



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère De L'enseignement Supérieur et de La Recherche Scientifique
Université de Saida– Dr. Moulay Tahar
Faculté des Sciences, Département De Biologie
Laboratoire De Biotoxologie, Pharmacognosie Et Valorisation
Biologie Des Plantes

Thèse

Présentée pour obtenir le diplôme de

Doctorat 3^{ème} Cycle

Spécialité : Biochimie Et Toxicologie Expérimentale

Filière : Sciences biologiques

Présentée par : M^{me} TAIBI Narimane

Intitulé

Contribution à l'étude de l'effet bénéfique de l'extrait aqueux de *Pimpinella Anisum L.* (anis vert) chez les rats Wistar exposés subchroniquement à deux pesticides (imidaclopride et formaldéhyde) utilisés en Algérie.

Soutenu devant le jury:

N°	Nom et prénom	Grade	Etablissement	Qualité
01	M ^r . SLIMANI Miloud	Prof.	Université de Saida - Dr. Moulay Tahar	Président
02	M ^r . KAHLOULA Khaled	Prof.	Université de Saida - Dr. Moulay Tahar	Rapporteur
04	M ^r . ZIANI Kadour	MCA	Université de Saida - Dr. Moulay Tahar	Examinateur
05	M ^{lle} . AIT HAMADOUCHE Nadia	Prof.	Université Ahmed Ben Bella -Oran	Examinatrice
06	M ^{lle} . MOKHTAR Meriem	MCA	Université Abdelhamid Iben Badis- Mostaghanem	Examinatrice

Année Universitaire: 2019-2020

Résumé

Aujourd'hui, les pesticides sont soupçonnés de présenter un risque pour la santé humaine et pour l'environnement. L'imidaclopride (IMD) est un insecticide qui appartient à la famille des néonicotinoïdes et parmi les pesticides les plus utilisés au monde en agriculture. Le formaldéhyde (FA) est un produit chimique organique largement utilisé dans le monde entier et a des effets dangereux pour l'homme et son environnement. Extrêmement courant, ce produit est utilisé comme désinfectant ou biocide. *Pimpinella anisum L.* est l'une des plantes médicinales. Son huile essentielle et ses extraits ont des diverses activités biologiques. Dans cette étude nous sommes intéressés à évaluer d'un côté, l'effet toxique de deux pesticides, l'imidaclopride et le formaldéhyde, sur un modèle animal ; les rats *Wistar* pendant 28 jours ; 30 jours respectivement, et d'un autre côté d'estimer l'effet thérapeutique de l'extrait aqueux de *Pimpinella anisum* (EAP) contre cette toxicité. En se basant sur quatre approches : neurocomportementale, biochimique, hématologique et histologique. L'exposition à ces pesticides entraîne un retard de la croissance pondérale, ainsi qu'une perturbation du développement hépatique et rénal. Nos résultats montrent également que les deux pesticides utilisés (IMD et FA) provoquent une neurotoxicité qui apparaît à travers, les changements neurocomportementaux qui se sont manifestés par une dépression, une anxiété, une perturbation de l'apprentissage et la mémoire spatiale, ainsi qu'une dégénérescence des cellules cérébrales chez les animaux exposés aux pesticides par rapport aux animaux intoxiqués traités par l'EAP et animaux témoins. L'étude biochimique a mis en évidence une perturbation des paramètres hépatiques qui se traduit par une élévation significative ($P < 0.001$) du taux sérique de l'ASAT, ALAT et PAL ainsi que les paramètres rénaux à savoir l'urée ($P < 0.05$, $P < 0.01$), créatinine ($P < 0.01$, $P < 0.001$) chez les rats exposés à l'IMD et au FA par rapport aux rats témoins respectivement. Il ressort à travers l'hémogramme, une réduction significative du taux sérique des thrombocytes ($P < 0.001$), érythrocytes ($P < 0.001$), hémoglobine ($P < 0.001$) et hématocrite ($P < 0.05$; $P < 0.01$) chez les rats intoxiqués par l'IMD et par le formaldéhyde comparativement aux rats témoins respectivement. Les résultats montrent aussi une augmentation significative ($P < 0.01$) du nombre des leucocytes chez les animaux exposés à l'IMD ainsi que sa diminution significative ($P < 0.01$) chez les animaux exposés au FA par rapport aux animaux témoins. L'étude histologique a montrée une atteinte cellulaire ainsi que des modifications structurales et des altérations au niveau des différents tissus chez les lots intoxiqués par les deux pesticides comparativement aux lots témoins et intoxiqués traités. Par ailleurs, le traitement par l'extrait aqueux de *Pimpinella anisum* durant deux semaines nous a permis d'enregistrer un effet correcteur sur l'altération des différents paramètres récents, en minimisant la toxicité induite par l'imidaclopride et le formaldéhyde. À partir de nos résultats, on peut conclure que l'extrait aqueux de *Pimpinella anisum* présente un effet bénéfique face à la toxicité induite par les deux pesticides.

Mots clés : Imidaclopride, Formaldéhyde, *Pimpinilla anisum*, Mémoire, Apprentissage.

Abstract

Today, pesticides are suspected of posing a risk to human health and the environment. Imidacloprid (IMD) is an insecticide that belongs to the neonicotinoid family and is among the most widely used pesticides in agriculture worldwide. Formaldehyde (FA) is an organic chemical that is widely used worldwide and has dangerous effects on humans and the environment. Extremely common, it is used as a disinfectant or biocide. *Pimpinella anisum L.* is one of the medicinal plants. Its essential oil and extracts have various biological activities. In this study we were interested in evaluating on one hand, the toxic effect of two pesticides, imidacloprid and formaldehyde, on an animal model; Wistar rats for 4 weeks, and on the other hand to estimate the therapeutic effect of the aqueous extract of *Pimpinella anisum* (EAP) against this toxicity. Based on three approaches: neurobehavioral, biochemical and histological. Exposure to these pesticides leads to a delay in weight growth, as well as a disturbance in liver and kidney development. Our results also show that the two pesticides used (IMD and FA) induced neurotoxicity that appeared through, neurobehavioral changes manifested by depression, anxiety, disturbance of learning and spatial memory, as well as brain cell degeneration in animals exposed to the pesticides compared to poisoned animals treated with EAP and control animals. The biochemical study showed a disturbance of liver parameters resulting in a significant elevation ($P < 0.001$) of serum AST, ALT and PAL as well as renal parameters namely urea ($P < 0.05$, $P < 0.01$), creatinine ($P < 0.01$, $P < 0.001$) in rats exposed to IMD and FA compared to control rats respectively. A significant reduction in serum thrombocytes ($P < 0.001$), erythrocytes ($P < 0.001$), hemoglobin ($P < 0.001$) and hematocrit ($P < 0.05$; $P < 0.01$) in IMD- and formaldehyde-intoxicated rats compared to control rats, respectively, was observed on the blood count. The results also show a significant increase ($P < 0.01$) in the number of leukocytes in animals exposed to IMD and a significant decrease ($P < 0.01$) in animals exposed to FA compared to control animals. The histological study (Brain, Liver, and Kidney) showed cellular damage, structural changes, and tissue alterations in the batches intoxicated with both pesticides compared to control and treated intoxicated batches. In addition, treatment with the aqueous extract of *Pimpinella anisum* for two weeks allowed us to record a corrective effect on the alteration of various recent parameters, minimizing the toxicity induced by imidacloprid and formaldehyde. From our results, we can conclude that the aqueous extract of *Pimpinella anisum* has a beneficial effect against the toxicity induced by the two pesticides.

Keywords: Imidacloprid, Formaldehyde, *Pimpinella anisum*, Memory, Learning.

ملخص

اليوم ، يعتقد أن المبيدات تشكل خطراً على صحة الإنسان والبيئة. إيميداكلوبريد (IMD) هو مبيد حشري ينتمي إلى عائلة النيوتينويد وهو أحد أكثر المبيدات المستخدمة على نطاق واسع في الزراعة في العالم. الفورمالدهايد (FA) هو مادة كيميائية عضوية تستخدم على نطاق واسع في جميع أنحاء العالم ولها آثار ضارة على البشر وبيئتهم. شائع للغاية، يستخدم هذا المنتج كطهر أو مبيد حيوي. يعتبر نبات الينسون *Pimpinella anisum L* واحدة من النباتات الطبية. زيتته الأساسي و مستخلصاته لهم عدة أنشطة بيولوجية. في هذه الدراسة ، كنا مهتمين بتقييم ، من ناحية ، التأثير السام لكل من المبيدين، إيميداكلوبريد والفورمالدهايد ، على النموذج حيواني؛ الجرذان ويستار لمدة 4 أسابيع ، و من جانب آخر لتقدير التأثير العلاجي للمستخلص المائي ل *Pimpinella anisum* (EAP) ضد هذا التسمم، استناداً إلى ثلاثة نهج: السلوكي العصبي ، البيوكيميائي والنسيجي. التعرض لهذين المبيدين يؤدي إلى التأخر في اكتساب الوزن ، وكذلك تعطيل نمو الكبد والكلى. تظهر نتائجنا أيضاً أن المبيدات الحشرية المستخدمة (IMD) و (FA) تسبب تسمم عصبي و الذي ظهرت من خلاله تغيرات سلوكية عصبية التي تتجلى في الاكتئاب، القلق، اضطراب التعلم والذاكرة المكانية ، وكذلك ضمور خلايا المخ عند الحيوانات المعرضة لهذين المبيدين مقارنة بالحيوانات المسممة التي عولجت بـ EAP و الحيوانات الشاهدة. كشفت الدراسة البيوكيميائية عن اضطراب في المعلمات الكبدية و المتمثل في ارتفاع كبير ($P < 0.001$) في ASAT و ALAT و PAL بالإضافة إلى المعلمات الكلوية وهي اليوريا ($P < 0.05$ ، $P < 0.01$ ، الكرياتينين ($P < 0.01$) ، عند الجرذان المعرضة لـ IMD و FA مقارنة بالجرذان الشاهدة على التوالي. من خلال فحص الدم ، هناك انخفاض في مستوى المصل للصفائح الدموية ($P < 0.001$) ، كريات الدم الحمراء ($P < 0.001$)، الهيموغلوبين ($P < 0.001$) والهيماتوكريت ($P < 0.01$) عند الجرذان المسممة مقارنة بالجرذان الشاهدة و الجرذان المسممة المعالجة أظهرت النتائج أيضاً زيادة ملحوظة ($P < 0.01$) في عدد كريات الدم البيضاء عند الحيوانات المعرضة للـ IMD وكذلك انخفاض كبير ($P < 0.01$) عند الحيوانات المعرضة للـ FA مقارنة بالحيوانات الشاهدة. أظهرت الدراسة النسيجية (الدماغ والكبد والكلى) تلفاً خلوياً وكذلك تعديلات هيكلية وتلف الأنسجة عند الجرذان المسممة بالمبيدين مقارنة بالحيوانات الشاهدة و كنا التي عولجت بـ EAP. بالإضافة إلى ذلك ، سمح لنا استخدام المستخلص المائي لـ *Pimpinella anisum* لمدة أسبوعين بتسجيل تأثير صحيحي للمعايير المذكورة سابقاً ، مع تقليل السمية الناجمة عن إيميداكلوبريد والفورمالدهايد. من النتائج التي توصلنا إليها، يمكننا أن نستنتج أن المستخلص المائي لنبات لينسون له تأثير مفيد ضد السمية الناجمة عن المبيدين.

الكلمات المفتاحية: إيميداكلوبريد ، فورمالدهايد ، *Pimpinella anisum* ، ذاكرة ، تعلم

Remerciement

*Avant tout, Je tiens à remercier **Dieu le tout puissante**, qui m'a a donné la santé, la volonté, le courage et la patience pour réaliser ce travail.*

*J'aimerai tout d'abord remercier très chaleureusement mon directeur de thèse monsieur le professeur **Kahloula.K** tout en donnant l'exemple, pour m'avoir accompagné tout au long de ce travail. Je tiens à le remercier pour ses conseils, sa patience, son dévouement, sa gentillesse et de la confiance qu'il ma témoignée dans la réalisation de mon travail de recherche. Qu'il trouve ici tout mon respect, ma reconnaissance et ma profonde gratitude.
Je lui souhaite la santé et le bonheur.*

*Mes vifs remerciements vont également au membre de jury ;
Au Président du jury, le professeur **Slimani.M** pour avoir accepté d'être président de jury et pour sa disponibilité malgré ses nombreuses occupations.
A docteur **Ziani.K**, pour m'avoir fait l'honneur de participer à ce jury de thèse, m'avoir toujours encouragé et pour ces précieux conseils pour l'aboutissement de ce travail. Avec toute ma gratitude et ma reconnaissance.
Aux autres membres du jury, mesdames le professeur **Ait Hamadouche.N** et docteur **Mokhtar.M** d'avoir accepté d'être examinatrices de ma thèse.*

*Mes sincères remerciements s'adressent aux messieurs **Dr. Adli. DEH, Dr. Hemida. H, Dr. Halla. N, Dr. Kfifa. A, Dr.Amam. A, Pr. Berroukech. A, Dr.Rahmani. A et M^{lle}. Chikhi. A** pour leurs conseils, et leurs aides à la réalisation de mon expérimentation.*

*J'adresse mes sincères remerciements à **Mr. Atallah. S** qui par ses paroles, ses conseils et ses critiques a guidé mes réflexions et a accepté à me rencontrer et répondre à mes questions durant mes recherches.*

*Enfin, J'exprime ma gratitude à tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail en particulier mes collègues **Lardjani. K, Goumid. K, Dellaoui. H, Arabi.W, Brahim. M***

Merci

Dédicace

Je dédie ce travail comme preuve de respect et de gratitude :

À mes très chers parents qui m'ont fourni au quotidien un soutien et une confiance sans faille ;

Tout au long de mon cursus, ils m'ont toujours soutenue, encouragée et aidée. Sans eux je n'y arriverai jamais à être la personne que je suis. Qu'ils trouvent, dans la réalisation de ce travail, l'aboutissement de leurs efforts ainsi que le respect et l'amour que je leur porte. Que Dieu vous protège et vous garde pour nous.

Je vous aime.

*A ma chère belle mère **Mme Rahmani. J** qui m'a soutenue, encouragée et aidée lors de la rédaction de ma thèse. Qu'elle trouve ici tout mon respect, ma reconnaissance et ma profonde gratitude.*

*A mon mari **Abdellaoui. A** ;*

*Cher mari j'aimerais bien que tu trouves dans ce travail l'expression de mes sentiments de reconnaissance les plus sincères car grâce à ton aide et ta patience avec moi que ce travail a pu voir le jour...
Que Dieu le Tout Puissant nous accorde un avenir meilleur.*

*A mon très cher petit poussin **Yasser** le bonheur de ma vie qui m'a donné la joie et la force pour réaliser ce travail. Je t'aime mon bébé et je te souhaite tous le bonheur du monde.*

*À ma très chère sœur **Zahira** et son mari ;*

*À ma chère petite sœur **Malak** ; je te souhaite la réussite dans tes études.*

*À mes petits neveux **Amine** et **Yassine** ; À toute ma famille, grand mère, tantes et oncles ; À tous mes amis avec lesquels j'ai partagé mes moments de joie et de bonheur.*

Que toute personne m'ayant aidé de près ou de loin, trouve ici l'expression de ma reconnaissance.

Table des matières

Introduction	2
---------------------------	----------

Partie bibliographique

Chapitre I : *Pimpinella anisum L.*

1.1. Définition	7
1.2. Description botanique	7
1.2.1. Feuilles et fleurs	8
1.2.2. Fruit	8
1.2.3. Tige et Racine	9
1.3. Taxonomie	9
1.4. Nomenclature	9
1.5. Origine et distribution	9
1.6. Composition d'anis vert	10
1.7. Intérêt de l'utilisation de l'anis vert et son huile essentielle	10
1.7.1. Importance culinaire.....	10
1.7.2. Importance en médecine	11
1.7.3. Effets sur le système digestif	11
1.7.4. Effets sur le système nerveux	11
1.7.5. Effet sur le système respiratoire	11
1.7.6. Effet sur le le <i>systeme</i> reproducteur féminin	12
1.7.7. Autres	12
2. Les huiles essentielles	13
2.1. Définition	13
2.2. Biosynthèse et localisation des huiles essentielles	13
3. Les composés aromatiques	15
4. Critères déterminants la qualité des huiles essentielles	15
5. Choix de la méthode d'extraction	16
6. Méthodes d'obtention des huiles essentielles et les extraits des plantes	16
6.1. Méthodes d'extraction Traditionnelles	16
6.1.1. Infusion	16
6.1.2. Décoction	16

6.1.3. Macération	17
7. Distillation	17
7.1. Hydrodistillation	17
7.2. Distillation par entraînement à la vapeur	18
7.3. Méthodes d'extraction Modernes	18
8. Toxicité des huiles essentielles	19
9. L'huile essentielle de <i>Pimpinella anisum L</i>	19
9.1. Caractéristiques	19
9.2. Composition chimique	19
9.3. Le composant majeur et ses applications	20
9.4. Toxicité, effets indésirables	21

Chapitre II : Pesticides

1.1. Historique	23
1.2. Définition	23
1.3. Classifications	23
1.3.1. Classification biologique	24
1.3.1.2. Les insecticides	24
1.3.1.3. Les fongicides	24
1.3.1.4. Les herbicides	24
1.3.2. Classification chimique	25
1.3.2.1. Les pesticides organiques	25
1.3.2.2. Les pesticides inorganiques	25
1.4. Modes d'expositions aux pesticides	25
1.4.1. Exposition professionnelle	26
1.4.2. Exposition non professionnelle	27
1.5. Effet toxique	27
1.5.1. Intoxication aiguë	27
1.5.2. Intoxication chronique	27
1.6. Devenir des pesticides dans l'environnement	27
2. Néonicotinoïdes	28
2.1. Généralités	28
2.2. Classification	29

2.3. Imidaclopride	30
2.3.1. Définition	30
2.3.2. Les propriétés physicochimiques	31
2.3.3. Mode d'action	32
2.3.3.1. Le récepteur nicotinique à l'acétylcholine (nAChR).....	32
2.3.3.2. La synapse cholinergique nicotinique	33
2.3.4. La toxico-cinétique	34
2.3.4.1. Voie orale	34
a. Absorption	34
b. Métabolisation	34
c. Distribution et élimination	35
2.3.4.2. Voie cutanée	35
2.3.5. Effet toxique	36
2.3.5.1. Toxicité aiguë	36
2.3.5.2..... Toxicité chronique	36
2.3.6. Les effets toxiques de l'imidaclopride	37
a. Effets sur la reproduction	37
b. Effets mutagéniques	38
c. Effets tératogènes	38
d. Effets immunotoxiques	39
e. Effet neuro-immunologique	39
f. Effets cancérogènes	39
g. Effets neurotoxique	40
2.3.7. Domaines d'utilisation	40
2.4. Formaldéhyde	41
2.4.1. Définition	41
2.4.2. Propriétés physico-chimiques	42
2.4.2.1. Propriétés physiques	42
2.4.2.2. Propriétés chimiques	43
2.4.3. Mécanisme d'action du formaldéhyde	43
2.4.4. Métabolisme et toxicocinétique	44
a. Voies d'absorption	44
b. Métabolisation et distribution	45
c. Elimination	45

2.4.4.1. Effet toxique	46
2.4.4.2. Toxicité aiguë	46
a. Effet irritant et allergisant	46
2.4.4.3. Toxicité chronique	47
a. Effets neurologiques	48
b. Effet sensibilisant et allergisant	48
c. Cancérogénicité.....	48
2.4.5. Les principales sources de formaldéhyde	48
2.4.6. Domaines d'utilisation	49
a. Exposition professionnelle	49
b. Exposition environnementale	50
c. Exposition domestique	51

Partie pratique

Matériels et méthodes

1. Objectif	54
2. Matériel	54
2.1. Matériel végétal	54
2.2. Matériels chimiques.....	54
2.3. Matériel biologique	54
3. Méthodologie	55
3.1. Préparation de l'extrait aqueux de <i>pimpinella anisum L</i>	55
3.2. Extraction de l'huile essentielle d'anis vert	55
3.3. Calcul du rendement	55
3.4. Analyse quantitative (CPG /SM).....	55
3.4.1. Principe	55
3.4.2. Mode opératoire	56
4. Analyse qualitative	56
4.1. Etude phytochimique	56
4.1.1. Les tannins	57
4.1.2. Les flavonoïdes	57
4.1.3. Les anthocyanes	57
4.1.4. Les coumarines	57
4.1.5. Les alcaloïdes	57
4.1.6. Stérols et triterpènes	58

4.1.7. Les saponosides	58
4.1.8. Les composés réducteurs	59
4.1.9. L'amidon	59
5. Répartition des groupes	59
5.1. L'exposition à l'imidaclopride	59
5.2. L'exposition au Formaldéhyde	59
6. Evolution du poids corporel	61
7. Les tests neurocomportementaux	61
7.1. Test de la nage forcée	61
7.2. Test de l' <i>open field</i>	62
7.3. Labyrinthe de Barnes	63
7.4. La piscine de Morris (Labyrinthe aquatique)	64
8. Prélèvement sanguin et évaluation des poids des organes	65
9. Evaluation des paramètres biochimiques et hématologiques	66
9.1. Dosage des paramètres hématologiques	66
9.2. Dosage des paramètres biochimiques	66
9.2.1. Glucose Gluc –DH FS	66
9.2.2. Urée	66
9.2.3. Créatinine PAP (Enzymatic method)	67
9.2.4. Détermination quantitative d'aspartate amino transférase TGO (ASAT).....	67
9.2.5. Détermination quantitative d'alanine amino transférase TGP(ALAT).....	67
9.2.6. Phosphatase alcaline	68
10. Dosage des deux pesticides au niveau hépatique et cérébral	68
11. Expression et analyse statistique des résultats	69
12. Etude histologique	69
13. Fixation.....	69
14. Traitement des tissus	69
15. Inclusion et confection des blocs	70
16. Confection des coupes	71
17. Coloration	72
18. Lecture des lames	72
Résultats et interprétation	
1. Détermination du rendement	74
2. Analyse phytochimique.....	74

3. Détermination de la composition chimique d'huile essentielle de <i>Pimpinella anisum</i> par CPG/MS.....	75
4. Effet des deux pesticides sur la croissance pondérale des rats	75
4.1. Différence entre poids initial et final chez les différents groupes expérimentaux	76
4.2. Gains de poids	77
5. Les tests neurocomportementaux	79
5.1. Comportement de type dépressif (Test de la nage forcée)	79
5.2. Evaluation du comportement d'exploration : Test d'Open Field	81
4.3. Apprentissage spatial	83
4.3.1. Labyrinthe de Barnes	83
4.3.2. La piscine de Morris	86
6. Le dosage de la glycémie	89
7. Estimation du poids relatif des organes des deux pesticides	91
7.1. Évaluation du poids cérébral.....	91
7.2. Évaluation du poids du foie	92
7.3. Évaluation du poids rénal	94
8. Fonction rénale	95
8.1. Dosage de l'urée et créatinine	95
8.2. L'effet de l'imidaclopride et formaldéhyde sur l'architecture structurale des reins	98
9....Exploration de la fonction hépatique	101
9.1. Le dosage des enzymes hépatiques (ASAT, ALAT, PAL).....	105
9.2. L'effet de l'imidaclopride et formaldéhyde sur l'architecture structurale du foie	102
10. Les paramètres hématologiques	108
11. Exploration de la fonction cérébrale.....	115
11.1. L'effet de l'IMD et du FA sur l'architecture structurale du cerveau	115
11.2. Résultats du dosage des deux pesticides au niveau cérébral et hépatique par (HPLC) .	118
Discussion.....	120
Conclusion	148
Références bibliographiques	151

