الـجمهورية الـجزائرية الـديمقراطية الـشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعـة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريريج
Université Mohammed El Bachir El Ibrahimi B.B.A
كلية علـوم الطبيعة والحياة وعلـوم الأرض والكون
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers
قسم العلوم البيولوجية
Département des sciences biologiques

# Mémoire

**En vue de l'obtention du diplôme de Master**

**Domaine des Sciences de la Nature et de la Vie**
**Filière : Science Biologique**
**Spécialité : Toxicologie**

## Intitulé :

**Évaluation des effets toxiques de l'acétamipride et le rôle protecteur des vitamines C et E chez le rat Wistar adulte**

**Présenté par :**

**CHOUDERE Wissam & M'HAMDIA Ismahane**

**Soutenu le 10/06/2025, Devant le Jury:**

| | Nom & Prénom | Grade | Affiliation / institution |
|---|---|---|---|
| **Président :** | M. Docteur DIAFAT Abd El Waheb | Pr. | Université de B.B.A. |
| **Encadrant :** | M. LOUKIL Bachir | MCB | Université de B.B.A. |
| **Examinateur :** | Mme. BOUSSAHEL Soulef | MCA. | Université de B.B.A. |

**Année Universitaire 2024/2025**

# *Remerciement :*

Louange à Dieu, le Clément, le Miséricordieux, qui m'a accordé la force, la patience et la persévérance nécessaires pour mener à bien ce travail de recherche.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à **Docteur LOUKIL Bachir**, mon directeur de mémoire, pour son accompagnement rigoureux, sa disponibilité et la qualité de ses conseils scientifiques. Son encadrement m'a permis de progresser à chaque étape de ce travail, et je le remercie sincèrement pour la confiance qu'il m'a accordée.

Je remercie également les membres du jury pour l'honneur qu'ils m'ont fait en acceptant d'évaluer ce mémoire :

- **Professeur DIAFAT Abd El Waheb** , président du jury, pour son attention bienveillante et ses remarques constructives,

- **Docteur BOUSSAHEL Soulef**, pour sa lecture attentive et ses observations précieuses qui ont enrichi ce travail.

حمد لله الذي يسر البدايات , و أكمل النهايات , وبلغنا الغايات

# Dédicace

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail à ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.

A l'homme, mon précieux offre du dieu, qui doit ma vie ,ma réussite et tout mon respect : mon cher père **Lehlali Chouder** .

A la femme qui sa souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse : mon adorable mère **Hafida Amara.**

A vous mes frères : **Zakaria, Ibrahim** et mes sœurs : **Asma, Iman, Djihan, djawida** qui m'avez toujours soutenu et en encouragé durant ces années d'études.

À mes chers neveux :**Nidhal, Abd el Djalil, Kousai, Meriem, Oubai, Abderrahmane.** Vous êtes ma joie, ma fierté, mes petits trésors. Je vous aime profondément et je serai toujours là pour vous.

A mes oncles et mes tantes, que dieu leur donne une longue et joyeuse vie.

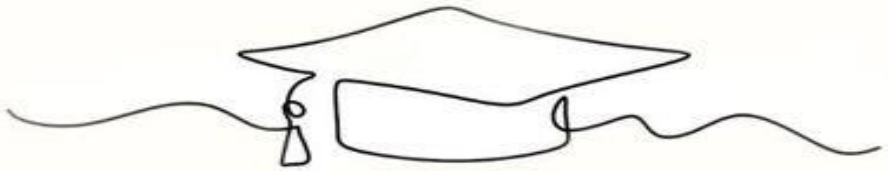
A tous les cousins, les voisins et les amis que j'ai connu jusqu'à maintenant.

Merci pour leurs amours et leurs encouragements.

Sans oublier mon binôme **Mhamdia Ismahane** pour son soutien moral,

sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet

**Chouder Wissam**



الحمد لله الذي يسر البدايات , وأكمل النهايات , وبلغنا الغايات

# Dédicace :

**À ma chère mère**

Toi qui m'as aimée sans limites, soutenue dans chaque épreuve et guidée avec tendresse, je t'offre ce diplôme avec une gratitude infinie. Tu es ma force, ma fierté, et la lumière de ma vie.

**À mon grand-père**

Toi qui m'as transmis tes valeurs par ton silence et ta sagesse, ta mémoire reste une source de paix. Ce succès t'est dédié, avec tout mon respect.

**À ma grand-mère**

Merci pour ton amour inconditionnel et tes prières qui m'ont portée.

À mes oncles maternels, à ma tante Bouchra et à leurs enfants,
Merci pour votre affection sincère et votre présence précieuse.

À ma binôme et amie, **Chouder Wissam**,
Merci pour ton soutien indéfectible à chaque étape. Ce succès est aussi le tien.

À mes amies Fadoua, Intissar et Hiba,
Merci pour votre amitié fidèle et chaque moment partagé.

Et enfin, à moi-même,
À celle qui a persévéré malgré les doutes, cru en ses rêves et n'a jamais abandonné : sois fière de ton parcours. Tu l'as mérité.

**Mhamdia Ismahane**

**الملخص**

هدفت هذه الدراسة إلى تقييم السمية الكبدية والخصوبة لمبيد الحشرات أسيتاميبريد(ACP) ، وهو مبيد من نوع النيونيكوتينويد، لدى ذكور الجرذان البالغة من سلالة ويستر، وكذلك دراسة الدور الوقائي المحتمل للفيتامين C و Eضد هذه التأثيرات الضارة.ولتحقيق ذلك،تم تكييف ثمانية عشر جرذًا ذكرًا لمدة عشرة أيام، ثم قُسموا إلى ثلاث مجموعات، كل مجموعة تحتوي على ستة حيوانات: مجموعة ضابطة (دون أي علاج)، مجموعة عُولجت بـ ACP فقط (20 ملغ/كلغ/اليوم عن طريق الفم لمدة 3 أسابيع)، ومجموعة عُولجت بـACP 20 ملغ/كلغ/اليوم مع الفيتامين C (250) ملغ/كلغ/اليوم، وبعد ساعة، الفيتامين E (200)ملغ/كلغ/اليوم.

كشفت التحاليل النسجية لمقاطع الكبد من مجموعة الـ ACP فقط عن وجود مناطق نخر (انكماش نواة الخلية)، وتسلل واضح لخلايا التهابية (خلايا لمفاوية)، واحتقان دموي، وتوسع في الجيوب الدموية. كما أظهرت الأنابيب المنوية في الخصيتين اضطرابًا في خلايا تكوين النطاف (وجود فجوات وتقشر في الظهارة الجرثومية)، بالإضافة إلى أوعية دموية محتقنة وانخفاض في عدد خلايا لايديغ. في المقابل، أظهرت المجموعة التي تلقت ACP مع الفيتامينين C و Eأنسجة كبدية وخصوبة مماثلة بشكل عام لتلك الموجودة في المجموعة الضابطة، دون علامات نخر أو تسلل التهابي كبير، مع انتظام واضح في بنية الأنابيب المنوية.

تؤكد هده النتائج أن الأسيتاميبريد يسبب ضررا للكبد والخصيتين لدى الجرذان الذكور , وهو ضرر مرتبط بالاجهاد التأكسدي والالتهاب . ومع ذلك فان الفيتامينين س و هـ يقللان بشكل ملحوظ من هذه التأثيرات السامة .

**الكلمات المفتاحية :**

أسيتاميبريد، النيونيكوتينويدات، السمية الكبدية، السمية الخصوية، فيتامينC ، فيتامينE ، مضادات الأكسدة، الجرذ الوسْتاري، الدراسة النسجية المرضية.

**Résumé**

La présente étude avait pour objectif d'évaluer la toxicité hépatique et testiculaire de l'acétamipride (ACP), un insecticide de la famille des néonicotinoïdes, chez le rat Wistar mâle adulte, ainsi que le rôle protecteur potentiel des vitamines C et E face à ces effets indésirables. Pour cela, Dix-huit rats mâles Wistar, après dix jours d'adaptation, ont été répartis en trois groupes de six animaux : un groupe témoin (sans traitement), un groupe traité à l'ACP seul (20 mg/kg jour par gavage, 3 semaines) et un groupe traité à l'ACP (20 mg/kg jour) combiné aux vitamines C (250 mg/kg jour) et une heure après, vitamine E (200 mg/kg/j).

Les analyses histopathologiques des coupes hépatiques ont révélé, dans le groupe ACP seul, des zones de nécrose (pycnose nucléaire), une infiltration marquée de cellules inflammatoires (lymphocytes), une hyperémie et un élargissement des espaces sinusoïdaux. Par ailleurs, les tubes séminifères présentaient une désorganisation des cellules spermatogéniques (vacuoles, desquamation de l'épithélium germinal), ainsi que des vaisseaux congestifs et une réduction des cellules de Leydig. En revanche, le groupe associant ACP et vitamines C/E a montré des structures hépatiques et testiculaires globalement comparables au groupe témoin, sans signes majeurs de nécrose ou d'infiltration inflammatoire, et des tubes séminifères bien organisés. Ces résultats confirment que l'acétamipride provoque des dommages au foie et aux testicules chez le rat mâle, en lien avec un stress oxydatif et une inflammation. Cependant, la vitamine C et la vitamine E réduisent fortement ces effets toxiques.

**Mots-clés :**

Acétamipride, néonicotinoïdes, toxicité hépatique, toxicité testiculaire, vitamine C, vitamine E, antioxydants, rat Wistar, étude histopathologique

**Abstract**

This studyaimed to evaluate the hepatic and testiculartoxicity of acetamiprid (ACP), a néonicotinoïdes insecticide, in adult male Wistar rats, and to assess the potential protective role of vitamins C and Eagainstthese adverse effects. To achievethis, Eighteen male Wistar rats were acclimated for ten days and then divided in to three groups of six animal seach: a control group (no treatment), a group treated with ACP alone (20 mg/kg/day by gavages for 3 weeks), and a group treated with ACP (20 mg/kg/day) combined with vitamin C (250 mg/kg/day) and, one hour later, vitamin E (200 mg/kg/day).

Histopathological analyses of liver sections from the ACP-alone group revealed areas of necrosis (nuclearpyknosis), marked infiltration of inflammatory cells (lymphocytes), hyperemia, and widening of sinusoidal spaces. Furthermore, the seminiferous tubules exhibited disorganization of spermatogeniccells (vacuoles, desquamation of the germinal epithelium), as well as congested vessels and a reduction in Leydig cells. In contrast, the group combining ACP with vitamins C/Eshowe hepatic and testicular structures generally comparable to the control group, with no major signs of necrosis or inflammatory infiltration, and well-organized seminiferous tubules. These results confirm thee atacetamiprid causes liver and testicular damage in male rats, linked to oxidative stress and inflammation. However, vitamin C and vitamin E significantly reduce these toxic effects.

**Keywords:**

Acetamiprid, neonicotinoids, hepatic toxicity, testicular toxicity, vitamin C, vitamin E, antioxidants, Wistar rat, histopathological study.

# Table des matières

***Remerciement :*** .....

**Dédicace**.....

**الملخص** .....

**Résumé** .....

**Abstract**.....

**Liste des figures** .....

**Liste d'abréviation :** .....

**Introduction :**..... 1

- **Généralité :** ..... 4

**I. Les Néonicotinoïdes** ..... 4

**I .1 Définition**..... 4

**I.2 Classification des néonicotinoïdes**..... 5

**I.3 Mode d'action**..... 6

**II.3 Caractéristiques physico-chimiques** ..... 8

**II.4Toxicité de l'acétamipride**..... 9

- **Toxicité Reproductive** ..... 12

**I Matériels et méthodes**..... 16

**I.1 Matériels** ..... 16

- Matériels biologiques : ..... 16
- Matériel chimique..... 17
  - **Pesticides**..... 17

**II. Méthodes** ..... 17

**II.1 Protocole expérimental** ..... 17

**II.2 Prélèvements des organes :** ..... 18

**II .3 Étude histopathologique** ..... 18

**II.3.1 Fixation et réalisation des coupes** ..... 19

II.3.2 Circulation..... 20

II.3.3 Enrobage/inclusion..... 21

II.3.4 Mise en lame des tissus ..... 22

**II.3.5 Coloration**..... 23

- **Étapes de la coloration histologique :**..... 23

**Histologie de foie des rats :**..... 28

**Histologie des testicules des rats :**..... 30

**VI. Discussion** ..... 31
**V. Conclusion :**..... 35
**Référence :** .....
**Annexes :** .....
- **Conseils de conservation :**.....
- **Informations fabricant :** .....
- **Certifications ET étiquetage**.....

## Liste des tableaux

**Tableau I:** Propriétés physicochimiques du l'acétamipride **(Mansoor et al., 2015 ; John et al., 2016)** ..... 9

**Tableau II :** Études in vitro de l'exposition à l'acétamipride entraînant la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS). ..... 11

## Liste des figures

**Figure 1: Structures chimiques des néonicotinoïdes les plus utilisés (Zapol'ski et al .,2009)** ..... 5
**Figure 2:**Action des récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine en présence d'acétylcholine (a) et de néonicotinoïde (b) **(Chang et al ., 2013)**..... 7
**Figure 3:**Structure de l'acétamipride (**Woodward et Marrs, 2024)** ..... 8
**Figure 4:** les rats Wistar (photo originale) ..... 16
**Figure 5**: le protocole expérimental réalisé au cours de ce travail produits étaient dilués dans de l'eau distillée et administrés durant trois semaines. ..... 18
**Figure 6:** cassettes/organes (photo original) ..... 19
**Figure7:**Appareil de circulation (Photo originale). ..... 21
**Figure 8:**Enrobage des testicules (Photo originale) ..... 22
**Figure 9:**photo de microtome (photo originale). ..... 23
**Figure 10 :**Appareil de coloration (Photo originale)**.** ..... 24
**Figure 11 :** microscope optique (Photo originale)**.** ..... 25

**Liste d'abréviation :**

- **ACP :** Acétamipride
- **Ach :** Acétylcholine
- **ADN :** Acide désoxyribonucléique
- **AGPI :** Acides gras polyinsaturés
- **AMPc :** Adénosine monophosphate cyclique
- **ATP :** Adénosine triphosphate
- **DL50 :** Dose létale 50
- **ERO :** Espèces réactives de l'oxygène
- **FAO :** Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture
- **GB :** Globules blancs
- **GnRH :** Hormone de libération des gonadotrophines
- **GR :** Globules rouges
- **GSH :** Glutathion réduit
- **Hb :** Hémoglobine
- **HCT :** Hématocrite
- **MA :** Matière active
- **MADRp :** Ministère de l'Agriculture et du Développement rural (Algérie)
- **nAChR :** Récepteur nicotinique de l'acétylcholine
- **NÉOs :** Néonicotinoïdes
- **NFS :** Numération formule sanguine
- **PLT :** Plaquettes
- **ROS :** Espèces réactives de l'oxygène
- **RNS :** Espèces réactives de l'azote
- **VGM :** Volume globulaire moyen
- **Vit C :** Vitamine C
- **Vit E** : Vitamine E

# Introduction

**Introduction :**

Les pesticides sont des substances chimiques de synthèse**(Ravula&Yenugu, 2021)** largement utilisées en agriculture en raison de leur efficacité dans la lutte contre les insectes nuisibles (**Speck-Planche et al., 2012**). En 2022, leur usage a atteint un total mondial de 3,70 millions de tonnes de substances actives, marquant une augmentation de 4 % par rapport à l'année précédente, une progression de 13 % en dix ans, et un doublement depuis 1990. Durant cette même période (1990–2022), l'intensité d'utilisation a évolué à des rythmes variables : +94 % par superficie cultivée, +5 % par valeur de production agricole et +35 % par habitant **(FAO, 2024**).En Algérie, la consommation annuelle de pesticides chimiques est estimée entre 6 000 et 10 000 tonnes (**MADRp, 2022**). Ces produits contribuent incontestablement à l'amélioration du rendement agricole, en assurant une meilleure disponibilité des denrées alimentaires. Cependant, leur usage massif et prolongé n'est pas sans conséquences : ils sont responsables d'une pollution environnementale croissante et représentent une menace potentielle pour la santé humaine (**Speck-Planche et al., 2012**).Du fait de leur persistance dans l'environnement, ces composés qu'on appelle xénobiotiques peuvent s'infiltrer dans les nappes phréatiques, contaminer les chaînes alimentaires et ainsi exposer, de manière directe ou indirecte, la faune et les populations humaines **(Rathi et al., 2021 ; Latif et al., 2023)**.

