

CONTRIBUTION A LA RECHERCHE DES INDICES DE LA TOXICITE RENALE D'UN INSECTICIDE CHEZ LES RATS FEMELLES DE SOUCHE WISTAR

L. SAADI¹, N. KHALDOUN¹, N. KERKAR¹ et R. MATALLAH²

1 - Université de Blida-Faculté des Sciences Agro-Vétérinaires-B.P.270, Route de Soumaa 09100 Blida (Algérie).

2 - Ecole Normale Supérieure de Kouba-Département des Sciences Naturelles, Kouba (Algérie).

E-mail 1 : saadileila4@gmail.com

RÉSUMÉ

Grâce à sa faible persistance dans le sol et sa haute activité insecticide, l'imidaclopride est le néonicotinoïde le plus utilisé dans le monde pour défendre les récoltes. Le présent travail a pour but d'évaluer la toxicité chronique orale de 1/25 DL50 (17,6 mg/kg/j) d'imidaclopride pendant 60 jours, chez des rats femelles de souche Wistar dont l'âge est de 4 mois. Une étude comparative entre les témoins (n=10) et les traités (n=10) est réalisée à partir des dosages biochimiques des paramètres rénaux ainsi que l'analyse des observations histologiques du parenchyme rénal. D'après les résultats, un gain de poids corporel ($220\text{g} \pm 22,63$ par rapport à $183,8\text{g} \pm 16,43$) est observé avec aucune mortalité n'est arrivée pendant la période du traitement. En revanche, l'activité rénale est altérée sans, toutefois, de changement significatif des poids absolu ($1,511\text{g} \pm 0,109$ par rapport à $1,569\text{g} \pm 0,313$ chez les témoins) et relatif des deux reins ($0,689\text{g} \pm 0,051$ par rapport à $0,741\text{g} \pm 0,039$ chez les témoins). Le parenchyme montre une dégénérescence de certains glomérules rénaux accompagné de l'installation d'un dysfonctionnement rénal traduit par l'augmentation des taux plasmatiques de l'urée ($0,8\text{g/l} \pm 0,22$ par rapport à $0,41\text{g/l} \pm 0,043$ chez les témoins), de la créatinine ($7\text{mg/l} \pm 0$ par rapport à $3,83\text{mg/l} \pm 0,546$ chez les témoins) et de l'acide urique ($60\text{mg/l} \pm 5,55$ par rapport à $28,216\text{mg/l} \pm 6,08$ chez les témoins). A l'issue de ces résultats, on peut conclure que même avec une faible dose, l'imidaclopride induit des effets toxiques remarquables aux rats femelles.

Mots Clés : Activité rénale ; DL50 ; Imidaclopride ; Rats femelles ; Toxicité.

SUMMARY

In favor to its low soil persistence and its high insecticidal activity, the imidacloprid, is the most neonicotinoïde used in the world to defend the harvests. The present work has for purpose to estimate the oral chronic toxicity of 1/25 DL50 (17.6 mg/kg/day) of imidacloprid during 60 days to rats adults females. A comparative study between controls (n = 10) and treated (n = 10) is made from biochemical assays of renal parameters and histological analysis of the renal parenchyma. Based on the results, a body weight gain ($220\text{g} \pm 22.63$ compared with $183.8\text{g} \pm 16.43$) was observed with no mortality arrived during the treatment period. However, the renal activity is altered without significant change in absolute ($1.511\text{g} \pm 0.109$ compared with $1.569\text{g} \pm 0.313$ in control) and relative ($0.689\text{g}\% \pm 0.051$ compared with $0.741\text{g}\% \pm 0.039$ in control) kidney weights. The parenchyma shows a degeneration of some renal glomerule accompanied with the installation of a renal dysfunction translated by the increase in the plasma urea ($0.8\text{g/l} \pm 0.22$ compared with $0.41\text{g/l} \pm 0.043$ in control), of the creatinine ($7\text{mg/l} \pm 0$ compared with $3.83\text{mg/l} \pm 0.546$ in control) and acid uric ($60\text{mg/l} \pm 5.55$ compared with $28.216\text{mg/l} \pm 6.08$ in control). In the stemming from these results, we can conclude that even with a low dose, the imidacloprid incites remarkable toxic effects to rat adult female.

Key Words : DL50 ; Female rat ; Imidacloprid ; Renal activity ; Toxicity.

