

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université SAAD DAHLEB de Blida



Faculté des Sciences Agro-Vétérinaires et Biologiques  
Département de Biologie

**Mémoire de Fin d'Etudes**  
Pour l'obtention du Diplôme de "Master II" en Biologie  
Option : « Microbiologie et Toxicologie Alimentaire »

## Thème

**Hépatotoxicité et néphrotoxicité d'un  
pesticide « Thiaméthoxame » chez le rat  
Wistar mâle : étude biochimique et  
histopathologique.**

Réalisé par : M<sup>elle</sup> DERRICHE Fariza

|                 |                             |         |            |
|-----------------|-----------------------------|---------|------------|
| Présidente :    | M <sup>elle</sup> SAYAD M.  | M.A.A   | USDB       |
| Examinatrice :  | M <sup>me</sup> CHAKHMA A.  | M.A.A   | USDB       |
| Examinatrice :  | M <sup>me</sup> ZATRA Y.    | M.A.A   | USDB       |
| Promotrice :    | M <sup>me</sup> KHALDOUN H. | M.A.A   | USDB       |
| Co-promotrice : | M <sup>me</sup> Djabri N.   | Docteur | CRD-Saïdal |

Année Universitaire 2011/2012

# *Remerciements*

Au terme de ce travail, il m'est agréable de remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.

Mes profonds remerciements et ma vive reconnaissance vont particulièrement à :

- M<sup>me</sup> KHALDOUN H. Maître Assistante Classe A à la faculté des Sciences Agro- Vétérinaires et Biologiques de l'Université de Blida d'avoir bien voulu diriger ce travail et pour tous ses conseils et ses orientations. Qu'elle trouve ici mes sentiments de gratitude et déférence.
- M<sup>elle</sup> SAYAD M. Maître Assistante Classe A à la faculté des sciences Agro- Vétérinaires et Biologiques de l'Université de Blida pour l'honneur qu'elle nous a fait pour assurer la présidence du jury.
- M<sup>me</sup> CHAKHMA A. Maître Assistante Classe A à la faculté des Sciences Agro-Vétérinaires et Biologiques de l'Université de Blida d'avoir bien voulu accepté de juger ce travail.
- M<sup>me</sup> ZATRA Y. Maître Assistante Classe A à la faculté des Sciences Agro-Vétérinaires et Biologiques de l'Université de Blida d'avoir bien voulu accepté de juger ce travail.
- Ma co-promotrice M<sup>me</sup> DJABRI N. du CRD-Saïdal d'El Harrach. Qu'elle trouve ici l'expression de mon profond respect.
- M<sup>me</sup> BENDDINE F. Sous Directrice de la Direction de Protection des Végétaux et des Contrôle Techniques (DPVCT) du Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural (MADR), pour m'avoir proposé le pesticide étudié dans ce travail et surtout pour son accueil, ses conseils, sa gentillesse et serviabilité.
- M<sup>r</sup> REDAOUI Inspecteur Phytosanitaire à la Direction d'Agriculture de la Wilaya de Tizi-Ouzou, pour les informations précieuses qu'il m'a fourni généreusement.
- M<sup>me</sup> AZINE K. Responsable du laboratoire Pharmacotoxicologie du CRD-Saïdal d'El Harrach pour m'avoir accepté et accueilli au sein du laboratoire.

- M<sup>r</sup> CHADER Chef de service du Laboratoire National de Contrôle des Produits Pharmaceutiques (LNCP) de l'Institut Pasteur de Dely-Brahim, qui m'a accueilli au laboratoire et à mis à ma disposition les moyens et matériels nécessaires à l'accomplissement du travail, et surtout pour sa confiance et ses conseils.
- D<sup>r</sup> ALOUACHE S. et M<sup>elle</sup> AMI N. du Laboratoire National de Contrôle des Produits Pharmaceutiques (LNCP) de l'Institut Pasteur de Dely-Brahim, pour leur aide et leurs conseils.
- M<sup>me</sup> DARDOUN Responsable du laboratoire d'Histopathologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire (ENV) d'Alger, de m'avoir accueilli au laboratoire.
- M<sup>me</sup> ZOUAMBI A. Spécialiste en histologie animale à l'Ecole Nationale Vétérinaire (ENV) d'Alger, d'avoir accepté de me faire la lecture des coupes histologiques des organes.
- D<sup>r</sup> MIMOUNI HEBBACHE A. Spécialiste en Biologie Clinique, de m'avoir fait soigneusement les dosages biochimiques au sein de son laboratoire et surtout pour ses explications et sa gentillesse.
- D<sup>r</sup> HENNAB Responsable du service d'Anatomie-Pathologie et D<sup>r</sup> LOUNIS F. du CHU de Tizi-Ouzou, de m'avoir accueilli au service pour la réalisation des photographies des lésions pathologiques des coupes d'organes, et surtout pour leurs explications et leur gentillesse.

Je dois également toute la gratitude, le respect et le profond remerciement au technicien du laboratoire d'histopathologie de l'ENV ; à M<sup>r</sup> BOUZIANE et M<sup>r</sup> Moussa les animaliers du CRD-Saïdal pour leur aide durant toute la durée de mon stage.

Un remerciement particulier et sincère à M<sup>elle</sup> Farah REBBOUH et Zahra du personnel du laboratoire du CRD-Saïdal ; à M<sup>r</sup> SI AHMED de l'Institut Pasteur de Kouba ; à M<sup>r</sup> NOUAS Responsable du service de Contrôle de Qualité et Analyses à l'Institut Pasteur d'Algérie et à M<sup>r</sup> ABD EL OUAHID A. Pharmacien Toxicologue à l'Institut Pasteur d'Algérie ; au D<sup>r</sup> MAK HLOUFI A. et D<sup>r</sup> BOUBCHIR du CHU de Tizi-Ouzou, pour l'intérêt qu'ils ont porté à ce sujet, et pour leur aide, leur encouragement et leurs orientations.



# *Dédicaces*

Je dédie ce modeste travail

A mon très cher Grand père M<sup>r</sup> BOUTELDJI Rabah

Tu étais pour moi plus qu'un père, tes conseils et la sagesse de ton savoir m'ont servi de miroir sur le parcours de ma vie.

Je suivrai désormais et toujours la voie royale que tu m'as tracé.

Vois en ce travail le deuxième fruit (après le premier travail qui a bénéficié d'une publication) de tes énormes sacrifices consentis pour ma réussite.

Où que tu sois, tu garderas une place dans ma mémoire et mon cœur.

Que la terre te soit légère, Que DIEU t'accueille dans son Paradis.

A ma très chère mère Laldja

Tu m'as quitté à jamais à un très jeune âge. 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 Paradis.

A ma très chère Grand-mère Djouher

Vois en ce travail le fruit de ton labeur.

Que DIEU t'accorde une santé meilleure et une longue vie.

A mes très chères Tantes (Samia et Nacera)

Merci pour tout ce que vous avez fait pour moi. Trouvez ici toute ma gratitude pour votre soutien sans faille tout au long de mes études.

A ma très chère Tante Louiza ainsi que toute sa famille sans exception.

A ma très chère amie OUDIR Malha

A mes amies particulièrement Lamia, Hakima et Farroudja ainsi que mes camarades de la promotion MTA 2011/2012.



## Résumé

Les néonicotinoïdes représentent un groupe relativement nouveau d'insecticides à usage agricole, qui s'est rapidement imposé à travers le monde. Plusieurs études soulèvent une inquiétude quant à leur toxicité humaine et environnementale.

Nous nous sommes intéressés particulièrement à l'étude des effets toxiques d'un néonicotinoïde de nouvelle génération, largement commercialisé en Algérie : le thiaméthoxame. Le but de ce travail est d'élucider les effets toxiques de l'administration orale de trois doses de thiaméthoxame (26,05 ; 39,075 et 78,15 mg/kg/j) durant six semaines sur l'évolution pondérale, la fonction hépatique et rénale chez le rat Wistar mâle. A cet effet, plusieurs dosage biochimiques ont été effectués (ASAT, ALAT, PAL,  $\gamma$ -GT, glycémie, urémie et créatinémie), ainsi que des études histopathologiques du foie et du rein.

Le suivi de l'évolution pondérale durant la période de traitement a montré une augmentation remarquable du poids corporel des rats traités aux trois doses, comparativement aux témoins. Les résultats des dosages biochimiques ont révélé une augmentation significative de l'activité des enzymes hépatiques, notamment à forte et à moyenne dose. Tandis que la glycémie, l'urémie et la créatinémie ont connu une baisse chez les rats exposés à forte et à moyenne dose. L'examen histologique a révélé des lésions au niveau hépatique et rénal qui deviennent de plus en plus accentuées en augmentant la dose. Le parenchyme hépatique a perdu son organisation structurale, avec la présence de foyers de nécrose et d'une stéatose diffuse. L'altération rénale a été matérialisée par une destruction des glomérules, des tubes contournés proximaux et distaux et de certains tubes des anses de Henlé. Quelques foyers hémorragiques ont été aussi observés.

A l'issus de ces résultats, il s'avère que les doses de thiaméthoxame testées, notamment la forte et la moyenne dose, induisent des effets toxiques remarquables sur la fonction hépatique et rénale.

**Mots clés :** néonicotinoïde, thiaméthoxame, toxicité, rat Wistar mâle, foie, rein.

## Summary

Neonicotinoïds are a relatively new group of insecticides used in agriculture, which have quickly become worldwide. Several studies raise a concern about their human and environmental toxicity.

We are particularly interested in the study of the toxic effects of a new generation neonicotinoid widely marketed in Algeria: the thiamethoxam. The aim of this work is to elucidate the toxic effects of oral administration of three doses of thiamethoxam (26.05, 39.075 and 78.15 mg / kg / day) for six weeks on weight change, the hepatic and renal function, in the male Wistar rats. To this end, several biochemical assays were performed (AST, ALT, ALP,  $\gamma$ -GT, blood glucose, blood urea and creatinine), as well as histopathological studies of the liver and kidney.

Monitoring the weight change during the treatment period showed a remarkable increase in body weight of rats treated with the three doses compared to controls. The results of biochemical assays showed a significant increase in the activity of liver enzymes, in particular with high and medium dose. While blood glucose, blood urea and creatinine were decreased in rats exposed to high and medium dose. Histological examination revealed lesions in the liver and kidneys, which are becoming more pronounced by increasing the dose. The liver parenchyma has lost its structural organization, with the presence of foci of necrosis and diffuse steatosis. Renal impairment was evidenced by the destruction of glomeruli, proximal and distal convoluted tubules and some loops of Henle tubes. Some hemorrhagic foci were also observed.

In from these results, it appears that doses of thiamethoxam tested, in particular the high and medium dose; induce remarkable toxic effects on liver and kidney function.

**Keywords:** neonicotinoïd, thiamethoxam, toxicity, male Wistar rats, liver, kidney.

## ملخص

النيونيكوتينويد يمثل مجموعة جديدة نسبيا من المبيدات الحشرية المستعملة في الزراعة، والتي سرعان ما أصبحت منتشرة في جميع أنحاء العالم. العديد من الدراسات تثير القلق حول السمية البشرية و البيئية لهذه المبيدات.

نحن مهتمون بشكل خاص بدراسة الآثار السمية لنيونيكوتينويد من الجيل جديد، ذو نطاق تجاري واسع في الجزائر: الثياميثوكسام. الهدف من هذا العمل هو إلقاء الضوء على الآثار السامة لثلاث جرعات من الثياميثوكسام (26.05, 39.075, 78.15 مغ/كغ/اليوم) اثر تناوله عن طريق الفم لمدة ستة أسابيع، على تغير الوزن و وظيفة الكبد و الكلى لدى الجرذان الذكور من سلالة ويستار. و تحقيقا لهذه الغاية، أجريت عدة تحاليل بيوكيميائية (نسبة الجلوكوز في الدم، ASAT, ALAT, PAL,  $\gamma$ -GT و نسبة البولة و الكرياتينين في الدم)، و كذلك أجريت دراسات تشريحية مرضية لأنسجة الكبد و الكلية.

رصد تغير الوزن خلال فترة تناول المادة، سجل ارتفاعا ملحوظا في وزن الجسم لدى الجرذان المعالجة بالجرعات الثلاث مقارنة مع الشواهد. أظهرت نتائج التحاليل البيوكيميائية زيادة كبيرة في نشاط أنزيمات الكبد، و ذلك عند الجرعة المتوسطة و القوية، بينما انخفضت نسبة الجلوكوز و البولة و الكرياتينين في الدم لدى الجرذان المعرضة للجرعة القوية و المتوسطة. كشف الفحص النسيجي تخريبات على مستوى أنسجة الكبد و الكلية، و التي تزداد حدة مع ارتفاع الجرعة. لوحظ على مستوى أنسجة الكبد فقدان التنظيم الهيكلي، مع وجود بؤر من النخر و انتشار تنكس دهني. الاختلال الكلوي تمثل في تدمير الكبيبات، الأنابيب الملتوية القريبة و البعيدة، و بعض الأنابيب من حلقات هنلي. و قد لوحظت أيضا بعض البؤر النزفية. من خلال هذه النتائج، يبدو أن جرعات الثياميثوكسام المختبرة، خصوصا الجرعة المتوسطة و العالية، تحدث آثار سامة ملحوظة على وظائف الكبد و الكلى.

**الكلمات المفتاحية:** نيونيكوتينويد، ثياميثوكسام، سمية، جرذان ويستار ذكور، الكبد، الكلية.

## Glossaire

**Dose Journalière Admissible (DJA) :** c'est la quantité de substance qu'un être humain peut absorber quotidiennement durant sa vie sans effet néfaste pour sa santé. Elle s'exprime en  $\text{mg/Kg}_{\text{ poids corporel/j}}$ . Elle est calculée en divisant la DSE (Dose Sans Effet) par un coefficient de sécurité, en général de 100, pour tenir compte de la variabilité inter- et intra-espèce et, parfois, de 500 ou 1 000 si des doutes sur la toxicité existent ; elle sert pour l'ensemble de la population (Fillatre, 2011).

**Dose létale 50 (DL50) :** la DL50 par mode d'absorption, oral ou cutané est la dose de produit qui tue 50% des animaux d'expérience après une seule exposition dans des conditions d'études normalisées (Fillatre, 2011).

**Dose de Référence Aigüe (ARfD) :** représente la quantité de résidus de pesticides qu'un individu ne doit pas dépasser au cours d'un repas ou d'une journée. Elle permet de prendre en compte le risque toxicologique « court terme » pour les molécules dont l'effet toxique se manifeste rapidement dès la première ingestion. L'ARfD est établie selon une méthodologie similaire à celle décrite pour la DJA, mais diffère par le fait qu'elle est le plus souvent définie à partir des études de toxicité à court terme (quelques jours à quelques semaines). Elle s'exprime en  $\text{mg/Kg}_{\text{ poids corporel/j}}$  (Fillatre, 2011).

**Dose Sans Effet observé (DSE) :** c'est la quantité maximale de substance dont l'absorption quotidienne ne se traduit pas par des effets toxiques sur des animaux de laboratoire. Elle s'exprime en  $\text{mg/Kg}_{\text{ poids corporel/j}}$ . Elle est appelée aussi NOAEL (No Observed Adverse Effect Level ou concentration maximale sans effet nocif observé) (Fillatre, 2011).

**Limite Maximale de Résidus (LMR) :** c'est la concentration maximale en résidus de produit phytopharmaceutique, officiellement fixée, tolérée dans une denrée alimentaire en l'état ou transformée, destinée à l'homme ou aux animaux. Elle est exprimée en  $\text{mg/Kg}$  (Fillatre, 2011).

**Nécrose cellulaire :** la nécrose est une forme de mort cellulaire qui s'oppose à l'apoptose (mort cellulaire naturelle). Elle désigne les modifications morphologiques irréversibles coïncidant avec la mort cellulaire. Ces modifications touchent aussi bien le noyau que le cytoplasme (Rajender et Faust, 2006).

**Pesticide systémique :** c'est un pesticide qui agit après transfert à l'intérieur de la plante et diffusion par la sève (Fillatre, 2011).



## Glossaire

**Stéatose hépatocytaire :** la stéatose ou dégénérescence graisseuse est l'accumulation anormale de triglycérides dans les cellules parenchymateuses. Elle est fréquemment observée dans les hépatocytes, fortement impliqués dans le métabolisme lipidique (**Rajender et Faust, 2006**).

**Substance active :** produit chimique (molécule) utilisée dans les produits phytopharmaceutiques, et qui constitue le composant essentiel (de base) permettant aux produits phytopharmaceutiques de protéger la plante. Elle peut être formulée en diverses concentrations et vendue sous plusieurs noms commerciaux différents (**OMS, 2005**).

**Toxicité :** caractère des substances chimiques qui, au contact ou après pénétration dans un organisme, ont la propriété de causer un dysfonctionnement à l'échelle moléculaire, cellulaire ou organique (**Fillatre, 2011**).

**Toxicité aiguë :** la toxicité aiguë est un effet résultant de l'administration d'une dose unique de la substance étudiée, pendant une courte durée (généralement, quatorze jours) (**Fillatre, 2011**).

**Toxicité chronique :** la toxicité chronique est un effet résultant de l'administration répétée d'une dose ou de l'exposition prolongée, quotidienne ou périodique, à une concentration de la substance étudiée pendant une longue durée, couvrant une partie appréciable de la vie de l'organisme soumis à l'essai (des mois et même des années) (**Fillatre, 2011**).

**Toxicité subaiguë :** la toxicité subaiguë est un effet résultant de l'administration répétée d'une dose ou de l'exposition quotidienne à une concentration de la substance étudiée pendant une courte durée, pouvant aller jusqu'à un mois (**Fillatre, 2011**).

**Toxicité subchronique :** la toxicité subchronique est un effet résultant de l'administration répétée d'une dose ou de l'exposition quotidienne à une concentration de la substance étudiée pendant une durée moyenne (de un à trois mois) (**Fillatre, 2011**).

**Toxicocinétique :** étude du devenir des toxiques dans l'organisme, du moment de leur pénétration jusqu'au moment de leur élimination (**Fillatre, 2011**).

## Liste des abréviations

**ACTA** : Association de Coordination Technique Agricole.

**ALAT**: Alanine Amino-Transférase.

**AOEL**: Admissible Operator Effect Level.

**ARfD** : Acute Reference Dose ou dose de référence aiguë.

**ARLA** : Agence de Réglementation de la Lutte Antiparasitaire.

**ASAT** : Aspartate Amino-Transférase.

**CAS** : Chemical Abstracts Service.

**CL50** : Concentration létale 50.

**CPP** : Comité de la Prévention et de la Protection.

**CRD** : Centre de Recherche et de Développement.

**DJA** : Dose Journalière Admissible.

**DL50** : Dose Létale 50.

**DPVCT** : Direction de Protection des Végétaux et des Contrôles Techniques.

**DSE** : Dose Sans Effet.

**EC**: Commission Européenne.

**EFSA**: European Food Safety Authority.

**FAO**: Food and Agriculture Organization.

**γ-GT** : Gamma-Glutamyl-Transférase.

**HE**: Hématoxyline-éosine.

**INERIS** : Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques.

**ISO** : Organisation Internationale de Standardisation.

**IUPAC** : l'Union Internationale de Chimie Pure et Appliquée.

**LC** : Lobe Caudal.

**LD** : Lobe Droit.

**LDH** : Lactate Déshydrogénase.

**LG** : Lobe Gauche.

**LM** : Lobe Médian.

**LMR** : Limites Maximales de Résidus.

**LNCPP** : Laboratoire National de Contrôle des Produits Pharmaceutiques.

**MADR** : Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural.

**MDH** : Malate Déshydrogénase.

**nAChRs**: Récepteur nicotinique de l'Acétylcholine.

**NOAEL**: No Observed Adverse Effect Level.

**OCDE** : Organisation de Développement et de Coopération Economique.

**OMS** : Organisation Mondiale de la Santé.

**ONAB** : Office Nationale des Aliments de Bétail.

**PAL**: Phosphatase Alcaline.

**US-EPA**: United States-Environmental Protection Agency.

**WG** : Granulés dispersables dans l'eau.

## Liste des tableaux

|   |                   |
|---|-------------------|
| <b>Tableau I:</b> Classification des pesticides selon l'espèce indésirable et les molécules utilisées pour les éliminer ( <b>Thiollet-Scholtus, 2004</b> ) .....      | <b>04</b>         |
| <b>Tableau II:</b> Mode d'action des trois grands groupes de pesticides ( <b>El-Mrabet <i>et al.</i>, 2007</b> ).....   | <b>05</b>         |
| <b>Tableau III:</b> Nombre de pesticides homologués en Algérie ( <b>MADR, 2010</b> ).....   | <b>08</b>         |
| <b>Tableau IV:</b> Classification des pesticides par degré de risque pour l'homme ( <b>OMS, 2010</b> ).....   | <b>12</b>         |
| <b>Tableau V:</b> Propriétés physico-chimiques du "thiaméthoxame" ( <b>ARLA, 2007</b> ) .....   | <b>16</b>         |
| <b>Tableau VI:</b> Propriétés physico-chimiques de "Actara 25WG" ( <b>ARLA, 2007</b> ) .....  | <b>17</b>         |
| <b>Tableau VII:</b> Fonctions principales du foie ( <b>Marchall et Bangert, 2004</b> ).....   | <b>22</b>         |
| <b>Tableau I :</b> Composition (%) du régime alimentaire des rats (granulés provenant de l'ONAB de Béjaïa) ( <b>d'après une fiche technique du CRD-Saïdal</b> ) ..... | <b>Annexe III</b> |

## Liste des figures

|  |    |
|--|----|
| <b>Figure 01</b> : Evolution de la production mondiale de pesticides (Carvalho, 2006) .....  | 06 |
| <b>Figure 02</b> : Importation mondiale des pesticides (FAO, 2010).....  | 06 |
| <b>Figure 03</b> : Répartition du marché mondial des insecticides en 2008 (Jeschke <i>et al.</i> , 2011) ... ..  | 07 |
| <b>Figure 04</b> : Evolution des valeurs des importations des pesticides en Algérie (FAO, 2010).....   | 07 |
| <b>Figure 05</b> : Utilisation des pesticides en Algérie (Moussaoui <i>et al.</i> , 2005) .....  | 08 |
| <b>Figure 06</b> : Mécanismes de transferts et de transformation des pesticides dans les milieux de l'environnement (INERIS, 2005) .....                       | 09 |
| <b>Figure 07</b> : Modes d'exposition de l'homme aux pesticides (CPP, 2002) .....  | 10 |
| <b>Figure 08</b> : Représentation des différents lobes hépatiques et vascularisation chez le rat (Gandillet, 2004).....  | 20 |
| <b>Figure 09 a</b> : Organisation structurale du foie (Marchall et Bangert, 2004) .....  | 21 |
| <b>Figure 09 b</b> : Organisation structurale schématique du foie (Marchall et Bangert, 2004).....   | 21 |
| <b>Figure 10</b> : Interactions biochimiques des xénobiotiques (Manahan, 2003).....  | 23 |
| <b>Figure 11</b> : Le rein, anatomie macroscopique (Combaz, 2011).. ..   | 24 |
| <b>Figure 12</b> : Segmentation anatomique et fonctionnelle du néphron (Klein, 2009).....  | 25 |
| <b>Figure 13</b> : Rat Wistar mâle (Photo originale) .....   | 29 |
| <b>Figure 14</b> : Actara 25WG (Thiamethoxame) (Photo originale) .....   | 30 |
| <b>Figure 15</b> : Effet du traitement au thiaméthoxame à différentes doses sur le poids corporel des rats Wistar mâles.....                                   | 39 |
| <b>Figure 16</b> : Effet du traitement au thiaméthoxame à différentes doses sur la glycémie des rats Wistar mâles pendant toute la période expérimentale ..... | 40 |
| <b>Figure 17</b> : Effet du traitement au thiaméthoxame à différentes doses sur l'urémie des rats Wistar mâles pendant toute l'expérimentation .....           | 41 |
| <b>Figure 18</b> : Effet du traitement au thiaméthoxame à différentes doses sur la créatinémie des rats Wistar mâles pendant toute l'expérimentation.....      | 42 |
| <b>Figure 19</b> : Effet du traitement au thiaméthoxame à différentes doses sur le taux d'ASAT des rats Wistar mâles pendant toute l'expérimentation.....      | 43 |
| <b>Figure 20</b> : Effet du traitement au thiaméthoxame à différentes doses sur le taux d'ALAT des rats Wistar mâles pendant toute l'expérimentation .....     | 44 |
| <b>Figure 21</b> : Effet du traitement au thiaméthoxame à différentes doses sur le taux de la PAL des rats Wistar mâles pendant toute l'expérimentation.....   | 45 |

|   |                  |
|---|------------------|
| <b>Figure 22</b> : Effet du traitement au thiaméthoxame à différentes doses sur le taux de $\gamma$ -GT des rats Wistar mâles pendant toute l'expérimentation.....                            | <b>46</b>        |
| <b>Figure 23a</b> : Histologie du Parenchyme rénal chez les rats témoins (Gr X10, Coloration HE).....   | <b>49</b>        |
| <b>Figure 23b</b> : Histologie du parenchyme rénal chez les rats témoins, mettant en évidence un glomérule et des tubes contournés normaux (Gr X 40, Coloration HE) .....                     | <b>49</b>        |
| <b>Figure 24a</b> : Histologie du parenchyme rénal chez les rats traités à faible dose, mettant en évidence des lésions focales de quelques glomérules (Gr X 10, Coloration HE).....          | <b>50</b>        |
| <b>Figure 24b</b> : Histologie du parenchyme rénal chez les rats traités à faible dose, mettant en évidence une hémorragie au niveau de la chambre glomérulaire (Gr X 40, Coloration HE)..... | <b>50</b>        |
| <b>Figure 25</b> : Histologie du parenchyme rénal chez les rats traités à moyenne dose, mettant en évidence l'atteinte d'une partie du cortex (Gr X 10, Coloration HE).....                   | <b>51</b>        |
| <b>Figure 26</b> : Histologie du parenchyme rénal chez les rats traités à forte dose, mettant en évidence une atteinte étendue du cortex (Gr X 10, Coloration HE) .....                       | <b>51</b>        |
| <b>Figure 27</b> : Histologie du foie chez les rats témoins, mettant en évidence une architecture lobulaire normale (Gr X 40, Coloration HE) .....  | <b>53</b>        |
| <b>Figure 28a</b> : Histologie du foie chez les rats traités à faible dose, mettant en évidence des lésions de dégénérescence nucléaire (Gr X 100, Coloration HE).....                        | <b>53</b>        |
| <b>Figure 28b</b> : Histologie du foie chez les rats traités à faible dose, mettant en évidence des nécroses Centro-lobulaires focales (Gr X 10, Coloration HE) .....                         | <b>54</b>        |
| <b>Figure 28c</b> : Histologie du foie chez les rats traités à faible dose, mettant en évidence une nécrose Centro-lobulaire agrandi (Gr X 40, Coloration HE) .....                           | <b>54</b>        |
| <b>Figure 29</b> : Histologie du foie chez les rats traités à moyenne dose, mettant en évidence une perte partielle de l'architecture (Gr X 10, Coloration HE) .....                          | <b>55</b>        |
| <b>Figure 30a</b> : Histologie du foie chez les rats traités à forte dose, mettant en évidence une perte étendue de l'architecture lobulaire (Gr X 10, Coloration HE) .....                   | <b>55</b>        |
| <b>Figure 30b</b> : Histologie du foie chez les rats traités à forte dose, mettant en évidence les lésions de stéatose hépatique (Gr X 100, Coloration HE).....                               | <b>56</b>        |
| <b>Figure 1</b> : Structures chimiques de la nicotine et de la nithiazine, le premier néonicotinoïde synthétisé (Elbert <i>et al.</i> , 2008) .....   | <b>Annexe I</b>  |
| <b>Figure 2</b> : Structures chimiques, dates de mise sur le marché européen et formulations commerciales des principaux néonicotinoïdes (Elbert <i>et al.</i> , 2008).....                   | <b>Annexe I</b>  |
| <b>Figure 3</b> : Principaux métabolites du thiaméthoxame chez le rat est la souris (Noakes, 2003 et Green, 2003).....  | <b>Annexe II</b> |

# Sommaire

|   |           |
|---|-----------|
| <b>Introduction</b> .....                                   | <b>01</b> |
| <b>Partie bibliographique</b>                               |           |
| <b>Chapitre I : Généralités sur les pesticides</b> .....    | <b>03</b> |
| I.1- Définition .....                                       | <b>03</b> |
| I.2- Classification .....                                   | <b>03</b> |
| I.3- Mode d'action des pesticides .....                     | <b>04</b> |
| I.4- Importance des pesticides .....                        | <b>05</b> |
| I.4.1- Dans le monde .....                                  | <b>05</b> |
| I.4.2- En Algérie .....                                     | <b>07</b> |
| I.5- Dispersion des pesticides dans l'environnement .....   | <b>09</b> |
| I.6- Exposition de l'homme aux pesticides .....             | <b>10</b> |
| I.7- Effets des pesticides sur la santé humaine .....       | <b>11</b> |
| I.8- Evaluation du risque d'un produit phytosanitaire ..... | <b>12</b> |
| <b>Chapitre II : Néonicotinoïdes et Thiaméthoxame</b> ..... | <b>14</b> |
| II.1- Néonicotinoïdes .....                                 | <b>14</b> |
| II.2- Thiaméthoxame .....                                   | <b>15</b> |
| II.2.1- Propriétés et utilisations .....                    | <b>15</b> |
| II.2.2- Mode d'action .....                                 | <b>17</b> |
| II.2.3- Risques pour l'environnement .....                  | <b>17</b> |
| II.2.4- Toxicocinétique .....                               | <b>18</b> |
| II.2.5- Toxicité du thiaméthoxame .....                     | <b>19</b> |
| <b>Chapitre III : Foie et Rein</b> .....                    | <b>20</b> |
| III.1- Généralités sur le foie .....                        | <b>20</b> |
| III.1.1- Organisation anatomique du foie .....              | <b>20</b> |
| III.1.2- Histologie du foie .....                           | <b>20</b> |
| III.1.3- Fonctions du foie .....                            | <b>22</b> |
| III.1.4- Métabolisation des xénobiotiques .....             | <b>22</b> |
| III.1.5- Evaluation d'une hépatotoxicité .....              | <b>23</b> |
| III.2- Généralités sur le rein .....                        | <b>24</b> |
| III.2.1- Organisation général du rein .....                 | <b>24</b> |
| III.2.1.1- Aspect macroscopique .....                       | <b>24</b> |
| III.2.1.2- Aspect microscopique .....                       | <b>25</b> |
| III.2.2- Fonctions du rein .....                            | <b>26</b> |
| III.2.3- Marqueurs biochimiques de la fonction rénale ..... | <b>26</b> |

|  |           |
|--|-----------|
| <b>Partie expérimentale</b> .....                                | <b>28</b> |
| <b>Chapitre I : Matériel et méthodes</b> .....                   | <b>29</b> |
| I.1- Matériel .....  | <b>29</b> |
| I.1.1- Matériel biologique .....                                 | <b>29</b> |
| I.1.2- Matériel non biologique .....                             | <b>30</b> |
| I.2- Méthodes.....   | <b>30</b> |
| I.2.1- Préparation des lots de rats. ....                        | <b>30</b> |
| I.2.2- Procédure d'évaluation de la toxicité sub-chronique ..... | <b>31</b> |
| I.2.3- Prélèvement sanguin .....                                 | <b>32</b> |
| I.2.4- Analyses biochimiques.....                                | <b>32</b> |
| I.2.5- Sacrifice des animaux et prélèvement d'organes.....       | <b>35</b> |
| I.2.6- Etude histologique .....                                  | <b>35</b> |
| I.2.7- Etude statistique .....                                   | <b>36</b> |
| <b>Chapitre II : Résultats et discussion</b> .....               | <b>38</b> |
| II.1- Résultats.....   | <b>38</b> |
| II.1.1- Résultats de l'évolution pondérale... ..                 | <b>38</b> |
| II.1.2- Résultats des analyses biochimiques .....                | <b>40</b> |
| II.1.3- Résultats de l'étude histologique .....                  | <b>47</b> |
| II.1.3.1- Résultats de l'histologie du rein .....                | <b>47</b> |
| II.1.3.2- Résultats de l'histologie du foie .....                | <b>52</b> |
| II.2 Discussion .....  | <b>57</b> |
| <b>Conclusion et perspectives</b> .....                          | <b>62</b> |
| <b>Références Bibliographiques</b>                               |           |
| <b>Annexes</b>   |           |

# *Introduction*



# Introduction

## Introduction

Les produits phytosanitaires de protection des cultures – plus communément appelés pesticides – sont un des piliers de la production végétale d'une agriculture intensive (**Moeys, 2007**). En protégeant les cultures contre les bio-agresseurs, ils permettent d'accroître, de stabiliser les rendements et d'assurer une qualité de production. Ils sont à l'heure actuelle le seul outil d'optimisation qui soit efficace (**Bodereau-Dubois, 2011**).