Les néonicotinoïdes constituent une classe relativement récente de pesticides, principalement utilisés comme insecticides (**Cavas et al., 2014**). Leur usage s'est rapidement répandu à l'échelle mondiale, suscitant de vives inquiétudes au sein de la communauté scientifique et du grand public (**Pisa et al., 2015**). Cette préoccupation se reflète dans la multiplication des recherches menées à travers le monde, notamment par plusieurs groupes indépendants (**Van der Sluijs et al., 2015**).Bien que ces composés aient été conçus pour cibler des insectes nuisibles, de nombreux vertébrés non ciblés, tels que les humains, les animaux domestiques ou encore la faune sauvage, peuvent y être exposés de manière involontaire. Cette exposition environnementale, désormais largement documentée, est associée à divers effets toxiques et indésirables (**Gibbons et al., 2015** ; **Sheets et al., 2016** ; **Simon-Delsoet al., 2015**).Chez l'homme comme chez l'animal, les néonicotinoïdes peuvent pénétrer l'organisme par voie cutanée (avec un taux d'absorption variant entre 7,9 % et 11,4 %) ou digestive. Une fois absorbés, ils sont susceptibles d'induire des troubles variés, notamment une neurotoxicité, une hépatotoxicité ainsi qu'un affaiblissement du système immunitaire (**Aggarwal et al., 2014** ; **Li et al., 2012** ; **Simon-Delso et al., 2015** ; **Thompson et al., 2020**).

L'acétamipride (ACP) est un insecticide de la famille des néonicotinoïdes, récemment développé et largement utilisé pour lutter contre de nombreux ravageurs (**Sanyal et al., 2008**). Il agit en se fixant de manière sélective sur les récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine chez les insectes, perturbant ainsi leur système nerveux (**Shimomura et al., 2006**). Très soluble dans l'eau et facilement absorbé par le sol, l'ACP présente également un risque potentiel pour la santé humaine. Une exposition, notamment par inhalation, peut provoquer divers symptômes tels que maux de tête, vertiges, nausées et vomissements (**Todani et al., 2008**).Sur le plan biologique, l'acétamipride est impliqué dans le déclenchement du stress oxydatif, notamment par la production accrue d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), ce qui peut endommager les cellules (**Zhang et al., 2011**). Une étude de deux ans menée chez le rat a mis en évidence des lésions au niveau du foie chez les mâles ainsi qu'une diminution du poids corporel chez les femelles (**EFSA, 2016**). De plus, plusieurs travaux récents ont rapporté que l'ACP peut induire divers effets toxiques, notamment une hépatotoxicité, une neurotoxicité, une néphrotoxicité, ainsi que des atteintes au niveau du système reproducteur et de la fonction hématologique (**Phogatet al., 2024)**.Ainsi, l'acétamipride, bien qu'efficace en tant qu'insecticide néonicotinoïde, est de plus en plus suspecté d'induire des effets néfastes sur la santé, en particulier au niveau du foie et des testicules. Ces atteintes seraient principalement liées à un stress oxydatif provoqué par la molécule.Face à ces risques, l'intérêt pour les antioxydants comme les vitamines C et E ne cesse de croître. La question centrale est donc de savoir dans quelle mesure l'acétamipride affecte ces organes chez le rat Wistar adulte, et si les vitamines C et E peuvent en limiter les effets toxiques.

Pour répondre à cette problématique, ce mémoire est organisé en cinq grandes parties. Nous débuterons par une introduction générale. Puis, une partie bibliographique. La troisième partie, intitulée matériel et méthodes, décrira en détail le protocole expérimental, les substances étudiées et les techniques utilisées. Ensuite, nous présenterons les résultats obtenus, accompagnés d'une discussion visant à interpréter les données à la lumière des travaux scientifiques existants, et enfin, une conclusion générale.

# Partie bibliographique

- **Généralité :**

## I. Les Néonicotinoïdes

### I .1 Définition

Les néonicotinoïdes forment aujourd'hui la principale famille d'insecticides de synthèse. Leur molécule, proche de la nicotine, est utilisée en agriculture et en médecine vétérinaire pour éliminer les insectes piqueurs-suceurs. Désormais parmi les pesticides les plus courants, ils sont homologués dans 120 pays et représentent plus d'un quart du marché mondial, tandis que leur utilisation ne cesse encore d'augmenter **(Jeschke et al., 2011)**.

Ils comptent parmi les insecticides les plus puissants, efficaces contre de nombreux ravageurs piqueurs-suceurs (pucerons, aleurodes, thrips, etc.) et sont largement utilisés sur diverses cultures comme le riz, le coton, le maïs, les légumes et les fruits.

Les néonicotinoïdes, comme l'imidaclopride et le nitenpyrame, sont utilisés chez les chiens et les chats contre les puces, les poux et les mouches, mais aussi en dehors de l'agriculture, dans les maisons, les jardins et les pelouses, contre les termites, les vers blancs et les blattes. Des appâts en gel à base d'imidaclopride (blattes) et de thiaméthoxame (fourmis) ciblent aussi les termites, les insectes du sol et les puces **(Jeschke et al., 2011)**.

Les néonicotinoïdes comme l'imidaclopride et la clothianidine, utilisés notamment en traitement de semences, présentent un risque pour les oiseaux sensibles, pouvant causer leur mort ou nuire à leur reproduction après ingestion de quelques graines **(Gibbons et al., 2015).** Aujourd'hui, près de 60 % des néonicotinoïdes sont appliqués au sol ou sur les semences, surtout pour protéger des cultures comme le maïs, le riz, les légumes, le coton ou les céréales **(Elberth et al., 2008)**. Les néonicotinoïdes, comme l'imidaclopride, sont métabolisés par les plantes, surtout après une application au sol ou sur les semences, contrairement à l'application foliaire, comme l'acétamipride où le composé reste majoritairement sous sa forme initiale **(Nauen et al., 1998)**.

Les néonicotinoïdes actuellement sur le marché comme l'imidaclopride, le thiaméthoxame, la clothianidine, le thiaclopride, le dinotéfurane, le nitenpyrame et le sulfoxaflor et l'acétamipride, persistants et accumulés dans les sols et les eaux, sont largement utilisés sur maïs, arbres fruitiers et pommes de terre **(Tomizawa et Casida, 2003)**.

Les néonicotinoïdes, qualifiés d'insecticides systémiques comme l'imidaclopride, le thiaméthoxame et la clothianidine, sont absorbés et distribués dans toutes les parties des plantes,

y compris pollen et nectar, et sont couramment utilisés pour traiter les semences de cultures telles que coton, maïs, céréales et colza **(Jeschke et al., 2011).**

### I.2 Classification des néonicotinoïdes

Les NÉOs, aux structures proches de la nicotine (**Hayes, 1982**), comme toute classe de pesticides, les NÉOs peuvent être divisés en un certain nombre de sous-classes chimiques distinctes en fonction de leurs structures moléculaires (Figure 1).

Ils sont des guanidines ou amidines hydro hétérocycliques comportant un groupe hétérocyclique aromatique, des liaisons élastiques, un groupe électro attracteur et divers substituants fonctionnels, continuellement modifiés pour créer de nouveaux dérivés (**Yanget al., 2014).**

Sept NÉOs sont commercialisés, répartis en trois générations : les composés chloropyridinyles (la première génération : imidaclopride, nitenpyrame, acétamipride, thiaclopride), les composés chlorothiazolyles (la deuxième génération : thiaméthoxame, clothianidine) et les composés tétrahydrofuryles (la troisième génération : dinotéfurane), auxquels s'ajoutent de nouveaux composés **(Wang al., 2024).**

De plus, les sous-classes peuvent être simplement divisées en deux types : nitroguanidine et cyanoamidine. Les NÉOs nitroguanidines, plus polaires et réactifs (ex. : imidaclopride), et les NÉOs cyanoamidines, moins polaires et réactifs (ex. : acétamipride) **( Iwasa al.,2004 ;Pisa al., 2021) .**

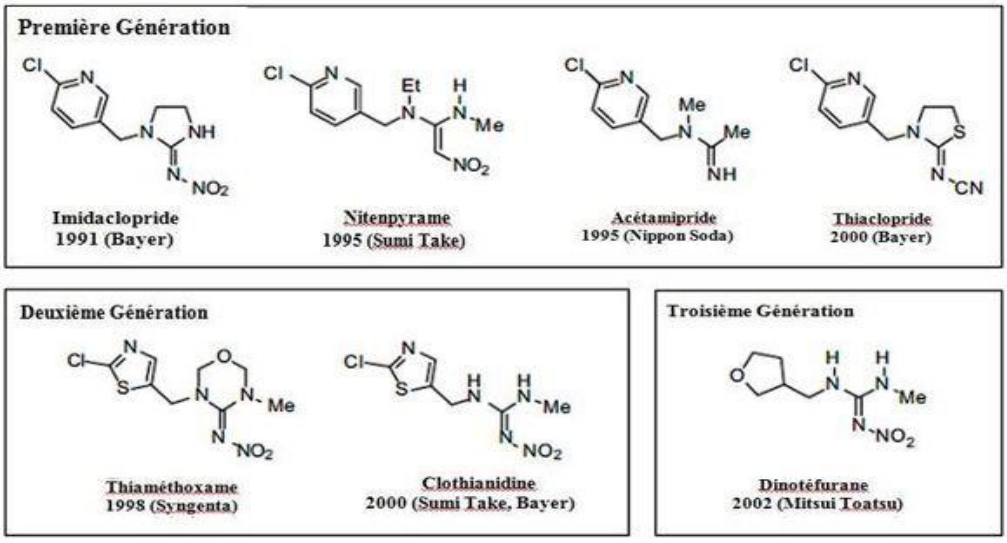



**Figure 1: Structures chimiques des néonicotinoïdes les plus utilisés (Zapol'ski et al .,2009)**

**I.3 Mode d'action**

Chez les insectes, le récepteur le plus important du système nerveux est le récepteur nicotinique à l'acétylcholine (nAChR). Ce récepteur joue un rôle clé dans la transmission de l'influx nerveux et constitue la principale cible des NÉOs, des insecticides nicotinoïdes ainsi que d'autres types d'insecticides **(Tomizawa et al., 2003 ; Tomizawaet al., 2005).**

Les NÉOs, les spinosynes et les analogues de la néréistoxine ciblent le nAChR, un canal ionique du SNC des invertébrés, perturbant la neurotransmission cholinergique excitatrice **(Jeschke et al., 2013**). Le récepteur nicotinique de l'acétylcholine (nAChR) est formé de cinq sous-unités, identiques ou différentes, arrangées en cercle autour d'un canal qui laisse passer certains ions. Dans sa forme la plus courante, ce récepteur possède deux zones spécifiques où l'acétylcholine peut se fixer. Ces zones de liaison se trouvent à l'extérieur du récepteur, à la jonction entre une sous-unité de type α et une autre de type différent.

Les régions appelées boucles A à C (sur la sous-unité α) et boucles D à E (sur la sous-unité non-α) participent ensemble à cette fixation **(Corringer et al., 2000).** Lorsqu'un récepteur nicotinique (nAChR) est formé de deux sous-unités α ou de trois sous-unités non-α, ce sont les sous-unités α qui apportent les boucles A, B et C, tandis que les sous-unités non-α fournissent les boucles D, E et F. Ensemble, ces boucles créent le site orthostérique, c'est-à-dire la zone où les ligands comme les NÉOs se fixent **(Ihara et al., 2015).**

Ces récepteurs sont présents dans tout le système nerveux central des insectes. L'action des NÉOs entraîne une réponse biphasique : d'abord, ils augmentent la fréquence des décharges spontanées, puis ils bloquent la propagation du signal nerveux **(Liu al., 1993).**

Chez les mammifères, on trouve de nombreux sous-types de récepteurs nicotiniques. Ces récepteurs sont formés par l'association de différentes sous-unités : neuf types de sous-unités α, quatre types de sous-unités β, ainsi que les sous-unités γ, δ et ε (**Tomizawa et al., 1999**). Chez les mammifères, les récepteurs nicotiniques sont présents dans plusieurs parties importantes du corps : les ganglions du système nerveux autonome, les muscles squelettiques, la moelle épinière, ainsi que dans différentes zones du cerveau **(Yamamoto et al., 1998 et ;Tomizawa et al., 2011)**.

L'effet insecticide est augmenté quand on ajoute des synergistes qui empêchent la dégradation oxydative (**Liu et al., 1993).** Ces insecticides se fixent sur les récepteurs nicotiniques de

l'acétylcholine (nAChR) situés sur les neurones post-synaptiques, où ils imitent l'action d'un neurotransmetteur naturel : on dit qu'ils sont des agonistes (voir Figure 2).

Les néonicotinoïdes ressemblent beaucoup aux NEO sur le plan chimique, mais ils s'en distinguent par un groupe amine ou imine basique, capable de se charger électriquement (**Tomizawa et al., 2005).**). L'acétylcholine (Ach) provoque l'ouverture de canaux pour l'influx de Na+ et l'efflux de K+ (**Tomizawa et al., 2011 ;Tomizawa et al., 2001).** Les NEO deviennent toxiques car ils remplacent l'acétylcholine (Ach) au niveau de son site d'action, appelé site agoniste. Cela perturbe la communication normale entre les neurones.

