

## Effet de l'intoxication a l'imidaclopride sur les poumons chez des rats femelles de souche wistar

Leila SAADI<sup>1,2\*</sup>, Fatima ARKAM<sup>1</sup> et Nemcha LEBAILI<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Département de Biologie et Physiologie Cellulaire, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Blida 1, Algérie.

<sup>2</sup>Département des Sciences Naturelles, Ecole Normale Supérieure de Kouba, Alger, Algérie.

(Received 02 June 2019 - Accepted 12 July 2019 – Published 30 July 2019)

**Résumé:** De nombreux xénobiotiques (solvants, pesticides, etc.) sont susceptibles de jouer un rôle dans le développement des maladies inflammatoires diagnostiquées au cours de ce dernier siècle. Cette étude a pour objectif l'évaluation de l'effet de l'imidaclopride à raison de 4,98 mg/kg/jour (1/85 DL50) sur l'histologie pulmonaire et sur le taux plasmatique de quelques paramètres hématologiques chez des rats femelles de souche Wistar. L'exposition à l'imidaclopride par voie orale et pendant 30 jours a provoqué une régression statistiquement significative du poids relatif des poumons et des altérations structurales au niveau des poumons. L'analyse des coupes histologiques a montré un épaississement des parois alvéolaires, une congestion sanguine et une infiltration cellulaire. Ces altérations pourraient être corrélées avec la perturbation du profil hématologique qui est présenté par une augmentation de la concentration plasmatique de la protéine C-réactive, des plaquettes sanguines et des leucocytes avec une diminution du nombre des érythrocytes, de la concentration de l'hématocrite et de l'hémoglobine. Tous ces résultats sont en faveur d'une toxicité par voie orale de l'imidaclopride à faible dose chez les rats femelles.

**Mots clés:** rats, imidaclopride, toxicité, paramètres hématologiques, poumons.

**Abstract:** Many xenobiotics (solvents, pesticides, etc.) are likely to play a role in the development of inflammatory diseases diagnosed during this last century. The objective of this study is to evaluate the effect of imidacloprid at 4.98 mg/kg/day (1/85 LD 50) on pulmonary histology and plasma levels of some hematological parameters in female rats. Exposure to oral imidacloprid for 30 days resulted in a statistically significant decrease in relative lung weights and lung structure alterations. The analysis of histological sections showed thickening of the alveolar walls, blood congestion and cellular infiltration. These alterations could be correlated with the disturbance of the hematological profile which is presented by an increase in the plasma concentration of the C-reactive protein, platelets and leucocytes with a decrease in the number of erythrocytes, the concentration of the hematocrit and hemoglobin. All of these results support the oral toxicity of imidacloprid low-dose in female rats.

**Key words:** Rats, Imidacloprid, Toxicity, hematologic parameters, lungs.

\* Corresponding author.

E-mail: [saadileila4@gmail.com](mailto:saadileila4@gmail.com) (Saadi L.).

Address: Département de Biologie et Physiologie Cellulaire, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Blida 1, Algérie

## 1. Introduction

Avec l'introduction des insecticides néonicotinoïdes, un avantage économique important a été obtenu dans l'amélioration de la productivité agroalimentaire [1]. En raison de son excellente activité insecticide [2], son large spectre d'efficacité et son mode d'action systémique [3], l'imidaclopride, un membre de la famille des néonicotinoïdes, semble la substance la plus utilisée au monde [4]. La matière active, imidaclopride, est une molécule neurotoxique qui interfère la transmission des stimuli nerveux en se liant comme un agoniste aux récepteurs de l'acétylcholine [3]. Cette voie est plus abondante chez les insectes que chez les animaux, donnant un degré de toxicité sélective pour les insectes [1]. Cependant, l'utilisation étendue de cet insecticide a été, ces dernières années, critiquée à cause de sa persistance dans l'environnement et de son accumulation dans les tissus des organismes vivants [2]. Plusieurs travaux ont rapporté intoxication des mammifères exposés à des concentrations inférieures à la dose létale d'imidaclopride. Les altérations morpho-fonctionnelles au niveau du foie, des reins, des poumons et du cerveau [3,5] ainsi que les perturbations des paramètres hématologiques et biochimiques [1,2] et la présence du processus inflammatoire [6,7] constituent les signes de cette toxicité. Dans le but de rechercher la dose la plus faible et sans effet toxique observable de l'imidaclopride sur le plan morpho-fonctionnelle, nous nous sommes proposés, dans cette étude, de chercher l'effet de cet insecticide à raison de 1/85 de DL50, pendant 30 jours, chez les rats femelles de souche Wistar.