INTRODUCTION

Les insecticides sont utilisés dans l'agriculture pour augmenter la production végétale en éliminant les insectes indésirables et en contrôlant les vecteurs des maladies. Par conséquent, la persistance de ces substances dans l'environnement, leur accumulation dans la chaîne alimentaire peuvent causer des problèmes réels tels que la pollution environnementale et les intoxications aiguës et chroniques chez les animaux (BISMUTEH *et al.*, 2000).

L'imidaclopride, 1[(6-chloro-3-pyridinyl) méthyle]-n-nitro-2-imidazolidinimine, est un insecticide néonicotinoïde utilisé sur beaucoup de récoltes comme le coton, la tomate, le maïs, la betterave, le tabac, les légumes, les céréales et les pommes de terre (DANESHVAR *et al.*, 2007). En Algérie, l'imidaclopride est largement utilisé pour protéger les arbres fruitiers contre les pucerons et les mineuses. Il est largement utilisé dans le monde entier pour la défense des cultures grâce à sa faible persistance dans le sol, sa haute activité insecticide à de faibles doses (DEMSIA *et al.*, 2007) et à sa faible toxicité chez les mammifères (TOMIZAWA et CASIDA, 2003). Cependant, certaines recherches basées sur la toxicité orale d'une dose faible d'imidaclopride (20 mg/kg/j) administrée pendant 90 jours ont permis de révéler la présence des signes de toxicité hépatique et rénale chez les rats femelles adultes (BHARDWAJ *et al.*, 2010). DUZGUNER et ERDOGAN (2009) ont suggéré que l'administration orale de 26 mg/kg/j d'imidaclopride provoque un stress oxydatif et une inflammation au niveau du cerveau et du foie chez

des rats mâles adultes. Afin d'approfondir les données sur la toxicité orale des doses faibles de l'imidaclopride, notre présent travail a pour but d'évaluer les effets de toxicité orale de 1/25 DL50 (17,6 mg/kg de poids corporel/j) d'imidaclopride sur la croissance et sur la structure du parenchyme rénal chez des rats femelles.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Animaux

Les expériences de cette étude ont été effectuées sur 20 rats femelles de souche Wistar, dont le poids moyen est de 197,5g±12,10 acquis auprès de l'institut Pasteur de Kouba. Avant l'expérimentation, les animaux sont soumis à une période d'acclimatation à des conditions d'ambiance contrôlées de température (22±2°C), d'hygrométrie (74±10%) et de régime photopériodique (12 h d'obscurité/12 h de lumière artificielle). Ils reçoivent un régime alimentaire équilibré sous forme de bouchons en provenance de la Société industrielle de concentré de Bejaia et de l'eau à volonté.

2- Insecticide

L'imidaclopride est utilisé sous forme d'une solution concentrée brune (800 mg/ml d'eau). La concentration utilisée (1/25 DL50) est calculée d'après la DL50 qui est de 440 mg/kg chez le rat Wistar (LAMAREE, 2007).

3- Expérimentation

Les animaux sont répartis en deux groupes. Le premier groupe de rats témoins (n=10) dont le poids vif moyen est de 211,7g±40,10 reçoit de l'eau et de la nour-

riture *ad libitum*. Le deuxième groupe de rats ($n=10$) a un poids vif moyen de $183,8g \pm 16,43$ est traité par voie orale par la 1/25DL50 (17,6 mg/kg de poids corporel/j) d'imidaclopride une fois par jour pendant 60 jours mais ils reçoivent de l'eau et de la nourriture à volonté.

4- Prélèvement des échantillons et des organes

Les animaux sont sacrifiés par décapitation le matin entre 9 h et 11 h. Le sang artérioveineux est recueilli dans des tubes d'héparine puis centrifugé rapidement pendant 15 min à 3000g. Le plasma recueilli est destiné aux dosages de l'urée, de l'acide urique et de la créatinine. Les deux reins sont prélevés, pesés et plongés dans le liquide fixateur (Formol) afin de réaliser l'étude histologique. Le poids relatif des reins est calculé comme suit : $(\text{Poids absolu de l'organe (g)} / \text{Poids absolu (g)}) \times 100$.

5- Détermination des paramètres rénaux

Le dosage plasmatique de l'urée et de l'acide urique est réalisé par une méthode colorimétrique enzymatique (CHANEY et MARBACH, 1962 ; FOSSATI *et al.*, 1980) alors que, le taux plasmatique de la créatinine est effectué par une méthode colorimétrique cinétique (BARTELS et BOHMER, 1971).