En se liant aux récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine (nAChR), ils les activent de manière anormale, ce qui provoque des signes de neurotoxicité. Cette activation excessive des nAChR entraîne une libération accrue de plusieurs neurotransmetteurs importants comme la dopamine, la sérotonine, le glutamate et le GABA (acide γ-aminobutyrique) **(Thany, 2010 ; Taly et al., 2009).**

Les nAChR sont présents dans les systèmes nerveux périphérique et central des humains. Ils envoient des messages au système neurologique qui provoquent la contraction des muscles squelettiques **(Yamamoto et al., 1999 ; Matsuda et al., 2001**). Les récepteurs nAChR, qui fonctionnent pleinement, se trouvent aussi dans plusieurs types de cellules : les cellules épithéliales des bronches, les cellules endothéliales, les lymphocytes, les kératinocytes, les cellules ciliées de l'oreille interne et les cellules chromaffines **(Kumar, P et al. 2005).** Dans les zones électronégatives, les NEO se fixent sur ces récepteurs nAChR, ce qui rend ces substances plus toxiques pour les insectes **(Kimura-Kuroda et al. 2012).**

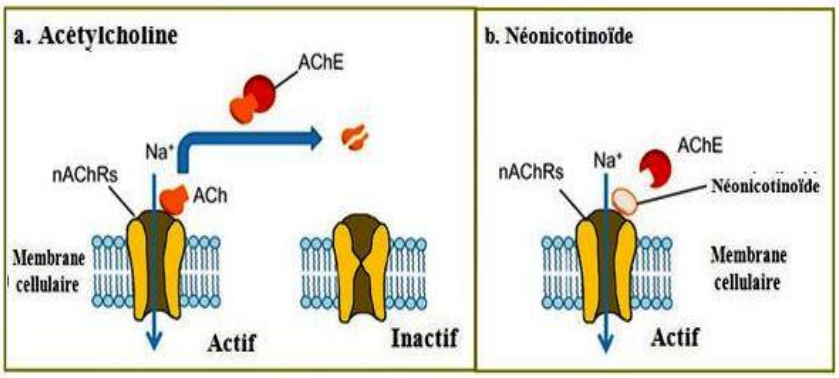



**Figure 2:**Action des récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine en présence d'acétylcholine (a) et de néonicotinoïde (b) ***(Chang et al ., 2013)***

## II. Acétamipride

### II.1 Définition de l'Acétamipride

L'acétamipride (ACE), dont le nom chimique est *N-((6-chloropyridin-3-yl)méthyl)-N'-cyano-N-méthyléthanimidamide***,** est un insecticide de la famille des néonicotinoïdes (NEO), utilisé pour lutter contre les insectes ravageurs des feuilles, des fruits, des légumes et des plantes ornementales (**Saha et al.,2017 et Moore et al.,2021**) (Figure3) .

Bien que synthétisé pour la première fois en 1984, le premier produit commercial à base d'acétamipride n'a été homologué qu'en 2002 pour une utilisation sur les cultures agricoles et le bétail (**Craddock et al., 2019**)

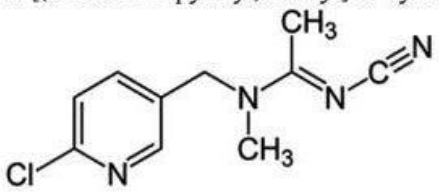
| | |
|---|---|
| Chemical name | *N*-[(6-Chloro-3-pyridyl)methyl]-*N'*-cyano-*N*-methyl-acetamidine |
| Structure |  |
| CAS | 135410-20-7 |

**Figure 3 :**Structure de l'acétamipride (**Woodward et Marrs, 2024)**

### II.2 Propriétés de l'Acétamipride

L'acétamipride est un pesticide organochloré, inodore, et largement utilisé en Algérie. Il est principalement employé pour lutter contre les insectes suceurs qui attaquent les plantes. Ce produit est utilisé dans la culture des agrumes, de la vigne, du coton ainsi que dans les plantes ornementales. Il joue également un rôle important dans la lutte contre les larves de mouches nuisibles aux cerisiers **(Sahraoui et al., 2017).**

Les formulations commerciales d'acétamipride se présentent sous différentes formes : concentrés solubles (contenant 5 %, 10 %, 20 %, 50 %, 75 % ou 95 % de substance active), poudres mouillables ou granulés dispensables dans l'eau. Dans certaines formulations liquides, l'insecticide est dissous dans un solvant organique **(Testud, 2014).**

### II.3 Caractéristiques physico-chimiques

L'acétamipride est une substance soluble dans l'eau et dans plusieurs solvants organiques, mais non volatile selon ses propriétés physico-chimiques. Son coefficient de partage

octanol/eau suggère une faible affinité avec la matière organique, ce qui indique un faible potentiel de bioaccumulation. De plus, cette molécule n'est pas persistante dans le sol et demeure stable dans une gamme de pH comprise entre 4 et 7 (**Aïna et al., 2015).**

**Tableau I :** Propriétés physicochimiques du l'acétamipride **(Mansoor et al., 2015 ; John et al., 2016)**

| | |
|---|---|
| **Etat physique** | Solide |
| **Apparence** | Poudre bleu |
| **Température de fusion** | 98,9°C |
| **Solubilité dans l'eau** | 4,25 g $L^{-1}$ |
| **Formule brute** | $C_{10}H_{11}CIN_4$ |
| **Masse Molaire** | 222,45 $g.mol^{-1}$ |

**II.4Toxicité de l'acétamipride**

L'acétamipride (ACE) est un produit chimique toxique pour l'environnement car il est utilisé beaucoup et depuis longtemps. Il peut abîmer plusieurs organes du corps, perturbe le système immunitaire, perturber l'équilibre des ions, et modifier le comportement des animaux. Comme il se dissout facilement et agit vite dans les tissus vivants, il rend ces tissus plus fragiles face à son contact. Chez les rats, la dose qui peut tuer la moitié des animaux (dose mortelle, LD50) est d'environ 200 à 220 mg/ kg par voie orale **(Gasmi et al., 2017 ;Shamsi, 2021)**, et d'environ 1000 mg/kg quand ils le boivent dans l'eau.

Des études sur des animaux ont montré que plus la dose est élevée, plus l'ACE est toxique **(Hataba et al., 2014).** Il provoque un stress oxydatif qui abîme plusieurs organes. Par exemple, quand les rats mangent de l'ACE sur une période moyenne, leur foie et leurs reins subissent des changements importants dus au stress oxydatif. On remarque aussi des changements dans le sang et dans les fonctions biochimiques du foie, qui dépendent de la dose reçue **(Chakroun et al., 2016 ; Karaca,2019).**

L'ACE cause aussi un déséquilibre des ions à l'intérieur des cellules. Par exemple, il augmente le calcium dans le cerveau des rats, ce qui gêne l'activité de certaines enzymes importantes (Na+/K+, Ca2+ et Mg2+ ATPases) (**Dhouib, 2017**).

Enfin, il diminue l'activité des enzymes antioxydantes et provoque de l'inflammation, la mort de cellules (nécrose) et l'autodestruction programmée des cellules (apoptose) dans le foie et les reins **(Zuščíková et al., 2023)**.

- **Stress oxydatif**

Chez les vertébrés comme chez les invertébrés, les dommages causés par les néonicotinoïdes (NEO) aux lipides, à l'ADN et aux protéines peuvent être liés au stress oxydatif, à la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et de l'azote (RNS) (**Wang et al., 2018**).

De nombreuses études, réalisées *in vitro* (Tableau II) et *in vivo*, ont montré qu'une exposition à l'acétamipride (ACE) entraîne une forte production de ROS. Cette surproduction perturbe l'équilibre entre les systèmes antioxydants enzymatiques et non enzymatiques. Les radicaux libres générés réagissent avec les cellules, ce qui déclenche une cascade de réactions. Ces réactions entraînent l'oxydation des composants cellulaires et réduisent la capacité antioxydant de l'organisme. Ces radicaux libres participent ainsi à l'apparition du stress oxydatif et de divers processus pathologiques. Des recherches antérieures ont montré une augmentation des taux de malondialdéhyde et des enzymes hépatiques, ainsi qu'une diminution du glutathion et des altérations histopathologiques au niveau du foie et des reins chez des rats ayant reçu de l'ACE par voie orale **(Karaca et al., 2017).**

Par ailleurs, une étude récente a révélé que des souris exposées à l'ACE présentaient une élévation significative des concentrations de malondialdéhyde, de phénylalanine et d'acides aminés à chaîne ramifiée dans le tissu hépatique, accompagnée d'une baisse de l'activité antioxydant. Ces résultats suggèrent que l'accumulation de lipides pourrait être à l'origine du stress oxydatif, en lien avec une perturbation du métabolisme des acides aminés (**Yan et al., 2020**).

**Tableau II :** Études in vitro de l'exposition à l'acétamipride entraînant la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS).

| | **Type de Cellule** | **Dose** | **Résultats** | **Références** |
|---|---|---|---|---|
| **In vitro** | Cellules de la médul la surrénale phéochromocytomale (PC12) | 100-700 µM | ↑ Niveaux de malondialdéhyde et production de ROS ; perte du potentiel membranaire mitochondrial | Annabi et al. (2019) |
| | | | | |
| | Lignée de cellules pancréatiques (AR42J) | 1-6 mM | ↓ Niveaux de glutathion | Kara et al. (2020) |
| | Cellules trophoblastiques isolées (HTR-8/SVneo) | 10 et 100 µM | ↑ Production de ROS et de superoxyde ; ↓ Glutathion S-transférase, catalase et superoxyde dismutase | Gomez et al. (2020) |

- **Apoptose et génotoxicité**

En plus d'induire un stress oxydatif, l'ACE a également été identifié comme un agent mutagène. Il peut modifier l'expression des gènes et perturber le mécanisme naturel de mort cellulaire programmée, appelé apoptose. Ce processus, essentiel à l'équilibre cellulaire, est contrôlé par des protéines pro- et anti-apoptotiques.

Parmi les principaux déclencheurs de l'apoptose intrinsèque, on retrouve le stress oxydatif, les altérations de l'ADN et les modifications de l'expression génique. Il a été démontré que l'exposition à l'ACE provoque une génotoxicité et une cytotoxicité in vitro, entraînant des dommages à l'ADN ainsi que des altérations moléculaires. L'apoptose, dans ce contexte, peut avoir des effets néfastes sur le matériel génétique et perturber l'équilibre cellulaire au sein des tissus. Dans une étude, (**Annabi et al.2019)** ont observé une réduction significative de la

viabilité cellulaire, une augmentation des lésions de l'ADN ainsi qu'un déclenchement de l'apoptose dépendante des capasses dans des cellules PC12 exposées à l'ACE (100–700 µM).

Par ailleurs, **(Senyildiz et al**., **2018**) ont signalé des dommages à l'ADN, de manière dose-dépendante, dans des cellules de neuroblastome humain (SHSY-5Y) et des cellules de carcinome hépatocellulaire humain (HepG2) après traitement à l'ACE.

- **Toxicité Reproductive**

La reproduction est l'un des processus biologiques les plus sensibles aux polluants environnementaux et professionnels, notamment les pesticides. Plusieurs études ont montré que les insecticides peuvent provoquer un stress oxydatif au niveau des testicules, une dégradation des spermatozoïdes, une perturbation de la spermatogenèse, ainsi qu'un dysfonctionnement des cellules de Sertoli et de Leydig. Ces effets peuvent toucher tous les niveaux de la régulation hormonale (**Mosbah, R et al., 2018**).

L'acétamipride (ACE) agit principalement comme neurotoxique, et les premières recherches se sont concentrées sur sa toxicité aiguë sur le système nerveux des mammifères. Cependant, il a été démontré que l'ACE peut également nuire à d'autres systèmes, y compris le système reproducteur. Plusieurs études ont confirmé la toxicité de l'ACE sur la reproduction chez différentes espèces. Par exemple, une étude a évalué les effets toxiques de l'ACE administré par voie orale à des rats mâles à des doses de 12,5 ; 25 ; et 35 mg/kg pendant 90 jours. Les résultats ont montré une diminution dose-dépendante du taux de testostérone plasmatique et du nombre de spermatozoïdes (**Arıcan et al., 2020**).

De plus, l'ACE a inhibé la synthèse de l'ATP (adénosine triphosphate) et de l'AMPc (adénosine monophosphate cyclique) dans les cellules de Leydig (**Ibrahim et al., 2020**).L'application d'ACE entraîne une augmentation des espèces réactives de l'oxygène (ROS) dans les testicules, une baisse du poids des organes dépendants de la testostérone, une diminution du taux sérique de testostérone et une altération de la qualité du sperme. Il a aussi été prouvé que l'ACE induit une toxicité reproductive chez les cobayes mâles, avec une réduction du poids des testicules, des épididymes, des canaux déférents et des glandes annexes. La structure testiculaire, la concentration en testostérone, le temps de réponse à la testostérone et les caractéristiques des spermatozoïdes épididymaires ont également été affectés (**Ibrahim et al., 2018**).

Une exposition subchronique à l'ACE peut provoquer des altérations de la reproduction, notamment une baisse de la motilité, du nombre et de la viabilité des spermatozoïdes, ainsi qu'une diminution des taux sériques de testostérone et d'hormone de libération des gonadotrophines (GnRH) chez le rat mâle (**Toghan et al., 2022**).

Une autre expérience chez des rats matures a révélé, après administration orale d'ACE, une réduction du nombre de spermatides, de spermatozoïdes épididymaires et de cellules de Leydig. Cette étude a également montré une baisse de l'expression des gènes *Star*, *Cyp11a1*, *Hsd3b* (3β-hydroxystéroïde déshydrogénase), ainsi qu'une diminution du poids testiculaire. En parallèle, des altérations morphologiques des tubules séminifères ont été observées, de manière dépendante de la **dose (Kong et al., 2017).**

Les néonicotinoïdes (NEOs), et en particulier l'ACE, affectent aussi le système reproducteur femelle. Ils provoquent des anomalies morphologiques pathologiques des follicules ovariens, une baisse de la qualité embryonnaire et des altérations métaboliques au niveau des ovaires (**Zhao et al., 2020**).

De plus, l'administration d'ACE à des rates gestantes pendant la phase d'organogenèse a entraîné des effets toxiques sur le développement, avec des anomalies morphologiques, des atteintes des tissus mous et du squelette (**Abou-Zeid , 2018**).

Enfin,(**Babel'ová et al**., **2018**) ont montré que lorsque des embryons de souris au stade prokaryotique sont exposés aux NEOs (acétamipride, thiaclopride, thiaméthoxame et clothianidine) et à leurs solutions commerciales, tous ces insecticides, à une concentration de 100 µmol/L, ont un effet négatif sur le développement embryonnaire. À 10 µmol/L, l'ACE et le thiaméthoxame ont diminué la qualité des blastocystes.

# Partie Pratique

# Matériels et méthodes

# I Matériels et méthodes

## I.1 Matériels

- **Matériels biologiques :**

Notre étude a été menée sur 18 rats mâles adultes *Rattusrattus* de la souche Wistar pesant entre (198 et 271grammes). Ces animaux ont été fournis par l'Institut Pasteur d'Alger. Ils ont été hébergés dans des cages métalliques situées dans l'animalerie de la (Faculté SNV de l'Université Mohamed el Bachir el Ibrahimi bordj Bou Arreridj .