Cependant, les pesticides sont aujourd'hui au cœur d'une problématique d'ordre aussi bien environnementale, avec une contamination de la faune et de la flore, que sanitaire. En effet, de par leurs propriétés toxiques, les pesticides représentent un réel danger pour l'homme lorsqu'ils ne sont pas utilisés dans des conditions appropriées (**Fillatre, 2011**).

En Algérie, les quantités de pesticides utilisés sont de l'ordre de 16,7 millions de tonnes en 2007 soit 1,9 kg/ha, ce qui représente 1/3 à 1/6 des quantités utilisées dans les pays développés (**MADR, 2007**). Le problème des pesticides réside dans la façon dont ils sont utilisés. En effet, les agriculteurs n'ont pas l'éducation phytosanitaire pour être sensibilisés aux risques, ils ignorent et ne respectent pas la réglementation et manipulent incorrectement les pesticides (**Mokhtari, 2011**).

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

Le thiaméthoxame est un insecticide de deuxième génération de la famille des néonicotinoïdes ayant un large spectre d'action, il est récemment mis sur le marché Algérien sous l'appellation commerciale Actara 25WG. A l'instar de l'ensemble des pesticides, l'utilisation intensive du thiaméthoxame peut avoir des répercussions négatives sur l'environnement, sur les organismes non cibles et notamment sur la santé humaine.

De nombreuses études épidémiologiques suggèrent une corrélation entre l'utilisation professionnelle des pesticides et l'apparition de certaines pathologies dans les populations concernées. Des effets cancérigènes, neurotoxiques ou des perturbations du système endocrinien, reproducteur, cardiovasculaire, gastro-intestinal, hépatique, rénal et respiratoire ont été mis en évidence chez l'animal. La question des risques pour l'homme est donc posée tant au niveau professionnel qu'à celui du consommateur (**Merhi, 2008**).

# Introduction

C'est dans ce contexte que le but de ce travail expérimental est centré sur l'évaluation de la toxicité du nouvel insecticide néonicotinoïde "Thiaméthoxame" chez le rat Wistar par voie orale. A cet effet, nous nous sommes intéressés à étudier son impact sur le poids corporel, sur certains paramètres biochimiques ainsi que sur l'histologie du foie et du rein.

Le manuscrit est divisé en deux parties :

- La première partie est une synthèse bibliographique présentant des généralités sur :
  - Les pesticides ;
  - La famille des néonicotinoïdes et la matière active "thiaméthoxame" intéressée par la présente étude ;
  - Rappels sur les deux organes cibles étudiés : foie et rein.
- La deuxième partie est consacrée à l'étude expérimentale et est divisée en deux chapitres :
  - 1 : Une description du matériel utilisé et le protocole expérimental ;
  - 2 : Une présentation des résultats obtenus suivis de leur discussion.

# *Partie Bibliographique*

## I.1- Définition

Etymologiquement, le mot « pesticide » est formé du mot français " peste" (fléau, maladie) et du suffixe "-cide" provenant du latin caedere (tuer). Littéralement, un pesticide est donc un « tueur de fléaux ».

Le terme « pesticide » est une appellation générique désignant toutes les substances naturelles ou synthétiques ou les préparations commerciales utilisées pour la prévention, le contrôle ou l'élimination d'organismes (microorganismes, animaux ou végétaux) jugés indésirable ou nuisibles pour l'agriculture, mais également pour d'autres applications (hygiène et santé publiques, soins vétérinaires, traitement de surfaces non-agricoles...) (ACTA, 2006).

Bien que communément appelés « pesticides » par le grand public, d'autres dénominations sont utilisés par la législation, les firmes qui les fabriquent et les vendent ainsi que les scientifiques : produits phytosanitaires ; phytopharmaceutiques ; agro-pharmaceutiques.

## I.2- Classification

Les pesticides disponibles aujourd'hui sur le marché sont caractérisés par une telle variété de structure chimique, de groupes fonctionnels et d'activité que leur classification est complexe. D'une manière générale, ils peuvent être classés en fonction de la nature de l'espèce à combattre mais aussi en fonction de la nature chimique de la principale substance active qui les compose, comme l'illustre le **tableau 1** ci-après.

- **Premier système de classification** : selon la nature des cibles visées, trois grandes classes de pesticides représentant 90% des produits phytosanitaires se distinguent : les insecticides, les fongicides et les herbicides.

Il existe d'autres classes mineures destinées à combattre des cibles spécifiques : acaricides (acariens), nématocides (nématodes), corvicides (oiseaux ravageurs), rodenticides (rongeurs) et molluscicides (limaces et escargots) (Merhi, 2008).

- **Deuxième système de classification** : tient compte de la nature chimique de la substance active majoritaire qui compose les produits phytosanitaires. Les principaux groupes chimiques comprennent les organochlorés, les organophosphorés, les carbamates, les pyréthriñoïdes, les néonicotinoïdes, les triazines et les urées substituées (Merhi, 2008).

**Tableau I: Classification des pesticides selon l'espèce indésirable et les molécules utilisées pour les éliminer (Thiollet-Scholtus, 2004).**

| Principales familles de produits phytosanitaires | Nature de l'espèce nuisible | Familles de molécules | Exemples de molécules           |
|--|-----------------------------|-----------------------|---------------------------------|
| Insecticides                                     | Insectes                    | Organophosphorés      | Fénithrothion<br>Méthidathion   |
|  |                             | Organochlorés         | Pentachlorophénol<br>Endosulfan |
|  |                             | Carbamates            | Méthomyl<br>Thiodicarbe         |
|  |                             | Pyréthroïdes          | Bifenthrine<br>Deltaméthrine    |
|  |                             | Phénylpyrazoles       | Fipronil                        |
|  |                             | Néonicotinoïdes       | Thiamétoxame<br>Imidaclopride   |
| Fongicides                                       | Champignons                 | Imides cycliques      | Vinchlozoline                   |
|  |                             | Carbamates            | Métirame-zinc                   |
|  |                             | Phtalamides           | Folpel                          |
|  |                             | Triazoles             | Epoxyconazole                   |
| Herbicides                                       | Mauvaises herbes            | Organochlorés         | Alachlore                       |
|  |                             | Benzamide             | Isoxaben                        |
|  |                             | Urées substituées     | Diuron                          |
|  |                             | Chlorotriazines       | Terbuthylazine                  |
|  |                             | Triazines             | Métribuzine                     |

### I.3- Mode d'action des pesticides

Les substances actives des pesticides agissent sur les fonctions physiologiques nécessaires à la survie de l'organisme (photosynthèse, reproduction, respiration...) : inhibiteurs respiratoires, inhibiteurs de la division cellulaire, de la biosynthèse des stérols, des acides aminés ou des protéines,...

L'action du phytosanitaire sur l'organisme ciblé peut se faire de deux façons : direct par simple contact avec l'organisme cible, ou indirect si le pesticide doit pénétrer dans l'organisme pour agir (**Moussaoui, 2010**).

Il existe plusieurs modes d'action selon le groupe de pesticides considérés. Le tableau suivant montre globalement l'action des trois grands groupes de pesticides.

Tableau II: Mode d'action des trois grands groupes de pesticides (El-Mrabet *et al.*, 2007).

| Insecticides  | Fongicides  | Herbicides  |
|---|---|---|
| <p>Interviennent en éliminant les insectes ou en empêchant leur reproduction.</p> <p>Différents types existent :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Les neurotoxiques ;</li> <li>▪ Les régulateurs de croissance ;</li> <li>▪ Ceux agissant sur la respiration cellulaire.</li> </ul> | <p>Peuvent agir différemment :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Soit en inhibant le système respiratoire ou la division cellulaire ;</li> <li>▪ Soit en perturbant la biosynthèse des acides aminés, des protéines ou le métabolisme des glucides.</li> </ul> | <p>Possèdent différents modes d'action sur les plantes, ils peuvent être :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Des perturbateurs de la régulation d'une hormone "auxine" (principale hormone agissant sur l'augmentation de la taille des cellules) ;</li> <li>▪ Des perturbateurs de la photosynthèse ;</li> <li>▪ Des inhibiteurs de la division cellulaire, de la synthèse des lipides, de cellulose ou des acides aminés.</li> </ul> |

## I.4- Importance des pesticides

### I.4.1- Dans le monde :

L'usage des pesticides a connu un très fort développement au cours des dernières décennies, les rendant *à priori* quasiment indispensables à la plupart des pratiques agricoles, quel que soit le niveau de développement économique des pays. La production mondiale de pesticides a connu une augmentation remarquable depuis 1945 jusqu'à 2005, d'où elle est passée d'environ 100. 000 tonnes à environ 6 millions de tonnes, soit un doublement de 60 fois durant cette période (Carvalho, 2006) (Figure 01).

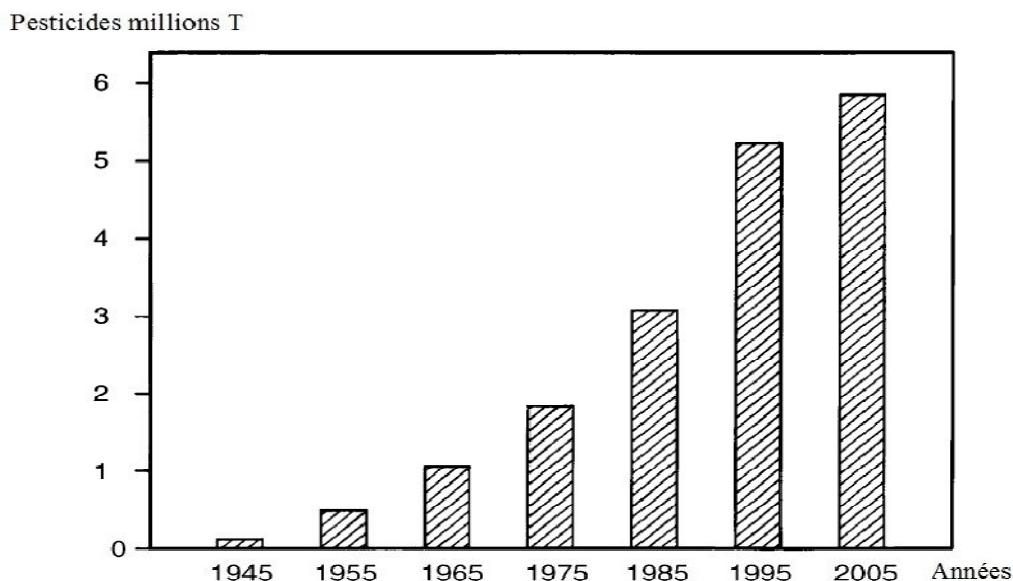


Figure 01 : Evolution de la production mondiale de pesticides (Carvalho, 2006).

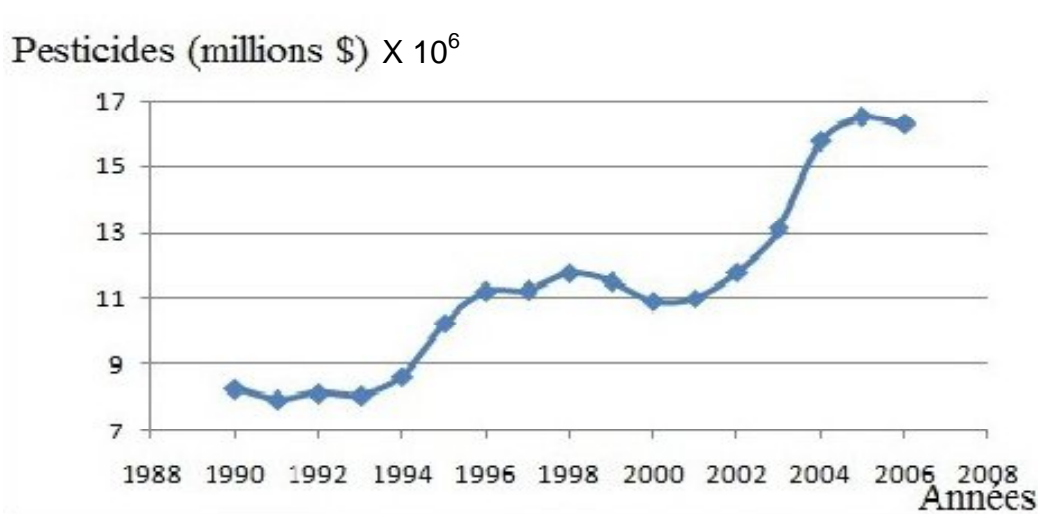


Figure 02 : Importation mondiale des pesticides (FAO, 2010).

Le graphique ci-dessus (**Figure 02**) montre une évolution mondiale importante des importations des pesticides. La valeur des importations est passée de 8 millions de dollars à la fin des années 80, à environ 16 millions de dollars durant les années 2006-2007, ce qui signifie un doublement de la valeur en moins de 20 ans. Donc on peut constater que la stratégie générale des pays, en terme de la protection des cultures, tend vers l'augmentation de l'utilisation des pesticides dans ces deux dernières décennies (**FAO, 2010**).

Le marché des insecticides est dominé par les néonicotinoïdes à hauteur de 23.1% de part de marché, suivi par les pyréthrinoides (15.1%), les organophosphorés (13.3%) et les carbamates (10.6%) (Jeschke *et al.*, 2011) (Figure 03).

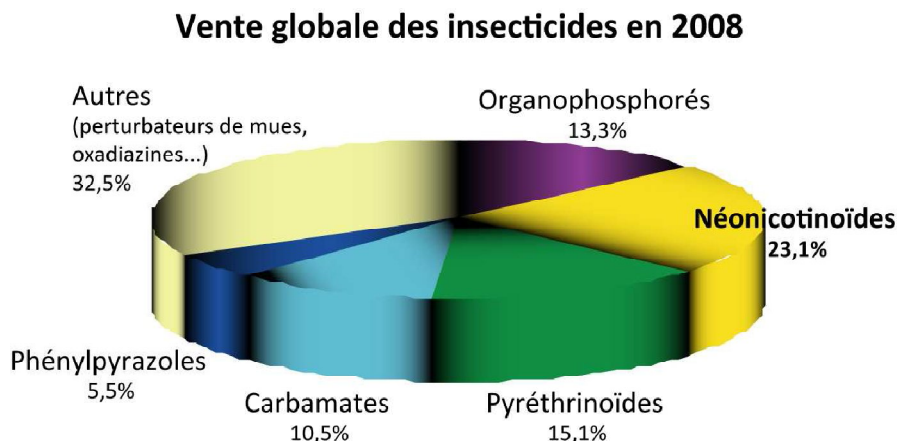


Figure 03 : Répartition du marché mondial des insecticides en 2008. (Jeschke *et al.*, 2011).

#### I.4.2- En Algérie

L'importation des pesticides en Algérie a connu une évolution remarquable ces dernières années, comme l'illustre la **figure 04**. A partir de 2002 on note une évolution exponentielle de ces importations, probablement suite à la restriction de ces produits en Europe et leur orientation vers le marché Algérien à des prix bas (FAO, 2010).

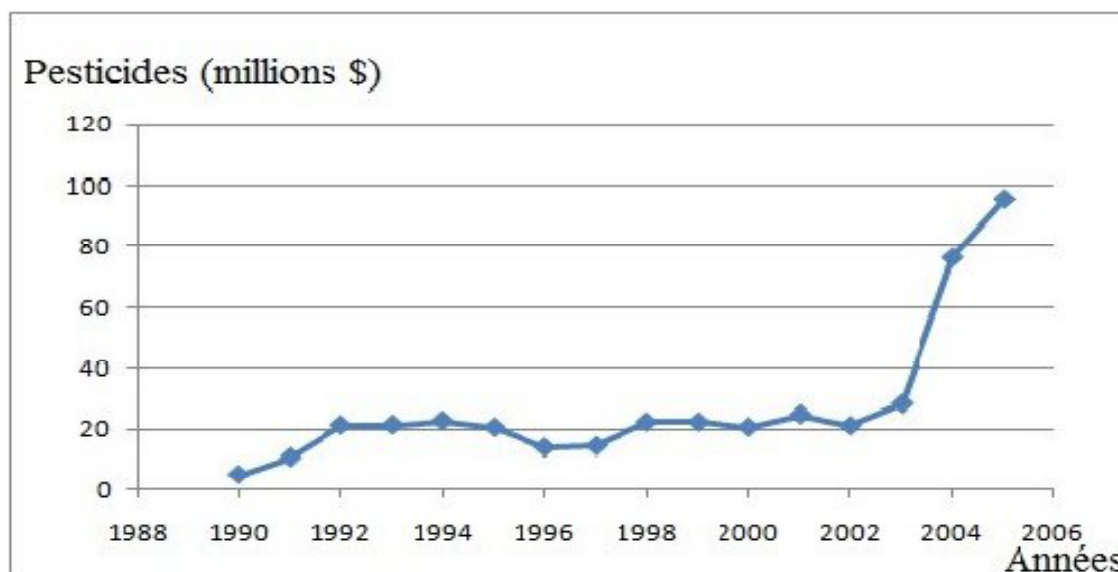


Figure 04 : Evolution des valeurs des importations des pesticides en Algérie (FAO, 2010).



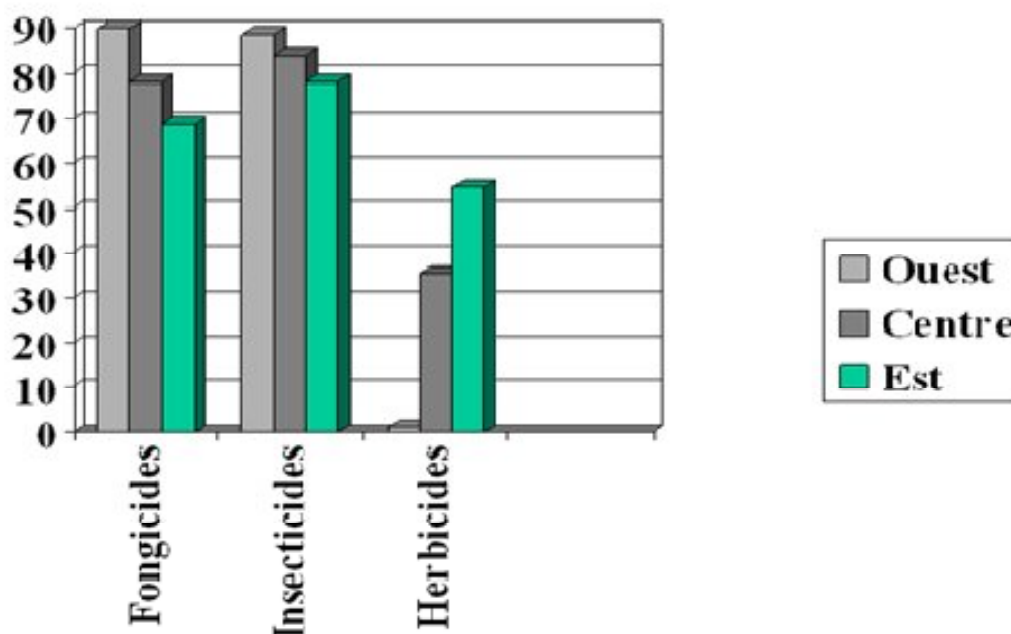
Tableau III: Nombre de pesticides homologués en Algérie (MADR, 2010).

|  | 2000 | 2001 | 2002 | 2003 | 2004 | 2005 | 2006 | Cumul |
|--|------|------|------|------|------|------|------|-------|
| Nombre de décisions d'homologations des pesticides | 57   | 129  | 116  | 163  | 215  | 303  | 330  | 1 313 |

Le tableau ci-dessus montre qu'il est mis à la disposition des agriculteurs 1 313 pesticides homologués, passant de 57 en 2000 à 330 en 2006. Cette augmentation est due à l'importance de l'utilisation des pesticides afin de protéger les cultures et d'améliorer le rendement (MADR, 2010).

L'Algérie utilise 6 000 à 10 000 tonnes/an de pesticides, soit 15 à 20 % des besoins normatifs. Les insecticides, les fongicides et les herbicides sont les pesticides les plus utilisés. (Moussaoui *et al.*, 2005).

Le graphique suivant illustre la répartition de l'utilisation des pesticides en Algérie

Figure 05 : Utilisation des pesticides en Algérie (Moussaoui *et al.*, 2005).

## I.5- Dispersion des pesticides dans l'environnement

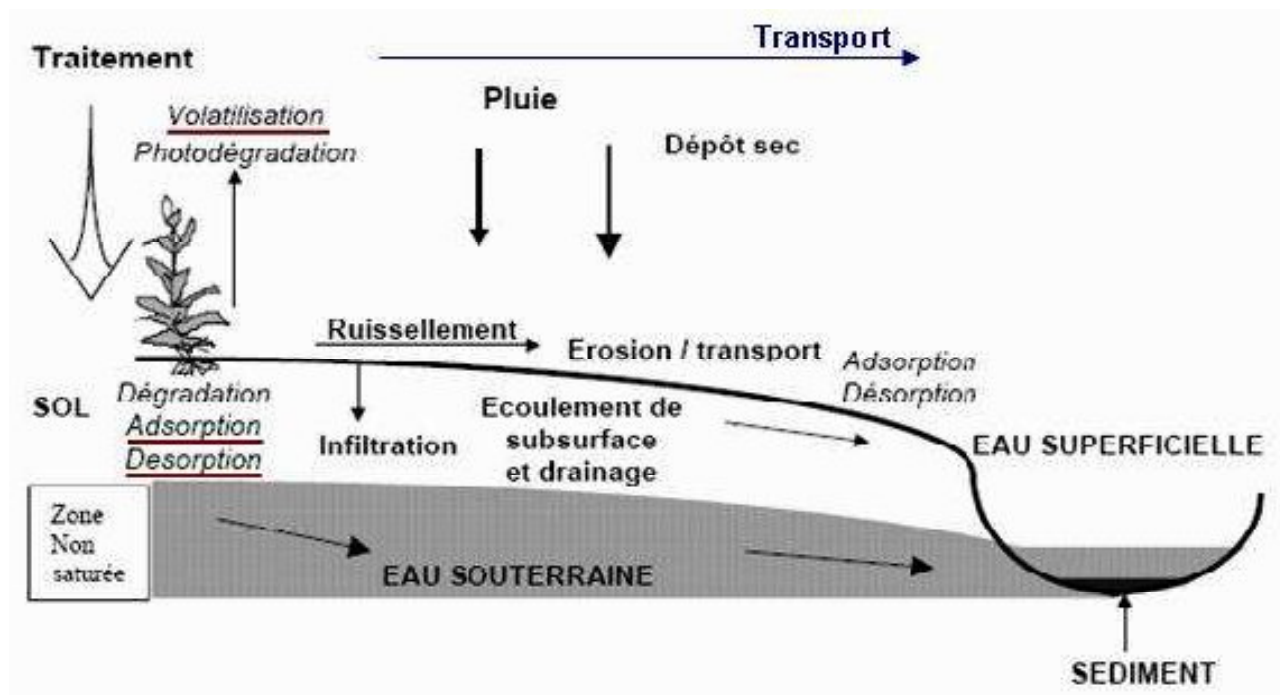


Figure 06 : Mécanismes de transferts et de transformation des pesticides dans les milieux de l'environnement (INERIS, 2005).

Les pesticides sont principalement appliqués sur les cultures et/ou le sol. Parfois ils sont incorporés ou injectés dans le sol ou appliqués sous forme de granulés ou en traitement des semences. Malgré un souci croissant de protection de l'environnement lors de l'utilisation des produits phytosanitaires, il y a une forte partie de la quantité appliquée qui n'atteint pas sa cible et qui se retrouve dans l'environnement (contamine le sol, l'eau et l'atmosphère) (Vergucht *et al.*, 2006). La figure 06 au dessus, illustre les mécanismes de dissémination des pesticides dans l'environnement.

### ❖ Contamination de l'air

Pendant ou après l'application d'un pesticide, une partie de la quantité épanchée peut se retrouver dans l'air. Certaines sources font état de pertes vers l'atmosphère à hauteur de 90% de la dose appliquée (Bedos *et al.*, 2002). Les pesticides se retrouvent dans l'air en concentrations qui varient dans le temps (en lien avec les périodes d'application) et dans l'espace (selon la proximité des sources). L'air peut être contaminé de manière locale, mais aussi à distance des lieux de traitement (INERIS, 2005).

### ❖ Contamination des sols

La contamination du sol est due à des traitements spécifiques (insecticides du sol, désinfectants et spécialement les herbicides) et également à des contaminations qui viennent des traitements lorsqu'une partie de la matière active se dépose sur le sol ou par un lessivage des particules déposées sur les plantes par la pluie. La vitesse d'infiltration et la rétention des

pesticides dans le sol dépendent du sol (humidité, taux de matière organique, pH) et du pesticide.

D'autres sources de contamination des sols proviennent des industries produisant et/ou procédant au stockage des substances phytosanitaires (Ma, 2000).

### ❖ Contamination des eaux

Les pesticides peuvent être dispersés dans l'eau par le drainage, l'infiltration, le ruissellement, l'essuyage des feuilles des plantes traitées par les pluies...etc. Dans certaines zones, la contamination est due aux dépôts atmosphériques. Quand les pesticides atteignent l'eau, ils présentent un risque potentiel pour la santé humaine et l'environnement. Ce risque dépend du degré d'exposition (concentration dans l'environnement) ainsi que des propriétés toxicologiques du pesticide (Samantha, 2003 et Vergucht *et al.*, 2006).

### I.6- Exposition de l'homme aux pesticides

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

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

La **figure 07** résume les possibles modes d'exposition de l'homme aux pesticides.

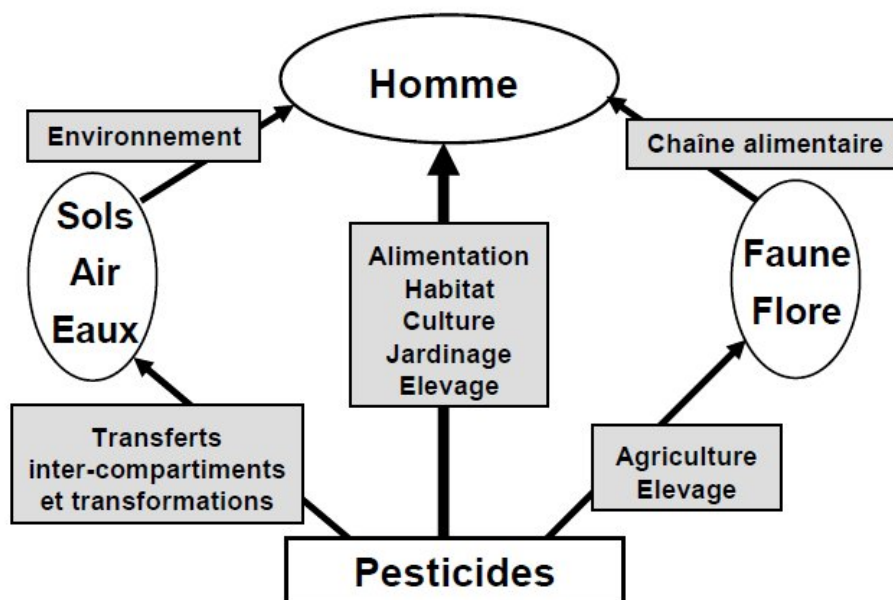


Figure 07 : Modes d'exposition de l'homme aux pesticides (CPP, 2002).

### ➤ Exposition professionnelle

L'exposition professionnelle concerne essentiellement les personnes manipulant les produits, au moment de la préparation, de l'application et du nettoyage des appareils de traitement. Les agriculteurs constituent une population particulièrement exposée (**CPP, 2002**).

L'absorption des pesticides par la peau et par inhalation sont révélés comme les voies d'exposition les plus significatives en milieu agricole, et secondairement par voie orale (repas, tabac,... sur le lieu de travail) (**Jakubowski et Trzcinka-Ochocka, 2005**).

### ➤ Exposition non professionnelle

L'ensemble de la population peut être exposé aux pesticides lors des usages domestiques ou d'entretien des jardins, mais surtout à des résidus de ces pesticides au travers de son environnement (eau, air, particules en suspension, poussières) et de son alimentation.

Les chiffres de l'OMS indiquent que la contamination des aliments par les pesticides est la voie d'exposition de loin la plus importante. Les évaluations de risque attribuent 90% de l'exposition à l'alimentation contre 10% à l'eau (**EC, 2007**).

La contamination de nos aliments par les pesticides constitue alors la plus grande cause de l'entrée dans nos organismes d'un véritable cocktail de molécules de pesticide. Ce n'est donc pas pour rien que la présence de résidus dans l'alimentation est la première crainte alimentaire des pays développés, alors qu'elle est ignorée par une grande partie de notre population.

### ➤ Exposition de l'enfant

L'exposition de l'enfant aux pesticides peut avoir lieu très tôt, *in utero* via le placenta suite à l'exposition de la mère (**Saunders et al., 2004**), mais également après la naissance, soit directement par exposition aux contaminations domestiques (**Eea et Who, 2002**) ou via le lait maternel (**Jurewicz et al., 2006**).

## I.7- Effets des pesticides sur la santé humaine

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

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

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

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

Le nombre d'empoisonnements par les pesticides dans le monde est estimé à trois millions de cas tous les ans, avec environ 220 000 décès (**Khan et Kour, 2007**).

Selon **Soltaninejad et ses collaborateurs (2007)**, 95% d'empoisonnements mortels par les pesticides se produisent dans les pays en voie de développement.