Listes des figures

Figure N°	Titre de figure	Page N°
01	Plante de <i>Pimpinella anisum L</i>	07
02	Description de la fleur et les feuilles de <i>Pimpinella anisum L</i>	08
03	La voie du mévalonate	14
04	La voie du shikimate	14
05	Illustration schématique de l'hydrodistillation	17
06	Procédé d'extraction d'une huile essentielle par entrainement à la vapeur d'eau	18
07	Structure chimique de l'anéthol	21
08	Modes d'exposition des organismes vivant aux pesticides	26
09	Formules planes des principaux néonicotinoïdes	29
10	La structure chimique d'imidaclopride	31
11	Structure du récepteur nicotinique de l'acétylcholine	32
12	Représentation schématique d'une synapse cholinergique entre deux neurones	33
13	La liaison de l'acétylcholine et l'imidaclopride au récepteur nicotinique	34
14	Structures chimiques de l'imidaclopride, du 5-hydroxyimidaclopride et de l'oléfine	35 42
15	La structure moléculaire du formaldéhyde	43
16	Mécanisme global de l'action du formaldéhyde dans l'organisme	46
17	Métabolisation du formaldéhyde	56
18	Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse.	60 62
19	Présentation schématique du protocole expérimentale.	63
20	L'épreuve de la nage forcée.	64
21	L'épreuve d'Open Field.	65
22	La plateforme de labyrinthe de Barnes.	70
23	Le dispositif du test « Piscine de Morris ».	71
24	Automate deshydratation (Leica TP1020).	71
25	Station d'enrobage de type Lieca.	71
26	Microtome rotatif de Type Leica 2125.	
27	Bain-marie de type Leica.	74
28.1	Différence entre poids initial et final chez les animaux exposés à l'IMD, intoxiqués traités (IMD-EPA), témoins, témoins traités.	76
28.2	Différence entre poids initial et final chez les animaux exposés au Formyl, intoxiqués traités (Formyl-EPA), témoins, témoins traités	77
28.3	Différence entre poids initial et final chez les animaux exposés au	77

	(FA), intoxiqués traités (FA -EPA), témoins, témoins traités.	
28.4	Evolution du gain de poids corporel chez les rats intoxiqué par l'IMD, intoxiqués traités (IMD-EPA), témoins, témoins traités.	78
28.5	Evolution du gain de poids corporel chez les rats intoxiqué par Formyl, intoxiqués traités (Formyl-EPA), témoins, témoins traités.	78
28.6	Evolution du gain de poids corporel chez les rats intoxiqué par (FA), intoxiqués traités (FA -EPA), témoins, témoins traités.	79
28.7	Evolution du gain de poids corporel chez les différent groupes expérimentaux ; rats intoxiqué par (Formyl) et (FA), intoxiqués traités.	79
29.1	Le temps d'immobilité durant le test de la nage forcée des rats témoins, témoins traités, intoxiqués par l'IMD et intoxiqués traités.	80
29.2	Le temps d'immobilité durant le test de la nage forcée des rats témoins, témoins traités, intoxiqués par Formyl et intoxiqués traités.	80
29.3	Comparaison du temps d'immobilité durant le test FST entre les rats témoins, intoxiqués FA, intoxiqué traités et témoins traités.	81
30.1	Nombre total d'erreurs pour les rats témoins, témoins traités, intoxiqués par l'IMD et intoxiqués traités au cours de la phase d'acquisition.	83
30.2	Le temps pour atteindre le trou cible chez les rats témoins, témoins traités, intoxiqués par l'IMD et intoxiqués traités au cours de la phase d'acquisition.	84
30.3	Le temps d'exploration pour atteindre le trou cible lors de l'épreuve chez les rats témoins, témoins traités, intoxiqués par l'IMD et intoxiqués traités.	84
30.4	Le nombre d'erreurs lors de l'épreuve chez les rats témoins, témoins traités, intoxiqués par l'IMD et intoxiqués traités.	85
30.5	Le nombre d'erreurs enregistré au cours du sixième jour chez les rats témoins, témoins traités, intoxiqués par l'IMD et intoxiqués traités.	85
30.6	Le temps d'exploration pour atteindre le trou cible au cours du sixième jour chez les sujets témoins, témoins traités, intoxiqués par l'IMD et intoxiqués traités.	86
31.1	Temps de latence durant la phase d'apprentissage de la piscine de Morris chez les rats exposé au formyl, les rats témoins, intoxiqués traités et les témoins traités.	87
31.2	Temps de latence durant la phase d'apprentissage de la piscine de Morris chez les rats exposé au Formaldéhyde, les rats témoins, intoxiqués traités et les témoins traités.	87
31.3	Temps passé dans le quadrant (NO) durant le probe test par rats exposé au formyl, les rats témoins, intoxiqués traités et les témoins traités.	88
31.4	Temps passé dans le quadrant (NO) durant le probe test par les rats exposé au FA, les rats témoins, intoxiqués traités et les témoins traités.	

	Temps de latence durant le test visible chez les rats exposé au formyl,	88
31.5	les rats témoins, intoxiqués traités et les témoins traités.	
	Temps de latence durant le test visible chez les rats exposé au FA, les	89
31.6	rats témoins, intoxiqués traités et les témoins traités.	
	Comparaison de la glycémie entre les rats exposés à l'IMD, témoins,	89
32.1	témoins traités, et intoxiqués traités.	
	Comparaison de la glycémie entre les rats exposés au Formyl, témoins,	90
32.2	témoins traités, et intoxiqués traités.	
	Comparaison de la glycémie entre les rats exposés au FA, témoins,	90
32.3	témoins traités, et intoxiqués traités.	
	Evaluation du poids cérébral chez les rats témoins, témoins traités,	91
33.1	intoxiqués par l'IMD et intoxiqués traités.	
	Evaluation du poids cérébral chez les rats témoins, témoins traités,	91
33.2	intoxiqués par Formyl et intoxiqués traités.	
	Evaluation du poids cérébral chez les rats témoins, témoins traités,	92
33.3	intoxiqués par le FA et intoxiqués traités.	
	Evaluation du poids du foie chez les animaux témoins, témoins traités,	92
33.4	intoxiqués par l'IMD et intoxiqués traités	
	Evaluation du poids du foie chez les animaux témoins, témoins traités,	93
33.5	intoxiqués par Formyl et intoxiqués traités.	
	Evaluation du poids du foie chez les animaux témoins, témoins traités,	93
33.6	intoxiqués par FA et intoxiqués traités.	
	Evaluation du poids rénal chez les lots intoxiqués par l'IMD,	94
33.7	intoxiqués traités, témoins et témoins traités.	
	Evaluation du poids rénal chez les lots intoxiqués par Formyl,	94
33.8	intoxiqués traités, témoins et témoins traités.	
	Evaluation du poids rénal chez les lots intoxiqués par FA, intoxiqués	95
33.9	traités, témoins, témoins traités.	
	Effet de l'IMD sur le taux de l'urée chez les quatre groupes	95
34.1	expérimentaux.	
	Effet de l'IMD sur le taux de la créatinine chez les quatre groupes	96
34.2	expérimentaux.	
	Effet du Formyl sur le taux de l'urée chez les quatre groupes	96
34.3	expérimentaux.	
	Effet du FA sur le taux de l'urée chez les quatre groupes	97
34.4	expérimentaux.	
	Effet du Formyl sur le taux de la créatinine chez les quatre groupes	97
34.5	expérimentaux.	
	Effet du FA sur le taux de la créatinine chez les quatre groupes	98
34.6	expérimentaux.	
35.1	Section tissulaire issue du cortex rénal des rats intoxiqués (IMD).	98
	Section tissulaire issue du cortex rénal des rats intoxiqué traité	99
35.2	(IMDT).	

35.3	Capture histologique d'une section du cortex rénal issu des animaux intoxiqués au formyl et au FA.	99
35.4	Capture histologique d'une section du cortex rénal issu des animaux intoxiqués traités (formyl-EAP) et (FA-EAP).	100
35.5	Capture histologique d'une section du cortex rénal issu des rats témoins.	100
35.6	Coupe histologique du rein chez le lot témoin traité.	100
36.1	Effet de l'IMD sur le taux de l'ASAT chez les différents groupes expérimentaux.	101
36.2	Effet de l'IMD sur le taux de l'ALAT chez les différents groupes expérimentaux.	101
36.3	Effet de l'IMD sur le taux de PAL chez les différents groupes expérimentaux.	102
36.4	Effet du Formyl sur le taux de l'ASAT chez les différents groupes expérimentaux.	102
36.5	Effet du FA sur le taux de l'ASAT chez les différents groupes expérimentaux.	103
36.6	Effet de Formyl sur le taux de l'ALAT chez les différents groupes expérimentaux.	103
36.7	Effet du FA sur le taux de l'ALAT chez les différents groupes expérimentaux.	103
36.8	Effet de Formyl sur le taux de PAL chez les différents groupes expérimentaux.	104
36.9	Effet du FA sur le taux de PAL chez les différents groupes expérimentaux.	104
37.1	Coupe histologique du tissu hépatique des rats exposés à l'IMD.	104
37.2	Coupe histologique du tissu hépatique des animaux intoxiqués traités.	106
37.3	Coupe histologique du tissu hépatique des rats intoxiqués au formyl et au FA.	106
37.4	Capture histologique d'une section du tissu hépatique issu des animaux intoxiqués traités (formyl-EAP).	107
37.5	Capture histologique d'une section du tissu hépatique issu des animaux	107

	témoins.	108
38.1	Effet de l'IMD sur le taux d'érythrocytes chez les différents groupes expérimentaux.	108
38.2	Effet de l'IMD sur le taux d'hémoglobine chez les différents groupes expérimentaux.	109
38.3	Effet de l'IMD sur le taux d'hématocrite chez les différents groupes expérimentaux.	109
38.4	Effet de l'IMD sur le taux des leucocytes chez les différents groupes expérimentaux.	110
38.5	Effet de l'IMD sur le taux des thrombocytes chez les différents groupes expérimentaux.	110
39.1	Effet de Formyl sur le taux d'érythrocytes chez les différents groupes expérimentaux.	111
39.2	Effet du FA sur le taux d'érythrocytes chez les différents groupes expérimentaux.	111
39.3	Effet de Formyl sur le taux d'hémoglobine chez les différents groupes expérimentaux.	111
39.4	Effet du FA sur le taux d'hémoglobine chez les différents groupes expérimentaux.	112
39.5	Effet de Formyl sur le taux d'hématocrite chez les différents groupes expérimentaux.	112
39.6	Effet du FA sur le taux d'hématocrite chez les différents groupes expérimentaux.	112
39.7	Effet de Formyl sur le taux des leucocytes chez les différents groupes expérimentaux.	113
39.8	Effet du FA sur le taux des leucocytes chez les différents groupes expérimentaux.	113
39.9	Effet du Formyl sur le taux des thrombocytes chez les différents groupes expérimentaux.	114
39.10	Effet du FA sur le taux des thrombocytes chez les différents groupes expérimentaux.	114
40.1	Section tissulaire issue du cortex cérébrale des rats expérimentaux.	116
40.2	Section tissulaire issue du cervelet des rats expérimentaux.	117

tableau N°	Titre de tableau	Page N°
01	La classification de l'anis vert.	09
02	Classification des insecticides neonicotinoïdes en fonction de leur pharmacophore.	30
03	Les propriétés physicochimiques d'imidaclopride.	31
04	propriété physique du formaldéhyde.	42
05	Conditions de l'instrument.	68
06	programmation d'automate.	70
07	Résultats du screening phytochimique pour neuf composés chez l'anis vert.	74
08	les composants chimiques de l'huile essentielle de <i>pimpinella anisum</i> identifiés par CPG/SM.	75
09	Effet de l'exposition à l'imidaclopride sur l'activité locomotrice chez les différents groupes expérimentaux.	81
10	Effet de l'exposition au Formyl , formaldéhyde sur l'activité locomotrice chez les différents groupes expérimentaux.	82
11	Dosage de l'imidaclopride au niveau cérébral par Chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC).	118
12	Dosage de l'imidaclopride au niveau hépatique par Chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC).	118
13	Dosage du Formaldéhyde au niveau cérébral par Chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC)	119
14	Dosage du Formaldéhyde au niveau hépatique par Chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC)	119

Liste des abréviations

5-HT: 5-hydroxytryptamine ou sérotonine

Ach : Acétylcholine.

ACTA : Association de Coordination Technique Agricole

ANOVA: Analysis Of Variance.

ARN : Acide Ribonucléique

ATP : Adenosine triphosphate

ATPase

Ca²⁺ : ion calcium

CAT : Catalase

CIRC : Centre International de Recherche sur le Cancer

CPP : Comité de la Prévention et de la Protection

DFG : Débit de filtration glomérulaire

DL50 : Dose létale 50%.

DSEO : Dose sans effet observé

DSEO : dose sans effet observé.

EAP : Extrait aqueux de *Pimpinella anisum L.*

FA : Formaldéhyde

FST: Forced Swimming Test.

GABAA : récepteurs GABA de type A

GFAP : protéine acide fibrillaire gliale

GPx : Glutathion peroxydase

Grx : Glutarédoxine

GSH : Glutathion réduit

GST : Glutathion–S-transférase

HE : Huiles Essentielles.

HEA : Huile Essentielle d'Anis vert.

HPLC : Chromatographie liquide a haute performance

IMD : Imidaclopride.

INVS : Institut de veille sanitaire.

IPCS: International Program on Chemical Safety.

K⁺ : Ion potassium

LMR : Limite maximale applicable aux résidus.

MA : Maladie d'Alzheimer

MAO : monoamines oxydases

Mg : Milligramme

Na⁺ : Ion de sodium

nAChR : Récepteur nicotinique d'acétylcholine.

NADPH : Nicotinamide-adéninedinucléotide-phosphate réduit.

NMDA : N-méthyl-D-aspartate.

OMS : Organisation mondiale de la santé

PLT : potentialisation à long terme.

RE : Réticulum endoplasmique

S.E.M : l'Erreur Standard de la Moyenne.

SN : Système nerveux

SNC : Système Nerveux Central

SNC : Système nerveux central.

T3 : Triiodothyronine.

T4 : Thyroxine.

TIM : Temps d'immobilité.

Introduction

En Algérie, l'usage des insecticides, des fertilisants, des engrais, des détergents et autres produits phytosanitaires se répand de plus en plus avec le développement de l'agriculture, mais aussi dans le cadre des actions de lutte contre les vecteurs nuisibles. Avant l'utilisation des produits phytosanitaires, les systèmes de culture étaient conçus pour assurer le meilleur compromis entre le risque phytosanitaire et le potentiel de production de la culture. Après la seconde guerre mondiale, les pesticides ont permis le développement de l'agriculture et ont contribué à l'augmentation des rendements et à la régulation de la production agricole (**Merhi, 2008**).

Au cours des deux dernières décennies, la révolution industrielle et le développement technologique dans le domaine de l'agriculture a considérablement compliqué les problèmes de l'environnement (**Andra et al., 2017**). L'explosion démographique de la population mondiale et ses besoins alimentaires et sanitaires sont les principales raisons ayant conduit à une augmentation spectaculaire de la production et l'utilisation des pesticides susceptibles d'engendrer l'apparition de plusieurs maladies (**Gasmi, 2018**). Globalement, 4,6 millions de tonnes de pesticides sont utilisés chaque année et 500 substances font l'objet d'une utilisation massive (**Jacquot, 2013**). Cependant, aujourd'hui, les pesticides, soit en substances mères ou leurs produits de transformation sont soupçonnés de présenter un risque pour la santé de l'homme à travers son exposition en plusieurs façons (par la voie respiratoire, orale ou cutanée, via l'air (gaz et particules), les sols, les poussières), qui viennent s'ajouter aux expositions alimentaires ou domestiques.

Parmi les pesticides utilisés, un certain nombre de molécules sont actuellement suspectées d'être des perturbateurs du système nerveux ; les néonicotinoïdes, insecticides les plus utilisés dans le monde entier pour la protection des cultures, comme les céréales, le maïs, le coton, les pommes de terre, le riz et de nombreux légumes.

Au sein du groupe de pesticides néonicotinoïdes, l'imidaclopride est un insecticide systémique à base de nicotine qui agit en ciblant les récepteurs postsynaptiques de l'acétylcholine nicotinique, ce qui perturbe la transmission du potentiel d'action des nerfs et entraîne une modification du comportement alimentaire, une paralysie et en fin de compte, la mort des organismes exposés (**Simon-Delso et al., 2015 ; Batikian et al., 2019**). Il est homologué pour un usage agricole et non agricole dans le monde entier (**Moffat et al., 2016**). En plus d'être largement utilisé en agriculture pour lutter contre les insectes suceurs, l'imidaclopride est aussi couramment utilisé à des fins non agricoles, surtout dans les zones

urbaines comprenant la lutte contre les puces chez les animaux de compagnie, la lutte contre les insectes des pelouses et des jardins, le traitement des punaises des lits et la lutte contre les fourmis autour des maisons et des propriétés (**Batikian et al., 2019**).

Cependant, de nombreux utilisateurs ne sont pas au courant de la dose toxique de l'IMD et de l'ingestion possible de graines, de plantes et de l'eau pulvérisées par cet insecticide, ce qui provoque une toxicité et même la mort des individus exposés (**Emam et al., 2018**).

Le formaldéhyde (l'aldéhyde formique) est un produit chimique toxique très réactif qui est couramment utilisé en médecine (en particulier dans les laboratoires d'anatomie et de pathologie), dans l'industrie, les produits cosmétiques, les matériaux de construction et comme un désinfectant (bactéricide). On le retrouve également dans la fumée de cigarette, les gaz d'échappement des automobiles, le mazout et le gaz naturel, ce qui contribue à augmenter la pollution de l'air. L'exposition au formaldéhyde est de plus en plus courante, que ce soit dans des conditions environnementales ou de laboratoire, où des professionnels et / ou des étudiants du domaine médical sont constamment exposés. Les humains non seulement exposent mais peuvent aussi le produire physiologiquement par le métabolisme de la L-méthionine, de l'histamine ou de la méthylamine (**De Oliveira Ramos et al., 2017 ; Gerin et al., 2016**).

Les plantes aromatiques sont connues pour exercer leurs effets thérapeutiques en piégeant les radicaux libres et en modulant le système de défense antioxydant, ces effets sont dus principalement à leur richesse en molécules bioactives. De nombreux chercheurs ont établi une corrélation entre la supplémentation alimentaire de certains produits à base de plantes et la réduction des effets toxiques des substances toxiques présentes dans l'environnement à savoir les pesticides (**Lonare et al., 2016**).

Pimpinella anisum L. (Apiaceae), communément appelée anis est l'une des plus anciennes plantes d'épices connues, largement utilisé comme ingrédient culinaire ainsi que comme remède traditionnel pour le traitement de différents troubles dans les systèmes de médecine traditionnelle de différentes civilisations. Cette plante est riche en huiles volatiles. Les graines de cette plante sont couramment recommandées comme antioxydant, antiseptique, antimicrobien, apéritif, digestif, antispasmodique, expectorant, galactogogue, œstrogènes, anti-inflammatoires et diurétiques (**AlSalhi et al., 2016 ; Bettaieb Rebey et al., 2017**).

En ce basant sur les données bibliographiques, notre travail de recherche sert à déterminer l'effet thérapeutique de l'extrait aqueux de *Pimpinella anisum L.* durant 15 jours d'exposition chez des rats wistar préalablement intoxiqués par deux différents pesticides Imidaclopride et formaldéhyde.

Pour atteindre cet objectif, nous allons utiliser différentes techniques expérimentales selon plusieurs approches à savoir : biochimiques, hématologique, histologiques et neurocomportementales. Ce manuscrit est organisé en trois grandes parties :

- ❖ La première partie synthétise les connaissances sur les pesticides et leur effets toxiques en général et les pesticides étudiés en particulier ;
- ❖ La deuxième partie est consacrée à la présentation de différentes méthodes entreprises pour la concrétisation de cette thématique ainsi que les résultats obtenus dans le cadre de cette étude : la détermination de la composition chimique de l'huile essentielle et de l'extrait de la plante étudiée, l'évaluation de l'effet toxique de l'imidaclopride (90 mg/kg pendant 28 jours) et du formaldéhyde (125 mg/kg pendant 30 jours) selon une approche neurocomportementale, ainsi que l'évaluation du poids pondéral des rats et l'exploration de la fonction cérébrale, hépatique et rénale selon une approche biochimique, hématologique et histopathologique ;
- ❖ La troisième partie ; une discussion détermine la relation entre les résultats de cette étude et celles apportés par la littérature ;
- ❖ En fin, une conclusion fait le bilan des résultats de notre étude, puis des perspectives envisagées dans la continuité de ces travaux sont également présentées.

Partie
Bibliographique

***Chapitre I : Pimpinella
anisum L.***

1. *Pimpinella anisum* :

1.1. Définition

Le genre *Pimpinella anisum* L., l'anis vert, est une plante médicinale et aromatique annuelle qui est considéré comme l'une des plus anciennes herbes médicinales et plantes à épices largement utilisées (Bekara et al., 2016; Mosavat et al., 2019). Cette plante est l'une des plus grands genres de la famille des Apiaceae qui compte 170-180 espèces à travers l'Europe et l'Afrique (Akalin, 2016 ; Gamberini, 2015 ; Babulka, 2004), et elle a son origine dans la partie orientale du bassin méditerranéen, au Moyen Orient et en Égypte. C'est une plante qui ne se trouve à l'état sauvage que dans certaines îles de la mer Égée (Babulka, 2004).

1.2. Description botanique

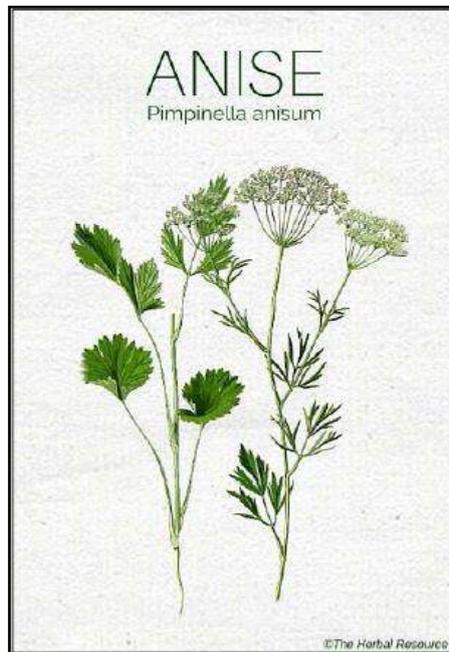


Figure 01 : plante de *Pimpinella anisum* L (Bruneton, 2009 ; Bekara, 2017).

L'anis (*Pimpinella anisum* L.) est une plante herbacée mesure environ 30 à 70 cm de haut (Akalin, 2016 ; Gamberini, 2015 ; Ghazi et al., 2019). Il est en feuille de mai à octobre, en fleur en juillet, et les fruits mûrissent d'août à septembre (Babulka, 2004 ; Ozcan et Chalchat, 2006). Cette plante contient une huile essentielle d'une teneur de 1,5 à 3,0 %.

1.2.1. Feuilles et fleurs



Figure 02 : description de la fleur et les feuilles de *Pimpinella anisum L* (Bekara, 2017).

Les feuilles alternes sont d'un vert vif; celles de la base sont larges, en forme de rein ou arrondies, lobées; vers le sommet de la tige, elles sont découpées en lanières. En été apparaissent les fleurs, blanches et petites d'environ 3 mm de diamètre, en ombelles denses (fig.02) (Albulushi et al., 2014 ; Poles, 2006).

1.2.2. Fruit

Les fruits d'anis sont de petites graines sous forme de deux akènes d'une couleur allant du gris-vert au brun grisâtre (Ghazi et al., 2019) avec une odeur douce et sucrée. Ils sont piriformes ou ovoïdes, légèrement comprimé latéralement. Ils ont 3-5 mm de long et 2-3 mm de large. Chaque fruit contient deux carpelles, et chacun des deux contenant un anis. Le péricarpe contient cinq stries avec des poils courts et verruqueux, ainsi que des conduits schizogenics qui contiennent l'huile essentielle. Ce fruit germe en 17 à 25 jours à partir de 4 à 5° C. Le rendement est 0,8 à 1,5 de fruits à l'hectare (Babulka, 2004 ; Parthasarathy et al., 2008).

1.2.3. Tige et Racine:

Tiges grêles et creuses, dressées et striées, ramifiée vers le haut (Poles, 2006 ; Bruneton, 2009). La racine est mince et en forme de fuseau. (Peter, 2001)

1.3. Taxonomie

Tableau 01: La classification de l’anis vert (Bekara, 2017).