6- Etude histologique

Nous avons suivi le protocole de l'étude histologique selon GABE (1961). La fixation des fragments rénaux est réalisée dans le formol à 10% pendant 48 heures puis ils sont rincés à l'eau courante renouvelée plusieurs fois pendant 24 heures. Les fragments sont déshydratés dans des bains d'alcool éthylique à concentration croissante : trois bains de 30 minutes d'alcool 70°, trois

bains de 30 minutes d'alcool 95° et deux bains de 30 minutes d'alcool 100°. L'éclaircissement est effectué dans deux bains de xylène pendant 30 minutes chacun. Dans une étuve réglée à 58°C, les fragments sont imprégnés dans deux bains successifs d'une heure chacun : le premier bain de 50% de xylène et de 50% de paraffine pure dissoute et le deuxième bain comprend de la paraffine pure. Après confection des blocs de paraffine, des coupes de 5µm d'épaisseur sont réalisées. Ces dernières sont colorées ensuite avec l'hématoxyline-éosine et observées au microscope photonique à différents grossissements (X40 ; X400).

7. Analyse statistique

Les résultats sont présentés sous forme de moyennes \pm SEM. Une analyse de variance puis un test t de Student sont effectués pour la comparaison des rats témoins et des rats traités. Les différences sont jugées significatives quand $p < 0,05$.

RÉSULTATS

1. Evolution pondérale

Au bout de 60 jours, le gain du poids chez les rats traités est important par rapport à celui des témoins (19,9% et 8,6% respectivement) (Tableau 1). Cependant, aucun effet significatif du traitement sur le poids absolu des deux reins n'est enregistré ($1,51g \pm 0,109$ par rapport à $1,5g \pm 0,313$ chez les témoins ; $p < 0,05$). Des résultats similaires sont rapportés concernant le poids relatif des deux reins ($0,69g \pm 0,051$ par rapport à $0,74g \pm 0,039$ chez les témoins) (Tableaux 2).

Tableau 1 : Variation du poids corporel exprimé en gramme chez les rats témoins et traités à l'imidaclopride.

Lots des rats	Témoins (n=10)		1/25 DL50 d'imidaclopride (n=10)	
	Avant l'expérimentation	Après l'expérimentation	Avant l'expérimentation	Après l'expérimentation
Moyenne et E cartype (g)	211,7±40,10	230±35	183,8± 16,43	220 ±22,63
Différence %	8,64		19,96	

Tableau 2 : Variation du poids absolu (g) et relatif (g%) des deux reins chez les rats témoins et traités à l'imidaclopride.

Lots des rats	Poids absolu (g)	Poids relatif (g%)
Témoins (n=10)	1,569 ±0,313	0,682 ±0,039
Traité (n=10)	1,511± 0,109	0,689 ± 0,051