Les conditions d'élevage étaient standard : température contrôlée (22 ± 2 °C), humidité adaptée et alternance jour/nuit naturelle (cycle de 12 heures). Les rats avaient un accès libre à une eau propre grâce à un système de biberon automatique, ainsi qu'à une alimentation variée et équilibrée, apportant tous les éléments essentiels à leur croissance.

**Figure 4 :** les rats Wistar (photo originale)

- **Matériel chimique**

  - **Pesticides**

Dans cette étude, nous avons utilisé un pesticide commercial nommé RUSTILAN (annexe 1), fourni par l'entreprise MOPISTOP. Le RUSTILAN est un insecticide couramment utilisé en Algérie. Il se présente sous forme de poudre conditionnée dans un sachet en aluminium de 50 g, avec une pureté de 20 %. Ce produit appartient à la famille des néonicotinoïdes et a pour substance active l'acétamipride**.**

  - **Vitamine C (acide ascorbique) et la vitamine E (a- tocophérol) :**

En complément du pesticide, deux antioxydants naturels, la vitamine C (C-Phytal), fournis par le laboratoire PHYTAL, sous forme poudre végétale ultra-soluble et la vitamine E (BIOMAX),produite par Biopharm sous forme des capsules molles à base d' a- tocophérol . Les détails techniques de ces produits sont présentés en Annexes 01 et 02 respectivement.

## II. Méthodes

### II.1 Protocole expérimental

Pour préparer notre solution de gavage, nous avons retenu une dose correspondant à 1/10 de la DL50, soit 20 mg/kg/jour d'acétamipride (ACE). Cette solution a été administrée aux rats Wistar en fonction de leur poids corporel (annexe 4).

Après une période d'adaptation de dix jours, dix-huit rats mâles ont été répartis en trois groupes de six animaux chacun : un groupe témoin et deux groupes traités. Les traitements ont été administrés par voie orale (gavage). La répartition des lots est présentée comme suit :

- **Lot 1 (Témoin):** Les animaux de ce groupe n'ont reçu aucun traitement. Ils ont été nourris avec une alimentation standard et ont eu accès à de l'eau distillée.
- **Lot 2 (ACT):** Les rats de ce groupe ont été traités par gavage oral avec de l'Acétampiride, dilué dans de l'eau distillée, à la dose de 20 mg/kg/jour pendant trois semaines.
- **Lot 3 (ACT/Vit C, E):** Les rats ont reçu par gavage oral de l'Acétampiride (20 mg/kg/jour), suivi une heure plus tard de vitamine E (200 mg/kg/jour). La vitamine C (250 mg/kg/jour) a été administrée en même temps que l'Acétampiride.

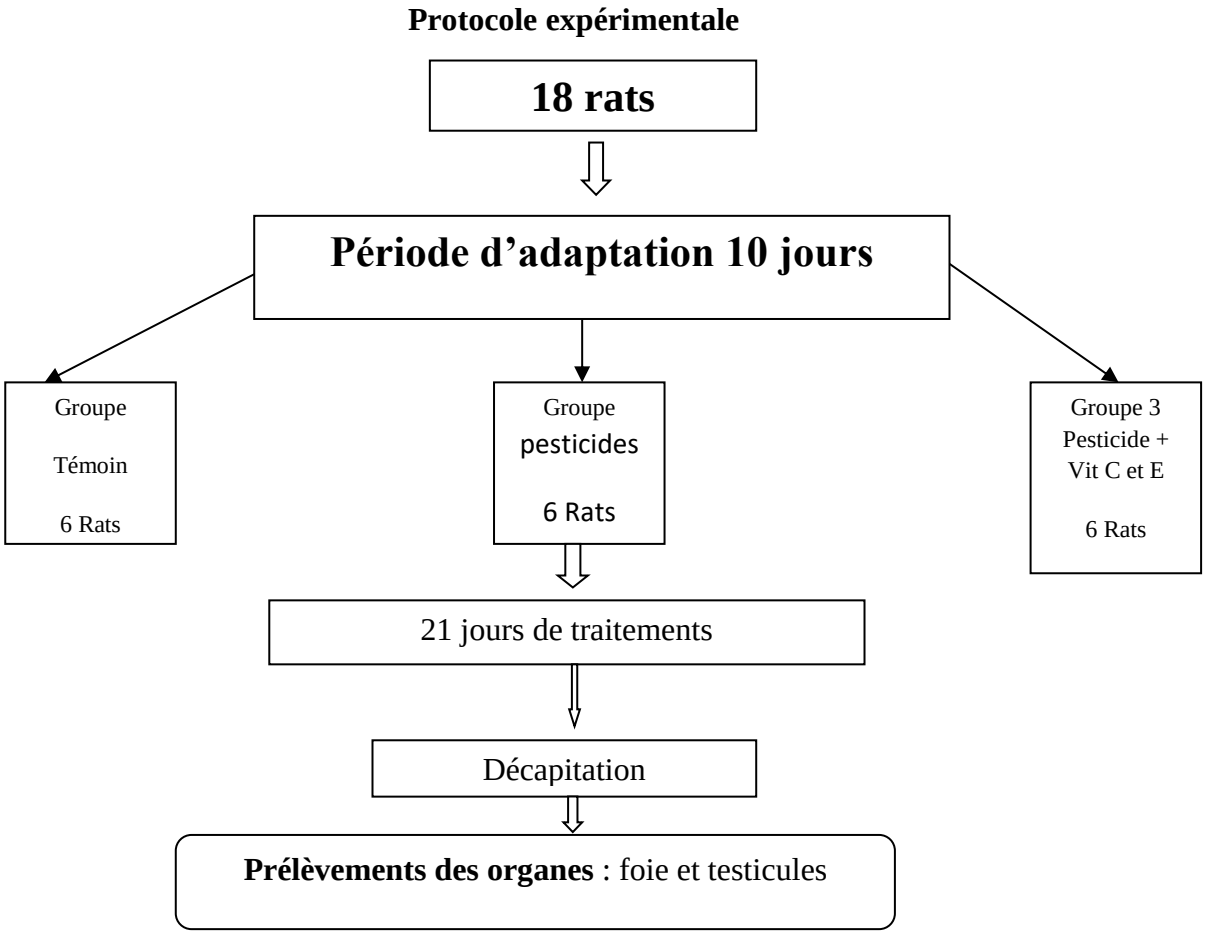



**Figure 5** : le protocole expérimental réalisé au cours de ce travail produits étaient dilués dans de l'eau distillée et administrés durant trois semaines.

**II.2 Prélèvements des organes :**

À l'issue de la dissection, les organes internes tels que le foie, les reins, la rate et les testicules ont été soigneusement prélevés. Après avoir été débarrassés de leurs tissus adipeux, ils ont été pesés individuellement. Ensuite, chaque organe a été immergé dans une solution de formol à 9 % en vue de la préparation des coupes histologiques

La fixation au formol vise à préserver les organes dans un état similaire à celui qu'ils présentent naturellement.

**II .3 Étude histopathologique**

Les préparations histologiques ont été réalisées laboratoire d'ANAPAT d'hôpital Bouzidi Lakhder situé dans la wilaya de Bordj Bou Arreridj. Une fois les organes prélevés, un protocole

rigoureux a été suivi pour les traiter, incluant plusieurs étapes techniques essentielles à l'observation microscopique.

### II.3.1 Fixation et réalisation des coupes

La fixation constitue la première étape essentielle de l'étude histologique. Elle permet de préserver l'intégrité des structures tissulaires et/ou cellulaires dans un état aussi proche que possible de celui observé in vivo. À ce stade, les organes prélevés sont immergés dans une solution de formol afin de stabiliser les tissus.

Une fois fixés, les organes sont retirés du bain fixateur, puis découpés à l'aide d'un couteau bien affûté. Des fragments d'une surface comprise entre 1 et 2 cm² et d'une épaisseur d'environ 2 mm sont prélevés à des fins d'analyse histologique.

Les fragments prélevés sont ensuite transférés dans des cassettes spécifiquement conçues, dotées de parois perforées (voir figure : 6), afin de favoriser une circulation optimale des réactifs des réactifs lors des étapes suivantes du traitement histologique. Les organes, quant à eux, ont été maintenus dans le fixateur jusqu'au déclenchement du cycle de circulation **(Lester,2010).**

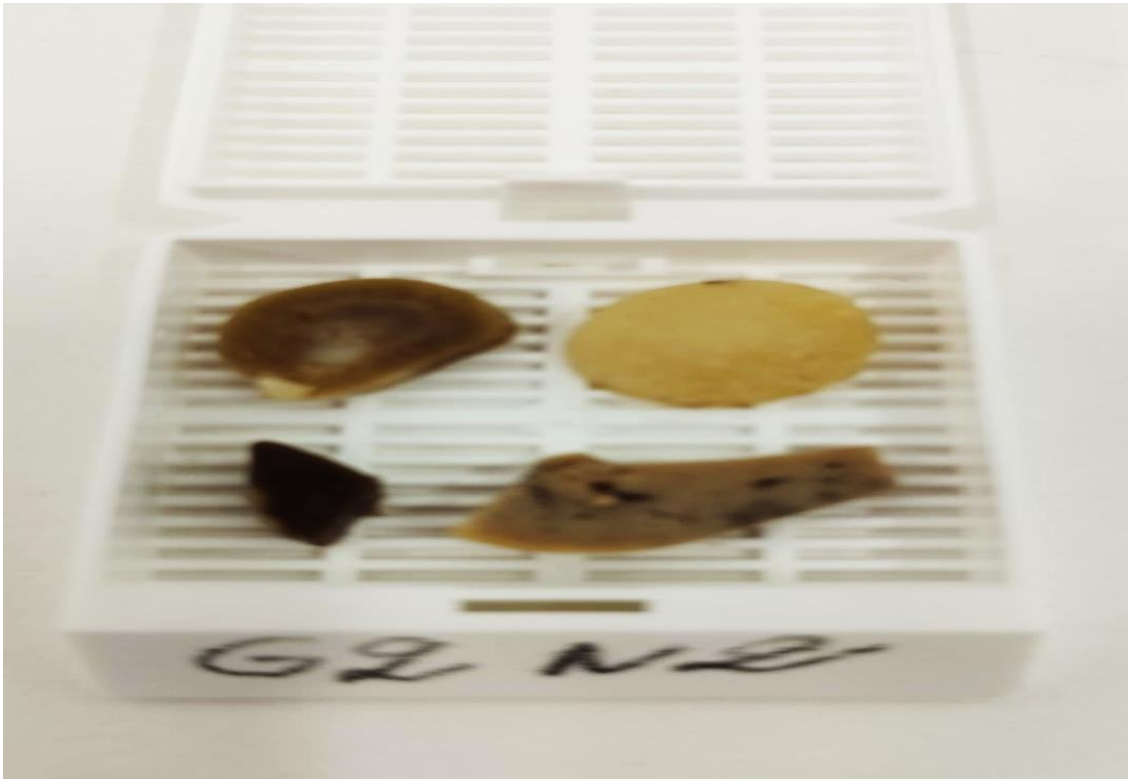


**Figure 6:** cassettes/organes (photo original)

### II.3.2 Circulation

Pour que le tissu garde sa forme et ne se détériore pas pendant les manipulations, on le rend rigide en le faisant passer par un programme spécial appelé circulation. Ce processus, qui prépare le tissu à être découpé en fines tranches puis coloré pour l'observation au microscope optique, comprend plusieurs étapes essentielles : d'abord la post-fixation, ensuite la déshydratation, suivie de la clarification, et enfin l'imprégnation.

- **Post-fixation:** Elle permet de compléter et d'améliorer la première étape de la fixation des tissus. Pour cela, on utilise généralement une solution de formol diluée à 10 % dans un liquide tampon, versée en une seule fois sur l'échantillon. Cette méthode suffit en général à bien préserver la forme et l'organisation des cellules.
- **Déshydratation:** Avant d'être coupés, les échantillons doivent être complètement déshydratés. Cette étape dure environ 12 heures. Le but est d'enlever toute l'eau présente dans les tissus. Pour cela, les échantillons passent d'abord dans plusieurs bains d'éthanol, de plus en plus concentrés (70 %, 95 % puis 100 %). Pour bien retirer toute l'eau des tissus, on termine par un bain dans de l'alcool pur (100 %) pendant 4 heures, à 20 °C. Ce temps d'immersion permet à l'alcool de bien pénétrer les tissus de manière uniforme, ce qui prépare efficacement les échantillons à la suite du traitement.
- **Clarification :** Les tissus sont immergés dans du xylène, une substance utilisée pour sa grande capacité à rendre les tissus plus transparents. Son excellent pouvoir clarifiant justifie son emploi à cette étape.
- **Imprégnation :** En vue de préserver un bon soutien interne et une homogénéité du prélèvement, le tissu a été soumis à deux immersions successives dans la paraffine. Cette étape permet de remplir efficacement toutes les espaces intercellulaires, ce qui garantit une imprégnation profonde et régulière **(Lester, 2010).**

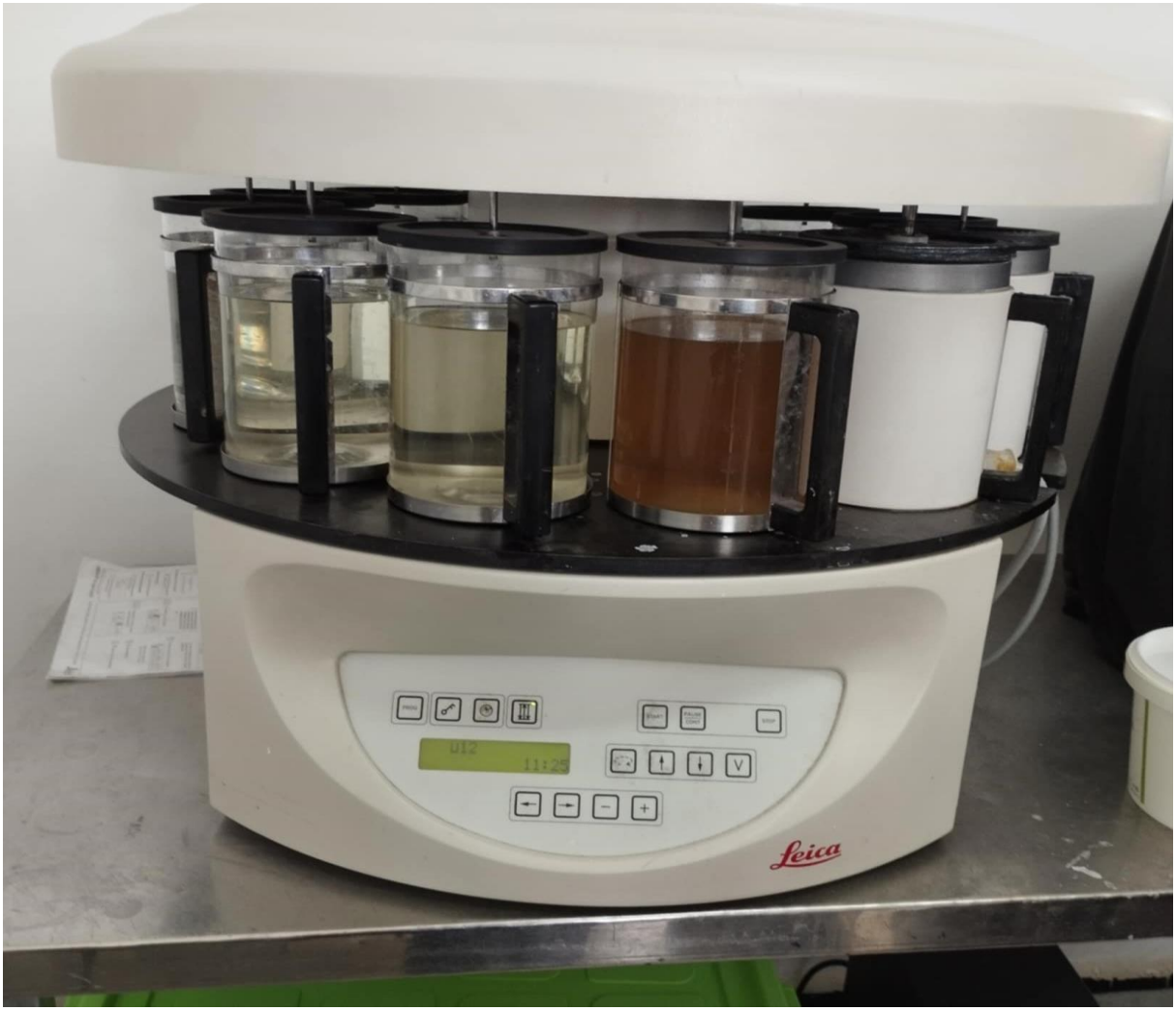



**Figure 7:**Appareil de circulation (Photo originale).

### II.3.3 Enrobage/inclusion

Enfin, vient l'enrobage, les tissus sont ontétéinclusdanslaparaffinefondueà62°C. En refroidissant, la paraffine durcit et forme un bloc solide qui permettra de faire des coupes très fines. Cette opération utilise des appareils d'inclusions, qui contiennent un réservoir de paraffine chauffée pour la maintenir à l'état liquide. La paraffine est versée à travers un petit robinet dans un moule, puis solidifiée rapidement grâce à une plaque métallique refroidie. Une fois la paraffine solidifiée, des blocs rigides ont été formés.

