897-2908.

Kammon, A. M., Brar, R. S., Banga, H. S., & Sodhi, S. (2010). Patho-biochemical studies on hepatotoxicity and nephrotoxicity on exposure to chlorpyrifos and imidacloprid in layer chickens. *Veterinarski arhiv*, 80(5), 663-672.

Kanthasamy, A., Jin, H., Anantharam, V., Sondarva, G., Rangasamy, V., Rana, A. (2012) . Emerging neurotoxic mechanisms in environmental factors-induced neurodegeneration. *Neurotoxicology*, 33(4), 833-837.

Kapoor, U., Srivastava, M. K., Bhardwaj, S., & Srivastava, L. P. (2010). Effect of imidacloprid on antioxidant enzymes and lipid peroxidation in female rats to derive its No Observed Effect Level (NOEL). *The Journal of toxicological sciences*, 35(4), 577-581.

Karabay, N. U., & Oguz, M. G. (2005). Cytogenetic and genotoxic effects of the insecticides, imidacloprid and methamidophos. *Genetics and Molecular Research*, 4(4), 653-662.

Khaldoun-Oularbi, H., Bouzid, N., Boukreta, S., Makhlouf, C., Derriche, F., & Djennas, N. (2017). Thiamethoxam Actara® induced alterations in kidney liver cerebellum and hippocampus of male rats. *Journal of xenobiotics*, 7(1).

Kim, J., Park, Y., Yoon, K. S., Clark, J. M., & Park, Y. (2013). Imidacloprid, a neonicotinoid insecticide, induces insulin resistance. *The Journal of toxicological sciences*, 38(5), 655-660.

Kimura-Kuroda, J., Komuta, Y., Kuroda, Y., Hayashi, M., & Kawano, H. (2012). Nicotine-like effects of the neonicotinoid insecticides acetamiprid and imidacloprid on cerebellar neurons from neonatal rats. *PLoS One*, 7(2), e32432.

Kumar, A., Verma, A., & Kumar, A. (2013). Accidental human poisoning with a neonicotinoid insecticide, imidacloprid: A rare case report from rural India with a brief review of literature. *Egyptian Journal of Forensic Sciences*, 3(4), 123-126

Kusuyama, J., Bandow, K., Shamoto, M., Kakimoto, K., Ohnishi, T., & Matsuguchi, T. (2014). Low intensity pulsed ultrasound (LIPUS) influences the multilineage differentiation of mesenchymal stem and progenitor cell lines through ROCK-Cot/Tpl2-MEK-ERK signaling pathway. *Journal of Biological Chemistry*, 289(15), 10330-10344.

Laramée, S. (2007). *L'abeille domestique comme bio-indicateur écotoxicologique de polluants: le cas de l'insecticide imidaclopride* (Doctoral dissertation). Centre apicole de recherche et d'information, université catholique de Louvain-la-Neuve, Belgique.

Laycock, I., Lenthall, K. M., Barratt, A. T., & Cresswell, J. E. (2012). Effects of imidacloprid, a neonicotinoid pesticide, on reproduction in worker bumble bees (*Bombus terrestris*). *Ecotoxicology*, 21(7), 1937-1945.

Li, P., Ann, J., & Akk, G. (2011). Activation and modulation of human $\alpha 4\beta 2$ nicotinic acetylcholine receptors by the neonicotinoids clothianidin and imidacloprid. *Journal of neuroscience research*, 89(8), 1295-1301.

Liu, Z., Yao, X., & Zhang, Y. (2008). Insect nicotinic acetylcholine receptors (nAChRs): Important amino acid residues contributing to neonicotinoid insecticides selectivity and resistance. *African Journal of Biotechnology*, 7 : 4935-4939.

Lonare, M., Kumar, M., Raut, S., Badgujar, P., Doltade, S., & Telang, A. (2014). Evaluation of imidacloprid-induced neurotoxicity in male rats: a protective effect of curcumin. *Neurochemistry international*, 78, 122-129.

Lonare, M., Kumar, M., Raut, S., More, A., Doltade, S., Badgujar, P., & Telang, A. (2016). Evaluation of ameliorative effect of curcumin on imidacloprid-induced male reproductive toxicity in wistar rats. *Environmental Toxicology*, 31(10), 1250-1263.

Lu, C., Chang, C. H., Palmer, C., Zhao, M., & Zhang, Q. (2018). Neonicotinoid residues in fruits and vegetables: an integrated dietary exposure assessment approach. *Environmental science & technology*, 52(5), 3175-3184.

MAPAQ, (2012). Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation. Impact des traitements de semences sur les insectes ravageurs.

Matsuda, K., Buckingham, S. D., Freeman, J. C., Squire, M. D., Baylis, H. A., & Sattelle, D. B. (1998). Effects of the α subunit on imidacloprid sensitivity of recombinant nicotinic acetylcholine receptors. *British journal of pharmacology*, 123(3), 518-524.

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

Matsuda, K., & Sattelle, D. B. (2005). Mechanism of selective actions of neonicotinoids on insect nicotinic acetylcholine receptors. *New discoveries in agrochemicals*. p. 172–83.

Mesnager, R., Biserni, M., Genkova, D., Wesolowski, L., & Antoniou, M. N. (2018). Evaluation of neonicotinoid insecticides for oestrogenic, thyroidogenic and adipogenic activity reveals imidacloprid causes lipid accumulation. *Journal of Applied Toxicology*, 38(12), 1483-1491.

Migdal, C., & Serres, M. (2011). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *médecine/sciences*, 27(4), 405-412.

Miguel-Bouzas, J.C., Castro-Tubio, E., Bermejo-Barrera, A.M., FernandezGomez, P., Estevez-Nunez, J.C. Et Tabernero-Duque, M.J. (2012). *Epidemiological study of acute poisoning cases treated at a Galician hospital between 2005 and 2008*. Adicciones; 24(3):239-46.