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Sous division	Angiospermae
Classe	Magnoliopsida
Sous classe	Rosidae
Ordre	Apiales
Famille	Apiaceae (ombellifère)
Genre	Pimpinella
Espèce	<i>Pimpinella anisum L.</i>

1.4. Nomenclature (Charles, 2013 ; Bekara, 2017)

- **Noms vernaculaires :**
 - **En anglais :** aniseed
 - **En français :** anis vert
 - **En arabe :** El-Yansoune
 - **Dialecte locale :** Habbat El Hlawa
- **Nom scientifique :** *Pimpinella anisum L.*



1.5. Origine et distribution :

L’anis vert (*Pimpinella anisum L.*) est une plante originaire du Moyen-Orient, indigène dans la région méditerranéenne orientale et est cultivée depuis des époques antiques (Arslan, 2004 ; Akalm et al., 2016). Cette plante est cultivé à l’échelle mondiale (Iannarelli et al., 2018) dans la Turquie, Grèce, l’Iran, l’Inde, l’Egypte, Syrie, Afrique du Sud, Amérique latine, Brésil, Mexique et d’autres nombreuses régions chaudes du monde (Shojaï et Fard, 2012 ; Albulushi et al., 2014 ; Khalid, 2015 ; Bekara et al., 2016 ; Iannarelli et al., 2018).

Actuellement, l'Espagne, la Turquie et la Chine sont les plus grands producteurs d'anis (Iannarelli et al., 2018).

1.6. Composition d'anis vert

Les fruits d'anis contiennent environ 9% d'eau, 35% de polysaccharides, 15% de fibres brutes, 18% de protéines (Charles, 2013), sont une riche source d'huile essentielle rendement de 2 à 6% (Bettaieb Rebey et al., 2019 ; Iannarelli et al., 2018), 10 à 20 % de l'huile fixe et des ions essentiels (Potassium , calcium , phosphate et fer) (Charles, 2013 ; Cengiz et al., 2008). Ces graines sont une riche source de phénols et de flavonoïdes (Vahid Farzaneh et al., 2018) ainsi que du pétrole volatil, les acides gras, les coumarines, et les hydrates de carbone (Bekara et al., 2016). Ils sont riches aussi en vitamines tels que vitamine C, vitamine B-6 et la vitamine A (Besharati-Seidani et al., 2005 ; Charles, 2013).

1.7. Intérêt de l'utilisation de l'anis vert et son huile essentielle

L'anis vert à un grand intérêt dans plusieurs domaines, elle est utilisée dans l'art culinaire depuis l'antiquité comme un épice (Bettaieb Rebey et al., 2019) et même dans la médecine traditionnelle et moderne par ces effets thérapeutiques car elle exerce diverses activités biologiques (Mosavat et al., 2019). Elle joue également un rôle important dans l'agrochimie comme pesticide. A cet égard, l'anis représente une grande importance économique et publique (Giovanni et al., 2018).

1.7.1. Importance culinaire :

Plusieurs graines d'Apiaceae sont principalement cultivées pour leur utilisation comme épices. Depuis l'antiquité, l'anis est une épice indispensable dans l'art culinaire pour assaisonner les aliments (Bettaieb Rebey et al., 2019). C'est un ingrédient des thés traditionnels (Iannarelli et al., 2018). Elle est largement utilisées dans diverses industries alimentaires en raison de leur goût et de leur odeur agréable (Ghazi et al., 2019). Les graines d'anis et ses extraits sont largement utilisés dans les aliments, en tant qu'ingrédient de célèbres liqueurs et d'autres boissons alcoolisées (brandy) et non alcoolisées (tisane), de confiseries (gâteaux, bonbons). L'extraits d'anis a également trouvé son application dans les produits de boulangerie (biscuits, beignets, pain, maritozzi) (Iannarelli et al., 2018 ; Hashem et al., 2018) ainsi que dans les aromatisants (Mushtaq et al., 2019 ; Ghazi et al., 2019 ; Hashem et al., 2018) à savoir le café (Giovanni et al., 2018), glaces, gommages à mâcher (Vahid et al., 2018), les colorants naturels (Bettaieb Rebey et al., 2019).

1.7.2. Importance en médecine :

L'anis a une longue histoire de l'usage médical essentiellement dans la médecine traditionnelle (Asadollahpoor et al., 2017 ; Bettaieb Rebey et al., 2019) pour traiter divers états pathologiques (Bettaieb Rebey et al., 2019). Tenant compte des informations susmentionnées concernant les activités biologiques des fruits d'anis dans la médecine ancienne et moderne (Asadollahpoor et al., 2017), Il est mentionné dans les Védas, la Bible, ainsi que dans les textes de Dioscoride (Jamshidzadeh et al., 2015). Il a été démontré que cette plante est efficace dans le traitement de plusieurs maladies aiguës et chroniques (Farzaneh et al., 2018) à savoir les troubles respiratoires, digestifs, gynécologiques et neurologiques (Ghazi et al., 2019).

1.7.3. Effets sur le système digestif :

L'anis et son huile essentielle sont connus pour leurs vertus digestives. Ils ont un pouvoir antispasmodique, galactagogue, diurétique, carminatif (Sayed-Ahmad et al., 2017 ; Hashem et al., 2017 ; Iannarelli et al., 2018 ; Bettaieb Rebey et al., 2019), laxatif, antiulcéreux (Mushtaq et al., 2019), aphrodisiaque, apéritif, anti soif, ainsi que son efficacité contre les ballonnements, les douleurs de l'estomac et les coliques (Gamberini et al., 2015). Un essai clinique a démontré les effets bénéfiques de l'anis pour le traitement de dyspepsie et les complications variables sur les conduites gastro-intestinaux (Asadollahpoor et al., 2017).

1.7.4. Effets sur le système nerveux :

Pimpinella anisum a plusieurs effets thérapeutiques sur les désordres neurologiques, cela est dû à son importante teneur en anéthol (Gamberini et al., 2015 ; Bakara et al., 2016). Cette plante a été revendiqué être utile pour l'épilepsie et la mélancolie dans la médecine traditionnelle (Asadollahpoor et al., 2017). Les semences séchées ont été étudiées pour prévenir les troubles cérébraux tels que les convulsions partielles, des études ont également montré que l'extrait aqueux d'anis possède une forte action anti amnésique, (Mushtaq et al., 2019) antidépressive, myorelaxante (Gamberini et al., 2015 ; Bakara et al., 2016) ainsi que son effet neuroprotecteur (Mosavat et al., 2019). L'infusion des graines d'anis est couramment utilisée pour induire un effet tranquillisant (Gamberini et al., 2015 ; Bakara et al., 2016).

1.7.5. Effet sur le système respiratoire :

L'anis vert a un pouvoir thérapeutique contre de nombreuses affections telles que les troubles respiratoires ainsi que son effet myorelaxant (Ghazi et al., 2019 ; Hashem et al.,

2018). Sur la base de l'utilisation traditionnelle de longue date de l'anis, le comité des médicaments à base de plantes de l'Agence européenne des médicaments (EMA) a approuvé son utilisation en tant qu'agent expectorant de la toux associée au rhume, dyspnée et comme un anti-inflammatoire des voies respiratoires (Iannarella, 2018 ; Bettaieb Rebey et al., 2019 ; Mushtaq et al., 2019). En plus, il est bien connu par ces effets antitussives et bronchodilatateurs (Tepe et Tepe, 2015 ; Bakara et al., 2016 ; Samojlik et al., 2016).

1.7.6. Effet sur le le système reproducteur féminin :

Les graines d'anis sont également utilisé en gynécologie pour le traitement des troubles de la menstruation (Mushtaq et al., 2019), la dysménorrhée (Mosavat et al., 2019), et comme un sécrétagogue du lait chez les jeunes mères. De plus, des études pharmacologiques ont démontré le potentiel œstrogénique des graines séchées d'anis (Mushtaq et al., 2019). En outre elles ont des effets utiles sur les bouffées de chaleur ménopausiques et réduire la dépendance à la morphine (Ghazi et al., 2019). L'utilisation de ces graines à également été recommandée traditionnellement tout au long de la grossesse (Farzaneh et al., 2018).

1.7.7. Autres :

Pimpinella anisum L. et surtout son huile essentielle ont été utilisés en médecine traditionnelle comme apéritifs et stimulant d'organes vitaux tels que les poumons, le foie, le cœur, le cerveau. Elles sont utilisées également pour le traitement du cancer, du choléra, le diabète et l'hyperlipidémie. (Koriem, 2015 ; Tepe et Tepe, 2015 ; Aiswarya et al., 2018 ; Ghazi et al., 2019 ; Mosavat et al., 2019). De plus des études antérieures ont prouvé scientifiquement ses activités antimicrobiennes et antifongiques ainsi que sa forte action antioxydante, antibactérienne, antiviral, antiparasitaire, et antiseptique (Asadollahpoor et al., 2017 ; Ghazi et al., 2019 ; Bettaieb Rebey et al., 2019 ; A. Mushtaq et al., 2019). L'anis a été utilisé également comme un désinfectant (Aiswarya et al., 2018 ; Mosavat et al., 2019). Cependant, *Pimpinella anisum* est considérée comme une matière première naturelle utilisée principalement en raison de son huile essentielle dans les médicaments, les produits pharmaceutiques, les nutraceutiques, les aromathérapies, les conservateurs, les parfums, les produits cosmétiques pour préparer des crèmes et des lotions blanchissantes, des produits soins bucco-dentaires (dentifrices, bain de bouche) (Ullah et al., 2015 ; Farzaneh et al., 2018 ; Bettaieb Rebey et al., 2019 ; Mosavat et al., 2019 ; Mushtaq et al., 2019). Il a été

utilisé à l'époque en parfumerie ; les anciennes populations avaient utilisé les graines d'anis, en profitant de leur saveur agréable pour parfumer l'haleine (**Jamshidzadeh et al., 2015**).

2. Les huiles essentielles

2.1. Définition

Les huiles essentielles, ou parfois essences végétales (latin : *essentia*, « nature d'une chose ») sont des substances de consistance huileuse, plus au moins fluides, voire résinoïdes très odorantes, volatiles, et souvent colorées. Ces essences sont plus légères que l'eau avec une densité de l'ordre de : 0,750 à 0,990. Elles sont solubles dans l'alcool, l'éther, le chloroforme, les huiles, les émulsifiants et dans la plupart des solvants organiques, mais insolubles dans l'eau. (**Bardeau, 2009**). Elles ont des effets insecticides, antifongiques et antibactériennes, des effets sur le système musculo-squelettique et le système nerveux, une action gastro-protectrice, sédative, anti-spastique et anti-allergénique (**Delmas et al., 2016**).

2.2. Biosynthèse et localisation des huiles essentielles

La teneur des plantes en huiles essentielles est généralement faible, de l'ordre de 1 % (**Taleb-Toudert, 2015**). Elles sont largement répandues chez les végétaux supérieurs. Elles peuvent être stockées dans tous les organes, les sommités fleuries, les feuilles, les rhizomes, les fruits, les écorces et les graines (**Gazengel, 2013**). Les huiles synthétisées par les cellules se trouvent dans différentes parties de la plante et elles proviennent de deux grandes voies métaboliques: la voie des mévalonates (**Fig.3**) et la voie des shikimates (**Fig. 4**).

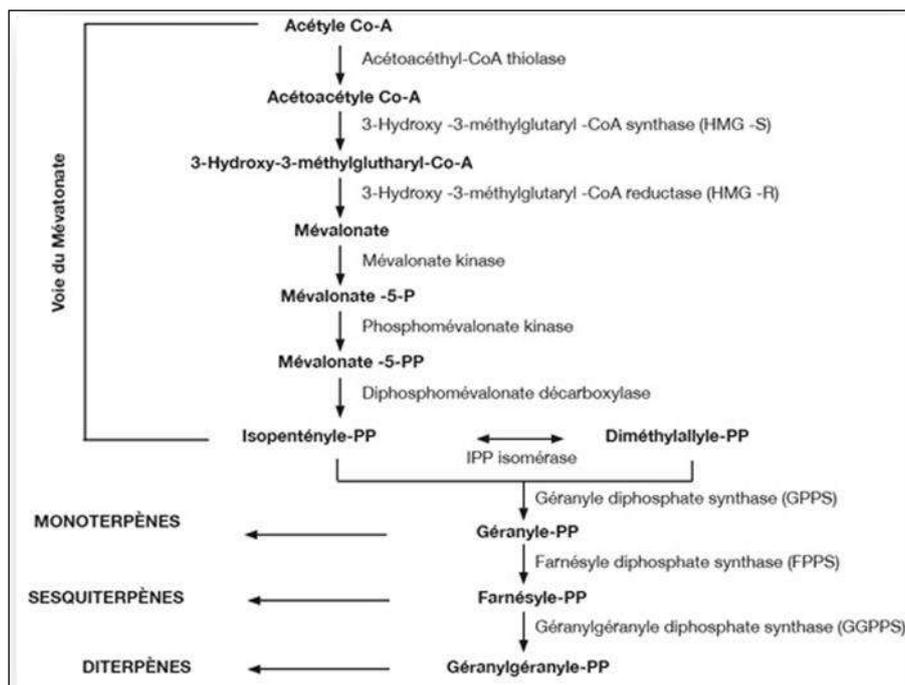


Figure 03 : la voie du mévalonate (Hopkins, 2003).

La première voie comprend les matériaux volatils synthétisés via le précurseur isopentenyl pyrophosphate (IPP), se compose de monosesquiterpènes et des matériaux oxygénés dérivés d'eux.

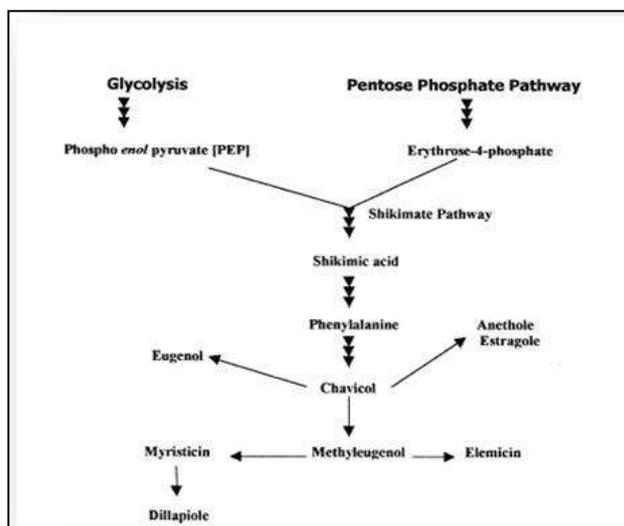


Figure 04 : La voie du shikimate (Hopkins, 2003).

La voie de l'acide shikimique, qui donne naissance à des composés phénoliques, polyphénols, ou dérivés phénylpropanoïdes (Hopkins, 2003).

3. Les composés aromatiques :

L'huile essentielle possède un caractère hydrophobe et contient des composés aromatiques (odoriférants) volatils de la plante. Ces derniers sont des composés organiques volatils (COV) issus du métabolisme secondaire végétal, ils présentent des caractéristiques physico-chimiques particulières, et jouent un rôle important dans les propriétés pharmacologiques conférées aux plantes (**Can Baser Hüsnü et Gerhard, 2010 ; Soualeh et Soulimani, 2016**). Les Composés Organiques Volatils sont définis comme toute substance organique se trouvant à l'état de gaz ou de vapeur dans des conditions normales de pression et de température. En chimie organique, un composé aromatique est une molécule présentant un ou plusieurs cycles, c'est-à-dire que les atomes sont arrangés de façon à former une structure cyclique plane. Souvent, ces substances présentent une odeur forte, d'où leur nom, et sont donc beaucoup utilisées en parfumerie. (**Soualeh et Soulimani, 2016**).

4. Critères déterminants la qualité des huiles essentielles

Jouault (2012) a rapporté que les critères définissant la qualité des huiles dépendent de plusieurs facteurs pouvant être résumés comme suit :

- La sélection de la plante qui est tributaire du genre et de l'espèce botanique ;
- Le chémotype (chimiotype) représentant les différents panels de molécules chimiques que des plantes de la même espèce peuvent produire si elles sont placées dans des conditions de cultures différentes. Le chémotype dépend de l'ensoleillement, de la température, de l'humidité, de la nature du sol, de la pression atmosphérique, de la photopériode.... ;
- La partie de la plante considérée pour l'extraction est déterminante pour la qualité de l'huile. En effet, les différentes parties d'une plante ne possèdent pas un équipement enzymatique uniforme, ce qui entraîne une différence de composition dans les constituants produits. Il est donc impératif de préciser la partie considérée lors de l'extraction de l'HE ;
- La période de récolte : la récolte doit se faire au moment où les principes actifs les plus intéressants produits par la plante sont à leur concentration maximale ;
- La conservation des huiles essentielles : elle doit se faire dans des flacons en verre opaque hermétique, dans un endroit frais, à l'abri de la lumière et de la chaleur pour éviter leur oxydation et la polymérisation de leurs composants.

5. Choix de la méthode d'extraction

Le choix de la technique d'extraction dépendra principalement de la partie de la plante sélectionnée, état originel de la matière première et ses caractéristiques, sa nature proprement dite, du rendement souhaité, de la durée d'extraction, du coût...etc. Ce choix conditionne les caractéristiques de l'huile essentielle, en particulier : viscosité, couleur, solubilité, volatilité, enrichissement ou appauvrissement en certains constituants et utilisations et applications (**Bruneton, 2009 ; Kaloustian et Hadji-Minaglou, 2012**).

6. Méthodes d'obtention des huiles essentielles et les extraits des plantes

L'extraction veut dire la séparation des parties actives de tissus végétaux ou animaux des composants inactifs ou inertes à l'aide de solvants sélectifs, traditionnellement l'eau, les huiles végétales ou les graisses animales. Les produits ainsi obtenus sont relativement impurs sous forme de liquides, semi-solides ou poudres exclusivement destinés à un usage oral ou externe (**Handa , 2008**).

6.1. Méthodes d'extraction Traditionnelles

Le procédé le plus ancien consiste à briser les cellules productrices des huiles, avec des pierres ou instruments en bois à la température ambiante, pour libérer leurs contenus (**Baster et Buchbauer, 2009**).

6.1.1. Infusion:

C'est la forme de préparation la plus simple, la plus courante et connue de tous. Elle consiste à verser de l'eau bouillante sur les parties de plantes fraîches ou séchées et les bien tremper pendant quelques minutes afin d'extraire leurs principes médicinales. Elle convient pour l'extraction de parties délicates ou finement hachées des plantes: feuilles, fleurs, graines, écorces et racines, ayant des constituants volatiles ou thermolabiles comme les huiles essentielles (**Baba-Aïssa, 2000; Kraft et Hobbs, 2004**).

6.1.2. Décoction:

Cette méthode est sensiblement différente de l'infusion, Elle convient pour l'extraction de matières végétales dures ou très dures : bois, écorce, racines, ou des plantes avec des constituants peu solubles (ex : l'acide silicique). Elle consiste à faire bouillir les plantes fraîches ou séchées dans de l'eau pendant 10 à 30 min, pour bien extraire les principes médicinales (**Baba-Aïssa, 2000; Kraft et Hobbs, 2004**).

6.1.3. Macération:

Cette méthode d'extraction consiste à laisser reposer une plante ou partie de plante, dans de l'eau froide (macération aqueuse) ou une huile végétale (macération huileuse), pendant plusieurs heures, voir plusieurs jours, pour permettre aux constituants actifs de bien diffuser. Elle convient pour l'extraction de plantes contenant du mucilage, comme les graines de lin, leur forte concentration en amidon ou pectine peut causer une gélatinisation s'ils se préparent dans de l'eau bouillante. Egalement utilisée pour empêcher l'extraction de constituants indésirables qui se dissolvent dans l'eau chaude (**Kraft et Hobbs, 2004**).

7. Distillation:

C'est une pratique très ancienne utilisant la vapeur d'eau pour récupérer les principes volatiles (**Benzeggouta, 2015**).

7.1. Hydrodistillation

Le principe de cette méthode consiste à immerger la matière première dans un bain d'eau (**Laguznez, 2006**). Lorsque la vapeur ou l'eau à ébullition vient en contact avec les cellules, qui contiennent les huiles essentielles, elles se réchauffent et se brisent, permettant la libération des huiles essentielles à l'état gazeux, ces dernières passent dans l'équipement de distillation avec la vapeur d'eau. Les vapeurs se condensent dans le réfrigérant qui se refroidit par la circulation continue d'eau, pour donner à la fin un mélange qui contient l'eau et les huiles essentielles (**Benzeggouta, 2015**).

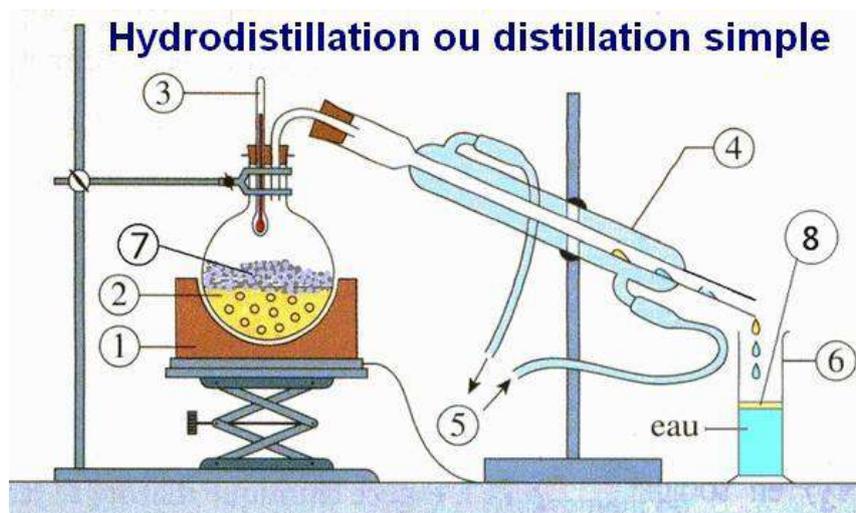


Figure 05 : Illustration schématique de l'hydrodistillation (**Jouault, 2012**).

1: Chauffe-ballon **2:**Eau bouillante **3:**Thermomètre **4:**Refrigérant a eau **5:**Arrivée d'eau froide et Sortie d'eau tiedie **6:**Essencier **7:**Vegetal **8:**Huile Essentielle.

7.2. Distillation par entraînement à la vapeur

À la différence de l'hydrodistillation, cette technique ne met pas en contact direct l'eau et la matière végétale à traiter. Lorsqu'il s'agit d'organes durs (racines, écorce), les plantes entières ou broyées sont disposés dans un alambic traversé par un courant de vapeur d'eau, sous l'effet de la chaleur, l'eau se transforme en vapeur, qui sous basse pression, traverse alors la cuve remplis de plante aromatiques. La vapeur d'eau qui a volatilisé et entraîné l'huile essentielle, se condense ensuite dans le serpentin du réfrigérant (Roux, 2008 ; Benzeggouta, 2015).

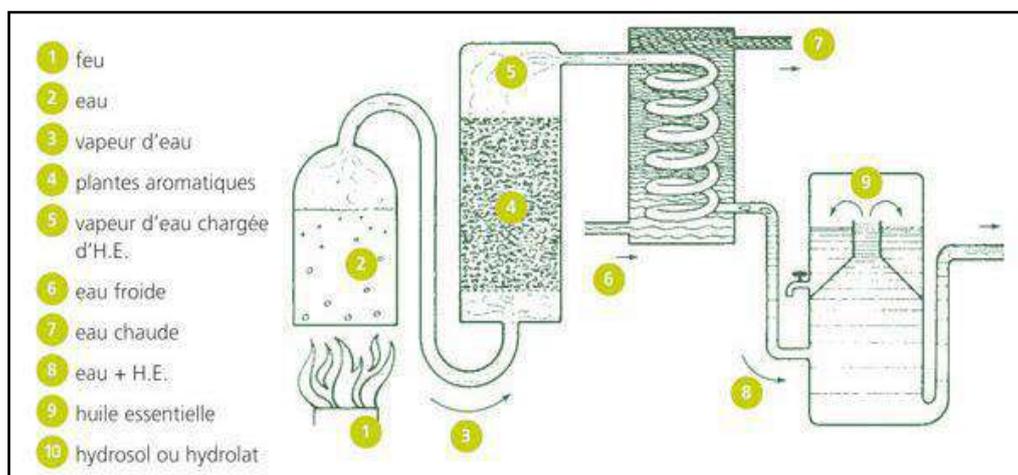


Figure 06: procédé d'extraction d'une huile essentielle par entraînement à la vapeur d'eau (Muther, 2015).