Chaque bloc a été soigneusement étiqueté, puis placé au congélateur à -4 °C, où il a été conservé jusqu'au moment de la découpe.

**Figure 8 :**Enrobage des testicules (Photo originale)

### II.3.4 Mise en lame des tissus

On utilise un appareil appelé microtome pour découper des tranches très minces de tissu, mesurant entre 2 et 5 micromètres d'épaisseur. Ces fines sections sont ensuite délicatement récupérées à la surface d'un bain-marie chaud, puis soigneusement déposées sur des lames de verre afin de les préparer pour l'observation microscopique.

**Figure 9 :**photo de microtome (photo originale).

### II.3.5 Coloration

La technique de coloration utilisée est celle à l'Hématoxyline-Éosine (ou Hématéine-Éosine). Elle nécessite l'utilisation d'alcool acidifié et d'une solution d'éosine préparée comme suit : 100 ml d'éosine aqueuse à 3 %, 125 ml d'alcool éthylique à 95 %, 375 ml d'eau distillée et 2 gouttes d'acide acétique. La coloration suit ensuite plusieurs étapes bien définies :

✓ **Étapes de la coloration histologique :**

- **Déparaffinage** : Les lames sont d'abord plongées dans un bain de xylène pendant environ 20 minutes pour éliminer la paraffine.
- **Réhydratation progressive** : On fait passer les lames successivement dans trois bains d'alcool de concentrations décroissantes (100 %, 95 % puis 70 %), pendant une minute dans chacun, afin de réhydrater doucement les tissus.

- **Rinçage initial** : Les lames sont ensuite rincer à l'eau courante pendant 5 minutes pour éliminer les traces d'alcool.
- **Coloration nucléaire** : Un bref passage de 4 secondes dans l'hématoxyline permet de colorer les noyaux cellulaires.
- **Différenciation** : Les lames sont rincées à l'eau durant 10 minutes pour fixer la coloration, puis plongées brièvement (15 secondes) dans une solution d'ammoniac pour faire ressortir les noyaux.
- **Deuxième rinçage** : Un nouveau rinçage à l'eau, cette fois de 5 minutes, suit la différenciation.
- **Coloration cytoplasmique** : Les lames sont immergées pendant 15 secondes dans une solution d'éosine, qui colore les cytoplasmes et autres structures non nucléaires.
- **Rinçage final** : On effectue un dernier rinçage à l'eau durant 5 minutes.
- **Début de déshydratation** : Enfin, un bain rapide d'alcool à 90 % (30 secondes) permet de commencer à retirer l'eau des tissus avant les étapes suivantes.
- Pour terminer, on déshydrate les tissus, puis on effectue l'éclaircissement, puis on monte les lames à l'aide du milieu Eukitt.

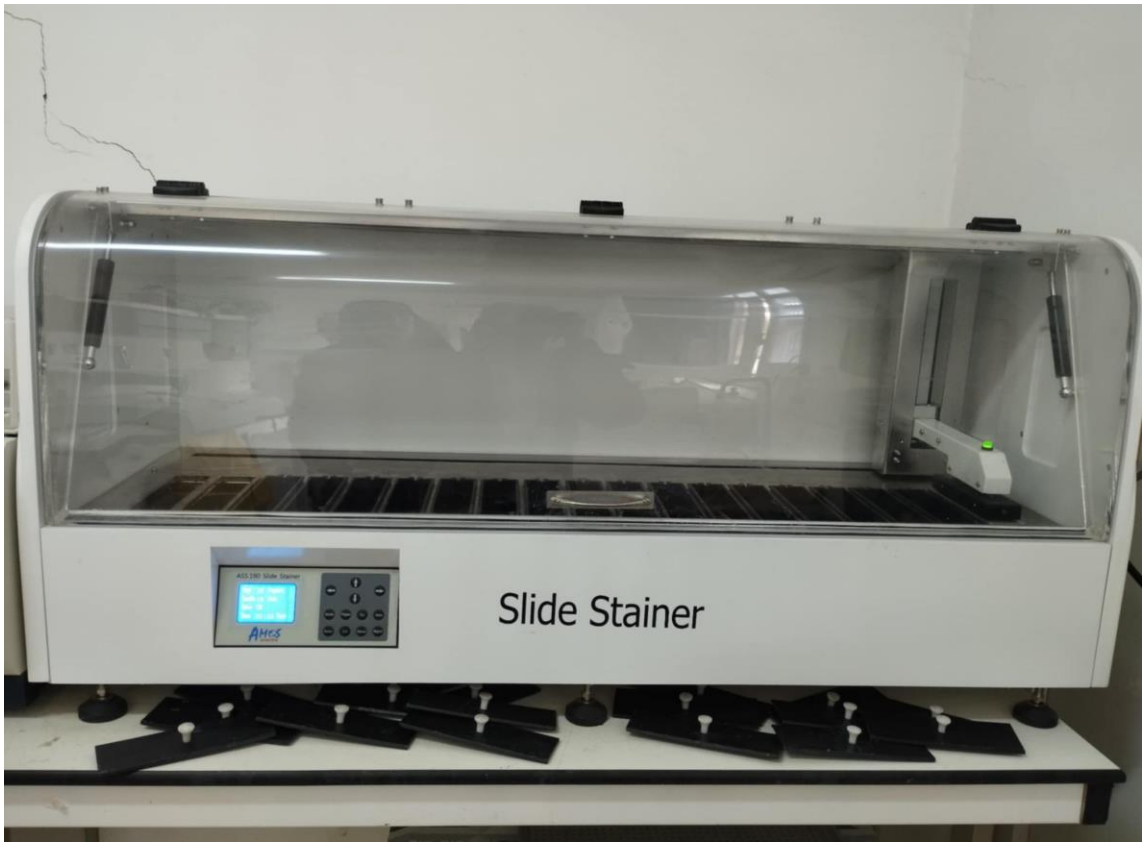



**Figure 10** :Appareil de coloration (Photo originale)**.**

Les échantillons préparés ont été observés au microscope optique (OPTIKA), et des images ont été prises à l'aide d'un appareil photo.

**Figure 11 :** microscope optique (Photo originale)**.**

# Les résultats et Discussion

## I.Analyse des résultats histologiques

L'étude histologique a été entreprise afin d'observer les éventuelles altérations tissulaires induites par l'exposition à l'acétamipride, ainsi que l'effet protecteur des vitamines C et E. Des coupes histologiques du foie et des testicules de rats appartenant aux différents groupes expérimentaux ont été réalisées, colorées à l'hématoxyline-éosine (H&E), puis examinées au microscope optique

Les observations effectuées ont permis de comparer l'architecture cellulaire normale des groupes témoins avec les modifications pathologiques observées chez les groupes traités. Les résultats obtenus sont présentés ci-dessous sous forme de photomicrographies accompagnées de descriptions illustrant les principales lésions histologiques identifiées dans les différents tissus examinés.

**I.1 Histologie de foie des rats :**

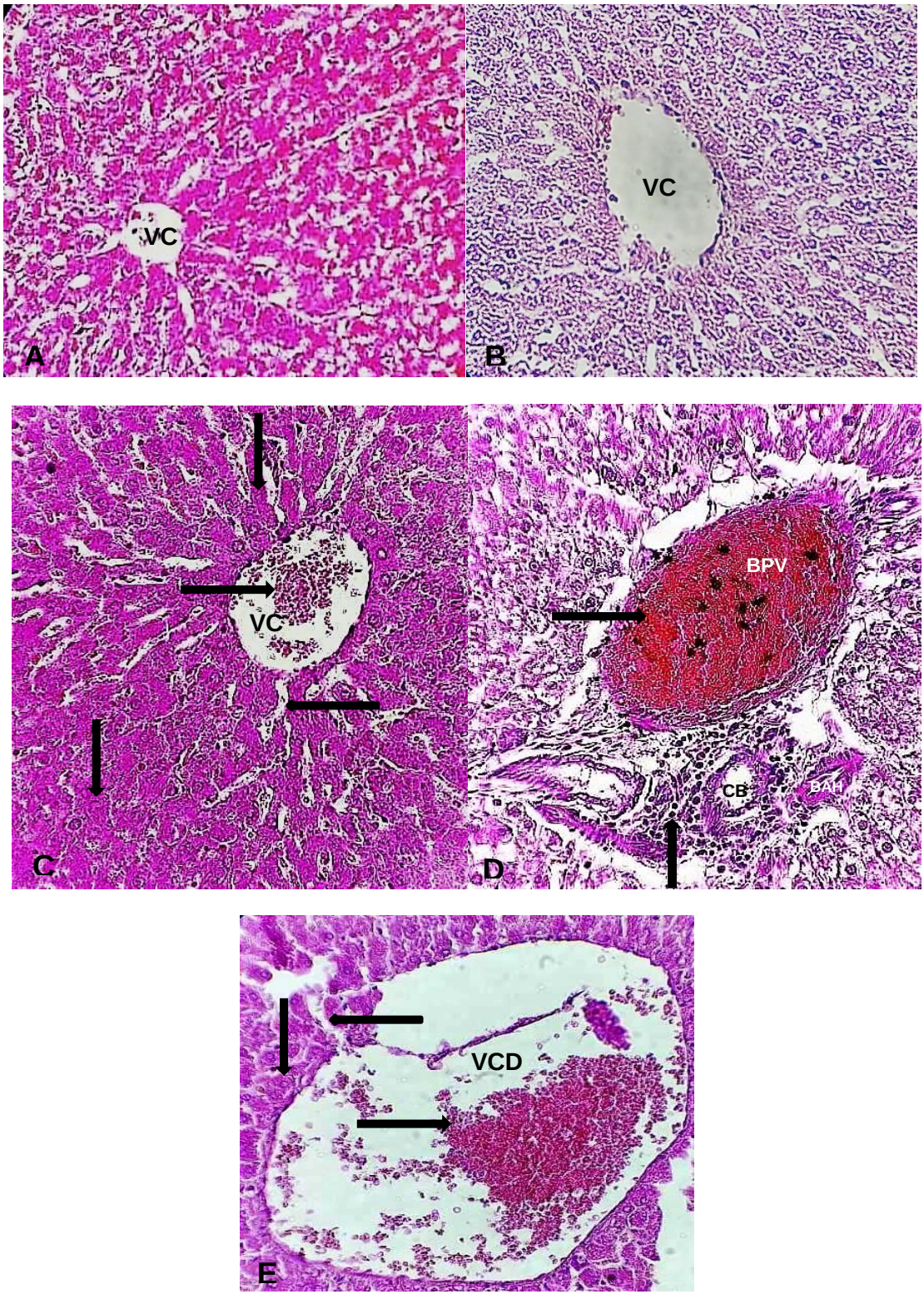



**Figure 12** : présente les photomicrographies des changements histopathologiques dans le tissu hépatique de rat**. Les images A et B (40x, H & E) :** eprésentant les groupes témoins ainsi que ceux traités avec l'acétamipride associé aux vitamines C et E, présentent une structure du foie normale. **Les images C, D et E (40x, H & E),** qui correspondent au groupe traité uniquement

avec l'acétamipride (ACP), révèlent plusieurs altérations. Les flèches vers le bas montrent des zones de nécrose, caractérisées par un rétrécissement du noyau des cellules (pycnose).

**Les flèches vers le haut** signalent une infiltration de cellules inflammatoires, notamment des lymphocytes. **Les flèches vers la droite** indiquent une hyperémie. La flèche vers la gauche désigne un élargissement de l'espace sinusoïdal. BVP : branche de la veine porte. VC : veine centrale ; VCD : veine centrale dilatée. CB : Canal biliaire. BAH : Branche de l'artère hépatique

**I.2 Histologie des testicules des rats :**

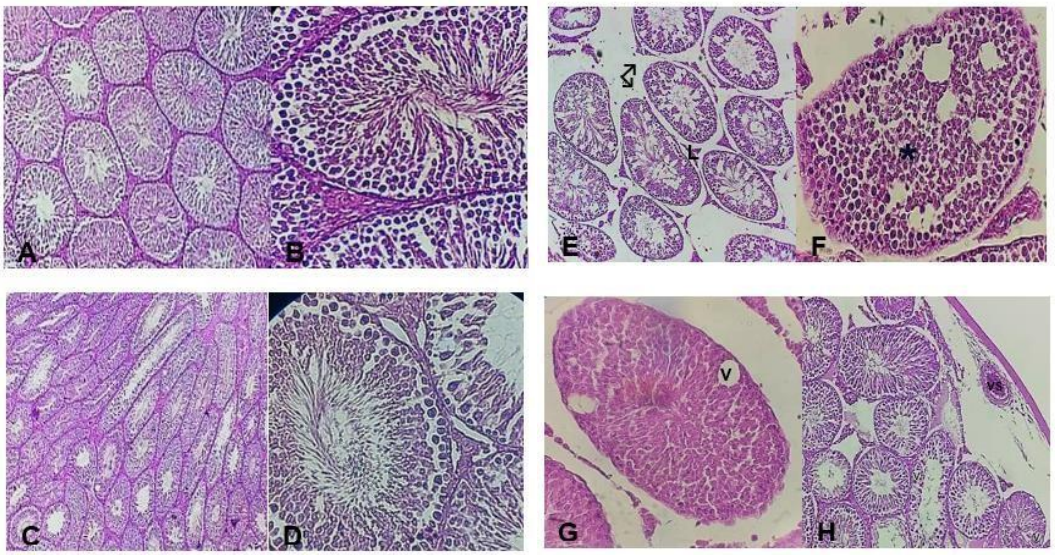



**Figure 13**: Photomicrographies représentatives des coupes testiculaires chez les rats des différents groupes expérimentaux (coloration H&E, grossissement 10x et 40x). **Images A et B (Groupe témoin)** : Les tubes séminifères (TS) présentent une morphologie normale, avec des tubules bien organisés et réguliers. **Images C et D (Groupe traité à l'acétamipride associé aux vitamines C et E) :** Les tubes séminifères conservent une structure testiculaire normale, comparable à celle du groupe témoin. Les tubules restent réguliers et bien formés.