Mikolić, A., & Karačonji, I. B. (2018). Imidacloprid as reproductive toxicant and endocrine disruptor: investigations in laboratory animals. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*, 69(2), 103-108.

Millar, N. S., & Denholm, I. (2007). Nicotinic acetylcholine receptors: targets for commercially important insecticides. *Invertebrate Neuroscience*, 7(1), 53-66.

Mitchell, E. A., Mulhauser, B., Mulo, M., Mutabazi, A., Glauser, G., & Aebi, A. (2017). A worldwide survey of neonicotinoids in honey. *Science*, 358(6359), 109-111.

Morrissey, C. A., Mineau, P., Devries, J. H., Sanchez-Bayo, F., Liess, M., Cavallaro, M. C., & Liber, K. (2015). Neonicotinoid contamination of global surface waters and associated risk to aquatic invertebrates: a review. *Environment international*, 74, 291-303.

Motaung, T. E. (2020). Chloronicotynyl insecticide imidacloprid: Agricultural relevance, pitfalls and emerging opportunities. *Crop Protection*, 131, 105097.

Mustard, J. A., Gott, A., Scott, J., Chavarria, N. L., & Wright, G. A. (2020). Honeybees fail to discriminate floral scents in a complex learning task after consuming a neonicotinoid pesticide. *Journal of Experimental Biology*, 223(5).

Nabiuni, M., Parivar, K., Noorinejad, R., Falahati, Z., Khalili, F., & Karimzadeh, L. (2015). The reproductive side effects of imidacloprid in pregnant Wistar rat. *International Journal of Cellular & Molecular Biotechnology.*, 8, 9.

Nadam, J. (2007). *Le système EPOergique cérébral : caractérisation et implication dans la protection neuronale au cours de l'épileptogénèse* (Doctoral dissertation).

Nasr, H. E., Shalaby, A. A., Ragheb, D. A., Hendawi, M. Y., & Sauv , S. (2019). ENZYME ACTIVITY AND TIME-COURSE QUANTITATIVE DISTRIBUTION OF AN ORAL DOSE OF IMIDACLOPRID IN MALE RAT TISSUES. *Zagazig Journal of Agricultural Research*, 46(5), 1387-1394.

Nawaz, S., S nchez, P., Schmitt, S., Snaidero, N., Mitkovski, M., Velte, C., ... & Rhee, J. S. (2015). Actin filament turnover drives leading edge growth during myelin sheath formation in the central nervous system. *Developmental cell*, 34(2), 139-151

Nemmiche, S. (2017). Oxidative signaling response to cadmium exposure. *Toxicological Sciences*, 156(1), 4-10.

Neuwelt, E. A., Bauer, B., Fahlke, C., Fricker, G., Iadecola, C., Janigro, D., ... & Saunders, N. R. (2011). Engaging neuroscience to advance translational research in brain barrier biology. *Nature Reviews Neuroscience*, 12(3), 169-182.

 zdemir, S., Altun, S., & Arslan, H. (2018). Imidacloprid exposure cause the histopathological changes, activation of TNF- α , iNOS, 8-OHdG biomarkers, and alteration of caspase 3, iNOS, CYP1A, MT1 gene expression levels in common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Toxicology reports*, 5, 125-133.

Park, Y., Kim, Y., Kim, J., Yoon, K. S., Clark, J., Lee, J., & Park, Y. (2013). Imidacloprid, a neonicotinoid insecticide, potentiates adipogenesis in 3T3-L1 adipocytes. *Journal of agricultural and food chemistry*, 61(1), 255-259.

Philbert, M. A., Billingsley, M. L., & Reuhl, K. R. (2000). Mechanisms of injury in the central nervous system. *Toxicologic pathology*, 28(1), 43-53.

Pisa, L. W., Amaral-Rogers, V., Belzunces, L. P., Bonmatin, J. M., Downs, C. A., Goulson, D., ... & Morrissey, C. A. (2015). Effects of neonicotinoids and fipronil on non-target invertebrates. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(1), 68-102.

Priyadarshi, A., Khuder, S. A., Schaub, E. A., & Shrivastava, S. (2000). A meta-analysis of Parkinson's disease and exposure to pesticides. *Neurotoxicology*, 21(4), 435-440.

- Priyadarshi, A., Khuder, S. A., Schaub, E. A., & Priyadarshi, S. S. (2001).** Environmental risk factors and Parkinson's disease: a metaanalysis. *Environmental research*, 86(2), 122-127
- Qu, Y., Chen, J., Li, C., Wang, Q., Guo, W., Han, Z., & Jiang, W. (2016).** The subunit gene *Ldα1* of nicotinic acetylcholine receptors plays important roles in the toxicity of imidacloprid and thiamethoxam against *Leptinotarsa decemlineata*. *Pesticide biochemistry and physiology*, 127, 51-58.
- Raymond-Delpech, V., Matsuda, K., Sattelle, B. M., Rauh, J. J., & Sattelle, D. B. (2005).** Ion channels: molecular targets of neuroactive insecticides. *Invertebrate Neuroscience*, 5(3-4), 119-133
- Rawi, S. M., Al-Logmani, A. S., & Hamza, R. Z. (2019).** Neurological alterations induced by formulated imidacloprid toxicity in Japanese quails. *Metabolic brain disease*, 34(2), 443-450.
- Ritz, B., & Yu, F. (2000).** Parkinson's disease mortality and pesticide exposure in California 1984–1994. *International journal of epidemiology*, 29(2), 323-329.
- Robitaille, C. N. (2014).** *Effets antiandrogéniques de pesticides dans les cellules cancéreuses corticosurrénales humaines (h295r) et de la prostate humaine (lncap) (Doctoral dissertation, Université du Québec, Institut National de la Recherche Scientifique).*
- Saadi, L., Arkam, F., Lebaili, N. (2019).** Effet de l'intoxication à l'imidaclopride sur les poumons chez des rats femelles de souche wistar. *Journal of Advanced Research in Science and Technology*. 6(2), 995-1004.
- Saadi, L., Mahboubi, Y., & Matallah, R. (2014).** Inflammatory effects of imidacloprid on thyroid activity in rats. In *International Conference on Civil, Biological and Environmental Engineering (CBEE-2014)* (pp. 27-28).
- Samuel O., (2001):** «Réflexion sur l'utilisation des pesticides en milieu urbain, Mémoire présenté au groupe de réflexion sur les pesticides en milieu urbain, Institut National de la santé publique du Québec».
- Santé Canada, (2016).** Projet de décision d'homologation imidaclopride - PRD2016-22 Page 60.
- Scholz, K. (1992).** Degradation of NTN 33893 in soil with ground cover. *Miles Inc.(Mobay) Study*, (103202), 51950-0028.