## 2. Matériel et méthodes

### 2.1. Produit chimique

L'imidaclopride, est un néonicotinoïde, concentré à 200 g/ml de matière active, présent dans un flacon de 250 ml. L'insecticide est fabriqué par la firme allemande, Bayer. Le produit a été obtenu à partir de l'Institut National de la Recherche Agronomique (INRA) à Alger.

### 2.2 Animaux

Les animaux utilisés dans cette étude sont des rats femelles de souche Wistar (*Rattus norvegicus*) de poids moyen de 114,105 g, obtenus à partir de l'institut Pasteur de Kouba, Algérie. Avant toute expérience, les animaux ont été maintenus, pendant une période d'acclimatation dans des conditions contrôlées de la température ( $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ) et de l'humidité ( $74 \pm 10\%$ ) avec 12h de lumière et 12h d'obscurité. Tous les animaux recevaient un régime alimentaire standard équilibré sous forme de bouchons, provenant de la société industrielle de concentré à Bouzerea, Alger. L'alimentation et l'eau était fournies ad-libitum.

### 2.3. Protocole expérimentale

Les rats femelles ont été gavés quotidiennement, pendant 30 jours par l'imidaclopride à raison de 1/85 de DL 50 qui correspond à 4, 98 mg/kg/jour, dilué dans de l'eau distillée. Les rattes témoins ont été gavées quotidiennement par l'eau distillée. Le poids corporel des rattes a été pris avant, durant et à la fin du traitement pour suivre l'évolution de la masse corporelle. Après sacrifices et dissection, les poumons ont été excisés, dégagés des tissus adipeux adhérents puis pesés.

### 2.4. Protéine réactive-C

Le dosage de la protéine réactive-C (CRP) sérique a été effectué à l'aide d'un appareil CobasIntegra 400 plus. Le principe du dosage est le test de turbidimétrie amélioré des particules. La CRP s'agglutine avec les particules de latex couvrées par l'anticorps anti CRP. La concentration est mesurée en calculant la réduction due à l'absorbance de l'intensité d'un rayon lumineux traversant la suspension.

## **2.5. Formule de numération sanguine**

La détermination quantitative des éléments figurés du sang : globules rouges, globules blancs, plaquettes et des taux de l'hémoglobine et de l'hématocrite ont été réalisés par cytométrie en flux utilisée sur un automate d'hématologie de type sysmex-3000. La fraction du faisceau lumineux qui dévie ses éléments permet de les quantifier.

## **2.6. Structure des poumons**

Les poumons prélevés ont été fixés dans le formol à 10% pour réaliser la technique histologique qui passe par plusieurs étapes successives [8]. Après rinçage, déshydratations dans de l'alcool et inclusion dans la paraffine, les blocs confectionnés ont été coupés à l'aide d'un microtome « type Leica » avec une épaisseur de 5  $\mu$ m. Les lames ont été colorées ensuite à l'Hématoxyline éosine et au Trichrome de Masson. Après rehydratation et montage, les coupes ont été observées au microscopique photonique aux différents grossissements : x100, x400 et x1000. La prise des photos a été effectuée par un photo microscope type Leica.

# **3. Résultats**

## **3.1. Comportement des animaux**

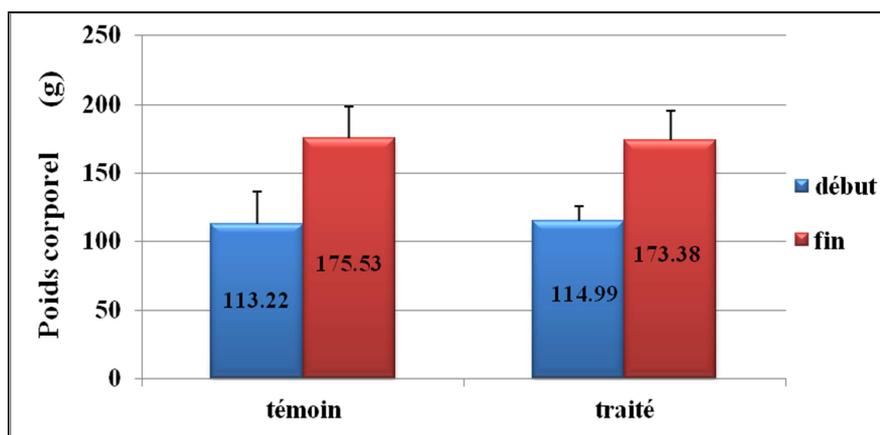
On n'a observé aucun signe de mortalité ou de changement de comportement chez les rats femelles pendant les 30 jours d'exposition à l'imidaclopride. L'ingestion moyenne de la nourriture n'a pas été changée suite au traitement.