L'intensité de ces risques est fonction du degré d'exposition des populations (profession, proximité des zones traitées, consommation d'eau et d'aliments contaminés) ou de leur sensibilité (âge) (**Kersante, 2003**).

## I.8- Evaluation du risque d'un produit phytosanitaire

L'évaluation du risque d'un produit phytosanitaire pour l'homme est constituée d'une batterie de tests imposés par la **directive 91/414/CEE du Conseil Européen** :

### a. Tests de toxicité :

Les tests de **toxicité aiguë** (DL50 orale et cutanée, CL50 inhalatoire chez le rat) permettent d'estimer la dose létale d'un produit. L'évaluation de la DL50 permet la classification des pesticides selon le degré de risque pour l'homme (**tableau 04**).

**Tableau IV: Classification des pesticides par degré de risque pour l'homme (OMS, 2010).**

| Niveau de classification | Niveau de risque                          | DL50 pour le rat (mg/kg de poids corporel) |              |
|--------------------------|---|--|--------------|
|                          |   | Voie orale                                 | Voie cutanée |
| <b>I a</b>               | Extrêmement dangereux                     | < 5  | < 50         |
| <b>I b</b>               | Fortement dangereux                       | 5 - 50                                     | 50 - 200     |
| <b>II</b>                | Modérément dangereux                      | 50 - 2 000                                 | 200 - 2 000  |
| <b>III</b>               | Légèrement dangereux                      | > 2 000                                    |              |
| <b>U</b>                 | Non connu comme présentant un danger aigu | 5 000 ou plus                              |              |

Des tests de **toxicité à court terme (subaiguë)** pendant en moyenne 28 jours, à **moyen terme (subchronique)** pendant 1 à 3 mois et à **long terme (chronique)** pouvant durer toute la vie de l'animal, sont également réalisés afin de déterminer des doses sans effets (NOAEL= No Observed Adverse Effect Level).

- b. Tests de cancérogénèse :** conduits sur deux espèces animales exposées par voie orale (rat : 2 ans ; souris : 18 mois).
- c. Tests de reprotoxicité :** réalisés sur plusieurs générations chez les rongeurs.
- d. Tests de mutagénèse et de génotoxicité :** réalisés chez les procaryotes et sur les cellules de mammifères *in vitro*.

L'ensemble de ces tests va permettre de définir les seuils toxicologiques de référence, dans le but d'assurer la sécurité de l'opérateur et du consommateur (INERIS, 2005).

## II.1- Néonicotinoïdes

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

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

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

Leurs structures et leurs dates de mises sur marché sont présentés dans **la figure 2 de l'annexe I**.

Les néonicotinoïdes sont semblables à la molécule de la nicotine par leur mode d'action et partiellement par leur structure (**Figure 1- annexe I**). Ils se différencient des autres classes chimiques de pesticides par leurs propriétés chimiques et biologiques uniques tels qu'un large spectre d'activité insecticide, des taux d'application bas, un nouveau mode d'action et un profil sécuritaire favorable (**Maienfisch et al., 2001**). Ils sont sélectifs grâce à la spécificité des récepteurs nicotiques des insectes et des mammifères (**Tomisawa et Casida, 2003**).

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

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

De part leur activité systémique, les néonicotinoïdes offrent une protection prolongée et efficace contre les ravageurs, du stade de semence au stade adulte de la plante. (**Elbert et al., 2008 et Jeschke et al., 2011**). Ils présentent la particularité d'être parmi les insecticides les moins persistants dans le sol. (**Gupta et Gajbhiye, 2007 et Hatcher et al., 2008**).

Malgré le succès fulgurant qu'ont connu les néonicotinoïdes, ces derniers présentent des effets indésirables non négligeables. En effet, de part leur action systémique, les néonicotinoïdes peuvent exposer les organismes non cibles aux matières actives par la contamination du pollen et du nectar des fleurs des cultures traitées. Les apiculteurs ont alors mis en cause les néonicotinoïdes dans le dépeuplement des colonies d'abeilles. (**Laurent et Rathahao, 2003**). Suite à des études sur l'éventuelle toxicité sur les insectes pollinisateurs, il a pu être mis en évidence que les néonicotinoïdes avaient des effets néfastes sur ces organismes non cibles. (**Maxim et Van Der Sluijs, 2007**).

C'est dans ce contexte que l'EFSA a été obligée de constater que l'évaluation de ces insecticides systémiques n'était pas conforme aux exigences scientifiques (EFSA, 2012) et ensuite de reconnaître les risques présentés pour l'abeille et les pollinisateurs. (EFSA, 2013).

Les néonicotinoïdes peuvent également avoir des effets néfastes sur les ennemis naturels des insectes ravageurs, ils peuvent induire une augmentation de la mortalité des prédateurs comme cela a pu être observé pour les coccinelles par exemple. (Vincent *et al.*, 2000 ; Papachristos et Milonas, 2008 ; Moser et Obrycki, 2009). Ils ont également un impact sur les animaux aquatiques et les invertébrés terrestres à des doses sub-létales. (Barbee et Stout, 2009).

Quand aux effets secondaires sur les mammifères, bien que les néonicotinoïdes soient plus sélectifs des insectes que des mammifères, l'exposition de ces derniers à des concentrations sub-létales n'est pas sans conséquences. Les récepteurs nicotiniques du système nerveux central des mammifères peuvent donc être une cible des néonicotinoïdes. (Bal *et al.*, 2010).

Les études réalisées sur les animaux (rats et souris) ont pu donc laisser supposer que l'utilisation des néonicotinoïdes à de fortes doses ou de manière récurrente n'est pas sans conséquence sur la santé humaine. (Kocaman et Topaktas, 2007).

## II.2- Thiaméthoxame

Le thiaméthoxame est un insecticide systémique de deuxième génération appartenant à la famille des néonicotinoïdes (ARLA, 2007). Il est apparu sur le marché mondial en 1998, il n'a été autorisé en France qu'en janvier 2008<sup>1</sup>. Selon la MADR, le thiaméthoxame a été homologué en Algérie en juillet 2008, et deux ans après il a été mis sur marché. Cette matière active est présente dans plusieurs préparations commerciales comme l'Actara 25WG, Actara 240SC et Cruiser.

### II.2.1- Propriétés et utilisations (ARLA, 2007)

|   |   |
|---|---|
| <b>Nom commun (ISO)</b>   | Thiaméthoxame   |
| <b>Nom chimique de l'Union Internationale de Chimie Pure et Appliquée (IUPAC)</b> | 3- (2- chloro- 1, 3- thiazol- 5- ylméthyl)-5- méthyl- 1, 3, 5- oxadiazinan-4- ylidène (nitro) amine |
| <b>Nom chimique du CAS (Chemical Abstracts Service)</b>                           | 3-[(2-chloro-5-thiazolyl) méthyl] tetrahydro-5- méthyl-N-nitro-4H-1, 3, 5-oxadiazin-4 imine         |

<sup>1</sup> <http://e-phy.agriculture.gouv.fr>

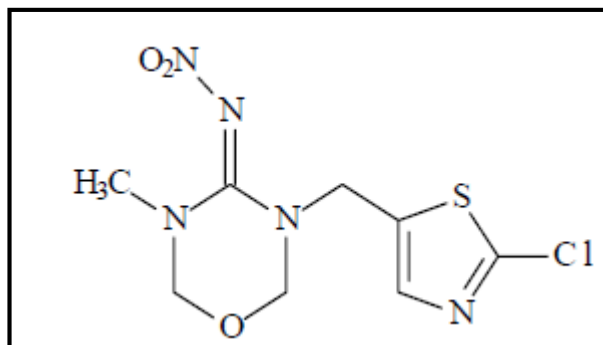


**Formule moléculaire**  $C_8H_{10}ClN_5O_3S$

**Masse moléculaire** 291,7

**Pureté nominale de la matière active** 98%

**Formule développée**



➔ **Propriétés physico-chimiques**

• **La matière active "thiaméthoxame"**

**Tableau V: Propriétés physico-chimiques du "thiaméthoxame" (ARLA, 2007).**

| Propriété  | Résultat   |   |
|--|--|---|
| Etat physique et couleur   | Poudre fine de couleur blanc cassé   |   |
| Odeur  | Inodore  |   |
| Point de fusion  | 139,1°C  |   |
| Densité à 25°C   | 1,57 x 10 <sup>3</sup> kg/m <sup>3</sup>   |   |
| Pression de vapeur à 20°C  | 2,7 x10 <sup>-9</sup> Pa   |   |
| Solubilité dans l'eau à 25°C   | 4,1 g/l  |   |
| Solubilité dans des solvants organiques à 20°C                                   | Acétone : 48 g/l<br>Dichlorométhane : 110 g/l<br>Acétate d'éthyle : 7 g/l  | Octanol : 0,62 g/l<br>Méthanol : 13 g/l<br>Toluène : 0,68 g/l |
| Coefficient de partage <i>n</i> -octanol-eau (log <i>K<sub>oe</sub></i> ) à 25°C | Log <i>K<sub>oe</sub></i> = - 0,13   |   |
| Constante de dissociation (p <i>K<sub>a</sub></i> )                              | Pas de dissociation dans la plage 2 à 12 de pH   |   |
| Stabilité (température, métaux)  | Aucun effet thermique observé, de la température ambiante au point de fusion de la substance.<br><br>Aucun changement de la matière active par contact avec les métaux (acier inoxydable, acier moulé, étain et aluminium) et les ions métalliques (Zn <sup>2+</sup> , Al <sup>3+</sup> , Cu <sup>2+</sup> et Fe <sup>2+</sup> ) |   |

- La préparation commerciale "Actara 25WG"

Tableau VI: Propriétés physico-chimiques de "Actara 25WG" (ARLA, 2007).

| Propriété                     | Résultat   |
|-------------------------------|--|
| Couleur                       | Brun pâle  |
| Odeur                         | Odeur de moisi   |
| État physique                 | Solide   |
| Type de formulation           | Granulés mouillables   |
| Teneur nominale garantie      | 25,0 % (limites : 24,25 à 25,75 %)   |
| Densité                       | 0,47 g/ml à 20 °C  |
| pH                            | 7 à 11 (dispersion aqueuse de 1 %)   |
| Action oxydante ou réductrice | Le produit n'a pas de propriétés oxydantes ou réductrices.                             |
| Stabilité à l'entreposage     | Le produit s'est révélé stable pendant au moins une année en conditions d'entreposage. |
| Explosivité                   | Le produit n'a aucune propriété explosive.   |

### → Utilisations

Actara 25WG est un insecticide de nouvelle génération à usage agricole, utilisé pour la lutte contre les pucerons ; les mouches blanches, le doryphore et la cicadelle des cultures légumières, contre le charançon de la prune, la mineuse des agrumes, le puceron rose du pommier, la psylle du poirier et la punaise de la molène sur les cultures de fruits à pépins et contre les punaises des céréales. Il est appliqué soit sur le feuillage des cultures (application foliaire), soit par application au sol (ARLA, 2007).

### II.2.2- Mode d'action

Le thiaméthoxame est un antagoniste du récepteur nicotinique de l'acétylcholine (nAChRs), il affecte les synapses du système nerveux central de l'insecte exposé par contact et par ingestion, et agit par contact de même qu'au niveau stomacal et systémique. Il cause des tremblements, une perte de coordination, l'arrêt de l'alimentation et, ultimement, la mort de l'insecte (ARLA, 2011).

### II.2.3- Risques pour l'environnement

Le thiaméthoxame est classé comme étant de modérément persistant à persistant dans le sol et dans l'eau, et peut circuler dans l'environnement. Son principal produit de transformation, la clothianidine, présente également ces deux caractéristiques. Ils peuvent présenter un risque pour les abeilles et d'autres organismes bénéfiques comme des insectes prédateurs, ainsi que pour les organismes aquatiques et les mammifères terrestres (ARLA, 2007).

## II.2.4- Toxicocinétique

### a. Absorption

Absorption rapides et complète du thiaméthoxame chez le rat et la souris.

**Rats** : La concentration sanguine atteint un pic à 4 - 6 heures après administration. Le thiaméthoxame est le principal composé détecté dans les extraits sanguins (82 %) suivi du CGA 322704 (16 %). On ne retrouve que des traces de CGA 265307 (0,3 %) et aucun CGA 330050.

**Souris** : La concentration sérique maximale est atteinte 1/2 heures après l'administration de la dose. Le thiaméthoxame est le principal composé détecté dans les extraits sanguins (78 %), tandis que le CGA 265307 est le principal métabolite dans le plasma (43,3 - 54,5 % de radioactivité) (**Briswalter, 2003 b**).

### b. Distribution et organe cibles

Chez le rat et la souris, le thiaméthoxame est largement distribué dans les tissus, les concentrations maximales étant décelées dans les muscles squelettiques, le foie et les reins (**Briswalter, 2002 a**).

### c. Métabolisme

Le thiaméthoxame est complètement métabolisé à faible dose (0,5 mg/kg), faiblement métabolisé (20 à 30 %) à forte dose (100 mg/kg) chez le rat. Son métabolisme est plus complexe chez la souris que chez le rat, le taux métabolique augmente avec la durée du dosage suggérant l'activation de voies métaboliques de phase II (**Green, 2002 a**).

Les principaux métabolites du thiaméthoxame et leurs structures sont montrés dans la **figure 3 de l'annexe II**.

### d. Elimination

Chez le rat, environ 84 à 95% de la dose est excrétée par l'urine, et 2,5 à 6% par les matières fécales, en 24 heures. Le composé d'origine représente la majeure partie de la radioactivité excrétée, alors que deux autres métabolites seulement représentent jusqu'à 2% ou plus de la dose administrée. Chez la souris, Environ 72 % de la dose est excrétée dans l'urine et 19 % dans les matières fécales (**Briswalter, 2002 a**).

**N.B** : L'absorption, la distribution, le métabolisme et l'excrétion ne dépendent d'aucun des facteurs suivants : sexe, dose et prétraitement.

### II.2.5- Toxicité du thiaméthoxame

Dans les études de toxicité aiguë, le thiaméthoxame est légèrement toxique pour le rat et modérément toxique pour la souris exposés par voie orale. Il est faiblement toxique pour le rat exposé par voie cutanée et par inhalation (ARLA, 2007). La dose létale 50 (DL50) orale chez le rat est de 1563 mg/kg (Oda, 1996 a), et de 871 mg/kg chez la souris (Oda, 1996 b). On considère que l'Actara 25WG est faiblement toxique par les voies orale et cutanée et par inhalation, faiblement irritant pour les yeux et la peau, sans être un sensibilisant cutané.

Des études de toxicité à court terme chez le rat montrent que les organes cibles sont les reins et le foie. Les mâles sont plus sensibles que les femelles aux effets s'exerçant sur les reins (ARLA, 2007). La toxicité au niveau du foie est observée aux doses supérieures et prend la forme d'une hypertrophie hépatocellulaire, d'une augmentation du poids du foie et de modifications connexes dans les paramètres biochimiques cliniques (Green, 2003 b).

Les doses sans effets nocifs ou No Observed Adverse Effect Level (NOAEL) issues des études à court terme sont : le NOAEL dans une étude de 28 jours chez le rat est de 8 mg/kg/j (100 ppm), le NOAEL dans une étude de 90 jours chez le rat est de 1,7 mg/kg/j (25 ppm) (Bachmann, 1995).

Dans des études sur la toxicité chronique/subchronique, les effets sur la santé constatés chez les animaux incluent des effets sur le foie, les reins et le système nerveux à des doses élevées.

Le thiaméthoxame ne montre pas d'effets toxiques pour la reproduction lors d'expérimentations animales et il ne s'avère pas génotoxique. Il ne cause pas le cancer chez le rat mais provoque la formation de tumeurs chez la souris. Toutefois, on ne prévoit pas que le processus de formation de tumeurs chez la souris se produise chez l'homme dans des conditions typiques d'exposition au produit le thiaméthoxame n'est pas cancérigène pour l'homme (US-EPA, 2007).

L'évaluation des risques protège contre ces effets, en assurant que le degré d'exposition de l'homme est bien en-dessous de la plus faible dose à laquelle ces effets sont constatés lors des essais sur les animaux (ARLA, 2007).

### III.1- Généralités sur le foie

#### III.1.1- Organisation anatomique du foie

Chez les rongeurs, le foie est anatomiquement plurilobé et constitué de cinq lobes : le lobe gauche (LG) ; le lobe médian (LM) ; le lobe droit (LD) et les deux lobes caudaux (LC). La vascularisation de chacun de ces lobes est majoritairement assurée par une branche de la veine porte et minoritairement par une branche de l'artère hépatique, apportant du sang oxygéné (Gandillet, 2004) (Figure 08).

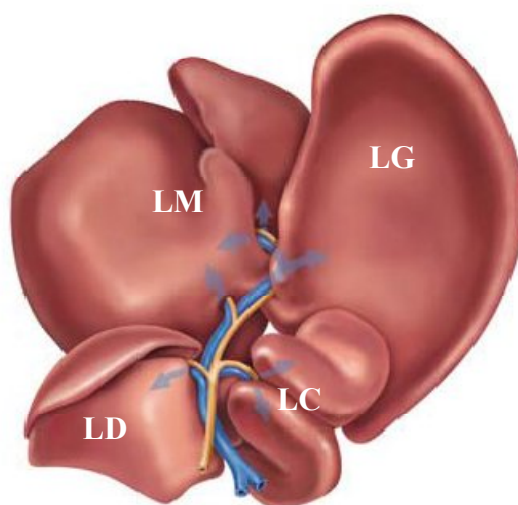


Figure 08 : Représentation des différents lobes hépatiques et vascularisation chez le rat (Gandillet, 2004).

#### III.1.2- Histologie du foie

Du point de vue histologique, le foie est constitué de cellules hépatiques (hépatocytes) organisées en travées autour des sinusoides. L'unité fonctionnelle du foie est le lobule hépatique, de forme hexagonale et centré par une veine centro-lobulaire. Le lobule est entouré d'espaces portes, où sont groupées les branches de l'artère hépatique, de la veine porte et des canaux biliaires. Le sang circule à travers les hépatocytes des espaces portes vers les veines centro-lobulaires. A l'inverse, les canalicules biliaires sont constitués de sillons ménagés entre les faces accolées d'hépatocytes adjacents. Ses échanges avec le reste du corps se font pour la plupart à travers sa double irrigation sanguine (veine porte et artère hépatique), qui se termine par une multitude de capillaires jusqu'à l'intérieur du foie (Lüllmann *et al.*, 1998) (Figure 09 a et b).

80% des cellules du foie sont des hépatocytes mais il existe d'autres types cellulaires, on note la présence des lymphocytes hépatocytaires, cellules biliaires et endothéliales, cellules de Küppfer, cellules Ito (fonction métabolique de la vitamine A et des lipides, et synthèse de la matrice extracellulaire autour de cellules endothéliales) (Lüllmann *et al.*, 1998).

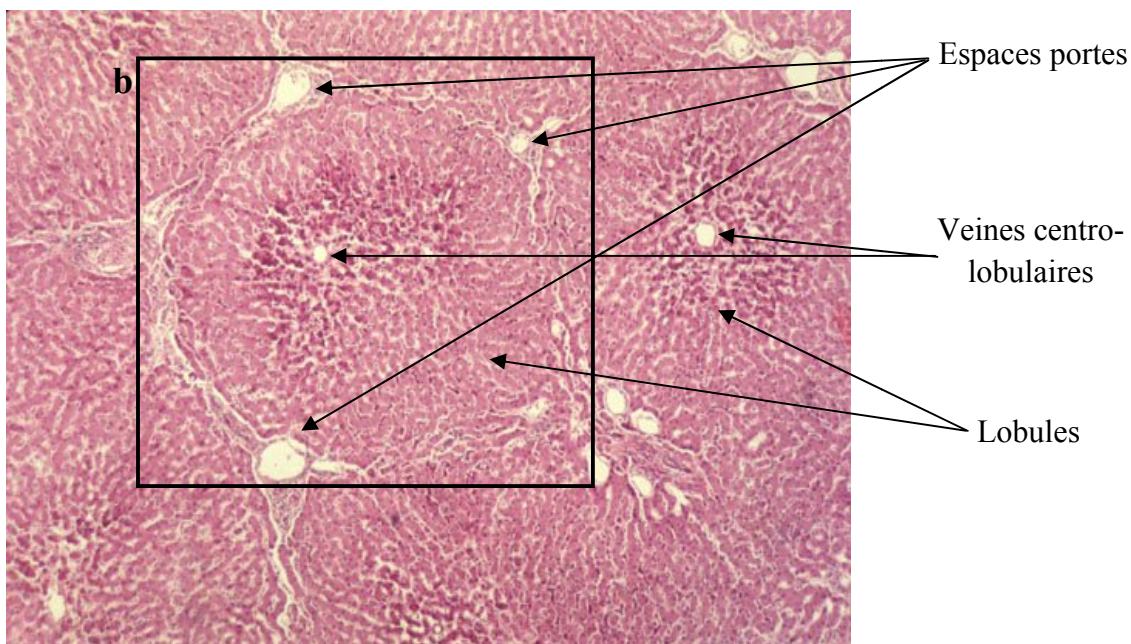


Figure 09 a: Organisation structurale du foie (Marchall et Bangert, 2004).

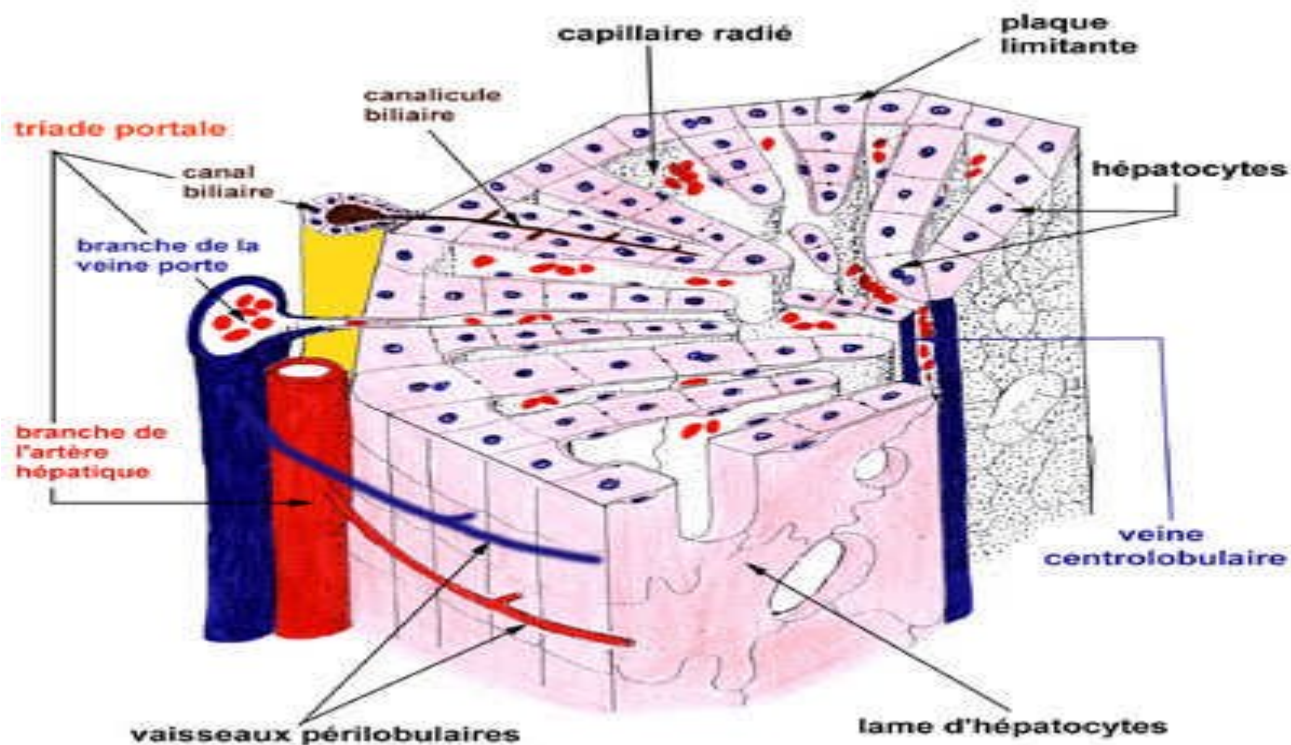


Figure 09 b: Organisation structurale schématique du foie (Marchall et Bangert, 2004).

### III.1.3- Fonctions du foie

Le foie assure plusieurs fonctions biologiques, métaboliques et excrétrices, qui sont récapitulées dans le **Tableau 07**.

**Tableau VII: Fonctions principales du foie (Marchall et Bangert, 2004).**

| <b>Fonctions du foie</b>  |
|---|
| <p><b>Métabolisme glucidique</b></p> <p>Néoglucogénèse<br/>Synthèse et catabolisme du glucose</p>   |
| <p><b>Métabolisme lipidique</b></p> <p>Synthèse des acides gras et des lipoprotéines<br/>Synthèse et excrétion du cholestérol<br/>Synthèse des acides biliaires<br/>Cétogénèse<br/>25- Hydroxylation de la vitamine D</p> |
| <p><b>Métabolisme protidique</b></p> <p>Synthèse des protéines plasmatiques (Albumine et facteurs de coagulation)<br/>Synthèse de l'urée</p>  |
| <p><b>Métabolisme hormonal</b></p> <p>Métabolisme et excrétion des hormones stéroïdiennes<br/>Métabolisme des hormones polypeptiques</p>  |
| <p><b>Stockage</b></p> <p>Glycogène<br/>Vitamine A, B<sub>12</sub><br/>Fer</p>  |
| <p><b>Métabolisme et excrétion de la bilirubine</b></p>   |
| <p><b>Fonctions défensives</b></p> <p>Détoxification des déchets métaboliques et toxiques<br/>Défense antitumorale et antivirale.</p>   |

### III.1.4- Métabolisation des xénobiotiques

Le foie est l'organe principal du métabolisme des xénobiotiques, puisque la majorité des enzymes responsables de ces actes se trouvent principalement au siège hépatique. Pour cela plusieurs processus biochimiques sont mis en jeu, ils aboutissent en général à la formation de produits plus polaires (hydrophiles) que la molécule d'origine, par conséquent facilement éliminables par le rein (**Marchall et Bangert, 2004**).

Le processus opposé, par lequel les substances sont métabolisées en produits toxiques ou par la libération de métabolites dont la toxicité est augmentée suite aux interactions biochimiques, s'appelle toxification (Manahan, 2003) (Figure 10).

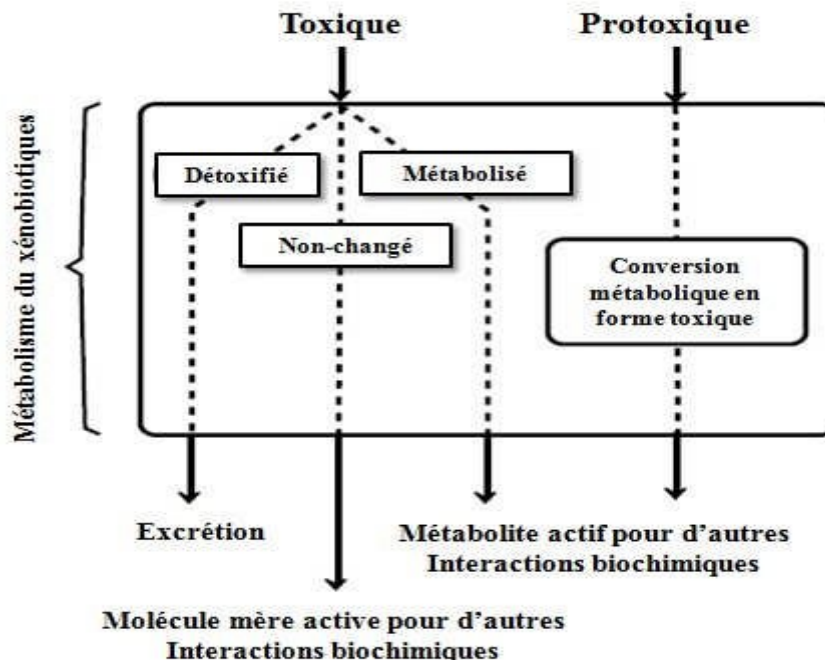


Figure 10 : Interactions biochimiques des xénobiotiques (Manahan, 2003).

Les réactions de détoxification sont subdivisées en deux groupes :

- Réactions de **phase I** dites dégradation : on regroupe sous ce terme toutes les réactions qui impliquent une modification de la molécule active soit par oxydation, hydrolyse ou réduction.
- Réactions de **phase II** dites conjugaison : les conjugués en général sont plus hydrosolubles donc facilement excrétables que la substance mère. Elles englobent des réactions de glucuroconjugaison, sulfoconjugaison, méthylation, acétylation et conjugaison au glutathion (Manahan, 2003).

### III.1.5- Evaluation d'une hépatotoxicité

Pour évaluer l'état du foie, un examen approfondi doit être mis en place, il comporte des tests biochimiques (enzymatiques et protéines plasmatiques) et histologique (Rajender et Faust, 2006).

Les enzymes utilisées dans l'évaluation de la fonction hépatique sont l'Aspartate Amino-Transférase (ASAT), l'Alanine Amino-Transférase (ALAT), la Phosphatase Alcaline (PAL) et  $\gamma$ -Glutamyl Transférase ( $\gamma$ -GT). En général, ces enzymes ne constituent pas des marqueurs spécifiques du dysfonctionnement hépatique. L'isoenzyme hépatique PAL est une exception,



et l'activité de l'enzyme ALAT est plus spécifique du foie que l'enzyme ASAT (c'est l'enzyme de l'exploration musculaire et se trouve également dans les muscles striés).

En pratique, l'augmentation de l'activité des amino-transférases et PAL est fréquente dans les pathologies hépatiques en général (Lüllmann *et al.*, 1998). Dans le syndrome de cholestase primaire, il peut y avoir des lésions hépatocellulaires secondaires associées à une élévation subséquente de l'activité de  $\gamma$ -GT (Marchall et Bangert, 2004).

## III.2- Généralités sur le rein

### III.2.1- Organisation général du rein

#### III.2.1.1- Aspect macroscopique

A la première vue on distingue deux zones :

- Une zone périphérique, foncée, granuleuse, c'est la **zone corticale** ou **cortex** du rein, qui se prolonge en direction du hile par des travées convergentes : les colonnes de Bertin.
- Une zone centrale, claire, striée longitudinalement, occupe les espaces compris entre les colonnes de Bertin : c'est la **zone médullaire**, cette zone possède 8 à 12 pyramides striées appelées *pyramides de Malpighi*, dont le nombre varie entre espèces. La base de ces pyramides est recouverte par le cortex, alors que le sommet de chaque pyramide se projette vers le centre du rein donnant le calice mineur. Chaque calice mineur collecte l'urine d'une pyramide, et converge pour former les calices majeurs qui forment à leur tour le bassinot qui se jettent dans l'uretère (Lüllmann *et al.*, 1998) (Figure 11).