Schulz-Jander, D. A., & Casida, J. E. (2002). Imidacloprid insecticide metabolism: human cytochrome P450 isozymes differ in selectivity for imidazolidine oxidation versus nitroimine reduction. *Toxicology letters*, 132(1), 65-70..

Seifert, J. (2005). *Neonicotinoids*. In: Wexler P, editor. *Encyclopedia of toxicology*. Elsevier 196-200.

Shadnia, S., & Moghaddam, H. H. (2008). Fatal intoxication with imidacloprid insecticide. *The American journal of emergency medicine*, 26(5), 634-e1.

Shao, B., Wang, M., Chen, A., Zhang, C., Lin, L., Zhang, Z., & Chen, A. (2020). Protective effect of caffeic acid phenethyl ester against imidacloprid-induced hepatotoxicity by attenuating oxidative stress, endoplasmic reticulum stress, inflammation and apoptosis. *Pesticide Biochemistry and Physiology*.

Sheets, L.P. (2001). Imidacloprid: a neonicotinoid insecticide. *Handbook of pesticide toxicology*. 2nd ed p. 1123–30.

Sheets, L. P., Li, A. A., Minnema, D. J., Collier, R. H., Creek, M. R., & Peffer, R. C. (2016). A critical review of neonicotinoid insecticides for developmental neurotoxicity. *Critical reviews in toxicology*, 46(2), 153-190.

Simon-Delso, N., Amaral-Rogers, V., Belzunces, L. P., Bonmatin, J. M., Chagnon, M., Downs, C., ... & Goulson, D. (2015). Systemic insecticides (neonicotinoids and fipronil): trends, uses, mode of action and metabolites. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(1), 5-34.

Stephens, R., Spurgeon, A., Calvert, I. A., Beach, J., Levy, L. S., Harrington, J. M., & Berry, H. (1995). Neuropsychological effects of long-term exposure to organophosphates in sheep dip. *The Lancet*, 345(8958), 1135-1139.

Soujanya, S., Lakshman, M., Anand Kumar, A., & Reddy, A. (2012). Histopathological and ultrastructural changes induced by imidacloprid in brain and protective role of vitamin C in rats. *J Chem Pharma Res*, 4(9), 4307-18.

Soujanya, S., Lakshman, M., Kumar, A. A., & Reddy, A. G. (2013). Evaluation of the protective role of vitamin C in imidacloprid-induced hepatotoxicity in male Albino rats. *Journal of natural science, biology, and medicine*, 4(1), 63.

Tachdjian, G., Brisset, S., Courtot, A. M., Schoëvaërt, D., & Tosca, L. (2016). *Embryologie et histologie humaines*. Elsevier Masson.

- Taibi, N., Kahloula, K., Adli, D. E. H., Arabi, W., Brahimi, M., & Slimani, M. (2020).** Effet thérapeutique de l'extrait aqueux de *Pimpinella anisum* L. chez les rats Wistar exposés de manière subchronique à l'imidaclopride. Étude neurocomportementale. *Phytothérapie*.
- Tetsatsi, A. C. M., Nkeng-Effouet, P. A., Alumeti, D. M., Bonsou, G. R. F., Kamanyi, A., & Watcho, P. (2019).** Colibri® insecticide induces male reproductive toxicity: alleviating effects of *Lannea acida* (Anacardiaceae) in rats. *Basic and Clinical Andrology*, 29(1), 16.
- Tian, X., Hong, X., Yan, S., Li, X., Wu, H., Lin, A., & Yang, W. (2020).** Neonicotinoids caused oxidative stress and DNA damage in juvenile Chinese rare minnows (*Gobiocypris rarus*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 197, 110566.
- Tian, X., Yang, W., Wang, D., Zhao, Y., Yao, R., Ma, L., ... & Jiao, W. (2018).** Chronic brain toxicity response of juvenile Chinese rare minnows (*Gobiocypris rarus*) to the neonicotinoid insecticides imidacloprid and nitenpyram. *Chemosphere*, 210, 1006-1012.
- Tomizawa, M., & Casida, J. E. (1999).** Minor structural changes in nicotinoid insecticides confer differential subtype selectivity for mammalian nicotinic acetylcholine receptors. *British journal of pharmacology*, 127(1), 115-122.
- Tomizawa, M., & Casida, J. E. (2005).** Neonicotinoid insecticide toxicology: mechanisms of selective action. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 45, 247-268.
- Tomlin, CDS.(2006).** The pesticide manual, a world compendium. 14th ed. Surry, England: British Crop Protection Council, p. 598–9.
- Toor, H. K., Sangha, G. K., & Khera, K. S. (2013).** Imidacloprid induced histological and biochemical alterations in liver of female albino rats. *Pesticide biochemistry and physiology*, 105(1), 1-4.
- Vargas-López, V., Torres-Berrio, A., González-Martínez, L., Múnera, A., & Lamprea, M. R. (2015).** Acute restraint stress and corticosterone transiently disrupts novelty preference in an object recognition task. *Behavioural brain research*, 291, 60-66.
- Van Wendel de Joode, B., Wesseling, C., Kromhout, H., Monge, P., Garcia, M., & Mergler, D. (2001).** Chronic nervous-system effects of long-term occupational exposure to DDT. *The lancet*, 357(9261), 1014-1016.
- Vohra, P., & Khera, K. S. (2014).** Imidacloprid induced neurotoxic and histological changes in female albino rats. *International journal of scientific research*, 3(1), 497-498.