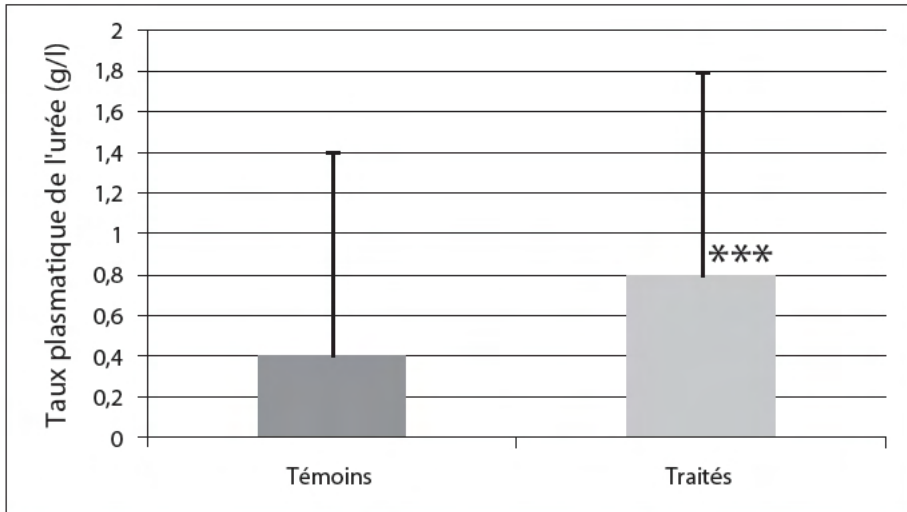
2. Détermination de l'activité rénale

Le traitement avec 17,6 mg/kg/j d'imidaclopride pendant 60 jours entraîne une augmentation hautement significative des taux de l'urée plasmatique (0,8g/l±0,22 par rapport aux témoins 0,41g/l±0,043 ; p>0,01) (Figure 1), de la créatinine plasmatique (7mg/l±1,0 par rapport à 3,83mg/l±0,546 chez les témoins ; p>0,01) (Figure 2) et de l'acide urique (60mg/l ± 5,55 par rapport à 28,216mg/l±6,08 chez les témoins ; p>0,01) (Figure 3) soit des écarts respectifs de 49%, 45% et 53%.

3- Histologie du parenchyme rénal

Chez les témoins, le cortex rénal est constitué de l'extérieur à l'intérieur d'une

capsule conjonctive mince sous laquelle se trouve un parenchyme constitué de glomérules denses, de forme plus ou moins arrondie avec un contour irrégulier. Ces glomérules, entourés par une chambre glomérulaire évidente, contiennent des cellules avec différents noyaux (Figure 4). Les tubes entourant les glomérules sont de tubes contournés proximaux avec une lumière réduite et des tubes distaux. Le traitement par 1/25 DL50 d'imidaclopride pendant 60 jours provoque des détériorations remarquables au niveau du parenchyme rénal : rétrécissement de quelques glomérules rénaux avec la dilatation de la chambre glomérulaire, dégénérescence des autres et présence de l'infiltration cellulaire (Figure 5).



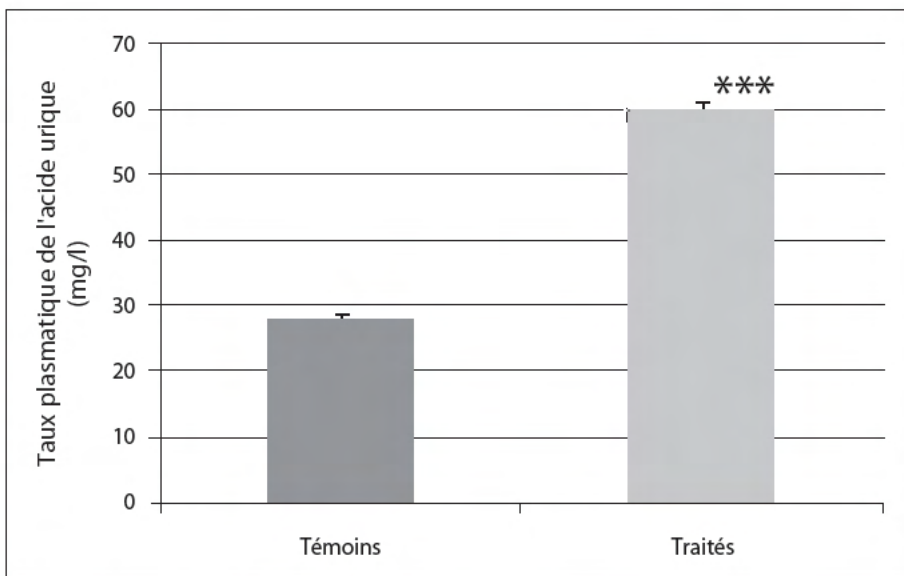
*** : Hautement significative

Figure 1 : Influence de l'imidaclopride sur la teneur plasmatique en urée chez les rats femelles (n= 10).