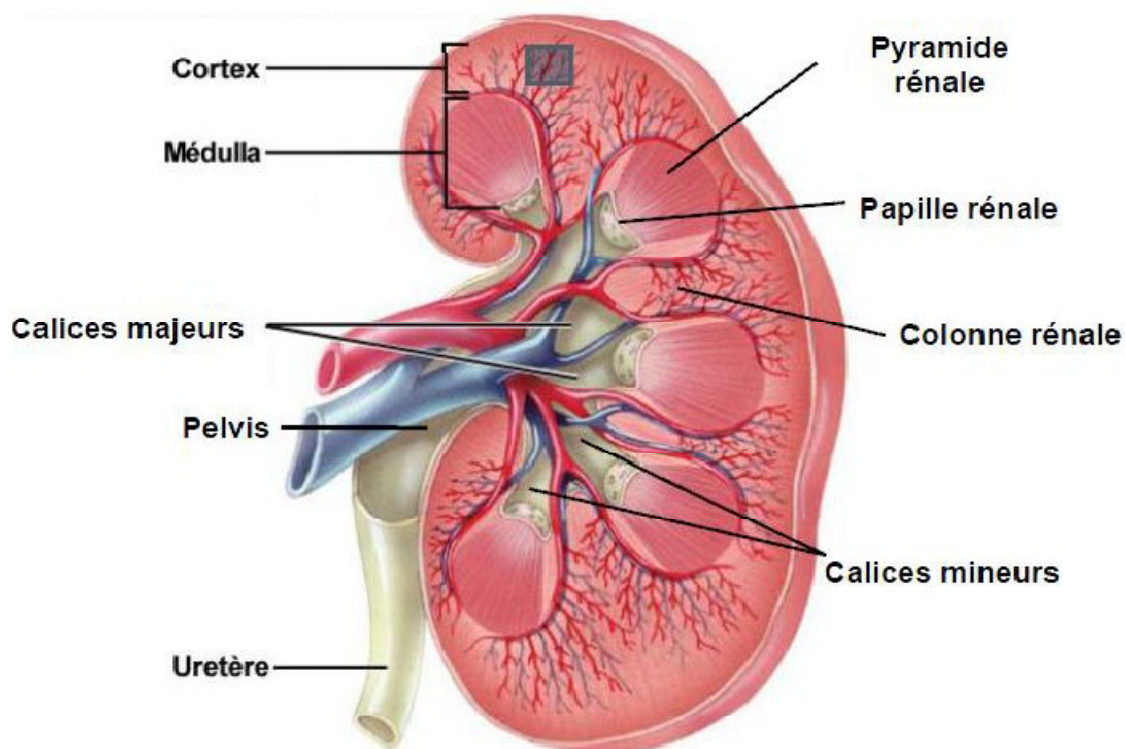
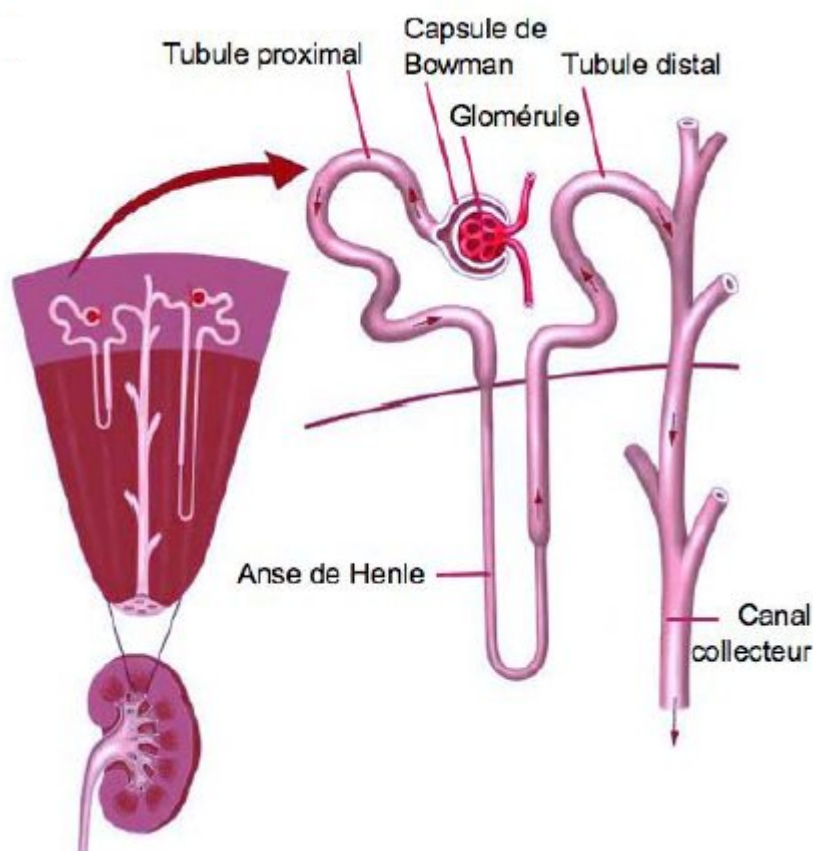


Figure 11 : Le rein, anatomie macroscopique (Combaz, 2011).

### III.2.1.2- Aspect microscopique

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

- **Le glomérule** : formé d'un réseau capillaire entouré d'une structure appelée capsule glomérulaire (de Bowman), qui sert de filtre. Les glomérules sont principalement localisés dans la corticale (**Magali et al., 2008**).
- **Le tubule** : subdivisé en plusieurs segments fonctionnels :
  - Tubule contourné proximal : situé après la capsule de Bowman et avant l'anse de Henlé, il participe à la réabsorption de certaines substances.
  - L'anse de Henlé : c'est la section du néphron située entre le tubule proximal et le tubule distal. Elle est composée de l'anse grêle descendante, de l'anse grêle ascendante et de la branche large ascendante.
  - Tubule contourné distal : sa partie contournée est en contact avec l'artériole afférente de son néphron, formant l'appareil juxtaglomérulaire.
  - Tubule collecteur : c'est la portion terminale qui reçoit l'urine provenant de nombreux néphrons (**Blanchard et al., 2008**) (**Figure 12**).



**Figure 12 : Segmentation anatomique et fonctionnelle du néphron (Klein, 2009).**

### III.2.2- Fonctions du rein

Le rein assure plusieurs fonctions essentielles pour l'organisme :

- D'une part, il épure l'organisme de ses déchets endogènes (produits du catabolisme : urée, ammoniacque...) ou exogènes (toxiques, médicaments, pesticides ...).
- D'autre part, il joue un rôle crucial dans l'homéostasie du milieu intérieur car il assure le maintien de l'équilibre de l'eau et de nombreux ions et solutés (sodium, potassium, calcium, phosphore, protons...), ce qui permet, entre autre, le contrôle du pH et de la pression sanguine.
- Enfin, le rein exerce un certain nombre de fonctions endocrines. En réponse à l'hypoxie, les cellules rénales produisent de l'érythropoïétine, qui stimule la prolifération et la différenciation des érythrocytes au niveau de la moelle osseuse hématopoïétique ainsi que la synthèse d'hémoglobine. Le rein est également un site majeur de production de la rénine, une enzyme impliquée dans la voie de synthèse de l'angiotensine II, un puissant vasoconstricteur ; il joue ainsi un rôle important dans la régulation de la pression systémique sanguine. De plus, le rein participe à la régulation hormonale du métabolisme phosphocalcique, en permettant la formation de 1,25 dihydroxy-vitamine D3 par la 1 $\alpha$ -hydroxylase.

En conséquence, une diminution ou une perte de la fonction rénale aura un retentissement extrêmement délétère sur de nombreux paramètres physiopathologiques (**Klein, 2009**).

### III.2.3- Marqueurs biochimiques de la fonction rénale

Le bilan rénal standard sert à dépister un éventuel dysfonctionnement du rein. Il comprend en première approche quelques examens simples, qui seront complétés par d'autres si besoin (**Lüllmann et al., 1998**).

Le bilan urinaire pratiqué en routine sert à s'assurer qu'il n'y a pas de protéines (protéinurie), de sucre (glycosurie), de sang (hématurie), de pus (leucocyturie) ou de germes (recherche de nitrites) dans les urines (**Frank, 1992**).

Les analyses sanguines permettent le dosage dans le sang de différentes substances filtrées par le rein : des éléments minéraux, les protides et les bicarbonates, mais aussi et surtout l'urée et la créatinine, dont les taux sanguins augmentent en cas de dysfonctionnement rénal (**Blanchard et al., 2008**).

La créatinine est une molécule azotée, produite par l'organisme par l'intermédiaire du catabolisme de la créatine, qui est un composé protéique contenu dans le tissu musculaire. La créatinine est une molécule physiologiquement inerte. Cela signifie qu'elle n'est ni métabolisée, ni utilisée d'une quelconque manière par l'organisme. Elle est strictement éliminée par les reins. Son dosage est employé dans l'évaluation de la fonction rénale et plus

Particulièrement dans l'estimation du débit de filtration glomérulaire (**Marchall et Bangert, 2004**).

L'urée représente la forme principale d'élimination de l'azote, synthétisée lors du catabolisme des protéines par le foie. C'est l'un des premiers marqueurs qui a été utilisé pour mesurer le débit de filtration glomérulaire, une teneur élevée indique généralement une atteinte glomérulaire, mais la concentration peut être aussi modifiée par une alimentation inadéquate ou par une hépatotoxicité fréquente (**Bangert et Steven, 2004**).

Des examens histologiques peuvent s'imposer afin de révéler des lésions rénales, leur site et leur étendue (**Frank, 1992**).

# *Partie Expérimentale*

## PARTIE EXPERIMENTALE

La présente étude porte sur la recherche des effets toxiques du thiamethoxame à raison de 1/20, 1/40 et 1/60 de la DL50, après administration orale, sur l'évolution du poids corporel, sur certains paramètres biochimiques et sur l'histologie du foie et du rein, chez le rat Wistar mâle.

Le travail a été réalisé durant la période allant du mois de mars jusqu'au mois de juin 2013, en collaboration avec les laboratoires suivants :

- Laboratoire de pharmacotoxicologie du Centre de Recherche et du Développement (CRD) Saïdal d'El Harrach; où j'ai pu réaliser l'étude toxicologique (Toxicité sub-chronique), à savoir l'élevage et la sélection des lots de rats, la prise de poids, l'administration du pesticide, les prélèvements sanguins ainsi que la dissection des rats et le prélèvement des organes cibles.

- Laboratoire d'analyses médicales privé, Les Sources, Alger ; pour l'analyse des paramètres biochimiques (Glycémie, Urémie, Créatinémie, ASAT, ALAT, PAL et  $\gamma$ -GT).

- Laboratoire National de Contrôle des Produits Pharmaceutiques (LNCPP) de l'Institut Pasteur de Dely-Brahim, ainsi que le laboratoire d'histologie de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire (ENSV) d'El Harrach et le laboratoire d'anatomie pathologie du CHU de Tizi-Ouzou, pour l'étude histopathologique.

# *Matériel et Méthodes*

## I.1- Matériel

### I.1.1- Matériel biologique

Le modèle animal utilisé dans cette étude est le rat albinos (*Rattus norvegicus*) de souche Wistar et de sexe mâle (Figure 13).

#### ↳ Systématique du rat Wistar :

**Règne :** Animal

**Embranchement :** Vertébrés

**Classe :** Mammifères

**Ordre :** Rongeurs

**Genre :** *Rattus*

**Espèce :** *Rattus norvegicus*

**Souche :** Wistar

**Nom commun :** Rat blanc (Albinos).

(Berkenhout, 1769).



Figure 13: Rat Wistar mâle (Photo originale).

Les rats utilisés dans cette étude sont issus de l'élevage de l'animalerie du CRD-Saïdal d'El-Harrach.

Les animaux sont élevés dans des cages en plastiques transparentes, dans des conditions de température ambiante allant de 20 à 25°C avec une hygrométrie stable ( $50 \pm 10$  %) et un éclairage naturel maintenu 12 heures sur 24 heures.

Ils reçoivent un régime alimentaire standard et équilibré sous forme de granulés (provenant de l'ONAB : Office Nationale des Aliments de Bétail ; El-Kseur Bejaïa) et de l'eau du robinet ad-libitum. La composition des granulés est représentée dans le **tableau 1 de l'annexe III**.



### I.1.2- Matériel non biologique

Le produit testé dans cette étude est un insecticide de synthèse de la famille des néonicotinoïdes : le **thiamethoxame**, communément utilisé en agriculture pour le traitement phytosanitaire des fruits et légumes. Son nom commercial est l'**Actara<sup>®</sup> 25WG** (25% de thiamethoxame), commercialisé sous forme de granulés dispersibles dans l'eau (**Figure 14**).

Cet insecticide (Thiamethoxame) a été proposé par la Direction de Protection des Végétaux et des Contrôles Techniques (DPVCT) du Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural (MADR).

Il a été fourni par la firme productrice Syngenta (Kouba, Alger).



Figure 14: Actara 25WG (Thiamethoxame) (photo originale).

## I.2- Méthodes

### I.2.1- Préparation des lots de rats

L'expérience a été conduite sur 24 rats Wistar mâles, de poids corporel compris entre 226 et 243g, sélectionnés de façon à constituer des lots de poids homogènes.

Les rats ont été répartis en quatre lots :

- Lot 1 : constitué de six rats témoins ;
- Lot 2 : constitué de six rats qui seront traités avec une forte dose ;
- Lot 3 : constitué de six rats qui seront traités avec une moyenne dose ;
- Lot 4 : constitué de six rats qui seront traités avec une faible dose.

L'identification individuelle des rats a été faite par un marquage spécifique (trais colorés) au niveau de la queue (chaque animal reçoit un numéro d'identification unique).

Avant l'expérimentation proprement dite, les animaux sont soumis à une période d'acclimatation d'une semaine, afin qu'ils s'adaptent au manipulateur et à la manipulation, pour éviter les facteurs de variation des résultats toxicologiques dues au stress de l'animal.

Les rats sont pesés quotidiennement durant la période d'acclimatation.

## I.2.2- Procédure d'évaluation de la toxicité sub-chronique

### ☞ Principe de l'essai

En se basant sur la ligne directrice de l'OCDE n°408 (1998) relative à l'étude de la toxicité sub-chronique, différentes doses de la substance d'essai (trois doses au minimum) sont administrées quotidiennement (sept jours sur sept) par voie orale (gavage) à plusieurs groupes d'animaux d'expérience, à raison d'une valeur de dose par groupe et ce durant une période qui peut aller jusqu'à 90 jours, dans notre cas 45 jours (6 semaines).

### ☞ Expérimentation

Trois doses de Thiaméthoxame ont été testées : 78,15 mg/kg/j ; 39,075 mg/kg/j et 26,05 mg/kg/j. Ces doses ont été préparées en tenant compte de la DL50 du produit (1563 mg/kg) et du poids corporels des rats.

La solution aqueuse de thiaméthoxame est administrée aux rats traités (une dose/ lot) par gavage à l'aide d'une sonde gastrique, à raison de 1ml/ rat/jour. Le lot témoin est gavé par de l'eau distillée (1ml/ rat /jour). L'opération est pratiquée aux mêmes moments de la journée pendant six semaines.

Les animaux doivent être à jeun avant l'administration de la substance, les rats sont privés de nourriture à partir de la veille du jour de l'administration.

Pendant la période d'administration de la substance, les animaux sont observés attentivement en vue d'y déceler d'éventuels symptômes de toxicité.

Des pesées quotidiennes sont effectuées afin d'évaluer les variations du poids corporel, ainsi que des dosages périodiques (chaque deux semaines) de certains paramètres biochimiques permettant de relever tout indice de toxicité. Au terme de l'essai, les animaux sont sacrifiés en vue d'examen histologiques des organes cibles.

### I.2.3- Prélèvement sanguin

Les rats des quatre lots sont mis à jeun depuis la veille, et sont anesthésiés au lendemain par le diéthyloxy.

Le prélèvement sanguin est réalisé selon le protocole expérimental employé par **Weiss et ses collaborateurs (2000)**, et modifié par **Descat (2002)**, par la ponction du sinus rétro-orbitaire.

L'animal anesthésié est maintenu d'une main en décubitus latéral et tenu par la peau du cou. La pression du pouce sur le cou permet de réaliser une compression de la veine jugulaire, et donc une stase veineuse vers la tête, favorisant le remplissage du sinus rétro-orbitaire.

Le sinus veineux est ponctionné à l'aide d'une pipette capillaire introduite dans l'angle latéral de l'œil, et par une légère rotation de la pipette, la fragile paroi des vaisseaux est perforée, le sang monte par capillarité et est recueilli dans des tubes héparinés. Le volume collecté est de 2 à 3 ml.

Les prélèvements sanguins sont immédiatement centrifugés à 3000 tours/mn pendant 15mn, le plasma obtenu est récupéré dans des tubes éppendorfs et est transporté dans une glacière au laboratoire d'analyses médicales.

**N.B :** pendant toute la période expérimentale ; trois prélèvements sanguins ont été réalisés chaque deux semaines : à la deuxième, la quatrième et à la sixième semaine de traitement.

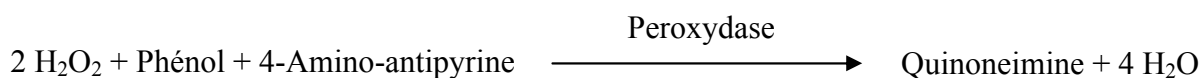
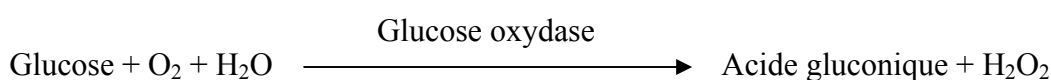
### I.2.4- Analyses biochimiques

Les prélèvements sanguins sont destinés au dosage de quelques paramètres biochimiques, à savoir : la glycémie ; l'urémie ; la créatinémie ; Aspartate amino-transférase (ASAT) ; Alanine amino-transférase (ALAT) ; Phosphatase alcaline (PAL) et  $\gamma$ -Glutamyl-Transférase ( $\gamma$ -GT).

Les dosages ont été effectués avec l'automate « Autoanalyser PICTUS 200 ».

#### ↳ Dosage de la glycémie

**Principe :** Le dosage du glucose plasmatique est réalisé par une méthode enzymatique colorimétrique (**Trinder, 1969**), selon les réactions suivantes :

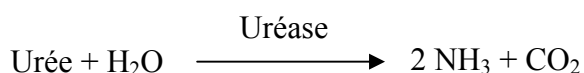


Un complexe coloré en rouge (Quinoneimine) est obtenu. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration du glucose dans le spécimen.

La lecture se fait à une longueur d'onde de 500 nm.

### ↳ Dosage de l'urémie

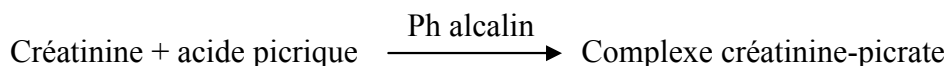
**Principe :** Le dosage de l'urée est réalisé par une méthode enzymatique basée sur la réaction décrite par **Talke et Schubert (1695)** et optimisée par **Tiffany (1972)**, le schéma de la réaction est le suivant :



La diminution de l'absorbance due à la conversion du NADH en NAD<sup>+</sup>, mesurée pendant un temps donné à 340 nm, est proportionnelle à la concentration en urée dans le spécimen.

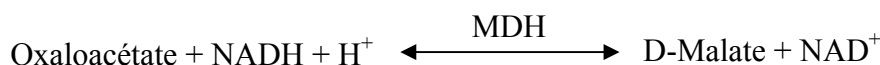
### ↳ Dosage de la créatinémie

**Principe :** Le dosage de la créatinine est réalisé par une méthode colorimétrique. En milieu alcalin, la créatinine forme avec l'acide picrique un complexe coloré rouge-orange. La vitesse de formation de colorant (intensité de la couleur) est directement proportionnelle à la concentration de créatinine de l'échantillon. Elle est déterminée par l'augmentation de l'absorbance à 500 nm (**Bartels et Bohmer, 1971**).



### ↳ Dosage de l'Aspartate Amino-Transférèse (ASAT)

**Principe :** La détermination de l'activité de l'Aspartate Amino-Transférèse est réalisée par la méthode cinétique (**Bergmeyer et Gawehn, 1978**), selon les réactions suivantes:



MDH : Malate déshydrogénase

La diminution de l'absorbance due à la conversion du NADH en NAD<sup>+</sup>, mesurée pendant un temps donné à 340 nm, est proportionnelle à la concentration en ASAT dans le spécimen.

### ↳ Dosage de l'Alanine Amino-Transférase (ALAT)

**Principe :** l'activité de l'Alanine Amino-Transférase est déterminée par la méthode cinétique (Bergmeyer et Gawehn, 1978), selon les réactions suivantes:

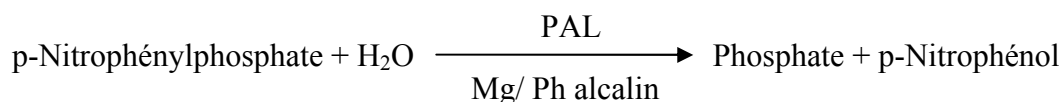


LDH : Lactate déshydrogénase

La diminution de l'absorbance due à la conversion du NADH en NAD<sup>+</sup>, mesurée pendant un temps donné à 340 nm, est proportionnelle à la concentration en ALAT dans le spécimen.

### ↳ Dosage de la Phosphatase Alcaline (PAL)

**Principe :** La Phosphatase Alcaline est dosée par la méthode cinétique (Scand, 1974), selon la réaction :



En milieu alcalin, la PAL agit sur le substrat (p-Nitrophénylphosphate) et libère le p-Nitrophénol de couleur jaune. La réaction se suit en mesurant le taux d'augmentation de l'absorbance à 405 nm qui est proportionnelle à l'activité de la PAL dans le plasma.

### ↳ Dosage de $\gamma$ -Glutamyl Transférase ( $\gamma$ -GT)

**Principe :** L'activité de la  $\gamma$ -Glutamyl Transférase est déterminée par la méthode cinétique (Persijn et Vander Slik, 1976), selon la réaction :



La  $\gamma$ -GT présente dans l'échantillon catalyse le transfert du groupe glutamyle du substrat vers la glycylglycine pour former la glutamylglycylglycine et le 5-amino-2-nitro-benzoate.

Le taux de formation du 5-amino-2-nitro-benzoate est proportionnel à l'activité de la  $\gamma$ -GT présente dans l'échantillon et peut se mesurer cinétiquement à 405 nm.

### I.2.5- Sacrifice des animaux et prélèvement d'organes

A la fin de la période de traitement (au 45<sup>ème</sup> jour), tous les animaux ont été maintenus à jeun depuis la veille en vue de leur sacrifice au lendemain.

Les rats ont été anesthésiés à l'éther diéthylique puis décapités rapidement.

Après dissection, les foies et reins sont immédiatement prélevés et débarrassés soigneusement de leurs tissus adipeux.

Sans avoir tardé, ces organes ont été mis dans des piluliers contenant un liquide fixateur : le formol à 10%, en vue d'une étude histologique.

### I.2.6- Etude histologique

Les reins et les foies prélevés ont été soumis aux techniques histologiques courantes (**Martoja et Martoja-Pierson, 1967**).

Les organes ont été **fixés** dans le formol dilué à 10% pendant une semaine. Cette fixation est indispensable, elle permet de préserver les structures tissulaires dans un état aussi proche que possible de l'état vivant.

Les organes fixés ont été coupés en petits fragments et déposés dans des cassettes en plastique, puis soumis à une étape de "**circulation**" qui consiste à faire séjourner les pièces dans une série de solvants dans un ordre déterminés, en transférant les organes d'un solvant à un autre, de manière à faire pénétrer dans un tissu à l'origine hydraté une substance souvent hydrophobe. Cette étape est nécessaire pour la réalisation et la confection des coupes à la paraffine. La circulation se déroule comme suit :

Les pièces sont d'abord **déshydratées** par passage successif dans des bains d'alcool éthylique à titrage croissant (70°, 95° et 100°) à raison de 45 mn par bain.

Puis, on procède à l'**éclaircissement** des pièces par passage dans un solvant intermédiaire : le toluène à raison de deux bains de 30 mn chacun.

L'**imprégnation à la paraffine** constitue l'étape finale de la circulation. La paraffine doit être au préalable chauffée à 56°C pour se liquéfier puis, faire séjourner les cassettes d'organes successivement dans deux bains de paraffine fondue maintenue à 56°C pendant deux heures chacun. Cette opération permet l'élimination du toluène et l'imprégnation des tissus par la paraffine.

Enfin, on procède à l'**inclusion ou l'enrobage** des tissus dans la paraffine, qui va donner la résistance mécanique nécessaire à la réalisation des coupes au microtome. La confection des blocs se fait par l'écoulement de la paraffine fondue dans des moules métalliques, puis les

fragments sont orientés dans cette paraffine, les cassettes sont placées là-dessus et vont servir de supports pour le microtome, et on rajoute la paraffine à travers les grilles des cassettes jusqu'au remplissage.

Les blocs ne sont démoulés qu'après refroidissement total.

### ➤ Confection des coupes

Les blocs obtenus sont coupés à laide d'un microtome (type Minot) permettant de réaliser des coupes de 5  $\mu\text{m}$  d'épaisseur. Les rubans des coupes sont étalés sur la surface d'un bain marie d'eau distillée, puis récupérés et collés sur des lames.

### ➤ Préparation des lames pour la coloration

Les lames sont séchées dans une étuve à 37°C pendant 24 heures.

Avant d'être colorées, les coupes sont d'abord soumises au déparaffinage qui sert à enlever la paraffine du tissu pour que les colorants puissent y pénétrer, ceci se fait par passage dans deux bains de toluène pendant 5 mn chacun.

Les lames sont ensuite hydratées par trois bains successifs d'alcool éthylique à titrage décroissant 100°, 95° et 70° (5 mn/bain) et enfin par passage dans l'eau distillée pendant 10 mn. On procède ensuite à une coloration des coupes à l'Hématoxyline-éosine (HE).

### ➤ Coloration à l'Hématoxyline-Eosine (HE)

La coloration standard (de routine) adoptée en anatomie-pathologique est celle d'Hématoxyline-Eosine (HE) (**Annexe IV**).

### ➤ Montage et lecture

Le montage est la dernière étape de la préparation des lames pour la lecture en microscopie. Il s'agit de recouvrir l'étalement avec une lamelle en utilisant un milieu de montage idéal l'EUKITT (résine synthétique ayant l'avantage de sécher rapidement à l'air). Il a pour but la protection des coupes contre la dégradation chimique des colorants qui s'oxydent facilement à l'air ; et l'obtention d'un degré de transparence et d'un indice de réfraction élevé.

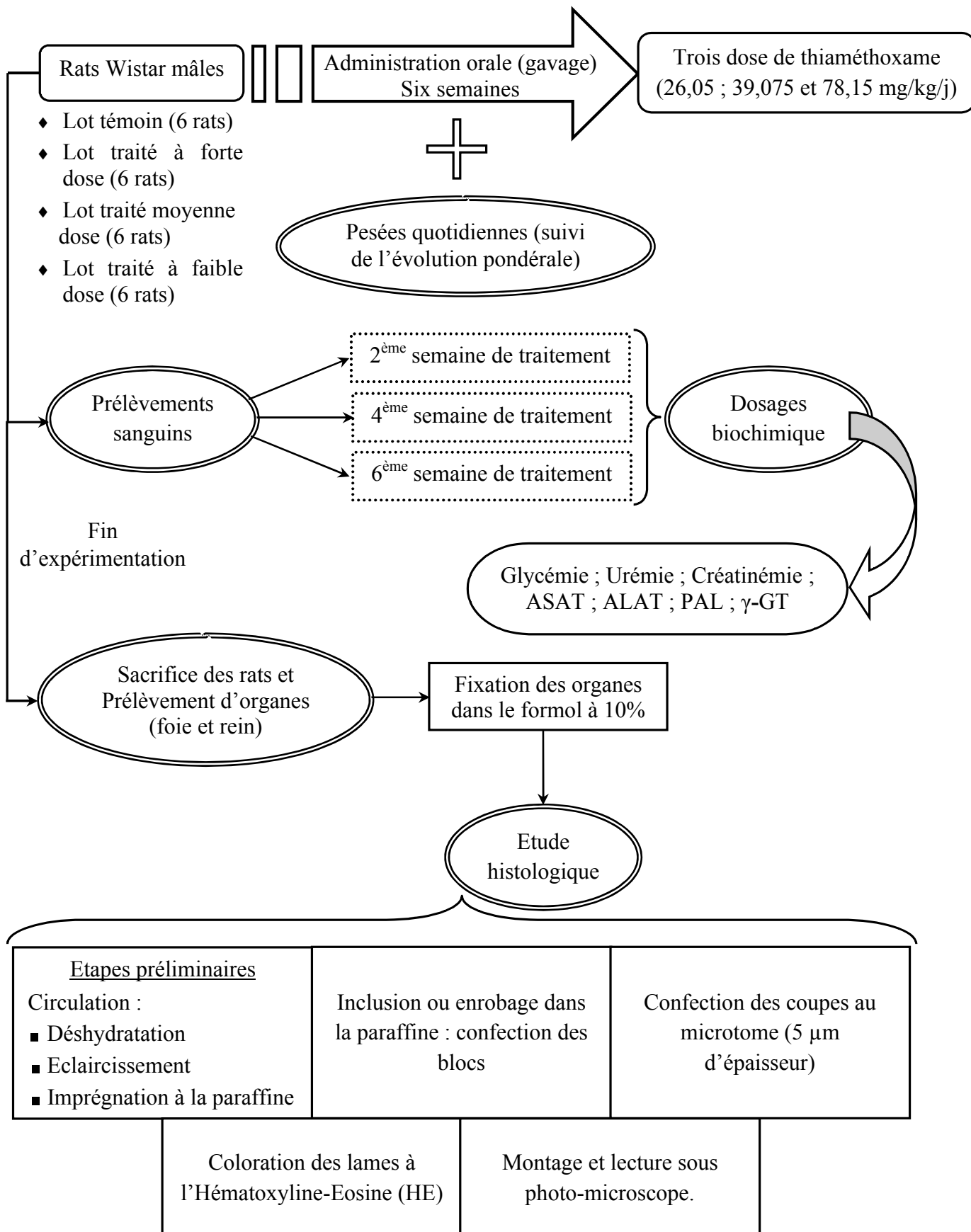
Après le montage, les lames sont séchées sur papier absorbant et nettoyées au toluène. Elles sont alors prêtes à l'observation microscopique.

La lecture a été réalisée sous photo-microscope de type « Leica DME » doté d'un appareil photo, à différents grossissements.

## I.2.7- Etude statistique

Les données obtenues, à savoir l'évolution des poids corporels et les valeurs des paramètres biochimiques dosés, ont été analysées statistiquement par le test d'ANOVA univarié au moyen du logiciel STATISTICA Version 10, en comparant le lot témoin à chacun des lots traités à forte, à moyenne et à faible dose. Les résultats obtenus ont été représentés graphiquement.

L'expérimentation réalisée est résumée dans le diagramme suivant :





# *Résultats et Discussion*

## II.1- Résultats

Dans ce travail expérimental, nous avons procédé à l'évaluation des poids corporels ; au dosage de quelques paramètres biochimiques et à l'étude de l'histologie du foie et du rein chez le rat Wistar mâle, après traitement au thiaméthoxame à raison de trois doses (78.15 ; 39.075 et 26.05 mg/Kg/j) pendant six semaines.