- Vohra, P., & Khera, K. S. (2015).** Alterations in key enzymes and micromorphology of vital organs during exposure of imidacloprid in albino rats. *Int J*, 3, 134-144.
- Vuillier, F., de Bustos Medeiros, É., & Tatu, L. (2011).** Functional organisation of the cerebellum: a neuroanatomical approach. *Revue neurologique*, 167(5), 361-369.
- Ware, G. W., & Whitacre, D. M. (2004).** An introduction to insecticides. *The pesticide book*, 6. p 70-71.
- Watanabe, T., Sekine, S., Naguro, I., Sekine, Y., & Ichijo, H. (2015).** Apoptosis signal-regulating kinase 1 (ASK1)-p38 pathway-dependent cytoplasmic translocation of the orphan nuclear receptor NR4A2 is required for oxidative stress-induced necrosis. *Journal of Biological Chemistry*, 290(17), 10791-10803.
- Wang, X., Anadón, A., Wu, Q., Qiao, F., Ares, I., Martínez-Larrañaga, M. R., ... & Martínez, M. A. (2018).** Mechanism of neonicotinoid toxicity: impact on oxidative stress and metabolism. *Annual review of Pharmacology and Toxicology*, 58, 471-507.
- Wang, Y., Han, Y., Xu, P., Guo, B., Li, W., & Wang, X. (2018).** The metabolism distribution and effect of imidacloprid in chinese lizards (*Eremias argus*) following oral exposure. *Ecotoxicology and environmental safety*, 165, 476-483.
- Wang, Y., Zhang, Y., Li, W., Han, Y., & Guo, B. (2019).** Study on neurotoxicity of dinotefuran, thiamethoxam and imidacloprid against Chinese lizards (*Eremias argus*). *Chemosphere*, 217, 150-157.
- Wismer, T. (2004).** Novel insecticides. *Clinical veterinary toxicology*, 184-185.
- Wong, K. L., Webb, D. T., Nagorzanski, M. R., Kolpin, D. W., Hladik, M. L., Cwiertny, D. M., & LeFevre, G. H. (2019).** Chlorinated byproducts of neonicotinoids and their metabolites: an unrecognized human exposure potential?. *Environmental Science & Technology Letters*, 6(2), 98-105
- Wu, I. W., Lin, J. L., & Cheng, E. T. (2001).** Acute poisoning with the neonicotinoid insecticide imidacloprid in N-methyl pyrrolidone. *Journal of Toxicology: Clinical Toxicology*, 39(6), 617-621.
- Xiong, J., Wang, Z., Ma, X., Li, H., & You, J. (2019).** Occurrence and risk of neonicotinoid insecticides in surface water in a rapidly developing region: Application of polar organic chemical integrative samplers. *Science of the total environment*, 648, 1305-1312.

Yan, S. H., Wang, J. H., Zhu, L. S., Chen, A. M., & Wang, J. (2015). Thiamethoxam induces oxidative stress and antioxidant response in zebrafish (*Danio rerio*) livers. *Environmental toxicology*, 31(12), 2006-2015.

Yan, S., Meng, Z., Tian, S., Teng, M., Yan, J., Jia, M., ... & Zhu, W. (2020). Neonicotinoid insecticides exposure cause amino acid metabolism disorders, lipid accumulation and oxidative stress in ICR mice. *Chemosphere*, 246, 125661.

Yoshida, H. (1990). Photodegradation of NTN 33893 on soil. *Miles Inc.(Mobay) Premise Termiticide. Study*, (100249), 51950-0027.

Annexe 1

Tableau I : Propriétés Physicochimiques de l'Imidaclopride

Propriété	Résultat										
Nom commercial	MIDA ®										
Couleur et état physique	Solide jaune pâle										
Odeur	Faible odeur caractéristique										
Point de fusion	144 °C										
Point ou plage d'ébullition	Sans objet										
Masse volumique	1,54 g/cm ³										
Pression de vapeur à 20 °C	4 × 10 ⁻⁷ mPa à 20 °C 9 × 10 ⁻⁷ mPa à 25 °C										
Constante de la loi de Henry à 20 °C	Relativement non volatil dans les conditions de terrain.										
Spectre ultraviolet-visible	pH λ _{max} (nm) 4 270 7 270 9 270										
Solubilité dans l'eau à 20 °C	510 mg/L										
Solubilité dans les solvants organiques à 20 °C (g/100 ml)	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Solvant</th> <th>Solubilité (g/L)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Dichlorométhane</td> <td>67</td> </tr> <tr> <td>Isopropanol</td> <td>2,3</td> </tr> <tr> <td>Toluène</td> <td>0,69</td> </tr> <tr> <td><i>n</i>-hexane</td> <td>< 0,1</td> </tr> </tbody> </table>	Solvant	Solubilité (g/L)	Dichlorométhane	67	Isopropanol	2,3	Toluène	0,69	<i>n</i> -hexane	< 0,1
Solvant	Solubilité (g/L)										
Dichlorométhane	67										
Isopropanol	2,3										
Toluène	0,69										
<i>n</i> -hexane	< 0,1										
Coefficient de partage <i>n</i> -octanol : eau (K _{oe})	Log K _{oe} = 0,57 à 21 °C										
Constante de dissociation (pK _a)	La substance à l'essai est très faiblement basique et sa protonation complète n'est possible que dans les solvants non aqueux en présence d'acides très forts. On ne peut attribuer à la substance d'essai une valeur de pK _a dans des systèmes purement aqueux.										
Stabilité (Température, métal)	Aucune décomposition exothermique n'a été observée à moins de 150 °C. L'absence de dégagement de chaleur ou de gaz et de changement de couleur après 24 heures indique que ce produit est inerte dans les essais de réduction par le zinc et d'oxydation par le NaOCl.										