7.3. Méthodes d'extraction Modernes

Aujourd'hui, la technologie offre un large panel de possibilités d'obtention d'extraits avec des techniques modernes tout en assurant une stabilisation du produit fini et la garantie celui-ci soit exempt de microorganismes, de résidus de pesticides et de métaux lourds. Parmi ces techniques :

- Extraction par un solvant organique (Revuz, 2009) ;
 - Macération (extraction discontinue).
 - Extraction par Soxhlet.
- Extraction par Fluides Supercritiques ;
- Méthode d'extraction par micro-onde (Hellal et Haderbache, 2011).

8. Toxicité des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des substances puissantes et très actives. Elles représentent une source inépuisable de remèdes naturels. Néanmoins, il est important de souligner que l'automédication fréquente et abusive surtout en ce qui concerne le dosage ainsi que le mode d'application interne ou externe par les essences est nocive. Elle engendre des effets secondaires plus ou moins néfastes dans l'organisme (allergies, coma, épilepsie. etc..) principalement chez les populations sensibles (enfants, femmes enceintes et allaitantes, personnes âgées ou allergiques) (Degryse et al., 2008). L'accumulation des essences dans l'organisme par des prises répétées peut conduire à des nausées, des céphalées... L'ingestion de plus de 10 mL d'huile essentielle est neurotoxique et épiléptogène par inhibition de l'apport d'oxygène au niveau des tissus encéphaliques. Il existe quelques huiles essentielles dont certains composés sont capables d'induire la formation de cancer, c'est le cas par exemple de dérivés d'allylbenzène ou de propenylbenzène comme le safrole, l'estragole, la β -arasonne, et le methyl-eugénol (Ouis, 2015).

9. L'huile essentielle de *Pimpinella anisum* L.

9.1. Caractéristiques

L'huile essentielle extraite des graines d'anis vert est un liquide visqueux peu ou pas coloré, mais le plus souvent jaune pâle, de saveur chaude, légèrement anesthésiante, de consistance peu fluide, ainsi qu'une odeur douce, sucrée. Il se solidifie au froid au-dessous de 15° (Peter, 2001 ; Lis-Balchin, 2006 ; Polese, 2006 ; Remington, 2006).

9.2. Composition chimique

Le rendement de l'anis peut sensiblement varier selon les conditions écologiques telles que la température, les précipitations et la fertilité des sols. Des études antérieures ont montré que les effets de l'espacement de ligne, l'approvisionnement en eau, la fertilisation, l'époque des semis, la densité de semis sur le rendement des graines d'anis et de leurs qualités (Ullah et al., 2014). L'huile essentielle d'anis est parmi les huiles les plus utilisées depuis l'antiquité. Sa valeur est due à l'importance de ses constituants chimiques. Son constituant principal est l'anethole (90 %) suivi du γ -himachalène (7,0%). Ainsi que <1% p-anisaldehyde, 0.9-1.5% du methylchavicol (Estragol), 3% cis-pseudoisoeugenyl 2- methylbutyrate, 1.3% trans-pseudoisoeugenyl, 3% du 2-methylbutyrate et and 1.3% trans-pseudoisoeugenyl 2-

methylbutyrate; aussi bien que des coumarines, le scopoletin, l'umbelliférol, des esters, des hydrocarbures de terpène, des polyènes et des polyacétylènes (Ullah et al., 2014 ; Pavela, 2014 ; Aboelnaga, 2015).

9.3. Le composant majeur et ses applications

Le trans-anéthol (benzène 1-méthoxy-4-(1-propényl),) est un phénylpropène, c'est le constituant principal de l'huile essentielle et les extraits de plusieurs herbes aromatiques telles que l'anis, l'anis étoilé, le fenouil, le myrte d'anis, le baume de citron, la coriandre, etc (Kfoury et al., 2014 ; Sheikh et al., 2015 ; Zhang et al., 2015 ; Gharib et al., 2016). Il possède une activité hypoglycémiant, antioxydante (Sheikh et al., 2015) , gastroprotective, vasoactive (Ponte et al., 2012) antithrombine et antibactérien (Ponte et al., 2012 ; Zhang et al., 2015 ; Gharib et al., 2016). Comme genre d'ingrédient fonctionnel de nourriture, il possède de grands avantages commerciaux, il est très utilisé comme aromatisant en boulangerie, bonbons, dans les pâtisseries, assaisonnements, glace, produits de confiserie et boissons alcoolisées. D'ailleurs, il peut empêcher les agents pathogènes qui souillent la nourriture et peuvent être employés pour la conservation des aliments. (Kfoury et al., 2014 ; Zhang et al., 2015 ; Gharib et al., 2016).

Cependant, son application dans des produits alimentaires est limitée en raison de sa volatilité, instabilité chimique en présence de lumière, chaleur et oxygène et sa solubilité aqueuse très basse qui gênent le contact avec des agents pathogènes en nourritures de haute teneur en humidité. De même, il peut être facilement oxydé, décomposé ou être isomérisé quand il est exposé à l'air, à la lumière, ou à la chaleur pendant le traitement des denrées alimentaires et le stockage des produits alimentaires (Kfoury et al., 2014 ; Gharib et al., 2016). En outre, il a été rapporté que l'anéthol est non-génotoxique et non-carcinogénique . (Kfoury et al., 2014 ; Zhang et al., 2015 ; Gharib et al., 2016).

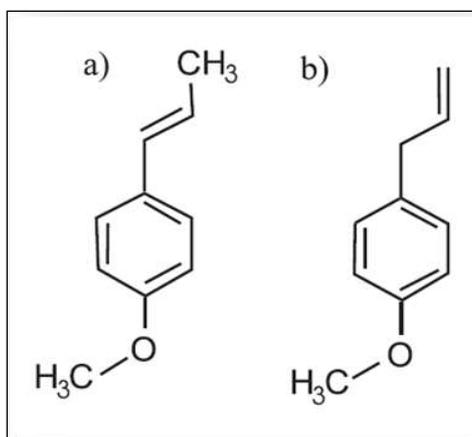


Figure 07 : Structure chimique de l'anéthol (a), estragole (b) (Kimbaris et al., 2012 ;

Benelli et al., 2018).

9.4. Toxicité, effets indésirables.

La toxicité de l'huile essentielle des graines d'anis est considérée comme étant GRAS (généralement reconnu comme sain) (**Rocha et al., 2016**). Tous les essais d'administration chronique ont conclu à une toxicité négligeable pour cette huile essentielle : absence d'effet d'une dose quotidienne représentant 0,25 % de la ration alimentaire de rats pendant un an. A très forte dose (3 % de la ration alimentaire) on note une toxicité hépatique. L'activité œstrogénique est sans incidence chez l'humain dans les conditions habituelles d'utilisation. Le potentiel de sensibilisation de l'anis est faible, mais des cas de réaction allergique sont connus (asthme, réaction cutanée et/ou respiratoire) (**Bruneton, 2009**).

L'anéthole, à faible dose, stimule la digestion. À forte dose, c'est un excitant du système nerveux central, pouvant provoquer des convulsions. Cette toxicité est surtout due à l'isomère Z de l'anéthole qui, en principe, doit être pratiquement absent des drogues et des huiles essentielles (**Gazengel et Orecchioni, 1999**). Toutefois, l'anéthol s'est révélé être mutagène au test Ames (**Özgülven, 2012**) et l'estragol est suggéré étant cancérigène (**Malhotra, 2012**). L'huile essentielle et le (E)-anéthole sont peu toxiques en aigu (DL50 : 2 à 3 g/kg [voie orale, Souris, Rat]), ce qui n'est pas le cas de l'isomère (Z) (ou cis-anéthole : DL50 = 0,1 g/kg, Rat, voie IP, 0,24 g/kg, Souris, per os) (**Bruneton, 2009**).

Chapitre II : Pesticides

1. Pesticides

1.1. Historique

Les pesticides ont été utilisés depuis le début de l'histoire humaine. Le premier pesticide utilisé est par l'époussetage du soufre élémentaire utilisé dans la Sumeria environ 4500 ans. Au dix-septième siècle, le sulfate de nicotine extrait des feuilles de tabac était utilisé comme insecticide. Au dix-neuvième siècle, deux autres pesticides naturels ont été introduits, le pyrèthre et la roténone. Jusqu'aux années 1930, les pesticides étaient principalement des composés inorganiques ou d'origine naturelle. Le premier pesticide synthétique était le 1,1,1-trichloro-2,2-bis(p-chlorophényl)éthane (DDT) en 1874, mais pas utilisé jusqu'en 1939, lorsque Muller et ses collègues ont découvert ses propriétés insecticides (**Nriagu, 2019**).

1.2. Définition

Le terme pesticide provient du mot anglais " Pest" qui désigne tout organisme susceptible d'être nuisible à l'Homme. Ainsi, on entend par « pesticides», les produits formules par l'homme destinés à détruire ou repousser les espèces considérées comme indésirables (plantes, animaux, insectes, nématodes, organismes microbiologiques terrestres ou aquatiques, champignons) ou utilisés comme régulateur de croissance (**Bonvallot, 2014**). Selon l'index de l'ACTA, le terme "pesticides" est une appellation générique couvrant toutes les substances ou produits qui éliminent les organismes nuisibles, qu'ils soient utilisés dans le secteur agricole ou dans d'autres applications. Ils peuvent être employé dans plusieurs secteurs tels que l'agriculture (pesticides a usage agricole, produits antiparasitaires a usages vétérinaires par exemple) ou l'industrie (biocides antibactériens ou utilisés pour le traitement des charpentes, produits antiparasitaires par exemple) (**ACTA, 2005**). Ils sont connu aussi sous l'appellation " produits phytosanitaires" (usages agricoles mais également domestiques) d'où la définition réglementaire est la suivante : « toute substance active ou préparation contenant une ou plusieurs substances actives qui sont présentées sous la forme dans laquelle elles sont livrées a l'utilisateur » (**Bonvallot, 2014**). La diffusion de ces composés chimiques dans l'environnement par contamination de l'air, le sol, l'eau et les produits alimentaires provoque l'exposition continue des organismes vivants d'une manière tant aigue que chronique à des risques de toxicité susceptible d'engendrer des diverses pathologies (**Toumi, 2013 ; Pandey & Mohanty, 2015, Gasmi, 2018**).

1.3. Classifications

Les pesticides disponibles aujourd'hui sur le marché sont caractérisés par une telle variété de structure chimique, de groupes fonctionnels et d'activité que leur classification est complexe. Ils peuvent être classés en fonction de la nature de l'espèce à combattre mais aussi en fonction de la nature chimique de la principale substance active qui les compose (Djeffal, 2014 ; Gasmi, 2018). Donc, il existe beaucoup des critères de classement pour les pesticides, parmi ces critères nous citons les suivants :

1.3.1. Classification biologique :

Selon leur cible, les pesticides sont divisés principalement en trois grandes familles de produits phytosanitaires :

1.3.1.2. Les insecticides :

Les insecticides sont des substances toxiques capables de tuer les insectes en pénétrant dans leur corps par contact direct (entrée dermique), par voie orale et / ou par voie respiratoire. Il existe plusieurs autres classes d'insecticides, certains anciens qui ont eu une grande importance dans le passé (par exemple, les organochlorés) et les nouveaux qui ont été pertinents ces dernières années (par exemple, les néonicotinoïdes) (Costa et Aschner, 2014 ; Kim et al., 2016).

1.3.1.3. Les fongicides :

Les fongicides sont des agents qui tuent, repoussent, empêchent ou atténuent un champignon. Ils sont appliqués avant une infection potentielle par les spores fongiques, soit pour les plantes, soit pour les récoltes. Exemple de fongicides: les triazoles (Costa et Aschner, 2014).

1.3.1.4. Les herbicides :

Les herbicides sont des produits chimiques, qui fournissent un moyen efficace et économique de lutte contre les mauvaises herbes comme les Carbamates. (Costa et Aschner, 2014) herbicides désignés pour tuer les mauvaises herbes.

1.3.1.5. Autre:

- **Produit biocide**

Selon le règlement (UE)N° 528/2012, Le terme biocide est applicable à toute substance active vise à détruire, repousser ou rendre inoffensifs les organismes nuisibles, à en prévenir l'action ou à les combattre de toute autre manière, par une action autre qu'une simple action physique ou mécanique. Les produits biocides comprennent:

a. Désinfectants (bactéricide) (hygiène humaine ou animale, désinfection des surfaces, désinfection de l'eau potable...).

b. Produits de protection (bois, cuir, matériaux de construction, fluides de coupe,...).

c. Produits de lutte contre les nuisibles (rodenticides, insecticides, répulsifs...).

d. les autres produits biocides (fluides utilisés pour l'embaumement, produits antisalissures).

1.3.2. Classification chimique

Selon la nature chimique de la substance active majoritaire qui compose les produits phytosanitaires, les pesticides peuvent être des organochlorés, organophosphorés, organostaniques, carbamates, benzimidazoles, triazoles, pyréthrinoïdes de synthèse, néonicotinoides, pyrimidines et autres (**Testud et Grillet, 2007 ; Guler et al., 2010**). Cette famille de pesticides peut être classée en composés organiques et inorganiques.

1.3.2.1. Les pesticides organiques :

Ce sont des composés chimiques complexes avec un squelette de carbone dans leur structure moléculaire, souvent liés à des hétéroatomes tels que l'oxygène, le phosphore, le soufre, le chlorure et le fluor (**Caballero et al., 2016**).

1.3.2.2. Les pesticides inorganiques :

Les pesticides inorganiques sont constitués par les composés inorganiques du soufre, du cuivre et d'autres éléments (**Caballero et al., 2016**).

1.4. Modes d'expositions aux pesticides

Les pesticides sont utilisés, non seulement dans l'agriculture, mais aussi dans divers secteurs (industries, collectivités territoriales) ainsi qu'en usage domestique et vétérinaire. Des problèmes de résidus dans les légumes, les fruits etc..., sont aussi mis en évidence (**Belhaouchet, 2014**). Les pesticides peuvent contaminer les organismes vivants via multiple voies d'exposition (fig.10). En effet, ces polluants pouvant pénétrer dans l'organisme par contact cutané, par ingestion des matrices alimentaires contaminées et encore par inhalation de l'air pollué (**Utip et al., 2013**). La grande variété de produits rend difficile l'évaluation des expositions chez les populations, qu'il s'agisse de la population exposée professionnellement (agriculteurs ou manipulateurs), ou de la population générale (**Bourbia, 2013 ; Gasmi, 2018**). La figure suivante résume les modes d'exposition possibles aux pesticides pour l'homme et son environnement.

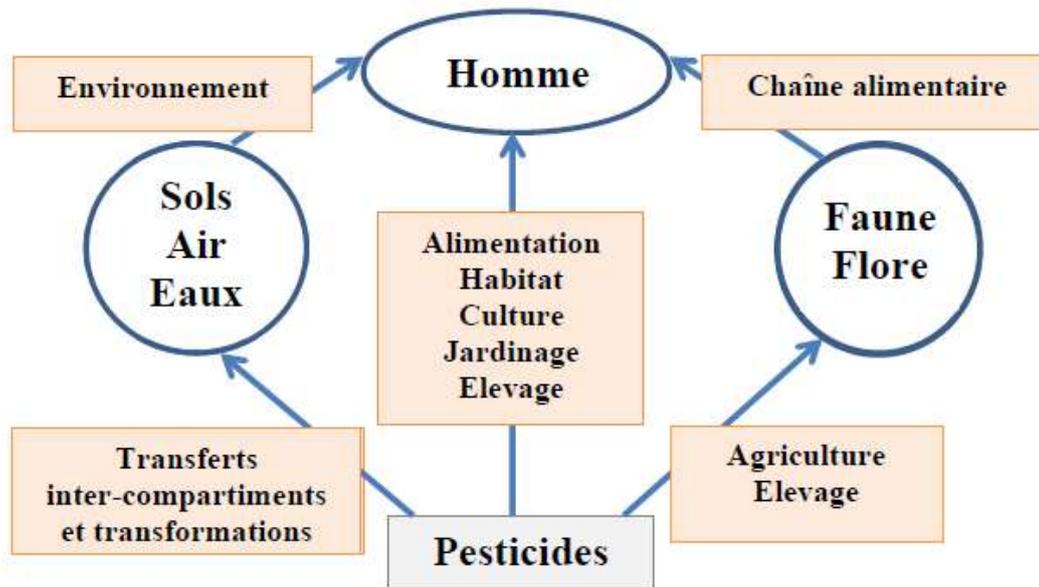


Figure 08 : Modes d'exposition des organismes vivants aux pesticides (Gasmi, 2018).

1.4.1. Exposition professionnelle

L'exposition professionnelle concerne essentiellement les personnes manipulant les produits, au moment de la préparation, de l'application et du nettoyage des appareils de traitement. Les agriculteurs présentent une population particulièrement exposée qui forme un groupe sentinelle pour l'observation d'éventuels effets des pesticides. Cependant, les données des bilans de surveillance systématique ne portent souvent que sur des manifestations toxiques aiguës ou subaiguës. L'exposition professionnelle aux pesticides chez les agriculteurs est très variable et complexe selon les exploitations agricoles. Elle est le plus souvent saisonnière et correspond à une succession de journées d'utilisation de produits chimiquement différents au cours de la saison et souvent également au cours d'une même journée (CPP, 2002). En général, l'exposition est essentiellement cutanée, à moindre mesure aérienne et secondairement orale (repas, tabac,... sur le lieu de travail). L'exposition aux pesticides par voie cutanée est révélée la plus significative en milieu agricole (Jakubowski and Trzcinka-Ochocka, 2005). Afin de réduire l'exposition des professionnels, l'utilisation des équipements de protection individuelle (gants, masques, combinaisons) constituent les principales mesures de prévention mises en œuvre. Néanmoins, une étude menée en France a mis en évidence une insuffisance de l'efficacité de ces équipements (Baldi et al., 2006 ; Bourbia, 2013).

1.4.2. Exposition non professionnelle

L'ensemble de la population peut être exposé aux pesticides lors des usages domestiques ou d'entretien des jardins mais surtout à des résidus de ces pesticides au travers de son environnement (eau, air, particules en suspension, poussières) et de son alimentation. Les chiffres de l'OMS indiquent que la contamination des aliments par les pesticides est la voie d'exposition de loin la plus importante. Les évaluations de risque attribuent 90% de l'exposition à l'alimentation contre 10% à l'eau. Le dernier rapport de la commission des communautés européennes concernant le suivi des résidus des pesticides dans les produits végétaux montrent la présence de résidus détectables avec des niveaux inférieurs aux LMR dans 43% et supérieurs à ces limites dans 5% des 57 334 échantillons de fruits, légumes et céréales analysés (Bourbia, 2013).

1.5. Effet toxique :

Les pesticides regroupent des types de toxicité variable pour l'homme. Le délai d'apparition des effets toxiques varie en fonction de la toxicité intrinsèque du produit utilisé, de la dose reçue, de la voie d'absorption et de la susceptibilité de l'individu (Cherin et al., 2012).

1.5.1. Intoxication aiguë :

La toxicité aiguë par les pesticides résultant d'une mauvaise utilisation ou d'un usage accidentel. Les signes ou symptômes les plus souvent rapportés lors d'une intoxication aiguë aux pesticides sont les suivants : irritation cutanée ou oculaire ; maux de tête (Céphalées) ; nausées ; vomissements ; étourdissements ; fatigue ; perte d'appétit (Cherin et al., 2012).

1.5.2. Intoxication chronique :

La majorité des problèmes de santé liés aux pesticides repose sur l'exposition prolongée et l'intoxication chronique à ces produits phytosanitaires. Ils possèdent des effets génotoxiques et des effets cancérogènes ; trois types d'effets font l'objet d'une attention particulière : les troubles neurologiques, les troubles de la reproduction et du développement, les perturbations endocriniennes. Parmi les maladies liées à l'exposition chronique aux pesticides : l'asthme, leucémie, les allergies et l'hypersensibilité. Cette exposition peut entraîner aussi des anomalies congénitales, une réduction du poids à la naissance, la mort fœtale, etc. (De Jaeger et al., 2012 ; Kim et al., 2016).

1.6. Devenir des pesticides dans l'environnement :

Malgré un souci croissant de protection de l'environnement, lors de l'utilisation des pesticides, une certaine quantité de ces substances se diffuse dans l'environnement

(**Gasmi, 2018**). Les voies de dispersion et de transfert de pesticides sont nombreuses. Ils peuvent alors être soumis à différents processus :

Les gouttelettes de ces produits peuvent atteindre directement le sol sans être stoppées par le feuillage, ou alors indirectement, lorsque la pluie va lessiver les gouttelettes, non encore absorbées par les feuilles (**Belhaouchet, 2014**). Les pesticides peuvent être entraînés par dérive loin des zones de culture visées ou être directement volatilisés vers l'atmosphère lors de leur pulvérisation (**Toumi, 2013**). La ré-volatilisation à partir du sol et des végétaux joue également un rôle important dans la contamination de l'air. Enfin, le lessivage et le ruissellement, lors des précipitations, vont entraîner la contamination des eaux de surface et souterraines (**Druart, 2011**). La présence de polluants constitue un stress induisant des modifications au niveau physiologique et métabolique dans l'organisme, ce dernier peut réagir par des réponses mécanistiques limitant les effets toxiques des contaminants en protégeant les cellules et en facilitant leur excrétion. Bien que les mécanismes de défense cellulaire soient actuellement mieux connus, il est cependant nécessaire de les approfondir en raison notamment des interactions existant entre les xénobiotiques présents simultanément dans le même milieu (**Testud et Grillet, 2007 ; Guler et al., 2010**).

2. Néonicotinoïdes

2.1. Généralités

Les insecticides neuro-actifs sont une classe des pesticides les plus largement utilisés actuellement, appliqués à de nombreuses cultures et à une grande pléthore de légumes et de fruits (**Herrero-Hernández et al., 2017 ; Hladik et al. 2018**). Ils sont très nocifs pour les oiseaux car ils sont la cause de la réduction de la population d'insectes et des colonies d'abeilles domestiques. (**Herrero-Hernández et al., 2017**). Les réglementations récentes de l'Union européenne ont interdit l'utilisation de plusieurs de ces composés en raison des risques pour l'environnement (**Sousa et al., 2018 ; Oriol et al., 2019**).

Les néonicotinoïdes constituent une catégorie relativement nouvelle de pesticides utilisés comme insecticides (**Cavas et al., 2014**). Cette classe de pesticides est identifiée initialement dans les années 1990 (**Casida et Durkin, 2013**) ; son utilisation a ensuite été progressivement augmentée à partir du début de 2000 (**Wood et Goulson, 2017**). Les néonicotinoïdes sont largement utilisées dans la culture de légumes dans le monde entier pour lutter contre divers insectes suceurs et augmenter la production végétale à faible coût. Comme ils sont largement appliqués à travers le monde, ils suscitent une réelle préoccupation

publique (Pisa et al., 2015), comme l'ont démontré de nombreuses études consacrées par des groupes de recherche de nombreux pays, comme le confirment les dernières conclusions du groupe d'évaluation intégrée mondiale (Van der Sluijs et al. 2015 ; Chakroun et al., 2016). Les insecticides de type néonicotinoïdes comprennent sept ingrédients actifs commercialisés : l'imidaclopride, l'acétamipride, le nitenpyram, le thiaméthoxame, le thiaclopride, le clothianidine et le dinotéfurane (Badawy et al., 2019). Ils sont des analogues synthétiques de la nicotine, qui est un alcaloïde naturel extrait des feuilles de tabac, utilisée depuis des siècles comme insecticide (Jeschke et al., 2011). Les néonicotinoïdes sont des neurotoxiques ; leurs cible est le récepteur post-synaptique à l'acétylcholine dont le blocage induit la paralysie et la mort de l'insecte ; ce mécanisme proprement dit sera traité d'une manière plus approfondie dans la section de la neurotoxicité (Gasmi, 2018).