## **3.2. Poids corporel**

D'après nos résultats, tous les rats témoins et traités ont montré une croissance pondérale au cours de l'expérimentation. Cette augmentation est de l'ordre de 55,03 % chez les rats témoins et de 50,78 % chez les rats traités. L'analyse statistique des différences en poids par rapport au début de l'expérimentation montre une augmentation hautement significative pour les traités ( $p > 0,01$ ) et très significative pour les témoins ( $0,02 > p > 0,01$ ). (Tableau I, Figure 1).

**Tableau I: Effet de la dose 1/85 DL50 d'imidaclopride sur le poids corporel.**

Groupes	Rats témoin (n=10)		Rats traités avec 1/85 DL50 de l'imidaclopride (n=10)	
	Initiale	Finale	Initiale	Finale
Moyenne ± écart type	113,22 ± 23,403	175,53 ± 23,114	114,99 ± 10,692	173,39 ± 22,072
Différence	Très significative		Hautement significative	



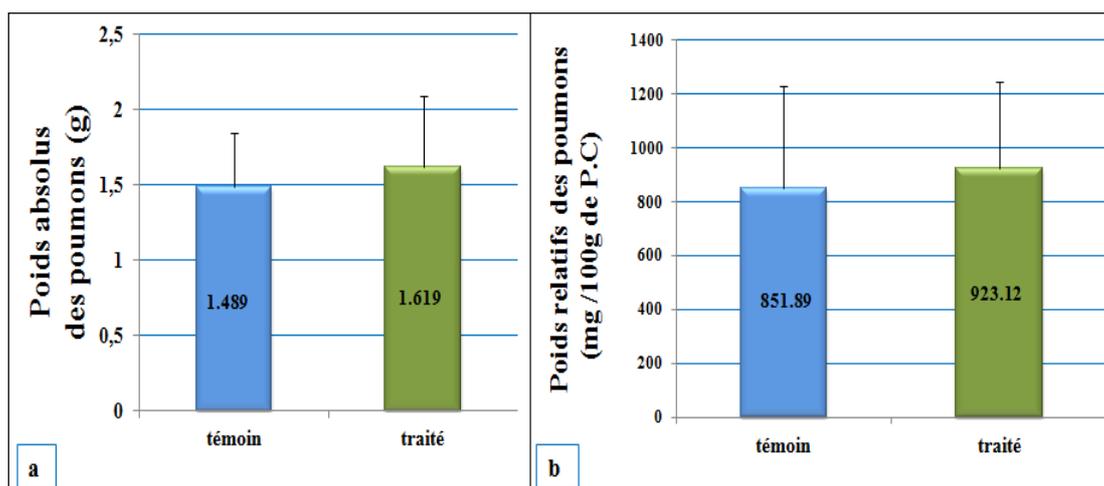
**Figure 1: Evolution du poids corporel (g) chez les rattes témoins et traitées par 1/85 DL50 d'imidaclopride.**

### 3.3. Poids des poumons

Selon les résultats obtenus, nous avons remarqué que le traitement avec 1/85 DL50 de l'imidaclopride a induit une augmentation ( $1,619 \text{ g} \pm 0,46$ ) statistiquement non significative ( $p < 0,05$ ) des poids des poumons chez les rattes traitées par rapport à ceux des témoins ( $1,489 \text{ g} \pm 0,35$ ). Les poids relatifs des poumons (mg/100g de poids corporel) ont été augmenté ( $923,12 \pm 169,55$ ) d'une façon non significative ( $p < 0,05$ ) chez les traitées par rapport à ceux des témoins ( $851,89 \pm 156,39$ ). (Tableau II, figure 2).