(Santé Canada, 2016)

Tableau II : Profil toxicologique de l'imidaclopride

Pharmacocinétique
<p>Vitesse et degré d'absorption et d'excrétion : Dans les études du métabolisme exigées chez le rat, le méthylène-14C imidaclopride et l'imidazolidine-4,5-14C imidaclopride étaient rapidement absorbés après une exposition par voie orale, et environ 90 % de la dose administrée était éliminée dans les 24 heures. L'excrétion urinaire était la principale voie d'élimination (70 à 91 % de la dose administrée) dans les études exigées, et une plus petite quantité était éliminée dans les excréments (7 à 25 % de la dose administrée). L'excrétion biliaire contribuait de façon importante à l'excrétion fécale, car elle représentait 87 % de la radioactivité fécale. Seules des traces ont été excrétées dans l'air expiré.</p> <p>Distribution / organe(s)cible(s): Après 48 heures, la charge tissulaire totale en imidaclopride marqué au niveau du méthylène représentait environ 0,5 % de la dose administrée. Les principaux sites d'accumulation étaient le foie, les reins, les poumons, la peau et le plasma, et les sites mineurs, le cerveau et les testicules. La charge tissulaire totale en imidaclopride marqué au niveau de l'imidazolidine représentait environ 1 % de la dose administrée. Les principaux sites d'accumulation étaient le foie, les reins, les poumons et la peau, et les sites mineurs, le cerveau et les muscles.</p> <p>Biotransformation : Les données sur le métabolisme indiquent deux grandes voies de biotransformation. La première voie consiste en une hydroxylation du cycle imidazolidine par le CYP3A4, qui mène à la formation des métabolites 4-hydroxy et 5-hydroxy. Ces métabolites peuvent former du dihydroxy-imidaclopride, subir une glucuronidation ou perdre de l'eau pour former le métabolite oléfinique. Le clivage oxydatif du métabolite 5-hydroxy produit de l'acide 6-chloronicotinique. La deuxième voie consiste en une nitroréduction par les enzymes P450 microsomales ou par l'alternative oxydase, qui produit de la nitrosimine, des dérivés d'amino-guanidine et du desnitro-imidaclopride. Le desnitro-imidaclopride subit un clivage oxydatif qui le transforme en imidazolidine et en acide 6-chloronicotinique. L'acide 6-chloronicotinique issu des deux voies de transformation subit par la suite une conjugaison au glutathion.</p>
Toxicité aiguë
<p>Les résultats des études de toxicité aiguë indiquent que l'imidaclopride de qualité technique présente une toxicité élevée par voie orale et une faible toxicité par voie cutanée et par inhalation chez le rat. Parmi les signes cliniques observés dans les études de toxicité aiguë par voie orale et par inhalation figuraient une mobilité réduite, une respiratoire laborieuse, une horripilation et des tremblements transitoires. Parmi les autres signes observés dans les études de toxicité aiguë par voie orale, mentionnons l'apathie, une démarche chancelante et des spasmes. L'imidaclopride provoquait une irritation minime des yeux et de la peau chez le lapin et n'était pas un sensibilisant cutané au test de maximalisation chez le cobaye.</p>
Toxicité à court terme
<p>Dans une étude de toxicité à court terme dans laquelle les rats ont été exposés à l'imidaclopride par le régime alimentaire, des modifications des paramètres de biochimie clinique et d'histologie indiquant des lésions du foie ont été constatées. Les études à court terme publiées menées avec l'imidaclopride chez le rat par gavage ont aussi révélé que le foie était un organe cible, mais à plus faibles doses que dans l'étude par le régime alimentaire.</p>

Toxicité chronique

Des effets sur les reins et les yeux et des lésions microscopiques de la thyroïde ont été observés dans l'étude de toxicité chronique par le régime alimentaire chez le rat. Les lésions de la thyroïde ont été décrites comme des particules minéralisées dans le colloïde de follicules isolés et n'étaient pas associées à des modifications des taux d'hormones thyroïdiennes.

Génotoxicité

La plupart des essais de génotoxicité effectués avec l'imidaclopride ont donné des résultats négatifs. Seuls deux des 13 essais menés par le titulaire étaient positifs ; il s'agissait d'essais cytogéniques in vitro effectués avec des lymphocytes humains (clastogénicité) et des cellules d'ovaire de hamster chinois (échanges de chromatides sœurs).

L'ensemble des données relatives à l'imidaclopride ne donne pas à penser que ce produit est génotoxique.

Reprotoxicité

L'étude de reprotoxicité par le régime alimentaire chez le rat n'a fourni aucune donnée indiquant que l'imidaclopride était toxique pour la reproduction. Au cours de cette étude, seules des réductions de la prise de poids corporel chez les parents (avant l'accouplement) et chez les petits (pendant la lactation) ont été constatées.

Une étude publiée de 90 jours chez le rat avec l'imidaclopride, par gavage, a révélé une hausse du taux de FSH, une baisse du taux de LH et de progestérone et une diminution relative du poids des ovaires à la plus forte dose administrée seulement.