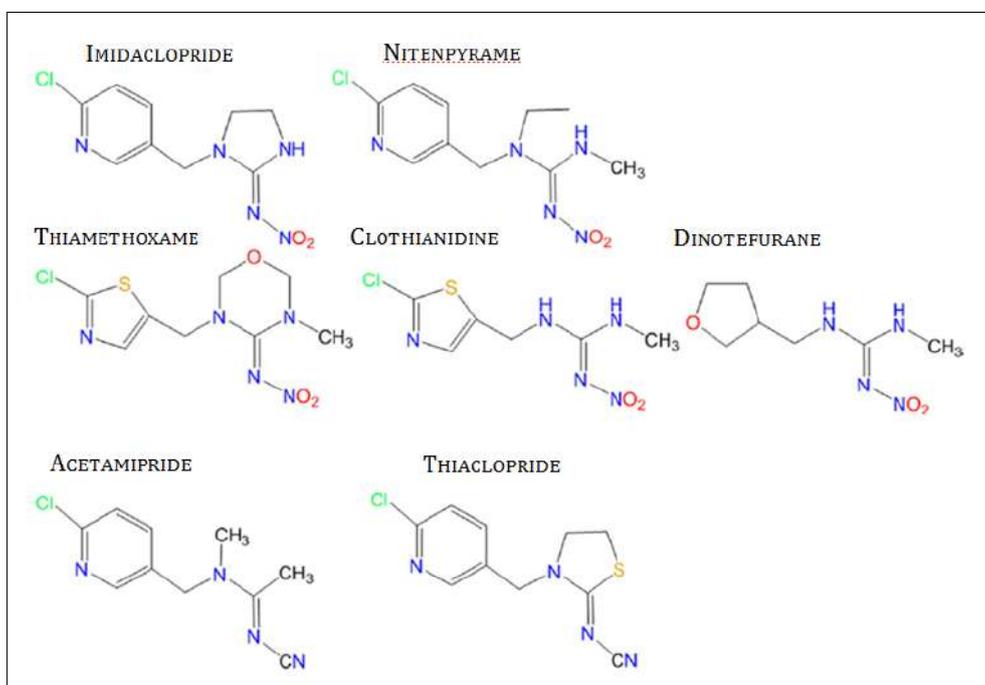


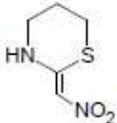
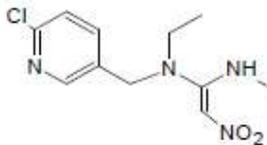
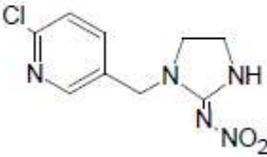
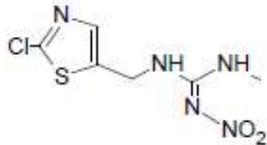
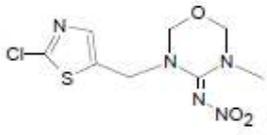
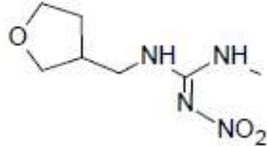
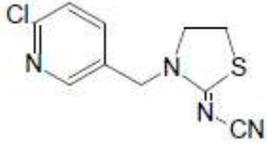
Figure 09 : Formules planes des principaux néonicotinoïdes.

D'après Simon-Delso et al. (2015), Environ Sci Pollut Res

2.2. Classification

Les neonicotinoides peuvent être classés selon leur structure chimique. Cette dernière influe sur leur activité biologique, sur leurs propriétés de photostabilité, de métabolisation par les plantes et les insectes et leur toxicité. Ils sont classés en 2 et 3 groupes en fonction du type de pharmacophore qu'ils possèdent (Bodereau, 2012) ; ce classement est illustré dans le tableau suivant

Tableau 02 : Classification des insecticides neonicotinoïdes en fonction de leur pharmacophore. Modifié d'après (Jeschke et al., 2008).

pharmacophores [-N-C(E)=X-Y]	composés à cycle de 5 et 6 éléments	composés à chaîne ouverte
nitroenamines/nitrométhylènes [-N-C(E)=CH-NO ₂]	nithiazine 	nitenpyrame 
	imidaclopride 	clothianidine 
N-nitroguanidines/N-nitro-imines [-N-C(E)=N-NO ₂]	thiaméthoxame 	dinotefuran 
	N-cyano-amidines/N-cyano-imines [-N-C(E)=N-CN]	thiaclopride 

2.3.Imidaclopride

2.3.1. Définition :

L'imidaclopride [1- (6-chloro-3-pyridylmethyl) - Nnitroimidazolidin-2-ylidene-amine] est actuellement l'insecticide le plus utilisé au monde, il appartient à la famille des néonicotinoïdes (Ahmed et Naser, 2015). Il a été commercialisé pour la première fois sur le marché en 1991 par le groupe Bayer CropScience , à des fins phytosanitaires et vétérinaires (Zeid et al., 2019) . On le retrouve dans de nombreuses formulations commerciales, Admire®, Confidor®, Gaucho®, Ministre®, Provado® et Marathon® (AL-SAYEDA, 2007). Compte tenu de son action insecticide hautement sélective, de sa faible toxicité pour

les mammifères, de ses utilisations insecticides étendues et de ses propriétés systémiques excellentes, il est devenu l'un des insecticides les plus vendus au monde, représentant 41,5% du marché total des néonicotinoïdes (Jeschke et al., 2011).

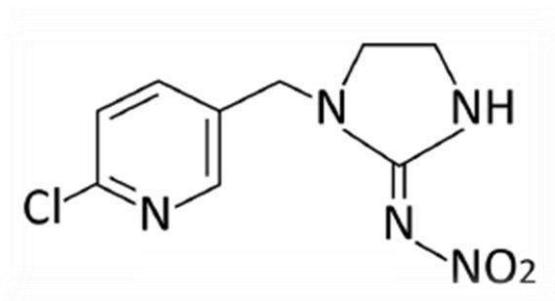


Figure 10 : La structure chimique d'imidaclopride (Yari et al., 2019).

2.3.2. Les propriétés physicochimiques :

Les propriétés physicochimiques sont rassemblées dans le tableau suivant :

Tableau 03 : Les propriétés physicochimiques d'imidaclopride (Al-Sayeda, 2007)

Paramètre	Valeur
Aspect physique	Cristaux sans couleur avec une odeur caractéristique faible
Nom chimique	1- (6-chloro-3-pyridylmethyl) - Nnitroimidazolidin-2-ylidene-amine
Formule brute	C ₉ H ₁₀ ClN ₅ O ₂
Poids moléculaire [g/mole]	255.7
Point de fusion	136.4 °C (forme en cristal 2) 143.8°C (forme en cristal 1)
Solubilité à 20 °C [g/l]	Eau : 0.61 n-hexane : <0.1 isopropanol : 1 Dichlorométhane : 50-100 Toluène :0.5-1
Pression de vapeur	4. 10 ⁻¹⁰ Pa à 20 °C

Log du coefficient de partage Octanol-eau (log Kow)	0.57 à 21 °C
Constante de Henry [Pa.m ³ /mole]	2. 10 ⁻¹⁰ à 20 °C
Densité	1.54/ml à 20 °C

2.3.3. Mode d'action :

La toxicité sélective de l'imidaclopride s'explique par leur mode d'action et la physiologie particulière des insectes.

2.3.3.1. Le récepteur nicotinique à l'acétylcholine (nAChR)

Le récepteur nicotinique de l'acétylcholine (nAChR) est une combinaison de 5 sous-unités semblables (homomériques) ou différentes (hétéromériques) (**fig.11**). Ces sous-unités forment un canal à ouverture contrôlée, spécifique des ions Na⁺, K⁺ et Ca²⁺. Le récepteur est l'extrémité N-terminale d'une sous-unité, domaine extracellulaire : la fixation de l'acétylcholine entraîne l'ouverture du canal cationique puis une dépolarisation de la cellule nerveuse, à l'origine de la transmission du signal nerveux (**Thany et al., 2007**).

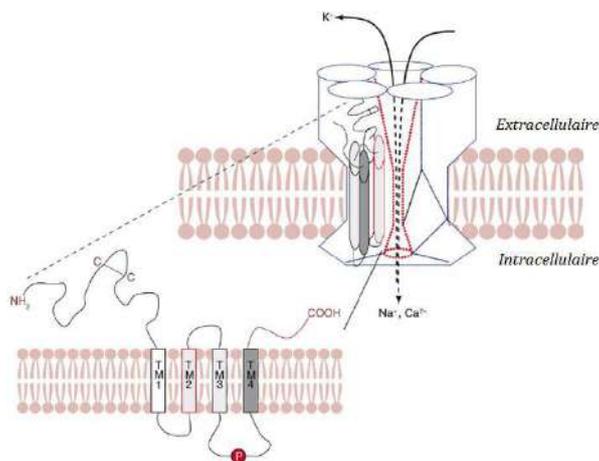


Figure 11 : Structure du récepteur nicotinique de l'acétylcholine (en haut) et d'une de ses sous-unités (en bas). TM1, 2, 3 et 4 représentent les quatre domaines membranaires d'une sous-unité, prolongés par les extrémités extracellulaires N-terminale et COOH. En position intracellulaire, le site P correspond au site de phosphorylation impliqué dans la modulation des messages nerveux (**Thany et al., 2007**).

2.3.3.2. La synapse cholinergique nicotinique

Au niveau de la synapse cholinergique nicotinique, l'acétylcholine (ACh) est normalement libérée par la membrane pré-synaptique, qui se caractérise par un potentiel d'action (PA) qui, en se propageant au niveau du bouton synaptique permet l'activation de canaux calciques voltage-dépendant et la migration de vésicules d'acétylcholine (ACh) vers la fente synaptique. La liaison d' ACh à la membrane post-synaptique entraîne un changement conformationnel du récepteur de l'acétylcholine de type nicotinique (nAChRs) qui conduit à l'activation, à l'ouverture du canal ionique et entraîne un flux sortant d'ions K^+ et un flux entrant d'ions Na^+ majoritaire. Cela entraîne une modification du potentiel de la membrane et une propagation de l'impulsion nerveuse. Cette entrée d'ions sodium crée une dépolarisation de la membrane et génère ainsi un potentiel post-synaptique excitateur (PPSE), permettant de transmettre l'information nerveuse au neurone post-synaptique. L'ACh peut également se fixer sur des récepteurs de l'acétylcholine de type muscarinique (mAChRs) qui régulent la libération de l'ACh. Au niveau de la fente synaptique, l'ACh est dégradée en choline et acétate par l'acétylcholinestérase (AChE). La choline est recapturée par l'élément pré-synaptique pour synthétiser de nouvelles molécules d'ACh (**Bodereau, 2012**).

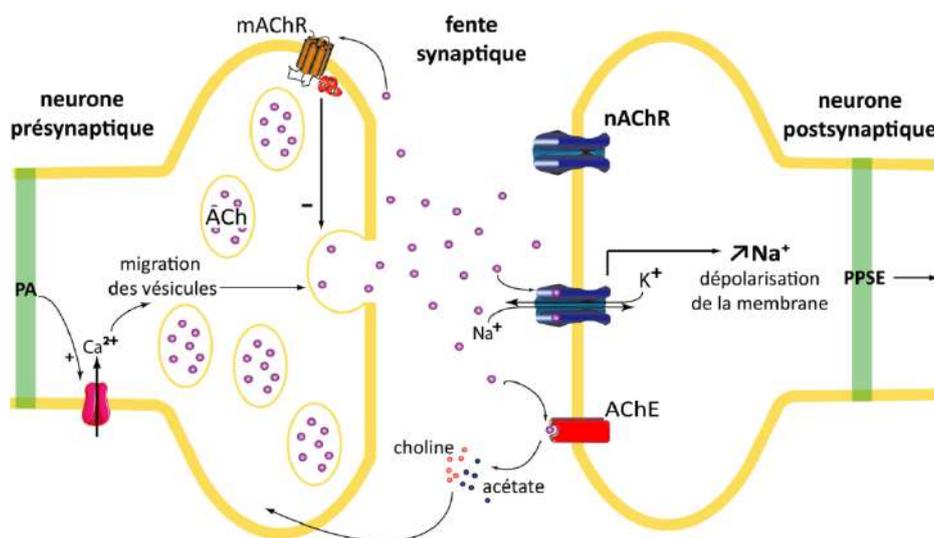


Figure12 : Représentation schématique d'une synapse cholinergique entre deux neurones (**Bodereau, 2012**).

Les néonicotinoïdes sont agonistes de l'acétylcholine sur les récepteurs cholinergiques nicotiniques postsynaptiques. Leur liaison irréversible aux nAChRs entraîne une excitation

continue des membranes des neurones, conduisant à l'épuisement des cellules puis à la mort de l'animal. L'imidaclopride agit sur les récepteurs nicotiques post-synaptiques de l'acétylcholine (nAChR) (**fig. 13**), en particulier du sous-type $\alpha 4\beta 2$. Après sa liaison, les impulsions nerveuses sont spontanément libérées, suivies de l'incapacité du neurone à propager le moindre signal. L'activation prolongée du récepteur résulte de l'incapacité des acétylcholinestérases à décomposer le pesticide, ce processus de liaison est irréversible en conduisant à un blocage de la voie neuronale nicotinique et à une accumulation d'acétylcholine, ce qui entraîne une neurotoxicité (**Khalil et al., 2017 ; Badawy et al., 2018**).

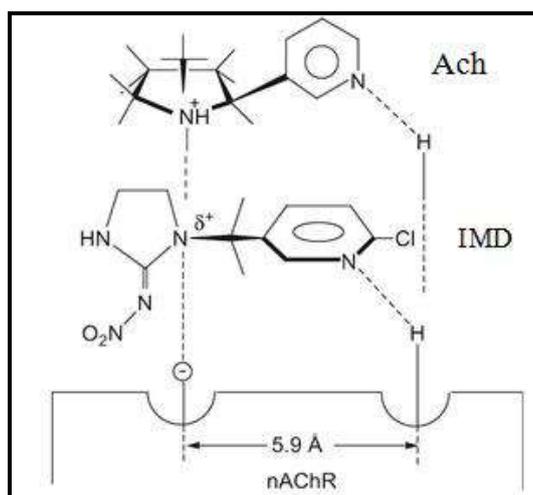


Figure 13 : La liaison de l'acétylcholine et l'imidaclopride au récepteur nicotinique (**Tomizawa et al., 2000**).

2.3.4. La toxico-cinétique :

2.3.4.1. Voie orale

Des études d'administration orale chez le rat indiquent que l'imidaclopride radiomarqué est bien absorbé, distribué et éliminé à la suite d'une exposition orale.

a. Absorption

Chez le rat de laboratoire (*Rattus norvegicus*), l'imidaclopride est rapidement et presque complètement absorbé (> 92%) par le tractus gastro-intestinal avec une demi-vie estimée à 35 minutes. Les concentrations plasmatiques ont atteint leur maximum dans les 2,5 heures (**Mohammed et al., 2009 ; Bean et al., 2019**).

b. Métabolisation

Il est métabolisé dans le foie, en donnant naissance à de très nombreux métabolites ; le principal est l'acide 6-chloronicotinique, un métabolite actif (**Bean et al., 2019**). Le

métabolisme chez les mammifères se fait au niveau de foie par deux voies principales. La première concerne le clivage oxydatif à l'imidazolidine et à l'acide 6-chloronicotinique, avec une excrétion urinaire de la fraction imidazolidine. La fraction nicotinique est dégradée par la conjugaison du glutathion à un dérivé d'acide mercapturique puis à l'acide méthyl mercaptonicotinique, qui est conjugué avec de la glycine pour former un conjugué d'acide hippurique pour l'excrétion. La seconde implique l'hydroxylation du cycle de l'imidazolidine, suivi de l'élimination de l'eau et de la formation des métabolites insaturés 5-hydroxyimidaclopride et oléfine (Tomizawa et al., 2000 ; Mohammed et al., 2009 ; Bean et al., 2019).

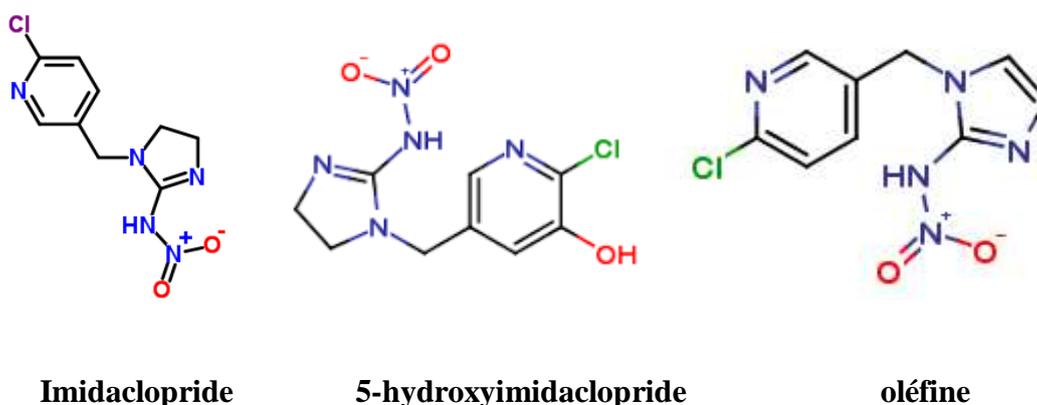


Figure 14: Structures chimiques de l'imidaclopride, du 5-hydroxyimidaclopride et de l'oléfine.

c. Distribution et élimination

Les principaux sites de distribution de l'IMD est le foie, les reins, les poumons, la peau et le plasma, avec de très faibles concentrations dans le cerveau et les testicules. Cela indique que la barrière hémato-encéphalique permet une faible distribution au système nerveux central pour l'imidaclopride en particulier et les néonicotinoïdes en général. En fin l'acide 6-chloronicotinique peut être conjugué à la glycine et éliminé par voies fécale (70 %) et urinaire (20-30 %) ou réduit en guanidine (Mohammed et al., 2009 ; Bean et al., 2019).

2.3.4.2. Voie cutanée

En cas d'exposition cutanée à l'imidaclopride, l'absorption systémique est minime voire nulle. Son caractère lipophile lui permettre de résider dans la couche graisseuse de la peau par translocation puis il est rapidement et presque complètement absorbé par le tractus

gastro-intestinal et décomposé dans le foie en métabolite actif, l'acide 6-chloronicotinique. L'imidaclopride est éliminée par l'urine et les fèces (**Mohammed et al., 2009**).

2.3.5. Effet toxique :

2.3.5.1. Toxicité aigue :

L'imidaclopride induit des troubles neurologiques, neurocomportementaux et des signes respiratoires lors d'exposition par voie orale. Il n'entraîne pas d'irritation cutané ou oculaire, ni de sensibilisation de la peau.

L'imidaclopride est modérément toxique, sa toxicité aiguë pour les mammifères est variable selon les espèces, dont la DL50 par voie orale est de 450 mg / kg de poids vif (m.w.) chez le rat (**Meister, 1995**) et de 131 mg / kg m.w. chez la souris (**Kidd et James, 1991**) ; sa DL50 par voie cutanée après 24 heures d'application est $>5\ 000$ mg/ (45 000 mg / kg poids corporel) chez les rats. Le composé est considéré comme non irritant pour les yeux et la peau (lapins) et non sensibilisant pour la peau (cobaye). Les tests de toxicité aiguë respiratoire chez le rat ont montré que la CL50 aéroportée de l'imidaclopride est > 69 mg/m³ d'air sous forme d'aérosol, et >5323 mg/m³ d'air sous forme de poussière. Ces valeurs représentent les concentrations auxquelles les symptômes d'empoisonnement aéroportés possibles sont maximaux (**Kidd et James, 1991**). Les signes cliniques de toxicité ont été observés typiquement dans une heure de dosage par gavage oral et les signes à haute dose incluent ceux qui révèlent des effets neurologiques tels que l'incoordination motrice, une diminution de l'activité, la salivation, le tremblement et les spasmes.

Bien qu'aucun empoisonnement humain n'ait été rapporté dans la littérature, les signes et les symptômes attendus d'un empoisonnement seraient semblables aux signes et aux symptômes provoqués par la nicotine comme la fatigue, les contractures, les crampes et la faiblesse des muscles, comprenant ceux nécessaires à la respiration (**Al-Sayeda, 2007 ; Aprea et al., 2009**).

2.3.5.2. Toxicité chronique :

La dose sans effet observé (DSEO) chez le rat après une administration expérimentale dans l'alimentation pendant 2 ans à des concentrations de 100 p.p.m allant jusqu'à 1800 p.p.m, ce qui correspond à des doses quotidiennes moyennes de 5,7 mg / kg poids corporel pour les mâles, 7,6 mg / kg poids corporel pour femelles. Le foie et la thyroïde étaient les principaux organes cibles. L'hépatotoxicité était évidente par des changements dans la chimie du sérum à 1800 ppm, mais il n'y avait aucun changement dans la morphologie du foie à n'importe quel

niveau alimentaire. Des lésions de la glande thyroïdienne sont provoquées par des doses à partir de 17 mg/kg de poids corporel par jour chez les mâles. Des doses légèrement plus élevées, 25 mg/kg par jour, ont réduit le gain de poids chez les femelles. A des doses plus élevées, 100mg/kg par jour, les effets incluent l'atrophie de la rétine chez les femelles. L'effet morphologique principal était les lésions thyroïdiennes, sans modification de l'hormone stimulante la thyroïde (T3, T4), sans preuve de cancérogénicité (Al-Sayeda, 2007 ; Aprea et al., 2009). Dans les études d'une durée d'un an chez le chien, la NOEL de 100 p.p.m. (8 mg / kg de poids corporel) pour les effets sur la reproduction a été signalé chez le rat (Aprea et al., 2009).