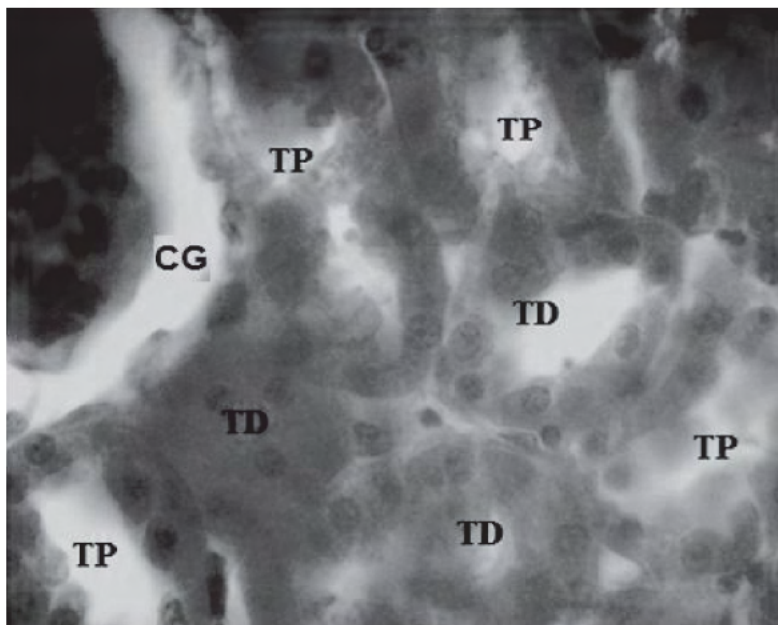
*** : Hautement significative

Figure 2 : Influence de l'imidaclopride sur la teneur plasmatique en créatinine chez les rats femelles (n= 10).



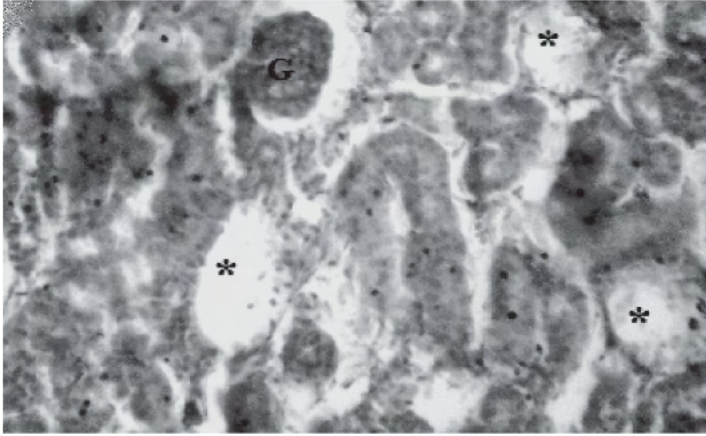
*** : Hautement significative

Figure 3 : Influence de l'imidaclopride sur la teneur plasmatique en acide urique chez les rats femelles (n=10).



G : Glomérule rénal ; CG : Chambre glomérulaire ; TD : Tubes distaux ; TP : Tubes proximaux.

Figure 4 : Histologie du parenchyme rénal des rats femelles témoins (n=10)
Coloration Hématoxyline-éosine ; Grossissement : X400 avec Zoom.



G : Glomérule rénale ; * : dégénérescence glomérulaire.

Figure 5 : Histologie du parenchyme rénal des rats femelles traités par 1/25 DL50 d'imidaclopride (n=10). Coloration Hématoxyline-éosine ; Grossissement: X400.

DISCUSSION

Dans nos conditions expérimentales, aucun changement de comportement n'est signalé chez les rats recevant de l'imidaclopride, contrairement à BHARDWAJ *et al.*, (2010) qui notent des signes de toxicité, diarrhée et salivation chez les rats traités oralement par 20 mg/kg/j d'imidaclopride. Le pourcentage de mortalité chez les rats traités est nul. Des résultats similaires sont signalés par BHARDWAJ *et al.*, (2010) chez les rats femelles adultes traités, pendant 90 jours, avec les doses de 5 mg/kg/j et de 10 mg/kg/j d'imidaclopride. Le traitement avec 1/25 DL50 d'imidaclopride ne semble pas perturber le poids corporel des rats puisque tous les groupes (témoins et traités) ont montré un gain corporel remarquable qui sert comme un index de la croissance (PALANI *et al.*, 1999). BHARDWAJ *et al.*, (2010) ont noté une réduction du poids corporel des rats femelles

recevant oralement 20 mg/kg/j d'imidaclopride pendant 90 jours. Ces chercheurs ont considéré cette régression, qui est due à la faible consommation de l'alimentation, comme signe de toxicité.