(Santé Canada, 2016)

I Matériel

I-1-Appareillage

Bain Marie

Etuve

Distributeur de paraffine de type « Leica »

Platine refroidissante de type « Leica »

Automate de circulation de type « Leica »

Balance de précision

Microtome de type « Leica »

Microscope optique de type « Leica »

Appareil photo

I-2-Petit Matériel

Les cages en plastiques

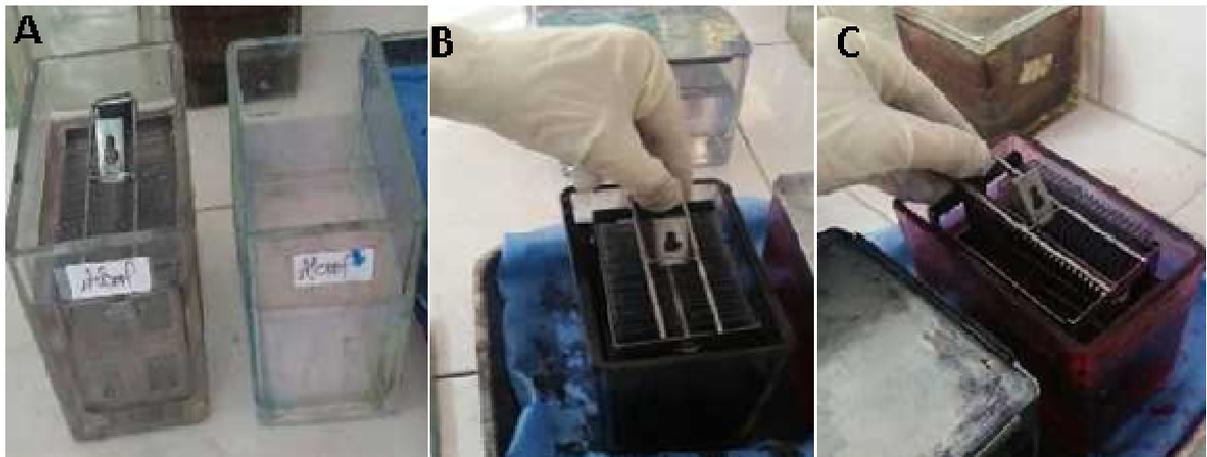
Mangeoires et bouteilles d'eau

Seringue et aiguille de gavage

La trousse de dissection
Les cassettes en plastiques
Les moules en métal (Port-cassettes)
Les lames
Les porte-lames
Les lamelles
Les boîtes d'alcool et de coloration

I-3-Réactifs

L'insecticide Imidaclopride
Liquide de fixation « Formol commercialisé à 35% »
Alcool (100%, 90%, 70% »
Xylène
La gélatine
Les colorants
Liquide de montage « Eukit »
L'eau distillée



Coloration H-E



Balance de précision



Distributeur de paraffine



Microtome



Etuve



Platine refroidissante



Bain marie



Microscope optique



Automate de circulation



Les cages



Les moules en métal



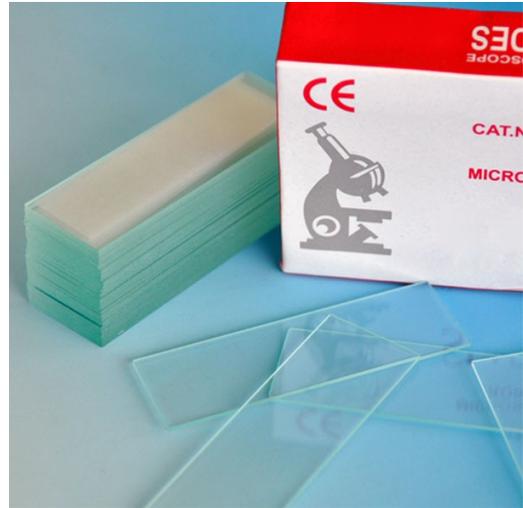
Les cassettes en plastiques



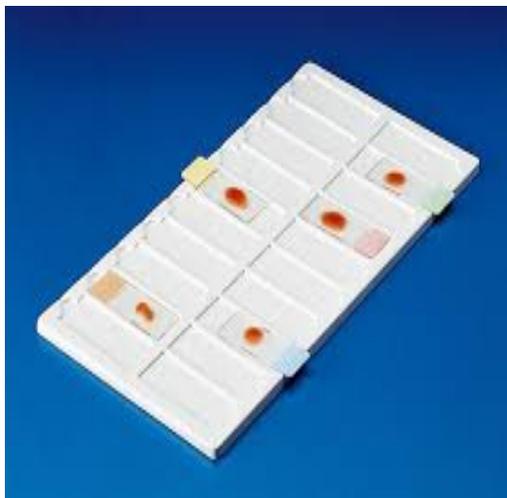
Seringue de gavage



Les lamelles



Les lames



Porte-lames



Trousse de dissection



Image de l'insecticide chimique MIDA® (matière active imidaclopride)



Répartition des rats Wistar en lot

II Fiches techniques

II-1 Fiche technique de l'Imidaclopride

➤ **Noms commerciaux de l'imidaclopride et caractéristiques :**

Gaucho®, **Admir®**, **Intercept®** et **Confidor®** pour le traitement du sol.

Hachikusan® et **Premise®** pour le traitement des termites.

Mérit® et **Provado®** pour le soin professionnel des jardins et de gazon.

Avantage® pour le control des puces des chats et des chiens.

MIDA ® possède un très large spectre d'action et est très efficace sur les Pucerons et aleurodes qui ravagent les arbres fruitiers, agrumes et cucurbitacées. MIDA ® permet une excellente protection des plantes en phase de croissance Surtout s'il est employé en hase d'irrigation grâce à sa puissante systémie. MIDA Est hydrosoluble, non ionisable, incapable d'adhérer aux particules et il est non Volatile sur le terrain.