**Tableau II : Effet de la dose 1/80 DL50 de l'imidaclopride sur le poids absolu et relatif des poumons chez les rattes témoins et traitées.**

Groupes	Rats témoin (n=10)		Rats traités avec 1/85 DL50 de l'imidaclopride (n=10)	
	Poids relatif	Poids absolus	Poids relatif	Poids absolus
Moyenne ± écart type	0,85189 ± 0,15639	1,4896 ± 0,35019	0,92312 ± 0,16955	1,6191 ± 0,460
Différence	Très significative		Hautement significative	



**Figure 2: Effet du traitement par l'imidaclopride sur le poids absolu (a) et relatif (b) des poumons des rats femelles. P.C : Poids Corporel.**

### 3.4. Paramètres hématologiques

Il n'y avait aucune différence significative pour le taux sérique de la protéine réactive- C (CRP) entre les rattes traitées et témoins. Par rapport à la formule numérique sanguine et en comparaison avec le groupe témoin, il semble que le traitement à l'imidaclopride a induit une augmentation statistiquement non significative en nombre de leucocytes (GB) et de thrombocytes (PLT) et une diminution du nombre d'érythrocytes (GR), du taux de l'hémoglobine (HB) et de l'hématocrite (HTC). Ces différences demeurent statistiquement non significatives ( $p < 0,05$ ) (Tableau III).

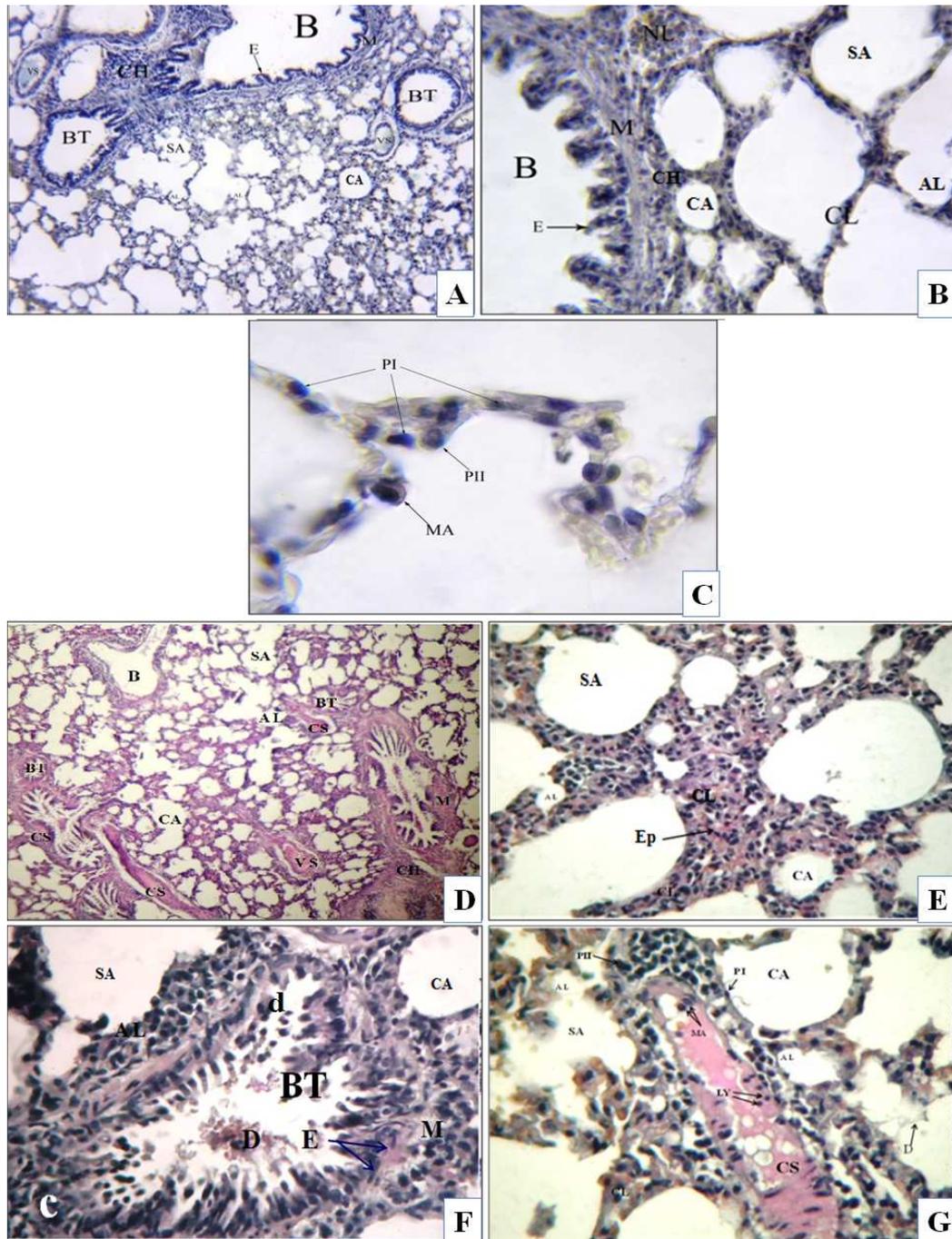
**Tableau III : Effet de la 1/85 DL50 de l'imidaclopride sur quelques paramètres hématologiques des rattes.**