2.3.6. Les effets toxiques de l'imidaclopride :

De nombreux insecticides peuvent affecter l'appareil reproducteur masculin et féminin à un ou plusieurs sites (Lonare et al., 2014). Malgré sa faible toxicité aux mammifères, l'imidaclopride peut causer des lésions au cœur, aux reins, au foie et à d'autres organes, en plus de l'irritation gastro-intestinale et des symptômes neurologiques, voire la mort. Ces dernières années, de nombreuses études scientifiques ont révélé que l'IMD provoque également des effets tératogènes, mutagènes, cancérogènes, neurotoxiques et immunotoxiques chez les animaux et les humains (Duzguner et Erdogan, 2010 ; Gawade et al., 2013 ; Lonare et al., 2014 ; Vohra et Khera, 2016).

a. Effets sur la reproduction

L'imidaclopride peut nuire à la reproduction et causer des retards de développement en raison de la toxicité maternelle. Les effets de l'IMD sur la reproduction et le développement ont été examinés dans le cadre d'une étude de deux générations et de deux portées chez des rats Wistar (30/sexe/dose chez la génération parentale, P1). Les doses alimentaires étaient de 100, 250 et 700 ppm. La toxicité maternelle à 700 ppm comprenait une diminution du gain de poids corporel et de la consommation alimentaire avec une réduction marquée pendant la période lactation. Dans une étude, des femelles gestantes ayant reçu de l'imidaclopride pendant la période de gestation et de lactation à des doses de 0, 100, 250 et 750 ppm n'a révélé aucun effet, qu'une réduction significative de la consommation alimentaire (14 %) par rapport aux témoins. Cependant, les résultats d'une expérience multigénérationnelle n'ont indiqué que des effets minimes sur les performances de reproduction des rats. L'exposition à l'imidaclopride a entraîné une réduction de l'indice de fertilité des deux générations (Vohra et Khera, 2016). Une étude qui a été réalisée chez des

rats adultes exposé à l'imidaclopride (45 et 90 mg/kg) pendant 28 jours a suggéré que le stress oxydatif induit par cette matière active semble être le mécanisme des lésions testiculaires qui entraîne une toxicité sur la reproduction (**Lonare et al. 2014**).

b. Effets mutagéniques

L'imidaclopride est faiblement mutagénique. Sur 23 analyses de tests de mutagénicité en laboratoire, seulement deux ont montré des effets positifs : des changements sur les chromosomes de lymphocytes humains et une génotoxicité sur les cellules chinoises d'ovaire de hamster (**Al-Sayeda et al., 2007**). Le test du micronoyau (MNT) dans la moelle osseuse de rongeurs et le test d'aberration chromosomique (AC) sont les tests *in vivo* les plus largement utilisés pour analyser la mutagénicité dans les cellules somatiques. L'étude de (**Bagri et al., 2016**) a combiné entre les deux tests a fin d'analyser *in vivo* la mutagénicité de l'imidaclopride au moyen de cellules de la moelle osseuse de souris mâles albinos suisses. Les résultats de cette étude ont révélé un faible potentiel mutagène de l'imidaclopride sur les cellules somatiques de souris mâles albinos suisses, ce qui est conforme aux rapports antérieurs de plusieurs travailleurs.

c. Effets tératogènes

Une étude actuelle réalisée sur 400 œufs fertiles de poulet blanc de Leghorn dont le groupe expérimental a été exposés à des doses de 2,5 mg, 5 mg, 10 mg et 20 mg de l'imidaclopride dans un volume de 2,5 ml, 5 ml, 10 ml et 20 ml respectivement. Les résultats de cette étude montrent un retard de croissance entraînant une défaillance de la rétraction du sac vitellin, une hypertrophie de la tête, des défauts des membres, une ectopie viscérale, des plumes maigres, des défauts du bec, une diminution de la longueur de la croupe, des poids et de la circonférence de la tête d'embryons de poulet par rapport aux contrôles. Des doses comparativement plus élevées se sont révélées plus toxiques et ont également causé de nombreux défauts de développement et de tératogenèse chez les embryons. Cette expérience a confirmé que l'imidaclopride est un composé tératogène potentiel et que l'exposition à ce néonicotinoïde augmente les risques d'effets tératogènes lorsque l'âge embryonnaire augmente (**Hussein et Singh, 2017**). Des rats femelles ont été exposés à l'imidaclopride (10, 30 et 90 mg / kg par jour), au cours de gestation et lactation, puis les ratons sevrés ont été exposés eux aussi jusqu'à l'âge adulte. Ceci suggère qu'une exposition continue à l'imidaclopride entraînant des effets néfastes sur le développement et un affaiblissement du système immunitaire (**Gawade et al., 2013**).

d. Effets immunotoxiques

Une immunotoxicité a été évaluée chez les souris BALB / c femelles administré par voie orale quotidiennement à raison de 10, 5 ou 2,5 mg / kg pendant 28 jours. L'IMD était administré par voie orale quotidiennement à raison de 10, 5 ou 2,5 mg / kg pendant 28 jours. Les résultats ont montré que l'imidaclopride à forte dose inhibe spécifiquement la réponse immunitaire à médiation cellulaire. Les résultats ont également indiqué que l'imidaclopride avait des effets immunosuppresseurs à des doses > 5 mg / kg, qui pourraient potentiellement être attribués aux effets cytotoxiques directs de l'IMD sur les cellules T (en particulier les cellules T_H) et qu'une exposition à long terme pourrait nuire au système immunitaire (**Badgujar et al., 2013**). Par ailleurs, (**Hernandez et al., 2018**) ont utilisé le modèle porcin pour étudier la possibilité d'un traitement diététique par l'imidaclopride pour modifier la production de réponses immunitaires pendant une infection virale. Ils ont suggéré que la supplémentation alimentaire de l'IMD pendant l'infection des porcelets par le virus du « syndrome respiratoire reproducteur porcin » (PRRSV) a réduit le poids corporel, causé des épisodes d'hypothermie, une augmentation de l'IL-10 sérique et des taux élevés d'anticorps spécifiques du virus. ARN viral dans la rate ont montré une tendance à la hausse chez les porcs nourris à l'IMD. Nos données indiquent que l'IMD peut moduler la fonction immunitaire spécifique du virus pendant l'infection par le PRRSV.

e. Effet neuro-immunologique

Cependant, l'inhibition des récepteurs de l'acétylcholine (ACh) peut avoir un effet profond sur les systèmes immunitaire et nerveux en raison des effets anti-inflammatoires de l'ACh. Le récepteur de ce dernier joue un rôle important dans les interactions entre le système nerveux et le système immunitaire. Il active la voie anti-inflammatoire cholinergique en se liant à des récepteurs nicotiniques. L'ACh active la transduction du signal intracellulaire qui inhibe la libération de cytokines pro-inflammatoires (**Chaterjee et al., 2009**). L'exposition à l'imidaclopride chez les grenouilles taureau (*Rana catesbeiana*) à une dose 100 ng / l n'a pas provoqué de changements significatifs dans l'activité du système immunitaire et du système nerveux et donc n'a pas confirmé l'hypothèse initiale (**Rios et al., 2017**).

f. Effets cancérigènes

Il n'y a aucun effet cancérigène dans une étude de deux ans de cancérigénicité chez les rats alimentés jusqu'à 1 800 ppm d'imidaclopride (**Al-Sayeda et al., 2007**).

g. Effets neurotoxique :

Une neurotoxicité subchronique a été évaluée chez les rats mâles afin d'évaluer l'effet neurotoxique et l'altération biochimique induits par de l'imidaclopride avec deux dose (45 et 90 mg/kg de poids corporel ; par voie orale) pendant 28 jours. Les résultats de cette étude suggèrent que l'imidaclopride a provoqué des dommages neuronaux, cérébraux et les altérations biochimiques, traduit par une diminution de l'activité locomotrice, les taux d'acétylcholinestérase, d'ATPase et de substances biochimiques sériques comme la créatine kinase, la lactate déshydrogénase, la sorbitol déshydrogénase et la phosphatase alcaline ont diminué considérablement (**Lonare et al., 2014**). L'administration de l'imidaclopride à une dose de 80 mg/kg par voie orale pendant 28 jours a induit un stress oxydatif, qui provoque à son tour des dommages et des lésions de l'ADN au niveau cérébral (**Ahmed et Naser, 2015**). Après une administration de 1 mg /kg p.c de l'IMD par voie orale dissous dans de l'huile de maïs tous les jours pendant 60 jours, (**Abd-Elhakim et al., 2013**) ont conclu que l'exposition à l'IMI même à très faible concentration pourrait induire de multiples aberrations neurocomportementales et des impacts neurotoxiques, surtout chez les comme le prouve l'activité moins exploratoire, les fonctions sensorimotrices déficientes et la haute dépression. Cela pourrait être principalement dû à l'épuisement de certains neurotransmetteurs, aux dommages oxydatifs et aux modifications apoptotiques du cerveau.

2.3.7. Domaines d'utilisation :

L'utilisation de pesticides a augmenté avec la prise de conscience croissante de ses avantages pour l'agriculture et l'élevage, la technologie après récolte et la santé publique (**Vohra et Khera, 2018**).

Actuellement, l'imidaclopride est le premier néonicotinoïde introduit commercialement et le deuxième produit agrochimique le plus utilisé au monde (**Jeschke et al., 2010 ; Goulson, 2013**). Il est utilisé dans le domaine vétérinaire comme traitement antipuces (Advantage®) et contre les tiques, dans le domaine du jardinage ou en usage domestique pour l'élimination des termites (Merit®) ou des cafards. Il est également utilisé dans le domaine agricole (plus de 140 cultures) contre les cochenilles, les thrips, les insectes suceurs en arboriculture (Confidor®) et dans les cultures de céréales (Gaucho®). Il est proposé principalement comme traitement de semences pour des cultures de grande envergure telles que le coton, céréales (riz, maïs, blé), les semences vinaigrette, légumes et fruits (**Jeschke et al., 2011 ; Goulson, 2013 ; Sun et al., 2016**). L'IMD est également utilisé pour

lutter contre les mouches domestiques dans les exploitations avicoles et pour la pulvérisation foliaire dans les cultures fruitières et les vergers ainsi pour contrôler les arthropodes ectoparasites (par exemple, K9 Advantix II et Advantage) (Sun et al., 2016 ; Zeid et al., 2019).

Les insecticides peuvent être utilisés selon trois modes d'application différents : traitement des parties aériennes, traitement du sol ou enrobage de semences (agent systémique). Le succès de l'imidaclopride réside aussi dans le fait qu'il soit commercialisé selon les trois modes d'application connus (Louat, 2014).

En 2009, les ventes sur le marché de l'imidaclopride aux États-Unis étaient estimées à 1,1 milliard USD. Cette utilisation importante de l'imidaclopride dans l'agriculture ces dernières années pourraient encore accentuer sa présence dans le sol et l'eau ainsi que la détection de dans divers types de fruits et légumes frais et transformés. Ces possibilités suggèrent que le potentiel d'exposition humaine à l'imidaclopride, chez les travailleurs agricoles, serait relativement élevé. La Commission européenne a limité l'utilisation de l'imidaclopride en 2013, en même temps que deux autres néonicotinoïdes, en raison du risque potentiel d'effondrement des populations d'abeilles. L'action sélective, et la propriété systémique font de l'imidaclopride un choix préférable d'insecticide dans diverses situations sur le terrain (Sun et al., 2016).

2.4. Formaldéhyde

2.4.1. Définition

Le formaldéhyde (FA), appelé aussi l'aldéhyde formique, ou encore le méthanal (n° CAS : 50-00-0), a été découvert en 1867 par le chimiste britannique August Wilhelm Von Hofmann. C'est un aldéhyde simple dont la formule moléculaire est CH_2O , présentée dans la figure 16. Il est produit à grande échelle dans le monde entier à partir de méthanol et qui est également un polluant atmosphérique commun. Le formaldéhyde en solution « Formol » est le produit chimique le plus couramment utilisé pour l'embaumement. Malgré son utilisation répandue dans la fixation des tissus et l'embaumement, son innocuité constitue une préoccupation majeure pour le formaldéhyde (Elshaer et Mahmoud, 2017).

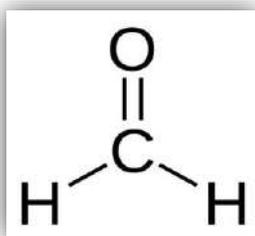


Figure 15 : La structure moléculaire du formaldéhyde (Cloteaux, 2015).

2.4.2. Propriétés physico-chimiques

2.4.2.1. Propriétés physiques

Le formaldéhyde est un composé chimique gazeux, incolore à la température ambiante, hautement inflammable, d'odeur piquante et suffocante, détecté entre 0,05 et 0,5 ppm, et il est irritant à l'état pur (Elshaer et Mahmoud, 2017 ; De Oliveira Ramos et al., 2017 ; Nacache, 2017). Il est très soluble dans l'eau et dans les solvants polaires tels que l'éthanol, l'acétone et diéthyle (Cloteaux, 2015). Il est généralement commercialisé dans une solution liquide de l'eau et de l'éthanol, porte la dénomination de formol ou formaline, dont les concentrations comprises entre 37 et 50% p / p de formaldéhyde. Mais il est également disponible sous ses formes polymérisées : le paraformaldéhyde (polymère) ou le trioxane (trimère) (Zang et al., 2017). Ses principales caractéristiques physiques sont présentées dans le tableau suivant :

Tableau 04 : propriété physique du formaldéhyde (Cloteaux, 2015).

Masse molaire	30,03 g mol⁻¹
Point de fusion	-92 °C ; -118 °C
Point d'ébullition	-20 à 19 °C
Densité	0,816 à -20 °C
Densité de vapeur	1,04-1,06
Tension de vapeur	517-519 KPa à 25 °C
Température d'auto-inflammation	424 °C
Limites d'inflammabilité (% en volume dans l'air)	
Limite inférieure	7%
Limite supérieure	73%
Conversion	à 25 °C, 1 ppm = 1,23 mg m⁻³

2.4.2.2. Propriétés chimiques

L'aldéhyde est généralement commercialisé sous sa forme aqueuse car il est en équilibre sous sa forme hydratée le méthane-diol (ou méthylène glycol) selon la réaction suivante :



C'est un composé très réactif et très hygroscopique. Il subit facilement la polymérisation, et peut former des mélanges explosifs avec l'air. Il se polymérise facilement en particulier à froid ou en présence de traces d'impuretés polaires (acides, alcalins) ou d'eau (le gaz pur et sec est relativement stable à 80-100 °C). Il se décompose à des températures supérieures à 150 ° C. Il est considéré ainsi autant qu'un intermédiaire chimique pour sa réactivité et sa polyvalence (Quiroz torres, 2012 ; Cloteaux, 2015).

2.4.3. Mécanisme d'action du formaldéhyde

Le formaldéhyde est un composé fortement électrophile (propriété liée au groupement carbonyle). Il peut ainsi réagir avec les groupements amines, thiols et hydroxyles des macromolécules de l'organisme (sites nucléophiles des protéines, des petites et moyennes molécules (cystéine, glutathion) et de l'ADN) .

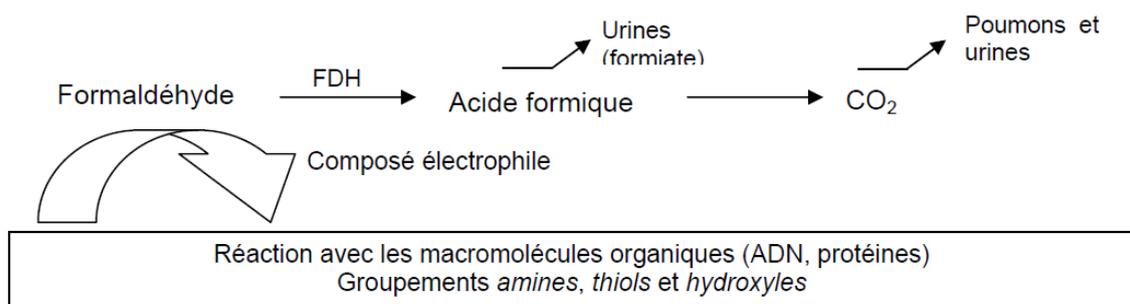


Figure 16 : Mécanisme global de l'action du formaldéhyde dans l'organisme

Par ailleurs, les ions formiates inactivent la cytochrome-oxydase conduisant à des perturbations de l'intégrité des membranes, des systèmes enzymatiques et du métabolisme énergétique cellulaire (cytotoxicité). Cette cytotoxicité entraîne un épuisement des réserves en glutathion (saturation de la détoxification par le glutathion chez le rat au-delà de 5 mg.m-3), une modification de l'homéostasie (concentration intracellulaire du Ca²⁺ augmentée après quelques minutes de contact), une augmentation de l'acidité sanguine (acidose) et une

inhibition de la fonction respiratoire mitochondriale. Le mécanisme génotoxique du formaldéhyde n'est pas encore complètement élucidé. Il forme des adduits à l'ADN et ADN-protéines dans les cellules avec lesquelles il est en contact, réponse qui serait dose-dépendante et non linéaire. Chez le rat, il a été mis en évidence une augmentation de la formation d'adduits à l'ADN et ADN-protéines au-delà de 5 mg.m^{-3} . L'hypothèse admise actuellement au sein de la communauté scientifique est une augmentation de la prolifération régénératrice des cellules épithéliales de la muqueuse nasale résultant de la cytotoxicité, étape clé de l'induction du cancer par le formaldéhyde (**McGregor et al., 2006**). Cette prolifération induit une augmentation du nombre de réplifications de l'ADN, donc de la probabilité de formation d'adduits à l'ADN et ADN-protéines. Cette réaction en chaîne conduit à des erreurs plus fréquentes de réplification, puis de mutation. A fortes doses, le formaldéhyde inhibe également la fonction de clairance mucociliaire. Ainsi, le développement de cancers du nasopharynx serait lié à une altération répétée et prolongée de l'épithélium nasal, donc à des expositions suffisamment importantes et prolongées causant préalablement une irritation. Ces mécanismes ont également été observés chez le singe. L'augmentation de la prolifération cellulaire et de la formation d'adduits à l'ADN et ADN-protéines a été observée au niveau de l'épithélium des voies aériennes supérieures chez le singe exposé à des vapeurs de formaldéhyde. La possibilité d'un mécanisme d'action similaire chez l'homme est confortée par l'observation d'une augmentation de la prolifération cellulaire dans une expérimentation in situ où des cellules épithéliales trachéo-bronchiques ont été transplantées dans un modèle de souris athymiques et par la faible variabilité toxicodynamique d'une espèce à l'autre (**IPCS 2002**). Les mécanismes protecteurs tels que la clairance mucociliaire et la détoxification enzymatique en présence de glutathion sont également présents chez l'homme. Concernant la toxicité systémique du formaldéhyde, elle est peu probable en raison de sa faible demi-vie dans l'organisme. De plus, il existe peu de données évaluant ces aspects.

2.4.4. Métabolisme et toxicocinétique

a. Voies d'absorption

De façon physiologique, on retrouve le formaldéhyde de manière ubiquitaire dans notre organisme. Cette substance endogène est produite par le catabolisme de certains acides aminés (glycine et sérine principalement) et du méthanol. Sa concentration plasmatique est d'environ $2,5 \text{ mg/L}$. De manière générale, il existe trois voies d'absorption possible. Cette dernière est limitée à la première zone de contact dans l'organisme du fait de sa forte

réactivité chimique avec les macromolécules biologiques, ce qui aboutit localement à la formation d'adduits aux protéines, à l'ADN ou des adduits de type ADN-protéines (**Lan et al., 2015 ; Nacache, 2018**).

- **Absorption respiratoire:**

Le formaldéhyde est facilement absorbé par voie respiratoire. La plupart des produits administrés par inhalation sont retenus au niveau de la muqueuse nasale et des voies aériennes supérieures. Une part plus faible atteint la muqueuse bronchique (**Nacache, 2018**).

- **Absorption cutanée:**

L'absorption par cette voie est très faible en milieu professionnel en dehors d'une exposition accidentelle. L'absorption cutanée reste possible en cas de contact direct entre la peau et une solution de formol ou une résine liquide (**Nacache, 2018**).

- **Absorption digestive:**

Plusieurs dizaines de millilitres seraient absorbés lors d'une exposition accidentelle. Il n'y a pas d'absorption systémique du formaldéhyde donc pas d'augmentation de la concentration sanguine normale lors d'exposition faible ou modérée. En cas d'exposition accidentelle, la demi-vie sanguine du formaldéhyde ingéré est très brève (1 à 2 mn) (**Nacache, 2018**).

b. Biotransformation et distribution

Ce n'est pas le formaldéhyde lui-même qui est distribué dans l'organisme mais ses métabolites. Cela est lié à une forte réactivité au niveau de la zone de premier contact. Ainsi, lors d'une absorption respiratoire, il est rapidement oxydé en formiate (acide formique) dès les voies aériennes supérieures par une aldéhyde-déshydrogénase NAD⁺-dépendante (FDH), en présence de glutathion (**Arts et al., 2006**). Sa réactivité chimique avec les macromolécules locales aboutit à la formation d'adduits à l'ADN et aux protéines (**Baan et al., 2009**).

Chez le rat, ses métabolites sont distribués principalement dans l'œsophage, les reins, le foie, les intestins et les poumons, et sont inclus dans le cycle du carbone au niveau tissulaire (**Arts et al., 2006**).

c. Elimination

Chez le rat, les formiates sont ensuite éliminés par voie urinaire ou pulmonaire: l'excrétion urinaire de formiate représente environ 17% et l'élimination sous forme de dioxyde de carbone expiré est de l'ordre de 40% (**Arts et al., 2006**).

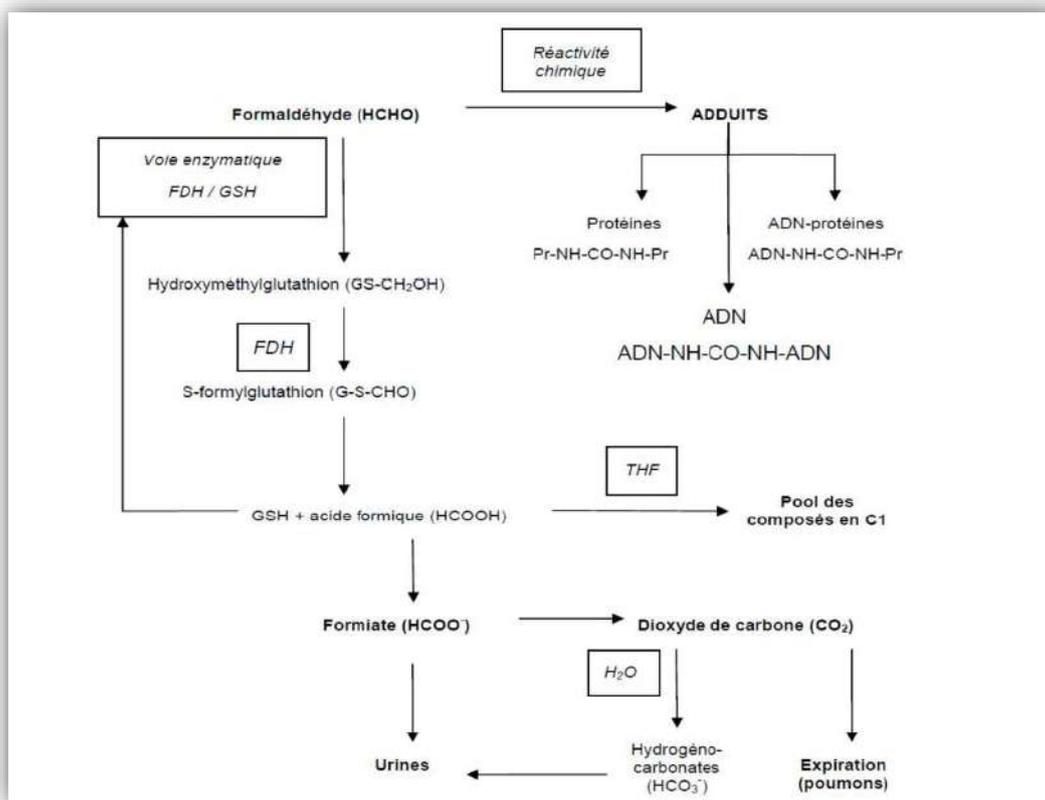


Figure 17: Métabolisation du formaldéhyde (Nacache, 2018).

(FDH : formaldéhyde déshydrogénase ; GSH : glutathion ; THF : tétrahydrofolate)

2.4.5. Effet toxique :

D'après le journal officiel de république Algérienne N° 23/09 le formaldéhyde est classé comme produit de consommation présentant un caractère de toxicité ou un risque particulier.

2.4.5.1. Toxicité aigue

a. Effet irritant et allergisant

Le formaldéhyde est un composé très irritant et allergisant pour la peau, le nez, la gorge et les yeux. Très volatil, il s'absorbe facilement à la surface des voies respiratoires, principalement dans leur partie supérieure. Le formaldéhyde réagit de façon rapide et quasi complète avec les différents composants organiques des cellules avec lesquelles il entre en contact (protéines, lipides ou acides nucléiques). Les vapeurs, à des concentrations comprises entre 1 et 3 ppm (soit entre 1,2 et 3,6 mg m⁻³), provoquent une irritation sensorielle transitoire et réversible des yeux et des voies respiratoires (nez et gorge), avec une grande variabilité de susceptibilité individuelle à ces effets (Bonnard et al., 2008 ; Cloteaux, 2015). À des

concentrations supérieures, l'irritation s'étend à la trachée et aux bronches. L'irritation sensorielle liée à la stimulation des terminaisons nerveuses du nerf trijumeau par le formaldéhyde. Cet effet chimio-sensoriel peut être considéré comme une composante de l'irritation oculo-nasale, observable à des doses inférieures ou parfois concomitantes aux effets irritants classiques, mais sans aucun effet sur les cellules ou les tissus muqueux. Ce phénomène se rapproche davantage d'un inconfort ressenti, sans signes objectifs, à distinguer cependant de la simple perception olfactive du formaldéhyde. La limite entre irritation tissulaire vraie et simple inflammation neuro-sensorielle est parfois très faible lorsque l'inflammation neurogénique par stimulation nerveuse se prolonge. Cela déclenche dans ce cas des effets plus généraux semblables à l'irritation tissulaire, les deux irritations sont alors indifférenciables (**Brüning et al., 2014**). L'irritation tissulaire apparaît au niveau oculo-nasal à partir de 0,5 à 2 ppm avec une forte variabilité interindividuelle. Les sujets présentent alors des picotements des muqueuses induisant une augmentation de la fréquence du clignement des yeux et une hyperhémie conjonctivale régressives après décontamination par lavage abondant. De manière générale, l'irritation augmente systématiquement avec la concentration atmosphérique de formaldéhyde, pour devenir insupportable autour de 5 ppm, niveau de concentration où l'on retrouve une forte irritation trachéo-bronchique. Lors d'expositions à de fortes concentrations atmosphériques (dès 50 ppm) l'irritation est nettement plus importante et on observe un bronchospasme sévère, un oedème pulmonaire et des ulcérations trachéo-bronchiques. Par contact cutané, le formaldéhyde peut provoquer des réactions irritatives ou allergiques (**Cloteaux, 2015**). La relation dose-réponse pour les effets irritants locaux du formaldéhyde reste mal décrite, notamment en raison de la variabilité de leur perception, du manque de consensus sur leur définition scientifique et du choix de l'effet critique à retenir (**Nacache, 2018**).