➤ **Caractéristiques :**

- **Solubilité** : 609 mg · l-1
- **Hydrolyse à pH 7** : très stable,
- **Coefficient de partage carbone organique-eau** : 247 cm³ · g-1. Ce paramètre, note Koc, représente le potentiel de rétention de cette substance active sur la matière organique du sol. La mobilité de la matière active est réduite par son absorption sur les particules du sol.
- **Durée de demi-vie** : 180 jours. Ce paramètre, note DT50, représente le potentiel de dégradation de cette substance active, et sa vitesse de dégradation dans le sol.
- **Stabilité** : instable si expose au soleil (photolyse), mais stabilisé dans des récipients en polyéthylène, si ces derniers sont exposés à la lumière durant 24, 48, 72, 168 et 336 heures³¹.
- **Pression de vapeur saturante** : à 20 °C : 1,54 g · cm-31 : négligeable.

II-2- Fiche technique N° :1 Fixation

Fixateur : Formol a 10%

Formule chimique : CH₂O

Poids moléculaire : M : 30.03

Composés :

Eau distillée	90ml
Chlorure de sodium	85 à 0.98g
Formol concentré	10ml

II-3- Fiche technique N° :2 Collage des rubans

Gélatine

Gélatine en poudre.....4g

Eau distillée.....100ml

II-4- Fiche technique N° :3 Coloration

Coloration de l'hématoxyline éosine (HE)

-2 bains d'hématoxyline2 minutes chacun.

-rinçage a l'eau courante.

-un bain d'acide chlorhydrique.....2 minutes.

-Rinçage a l'eau courante.

-Un bain d'ammoniac.....2 minutes.

-Rinçage a l'eau courante.

-Un bain d'éosine30 secondes.

-Rinçage a l'eau rapide.

III. Calcul statistique

Soit une série statistique $(x_1 ; x_2 ; \dots ; x_n)$

III.1. La moyenne arithmétique

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

Dont :

\bar{x} : la moyenne arithmétique.

n : l'effectif de la série.

x : le caractère étudié.

III.2. La variance

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

Dont :

v : la variance

\bar{x} : la moyenne arithmétique.

n : l'effectif de la série.

x : le caractère étudié

III.3. L'écart type

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

Où :

δ : l'écart-type

v : la variance

III.4. Test d'homogénéité de deux échantillons :

n < 30 : loi de Student

L'hypothèse nulle (H_0) : les deux échantillons sont semblables, le traitement n'a pas d'effet.

On va calculer « **la variance commune estimée** »

$$v = [n_1v_1^2 + n_2v_2^2 / n_1 + n_2 - 2]^{1/2}$$

Ensuite l'écart réduit :

$$t = |m_1 - m_2| / v[1/n_1 + 1/n_2]^{1/2}$$

t : l'écart réduit

m_1 : la moyenne arithmétique de l'échantillon 1

m_2 : la moyenne arithmétique de l'échantillon 2

v : la variance commune estimée

n_1 : nombre de l'échantillon 1

n_2 : nombre de l'échantillon 2

On compare ce (t) calculé avec la valeur de t % (ddl = $n_1 + n_2 - 2$) théorique tirée de la table de Student.

Si $t < t\%$: l'hypothèse nulle est retenue, la différence n'est pas significative, le traitement n'a pas d'effet.

Si $t > t\%$: l'hypothèse nulle est rejetée, la différence est significative, donc le traitement a un effet.

Annexe 2

Tableau 1 : Effet des différents traitements avec MIDA® sur l'évolution du poids corporel (PC) des rats Wistar entre début et fin d'expérimentation

		N	Moyenne	Ecart-type	Erreur-type	95% Intervalle de confiance de Moyenne		Minimale	Maximale
						Limite Inferieure	Limite Superieure		
Poids début exp	Témoin	5	132,80	3,114	1,393	128,93	136,67	128	136
	imi 1/10	5	145,00	5,099	2,280	138,67	151,33	139	150
	imi 1/80	5	133,20	5,020	2,245	126,97	139,43	128	138
	Total	15	137,00	7,191	1,857	133,02	140,98	128	150
Poids fin exp	Témoin	5	181,0000	4,00000	1,78885	176,0333	185,9667	178,00	188,00
	imi 1/10	5	190,0000	5,52268	2,46982	183,1427	196,8573	183,00	198,00
	imi 1/80	5	180,4000	6,34823	2,83901	172,5176	188,2824	173,00	189,00
	Total	15	183,8000	6,74219	1,74083	180,0663	187,5337	173,00	198,00

Tableau II : Effet des différents traitements avec MIDA® sur l'évolution du poids relatif et absolue de l'encéphale et sur l'augmentation relative du poids corporel des rats Wistar.

		N	Moyenne	Ecart-type	Erreur-type	95% Intervalle de confiance de Moyenne		Minimal e	Maximal e
						Limite Inferieure	Limite Superieure		
poids relatif de l'encéphale	Témoin	5	,9600	,03464	,01549	,9170	1,0030	,90	,99
	imi 1/10	5	,9020	,01789	,00800	,8798	,9242	,88	,92
	imi 1/80	5	,9240	,03050	,01364	,8861	,9619	,90	,97
	Total	15	,9287	,03623	,00935	,9086	,9487	,88	,99
Poids absolue de l'encéphale	Témoin	5	1739,9200	27,62638	12,35489	1705,6173	1774,2227	1692,10	1763,90
	imi 1/10	5	1719,3200	23,05942	10,31249	1690,6879	1747,9521	1695,00	1746,40
	imi 1/80	5	1671,9600	53,59933	23,97035	1605,4076	1738,5124	1601,50	1731,50
	Total	15	1710,4000	45,36717	11,71375	1685,2765	1735,5235	1601,50	1763,90
Augmentation relative du poids corporels	Témoin	5	36,3220	2,95556	1,32177	32,6522	39,9918	32,35	39,26
	imi 1/10	5	31,1660	6,09006	2,72356	23,6042	38,7278	23,64	38,13
	imi 1/80	5	35,4500	1,75455	,78466	33,2714	37,6286	33,33	37,50
	Total	15	34,3127	4,40594	1,13761	31,8727	36,7526	23,64	39,26