Groupes		Rats témoin (n=10)	Rats traités (n=10)	Différences
		Moyenne ± écart type		
CRP (mg/ml)		52,39 ± 3,90	52,78 ± 2,52	Non significative
FNS	GB ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )	6,55 ± 2,77	10 ± 3,01	Non significative
	GR ( $\times 10^6/\text{mm}^3$ )	6,70 ± 0,34	6,35 ± 0,75	Non significative
	HB (g/100 ml)	12,05 ± 0,92	11,41 ± 1,70	Non significative
	HT (%)	37,68 ± 2,29	35,44 ± 4,99	Non significative
	PLT ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )	931,75 ± 57,46	949,43 ± 175,2	Non significative

### 3.5. Examen microscopique du parenchyme pulmonaire

La structure du parenchyme pulmonaire des rattes témoins a révélé une architecture normale chez les animaux témoins. Elle montre un grand nombre d'alvéoles séparées les unes des autres par de petits cloisons inter-alvéolaires en se connectant aux canaux alvéolaires (figure 3-A et B). Chaque alvéole entourée par un épithélium très aplatis celui-ci comprend deux types de cellules: les pneumocytes de type 1, cellules pavimenteuses possédant un noyau aplatis, sombre et ovale avec un

cytoplasme très mince et les pneumocytes de type 2, peu nombreuses, possédant des noyaux volumineux arrondis. Nous avons observé également la présence d'un macrophage (figure 3-C) et d'un nodule lymphatique (figure 3-B) et de petits vaisseaux sanguins répartis entre les alvéoles (figure 3-A). Les bronchioles possèdent, du centre à la périphérie, d'une lumière plus au moins large bordée par un épithélium déposé sur un tissu conjonctif fin. Le chorion est entouré par une couche musculaire lisse peu épaisse (figure 3-B). Des bronchioles terminales de petits diamètres étaient observées, dont la lumière est bordée par un épithélium cubique simple (figure 3-A et B). En parallèle, les coupes au niveau du parenchyme pulmonaire chez les rattes traitées ont révélé des altérations plus ou moins importantes. Ces dernières étaient caractérisées par un épaississement du septum intra-alvéolaire et la réduction du diamètre des sacs alvéolaires et des alvéoles et un épaississement des parois bronchiales terminales dont leur épithélium était altéré, discontinu et localement desquamé avec un cytoplasme vacuolisé (figure 3-D, E et F). Des débris cellulaires étaient présents dans la lumière bronchiale terminale (figure 3-F). Le phénomène de l'infiltration cellulaire était aussi observé au sein du parenchyme pulmonaire (figure 3-G) avec la présence des congestions sanguines, d'une vasodilatation associée à l'accumulation des hématies et d'une hémorragie modérée (figure 3- D, F et G).



**B:** Bronchiole; **BT:** Bronchiole terminale; **CA:** canal alvéolaire; **E:** épithélium; **M:** muscle lisse; **Sa:** sac alvéolaire; **Ch:** chorion; **AL:** alvéole; **CL:** cloison alvéolaire; **MA:** macrophage. **Ep:** Épaississement; **D:** Débris cellulaires; **d:** desquamation. **PII:** Pneumocyte de type 2; **PI:** Pneumocyte de type 1. **CS:** Congestion sanguine. **NL:** Nodule lymphatique, **H :** hémorragie.