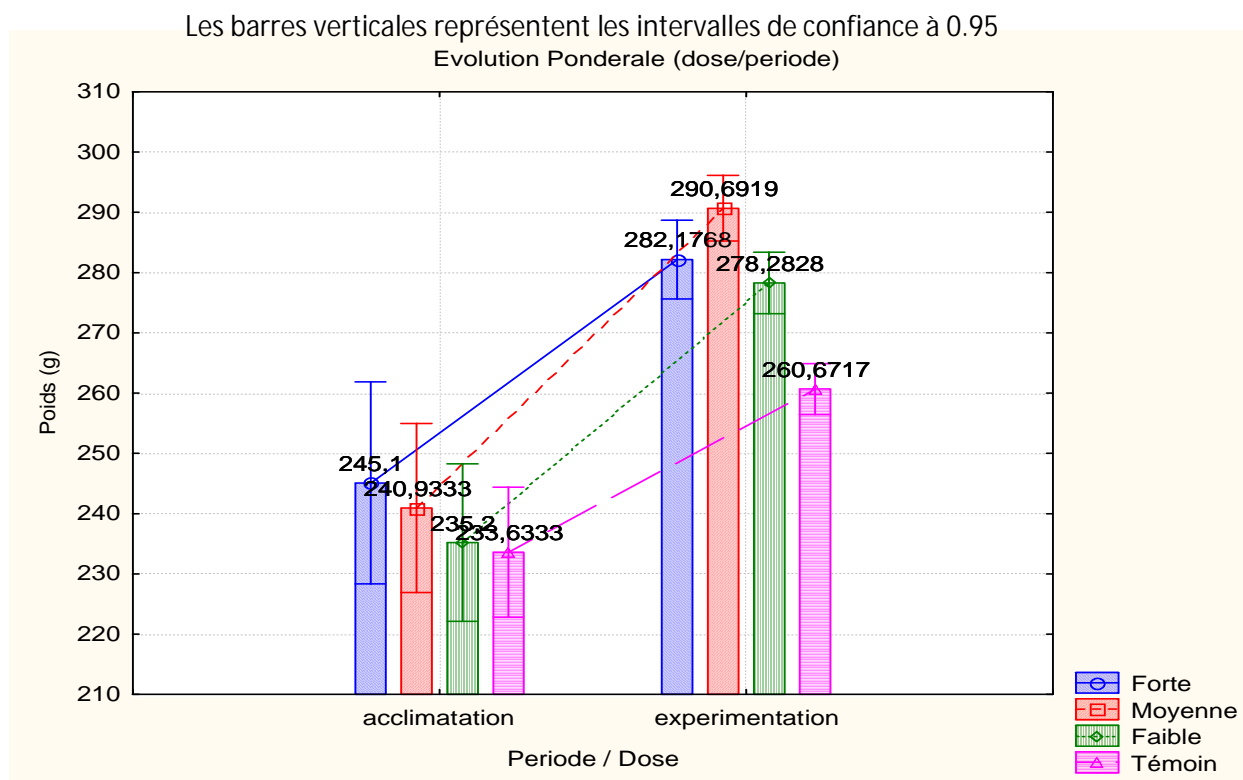
Durant toute la période de traitement, aucun changement de comportement ni signe de toxicité n'a été remarqué chez les rats exposés au thiaméthoxame.

Cependant, deux mortalités ont été enregistrées dans le lot traité à forte dose : un rat mort au 14<sup>ème</sup> jour et un rat mort au 43<sup>ème</sup> jour. Tandis qu'à moyenne et à faible dose, aucune mortalité n'a été observée.

L'analyse des résultats du suivi de l'évolution pondérale et des paramètres biochimiques a été faite en tenant compte de ces deux mortalités.

### II.1.1- Résultats de l'évolution pondérale

Les résultats du suivi quotidien du poids corporel des rats pendant l'acclimatation (une semaine) et toute la période de traitement (six semaines) sont représentés dans **la figure 15**.



**Figure 15 : Effet du traitement au thiaméthoxame à différentes doses sur le poids corporel des rats Wistar mâles.**

D'après les résultats montrés dans la **figure 15**, il apparaît que le poids corporel des rats des trois lots traités au thiaméthoxame a augmenté d'une façon remarquable par rapport à la période d'acclimation (avant traitement) comparativement au lot témoin. En effet, les rats témoins ont montré une augmentation pondérale normale d'environ 11,6% par rapport à la période d'acclimation, tandis que l'évolution pondérale des rats exposés à faible ; à moyenne et à forte dose était plus importante (15,87%, 21,29 et 18,44% respectivement) par rapport à la période d'acclimation.

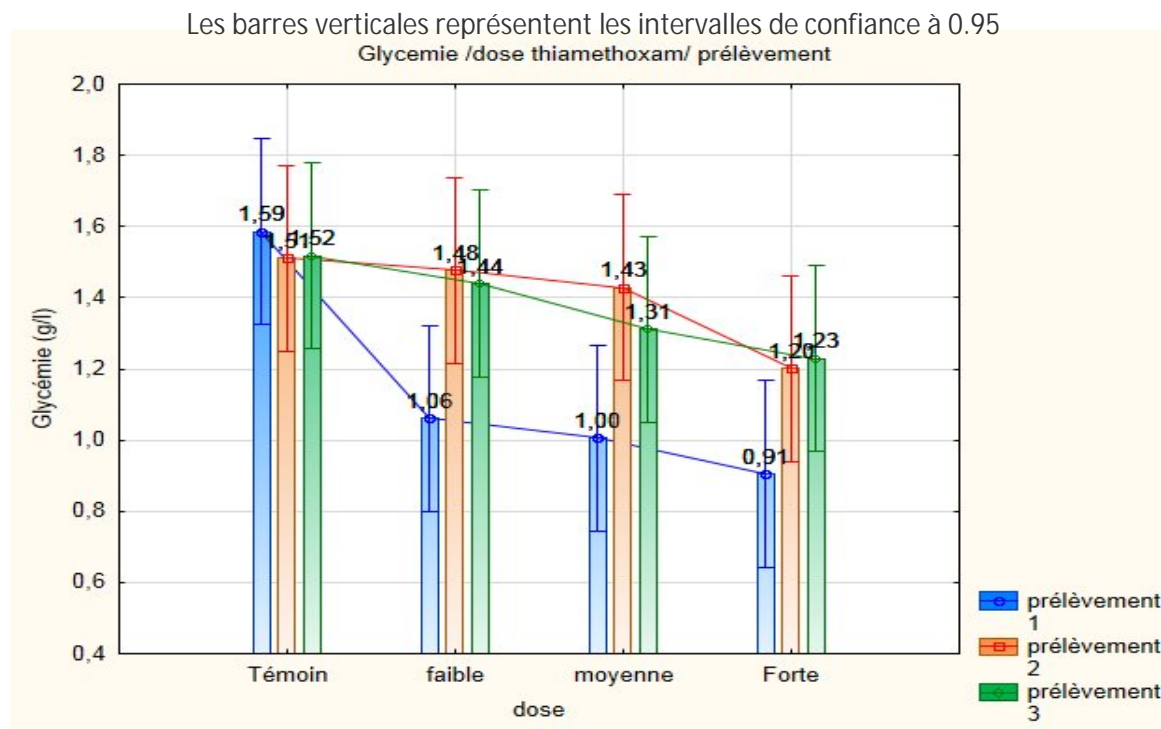
Ceci permet de dire que le traitement au thiaméthoxame influence l'évolution pondérale et favorise la prise de poids.

Durant toute la période expérimentale (de traitement), il semble que l'augmentation de la masse corporelle est beaucoup plus importante à moyenne dose où une augmentation d'environ 11,5% par rapport au témoin a été notée, alors qu'à forte et à faible dose nous avons enregistré une élévation d'environ 8,2% et 6,8% respectivement en comparaison avec le témoin.

Il semble alors que les trois doses de thiaméthoxame exercent un effet sur le poids corporel des rats, notamment la moyenne dose et dans une moindre mesure la forte dose puis la faible dose.

## II.1.2- Résultats des analyses biochimiques

### II.1.2.1- Résultats du dosage de la glycémie



**Figure 16 : Effet du traitement au thiaméthoxame à différentes doses sur la glycémie des rats Wistar mâles pendant toute la période expérimentale.**

La figure 16 représente le taux moyen de glucose dans le plasma des rats (témoins et traités), lors des trois prélèvements réalisés respectivement au début ; au milieu et à la fin de l'expérimentation.

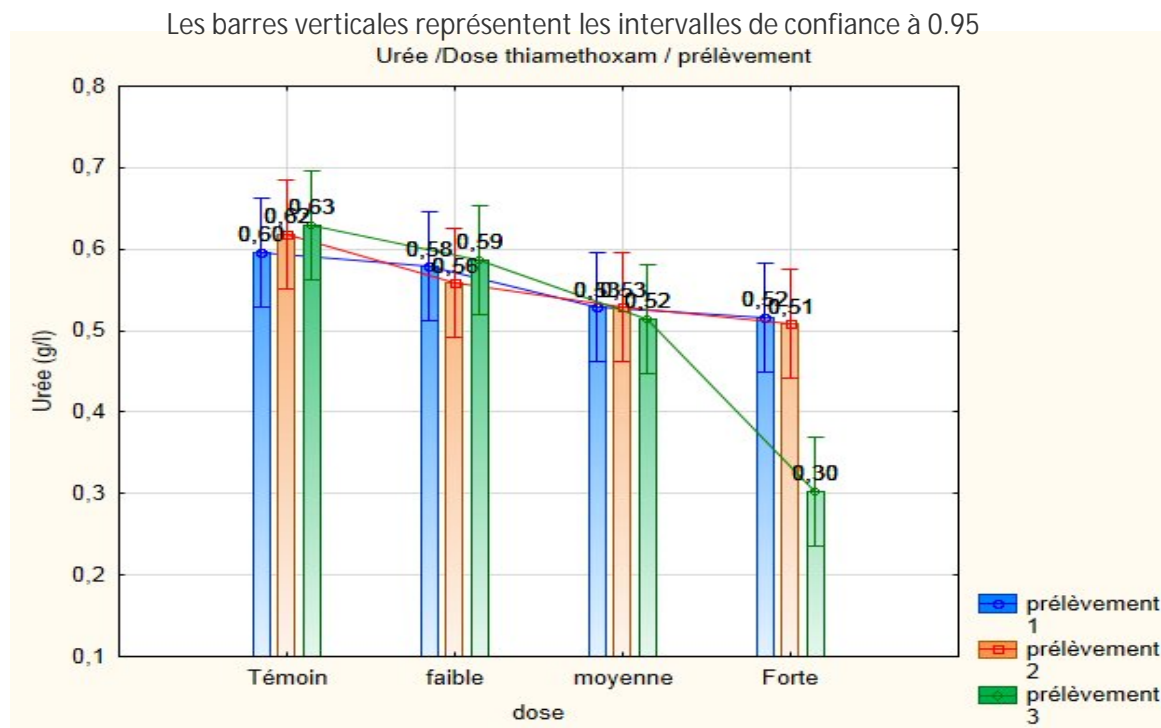
Ces résultats montrent que la glycémie du lot témoin est stable lors des trois prélèvements ; c'est-à-dire pendant toute l'expérimentation. Cependant, une perturbation du taux de glucose dans le plasma des rats exposés au thiaméthoxame est nettement remarquée.

En effet, une baisse très significative est notée au début du traitement (au premier prélèvement) chez les trois lots traités, en comparaison avec le témoin.

Vers la fin de l'expérimentation, le taux de glucose a connu une élévation par rapport au premier prélèvement chez les trois lots traités, tout en restant relativement bas comparativement au témoin. La glycémie des rats traités à forte et à moyenne dose a baissé d'une façon remarquable d'environ 19,08% et 13,8% respectivement en comparaison avec les rats témoins. Tandis qu'à faible dose, une baisse non significative d'environ 5,3% a été notée par rapport au lot témoin, le taux de glucose se rapproche alors de celui du témoin.

D'après ces résultats, il apparaît que le traitement au thiaméthoxame entraîne une baisse de la glycémie ; surtout à forte et à moyenne dose, alors que la faible dose semble être sans effet sur le taux plasmatique de glucose.

### II.1.2.2- Résultats du dosage de l'urémie



**Figure 17 : Effet du traitement au thiaméthoxame à différentes doses sur l'urémie des rats Wistar mâles pendant toute l'expérimentation.**

Les résultats du dosage de l'urée sanguin représentés dans **la figure 17** montrent que :

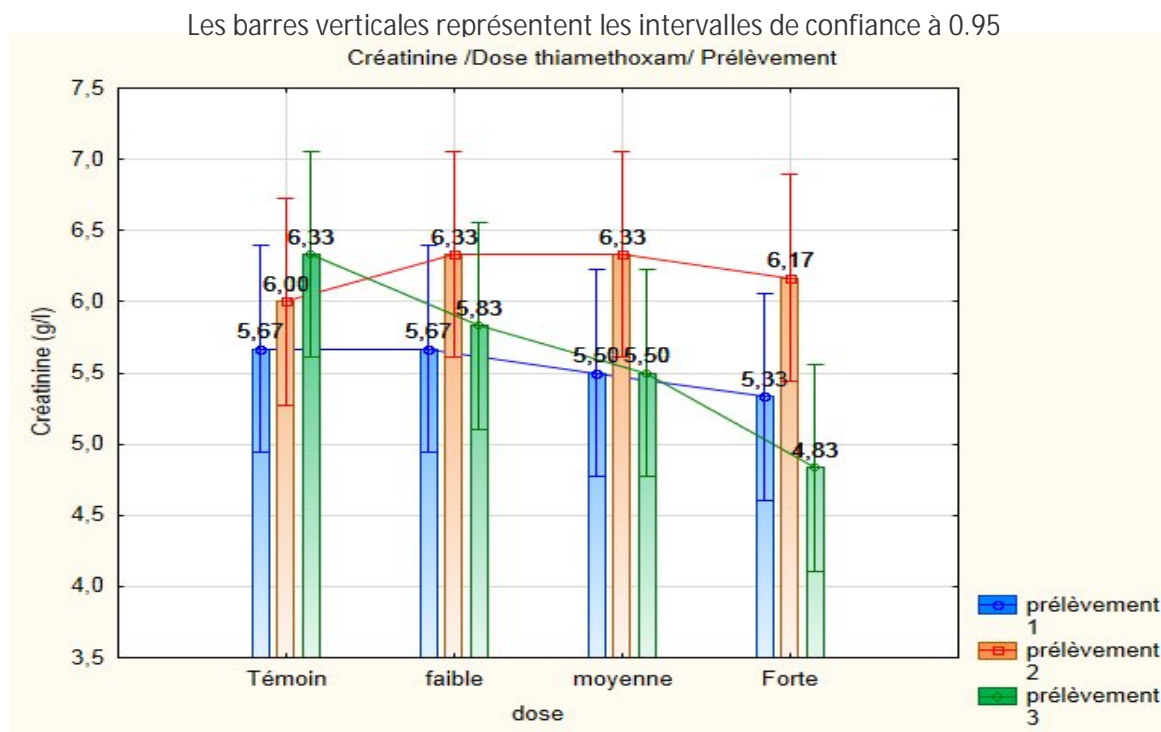
Le taux d'urée chez le lot témoin reste stable pendant toute l'expérimentation, alors qu'une diminution plus ou moins significative de ce taux est notée chez les lots traités au thiaméthoxame.

Un effet plus marqué est constaté à forte dose, le taux d'urée diminue dès le début de l'expérimentation (au premier et au deuxième prélèvement), mais une chute beaucoup plus significative est observée vers la fin de traitement (au troisième prélèvement) d'environ 52,4% en comparaison avec le témoin.

Chez le lot traité à moyenne dose, la diminution de l'urémie est d'une moindre signification durant toute l'expérimentation, elle d'environ 17,5% comparativement au témoin. Tandis que le lot traité à faible dose présente des valeurs proches de celles du lot témoin, tout en notant une faible diminution non significative de l'urémie d'environ 6,3%.

D'après ces résultats, nous constatons donc que le traitement au thiaméthoxame diminue significativement l'urémie à forte dose. La moyenne dose semble avoir un effet très faible, alors que la faible dose est sans effet.

### II.1.2.3- Résultats du dosage de la créatinémie



**Figure 18 : Effet du traitement au thiaméthoxame à différentes doses sur la créatinémie des rats Wistar mâles pendant toute l'expérimentation.**

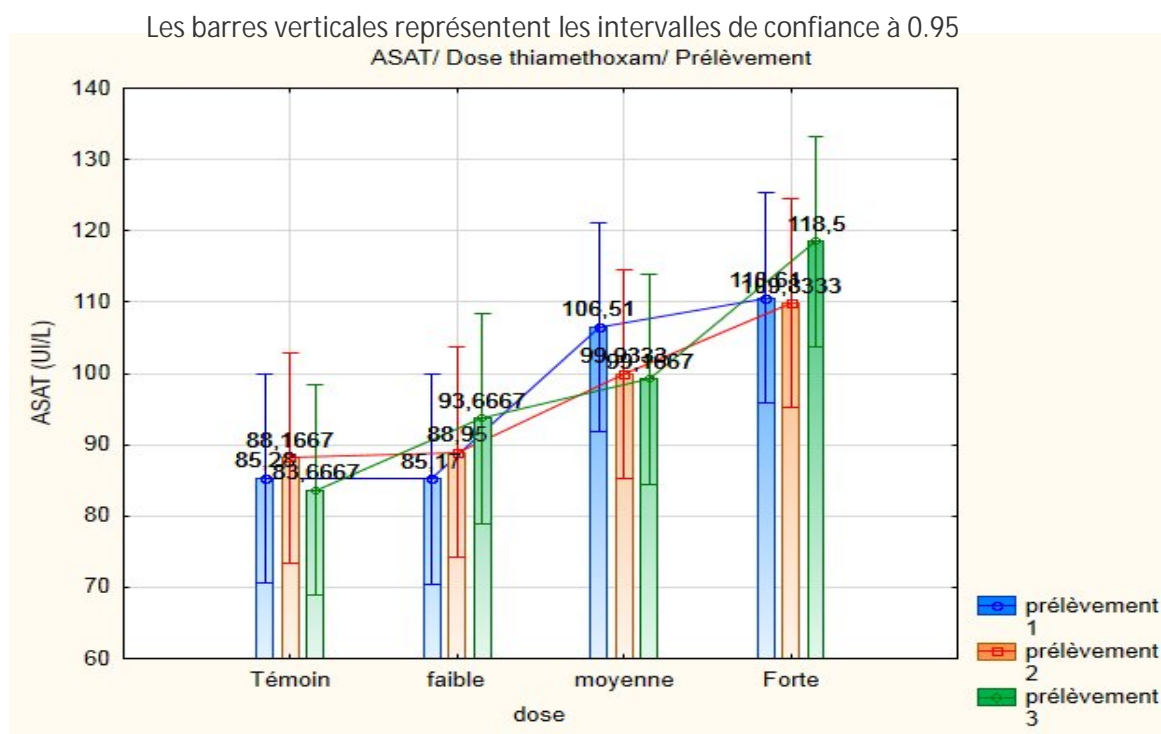
Les résultats représentés dans **la figure 18** montrent une perturbation du taux de créatinine dans le plasma des rats exposés au thiaméthoxame.

Au début de l'expérimentation, les valeurs de la créatinémie des trois lots traités se retrouvent aux alentours de celles du lot témoin. Une augmentation est observée ensuite lors du deuxième prélèvement mais, à la fin de l'expérimentation le taux de créatinine se voit chuter de façon plus ou moins significative.

A la fin de l'expérimentation, une baisse significative d'environ 23,7% de la créatinémie est notée chez le lot traité à forte dose comparativement au témoin, alors qu'à moyenne dose une diminution moins significative d'environ 13,1% est observée. Tandis qu'à faible dose la diminution du taux de créatinine est non significative (7,9%) par rapport au témoin.

Il apparaît donc que la forte dose de thiaméthoxame entraîne une baisse significative de la créatinémie, alors que la moyenne et la faible dose semblent avoir des effets moins significatifs.

### II.1.2.4- Résultats du dosage de l'Aspartate Amino-Transférase (ASAT)



**Figure 19 : Effet du traitement au thiaméthoxame à différentes doses sur le taux d'ASAT des rats Wistar mâles pendant toute l'expérimentation.**

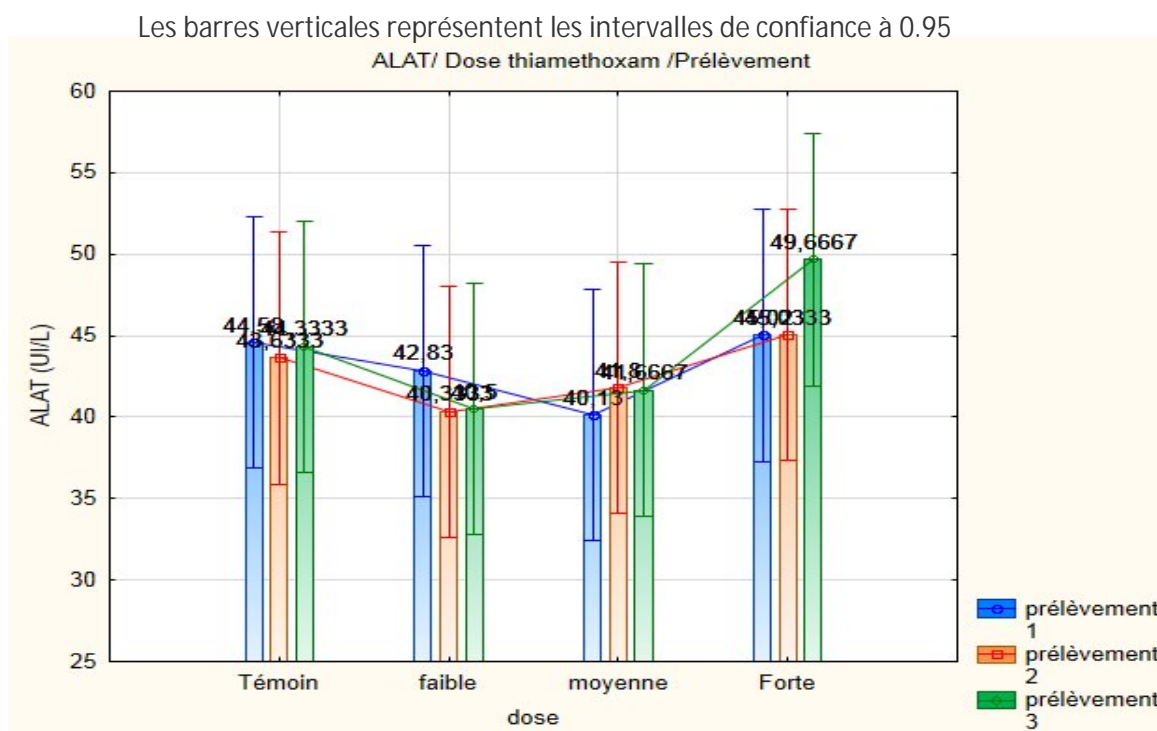
Les résultats du dosage de l'activité enzymatique ASAT représentés dans la **figure 19**, montrent une élévation remarquable chez le lot traité à forte dose dès le début de l'expérimentation, une augmentation significative d'environ 41,6% par rapport au témoin est observée lors du troisième prélèvement.

Nous remarquons aussi une élévation du taux d'ASAT à moyenne dose durant toute la période de traitement, mais l'augmentation est de moindre signification, elle est d'environ 18,5% en comparaison avec le témoin.

Tandis qu'à faible dose, le taux semble être très proche de celui du témoin, avec une légère augmentation à la fin de l'expérimentation d'environ 11,9% en comparaison avec le témoin.

Il s'avère donc que le traitement des rats au thiaméthoxame provoque une augmentation du taux d'ASAT à la forte dose, alors que la moyenne dose semble exercer un effet moindre et la faible dose peut être considérée comme étant sans effet.

### II.1.2.5- Résultats du dosage de l'Alanine Amino-Transférase (ALAT)



**Figure 20 : Effet du traitement au thiaméthoxame à différentes doses sur le taux d'ALAT des rats Wistar mâles pendant toute l'expérimentation.**

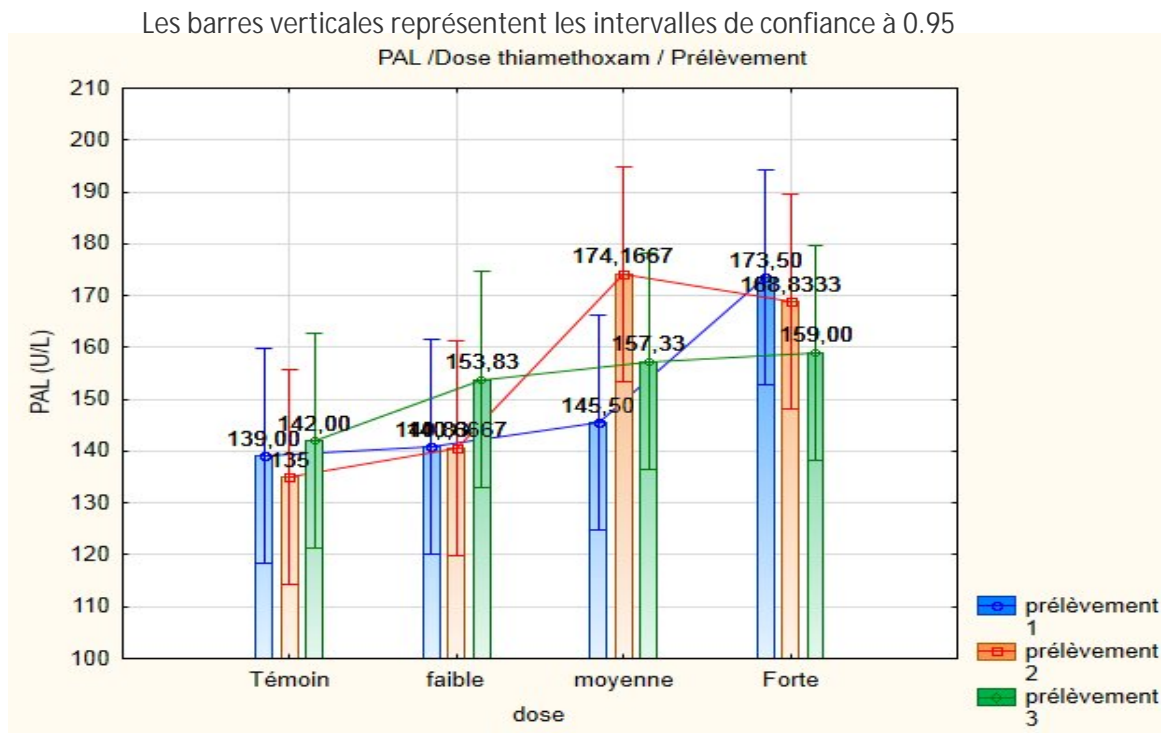
Les résultats représentés dans la **figure 20** indiquent que le taux de l'enzyme hépatique ALAT du lot traité à forte dose est dans le même niveau que celui du lot témoin lors du premier et du deuxième prélèvement. Une augmentation remarquable d'environ 12,05% est observée à la fin de l'expérimentation en comparaison avec le témoin.

Cependant, les lots traités à moyenne et à faible dose présentent des taux très proches de ceux du lot témoin durant toute la période de traitement.

Il semble donc que l'exposition au thiaméthoxame n'influence pas le taux d'ALAT à moyenne et à faible dose, alors que la forte dose en provoque une augmentation.



### II.1.2.6- Résultats du dosage la Phosphatase Alcaline (PAL)



**Figure 21 : Effet du traitement au thiaméthoxame à différentes doses sur le taux de la PAL des rats Wistar mâles pendant toute l'expérimentation.**

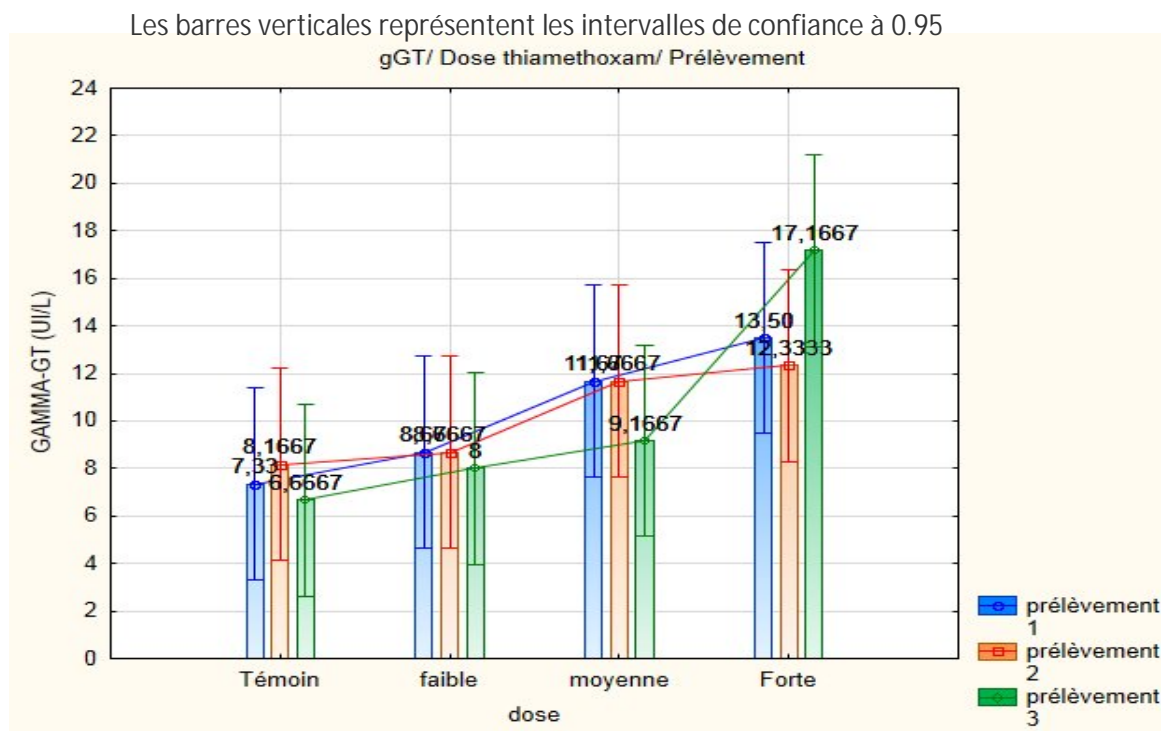
D'après les résultats exprimés dans la **figure 21**, le taux de PAL se voit en perturbation chez les lots traités au thiaméthoxame. En effet, une augmentation est notée au début de l'expérimentation, notamment à forte dose et légèrement à moyenne et faible dose.

Lors du deuxième prélèvement, les taux de phosphatase alcaline se voient atteindre des valeurs plus élevées à forte et à moyenne dose, mais à faible dose aucune augmentation n'a été observée, le taux est similaire à celui du témoin.

A la fin de l'expérimentation, une diminution du taux de PAL est constatée par rapport au deuxième prélèvement, mais les taux restent plus élevés que ceux du témoin. Une augmentation de 12% ; 10,8% et 8,3% respectivement pour les rats traités à forte ; moyenne et faible dose est notée en comparaison avec le témoin.