**Images E à H (Groupe traité uniquement à l'acétamipride**: Plusieurs altérations histologiques sont visibles. **Image E** : Les tubes séminifères apparaissent distordus et désorganisés, séparés par des espaces interstitiels élargis, indiqués par les flèches. On observe également des cellules spermatogéniques dégénérées avec la présence de vacuoles (V). **Image F :** On note une desquamation de l'épithélium germinal, marquée par un astérisque (*). **Image G :** Présence de vacuoles (V) visibles dans l'épithélium.

**Image H :** Observation de vaisseaux sanguins capsulaires dilatés et congestionnés, indiqués par la mention (VS). L : cellule de Leydig.

## VI. Discussion

Les néonicotinoïdes se distinguent des anciennes classes d'insecticides organiques par leurs propriétés physiques et toxicologiques particulières. Chez les mammifères, leur toxicité agit principalement au niveau du système nerveux central, avec des symptômes proches de ceux causés par la nicotine **(Tomizawa et Casida, 2005).**

La présente étude s'est concentrée sur la toxicité d'un insecticide commercial contenant de l'acétamipride (ACP), un néonicotinoïde, en étudiant les dommages histologiques qu'il peut provoquer au niveau du foie et des tubes séminifères, où se forment les spermatozoïdes. Nous avons également évalué le rôle protecteur potentiel des vitamines C et E face à ces atteintes. En toxicologie, l'analyse histopathologique constitue un critère essentiel pour évaluer les effets nocifs sur les tissus. C'est pourquoi nous avons utilisé un modèle de rat Wistar mâle adulte afin d'observer les éventuels dommages au foie et aux testicules induits par l'ACP, ainsi que l'effet atténuateur possible d'une Co-administration de vitamines C et E. L'administration des traitements a été réalisée par voie orale pendant trois semaines.

Les résultats de cette étude montrent que le traitement à l'ACP entraîne des altérations histopathologiques au niveau du foie et des testicules des rats. Après une administration orale pendant trois semaines, les tissus hépatiques et testiculaires des groupes traités ont présenté une série de symptômes histopathologiques.

L'insecticide ACP a provoqué des dommages au niveau des cellules hépatiques, principalement en raison de sa toxicité systémique et de ses métabolites. Ces observations concordent avec celles rapportées par **El-Hak et al. (2022)**. Des études antérieures ont également révélé la présence de l'ACP dans le foie et les testicules **(Zhang et al. 2011).** Conformément à nos résultats, ces travaux confirment la toxicité de l'ACP pour ces organes. Les analyses histopathologiquesont montré un schéma dégénératif tant au niveau hépatique que testiculaire.

Notre étude a montré que la toxicité de l'ACP contribue fortement aux lésions hépatiques sévères**,** telles que la nécrose, la dilatation des capillaires sinusoïdes, l'accumulation cellulaire et l'infiltration marquée de cellules inflammatoires dans le parenchyme hépatique. Ces résultats sont en accord avec ceux de **Nazanin et Bagher (2021),** qui ont montré que les radicaux libres générés par l'ACP peuvent se lier de manière covalente aux protéines et à l'ADN. Ce processus

entraîne une peroxydation des membranes lipidiques du foie, aggravant ainsi les dommages hépatiques. Ces mécanismes expliquent les altérations observées, notamment l'élargissement de l'espace sinusoïdal, l'inflammation marquée du tissu hépatique et la nécrose. En outre, une fuite d'enzymes dans la circulation sanguine.

Les aminotransférases sont des enzymes hépatiques très sensibles, souvent utilisées comme indicateurs des dommages tissulaires hépatiques. Lorsque le foie est endommagé et que la perméabilité des membranes cellulaires augmente, ces enzymes cytoplasmiques des hépatocytes peuvent fuir et être libérées des cellules dans la circulation sanguine **(Adaramoye et al., 2008).** Ainsi, une élévation de leur concentration dans la circulation sanguine est le signe de dommages aux cellules hépatiques. Cela est en accord avec nos observations histologiques ainsi qu'avec les rapports de chercheurs précédents **(Nazanin et Bagher, 2021 ; Zhang et al., 2011 ; Mohan et al., 2012 ; Chakroun et al., 2016).**

Les testicules des animaux traités à l'ACP présentent une dégénérescence marquée des cellules spermatogéniques. Plusieurs études confirment que l'ACP altère la structure histologique des testicules, perturbe le processus de spermatogenèse et entraîne une diminution du nombre de spermatozoïdes. (**Cao et al., 2019 ; Arıcan et al., 2020 ; Ibrahim et al., 2020).** Les résultats de **Kong et al. (2017)** soutiennent également ces observations : après un traitement à l'ACP (30 mg/kg de poids corporel pendant 35 jours), les rats ont montré des altérations des tubes séminifères avec présence de vacuoles, ainsi qu'une diminution du nombre de cellules de Leydig dans le tissu interstitiel. De même, **Keshta et al. (2016)** ont rapporté que l'administration d'ACP à raison d'un dixième de la DL50 pendant 30 jours provoque un décollement des cellules spermatogéniques, un œdème testiculaire, une congestion, ainsi qu'une baisse du nombre de spermatozoïdes.

Des études précédentes ont montré que certains insecticides peuvent endommager les mitochondries des cellules de Leydig. Ainsi, les rats exposés à l'ACP présentent un nombre réduit de cellules de Leydig que les rats non exposés **(Desai et al., 2017).** En plus, l'ACP active certains récepteurs appelés nAChRs et bloque l'action des hormones qui stimulent les testicules. Cela crée un déséquilibre hormonal qui nuit à la production de spermatozoïdes **(Gnoula et al., 2007).**

La présente étude a montré une amélioration significative de l'état des tissus chez les rats traités à l'ACP et supplémentés en vitamines C et E, comparativement au groupe ayant reçu

uniquement l'ACP. Cela met en évidence l'effet antioxydant de ces deux vitamines. Les effets protecteurs des antioxydants ont été confirmés par la réduction des lésions observées dans les tissus hépatiques et testiculaires. Ainsi, selon les observations histopathologiques, la vitamine C et la vitamine E ont toutes deux joué un rôle protecteur en atténuant les effets toxiques de l'ACP sur le foie et les testicules. En conclusion, nos résultats montrent que ces deux antioxydants ont permis de réduire les altérations cellulaires induites par l'ACP.

Conformément aux travaux de **Zhang et al. (2011) ;Kong et al. (2017) ; Zayman et al. (2022),**la Co-administration de Vitamine E (Vit E) avec l'ACP a permis une amélioration significative de tous les paramètres spermatiques ainsi qu'une réduction des altérations dégénératives observées dans les testicules. Ces résultats confirment l'effet protecteur de la vitamine E, attribué à ses propriétés antioxydantes.

**Zayman et al. (2022)** ont montré que l'administration conjointe de la vitamine E avec l'ACP réduit de manière significative l'expression de la capasse-3, une protéine impliquée dans l'apoptose testiculaire. Ces résultats concordent également avec ceux de **Khafaji (2023) et d'El Kotb et al. (2020),** qui ont constaté une baisse des médiateurs inflammatoires, notamment le TNF-α, chez des rats traités à la vitamine E après intoxication au plomb ou exposition au glutamate monosodique. Par ailleurs, la Co-administration de vitamine E avec l'ACP a entraîné une augmentation significative du taux de LH dans le sang, ainsi qu'une élévation, bien que non significative, du taux de testostérone sérique par rapport au groupe ayant reçu uniquement l'ACP **(Abd El Rahman et al., 2025).**

Selon les résultats de l'étude menée par **El-Sheikh et al. (2024),** les rats mâles ayant reçu un traitement subchronique au thiaméthoxame (un autre néonicotinoïde) ont présenté une hépatotoxicité réduite, notamment une moindre infiltration inflammatoire et une dégénérescence cellulaire atténuée, lorsqu'ils étaient prétraités avec de la vitamine C. Ces résultats sont en accord avec nos observations. D'après ces auteurs, l'effet hépato protecteur de la vitamine C pourrait être lié à sa capacité à limiter la peroxydation lipidique dans le foie et à inhiber l'activité de la catalase (CAT), ce qui contribue à la diminution des taux sériques d'AST, d'ALT et d'ALP. En outre**, Tripathi et al. (2013)** ont montré que la vitamine C agit en réduisant le stress oxydatif induit par le thiaméthoxame. Enfin, **Shahat et al. (2011)** ont précisé que cette protection pourrait s'expliquer par la capacité de la vitamine C à neutraliser les radicaux libres, limitant ainsi leurs effets nocifs dans l'organisme.

# Conclusion

## V. Conclusion :

Notre étude expérimentale a mis en évidence les effets toxiques de l'acétamipride (ACP), un insecticide néonicotinoïde, sur deux organes cibles essentiels chez le rat mâle adulte Wistar , notamment le foie et les testicules.

L'analyse histologique a révélé des altérations significatives chez les animaux traités uniquement par l'ACP, notamment des lésions hépatiques (nécrose, infiltration inflammatoire, hyperémie) et des atteintes testiculaires (désorganisation des tubes séminifères, vacuolisation, desquamation de l'épithélium germinal, congestion vasculaire). Ces effets sont probablement liés au stress oxydatif induit par l'exposition chronique à l'acétamipride.

En revanche, l'administration combinée de vitamines C et E a montré une atténuation nette des dommages observés, tant au niveau hépatique que testiculaire. Cette amélioration suggère un rôle protecteur des antioxydants, qui semblent limiter les effets délétères de l'ACP, probablement en neutralisant les espèces réactives de l'oxygène (ERO) et en renforçant les défenses cellulaires.

Ainsi, nos résultats confirment la toxicité de l'acétamipride sur les organes vitaux et soulignent l'intérêt d'une supplémentassions en antioxydants comme moyen de protection contre les effets nocifs de ce pesticide.

Pour prolonger et approfondir ce travail, plusieurs pistes de recherche méritent d'être envisagées :

- Analyse biochimique complémentaire : Il serait utile de mesurer les marqueurs du stress oxydatif (comme le MDA, SOD, GSH) et les enzymes hépatiques (ALAT, ASAT) pour renforcer les résultats histologiques.
- Étude dose-dépendante : Étudier les effets de différentes doses d'acétamipride permettrait de mieux comprendre la relation entre la dose et la sévérité des lésions observées.
- Étude à plus long terme : Une exposition prolongée au-delà de trois semaines permettrait d'observer les effets chroniques et éventuellement irréversibles.
- Étude sur la fertilité : Compte tenu des altérations testiculaires observées, il serait intéressant d'évaluer les effets de l'ACP sur la spermatogenèse et les paramètres de fertilité.

- Application en santé publique et agriculture : Enfin, ces résultats pourraient contribuer à sensibiliser les utilisateurs agricoles et les consommateurs aux risques liés à l'usage abusif des néonicotinoïdes, et encourager la recherche de solutions alternatives plus sûres pour l'environnement et la santé.

**Référence :**

**A**


- Abd El Rahman, H. A., Hamada, M. S., Hassan, H. M., & Abo-Elmaaty, R. K. (2025). The Protective Effects of Vit E and CoQ10 AgainstAcetamipridInduced Reproductive Toxicity in Adult Male SpragueDawley Rats. *Mansoura Journal of ForensicMedicine and ClinicalToxicology*, *33*(1), 89-111.
- Adaramoye, O. A., Osaimoje, D. O., Akinsanya, A. M., Nneji, C. M., Fauns, M. A., &Ademowo, O. G. (2008). Changes in antioxidant status and biochemical indices after acute administration of artemether, artemether-lumefantrine and halofantrine in rats. *Basic &clinicalpharmacology&toxicology*, *102*(4), 412-418.
- Amaral, A.F.S., 2014. Pesticides and Asthma: Challenges for Epidemiology Front Public Health. 2 p. 6. http://dx.doi.org/10.3389/fpubh.2014.00006.
- Anadón, A., Ares, I., Martínez, M., Martínez-Larrañaga, M. R., & Martínez, M. A. (2020). Neurotoxicity of neonicotinoids. In *Advances in neurotoxicology* (Vol. 4, pp. 167-207). Academic Press.
- Anderson, S. E., & Meade, B. J. (2014). Potential health effects associated with dermal exposure to occupational chemicals. *Environmental health insights*, *8*, EHI-S15258**.**
- Anwar, K., Lehmann, D., Moser, U., Azzi, A., & Zingg, J. M. (2006). Molecular aspects of α-tocopherol transport by α-tocopherol transfer protein. Journal of Nutritional Biochemistry, 17(5), 282–289.
- Anwar, K., Zingg, J. M., & Azzi, A. (2007). The molecular mechanism of vitamin E transport. Molecular Aspects of Medicine, 28(5–6), 423–436.
- Arıcan EY, GökçeoğluKayalı D, UlusKaraca B, Boran T, Öztürk N, Okyar A, Ercan F, Özhan G (2020) Reproductive effects of subchronicexposure to acetamiprid in male rats. SciRep 10(1):1–10.
- Aubertot, J. N., Barbier, J. M., Carpentier, A., Gril, J. J., Guichard, L., Lucas, P., ... & Voltz, M. (2005). Pesticides, agriculture et environnement. *Réduire l'utilisation des pesticides et limiter leurs impacts environnementaux. Expertise scientifique collective, synthèse du rapport, INRA et Cemagref (France)*, *64*.