**Figure 1 : Structure pulmonaire chez les rattes témoins (A, B et C) et traitées avec 1/85 DL50 de l'imidaclopride (D, E, F et G).**

**Coloration: Trichromatique de Masson: (A, B, C, E, F et G) et H&E : (D).**

**Grossissements : x100 (A et D); X.400 (B, E, F et G); x1000 (c).**

#### 4. Discussion

Les observations réalisées durant cette expérimentation ne font apparaître aucun changement de comportement chez les animaux. Les rattes témoins et traités pendant 30 jours ont présenté un gain de poids qui reflète la disponibilité de la nourriture riche en composés nutritifs et le mode de vie sédimentaire provoqué chez les rattes. Des résultats contradictoires ont été rapportés par Bhardwaj et al. [1] chez des rats femelles de souche wistar qui ont subi une régression du poids corporel, une salivation et une diarrhée après l'exposition de 90 jours à 20 mg/kg/jour d'imidaclopride. La croissance pondérale et corrélée avec le l'augmentation du poids relatif des poumons. Des résultats similaires ont été signalés par Mahdeb [9] ou ils ont enregistré une croissance significative de la du poids relatif des poumons et des reins chez des rats traités par différents xénobiotiques. Plusieurs auteurs ont expliqué cette augmentation par la présence d'une congestion sanguine [10] et des œdèmes [11]. L'étude des coupes histologiques des poumons a permis de montrer que, suite à une exposition de 30 jours d'imidaclopride par gavage, cet insecticide est capable d'induire des effets délétères sur la structure pulmonaire.

Des résultats similaires ont été relatés chez différents animaux traités par divers produits toxiques. Cela témoigne l'installation une inflammation pulmonaire [12-13]. Selon Newland et Richter [14] l'épithélium pulmonaire joue un rôle crucial au cours de l'inflammation en synthétisant les différentes interleukines (1 et 3) qui stimule la diapédèse leucocytaire, d'où l'infiltration cellulaire observée au niveau du chorion pulmonaire. Deb et al. [15] ont montré que l'épaississement des parois alvéolaires est dû à la synthèse fibreuse, à l'infiltration des cellules mononucléaires et à la prolifération des fibroblastes. Les cloisons inter-alvéolaires deviennent épaisses suite à l'augmentation de la matrice extracellulaire et à la prolifération des cellules épithéliales pulmonaires, des pneumocytes de type II en particulier, et de leurs volumes cellulaires (hyperplasie et hypertrophie) [16]. Ces cellules synthétisent des cytokines jouant un rôle activateur et chimio-attractant des monocytes qui se différencient en macrophages au niveau du chorion pulmonaire où ces cellules exercent leur effet inflammatoire [17]. Cela peut expliquer la réduction du diamètre des alvéoles, observée chez les rattes traitées.

L'exposition à une dose faible d'imidaclopride ne semble pas perturber significativement les paramètres hématologiques étudiés. Par contre diverses études cliniques et expérimentales ont indiqué que les pesticides, y compris les néonicotinoïdes, causent souvent des désordres hématologiques [6,11]. Le dosage sanguin a montré une augmentation de la CRP qui indique la présence d'un processus inflammatoire systémique selon Wilson [18]. La production de l'IL6 au cours de l'inflammation contribue à la stimulation de la thrombopoïèse, donnant lieu à une hyperplaquettose qui est accompagné souvent par une augmentation de la CRP et de la vitesse de sédimentation [19]. Cette augmentation est associée à celle du nombre de leucocytes qui est souvent considérée comme un signe évident de l'activation du système immunitaire [20]. Ces résultats concordent à ceux trouvés par Ammar et al. [6], qui ont rapporté l'augmentation significative du nombre des leucocytes chez les rats traités avec différentes doses d'imidaclopride (1/10 et 1/25 DL50). Des résultats similaires ont été également rapportés par Mohany et al. [2] chez des rats traités avec 1/100 de DL50 d'imidaclopride. Morowati [12] a reflété la réduction du taux de l'hémoglobine et du nombre d'érythrocytes à l'effet toxique du pesticide entraînant ainsi des hémorragies et des dysfonctionnements du système hématopoïétiques.

## 5. Conclusion

Nos résultats montrent que la faible dose d'imidaclopride administrée pendant 30 jours par gavage chez la ratte provoque des effets cyto-toxiques au niveau des poumons. Ces effets sont associés avec l'inflammation.