Le traitement au thiaméthoxame semble donc augmenter le taux de la PAL, notamment à forte et à moyenne dose et légèrement à faible dose.

### II.1.2.7- Résultats du dosage de $\gamma$ -Glutamyl-Transférase ( $\gamma$ -GT)



**Figure 22 : Effet du traitement au thiaméthoxame à différentes doses sur le taux de  $\gamma$ -GT des rats Wistar mâles pendant toute l'expérimentation.**

Les résultats du dosage de l'enzyme  $\gamma$ -GT représentés dans la **figure 22** indiquent une augmentation du taux à forte et à moyenne dose dès le début de traitement, alors qu'à faible dose les valeurs sont dans le même niveau que celles du lot témoin.

Vers la fin de l'expérimentation, une élévation très significative est constatée à forte dose par rapport au témoin, tandis qu'à moyenne et à faible dose le taux n'augmente que légèrement en comparaison avec les rats témoins.

Il apparaît donc que le traitement au thiaméthoxame influence significativement et entraîne une augmentation du taux de l'enzyme  $\gamma$ -GT à la forte dose. La moyenne et la faible dose semblent avoir de très faibles effets.

### II.1.3- Résultats de l'étude histologique

#### II.1.3.1- Résultats de l'histologie du rein

##### ➤ Témoin

La structure histologique rénale des rats témoins montre une structure classique et un aspect histologique normal. En effet, nous observons de l'extérieur vers l'intérieur une capsule conjonctive mince, sous laquelle se trouve un cortex qui recouvre régulièrement la médullaire. La corticale et la médullaire présentent un aspect homogène et une bonne vascularisation (**Figure 23a**).

Nous avons noté une structure glomérulaire bien conservée, le parenchyme (cortex) est constitué de glomérules denses ; de forme plus ou moins arrondie avec un contour irrégulier. Ces glomérules sont entourés par un espace de Bowman dont les cellules de l'épithélium pariétal sont bien conservées.

Autour des glomérules, des tubes contournés proximaux et distaux peuvent être observés, entre lesquels s'insinue le tissu interstitiel conjonctivo-vasculaire. Les tubes proximaux possèdent une lumière plus large et sont plus nombreux que les tubes distaux, et leurs cellules épithéliales présentent des noyaux arrondis (**Figure 23b**).

##### ➤ Faible dose

L'examen histologique des reins, provenant de rats traités par 26,05 mg/Kg/j de thiaméthoxame, a révélé des modifications structurales par rapport au témoin.

Au niveau de la corticale : nous avons observé une destruction du glomérule rénal, qui a engendré une hémorragie au niveau de la chambre urinaire à proximité du néphron atteint.

Les tubes contournés proximaux ont subi une pycnose (destruction du noyau), ce qui a entraîné la mort cellulaire. Ces aspects de lésions sont sporadiques (irréguliers), nous avons remarqué environ une vingtaine (20<sup>aine</sup>) de foyers lésionés pour de la totalité de la corticale (**Figure 24 a et b**).

Au niveau de la médullaire : seulement deux régions autour de l'anse de Henlé présentent un aspect hémorragique, due probablement à la destruction des vasa recta (petits capillaires qui entourent l'anse de Henlé). Dans le même endroit, nous avons observé aussi une destruction de certains tubes des anses de Henlé. Tandis que les tubes descendants et ascendants n'ont subi aucune destruction.

### ➤ Moyenne dose

Le traitement par une dose de 39,075 mg/Kg/j de thiaméthoxame, entraîne des foyers hémorragiques et des foyers de destruction plus importants et sont d'atteintes plus large que ceux observé à faible dose.

Approximativement, l'atteinte est de moins de 50% du volume du cortex. En plus de la destruction des glomérules et des tubes contournés proximaux, nous avons révélé aussi l'atteinte des tubes distaux (pynose). Cependant, les canaux collecteurs restent intacts.

Au niveau de la médullaire, nous avons remarqué une atteinte de moins de 50% de son volume approximativement. Comme la faible dose, des foyers hémorragiques ainsi qu'une destruction de certains tubes des anses de Henlé ont été observés. Toutefois, les parties ascendantes et descendantes des anses de Henlé ont subit également une destruction (**Figure 25**).

### ➤ Forte dose

A la dose de 78,15 mg/Kg/j, la structure histologique montre des altérations plus intenses. En effet, environ 75% de la corticale et de la médullaire sont pratiquement détruites.

Les mêmes schémas lésionnels observés à faible et moyenne dose sont observés aussi à forte dose, mais avec une proportion plus importante, notons que la médiane de l'artère rénale est pratiquement détruite (**Figure 26**).

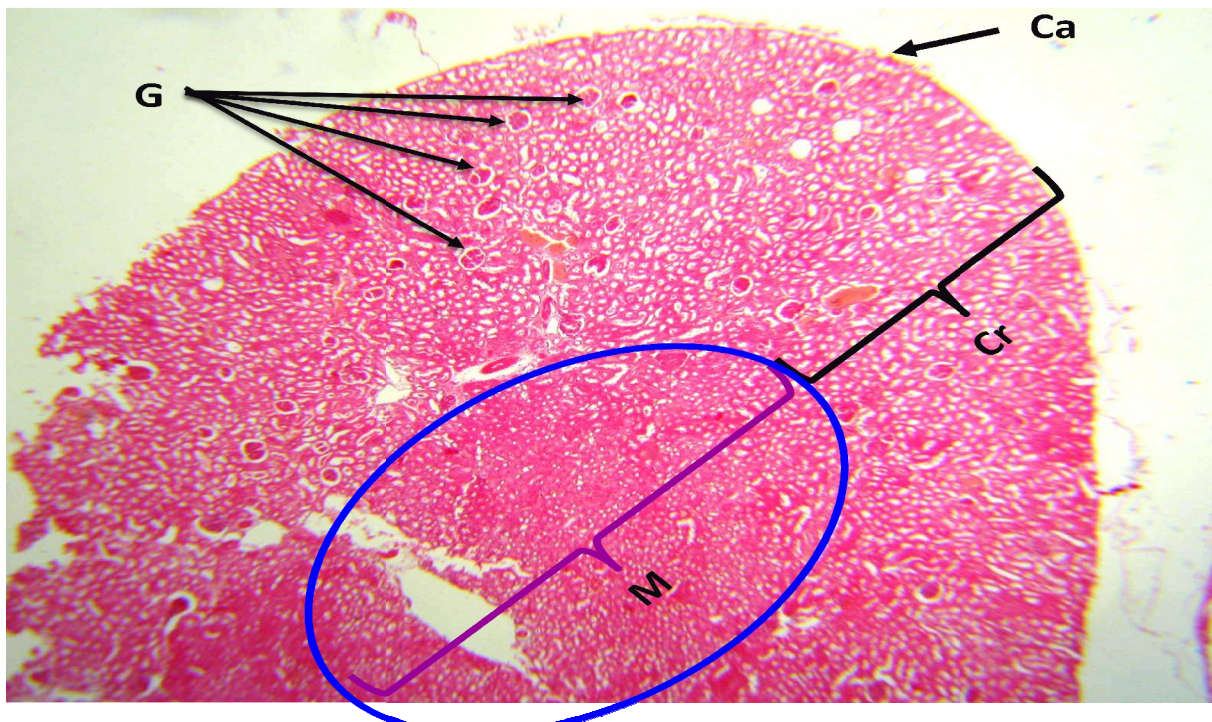


Figure 23a : Histologie du parenchyme rénal chez les rats témoins (Gr X 10, Coloration HE)

Ca : Capsule ; Cr : Corticale ; M : Médullaire ; G : Glomérule

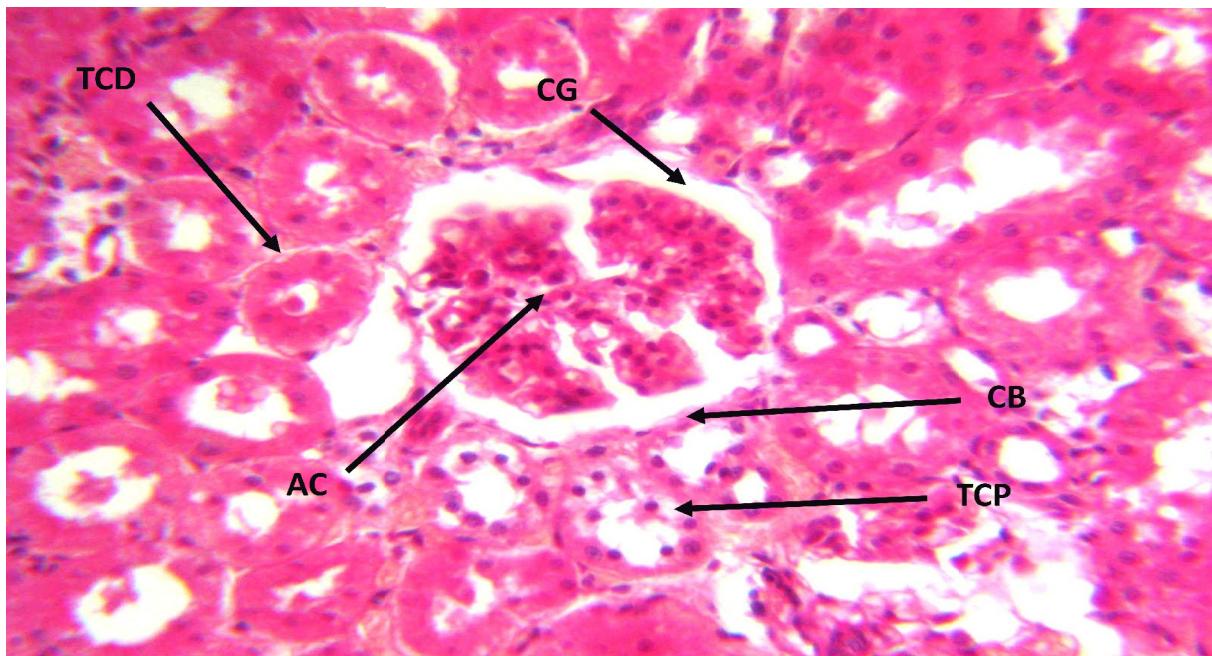
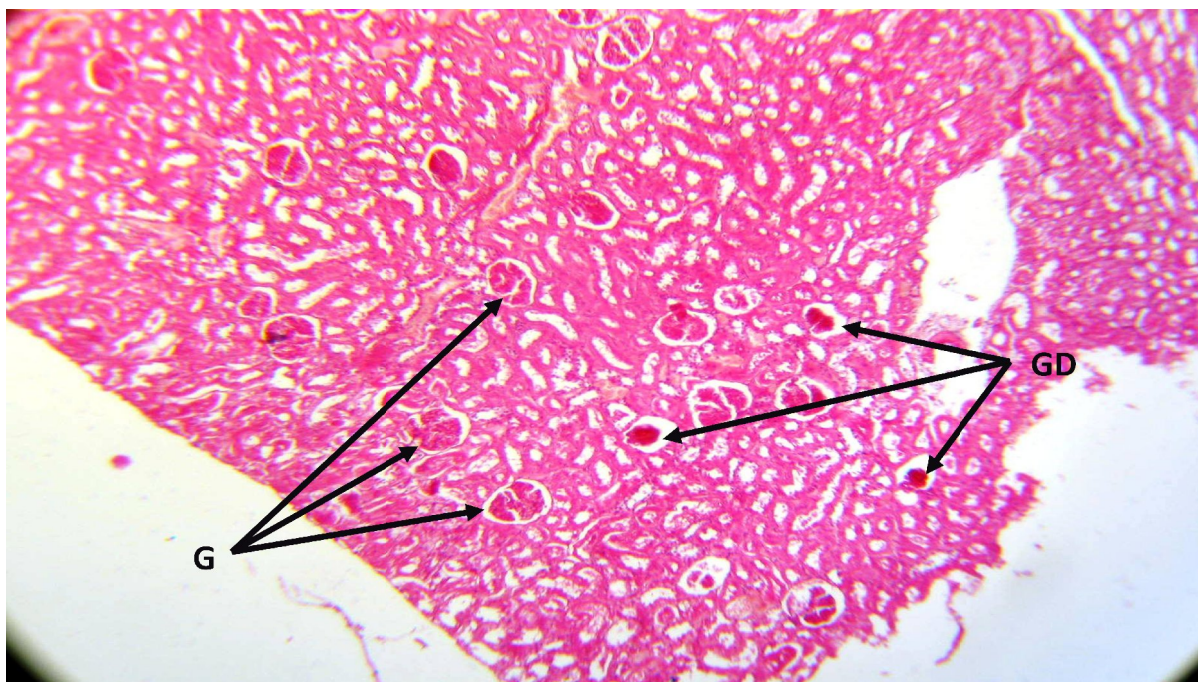


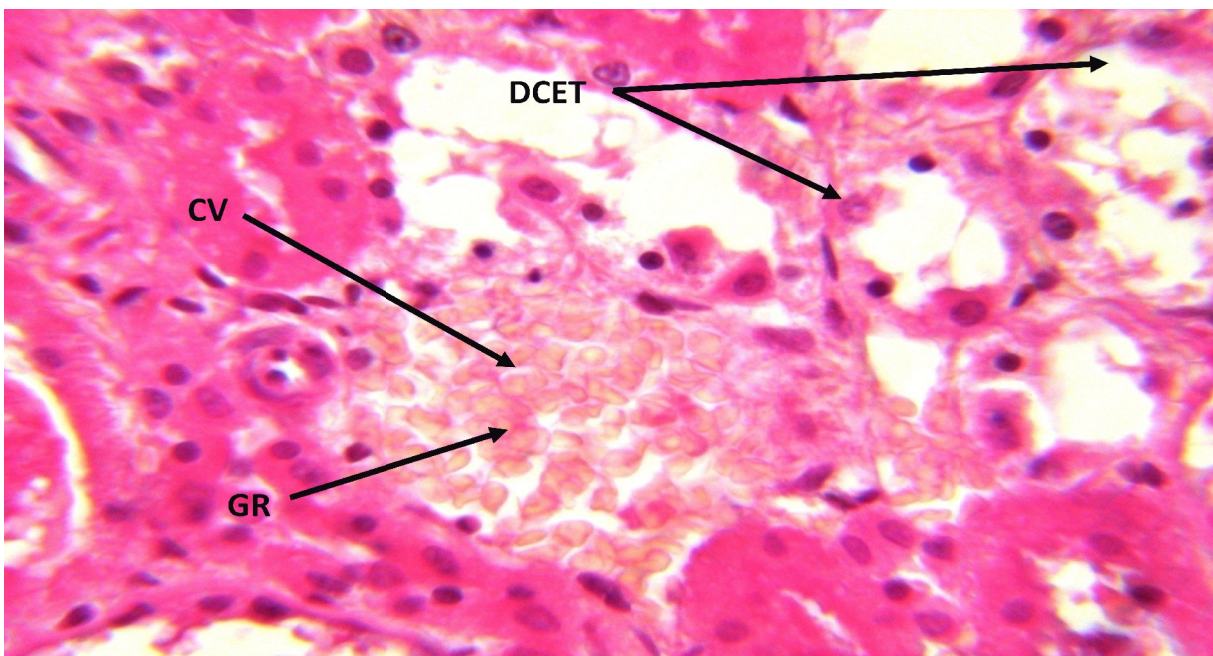
Figure 23b : Histologie du parenchyme rénal chez les rats témoins, mettant en évidence un glomérule et des tubes contournés normaux (Gr X 40, Coloration HE)

CG : Chambre Glomérulaire ; CB : Capsule de Bowman ; AC : Anse Capillaire ;  
TCP : Tube Contourné Proximal ; TCD : Tube Contourné Distal



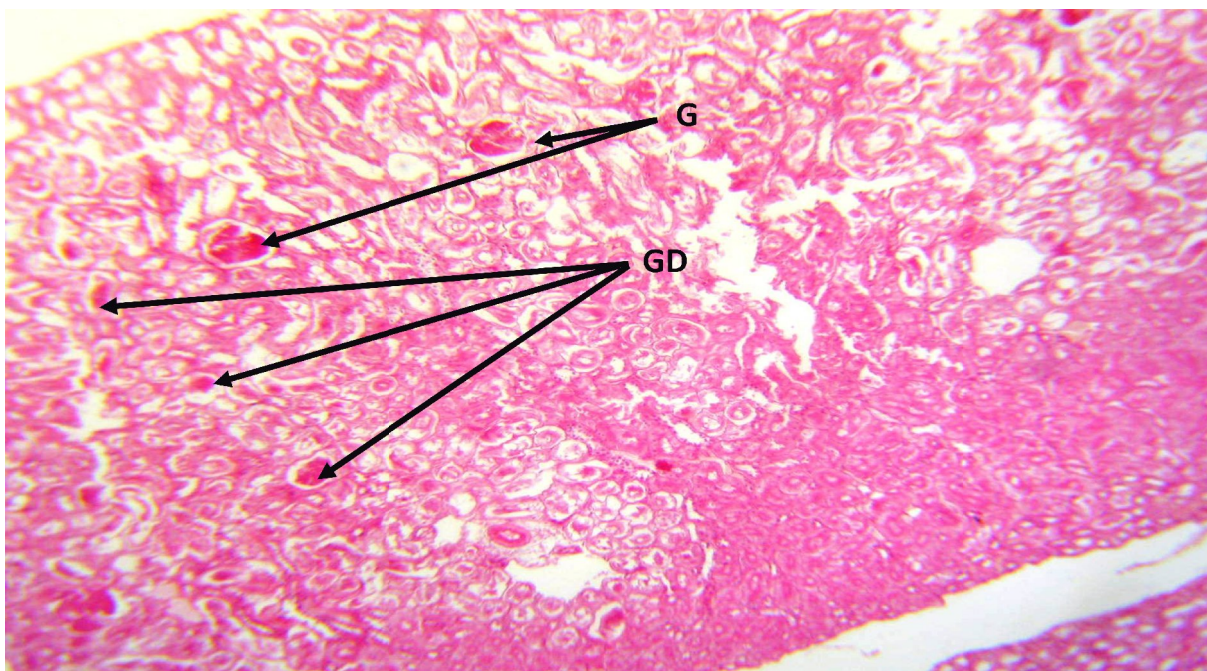
**Figure 24a : Histologie du parenchyme rénal chez les rats traités à faible dose, mettant en évidence des lésions focales de quelques glomérules (Gr X 10, Coloration HE)**

**G : Glomérules ; GD : Glomérules Dégénérés**



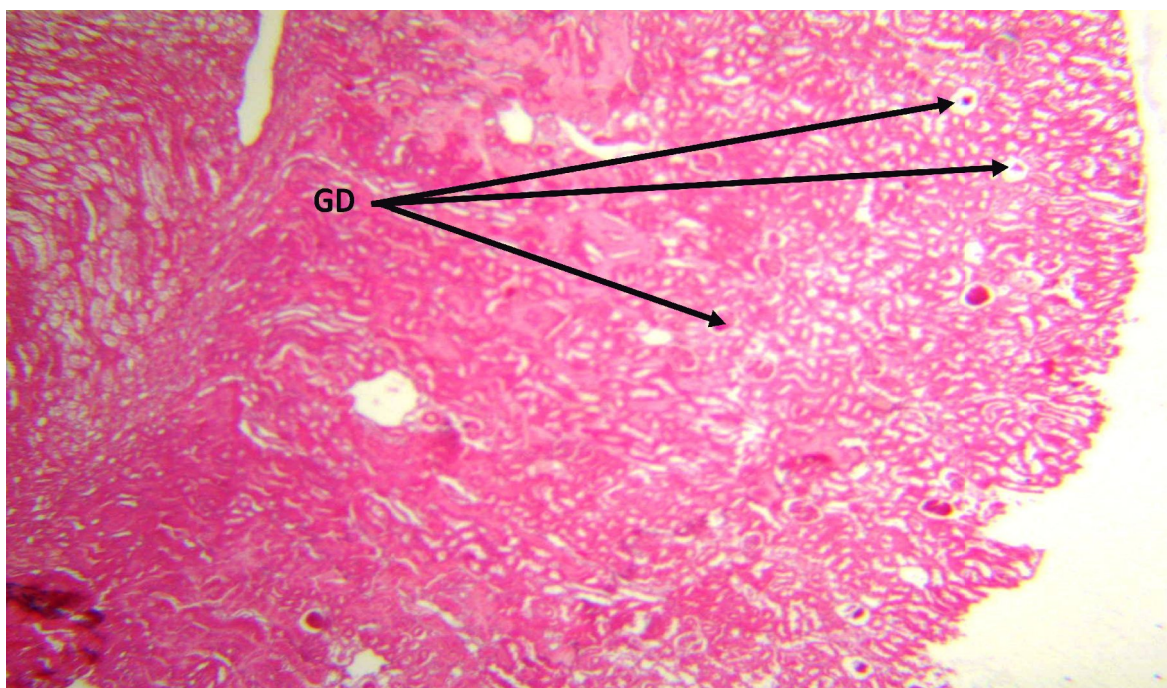
**Figure 24b : Histologie du parenchyme rénal chez les rats traités à faible dose, mettant en évidence une hémorragie au niveau de la chambre glomérulaire (Gr X 40, Coloration HE)**

**CV: Congestion Vasculaire ; GR : Globules Rouges ; DCET : Dégénérescence Cellulaire de l'Epithélium Tubulaire**



**Figure 25: Histologie du parenchyme rénal chez les rats traités à moyenne dose, mettant en évidence l'atteinte d'une partie du cortex (Gr X 10, Coloration HE)**

**G : Glomérules ; GD : Glomérules Dégénérés**



**Figure 26 : Histologie du parenchyme rénal chez les rats traités à forte dose, mettant en évidence une atteinte étendue du cortex (Gr X 10, Coloration HE)**

**GD : Glomérules Dégénérés**

### II.1.3.2- Résultats de l'histologie du foie

#### ➤ Témoin

Les coupes histologiques du foie des rats témoins montrent l'organisation histologique d'un foie normal, avec une architecture lobulaire marquée par la présence de travées hépatocytaires, disposées radialement autour d'une veine centrolobulaire. Ces travées sont séparées par des sinusoides. Les hépatocytes présentent un cytoplasme dense avec un ou deux noyaux arrondis de taille variable, comportant une chromatine dispersée à la périphérie (**Figure 27**).

#### ➤ Faible dose

A la faible dose (26,05 mg/Kg/j), l'examen du tissu hépatique a révélé quelques lésions dans des endroits bien définis. Nous avons observé une dégénérescence nucléaire des cellules hépatiques essentiellement dans la zone 2 du sinus hépatique et dans plaque limitante (**Figure 28a**).

Une destruction au niveau de trois foyers a été enregistrée, il s'agit de nécroses centrolobulaires (**Figure 28 b et c**).

#### ➤ Moyenne dose

Lors de l'examen microscopique des coupes histologiques du foie des rats traités avec la dose 39,075 mg/Kg/j, nous avons constaté des altérations structurales et une perte de l'organisation lobulaires hépatiques, ainsi que la présence de beaucoup de cellules adipeuse (stéatose diffuse) (**Figure 29**).

#### ➤ Forte dose

Chez les rats traités par 78,15 mg/Kg/j, le parenchyme hépatique présente des altérations structurales importantes et perd son organisation.

Une stéatose hépatique ; des cellules pycnotiques marquées par la dégénérescence du noyau et la condensation de la chromatine sont observées dans plusieurs endroits (**Figure 30 a et b**).



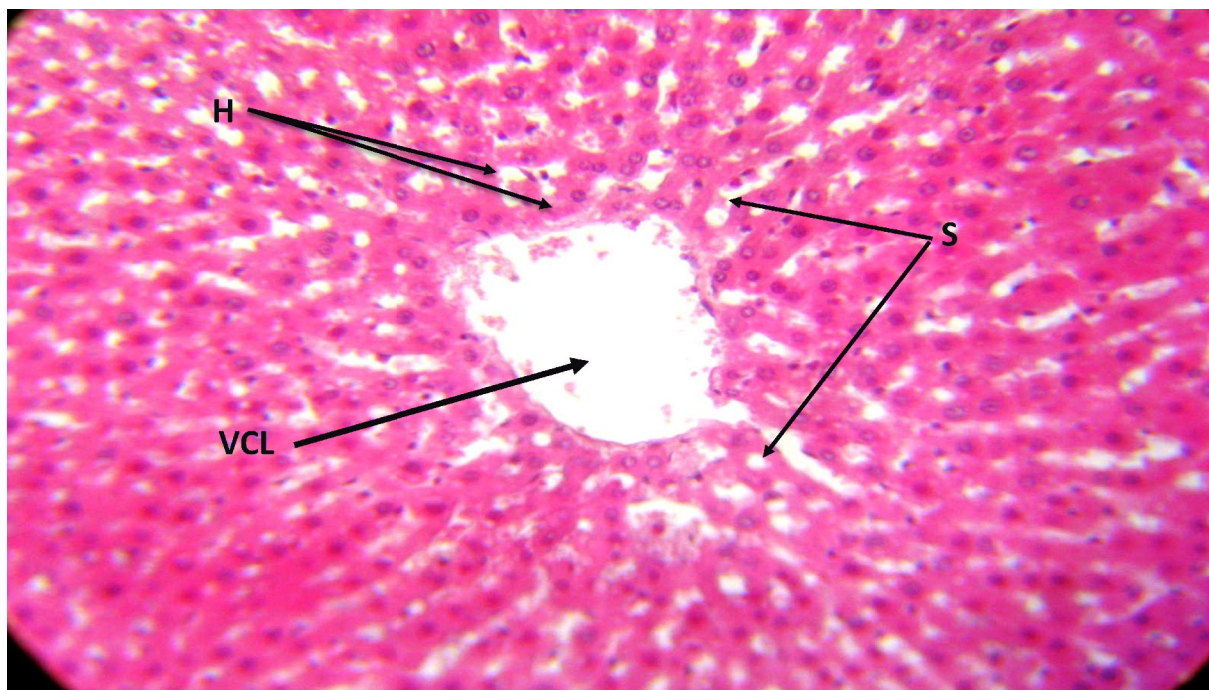


Figure 27 : Histologie du foie chez les rats témoins, mettant en évidence une architecture lobulaire normale (Gr X 40, Coloration HE)

H : Hépatocytes ; S : Sinusoïdes ; VCL : Veine Centro-Lobulaire

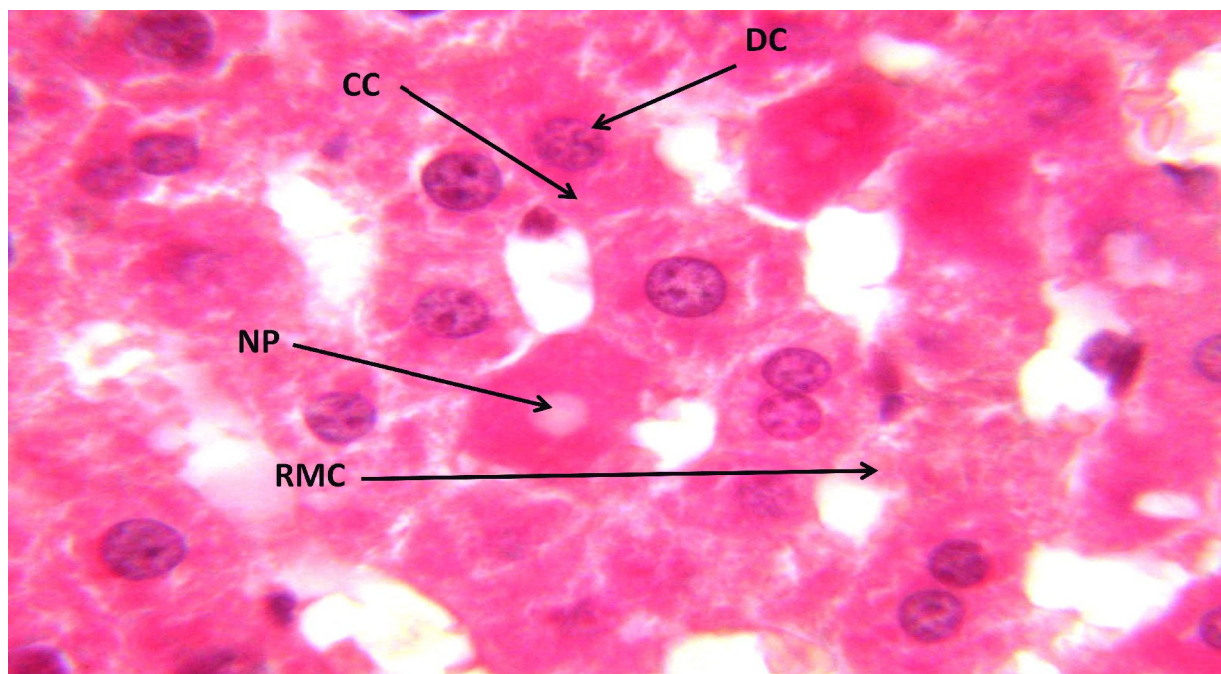
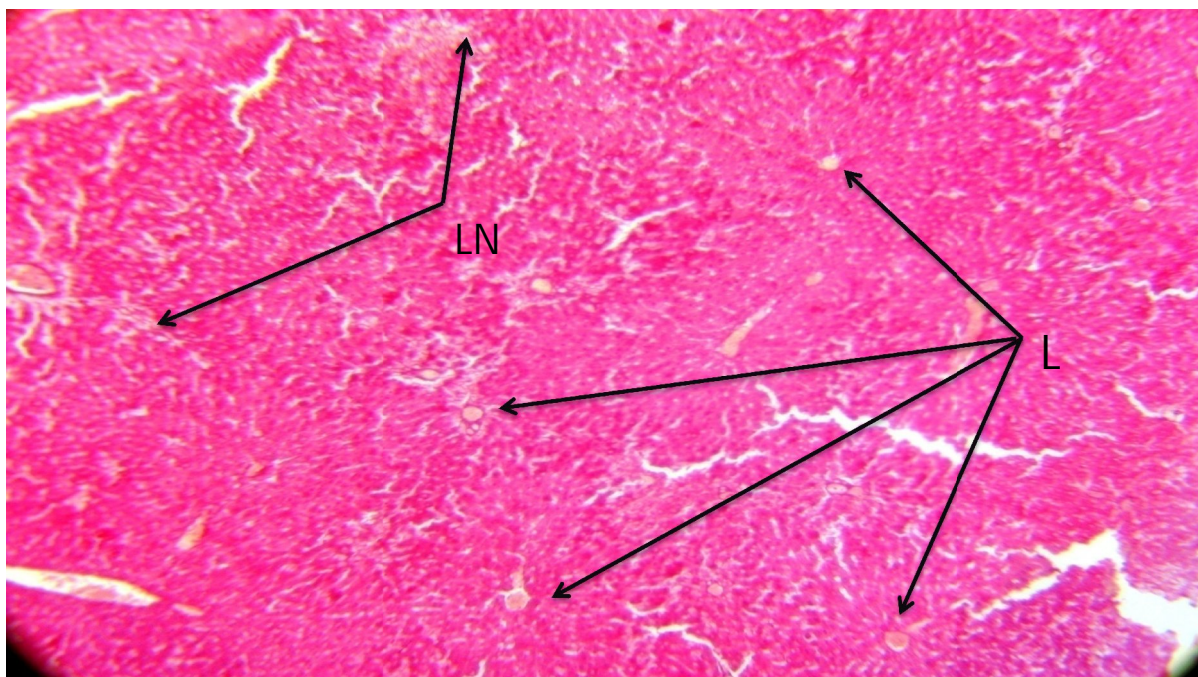