2.4.5.2. Toxicité chronique

a. Effet sensibilisant et allergisant

Le formaldéhyde a un effet sensibilisant respiratoire (dès 3 ppm) et cutané (solution à partir de 0,1 %) qui dépasse la simple irritation. L'hypersensibilité est soit retardée (eczéma de contact), soit plus rarement immédiate (rhinite, asthme, urticaire, choc anaphylactique). Mais on n'observe pas d'induction d'hyperréactivité bronchique (à des doses modérées même lors d'expositions prolongées). Les asthmes professionnels résulteraient davantage d'un mécanisme irritant du formaldéhyde sur l'appareil respiratoire, souvent précédé d'une rhinite,

que d'un phénomène allergique. Des altérations des explorations fonctionnelles respiratoires peuvent être retrouvées de façon permanente ou rythmées par le travail à partir de 0,5 ppm, et un asthme irritatif peut être développé (Nacache, 2018).

b. Effets neurologiques

Récemment, les effets neurotoxiques de formaldéhyde sur la santé humaine ont fait l'objet d'études approfondies. Les données épidémiologiques ont montré que des troubles neurocognitifs et neurocomportementaux se produisent chez les techniciens et les travailleurs en histologie exposés à des niveaux élevés de formaldéhyde sur une longue période. Les effets neurotoxiques du FA ont été confirmés dans plusieurs modèles expérimentaux (Tang et al., 2013) La survenue de psychosyndrome organique (céphalées, asthénie, troubles mnésiques, perturbations du sommeil et de l'humeur) peut avoir lieu lors d'expositions répétées mais il n'y a pas de certitude quant à l'imputabilité au formaldéhyde. La co-exposition fréquente à des solvants organiques rend difficile cette évaluation (Nacache, 2018).

c. Cancérogénicité

En 2004, le Centre international de recherche sur le cancer a classé le formaldéhyde cancérogène avéré chez l'Homme (groupe 1) en 2004 (CIRC, 2006). Le groupe de travail avait alors estimé disposer d'indications suffisantes montrant que le formaldéhyde provoque le cancer du nasopharynx (sur la base d'études épidémiologiques concordantes en milieu professionnel). En France « les travaux exposant au formaldéhyde » ont été ajoutés à la liste des procédés cancérogènes depuis 2007. Des études ont démontré que le formaldéhyde fait augmenter le risque de cancer du nasopharynx et de leucémie. L'analyse du mécanisme d'action par exposition aérienne au formaldéhyde montre que l'effet cancérogène survient à des concentrations induisant une prolifération associée à une cytotoxicité, et que la génotoxicité du formaldéhyde est principalement observée au niveau du site de contact à des concentrations élevées. Les effets irritants, qui apparaissent à des doses plus faibles que celles susceptibles d'induire des tumeurs, sont considérés comme des effets précurseurs de l'induction des tumeurs observées à de plus fortes concentrations. Ce constat soutient l'hypothèse d'un mécanisme cancérogène à seuil d'action et le choix des effets irritants comme effets critiques (Nacache, 2018).

2.4.6. Les principales sources de formaldéhyde :

Le formaldéhyde est un produit chimique que l'on trouve partout dans l'environnement (Zang et al., 2017). Il se trouve principalement dans la constitution des fumées de combustion naturelles (bois, tabac) ou synthétiques (matières plastiques).

Industriellement, il est généralement obtenu par oxydation catalytique de l'alcool méthylique (Nacache, 2018). Il est également produit lors de l'oxydation photochimique des composés organiques volatils d'origine naturelle dans la troposphère et la combustion incomplète de la biomasse. La combustion partielle des carburants et les rejets industriels dans l'atmosphère sont des sources supplémentaires de formaldéhyde. Ainsi que le métabolisme de la majorité des organismes vivants en produit de faibles quantités en tant qu'intermédiaire métabolique (Cloteaux, 2018). Le formaldéhyde constitue donc un COV très présent en milieu de travail. Ses sources nombreuses sont à l'origine d'expositions professionnelles ou domestiques survenant essentiellement par contact cutané ou par inhalation (Pons-Lebeau, 2007).

2.4.7. Domaines d'utilisation :

Le FA est un composé contaminant que l'on trouve couramment dans l'environnement en raison de son utilisation répandue dans des secteurs d'activité variés telles que les industries chimiques, textiles, agro-alimentaires, cosmétiques ou pharmaceutique et secteur hospitalier pour des applications extrêmement diverses telles que la production de matériaux de construction, la production de résines, les plastiques... ect (De Oliveira Ramos, 2017). Il est également largement utilisé comme conservateur, désinfectant, biocide et agent stérilisant. En ce qui concerne l'environnement intérieur, son rôle en tant que composant d'adhésif thermodurcissable est particulièrement préoccupant (Khalil et al., 2017).

a. Exposition professionnelle

L'exposition au formaldéhyde est de plus en plus courante, que ce soit en raison de conditions environnementales ou de laboratoire, où les professionnels et / ou les étudiants du domaine médical sont constamment exposés (De Oliveira Ramos, 2017).

- Il est utilisé comme intermédiaire de synthèse, sous forme de gaz, solution aqueuse ou au sein de préparation dans de nombreux secteurs industriels:
- ❖ Il est utilisé, dans l'industrie des matières plastiques, comme matière première pour la fabrication des résines aminoplastes (urée/formol, mélamine/urée/formol) et phénoplastes (phénol/formol) (Nacache, 2018) très largement utilisées dans les secteurs suivants :
 - Bois : en tant qu'adhésif ou liant pour la fabrication de panneaux de particules, de panneaux de fibres de densité moyenne, de charpentes, d'agglomérés, de contreplaqués
 - Papier : fabrication de papier résistant à l'humidité, de papier couché.
 - Matériaux d'isolation : mousses isolantes, nappes de fibres vitreuses artificielles, liant pour panneaux.

- Fonderie: liant dans la fabrication des noyaux et de certains moules.
 - Textile : apprêtage des tissus pour infroissabilité et ignifugation.
 - Cuir : colles, opération de finition en tannerie.
- ❖ Ses propriétés biocides (**bactéricide**, fongicide, virucide et insecticide) en font un puissant agent désinfectant prisé des industries agroalimentaire, agricole, pharmaceutique ou notamment en milieu hospitalier. Dispersé par fumigation il y est employé comme désinfectant de surfaces, des circuits de dialyse, du linge et désinfectant à froid du matériel médico-chirurgical (**Patellis et al., 2002**).
- ❖ Il est fréquemment utilisé comme agent de conservation dans les produits en émulsion aqueuse tels que les produits cosmétiques, les produits de nutrition animale (aliments et ensilages), certaines peintures, certaines huiles de coupe, dans les détergents ménagers et industriels (acide nitriloacétique, EDTA) (**Testud, 2012 ; Nacache, 2018**).
- ❖ Grâce à ses propriétés déshydratantes, le formaldéhyde est un excellent fixateur tissulaire. Une large utilisation des propriétés conservatrices du formaldéhyde est faite en laboratoire d'histologie et pathologie. La concentration atmosphérique en formaldéhyde y est parfois élevée, en particulier lors de la préparation des solutions de formol, l'élimination des pièces anatomiques et le changement des bains de solution fixatrice. Le niveau moyen de concentration atmosphérique qui y est habituellement relevé est d'environ 0,5 ppm. Par ailleurs, lors d'activités d'embaumement en laboratoire d'anatomie ou dans les morgues, la concentration atmosphérique de formaldéhyde dépend de la constitution chimique du fluide servant à l'embaumement, de l'état du corps, du type de ventilation et des méthodes de travail mais le niveau moyen lors de telles activités est généralement plus élevé (autour de 1 ppm).

b. Exposition environnementale

Le formaldéhyde est formé naturellement dans la troposphère lors de l'oxydation d'hydrocarbures émis par les végétaux. Les terpènes et l'isoprène libérés par les feuillages réagissent avec les radicaux OH en formant du formaldéhyde. Les feux de forêts, les déchets animaux et la décomposition des résidus végétaux dans les sols contribuent également à sa synthèse. La plus grande partie du formaldéhyde présent dans l'environnement est cependant anthropique et résulte des échappements non catalysés des automobiles (la concentration atmosphérique en ville avoisinant 0,01-0,05 ppm). Les émissions gazeuses, les rejets d'eaux usées, l'alimentation, le tabac et le chauffage des

bâtiments constituent également des sources d'exposition environnementales au formaldéhyde.

c. Exposition domestique

Il existe également une exposition domestique au formaldéhyde qui provient des nettoyeurs ménagers, des résines, des colles, des produits cosmétiques, des contre plaqués, et certain produits textiles. Cet agent chimique est un polluant de l'air intérieur, l'exposition à cette substance en milieu intérieur représente environ 98% de l'exposition aérienne de la population. La valeur moyenne relevée par l'Observatoire de la qualité de l'air intérieur en France en 2004 était de 20 $\mu\text{g}/\text{m}^3$. Cette différence s'explique notamment par la dégradation des mousses isolantes urée/formol et du relargage du mobilier ou planchers en bois ou des tapis et moquettes apprêtés par des résines. Ce phénomène a d'autant plus d'ampleur lorsqu'il s'agit d'endroits confinés et fortement traités chimiquement: plusieurs cas d'asthmes ont ainsi été publiés chez les utilisateurs de mobile home aux USA dans les années 1980 (**Testud, 2012 ; Nacache, 2018**). Les nuisances liées à l'émission de formaldéhyde dans les habitations des années 1970, où l'utilisation de mousses isolantes urée/formol était très répandue, ont largement contribué à l'interdiction de ce procédé dans divers pays industrialisés. En France, depuis 1988, une réglementation spécifique interdit l'utilisation de ce type d'isolation (**Vincent et Jeandel, 2006**).

Partie

Pratique

Matériels et méthodes

1. Objectif :

L'étude expérimentale a été effectuée au niveau de Laboratoire de Biotoxicologie, pharmacognosie et la valorisation biologique des plantes, Département de biologie, Faculté des Sciences, Université Moulay-Tahar, Saïda, Algérie.

L'objectif de notre travail est d'évaluer l'effet thérapeutique de l'extrait aqueux d'anis vert sur des rats mâles préalablement intoxiqués à deux différents pesticides utilisés en Algérie Confidor.OD et Formyl selon plusieurs approches : neurocomportementale, biochimique, hématologique et histologique.

2. Matériel

2.1. Matériel végétal :

Le matériel végétal est représenté par les graines sèches d'anis vert (*pimpinella anisum* L), elles ont été obtenues à partir d'un magasin d'épices au niveau de la wilaya de Saida. Les graines ont été pulvérisées en poudre fine à l'aide d'un broyeur électrique a usage domestique. Nous avons effectué deux méthodes d'extraction l'une de l'huile essentielle par hydrodistillation afin d'identifier les composants de cette dernière par une analyse quantitative en utilisant la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse (CPG/SM), et une deuxième par décoction pour obtenir un extrait aqueux qui vas être utilisé par la suite comme traitement pour les rats intoxiqués.

2.2. Matériels chimiques :

L'insecticide testé est le «**Confidor® OD** », 1[(6-chloro-3-pyridinyl) methyl]-N-nitro-2-imidazolidinimine, [CAS No. 138261-41-3], renfermant 19,42 % de matière active qui correspond à une concentration de 200 g/l de l'imidaclopride, il est produit par la firme chimique allemande Bayer.

Le deuxième pesticide testé est le « **Formyl S/C (Super concentré)** » est un désinfectant très puissant grâce à son pouvoir bactéricide. Sa matière active est l'aldéhyde formique (Formaldéhyde), il est produit par l'unité de Baraki – Alger.

2.3. Matériel biologique :

Le modèle animal choisi est le rat blanc de laboratoire, espèce *Rattus norvegicus*, souche *Wistar*, issus de l'institut Pasteur d'Alger. L'élevage est effectué dans une animalerie ventilée, à une température de $21\pm 1^{\circ}\text{C}$ avec un éclairage artificiel qui établit un cycle jour/nuit (12 h lumière / obscurité). Les animaux sont maintenus en période de stabilisation deux semaines avant l'expérimentation.

3. Méthodologie

3.1. Préparation de l'extrait aqueux de *pimpinella anisum L*

Selon la méthode de **Hosseinzadeh et al (2013)**, l'extrait aqueux à été préparé à partir des graines pulvérisées. En réalisant la méthode de décoction, cent grammes (100g) de poudre ont été mélangée avec 100 ml d'eau distillée, le mélange a été mis sous agitation pendant 15 min avec (Température < à 100 °C). Après refroidissement, le décocté obtenu est ensuite filtré, puis lyophilisé.

3.2. Extraction de l'huile essentielle d'anis vert :

L'obtention de l'huile essentielle a été réalisée par la technique d'hydrodistillation. Cette technique consiste à immerger une quantité de 50g du broyat dans 500 ml d'eau distillée, l'ensemble est porté à ébullition. Les vapeurs chargées d'huile essentielle passent à travers le coude puis dans le réfrigérant où aura lieu de condensation. Le mélange eau-huile est récupéré dans un flacon. La durée totale de l'extraction est estimée à trois 03 heures (**Kosalec et al., 2005**). Le distillat est décanté dans une ampoule afin de séparer l'huile de l'hydrolat. L'huile est enfin conservée dans des flacons opaques et stockés dans un endroit frais et obscur.

3.3. Calcul du rendement :

Le rendement en huile essentielle ou l'extrait aqueux est définit comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle ou extrait obtenue et la masse du matériel végétal utilisé

$$R (\%) = M \times 100 / M_0.$$

- **R (%)** : Rendement
- **M** : Quantité d'huile ou l'extrait récupéré exprimée en g.
- **M₀** : Quantité de la matière sèche utilisée pour l'extraction exprimée en g.

3.4. Analyse quantitative :

➤ Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse (CPG /SM)

3.4.1. Principe :

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est une technique couramment utilisée pour la séparation, l'identification et le dosage des constituants chimiques.

La chromatographie consiste à séparer les composés d'un mélange en fonction des vitesses d'entraînement à travers une phase stationnaire contenue dans une colonne et une phase mobile gazeuse (gaz vecteur) (**Arpino et al., 1995**). La possibilité de coupler les

chromatographes à divers spectromètres augmente considérablement la quantité et la qualité des informations obtenues. En CPG/SM, la comparaison informatique des spectres d'un pic inconnu avec une ou plusieurs références permet son identification (Bruneton, 1993).

3.4.2. Mode opératoire :

Les constituants de l'huile essentielle et de l'extrait ont été identifiés par CPG/SM. L'analyse a été réalisée par un chromatographe à phase gazeuse du type Varian Saturn 2200 couplé à un spectromètre de masse Varian 2100 T, en utilisant le logiciel Saturn Varian (Version 6.9.1). La colonne capillaire était apolaire de 30 m de longueur, de 0,25 mm de diamètre et de 0,25 μm d'épaisseur. Le débit du gaz porteur (hélium) était 1 ml/min. 1 μl d'huile essentielle et d'extrait a été injecté, en utilisant le mode split (1/20). La température de la colonne a été maintenue à 50°C pendant 5 min, puis montée de 5°C/min jusqu'à 300°C (5min). Le détecteur était à l'ionisation de flamme (FID). L'énergie d'ionisation était 70 eV. L'analyse a pris 2 heures du temps.



Figure 18 : Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse.

4. Analyse qualitative :

4.1. Etude phytochimique :

Dans le cadre de la recherche des molécules ou d'activités biologiques d'origine végétale, il est préférable de déterminer leurs compositions chimiques par une étude

phytochimique afin de détecter les classes des composés existants dans les différents organes des plantes.

Les tests phytochimiques sont basés sur des essais de solubilité, sur des réactions de coloration et de précipitation ainsi que sur des examens en lumière ultra violette.

➤ **Différentes classes recherchées :**

4.1.1. Les tannins :

La présence des tannins est mise en évidence en ajoutant à 1 ml de l'extrait éthanolique, 2 ml d'eau et 2 à 3 gouttes de solution de $FeCl_3$ diluée (1%). L'apparition d'une coloration bleu-noire caractérise la présence des tannins galliques verte, ou bleue-verte celle des tannins cathéchiques (Aiyegoro et Okoh, 2010).

4.1.2. Les flavonoïdes :

La réaction de détection des flavonoïdes consiste à traiter 5 ml de l'extrait éthanolique avec 1 ml de HCl concentré et 0,5 g de tournures de magnésium. La présence des flavonoïdes est mise en évidence, si une couleur rose ou rouge se développe après 3 minutes (Jaffer et al., 1983).

4.1.3. Les anthocyanes :

Un volume de 2 ml d'infusé est additionné à 2 ml de HCl_2N . L'apparition d'une coloration rose-rouge qui vire au bleu-violacé par addition d'ammoniac indique la présence d'anthocyanes (Debray et al., 1971).

4.1.4. Les coumarines :

Une masse de 1 g de poudre végétale est placée dans un tube en présence de quelques gouttes d'eau distillée. Les tubes sont recouverts avec du papier imbibé de NaOH dilué et sont portés à ébullition. Toute fluorescence jaune témoigne de la présence des coumarines après examen sous ultra-violet (Rizk, 1982).

4.1.5. Les alcaloïdes :

Nous avons procédé à une macération de 24 heures de 2 g de poudre végétale mélangés à 50 ml de H_2SO_4 dilué au demi et à de l'eau distillée. Nous avons filtré le mélange et rincé à l'eau de manière à obtenir 50 ml de filtrat. Ensuite nous avons pris deux tubes à essai dans lesquels nous avons introduit 1 ml du macéra. Nous avons ajouté dans le tube n°1 cinq gouttes de réactif de Mayer et dans le tube n°2 cinq gouttes de réactif de Wagner. La présence d'une turbidité ou d'un précipité, après 15 minutes indique la présence d'alcaloïdes (Aiyegoro et Okoh, 2010).

4.1.6. Stérols et triterpènes :

Deux essais ont été effectués :

- **Essai 1 :** Test pour les stérols et stéroïdes :

Un volume de 10 ml de l'extrait éthanolique est placé dans un erlenmeyer. Après évaporation à sec, le résidu est solubilisé avec 10 ml de chloroforme anhydre. Ensuite, on mélange 5 ml de la solution chloroformique avec 5 ml d'anhydre acétique en y ajoutant quelques gouttes d'acide sulfurique concentré, on agite et on laisse la solution se reposer. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration violacée fugace virant au vert (maximum d'intensité en 30 minutes à 21°C) (**Aiyegoro et Okoh, 2010**).

- **Essai 2 :** Test pour les hétérosides stéroïdiques et triterpéniques :

Il consiste à évaporer à sec l'extrait éthanolique correspondant à 10 ml. Ensuite, on dissout le résidu obtenu dans un mélange d'anhydre acétique/chloroforme (5/5 : v/v) ; puis on filtre et on traite le filtrat par quelques gouttes d'acide sulfurique concentré (réaction de Libermann-Burchardt). Si cette réaction donne des colorations verte-bleue et verte-violette, elle indique alors la présence respective des hétérosides stéroïdiques et triterpéniques (**Aiyegoro et Okoh, 2010**).

4.1.7. Les saponosides :

Leur présence est déterminée quantitativement par le calcul d'indice de mousse, degré de dilution d'un décocté aqueux donnant une mousse persistante dans des conditions déterminées. Nous avons procédé à une décoction de 2 g de poudre végétale avec 100 ml d'eau distillée qu'on porte à ébullition pendant 30 minutes.

Après refroidissement et filtration, on réajuste le volume à 100 ml. A partir de cette solution mère, on prépare 10 tubes (1,3 cm de diamètre interne) avec 1,2, ... 10 ml, le volume final étant réajusté à 10 ml avec de l'eau distillée. Chacun de ces tubes est agité avec énergie en position horizontale pendant 15 secondes.

Après un repos de 15 minutes en position verticale, on relève la hauteur de la mousse persistante en centimètre. Si elle est proche de 1 cm dans le 10ème tube, alors l'indice de masse est calculé par la formule suivante : La présence de saponines dans la plante est confirmé avec un indice supérieur à 100 (**Dohou et al., 2003**).

$I = \text{Hauteur de mousse (en cm) dans le 10ème tube} \times 5 / 0,0X$

Avec : X : Volume contenu dans le 10ème tube

4.1.8. Les composés réducteurs :

Leur détection consiste à mettre 1 ml de l'extrait éthanolique avec de l'eau distillée et 20 gouttes de la liqueur de Fehling puis le chauffer. Un test positif est révélé par la formation d'un précipité rouge brique (**Trease et Evans, 1987**).

4.1.9. L'amidon :

On chauffe 3 ml de l'extrait aqueux avec 10 ml d'une solution de NaOH saturée dans un bain marin jusqu'à l'ébullition. Ajouter ensuite le réactif d'iode. Un test positif est révélé par l'apparition d'une coloration bleue-violacée (**Bruneton, 2009**).

5. Répartition des groupes

5.1. L'exposition à l'imidaclopride :

Les expériences sont réalisées sur des rats mâles ayant un poids qui varie entre 150 et 180 g. Ils ont été divisés au hasard en quatre groupes comprenant chacun sept animaux ; EAP et IMD ont été administrés par la voie per os à l'aide d'une sonde de gavage :

- **Groupe 1** : Rats témoins reçoivent l'eau de boisson.
- **Groupe 2** : Rats intoxiqués à l'imidaclopride à une dose de 90 mg/ Kg pendant 28 jours (**Lonare et al., 2014**).
- **Groupe 3** : Rats intoxiqués à l'imidaclopride pendant 28 jours, sont ensuite traités par l'extrait d'anis pendant 15 jours à une dose de 500 mg/kg.
- **Groupe 4** : Rats reçoivent de l'extrait aqueux d'anis vert à une dose de 500 mg/kg pendant 15 jours (**Bekara et al., 2016**).

5.2. L'exposition au Formaldéhyde :

Ce pesticide a été administré à des rats mâles ayant un poids qui varie entre 150 et 200 gr avec une dose de 125 mg/ Kg par voie orale pendant 4 semaines (**Til et al., 1988**). Ils ont été divisés selon leur poids en six groupes comprenant chacun sept animaux :

- **Groupe 1** : Rats témoins reçoivent l'eau de boisson.
- **Groupe 2** : Rats intoxiqués au Formyl (pesticide) à une dose de 125 mg/ Kg pendant 30 jours.
- **Groupe 3** : Rats intoxiqués au Formyl pendant 30 jours, sont ensuite traités par l'extrait d'anis pendant 15 jours à une dose de 500 mg/kg.
- **Groupe 4** : Rats reçoivent de l'extrait aqueux d'anis vert à une dose de 500 mg/kg pendant 15 jours.
- **Groupe 5** : Rats reçoivent le Formaldéhyde (matière active) (125 mg/ Kg) pendant 30 jours.
- **Groupe 6** : Rats reçoivent le Formaldéhyde (matière active) (125 mg/ Kg) pendant 30 jours. , sont ensuite traités par l'extrait d'anis pendant 15 jours à une dose de 500 mg/kg.