## 6. Références bibliographiques

- [1] Bhardwaj S., Srivastava M.K., Kapoor U., Srivastava LP., 2010. -A 90 days oral toxicity of imidacloprid in female rats: Morphological, biochemical and histopathological evaluations. Food Chem. Toxicol. 48:1185-1190.
- [2] MohanyM., Badr G., Refaat I. and El-Feki M., 2011. - Immunological and histological effects of exposure to imidacloprid insecticide in male albino rats. African Journal of Pharmacy and Pharmacology. 5 (18): 2106-2114.
- [3] Kammon A.M., Brar R.S., Banga H.S. and Sodhi S., 2010. - Patho-biochemical studies on hepatotoxicity and nephrotoxicity on exposure to chlorpyrifos and imidacloprid in layer chickens. VeterinarskiArhiv. 80: 663-672.
- [4] Felsot A.S. and Ruppert JR., 2002. - Imidacloprid residues in Willapa Bay (Washington State) water and sediment following application for control of burrowing shrimp. J. Agric. Food Chem. 50: 4417-4423.
- [5] El-Gendy K.S., Aly N.M., Mahmoud F.H., Kenawy A. and El-Sebae A.K., 2010. - The role of vitamin C as antioxidant in protection of oxidative stress induced by imidacloprid. Food chem. Toxicol. 48: 215-221.
- [6] Ammar M., Rabeih K., Abou El-Khear A. and Nema M., 2003. - Hematological studies of some pesticides on albino rats, *Rattus norvegicus albinus*. Alex J. Pharmaceut. Sci. Egy., 17:21-27.
- [7] Balani T., Agrawal S and Thaker A.M., 2011. - Hematological and biochemical changes due to short-term oral administration of imidacloprid. Toxicol. Int., 18(1): 2-4.
- [8] Martoja R., Martoja M., 1967- Initiation aux techniques de l'histologie animale. Ed., Masson, Paris, 345p.
- [9] Mahdeb N. 2002. - Etudes toxiques du Datura Stramonium L. Effet de l'extrait des feuilles sur le cerveau et le foie des rats. Thèse de Magistère. Université Farhet Abbas Sétif. pp. 77-78.
- [10] Kara N. 2008. - Toxicité du Datura stramonium chez les animaux d'élevage: Enquête et expérimentation sur les animaux de laboratoire. Thèse de Magistère. Université Farhet Abbas Sétif. Algerie. pp. 63.
- [11] Goyal S., Sandhu H. S. and Brar R. S., 2010. -Histopathological alterations induced after oral sub-acute thiacloprid toxicity in Gallus domesticus. Vet. arhiv 80: 673-682.
- [12] Morowati. M., 1998. - Inhalation toxicity studies of Thimet (Phorate) in the male swiss albino mouse, Mus musculus: II. Lung histopathology, pseudocholinesterase level and haematological studies. Environmental Pollution 103: 309-315.
- [13] GokceUzun F., Demir F., Kalender S., Bas H., Kalender Y. 2010. -Protective effect of catechin and quercetin on chlorpyrifos-induced lung toxicity in male rats. Food and Chemical Toxicology. 48: 1714-1720.
- [14] Newland N. and Richter, A. 2008 -Agents associated with lung in ammation induce similar responses in NCI-H292 lung epithelial cells. Toxicology in vitro. Pp.7.
- [15] Deb U., Lomash V., Raghuvanshi S., Pant S.C. Vijayaraghavana R., 2012. -Effects of 28 days silicon dioxide aerosol exposure on respiratory parameters, blood biochemical variables and lung histopathology in rats. Environmental Toxicology and Pharmacology. 23: 977-984.
- [16] Chen J., Cui Y., Sun Y., Lou J., Liu Z., 2003- Experimental study on fibrogenic effect of fur dust on rat lung. Environ. Health Prev. Med. 7 (6): 292-294.

- [17] Paul B.N., Prakash A., Kumar S., Yadav A.K., Mani U., Saxena A.K., Sahu A.P., Lal K., Dutta K.K., 2002. - Silica induced early fibrogenic reaction in lung of mice ameliorated by *Nyctanthes arbor tristis* extract. Biomed. Environ. Sci. 15 (3): 215–222.
- [18] Wilson P.W., 2008. - Evidence of systemic inflammation and estimation of coronary artery disease risk: a population perspective. Am. J. Med. 121: S15-S21.
- [19] Samama M.M., Elalamy I., Conard J., Achkar A., Horellou MH., 2004. - Hémorragies et thromboses du diagnostic au traitement. Masson, paris. 60:15-16.
- [20] Kantari C., Pederzoli-Ribeil M. and Witko-Sarsat V. 2008-The role of neutrophils and monocytes in innate immunity. Contrib. Microbiol., 15: 118-146.