**b**

- Beard, J.D., Umbach, D.M., Hoppin, J.A., et al., 2014. Pesticide exposure and depression among male private pesticide applicators in the agricultural health study. EHP 122 (9), 984–991.
- Ben Salem, H. (2015). Les pesticides et leur impact sur l'environnement et la santé humaine. Revue des sciences de l'environnement.
- Bhardwaj, S., Srivastava, M. K., Kapoor, U., & Srivastava, L. P. (2010). A 90 days oral toxicity of imidacloprid in female rats: Morphological, biochemical and histopathological evaluations. *Food and Chemical Toxicology, 48*(5), 1185–1190.
- Bourgeois, C. (2003). Vitamine E et stress oxydant : rôle biologique et applications cliniques. Revue Francophone des Laboratoires, (351), 33–40.
- Boutin, C., Elmegaard, N., & Kjaer, C. (2004). Toxicity testing of fifteen non-crop plant species with six herbicides in a greenhouse experiment: implications for risk assessment. *Ecotoxicology, 13*, 349-369.
- *Brand, R. M., & Mueller, G. M. (2002). Dermal absorption of pesticide formulations: A comparison of three herbicide formulations and their active ingredients.* Environmental Health Perspectives, *110(5), 485–490.*


**c**


- Cao W, Song Y, Sui H, Cao P, Liu Z (2019) Analysis of individual and combinedestrogeniceffects of bisphenol, nonylphenol, and diethylstilbestrol in immature rats withmathematicalmodels. Environ HealthPrev Med 24(1):1–13.
- Chakroun, S., Ezzi, L., Grissa, I., Kerkeni, E., Neffati, F., Bhouri, R., ... & Ben Cheikh, H. (2016). Hematological, biochemical, and toxicopathiceffects of subchronicacetamipridtoxicity in Wistar rats. *Environmental Science and Pollution Research*, *23*, 25191-25199.
- Chang, H., Daugherty, L., & Mitchell, A. (2013). Bee afraid, bee very afraid—Neonicotinoids and the nAChRs family. *InterPro Protein Focus*, *25*, 1-8.
- Cleveland Clinic. (2024). Vitamin E: Benefits, sources, dosage, and side effects. Cleveland Clinic.
- Corringer, P.-J., Le Novère, N., & Changeux, J.-P. (2000). Nicotinic receptors at the amino acid level. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology, 40*, 431–458.

- Costas-Ferreira, C., & Faro, L. R. F**.** (2021). Neurotoxic effects of neonicotinoids on mammals: What is there beyond the activation of nicotinic acetylcholine receptors? — A systematic review. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(15), 8413.
- Cumming, K. T., Raastad, T., Holden, G., Bastani, N. E., Schneeberger, D., Paronetto, M. P., & Paulsen, G. (2014). Effects of vitamin C and E supplementation on endogenous antioxidant systems and heat shock proteins in response to endurance training. Physiological Reports, 2(10), e12142.

**d**

- Damalas, C. A., & Eleftherohorinos, I. G. (2011). Pesticide exposure, safety issues, and risk assessment indicators. *International journal of environmental research and public health*, *8*(5), 1402-1419.
- Damseth, S., Thakur, K., Kumar, R., Kumar, S., Mahajan, D., Kumari, H., ... & Sharma, A. K. (2024). Assessing the impacts of river bed mining on aquatic ecosystems: A critical review of effects on water quality and biodiversity. *HydroResearch*, *7*, 122-130.
- Dennis, L.K., Lynch, C.F., Sandler, D.P., Alavanja, M.C., 2010. Pesticide use and cutaneous melanoma in pesticide applicators in the agricultural heath study. Environ. Health Perspect. 118, 812–817.
- Desai, A., Sequeira, J. M., & Quadros, E. V. (2017). Prevention of behavioraldeficits in rats exposed to folatereceptorantibodies: Implication in autism. *MolecularPsychiatry*, *22*(9), 1291-1297.

**e**

- El Okle, O. S., El Euony, O. I., Khafaga, A. F., & Lebda, M. A. (2018). Thiamethoxam induced hepatotoxicity and pro-carcinogenicity in rabbits via motivation of oxidative stress, inflammation, and anti-apoptotic pathway. *Environmental Science and Pollution Research*, *25*, 4678–4689.
- Elbert, A., Haas, M., Springer, B., Thielert, W., & Nauen, R. (2008). Applied aspects of neonicotinoid uses in crop protection. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, *64*(11), 1099-1105.
- El-Hak, H. N. G., Al-Eisa, R. A., Ryad, L., Halawa, E., & El-Shenawy, N. S. (2022). Mechanisms and histopathological impacts of acetamiprid and azoxystrobin in male rats. *Environmental Science and Pollution Research*, *29*(28), 43114-43125.

- Ellis, C., Park, K. J., Whitehorn, P., David, A., & Goulson, D. (2017). The neonicotinoid insecticide thiacloprid impacts upon bumblebee colony development under field conditions. *Environmental Science & Technology*, *51*(3), 1727–1732.
- European Food Safety Authority (EFSA), Charistou, A., Coja, T., Craig, P., Hamey, P., Martin, S., ... & Istace, F. (2022). Guidance on the assessment of exposure of operators, workers, residents and bystanders in risk assessment of plant protection products. *Efsa Journal*, *20*(1), e07032.

**F**

- 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 (Doctoral dissertation, Université d'Angers).

**g**

- Gibbons, D., Morrissey, C., & Mineau, P. (2015). A review of the direct and indirect effects of neonicotinoids and fipronil on vertebrate wildlife. Environmental Science and Pollution Research, 22, 103-118.
- Gilden, R. C., Huffling, K., & Sattler, B. (2010). Pesticides and health risks. Journal of Obstetric, Gynecologic & Neonatal Nursing, 39(1), 103-110.
- Girard, L., Reix, N., & Mathelin, C. (2020). Impact des pesticides perturbateurs endocriniens sur le cancer du sein. Gynécologie Obstétrique Fertilité & Sénologie, 48(2), 187-195.
- Green, J. M., & Foy, C. L. (2000). Adjuvants: test design, interpretation, and presentation of results. *Weed Technology*, *14*(4), 819-825.

**h**

- Hayes, W. J. (1982). *Pesticides studied in man* (672 p.). Williams & Wilkins.
- History of pesticide use. (2010). In https://agrochemicals.iupac.org/index.php?option=com_sobi2&sobi2Task=sobi2Details&catid= 3&sobi2Id= 31. agrochemicals.iupac.org. Retrieved May 10, 2010, from https://agrochemicals. C. Shekhar et al. Toxicology Reports 13 (2024) 101840 20 .

**i**


- Ibrahim, H. Z., El-Banna, S. G., & El-Rafea, A. A. (2020). Acetamiprid, insecticide-inducedoxidative damage on reproductive parameters male rats.
- Ihara, M., Sattelle, D. B., & Matsuda, K. (2015). Probing new components (Loop G and the β–β interface) of neonicotinoid binding sites on nicotinic acetylcholine receptors. *Pesticide Biochemistry and Physiology, 121*, 47–52.
- Imamura, T., Yanagawa, Y., Nishikawa, K., Matsumoto, N., & Sakamoto, T. (2010). Two cases of acute poisoning with acetamiprid in humans. *Clinical toxicology*, *48*(8), 851-853.
- Iwasa, T., Motoyama, N., Ambrose, J. T., & Roe, M. R. (2004). Mechanism for the differential toxicity of neonicotinoid insecticides in the honeybee *Apis mellifera*. *Crop Protection, 23*(5), 371–378.


**j**


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


**k**


- Kadam, S. U., Tiwari, B. K., & O'Donnell, C. P. (2018). Natural surfactants: Biosurfactants and phytochemicals in food applications. *Food Engineering Reviews*, 10(4), 165–181. https://doi.org/10.1007/s12393-018-9178-3.
- Katić, A., Kašuba, V., Kopjar, N., Lovaković, B. T., Marjanović Čermak, A. M., Mendaš, G., Micek, V., Milić, M., Pavičić, I., Pizent, A., et al. (2021). Effects of low-level imidacloprid oral exposure on cholinesterase activity, oxidative stress responses, and primary DNA damage in the blood and brain of male Wistar rats. *Chemico-Biological Interactions, 338*, 109287.
- Kaur, R., Mavi, G. K., Raghav, S., & Khan, I. (2019). Pesticides classification and its impact on environment. *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci*, *8*(3), 1889-1897.
- Keshta, A. T., Hataba, A. A., Mead, H. M., & El-Shafey, N. M. (2016). Oxidative stress and biochemical changes induced by thiamethoxam and acetamiprid insecticides in rats. *World J Pharma PharmacolSci*, *5*(6), 44-60.
- Khafaji, S. S. (2023). Antioxidant, anti-inflammatory, and anti-reprotoxiceffects of kaempferol and vitamin E on lead acetate-inducedtesticulartoxicity in male rats. *Open Veterinary Journal*, *13*(12), 1683.

- Khovarnagh, N., &Seyedalipour, B. (2021). Antioxidant, histopathological and biochemicaloutcomes of short-termexposure to acetamiprid in liver and brain of rat: The protective role of N-acetylcysteine and S-methylcysteine. *Saudi Pharmaceutical Journal*, *29*(3), 280-289.
- Kim, K. H., Kabir, E., & Jahan, S. A. (2017). Exposure to pesticides and the associated human health effects. *Science of the total environment*, *575*, 525-535.
- Kimura-Kuroda, J., Komuta, Y., Kuroda, Y., Hayashi, M., & Kawano, H. (2012). Nicotine-like effects of the neonicotinoid insecticides acetamiprid and imidacloprid on cerebellar neurons from neonatal rats. *PLoS ONE, 7*, e32432.
- Kong, D., Zhang, J., Hou, X., Zhang, S., Tan, J., Chen, Y., ... & Cai, R. (2017). Acetamipridinhibitstestosteronesynthesis by affecting the mitochondrial function and cytoplasmicadenosine triphosphate production in rat Leydigcells. *Biology of reproduction*, *96*(1), 254-265.
- Kumar, P., & Meizel, S. (2005). Nicotinic acetylcholine receptor subunits and associated proteins in human sperm. *Journal of Biological Chemistry, 280*, 25928–25935.

**l**

- Lin, P. C., Lin, H. J., Liao, Y. Y., Guo, H. R., & Chen, K. T. (2013). Acute poisoning with neonicotinoid insecticides: a case report and literature review. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*, *112*(4), 282-286.
- Lin, Z., Zhang, W., Pang, S., Huang, Y., Mishra, S., Bhatt, P., & Chen, S. (2020). Current approaches to and future perspectives on methomyl degradation in contaminated soil/water environments. *Molecules*, *25*(3), 738.
- Liu, M. Y., & Casida, J. E. (1993). High affinity binding of [3H] imidacloprid in the insect acetylcholine receptor. *Pesticide Biochemistry and Physiology, 46*, 40–46. https://doi.org/10.1006/pest.1993.1043.
- Lonare, M., Kumar, M., Raut, S., Badgujar, P., Doltade, S., & Telang, A. (2014). Evaluation of imidacloprid-induced neurotoxicity in male rats: A protective effect of curcumin. *Neurochemistry International, 78*, 122–129.

**m**


- MacFarlane, E., Carey, R., Keegel, T., El-Zaemay, S., & Fritschi, L. (2013). Dermal exposure associated with occupational end use of pesticides and the role of protective measures. *Safety and health at work*, *4*(3), 136-141.
- Marfo, J. T., Fujioka, K., Ikenaka, Y., Nakayama, S. M., Mizukawa, H., Aoyama, Y., ... & Taira, K. (2015). Relationship between urinary N-desmethyl-acetamiprid and typical symptoms including neurological findings: a prevalence case-control study. *PloS one*, *10*(11), e0142172.
- Matsuda, K., Buckingham, S. D., Kleier, D., Rauh, J. J., Grauso, M., & Sattelle, D. B. (2001). Neonicotinoids: Insecticides acting on insect nicotinic acetylcholine receptors. *Trends in Pharmacological Sciences, 22*, 573–580. https://doi.org/10.1016/S0165-6147(00)01820-4
- Meenakshi, M., Sharon Prabhakar, S. P., Bhawana Mittal, B. M., Anita Sharma, A. S., & Gothecha, V. K. (2012). A short review on how pesticides affect human health.
- Mohany, M., El-Feki, M., Refaat, I., Garraud, O., & Badr, G. (2012). Thymoquinoneameliorates the immunological and histological changes induced by exposure to imidacloprid insecticide. *The Journal of toxicological sciences*, *37*(1), 1-11.


**N**


- National Center for Biotechnology Information (NCBI). (2023). PubChem compound summary: α-Tocopherol. National Library of Medicine.

- Nauen, R., Tietjen, K., Wagner, K., & Elbert, A. (1998). Efficacy of plant metabolites of imidacloprid against Myzus persicae and Aphis gossypii (Homoptera: Aphididae). *Pesticide Science*, *52*(1), 53-57.
- Ngoula, F., Watcho, P., Dongmo, M. C., Kenfack, A., Kamtchouing, P., &Tchoumboué, J. (2007). Effects of pirimiphos-methyl (an organophosphate insecticide) on the fertility of adult male rats. *Africanhealth sciences*, *7*(1), 3.
- Özdemir, H. H., Kara, M., Yumrutas, O., Uckardes, F., Eraslan, E., Demir, C. F., & Bal, R. (2014). Determination of the effects on learning and memory performance and related gene expressions of clothianidin in rat models. *Cognitive Neurodynamics*, *8*, 411–416.

**p**

- Phua, D. H., Lin, C. C., Wu, M. L., Deng, J. F., & Yang, C. C. (2009). Neonicotinoid insecticides: an emerging cause of acute pesticide poisoning. *Clinical toxicology*, *47*(4), 336-341.
- Pisa, L., Goulson, D., Yang, E.-C., Gibbons, D., Sánchez-Bayo, F., Mitchell, E., Aebi, A., van der Sluijs, J., MacQuarrie, C. J. K., Giorio, C., et al. (2021). An update of the Worldwide Integrated Assessment (WIA) on systemic insecticides. Part 2: Impacts on organisms and ecosystems. *Environmental Science and Pollution Research International, 28*(9), 11749–11797.

**r**

- Rodrigues, K. J. A., Santana, M. B., Do Nascimento, J. L. M., Picanço-Diniz, D. L. W., Maués, L. A. L., Santos, S. N., Ferreira, V. M. M., Alfonso, M., Durán, R., & Faro, L. R. F. (2010). Behavioral and biochemical effects of neonicotinoid thiamethoxam on the cholinergic system in rats. *Ecotoxicology and Environmental Safety, 73*(1), 101–107.

**S**

- Sakouhi, F., Harrabi, S., Absalon, C., Sbei, K., Boukhchina, S., & Kallel, H. (2008). α-Tocopherol and fatty acids contents of some Tunisian table olives (Olea europaea L.): Changes in their composition during ripening and processing. Food Chemistry, 108(3), 833–839.

- Salvatore, A. L., Bradman, A., Castorina, R., Camacho, J., López, J., Barr, D. B., ... & Eskenazi, B. (2008). Occupational behaviors and farmworkers' pesticide exposure: findings from a study in Monterey County, California. *American journal of industrial medicine*, *51*(10), 782-794.
- Sgolastra, F.; Medrzycki, P.; Bortolotti, L.; Maini, S.; Porrini, C.; Simon-Delso, N.; Bosch, J. Bees and pesticide regulation: Lessons from the neonicotinoid experience. Biol. Conserv. 2020, 241, 108356.
- Shadnia, S., & Moghaddam, H. H. (2008). Fatal intoxication with imidacloprid insecticide. *The American journal of emergency medicine*, *26*(5), 634-e1.