L'analyse des coupes histologiques des reins chez les rats traités avec l'imidaclopride révèle une altération du parenchyme rénale se manifestant par un rétrécissement de quelques glomérules rénaux, la dégénérescence des autres glomérules et la dilatation de la chambre glomérulaire. Ces altérations seraient éventuellement liées à l'augmentation de l'activité rénale expliquée par des teneurs plasmatiques d'urée, de créatinine et d'acide urique deux fois plus importantes. Cela témoigne probablement de l'installation d'une insuffisance rénale transitoire, avec la baisse de la filtration glomérulaire. Selon les résultats d'El FEKI *et al.*, (1981) ; STENGEL (1996) ; SMAOUI *et al.*, (2000) et MOHAMED *et al.*, (2003), l'intoxication par certains pesti-

cides induit un dysfonctionnement tubulaire ou une néphropathie tubulo-interstitielle, qui évolue vers une insuffisance rénale. De plus POLLAK et HARSAS (1982) ont montré que les xénobiotiques (polluants, pesticides...etc) inhibent l'incorporation des acides aminés dans les protéines causant une augmentation des niveaux de la créatinine, de l'urée et de l'acide urique.

CONCLUSION

Cette étude démontre combien il est capital de mieux prendre en compte les effets de faibles doses dans l'évaluation du risque de l'imidaclopride sur l'organisme. Cela appelle à d'autres études approfondies sur le mode d'action de la substance active et des métabolites au niveau des autres organes.

Références bibliographiques

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 : 1185–1190.

BARTELS H., BOHMER M. 1971. Creatina Cinética-espectrofotométrica. *Clin Chim Acta.* 32 : 81.

BISMUTEH C.H., BAUD F., CONSO F., DALLY S., FREJAVILLE J.P., GARNIER R. ET JAEGER A. 2000. Toxicologie clinique. Flammarion médecine sciences. 5^{ème} édition, Paris. Pp : 512-519.

CHANEY A.L., MARBACH E.P. 1962. Reagents for determination of urea and ammonia. *Clin Chem.* 8 : 130-132.

DANESHVAR N., ABER S., KHANI A., ET KHATACE A.R., 2007. Study of imidacloprid removal from aqueous solution by adsorption onto granular activated carbon using an spectrophotometric analysis system. *Journal of Hazardous Materials* 144 : 47-51.

DEMSIA G., VLASTOS D., GOUMENOU M., MATTHOPOULOS D.P. 2007. Assessment of the genotoxicity of imidacloprid and metalaxyl in cultured human lymphocytes and rat bone-marrow. *Mutation Research* 634 : 32-39.

DUZGUNER V., ERDOGAN S. 2009. Acute oxidant and inflammatory effects of imidacloprid on the mammalian central nervous system an liver in rats. University of Turkey, 12 p.

EL FEKI A., GRIBAA S., GHARBI LAS-SERAM N., KAMMOUN A. 1981. Taux de catabolisme hépatique de la corticostérone chez les rats soumis à diverses agressions. *Journal of Physiology* 77 : 17A.

FOSSATI P. 1977. Le diabète de type 2, précis de diabétologie. Masson. Pp 2902-296.

GARNIER R. ET JAEGER A. 2000. Toxicologie clinique. Flammarion Médecine Sciences Paris. Pp : 512-519.

LARAMEE S. 2007. L'abeille domestique comme bio-indicateur ecotoxicologique de polluants : le cas de l'insecticide Imidaclopride. Centre apicole de recherche et d'information, Université catholique de Louvain, Louvain-la-Neuve. Belgique. Pp 15.

MOHAMED M., ABDELLATIF MD., SABAR A., ELGLAMMAL MD. 2003. Sodium fluoride ion and renal function after prolonged sevoflurane or isoflurane anaesthesia. *Eng J Anaesth* 19 : 79-83.

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

POLLAK J.K. HARAS W. 1982. Effects of organochlorine compounds on lipid catabolism of foetal rat liver mitochondria and microsomes. *Bull Environ Contam Toxicol* 28 : 313-18.

SMAOUI M., GORBEL F., BOUGELBEN M., MAKNI-AYADI F. EL FEKI A. 2000. Impact de l'exposition chronique aux gaz d'échappement d'origine automobile sur certains biomarqueurs touchant la fonction hormonale sexuelle male, la fonction rénale et l'hémogramme chez le rat. *Pollut. Atmos* 167 : 439-449.

STENGEL B. 1996. Maladies rénales d'origine toxique professionnelle, in : *Encyclopédie Médico-Chirurgicale*, Elsevier, Paris, 8 p.

TOMIZAWA N., CASIDA J.E. 2003. Selective toxicity of neonicotinoids attributable to specificity of insect and mammalian nicotinic receptors. *Annu Rev Entomol* 48 : 339-364.