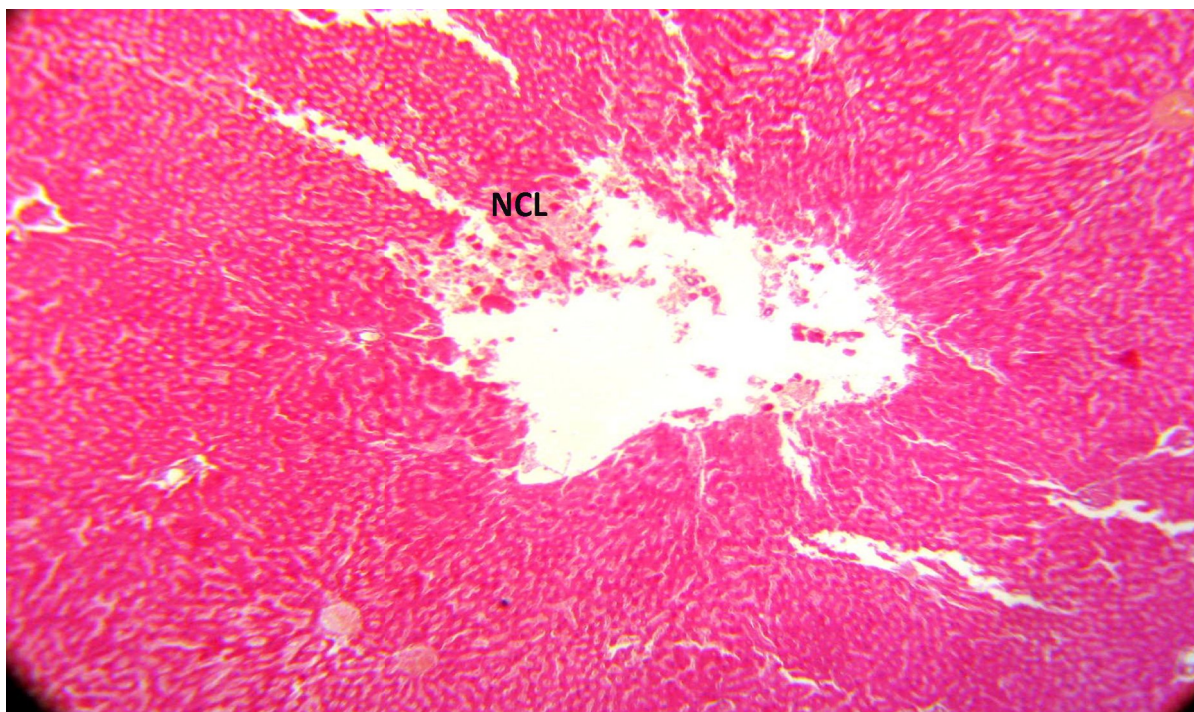
Figure 28a : Histologie du foie chez les rats traités à faible dose, mettant en évidence des lésions de dégénérescence nucléaire (Gr X 100, Coloration HE)

CC : Condensation Cytoplasmique ; DC : Début de Caryolyse ; NP : Noyau Pycnotique ; RMC : Rupture de la Membrane Cytoplasmique



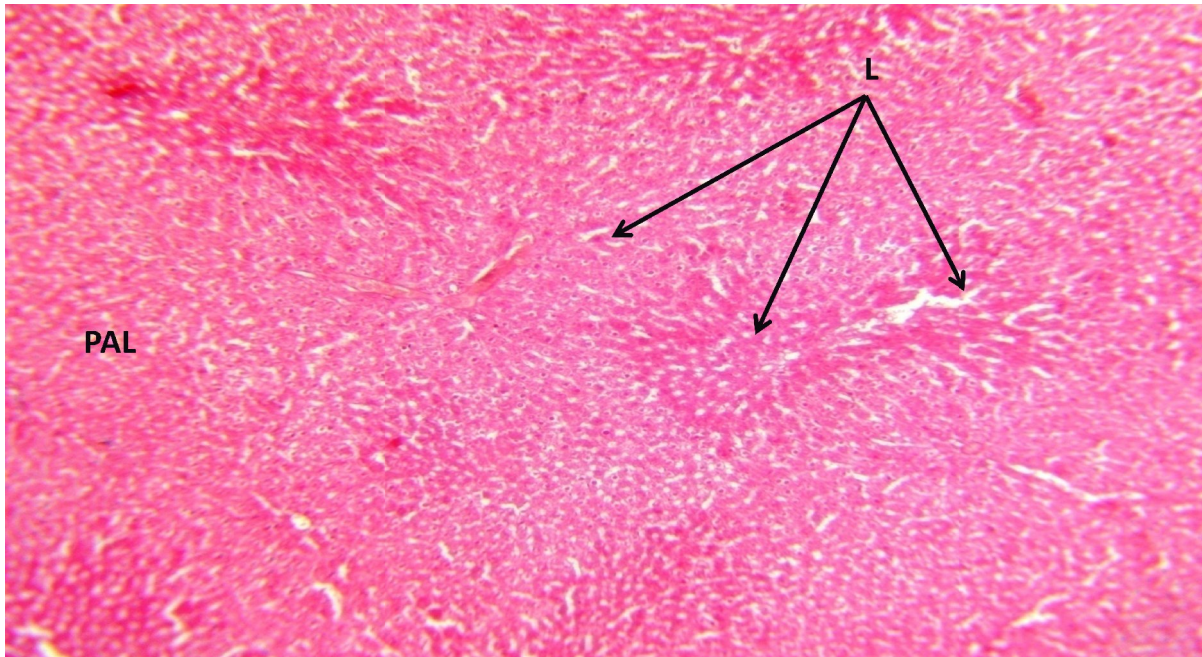
**Figure 28b : Histologie du foie chez les rats traités à faible dose, mettant en évidence des nécroses Centro-lobulaires focales (Gr X 10, Coloration HE)**

**L : Lobules ; LN : Lobules Nécrosés**



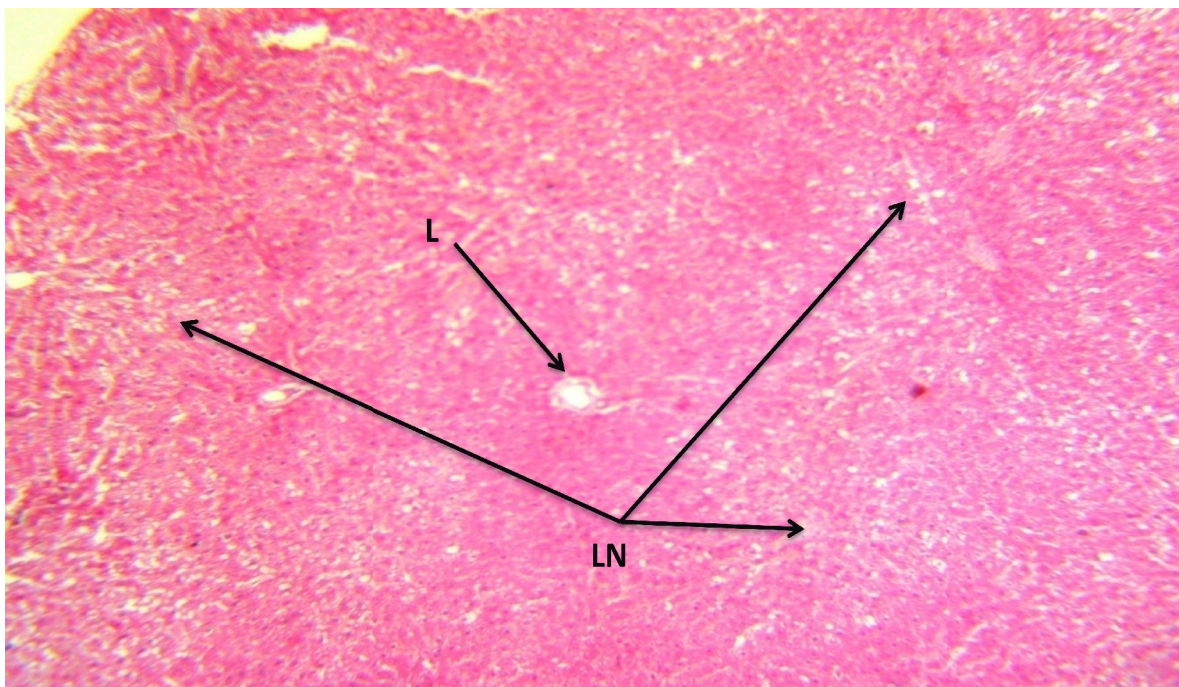
**Figure 28c : Histologie du foie chez les rats traités à faible dose, mettant en évidence une nécrose Centro-lobulaire agrandi (Gr X 40, Coloration HE)**

**NCL : Nécrose Centro-Lobulaire**



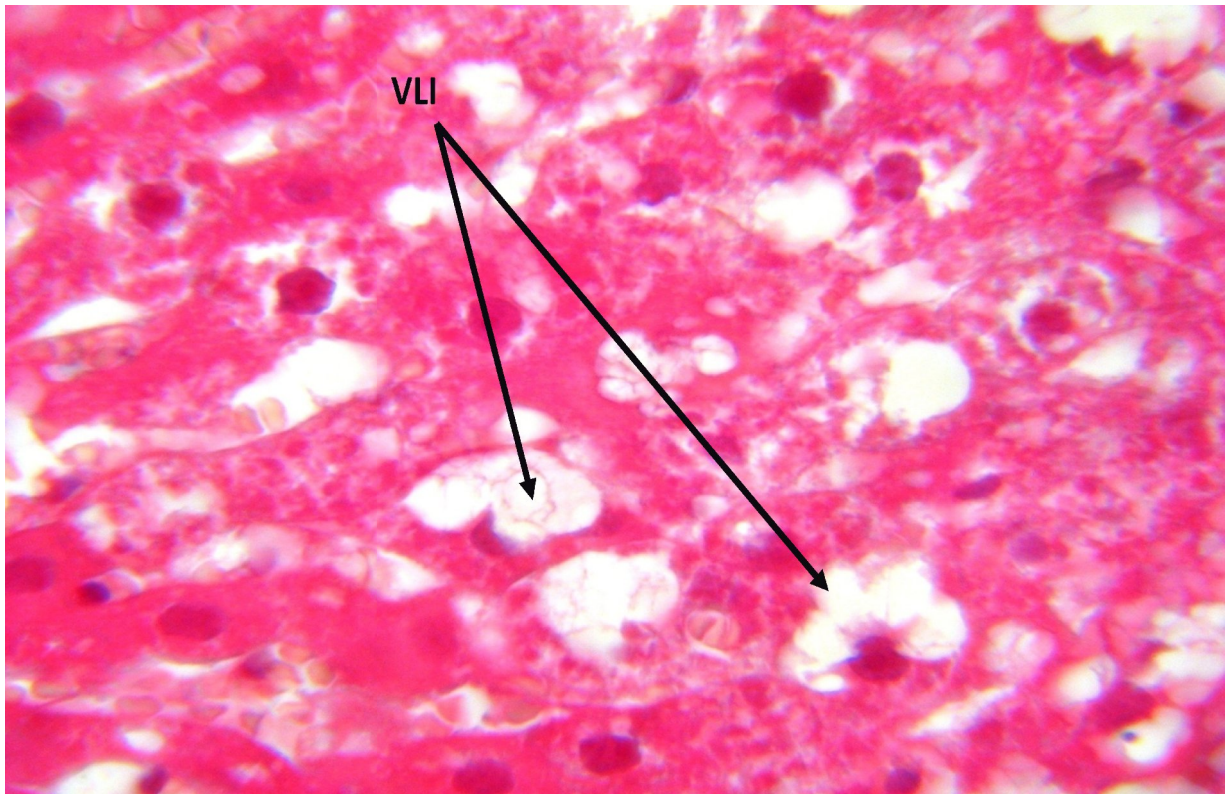
**Figure 29 : Histologie du foie chez les rats traités à moyenne dose, mettant en évidence une perte partielle de l'architecture (Gr X 10, Coloration HE)**

**L : Lobules ; PAL : Perte de l'Architecture Lobulaire**



**Figure 30a : Histologie du foie chez les rats traités à forte dose, mettant en évidence une perte étendue de l'architecture lobulaire (Gr X 10, Coloration HE)**

**L : Lobules ; LN : Lobules Nécrosés**



**Figure 30b : Histologie du foie chez les rats traités à forte dose, mettant en évidence les lésions de stéatose hépatique (Gr X 100, Coloration HE)**

**VLI : Vacuoles Lipidiques Intra-cytoplasmiques**

## II.2 Discussion

Des augmentations de risque significatives pour plusieurs pathologies ont été mises en évidence en lien avec l'exposition aux pesticides et/ou selon les catégories d'usages (insecticides, herbicides, fongicides) ou encore avec l'exposition à certaines familles chimiques et/ou à des substances actives spécifiques (**Gérin *et al.*, 2003**).

Les insecticides sont préoccupants car leurs mécanismes d'action, dirigés contre les insectes, peuvent également perturber le métabolisme humain. Ils peuvent entraîner des effets neurologiques graves suivis de séquelles voire la mort (**Gérin *et al.*, 2003**).

Plusieurs études montrent l'impact des insecticides néonicotinoïdes sur la santé. L'une d'elle conduite sur des rats suggère que les néonicotinoïdes pourraient affecter défavorablement la santé humaine, spécialement le développement du cerveau ainsi que la fonction hépatique et rénale (**Kimura-Kuroda *et al.*, 2012**).

La présente expérimentation est axée sur un insecticide néonicotinoïde de nouvelle génération, à savoir le thiaméthoxame.

A travers cette étude chez les rats mâles adultes, nous cherchons les effets de la toxicité orale de trois doses de thiaméthoxame (26,05 ; 39,075 et 78,15 mg/kg/j) sur la fonction hépatique et rénale (paramètres biochimiques et histopathologie).

Dans nos conditions expérimentales, aucun changement de comportement n'a été signalé chez tous les rats pendant l'expérimentation. Ce résultat est en accord avec la synthèse d'études toxicologiques rapportées par la **FAO/OMS** dans le rapport de **2010**. En effet, aucun signe clinique de toxicité n'a été observé chez des rats mâles traités par voie orale au thiaméthoxame à raison de 8 ; 81,7 et 198,6 mg/kg/j durant toute la période de traitement. Cependant, **Bhardwaj *et ses collaborateurs* (2010)** ont noté des signes de toxicité, diarrhée et salivation, chez les rats traités oralement par un autre néonicotinoïde "l'Imidaclopride" à raison de 20 mg/kg/j. Or, le pourcentage de mortalité chez les rats est nul dans tous les lots, à l'exception du lot traité à forte dose (78,15 mg/kg/j) où nous avons noté la mort de deux rats à la fin de l'expérimentation. D'après les résultats des études résumées dans le **rapport FAO/OMS (2010)**, aucune mortalité n'a survécu chez les rats mâles traités pendant 90 jours avec 8 ; 81,7 et 198,6 mg/kg/j de thiaméthoxame. Tandis que chez les rats femelles traités avec 84,9 mg/kg/j de thiaméthoxame pendant 90 jours, la mort d'une seule rate a été signalée au 57<sup>ème</sup> jour de traitement.

Le suivi de la variation du poids corporel des animaux au cours du traitement a montré pour les rats traités au thiaméthoxame (les trois doses) une élévation significative du poids au bout des six semaines comparativement aux témoins, indiquant que le traitement au thiaméthoxame favorise la prise de poids. Des résultats opposés sont rapportés chez les rats mâles traités avec 84,9 ; 168 et 329 mg/kg/j de thiaméthoxame pendant 90 jours, qui montrent une réduction significative du poids corporels des rats (**FAO/OMS, 2010**). Les chercheurs ont considéré cette régression de poids, qui est due à la faible consommation de l'alimentation,

comme signe de toxicité, contrairement à nos conditions expérimentales dans lesquelles le signe de toxicité était un gain excessif de poids.

Selon les études toxicologiques disponibles pour le nouvel insecticide thiaméthoxame requises dans le cadre de la réglementation, et qui sont résumées dans le **rapport d'évaluation du thiaméthoxame (ARLA, 2007)** : en plus de l'impact sur le système nerveux, d'autres effets sur la santé constatés chez les animaux traités au thiaméthoxame incluent des effets sur le foie et les reins. Ainsi, l'analyse des coupes histologiques des organes étudiés (foie et rein) chez nos rats traités au thiaméthoxame, révèle des altérations structurales plus ou moins importantes au niveau des parenchymes qui se manifestent différemment selon l'organe et selon la dose reçue.

Le foie est l'organe majeur de multiples voies métaboliques. Il est considéré comme le premier site de la détoxification des pesticides et des polluants (**Guyton, 1995 et Kucuk, 1999**). En effet, le foie est vulnérable étant donné sa proximité avec l'apport sanguin du tractus digestif et son rôle de biotransformation et d'excrétion biliaire (**Frejaille et Bourdon, 1979**).

L'exploration hépatique suppose l'observation des paramètres suivants : L'aspartate amino transférase (ASAT), l'alanine amino Transférase (ALAT), la gamma-glutamyl-transférase ( $\gamma$ -GT) et la phosphatase alcaline (PAL) (**Latha et al., 1998 et Kew, 2000**).

Les résultats des dosages biochimiques illustrent une augmentation remarquable du taux plasmatique des deux transaminases (ASAT, ALAT), notamment chez les rats traités à forte et à moyenne dose de thiaméthoxame (78,15 et 39,075 mg/kg), en comparaison avec les témoins. Alors qu'à faible dose (26,05 mg/kg), les taux des transaminases ne semblent pas être affectés. Ces résultats sont en accord avec ceux résumés dans le **rapport FAO/OMS (2010)**, affirmant qu'une exposition orale au thiaméthoxame pendant 28 jours à raison de 198,6 mg/kg entraîne une élévation significative de l'activité des transaminases (ASAT, ALAT). **Balani et ses collaborateurs (2011)** ont expliqué l'augmentation significative des transaminases par des changements dégénératifs histopathologiques des hépatocytes, ce qui induit une augmentation de la perméabilité des membranes cellulaires et par conséquent la libération des enzymes dans le sang. L'augmentation de l'activité ASAT reflète une lésion cellulaire ; en particulier au niveau hépatique, cardiaque, rénal ou musculaire. Tandis que l'activité de l'enzyme ALAT, qui est plus spécifique du foie que ASAT, reflète particulièrement une lésion cellulaire au niveau hépatique (**Latha et al., 1998 et Kew, 2000**).

Le dosage de la phosphatase alcaline (PAL) a révélé une élévation importante du taux plasmatique de cette isoenzyme chez les rats exposés à la forte dose de thiaméthoxame (78,15 mg/kg), à la moyenne et à la faible dose (39,075 et 26,05 mg/kg) le taux n'a augmenté que modérément. Des résultats similaires ont été obtenu chez des rats ayant reçus des doses de 100 ; 300 et 1 000 mg/kg p.c/j de thiaméthoxame pendant 28 jours, et qui ont noté une augmentation significative du taux de la PAL (**FAO/OMS, 2010**). De façon générale, une élévation même modérée des isoenzymes du foie est toujours le signe d'une maladie active du tissu hépatique. En effet, la PAL est l'une des enzymes les plus communément utilisée pour

évaluer les dommages subis par ce tissu du fait de sa grande sensibilité (**De Amacher, 2002**). Selon **El-Aoufi et ses collaborateurs (2008)**, Une forte augmentation de la phosphatase alcaline suppose la présence de nécroses hépatocellulaires.

A propos de la gamma-glutamyl-transférase ( $\gamma$ -GT), une élévation modérée de son taux plasmatique a été enregistrée pour les lots traités à forte et à moyenne dose (78,15 et 39,075 mg/kg) comparativement aux témoins, et la faible dose ne l'affecte pas. Il en est de même pour des rats traités avec 1 000 mg/kg de thiaméthoxame pendant 28 jours, chez lesquels une élévation du taux de  $\gamma$ -GT a été observée (**FAO/OMS, 2010**). L'activité de cette enzyme d'origine membranaire ( $\gamma$ -GT) augmenterait dans la plupart des troubles hépatiques selon **Rousselet (1986)**. L'augmentation marquée dans notre cas laisse donc suggérer des lésions des tissus hépatiques. La gamma-glutamyl-transférase est également une enzyme produite dans les voies biliaires, et son niveau peut être élevé chez des individus souffrant d'une maladie des voies biliaires (**Latha et al., 1998 et Kew, 2000**).

Au niveau du métabolisme glucidique, l'administration du thiaméthoxame durant six semaines induit chez les rats traités à forte et à moyenne dose une baisse de la glycémie, alors qu'à faible dose le taux de glucose n'a pas été modifié par rapport aux témoins. Ce résultat est confirmé par ce qui a été rapporté dans les études toxicologiques résumées dans le rapport de **FAO/OMS (2010)**, indiquant une réduction des concentrations plasmatiques en glucose chez des rats mâles traités avec 84,9 mg/kg de thiaméthoxame pendant 90 jours. Selon **El-Aoufi et ses collaborateurs (2008)**, il existe une forte corrélation entre le métabolisme hépatique et l'homéostasie du glucose. Le rôle du foie est, en effet, central et crucial dans la régulation du métabolisme des carbohydrates.

Au niveau structural, l'analyse des coupes histologiques du foie des rats traités au thiaméthoxame révèle des altérations structurales remarquables du parenchyme hépatique, qui se manifestent par une perte de l'organisation lobulaires hépatiques, les lames hépatocytaires deviennent moins individualisées avec la disparition de l'agencement des cellules en travées autour de la veine centrolobulaire, des cellules pycnotiques marquées par la dégénérescence du noyau et la condensation de la chromatine ont été observées dans plusieurs endroits, donnant lieu à de nombreux foyers de nécrose qui envahissent le tissu hépatique, ainsi qu'une stéatose diffuse (présence de cellules adipeuses). Les atteintes hépatiques suscitées deviennent de plus en plus accentuées en allant de la faible à la forte dose. L'observation de ces altérations tissulaires au niveau du foie, qui constituent probablement des signes d'une hépatotoxicité par le thiaméthoxame, confirme les résultats des analyses biochimiques, qui ont montré une élévation du taux plasmatique de toutes les enzymes hépatiques, à savoir les transaminases, la PAL et  $\gamma$ -GT. Des résultats comparables ont été présentés dans **le rapport d'évaluation du thiaméthoxame (ARLA, 2007)**, qui montrent des foyers de nécrose, une stéatose ainsi qu'une hypertrophie hépatocellulaire, chez des rats traités avec le thiaméthoxame à raison de 100 et 300 mg/kg/j pendant 28 jours. Selon **Ontko (1973)**, la stéatose hépatique est probablement due à une altération du métabolisme lipidique et la diminution de l'oxydation hépatique des acides gras provoquant leur accumulation.

L'exploration de la fonction rénale a été menée par le dosage dans le sang du taux d'urée et de la créatinine, suivi de l'analyse des coupes histologiques.

Les résultats des analyses sanguines de l'urée et de la créatinine chez les rats traités à faible dose (26,05 mg/kg) n'ont pas montré de variation par rapport aux témoins, alors qu'une diminution modérée des concentrations a été observée à moyenne dose (39,075 mg/kg). Tandis qu'une baisse significative de l'urémie et de la créatinémie a été enregistrée chez les rats exposés à la forte dose (78,15 mg/kg). Les études résumées dans **le rapport FAO/OMS (2010)** ont abouti à des résultats contradictoires, qui révèlent une augmentation significative du taux d'urée plasmatique chez des rats traités avec 329 mg/kg de thiaméthoxame pendant 90 jours, ainsi qu'une augmentation de la créatinémie chez les rats traités à une dose de 84,9 mg/kg de thiaméthoxame.

Selon **Bangert et Steven (2004)**, l'urée est synthétisée lors du catabolisme des protéines par le foie et est éliminée par les reins. Une modification anormale de sa concentration sanguine peut être attribuée à une hépatotoxicité ou à des lésions rénales. L'hépatotoxicité observée lors de l'exploration de la fonction hépatique permet de supposer une perturbation du métabolisme protéique, et par conséquent une perturbation de la synthèse d'urée, ce qui peut expliquer probablement la baisse de l'urémie chez les rats suite au traitement par le thiaméthoxame. D'autre part, **Vander et ses collaborateurs (1989)** indiquaient que l'urée était une molécule capable de subir une réabsorption partielle au niveau des tubules rénaux vers le sang dans une forte proportion de 40 % après avoir été excrétée au niveau des glomérules dans les urines. Il s'avère donc probable que la diminution de l'urémie a eu lieu suite à des lésions au niveau des tubules rénaux, ce qui a empêché la réabsorption de l'urée vers le sang.

L'analyse des coupes histologiques des reins montre une structure rénale plus ou moins altérée en fonction de la dose. En effet, la faible dose de thiaméthoxame (26,05 mg/kg) n'a induit que quelques lésions sporadiques (irrégulières) au niveau de la corticale, se manifestant par une destruction du glomérule rénal, qui a engendré une hémorragie au niveau de la chambre urinaire à proximité du néphron atteint ; ainsi qu'une pycnose cellulaire au niveau des tubes contournés proximaux. Au niveau de la médullaire, l'atteinte est limitée à deux régions autour de l'anse de Henlé, présentant un aspect hémorragique due probablement à la destruction des vasa recta (petits capillaires qui entourent l'anse de Henlé) et une destruction de certains tubes des anses de Henlé.

Le traitement par la moyenne dose (39,075 mg/Kg) de thiaméthoxame, entraîne des foyers hémorragiques et de destruction plus importants et d'atteinte plus large que ceux observé à faible dose. Approximativement, moins de 50% du volume du cortex et de la médullaire présente une atteinte matérialisée par une destruction des glomérules, des tubes contournés proximaux, une pycnose cellulaire au niveau des tubes distaux, des foyers hémorragiques ainsi qu'une destruction de certains tubes des anses de Henlé.



A la forte dose (78,15 mg/kg) les coupes histologiques ont présenté des altérations structurales plus accentuées, environ 75% de la corticale et de la médullaire sont pratiquement détruites. Les mêmes schémas lésionnels observés à faible et moyenne dose sont aussi remarqués à forte dose, mais avec une proportion plus importante, notons que la médiane de l'artère rénale est pratiquement détruite.

Les altérations observées suite au traitement par le thiaméthoxame constituent des signes de néphrotoxicité.

D'après **le rapport d'évaluation du thiaméthoxame (ARLA, 2007)**, les résultats des études résumées indiquent chez des rats mâles traités avec 35,2 et 70,4 mg/kg de thiaméthoxame, une néphropathie chronique, une infiltration lymphocytaire au niveau des reins, des lésions chroniques au niveau des tubules rénaux ainsi qu'une modification de l'hyaline de l'épithélium des tubules rénaux à une dose de 100 mg/kg, cette dernière est attribuable à l'accumulation d'une protéine micro-globulaire urinaire ( $\alpha$ -2- $\mu$ -globuline) (**Weber, 2000**).

Au total, les désordres observés après administration du thiaméthoxame aux animaux témoignent sur les effets toxiques de cet insecticide néonicotinoïde, particulièrement au niveau hépatique et rénal.

# *Conclusion et Perspectives*

## Conclusion et Perspectives

A travers cette étude, basées sur l'évaluation de la toxicité orale du thiaméthoxame à raison de trois doses (26,05 ; 39,075 et 78,15 mg/kg/j) sur le poids corporel et la fonction hépatique et rénale chez des rats Wistar mâles, nous avons montré que les doses testées, notamment la forte et la moyenne dose, entraînent plusieurs effets délétères.

A la lumière de tous les résultats obtenus, il s'avère que le thiaméthoxame entraîne un gain excessif de poids corporel ; une baisse de la glycémie ; une élévation des taux plasmatiques des principaux marqueurs biochimiques hépatiques (ASAT, ALAT, PAL et  $\gamma$ -GT) ; une baisse de l'urémie et de la créatinémie (indicateurs de la fonction rénale).

L'examen histologique s'est caractérisé par des modifications structurales plus ou moins importantes au niveau hépatique et rénal. En effet, des altérations remarquables du parenchyme hépatique se sont manifestées par une perte de l'organisation lobulaire, la présence de foyers de nécrose marqués par une dégénérescence cellulaire et une stéatose diffuse. L'atteinte du parenchyme rénal (cortex et médullaire) est matérialisée par une destruction des glomérules, des tubes contournés proximaux, une pycnose cellulaire au niveau des tubes distaux, des foyers hémorragiques ainsi qu'une destruction de certains tubes des anses de Henlé.

L'ensemble des données biochimiques et histologiques confirme l'effet hépatotoxique et néphrotoxique du thiaméthoxame chez le rat Wistar.

L'étude effectuée reste partielle, des études plus approfondies doivent être reprises afin de mieux évaluer les risques de ce produit. Pour cela, nous suggérons d'explorer d'autres fonctions notamment le système nerveux central, le système endocrinien et la fonction reproductrice. Nous recommandons aussi à ce que des études de toxicité chronique soient réalisées sur le thiaméthoxame afin de pouvoir extrapoler les effets toxiques à l'être humain. Il serait également intéressant de rechercher les résidus de thiaméthoxame ou ses métabolites dans le sang. Il est aussi important de suggérer l'étude des effets synergiques des cocktails, afin de mieux refléter la réalité d'utilisation des produits phytosanitaires.

D'une façon générale, le recours classique aux études épidémiologiques et toxicologiques d'évaluation des risques sanitaires, reste le principal moyen d'étudier les liens entre pesticides et santé humaine. Il a été démontré que les dispositifs actuels d'évaluation de la toxicité humaine et environnementale des pesticides et l'état actuel des agences de réglementation ne permettent pas une évaluation adéquate et rigoureuse du risque. Les carences observées devraient non seulement conduire à accélérer de façon significative le programme de réévaluation des pesticides, mais aussi entraîner une certaine prudence quant à l'homologation de ces produits.

L'évaluation scientifique, les politiques publiques et les systèmes normatifs et réglementaires doivent être orientés dans une perspective de prévention des problèmes de santé des êtres et des milieux de vie (**Vandelac, 2006**).

Sur ce, je termine sur cette phrase d'Albert Einstein qui illustre très bien le besoin de réorientation de la science et des politiques publiques, nécessaire à la protection de la santé publique et environnementale dans le dossier des pesticides : « We can not solve our problems with the same thinking we used when we created them ».