**t**

- Taly, A., Corringer, P.-J., Guedin, D., Lestage, P., & Changeux, J.-P. (2009). Nicotinic receptors: Allosteric transitions and therapeutic targets in the nervous system. *Nature Reviews Drug Discovery*, *8*, 733–750.
- Thany, S. H. (2010). *Insect nicotinic acetylcholine receptors*. Springer.
- Tomizawa, M., & Casida, J. E. (2001). Structure and diversity of insect nicotinic acetylcholine receptors. *Pest Management Science, 57*, 914–922.
- Tomizawa, M., & Casida, J. E. (2003). Selective toxicity of neonicotinoids attributable to specificity of insect and mammalian nicotinic receptors. *Annual review of entomology*, *48*(1), 339-364.
- Tomizawa, M., & Casida, J. E. (2005). Neonicotinoid insecticide toxicology: Mechanisms of selective action. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, *45*, 247–268.
- Tomizawa, M., & Casida, J. E. (2011). Unique neonicotinoid binding conformations conferring selective receptor interactions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 59*, 2825–2828.
- Tomizawa, M., &Casida, J. E. (2005). Neonicotinoid insecticide toxicology: mechanisms of selective action. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, *45*(1), 247-268.
- Tomizawa, M., Latli, B., & Casida, J. E. (1999). Structure and function of insect nicotinic acetylcholine receptors studied with nicotinoid insecticide affinity probes. In I. Yamamoto & J. E. Casida (Eds.), *Nicotinoid insecticides and the nicotinic acetylcholine receptor* (pp. 271–292). Springer.

**u**

- U.S. Environmental Protection Agency (USEPA), 2007. Pesticides: Health and Safety. National Assessment of the Worker Protection Workshop #3.

**v**

- Vinod, K. V., Srikant, S., Thiruvikramaprakash, G., & Dutta, T. K. (2014). A fatal case of thiacloprid poisoning. *The American Journal of emergency medicine*, *33*(2), 310-e5.

**w**


- Wang, Y., Fu, Y., Wang, Y., Lu, Q., Ruan, H., Luo, J., & Yang, M. (2022). A comprehensive review on the pretreatment and detection methods of neonicotinoid insecticides in food and environmental samples. *Food Chemistry: X*, *15*, 100375.


**y**


- Yadav, I. C., & Devi, N. L. (2017). Pesticides classification and its impact on human and environment. *Environmental science and engineering*, *6*(7), 140-158.
- Yamamoto, I., & Casida, J. E. (Eds.). (1999). *Nicotinoid insecticides and the nicotinic acetylcholine receptor*. Springer.
- Yamamoto, I., Tomizawa, M., Saito, T., Miyamoto, T., Walcott, E. C., & Sumikawa, K. (1998). Structural factors contributing to insecticidal and selective actions of neonicotinoids. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, *37*, 24–32.
- Yang, L., Zhao, Y. L., Zhao, C. Y., Li, H. H., Wang, M. J., Morris-Natschke, S. L., ... & Liu, Y. Q. (2014). Design, synthesis, crystal structure, bioactivity, and molecular docking studies of novel sulfonylamidine-derived neonicotinoid analogs. *Medicinal Chemistry Research*, *23*, 5043-5057.


**z**


- Zapol'skii, V. A., Fischer, R., Namyslo, J. C., & Kaufmann, D. E. (2009). Chemistry of polyhalogenated nitrobutadienes, 8: Nitropolychlorobutadienes—Precursors for insecticidal neonicotinoids. *Bioorganic & medicinal chemistry*, *17*(12), 4206-4215.
- Zayman, E., Gül, M., Erdemli, M. E., Gül, S., Bağ, H. G., &Taşlıdere, E. (2022). Biochemical and histopathological investigation of the protective effects of melatonin and vitamin E against the damage caused by acetamiprid in Balb-c mouse testiclesat light and electronmicroscopiclevel. *Environmental Science and Pollution Research*, *29*(31), 47571-47584.
- Zhang JiaoJiao, Z. J., Wang Yi, W. Y., Xiang HaiYang, X. H., Li MengXue, L. M., Li WenHao, L. W., Ma KaiGe, M. K., ... & Zhang JiaHua, Z. J. (2011). Oxidative stress: role in acetamiprid-inducedimpairment of the male mice reproductive system.



- Zhang JiaoJiao, Z. J., Wang Yi, W. Y., Xiang HaiYang, X. H., Li MengXue, L. M., Li WenHao, L. W., Ma KaiGe, M. K., ... & Zhang JiaHua, Z. J. (2011). Oxidative stress: role in acetamiprid-inducedimpairment of the male mice reproductive system.

**Annexes :**

**Annexe 01 :** Vitmine C (C-Phytal)

| **photo original** | ***Fiche technique Vitamine C en poudre (C-Phytal)*** |
|---|---|
| <br> | • **Nom commercial** : C-Phytal vitamine C<br>• **Forme :** poudre<br>• **Quantité :** 250 gramme<br>• **Origine :** végétal (100% vitamine C)<br>• **Conditionnement :** sachet refermable<br>• **Solubilité :** extra- soluble<br>• **Description :** complément alimentaire à base de vitamine C pure d'origine végétale, sous forme de poudre ultra- soluble<br>• **Composition :** Acide L'ascorbique (vitamine C) pur<br>• **Indication :**<br>- Renforcement du système immunitaire<br>- Antioxydant<br>- Contribue à réduire la fatigue<br>- Favorise l'absorption du fer<br>- Participe à la formation normale de collagène<br>• **Mode d'emploi :**<br>- Diluer la dose recommandée dans un verre d'eau ou de jus<br>- Respecter les dose indiquées ou selon le conseil d'une professeure la santé<br>- Dosette de mesure incluse à l'intérieur<br>• **Conseils de conservation :**<br>- Concevez dans un endroit sec, à une température inférieur à 25°C<br>- Bien refermer après usage<br>- Tenir hors de portée des enfants<br>• **Informations fabricant :**<br>- **Marque** : PHYTAL<br>- **Adresse** : Zone d'activité Bordj El Kiffan, Lot N°14, Alger – **Algérie**<br>- **Email** : laboratoire.phytal@gmail.com<br>- **Téléphone** : +213 (0) 661 19 32 28<br>• **Certifications ET étiquetage**<br>- Code-barres : 0641094174953<br>- Numéro de lot / Référence : 1211235011<br>- Recyclable, respect des normes d'hygiène (icônes visibles)<br>- Logo Phytal avec mention « Super Food – Santé au Naturel<br>- |

**Annexe 02 :** Vitamine E (BIOMAX) :

| **photo original** | ***Fiche technique de la vitamine E :*** |
|---|---|
| <br> | • **Nom commercial : Vitamine** E - BIOMAX<br>• **Type de produit :** Complément alimentaire à base de vitamine E<br>• **Forme galénique :** Capsule molle<br>• **Composition par capsule :** Vitamine E (D'alpha tocophérol) : 400 mg<br>- Huile de Soja : 60 mg<br>• **Excipients/ enrobage :** Gélatine bovine, Glycérine<br>• **Propretés et bienfaits :**<br>- Antioxydant puissant, protège les cellules contre le stress oxydatif<br>- Contribue au maintien de la fonction immunitaire<br>- Peut aider à améliorer la santé de la peau et à prévenir le vieillissement prématuré<br>- Soutien cardiovasculaire<br>• **Indication :**<br>- Prévention ou correction d'une carence en vitamine E<br>- Soutien de la fertilité et des fonctions reproductives<br>- Fatigue chronique, troubles dermatologiques, soutien en cas de stress oxydatif<br>• **Mode d'emploi (posologie) :**<br>- Adultes : 1 capsule par jour avec un verre d'eau, de préférence pendant un repas<br>- Ne pas dépasser la dose journalière recommandée<br>• **Précautions d'emploi :**<br>- Consulter un professionnel de santé en cas de traitement médical, grossesse ou allaitement<br>- Ne pas utiliser en cas d'allergie au soja ou à l'un des composants<br>- Déconseillé chez les enfants sauf avis médical<br>• **Condition de conservation :**<br>- Conserver à une température inférieure à 25°C<br>- À l'abri de la lumière, de l'humidité et hors de portée des enfants<br>• **Fabricant / distributeur :**<br>La vitamine E BIOMAX est fabriquée et distribué par Biopharm, un groupe pharmaceutique Algérien |

**Annexe 03 :** RUSTILAN (acétamipride 20%)

| **Photo original** | **Fiche technique du RUSTILAN** |
|---|---|
| | . **Identification du produit**<br>• **Nom commercial** : RUSTILAN<br>• **Formulation :** SP (Soluble Powder) - Poudre soluble<br>• **Substance active** : Acétamipride 20%<br>• **Classe chimique** : Néonicotinoïde<br>• **Famille** : Insecticides systémiques<br>**2. Propriétés physico-chimiques**<br>• **Aspect :** Poudre fine blanche à jaune pâle<br>• **Solubilité :** Soluble dans l'eau<br>• **DL50 orale (rat)** : 217-450 mg/kg<br>• **DL50 cutanée (rat)** : > 2000 mg/kg<br>• **Stabilité** : Stable dans les conditions normales de stockage<br>• **pH en solution** : Neutre à légèrement acide<br>• **Systémique :** absorbé par la plante, circule dans la sève.<br>4**. Usages et cultures ciblées**<br>• **Insectes ciblés :** Pucerons, aleurodes, thrips, cicadelles, mineuses, coléoptères.<br>• **Cultures :** Légumes, fruits, céréales, coton, riz, cultures ornementales.<br>**5. Dosage général**<br>• **Dosage :** 50 à 100 g/ha en pulvérisation foliaire<br>• **Fréquence** : tous les 7-14 jours<br>• **PHI :** généralement 7-14 jours (selon culture)<br>**6. Précautions d'utilisation**<br>- Ne pas pulvériser durant la floraison (risque pour les abeilles).<br>- Utiliser tôt le matin ou en fin de journée.<br>- Éviter les mélanges avec des produits très alcalins.<br>- Éviter tout contact avec la peau et les yeux.<br>**7. Équipements de protection individuelle (EPI)**<br>Gants, masque, lunettes, combinaison, bottes fermées.<br>**8. Premiers secours**<br>• **Peau :** laver à l'eau et savon.<br>• **Yeux :** rincer abondamment.<br>• **Inhalation :** air libre, consulter un médecin.<br>• **Ingestion :** ne pas faire vomir, consulter immédiatement un médecin.<br>**9. Conservation**<br>Conserver dans l'emballage d'origine fermé, à l'abri de la chaleur, lumière et humidité.<br>Tenir hors de portée des enfants et animaux. |

**Annexes 4 :** poids corporelles des rats Wistar.

| | **Groupe témoin** | | | | | | **Groupe 1(pesticide)** | | | | | | **Groupe 2(pesticide +vit C+E)** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | **1** | **2** | **3** | **4** | **5** | **6** | **1** | **2** | **3** | **4** | **5** | **6** | **1** | **2** | **3** | **4** | **5** | **6** |
| **1** | 263 | 243 | 270 | 267 | 271 | 244 | 236 | 266 | 249 | 265 | 252 | 271 | 210 | 222 | 199 | 198 | 206 | 237 |
| **2** | 282 | 269 | 290 | 288 | 291 | 270 | 257 | 287 | 273 | 287 | 279 | 295 | 240 | 254 | 218 | 223 | 237 | 263 |
| **3** | 288 | 280 | 302 | 295 | 303 | 281 | 271 | 298 | 276 | 300 | 288 | 305 | 244 | 359 | 227 | 236 | 244 | 279 |
| **4** | 300 | 280 | 314 | 304 | 315 | 281 | 277 | 300 | 294 | 296 | 286 | 304 | 252 | 266 | 234 | 239 | 246 | 283 |
| **5** | 300 | 290 | 315 | 306 | 316 | 291 | 268 | 286 | 288 | 294 | 277 | 298 | 249 | 261 | 234 | 238 | 249 | 278 |
| **6** | 300 | 290 | 315 | 306 | 316 | 291 | 268 | 286 | 288 | 294 | 277 | 298 | 249 | 261 | 234 | 238 | 249 | 278 |
| **7** | 309 | 296 | 321 | 314 | 322 | 297 | 291 | 307 | 315 | 309 | 305 | 302 | 264 | 284 | 249 | 252 | 260 | 296 |
| **8** | 303 | 313 | 328 | 316 | 329 | 314 | 292 | 311 | 323 | 310 | 307 | 310 | 269 | 288 | 252 | 255 | 265 | 298 |
| **9** | 318 | 312 | 334 | 320 | 335 | 313 | 285 | 303 | 318 | 305 | 304 | 300 | 262 | 277 | 242 | 253 | 259 | 289 |
| **10** | 311 | 310 | 324 | 312 | 325 | 311 | 287 | 305 | 323 | 314 | 307 | 303 | 270 | 282 | 243 | 244 | 266 | 290 |
| **11** | 303 | 300 | 322 | 310 | 323 | 301 | 294 | 315 | 327 | 315 | 307 | 310 | 266 | 285 | 249 | 260 | 266 | 293 |
| **12** | 323 | 224 | 345 | 327 | 346 | 225 | 300 | 327 | 343 | 325 | 320 | 319 | 281 | 298 | 261 | 172 | 279 | 306 |
| **13** | 326 | 325 | 340 | 324 | 341 | 326 | 305 | 330 | 349 | 331 | 324 | 323 | 278 | 298 | 258 | 270 | 270 | 298 |
| **14** | 342 | 339 | 365 | 342 | 365 | 339 | 317 | 334 | 361 | 343 | 333 | 332 | 294 | 311 | 270 | 282 | 292 | 316 |
| **15** | 342 | 345 | 360 | 342 | 361 | 345 | 317 | 344 | 366 | 350 | 335 | 333 | 297 | 316 | 266 | 288 | 296 | 321 |
| **16** | 342 | 343 | 361 | 342 | 363 | 344 | 319 | 347 | 365 | 347 | 339 | 335 | 288 | 315 | 321 | 291 | 295 | 321 |
| **17** | 346 | 345 | 366 | 368 | 368 | 346 | 323 | 354 | 361 | 352 | 343 | 341 | 301 | 316 | 272 | 290 | 306 | 322 |
| **18** | 347 | 347 | 368 | 348 | 370 | 348 | 325 | 355 | 364 | 358 | 345 | 341 | 298 | 318 | 295 | 288 | 300 | 323 |
| **19** | 343 | 347 | 369 | 348 | 371 | 348 | 303 | 315 | 342 | 336 | 322 | 321 | 291 | 304 | 260 | 280 | 302 | 313 |
| **20** | 342 | 342 | 373 | 345 | 376 | 343 | 326 | 346 | 370 | 360 | 345 | 348 | 303 | 320 | 272 | 296 | 296 | 331 |
| **21** | 344 | 343 | 373 | 347 | 373 | 344 | 315 | 335 | 359 | 351 | 338 | 336 | 303 | 320 | 270 | 292 | 292 | 334 |

وأخر دعواهم وان الحمد لله رب العالمين