Tableau III : Analyse de la variance relative à l'effet des traitements avec l'imidaclopride sur le poids relatif et absolue de l'encéphale et sur l'augmentation relative du poids corporel des rats Wistar

		Sommes des carrées	ddl	Moyennes des carrées	F	Sig.
poids relatif de l'encéphale	Inter- groupes	,009	2	,004	5,249	,023
	Intra- groupes	,010	12	,001		
	Total	,018	14			
Poids absolue de l'encéphale	Inter- groupes	12143,152	2	6071,576	4,370	,038
	Intra- groupes	16671,368	12	1389,281		
	Total	28814,520	14			
Augmentation relative du poids corporels	Inter- groupes	76,162	2	38,081	2,336	,139
	Intra- groupes	195,611	12	16,301		
	Total	271,773	14			

Tableau IV : Comparaison des poids corporels et des poids relatifs et absolues de l'encéphale entre témoin et traités avec 1/10 et 1/80 d'MIDA avec leurs significations statistiques en appliquant test de Tukey

Variable Dépendante	(I) lots de rats	(J) lots de rats	Différence de Moyenne (I-J)	Erreur-Type	Sig.	95% Intervalle de Confiance		
						Limite Inferieure	Limite Supérieure	
poids relatif de l'encéphale	HSD de Tukey	Témoin	imi 1/10	,05800*	,01807	,019	,0098	,1062
			imi 1/80	,03600	,01807	,157	-,0122	,0842
		imi 1/10	Témoin	-,05800*	,01807	,019	-,1062	-,0098
			imi 1/80	-,02200	,01807	,466	-,0702	,0262
		imi 1/80	Témoin	-,03600	,01807	,157	-,0842	,0122
			imi 1/10	,02200	,01807	,466	-,0262	,0702
Poids absolue de l'encéphale	HSD de Tukey	Témoin	imi 1/10	20,60000	23,57355	,666	-42,2910	83,4910
			imi 1/80	67,96000*	23,57355	,034	5,0690	130,8510
		imi 1/10	Témoin	-20,60000	23,57355	,666	-83,4910	42,2910
			imi 1/80	47,36000	23,57355	,152	-15,5310	110,2510
		imi 1/80	Témoin	-67,96000*	23,57355	,034	-130,8510	-5,0690
			imi 1/10	-47,36000	23,57355	,152	-110,2510	15,5310
Augmentation relative du poids corporels	HSD de Tukey	Témoin	imi 1/10	5,15600	2,55350	,150	-1,6564	11,9684
			imi 1/80	,87200	2,55350	,938	-5,9404	7,6844
		imi 1/10	Témoin	-5,15600	2,55350	,150	-11,9684	1,6564
			imi 1/80	-4,28400	2,55350	,253	-11,0964	2,5284
		imi 1/80	Témoin	-,87200	2,55350	,938	-7,6844	5,9404
			imi 1/10	4,28400	2,55350	,253	-2,5284	11,0964

* : La différence moyenne est significative au niveau de 0,05.

Tableau V: Définition des groupes homogènes de poids relatif du cerveau chez les rats témoins et traités avec l'imidaclopride par le test de Student et Tukey

	lots de rats	N	Sous ensemble pour $\alpha= 0,05$	
			1 (a)	2 (b)
Student-Newman-Keuls ^a	imi 1/10	5	,9020	
	imi 1/80	5	,9240	,9240
	Témoin	5		,9600
	Sig.		,247	,070
Tukey HSD ^a	imi 1/10	5	,9020	
	imi 1/80	5	,9240	,9240
	Témoin	5		,9600
	Sig.		,466	,157

Les moyennes des groupes sont affichées dans des sous-ensembles homogènes

a. Utilise une taille d'échantillon avec une moyenne harmonique =5,000

Tableau VI : Définition des groupes homogènes de poids absolue du cerveau chez les rats témoins et traités avec l'imidaclopride par le test de Student et Tukey

	Lots de rats	N	Sous ensemble pour $\alpha=0,05$	
			1 (a)	2 (b)
Student-Newman-Keuls ^a	Imi 1/80	5	1671,9600	
	Imi 1/10	5	1719,3200	1719,3200
	Témoin	5		1739,9200
	Sig.		,068	,399
TukeyHSD ^a	Imi 1/80	5	1671,9600	
	Imi 1/10	5	1719,3200	1719,3200
	Témoin	5		1739,9200
	Sig.		,152	,666

Les moyennes des groupes sont affichées dans des sous-ensembles homogènes

a. Utilise une taille d'échantillon avec une moyenne harmonique =5,00

TableauVII : Définition des groupes homogènes de l'augmentation relative chez les rats témoins et traités avec l'imidaclopride par le test de Student et Tukey

	Lots de rats	N	Sous ensemble pour $\alpha=0,05$
			1 (a)
Student-Newman-Keuls ^a	Imi 1/10	5	31,1660
	Imi 1/80	5	35,4500
	Témoin	5	36,3220
	Sig.		,150
TukeyHSD ^a	Imi 1/10	5	31,1660
	Imi 1/80	5	35,4500
	Témoin	5	36,3220
	Sig.		,150

Les moyennes des groupes sont affichées dans des sous-ensembles homogènes

a. Utilise une taille d'échantillon avec une moyenne harmonique =5,000