# *Références Bibliographiques*

## Références bibliographiques

- **Agence de Réglementation de la Lutte Antiparasitaire (ARLA).** (2007). Rapport d'évaluation du thiaméthoxame. *ERC 2007-01*, Santé CANADA.
- **Agence de Réglementation de la Lutte Antiparasitaire (ARLA).** (2011). Rapport d'évaluation Veridian 0.33G et Veridian 25WG contenant du thiaméthoxame. *ERC2011-05*, Santé CANADA.
- **Association de Coordination Technique Agricole (ACTA).** (2006). Index phytosanitaire. *Ed. 42*, France.
- **Bachmann M.** (1995). Thiamethoxame: 28-days range finding study in rats. *Ciba-Geigy Ltd, Short/Long-term Toxicology, Stein, Switzerland*. Unpublished report N°. 942088, 5 May 1995. Submitted to WHO by Syngenta Crop Protection AG.
- **Balani T., Agrawal S. et Thaker A.M.** (2011). Hematological and biochemical changes due to short-term oral administration of imidacloprid. *Toxicol Int.*
- **Bal R., Erdogan S., Theophilidis G., Baydas G. et Naziroglu M.** (2010). Assessing the effects of the neonicotinoid insecticide imidacloprid in the cholinergic synapses of the stellate cells of the mouse cochlear nucleus using whole-cell patch-clamp recording. *Neurotoxicology*. **31** : 113-120.
- **Bangert M.W.G. et Steven K.** (2004). Biochimie médicale : Physiopathologie et Diagnostic. *Elsevier. 5<sup>ème</sup> édition*. 70-94.
- **Barbee G.C. et Stout M.J.** (2009). Comparative acute toxicity of neonicotinoid and pyrethroid insecticides to non-target crayfish (*Procambarus clarkii*) associated with ricecrayfish crop rotations. *Pest Management Science*. **65** :1250-1256.
- **Bartels H. et Bohmer M.** (1971).Colorimetric method – Creatinine kinetic test. *Clin. Chem.* **32**: 81p.
- **Bedos C., Cellier P., Calvet R., Barriuso E. et Gabrielle B.** (2002). Mass transfer of pesticides into the atmosphere by volatilization from soils and plants: overview. *Agronomy*, **22**, 1.
- **Bergmeyer H. U. et Gawehn K.** (1978). Principles of enzymatic analysis. *Verlag. Chem. Weinheim & New York*. 260p.
- **Berkenhout.** (1769). The Taxonomy and Karyology of *Rattus norvegicus* (*Rodentia: Muridae*). *Tr. J. of Zoology*. Turkey. **22**: 203-212.
- **Bhardwaj Shipra M.K., Srivastava U. et Pasana Kapoor L.P. S.** (2010). A 90 days oral toxicity of imidacloprid in female rats: Morphological, biochemical and histopathological evaluations. *Food and Chemical Toxicology*. **48**: 1185-1190.

## Références bibliographiques

- **Blanchard A., Poussou R. et Houillier P.** (2008). Exploration des fonctions tubulaires rénales. *Néphrologie & Thérapeutique*. **5** : 68-83.
- **Bodereau-Dubois B.** (2011). Récepteurs nicotiques neuronaux d'insectes et insecticides : Caractérisation de facteurs cellulaires impliqués dans la modulation de l'efficacité des néonicotinoïdes. Thèse de doctorat, Université Angers, France.
- **Briswalter C.** (2002 a). Absorption, distribution and excretion of [oxadiazin-4-C<sup>14</sup>] CGA 293343 in the mouse and rat after oral administration. *Animal Metabolism, Syngenta Crop Protection AG, Basel, Switzerland*. Basel N° 027AM 15. October 1, 2002. Unpublished.
- **Briswalter C.** (2003 b). Blood kinetics of CGA 293343 and its metabolites in male rats and mice after oral administration of [oxadiazin-4-C<sup>14</sup>] CGA 293343. *Health Assessment/Animal Metabolism, Syngenta Crop Protection AG, Basel, Switzerland*. Basel N°. 027AM14. August 27, 2003. Unpublished.
- **Carvalho F. P.** (2006). Agriculture, pesticides, food security and food safety. *Environmental science and policy*, **9**: 685-692.
- **Combaz F.** (2011). De l'insuffisance rénale chronique à la dialyse. Rôle du pharmacien d'officine dans l'accompagnement du patient dialysé. Thèse de doctorat en pharmacie, Université Joseph Fourier. 158p.
- **Comité de la Prévention et de la Protection (CPP).** (2002). Risques sanitaires liés à l'utilisation des produits phytosanitaires. <http://www.ecologie.gouv.fr/PPP-Rapport-2002-02-Risques.html>.
- **Conseil de l'Europe : Directive 91/414/CEE.** (1991). La mise sur le marché des produits phytopharmaceutiques. J.O. L 230 du 19 Août 1991. 209. <http://eur-lex.europa.eu/>.
- **De Amacher.** (2002). A toxicologist's guide to biomarkers of hepatic response. *Human & Exp. Toxicol.* **21** : 253-262.
- **Descat F.** (2002). Hématologie du rat : hémogramme et myélogramme. Thèse médecine vétérinaire, Toulouse. **3** : 4011p.
- **Eea et Who E.** (2002). Children's Health and Environment: A review of evidence.
- **El-Aoufi S., Maouche B., Sennoune S. et Griene L.** (2008). Étude histochimique et histoenzymologique du foie de *PSAMMOMYS OBESUS* pris comme modèle pour l'étude du diabète et de ses complications hépatiques. *Bull. Soc. zool.* France. **133(4)** : 303-316.
- **Elbert A., Haas M., Springer B., Thielert W. et Nauen R.** (2008). Applied aspects of neonicotinoïd uses in crop protection. *Pest Management Science*. **64**: 1099-1105.

## Références bibliographiques

- **El-Mrabet K., Le-Diuron V., Yardin C., Lalere B., Hervouet G. et Pichon V.** (2007). Méthode d'analyse multirésidus de pesticides par dilution isotopique associée à la chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem. Thèse de doctorat publiée, Université Pierre et Marie Curie, France.
- **Errante S.** (2013). L'interdiction de certains pesticides responsables de la mortalité des abeilles. Rapport n° 872. Commission du Développement Durable et de l'Aménagement de Territoire, France.
- **European Commission (EC).** (2007). Monitoring of pesticides residues in products of plant origin in the European Union. Norway, Iceland and Liechtenstein. [http://ec.europa.eu/health/risk\\_en.htm](http://ec.europa.eu/health/risk_en.htm).
- **European Food Safety Authority (EFSA).** (2012). Scientific Opinion on the science behind the development of a guidance document on the risk assessment of plant protection products on bees. Publié en mai 2012. <http://www.efsa.europa.eu/fr>.
- **European Food Safety Authority (EFSA).** (2013). Identification des risques associés aux néonicotinoïdes pour les abeilles. Communiqué de presse du 16 janvier 2013. <http://www.efsa.europa.eu/fr>.
- **FAO/OMS.** (2010). Pesticide residues in food, part II: Toxicological evaluations. Rome, Italy, 21–30 September 2010.
- **Fillatre Y.** (2011). Produits phytosanitaires : Développement d'une méthode d'analyse multi-résidus dans les huiles essentielles par couplage de la chromatographie liquide avec la spectrométrie de masse en mode tandem. Thèse de doctorat, Université Angers, France.
- **Food and Agriculture Organization (FAO).** (2010). International Code of Conduct on the Distribution and Use of Pesticides. *FAO-STAT*, Rome.
- **Frank C.L.U.** (1992). Toxicologie, données générales, procédures d'évaluation, organes cibles et évaluation du risque. Paris. 73-202.
- **Frejaville J.P. et Bourdon R.** (1979). Toxicologie clinique et analytique. *Flammarion Médecine Sciences*, 2<sup>ème</sup> édition. 437p.
- **Gandillet A.** (2004). Evaluation de la cinétique de régénération hépatique et de l'efficacité de transplantation d'hépatocytes dans différents modèles murins d'insuffisance hépatique. Thèses de doctorat, Université Louis Pasteur.
- **Gérin M., Gosselin P., Cordier S. et al.** (2003). Environnement et santé publique, fondements et pratiques. *Éditions Tec & Doc, Edisem*. 1023p.
- **Green T.** (2002 a). Thiamethoxam: Comparative metabolism in mice and rats in vivo and in mouse, rat and human liver fractions in vitro. *Central Toxicology Laboratory, Alderley Park, Macclesfield, Cheshire, UK. CTL N° 024607*. November 21, 2002. Unpublished.

## Références bibliographiques

- **Green T.** (2003 b). Thiamethoxam (CGA 293343): Comparative hepatotoxicity in adult rats and mice. *Central Toxicology Laboratory Aderley Park, Macclesfield, Cheshire, UK.* CTL Number 024607-003, September 8, 2003. Unpublished.
- **Gupta S. et Gajbhiye V.T.** (2007). Persistence of Acétamiprid in soil. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology.* **78** : 349-352.
- **Guyton A.C.** (1995). Textbook of Physiology. *W.B. Saunders Company.* 13<sup>rd</sup> edition, London. 230p.
- **Hatcher J.M., Pennell K.D. et Miller G.W.** (2008). Parkinson's disease and pesticides: a toxicological perspective. *Trends in Pharmacology Sciences.* **29**: 322-329.
- **Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques (INERIS).** (2005). Détermination des pesticides à surveiller dans le compartiment aérien : approche par hiérarchisation. <http://www.ineris.fr/>.
- **Jakubowski M. et Trzcinka-Ochocka M.** (2005). Biological monitoring of exposure: trends and key developments. *J Occup Health.* **47(1)**, 22-48.
- **Jeschke P., Nauen R., Schindler M. et Elbert A.** (2011). Overview of the Status and Global Strategy for Neonicotinoïds. *Journal and Agricultural and Food Chemistry,* **59** (7), 2897-2908.
- **Jurewicz J., Hanke W., Johansson C., Lundqvist C., Ceccatelli S., Van Den Hazel P., Saunders M. et Zetterstrom R.** (2006). Adverse health effects of children's exposure to pesticides: what do we really know and what can be done about it. *Acta Pediatric Suppl.* **95(453)**, 71-80.
- **Kayser H., Lee C., Decock A., Baur M., Haettenschwiler J. et Maiefisch P.** (2004). Comparative analysis of neonicotinoid binding to insect membranes: I. A structure-activity study of the mode of [3H] imidacloprid displacement in *Myzus persicae* and *Aphis craccivora*. *Pest Management Science.* **60** : 945-958.
- **Kersante A.** (2003). Rôle régulateur de la macrofaune lombricienne dans la dynamique de l'herbicide atrazine en sol cultivé tempéré. In : **Saiba A.** Etude de l'adsorption d'un herbicide -la Métribuzine- sur un sol cultivé. Mémoire de Magister, Ecole Nationale Polytechnique, El-Harrach, Algérie.102p.
- **Kew M.C.** (2000). Serum amino transferase concentration as evidence of hepatocellular damage. *Lancet.* **355**: 591-592.
- **Khan S.M. et Kour G.** (2007). Subacute oral toxicity of chlorpyrifos and protective effect of green tea extract. *Pesticide Biochemistry and Physiology.* **89**: 118-123.
- **Kimura-Kuroda J., Komuta Y., Kuroda Y., Hayashi M. et Kawano H.** (2012). Nicotine-Like Effects of the Neonicotinoid Insecticides Acetamiprid and Imidacloprid on Cerebellar Neurons from Neonatal Rats. *P. Los.* **7(2)**: 32432.



## Références bibliographiques

- **Klein J.** (2009). Le récepteur B1 des kinines dans la fibrose rénale : des mécanismes au potentiel thérapeutique. Thèse de doctorat, Université de Toulouse. 146p.
- **Kocaman A.Y. et Topaktas M.** (2007). *In vitro* evaluation of the genotoxicity of Acétamiprid in human blood lymphocytes. *Environ. Mol. Mutagen*, **48** : 483-490.
- **Kucuk S.** (1999). The effect of diel un-ionised ammonia fluctuation on juvenile hybrid striped bass, channel catfish and tilapia. Master thesis, Mississippi State University. Mississippi, USA.
- **Latha R.M., Geentha T. et Varalakshmi P.** (1998). Effect of Vernonia cinerea Flower extract in adjuvantinduced arthritis. *General Pharmacology*. **31**: 601-606.
- **Laurent F.M. et Rathahao E.** (2003). Distribution of [(14) C] imidacloprid in sunflowers (*Helianthus annuus L.*) following seed treatment. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **51**: 8005-8010.
- **Lüllmann H., Mohr K. et Ziegler A.** (1998). Atlas de poche de pharmacologie. *Médecine-Sciences: Flammarion*, 2<sup>ème</sup> édition. Paris. 32-42.
- **Magali C., Deleuze S. et Callard P.** (2008). Lésions élémentaires des glomérules chez l'adulte. *Néphrologie & Thérapeutique*. **4** : 617-627.
- **Maienfisch P., Huerlimann H., Rindlisbacher A., Gsell L., Dettwiler H., Haettenschwiler J., Sieger E. et Walti M.** (2001). The discovery of thiamethoxam: a second generation neonicotinoid. *Pest Management Science*. **57**:165-176.
- **Ma L.** (2000). Pesticides in the atmosphere in Minnesota: Partitioning, deposition, and significance. *Minneapolis, Minn., University of Minnesota, Ph.D. dissertation*, 161.
- **Manahan S.E.** (2003). Biochemistry, toxicological chemistry. *Library of Congress Cataloging-in-Publication Data Lewis Publisher*. 3<sup>ème</sup> édition. 160-180.
- **Marchall W.J. et Bangert S.K.** (2004). Biochimie médicale: physiopathologie et diagnostic. 5<sup>ème</sup> édition Française Elsevier. France. 59-87.
- **Margoum C.G.B.** (2003). Contribution à l'étude du devenir des produits phytosanitaires lors d'écoulement dans les fossés : Caractéristiques physico-chimiques et hydrodynamiques. In : **Saiba A.** Etude de l'adsorption d'un herbicide -la Métribuzine- sur un sol cultivé. Mémoire de Magister, Ecole Nationale Polytechnique, El-Harrach, Algérie. 102p.
- **Martoja R. et Martoja-Pierson M.** (1967). Initiation aux techniques de l'histologie animale. *Edition Masson et C<sup>ie</sup>*, Paris-VI.
- **Maxim L. et Van Der Sluijs J.P.** (2007). Uncertainty: cause or effect of stakeholders' debates? Analysis of a case study: the risk for honeybees of the insecticide Gaucho. *Science of Total Environment*. **376** : 1-17.

## Références bibliographiques

- **Merhi M.** (2008). Etude de l'impact de l'exposition à des mélanges de pesticides à faibles doses: Caractérisation des effets sur des lignées cellulaires humaines et sur le système hématopoïétique murin. Thèse de Doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse, 249p.
- **Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural (MADR).** (2007). Recensement agricole de 2007. Direction de la Protection de Végétaux et des Contrôles Techniques, Algérie.
- **Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural (MADR).** (2010). Index Algérien des produits phytosanitaires. Direction de la Protection de Végétaux et des Contrôles Techniques, Algérie.
- **Moeys J.** (2007). Variabilité spatiale et déterminismes agro-pédologiques du devenir d'un herbicide dans l'horizon de surface, application au cas de l'isoproturon dans un secteur agricole de Beauce chartraine. Thèse de Doctorat, Ecole doctorale ABIES, Paris. France.
- **Mokhtari M.** (2011). Recherche de résidus de quelques pesticides par couplage CPG/SM dans quelques fruits et légumes. Mémoire de magister, Ecole Nationale Polytechnique, Algérie.
- **Moser S.E. et Obrycki J.J.** (2009). Non-target effects of neonicotinoid seed treatments; mortality of *coccinellid larvae* related to zoophytophagy. *Biological control*. **51 (3)** :487-492.
- **Moussaoui K.M., Boussahel R., Tchoulak Y., Haouchine O., Benmami M. et Dalachi N.** (2005). Utilisation, évaluation et impacts des pesticides en Algérie. Ecole Nationale Polytechnique, Alger, Algérie. 31p.
- **Moussaoui O.** (2010). Biodégradation des pesticides : Etude comparative des activités bactériennes et fongiques. Thèse de magister, Ecole Nationale Polytechnique, Alger. Algérie.
- **Noakes J.** (2003). CGA 293343, CGA 322704 and CGA 265307: Comparative toxicity in the liver of male Tif: MAG and CD-1 mice. *Research Report Number CTL/XM 7081*.
- **Oda S.** (1996 a). An acute oral toxicity study of CGA 293343 in rats. *Bozo Research Center Inc.*, Tokyo, Japan. Unpublished report N°. B-3120, CG 942111. Submitted to WHO by Syngenta Crop Protection AG.
- **Oda S.** (1996 b). An acute oral toxicity study of CGA 293343 in mice. *Bozo Research Center Inc.*, Tokyo, Japan. Unpublished report N°. B-3122, CG 952058, 23 May 1996. Submitted to WHO by Syngenta Crop Protection AG.
- **Ontko J. A.** (1973). Effects of ethanol on the metabolism of free fatty acids in isolated liver cells. *J. Lipid Res.***14**: 78-85.

## Références bibliographiques

- **Organisation de Développement et de Coopération Economique (OCDE).** (1998). Lignes directrices pour les essais de produits chimiques. Toxicité orale à doses répétées-subchronique- chez les rongeurs. Essai n° 408 adopté le 21 septembre 1998.
- **Organisation Mondiale de Santé (OMS).** (2010). The WHO recommended classification of pesticides by hazard and guidelines to classification. *IPCS. IOMC. WHO.* 78 p.
- **Ould Kankou M.O.S.A.** (2004). Vulnérabilité des eaux et des sols de la rive droite du fleuve Sénégal en Mauritanie : Etude en laboratoire du comportement de deux pesticides. In : **Saïba A.** Etude de l'adsorption d'un herbicide -la Métribuzine- sur un sol cultivé. Mémoire de Magister, Ecole Nationale Polytechnique, El-Harrach, Algérie. 102p.
- **Papachristos D.P. et Milonas P.G.** (2008). Adverse effects of soil applied insecticides on the predatory coccinellid *Hippodamia undecimnotata* (Coleoptera: Coccinellidae). *Biological control.* **47 (1) : 77-81.**
- **Pellet M.V.** (1977). Le milieu intérieur : le rein. Physiologie humaine. 2<sup>ème</sup> partie. *Edition Villeurbanne.* 45-60.
- **Persijn J.P. et Vander Slik W.** (1976). Colorimetric test L-  $\gamma$ -Glutamyl Transferase. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* **14:** 421-7.
- **Rajender K. et Faust T.** (2006). Liver Disease. *SLACK Incorporated.* USA. 321-332.
- **Regnault-Roger C.** (2005). Enjeux phytosanitaires pour l'agriculture et l'environnement. Londre-Paris-New-York: *TEC & DOC.* 1013 p.
- **Rousselet F.** (1986). Les Apports des explorations biochimiques et hématologiques à l'expertise toxicologique in l'expertise toxicologique des médicaments. *Edition Masson.* 195-298.
- **Samantha J.** (2003). Pesticide Residues in Surface Waters of North Carolina Rural and Urban Watersheds: Studies to Determine and Reduce Residues in Drinking Water. Thèse de Doctorat, North Carolina State University, USA, 283 p.
- **Saunders M., Fox D., Salisbury C., Strokes V., Palmer A. et Preece A.** (2004). Placental transfer and foetal uptake of pesticides. *Toxicology and applied pharmacology.* **197,** 341.
- **Scand J.** (1974). Recommended methods for determination of four enzymes in blood. *Clin. Lab. Invest.* **33:** 291-306.
- **Soltaninejad K., Faryadi M. et Sardari F.** (2007). Acute pesticide poisoning related deaths in Tehran during the period 2003-2004. *Journal of Forensic and Legal Medicine.* **14:** 352-354.
- **Talke H. et Schubert G.E.** (1695). Urea kinetic method. *Klin. Wochschr.* **43 :** 174p.

## Références bibliographiques

- **Thiollet-Scholtus** (2004). Gestion de l'environnement : eau, sol, sous-sol. DEUS.
- **Tiffany T.O.** (1972). Urea kinetic method. *Clin. Chem.* **18** :829-840.
- **Tomisawa M. et Casida J.E.** (2003). Selective toxicity of Neonicotinoïds attributable to specificity of insect and mammalian nicotinic receptors. *Annual Review of Entomology.* **48**: 339-364.
- **Trinder P.** (1969). Determination of glucose in blood using glucose oxydase with an alternative oxygen acceptor. *Ann. Clin. Biochem.* 24-27.
- **United States-Environmental Protection Agency (US-EPA).** (2007). Thiamethoxam Human Health Risk Assessment. *Health Effects Division*, dated May 22, 2007. PC Code 060109, DP number 329466, United States.
- **Vandelac L.** (2006). Notre santé et celle des écosystèmes: un lien important. *Francvert*, vol. 3, n° 2.
- **Vander A., Sherman I.L. et Luciano D.** (1989). Physiologie humaine. *Mc. Graw Hill*, 2<sup>ème</sup> édition, Québec – Canada. 801p.
- **Vergucht S., De Voghel S., Misson C., Vrancken C., Callebaut K., Steurbaut W., Pussemier L., Marot J., Maraite H. et Vanhaecke P.** (2006). Report from the contract AP/02/05A between the Health and environmental effects of pesticides and type 18 biocides. *Belgian Science Policy and Department of Crop Protection Chemistry, Ghent University, Veterinary and Agrochemical Research Centre (VAR), Tervuren; Unit of Phytopathology, Catholic University of Louvain (CUL) and Environmental Consultancy & Assistance (Ecolas)*, 448p.
- **Vincent C., Ferran A., Guige L., Gambier J. et Brun J.** (2000). Effects of imidacloprid on *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae) larval biology and locomotory behavior. *Eur. J. Entomol.* **97**:501–506.
- **Weber E.** (2000) Immunohistochemical assessment of  $\alpha$ 2u-globulin in the rat kidney upon administration of CGA 293343 for 28 days. *Novartis Crop Protection AG, Basel, Switzerland*. Unpublished report N°CB00/16, 3 July 2000. Submitted to WHO by Syngenta Crop Protection AG.
- **Weiss J., Taylor G.R., Zimmermann F. et Nebendahl K.** (2000). Collection of body fluids- In: **Krinke G.J.** The laboratory Rat, The handbook of experimental Animal. *Academic press.* **25** : 485-495.
- **Yves J.** (2013). Vers la conception rationnelle d'insecticides néonicotinoïdes. Université de Nantes, CEISAM-UMR CNRS 6230, France.

# *Annexes*

# Annexes

## Annexe I



Figure 1 : Structures chimiques de la nicotine et de la nithiazine, le premier néonicotinoïde synthétisé (Elbert *et al.*, 2008).

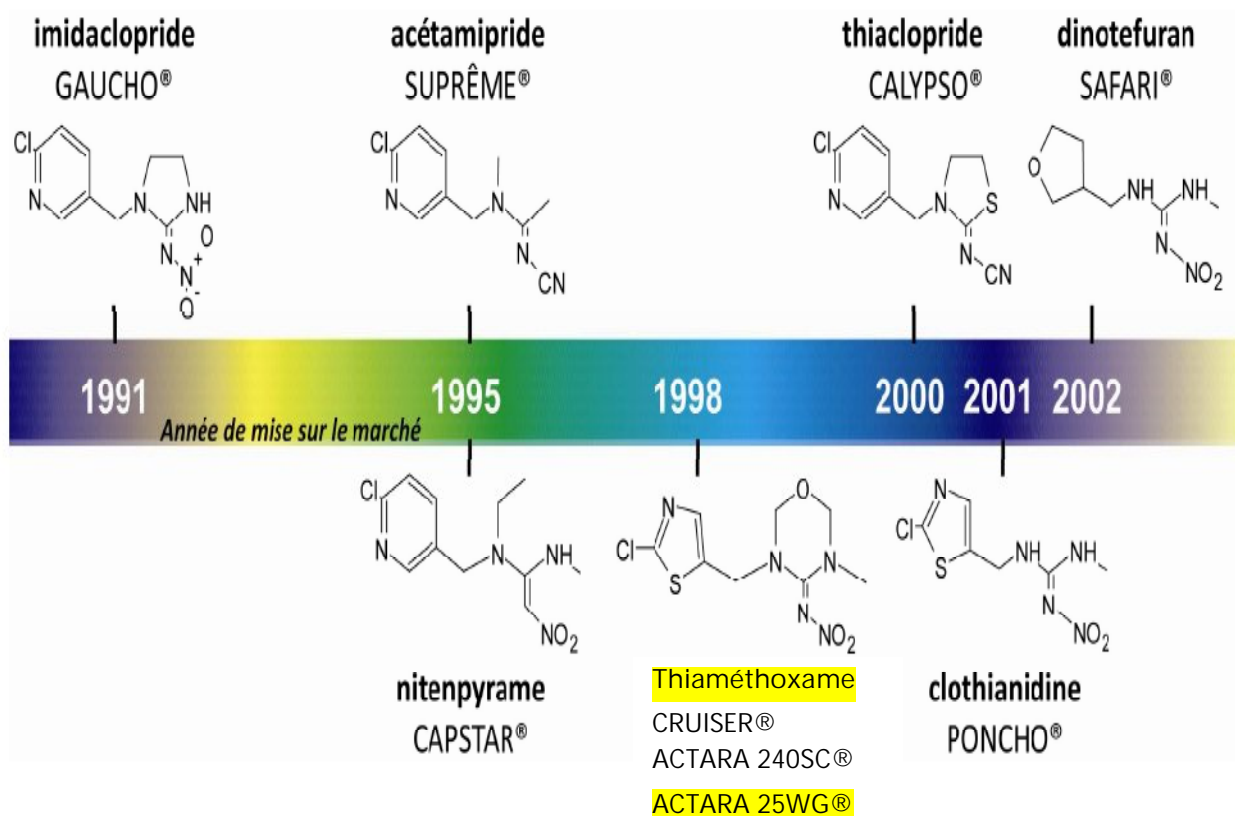


Figure 2 : Structures chimiques, dates de mise sur le marché européen et formulations commerciales des principaux néonicotinoïdes (Elbert *et al.*, 2008).

## Annexes

### Annexe II

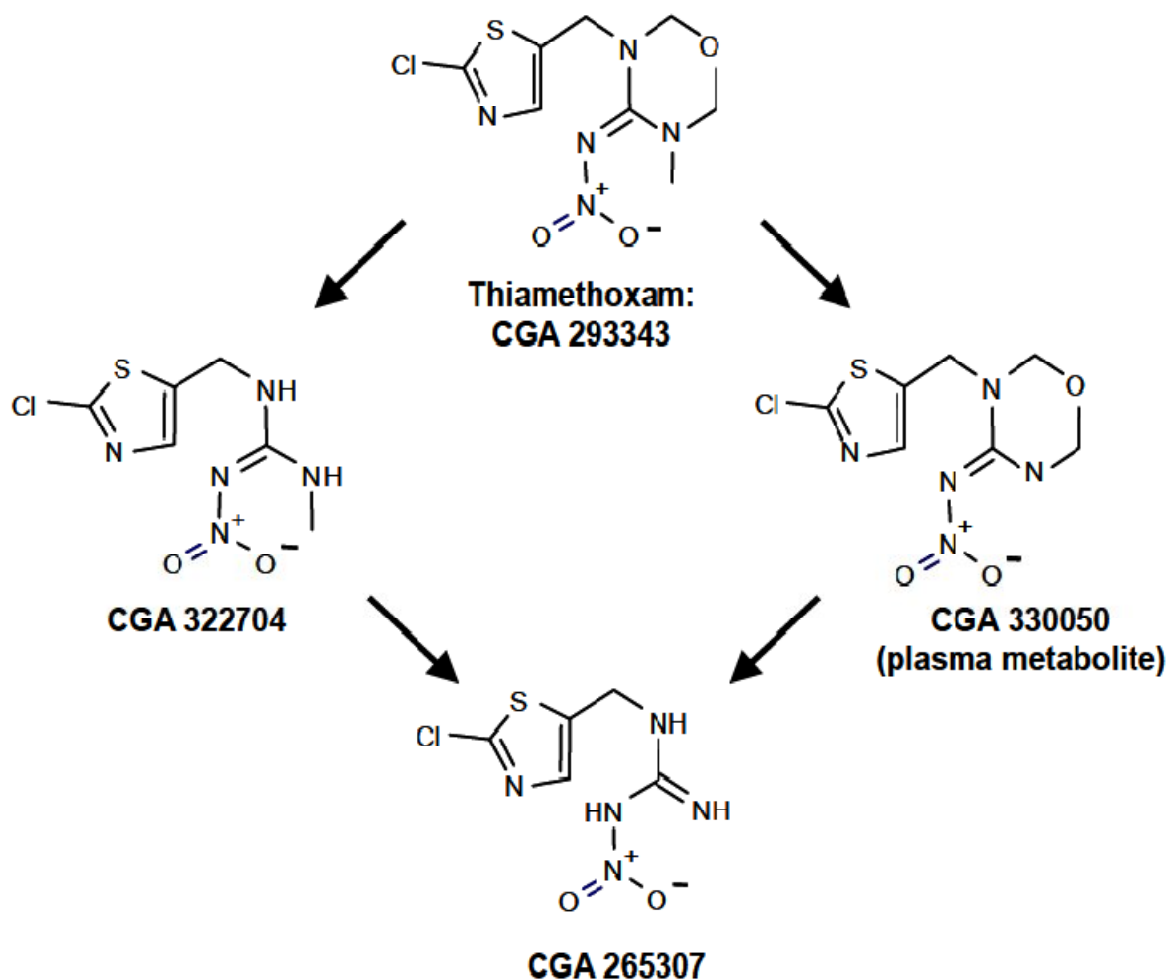


Figure 3 : Principaux métabolites du thiaméthoxame chez le rat et la souris (Noakes, 2003 et Green, 2003).

## Annexes

### Annexe III

**Tableau 1 : Composition (%) du régime alimentaire des rats (granulés provenant de l'ONAB de Béjaia) (d'après une fiche technique du CRD-Saidal).**

| <b>Composition des granulés</b>         |                     |        |
|---|---------------------|--------|
| <b>Nutriments</b>                       | <b>Quantité (%)</b> |        |
| Glucides                                | 49,80               |        |
| Protéines                               | 23,50               |        |
| Lipides                                 | 05,00               |        |
| Compléments<br>minéraux et<br>vitamines | Calcium             | 1,1    |
|   | Phosphore           | 0,8    |
|   | Cellulose brute     | 5,5    |
|   | Cendres brutes      | 6,5    |
|   | Vitamine A (UL/Kg)  | 22 000 |
|   | Vitamine D3 (UL/Kg) | 2 200  |
|   | Vitamine E (UL/Kg)  | 100    |



# Annexes

## Annexe IV

### Coloration d'Hématoxyline-Eosine (HE)

La coloration a été réalisée selon les étapes suivantes :

- Un bain d'hématoxyline de Harris pendant 5 à 10 minutes (pour la coloration des noyaux en bleu).
- Un bain d'eau pour le lavage des lames pendant 5 à 10 minutes.
- Un bain d'alcool acide (250 ml d'éthanol 70° + 1,6 ml d'acide chlorhydrique) pour la différenciation.
- Un bain d'eau ammoniacale (0,5 ml d'ammoniac pur + 250 ml d'eau distillée) pendant 1 mn, pour fixer l'hématoxyline dans les noyaux.
- Un lavage à l'eau courante.
- Un bain d'éosine pendant 10 minutes (permet de colorer le cytoplasme en rouge).
- Un lavage à l'eau courante.

Les lames colorées sont ensuite déshydratées en les plongeant dans des bains successifs d'alcool éthylique à titrage croissant (70°, 95° et 100°) pendant 30 secondes chacun, puis éclaircis par passage dans un bain de toluène pendant 30 à 60 secondes.