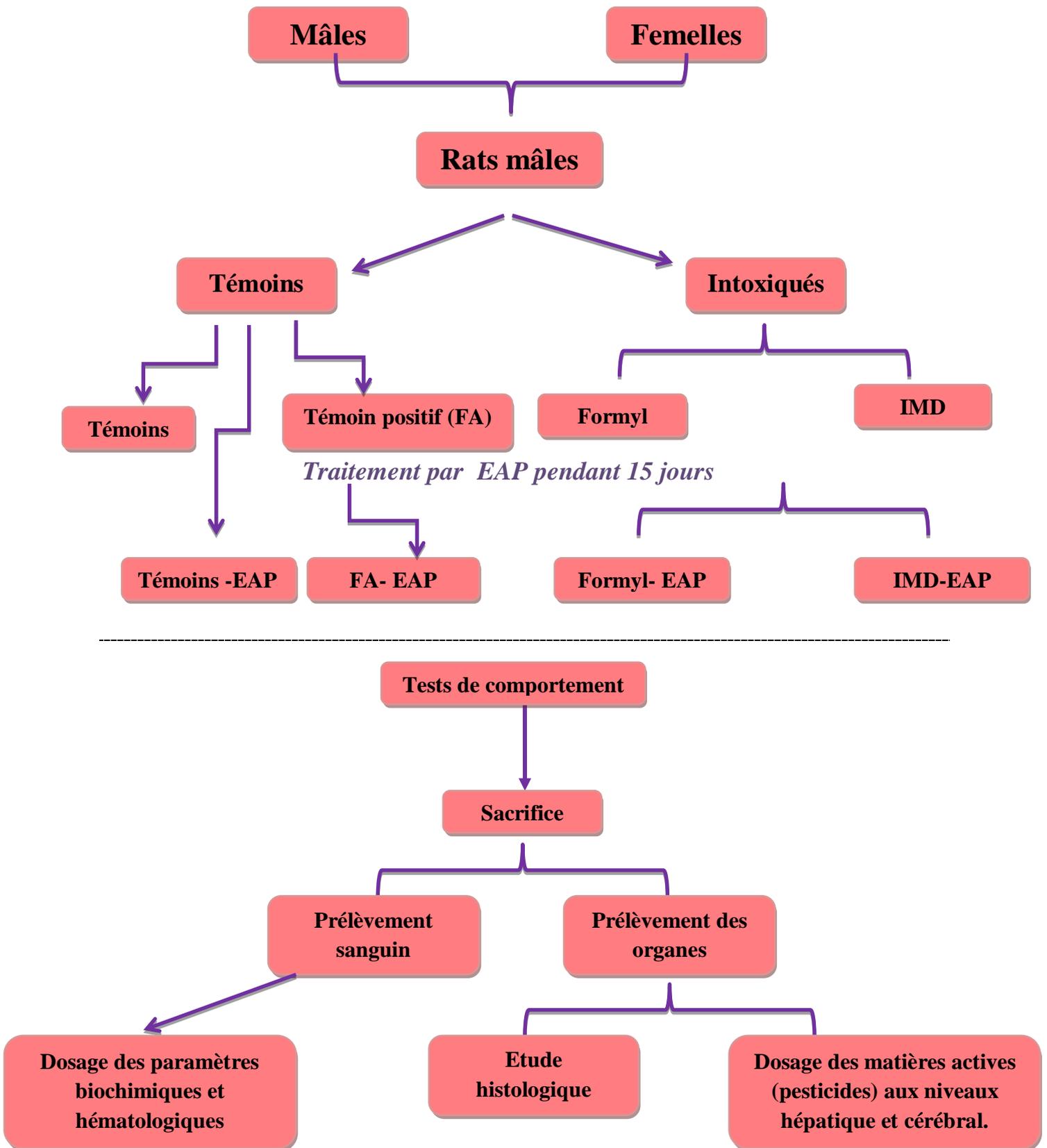


Figure 19 : Présentation schématique du protocole expérimentale.

6. Evolution du poids corporel

Le poids corporel de chaque rat a été noté chaque jour pendant la durée d'adaptation (avant le traitement) afin d'évaluer changements possibles par la nourriture ou le lieu (facteurs externes), et au cours du traitement afin d'évaluer l'effet des pesticides.

7. Les tests neurocomportementaux

Cette approche ayant pour but d'évaluer les effets neurotoxiques induits par l'exposition aux polluants sur le comportement global des animaux en l'occurrence la mémorisation, l'apprentissage l'activité locomotrice et l'anxiété et l'effet protecteur de *Pimpinella anisium* L. Pour atteindre cet objectif, plusieurs tests ont été élaborés tels que : le test de la piscine de Morris, labyrinthe de Barnes, test d'Open Field, FST.

Les quatre tests (la piscine de Morris, labyrinthe de Barnes, Open Field) sont filmés à l'aide d'une caméra vidéo (logiciel utilisé : AVS Vidéo Editor) qui transmet l'image à un ordinateur qui les digitalise et l'enregistre. A partir de cet enregistrement, l'ordinateur calcule les paramètres requis à l'aide d'un logiciel (Sigma Stat). Chaque dispositif expérimental est nettoyé à l'alcool puis séché entre chaque session sauf le FST.

7.1. Test de la nage forcée :

Le test de la nage forcée (Forced Swimming Test) est un modèle comportementale permettant la sélection de molécules à activité antidépressive (**Porsolt et al., 1977**). Le principe est basé sur le fait que l'animal, une fois placé dans une situation stressante, va essayer de s'en extraire. Les rats sont placés individuellement, pendant 6 min dans un cylindre en verre (hauteur: 39 cm, diamètre: 20,7 cm) rempli aux deux tiers d'eau à $22 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ dans lequel il n'y a aucune issue possible. L'animale est considéré comme étant immobile lorsqu'il flotte en position verticale, et ne fait que quelques mouvements afin de maintenir sa tête hors de l'eau. Après s'être débattu dans l'eau, l'animal devient presque immobile, bougeant les pattes de temps à autre pour rester à flot ou retrouver son équilibre. Cette immobilité est interprétée comme étant le reflet d'un « désespoir comportemental », qui survient lorsque l'animal réalise qu'il ne pourrait s'échapper. La durée d'immobilité est révélatrice du degré de désespoir chez l'animal (fig.20).



Figure 20 : L'épreuve de la nage forcée.

7.2. Test de l'*open field*

Ce test est réalisé afin d'évaluer l'activité locomotrice ainsi que le comportement anxieux des rats. L'arène utilisée est une boîte carrée ouverte (70 cm × 70 cm × 34 cm), à fond noir et des lignes blanches au sol délimitaient des carreaux (10×10 cm). Chaque rat est initialement placé dans un des quatre coins de l'*open field*, la tête orientée vers un coin. Son comportement est observé pendant 6 minutes, entre chaque essai on nettoie la cage avec l'éthanol 70%. Six paramètres sont mesurés par l'expérimentateur : le temps de latence (exprimé en secondes), le nombre total de carreaux traversés, le nombre de visites dans les 9 carreaux du centre, le nombre total de redressements (animal positionné sur ses deux pattes postérieures, droit, en équilibre dans le vide ou contre une paroi), le nombre total de toilettages et le nombre total de défécations. Ce test analyse le comportement exploratoire du rat dans un espace clos. On l'utilise avant tout pour mesurer ses fonctions motrices, mais aussi, pour évaluer son degré d'anxiété. Un animal anxieux évite le centre du terrain qui est ouvert, et reste au périphérique (Kahloula., 2014).



Figure 21 : L'épreuve d'Open Field.

7.3. Labyrinthe de Barnes :

Le labyrinthe de Barnes est une approche comportementale pour mesurer rapidement et efficacement l'apprentissage et la mémoire visuo-spatiale chez les rongeurs. Le dispositif est constitué d'une plateforme circulaire en bois (100 cm de diamètre, hauteur: 65 cm) élevée avec 12 trous égaux (diamètre du trou : 10 cm) situés à 9 cm de la bordure et séparés d'une distance constante. Sur ce dispositif, les rats utilisent des repères visuels extra-labyrinthe pour localiser un trou équipé d'une cavité où il peut s'enfuir. Cette dernière a été maintenue sous l'un des trous au bord de la plate-forme. Cette boîte d'échappement est restée dans une position constante par rapport à la pièce tout au long du test (Patil et al., 2009). Le rat est placé au centre de la plateforme dans une chambre fortement éclairée et riche en indices spatiaux localisés de manière constante. Le rat explore librement la plateforme jusqu'à trouver la cible dans laquelle il s'échappe. Le rat qui n'a pas trouvé la boîte cible en 6 minutes doit être guidé doucement vers son emplacement. Chaque rat réalise 3 essais par jours pendant 5 jours. Tous les animaux sont restés dans la boîte cible pendant 60 s après leur entrée. Le sixième jour, les rats sont soumises à une première épreuve : le rat est déposé au centre de la plateforme de façon identique aux essais, mais les 12 trous sont bouchés. Deux paramètres sont mesurés : la latence nécessaire à l'animal pour rejoindre le trou donnant accès à la caisse, le nombre d'erreurs effectuées, c'est-à-dire le nombre de visites aux trous non reliés à la caisse (un trou est considéré comme visité lorsque le rat y passe la tête).



Figure 22: La plateforme de labyrinthe de Barnes.

7.4. La piscine de Morris (Labyrinthe aquatique)

La piscine de Morris a été créée par Richard Morris neuroscientifique en 1981. Le but de ce test est l'évaluation des capacités des rats à mémoriser et à gérer l'information spatiale pour échapper à une situation aversive (l'eau d'un bassin) en atteignant un refuge le plus rapidement possible (Morris, 1984). Le dispositif expérimental est constitué d'un bassin circulaire en métal blanc de 160 cm de diamètre et de 60 cm de hauteur, rempli d'eau à une hauteur de 30 cm. Ce bassin est rempli d'eau que l'on rend opaque par addition un colorant blanc non toxique à une température de $21 \pm 1^\circ\text{C}$ confère à ce test un caractère aversif pour l'animal. Le bassin est virtuellement divisé en quatre quadrants par quatre points cardinaux arbitraires (Nord, Sud, Est, Ouest). Une plate-forme (15 cm de diamètre) est disposée à l'intérieur de l'enceinte dans le quadrant Nord-Ouest., située en relief (1cm) de la surface de l'eau, recouverte d'une grille afin de faciliter l'agrippement des animaux elle est visible pour l'animal le premier jour du test. Dans la pièce, sont disposés plusieurs indices distaux susceptibles de permettre à l'animal de se repérer dans l'espace. Dans cette tâche, l'animal cherche à trouver refuge sur la plate-forme le plus rapidement possible.

- La phase d'acquisition dure 4 jours. Le protocole consiste à localiser la plate-forme immergée rendue invisible dont la position reste inchangée au cours des 4 jours consécutifs. Chaque rat subit une séance quotidienne de 4 essais séparés par un délai de 15 min. A chaque essai, l'animal est déposé dans l'eau face à la paroi depuis un point de départ déterminé qui varie d'essai en essai. L'essai se termine lorsque le rat a

atteint la plateforme, ou après l'écoulement de 60 secondes, le rat qui ne trouve pas la plate-forme est guidé vers cette dernière et y reste 20 secondes pour mémorisation.

- **5ème jour (Le probe test) :** le rat placé au Sud et subit un test de rétention dans le bassin de 60s, le protocole consiste à retirer la plate-forme du bassin et mesurer principalement le temps passé dans le quadrant qui contenait la plate-forme au cours des essais précédents (Nord-Ouest).
- **La phase de la plateforme visible :** Après 2 heures du probe test, la plateforme est placée au milieu du quadrant NO et rendue visible en plaçant un drapeau coloré. Quatre essais de 60 secondes pour chacun sont réalisés dans les 4 points cardinaux. Le temps mis pour atteindre la plate-forme est mesuré.



Figure 23 : Le dispositif du test « Piscine de Morris ».

8. Prélèvement sanguin et évaluation des poids des organes :

Les animaux sont sacrifiés le matin par décapitation après un jeûne de 12 heures, et cela après une exposition par injection d'une solution chloral ($C_2H_3Cl_3O_2$), à 10%. Le sang est récupéré dans des tubes EDTA pour les analyses hématologiques et héparine pour les analyses biochimiques. Le sang centrifugé à 3000 tours/10min. Le plasma est stocké à 4°C, il servira pour les dosages biochimiques. Les organes (cerveau, foie, et reins) ont été soigneusement prélevés, rincés et séchés puis pesés. Ces organes sont par la suite conservés totalement dans une solution préparée de Formol (10%) pour une étude histologique.

9. Evaluation des paramètres biochimiques et hématologiques

9.1. Dosage des paramètres hématologiques :

Les paramètres hématologiques à savoir le nombre des érythrocytes, des leucocytes, thrombocytes, taux d'hémoglobine, d'hématocrite, sont déterminés à l'aide d'un Coulter de type Sysmex XE-2100.

9.2. Dosage des paramètres biochimiques :

9.2.1. Glucose Gluc –DH FS

Dans l'hémolysat : Réactif de diagnostic in vitro pour détermination du glucose par méthode glucose déshydrogénase (gluc-DH) dans l'hémolysât sur système photométrique.

➤ Principe

Le glucose –déshydrogénase catalyse l'oxydation du glucose selon l'équation suivante :



La quantité de NADH formé est proportionnelle à la concentration de glucose.

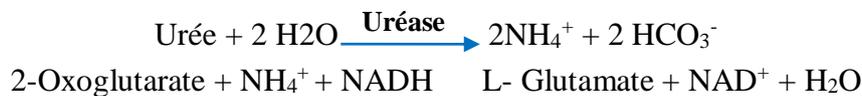
➤ Méthode

Test UV enzymatique avec utilisation de la glucose-déshydrogénase, les valeurs du standard sont établies par rapport à un standard primaire.

9.2.2. Urée

Réactif de diagnostic in vitro pour la détermination quantitative de l'urée dans le sérum, le plasma ou l'urine

➤ Principe



➤ Méthode

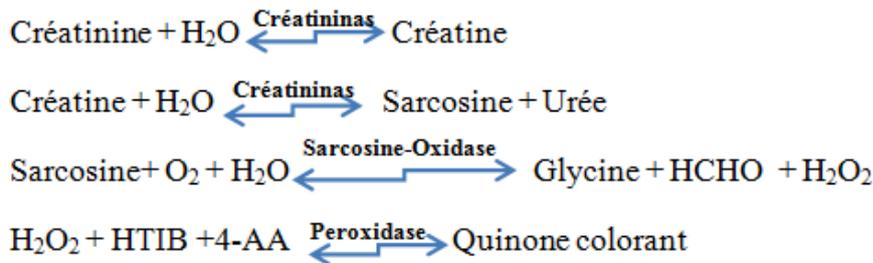
Test UV enzymatique : « Uréase-GLDH »

GLDH : Glutamate : Glutamate déshydrogénase

9.2.3. Créatinine PAP (Enzymatic method)

Réactif de diagnostic in vitro pour la détermination quantitative de la créatinine dans le sérum, le plasma ou l'urine sur systèmes photométriques.

➤ **Principe**



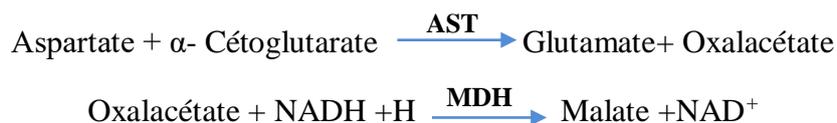
➤ **Méthode**

Test colorimétrique enzymatique

9.2.4. Détermination quantitative d'aspartate amino transférase TGO (ASAT) (Asat Spinreact)

➤ **Principe de la méthode**

L'aspartate amino transférase (AST), initialement appelée transaminase glutamate oxaloacétique (GOT) catalyse le transfert réversible d'un groupe animique de l'aspartate vers l'alpha-cétoglutarate à formation de glutamate et d'oxalacétate. L'oxalacétate produit est réduit en malate en présence de déshydrogénées (MDH) et NADH :



La vitesse de réduction de la concentration en NADH au centre déterminée photo numériques, est proportionnelle à la concentration catalytique d'AST dans l'échantillon.

9.2.5. Détermination quantitative d'alanine amino transférase TGP(ALAT) (Alat Spinreact)

➤ **Principe de la méthode**

L'alanine amino transférase (ALT) initialement appelée transaminase glutamique pyruvique (GPT) catalyse le transfert réversible d'un groupe animique d'alanine vers l'alpha-cétoglutarate à formation de glutamate et de pyruvate. Le pyruvate produit est réduit en lactate en présence de lactate déshydrogénase (LDH) et NADH :



La vitesse de réduction de la concentration en NADH au centre déterminée photo numériques, est proportionnelle à la concentration catalytique d'ALT dans l'échantillon.

9.2.6. Phosphatase alcaline

Réactif de diagnostic in vitro pour la détermination quantitative de la phosphatase alcaline pal dans le sérum ou le plasma sur systèmes photométriques

➤ **Méthode**

Test photométrique cinétique, méthode standard optimisée selon les recommandations de la DGKC (Société Allemande de Chimie Clinique).

➤ **Principe**



10. Dosage quantitatif et qualitatif des deux pesticides au niveau hépatique et cérébral :

➤ **Chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC)**

Les matières actives des deux pesticides « Formaldéhyde et Imidaclopride » ont été analysés quantitativement et qualitativement par HPLC. Cet analyse est réalisée sur un appareil Agilent 1260 équipé d'un système de pompe quaternaire, muni d'un détecteur UV (272 nm), réalisée sur colonne Beckman ultraspère, ODS, 5µ x 4.6 mm x 25 cm. La phase mobile est isocratique composée de 70% d'eau et de 30 % d'acétonitrile, le débit est 1 ml/min et le volume d'injection est de 20 µl. Cette méthode d'analyse permet d'identifier et de quantifier l'imidaclopride et de formaldéhyde dans le cerveau et le tissu hépatique des rats.

Tableau 05 : Conditions de l'instrument.

Instrument	HPLC Agilent 1260 équipé d'un système de pompe quaternaire
Colonne	ODS 5µ x 4,6 mm x 25 cm
Détecteur UV	272 nm

Phase mobile	Isocratique (70% d'eau -30% d'acétonitrile)
Débit	1,0 ml/min
Volume d'injection	20 µL

11. Expression et analyse statistique des résultats :

Les résultats sont exprimés par la moyenne (M) des valeurs individuelles, affectées de l'erreur standard à la moyenne (S.E.M). La comparaison de deux moyennes est effectuée par un test t de Student. La comparaison de plusieurs moyennes est effectuée par une analyse de variance (ANOVA) avec le facteur intoxication (IMD, T) et/ou le facteur traitement (EAP, Solvant) suivie éventuellement du test Post-Hoc Student-Newman-Keuls. Les ANOVA à mesures répétées ont été utilisées pour l'analyse du facteur temps. La probabilité $p > 0,05$ indique une différence n'est pas significative ; $*p \leq 0.05$ indique une différence significative ; $*p < 0.01$; indique une différence très significative ; $***p < 0.001$ indique une différence hautement significative. Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel SigmaStat (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

Les résultats sont représentés sous forme de moyenne \pm SEM, avec signalisation si la différence avec les témoins est significative ou non.

12. Etude histologique (Houlot, 1984)

Les coupes histologiques ont été réalisées suivant la technique classique de **Houlot (1984)**, cette technique comporte les étapes suivantes :

12.1. Fixation

Les organes (cerveau, foie et rein) prélevés ont été rincés dans l'eau distillée pendant quelques minutes puis découpés en fragments de 0.5cm d'épaisseur. Ces derniers ont été placés dans une solution de formole à 10% (v/v).

12.2. Traitement des tissus

Le traitement des tissus a été réalisé par un automate (fig 24. Leica TP1020) qui effectue la déshydratation par passage dans une série de bains d'éthanol à concentrations croissantes (70%, 80%, 95% et 100%). La deuxième étape consiste en un nettoyage dans le xylène suivi par une infiltration par la paraffine dissoute à 56°C (Tableau 06).



Figure 24 : Automate deshydratation (Leica TP1020) .

Tableau 06 : programmation d'automate

Poste	Réactif	Duré
1	Formol 10%	1h
2	Formol 10%	1h
3	Éthanol 70%	2h
4	Éthanol 80%	2h
5	Éthanol 95%	2h
6	Éthanol 100%	1h
7	Éthanol 100%	1h
8	Éthanol 100%	1h
9	Xylène	2h
10	Xylène	2h
11	Paraffine	2h
12	Paraffine	2h

12.3. Inclusion et confection des blocs

Les échantillons ont été mis dans des cassettes puis imprégnés à chaud par une paraffine de routine dont le point de fusion est de 54° à 56°C. La paraffine a été ensuite coulée au quart dans des moules en acier inoxydable chauffés à 60° C et les fragments de tissus y ont été déposés. Après solidification de la paraffine, les blocs formés ont été congelés à -20°C. Cette opération fait appel à des appareils « dits à inclusion » (fig.25) refermant un

réservoir de paraffine maintenue à l'état liquide par un système de chauffage, un petit robinet et une plaque métallique réfrigérée pour obtenir la solidification rapide du bloc de paraffine contenant le tissu.



Figure 25: station d'enrobage de type Lieca

12.4. Confection des coupes

Les blocs de paraffine sont préalablement taillés avant d'être réduits en coupes microscopiques de 5 μm d'épaisseur à l'aide d'un microtome. Les coupes ont été ensuite étalées dans un bain marie à 50°C puis collées sur des lames par l'albumine et séchées à 60°C pendant 1 heure pour éliminer la paraffine.



Figure 26 : Microtome rotatif de Type Leica 2125.



Figure 27 : Bain-marie de type Leica.

12.5. Coloration

Après séchage à l'étuve à 37°C pendant au moins deux heures, les lames sont colorées en Hématoxyline-Eosine dont l'hématoxyline colore les noyaux en violet, et l'éosine colore le cytoplasme en rose.

Cette coloration a été effectuée manuellement selon le protocole suivant :

- ✓ Déparaffinage par passage dans deux bains de xylène de 15 mn chacun.
- ✓ Réhydratation par passage dans deux bains d'éthanol absolu pendant 5 minutes.
- ✓ Un bain d'alcool à 70° pendant 5 minutes.
- ✓ Coloration avec l'hématoxyline pendant 25 minutes.
- ✓ Rinçage dans l'eau de robinet pendant 15 minutes.
- ✓ Coloration à l'éosine pendant 15 minutes.
- ✓ Lavage à l'eau pour éliminer l'excès de colorant.
- ✓ Déshydratation dans l'alcool à 70° pendant 10 minutes puis dans l'alcool absolu pendant 3 minutes.
- ✓ Séchage des lames dans du papier buvard.
- ✓ Clarification dans le xylène pendant 15 minutes.
- ✓ Montage des lamelles à l'aide du baume de Canada en prenant soins de dégager les bulles d'air.

12.6. Lecture des lames :

Les images numériques ont été capturées avec un microscope connecté (Primo Star) à un appareil photo numérique (Primo Star) connecté à un ordinateur (HP).

Résultats et interprétations

1. Détermination du rendement :

➤ En huile essentielle :

Les résultats relatifs au rendement montrent que l'extraction par hydrodistillation a donné un rendement total de l'ordre de 1,383%.

➤ En extrait aqueux

La méthode de décoction nous a permis d'avoir un extrait aqueux de *Pimpinella anisum* avec un rendement de 17,18 %.

2. Analyse phytochimique :

Les résultats concernant le screening phytochimique sont consignés dans le tableau ci-dessous (tableau 06).

- Le signe ‘+’ traduit par la présence du groupe de composés chimiques
- Le signe “-” son absence.

Tableau 07: Résultats du screening phytochimique pour neuf composés chez l'anis vert.

<i>Composé recherché</i>	<i>Présence/Absence</i>
Tanins	+
Flavonoïdes	+
Anthocyanes	++
Coumarines	+
Alcaloïdes	+
Stérols	+++
Saponosides	-
Composés réducteurs	-
Amidon	-

3. Détermination de la composition chimique d'huile essentielle de *Pimpinella anisum* par CPG/MS :

L'analyse chromatographique en phase gazeuse nous a permis d'identifier 12 composants pour l'huile essentielle de l'anis vert avec l'anéthol comme composant majeur.

Tableau 08: les composants chimique de l'huile essentielle de *pimpinella anisum* identifiés par CPG/SM.

Composés identifiés	Temps de rétention (min)	Concentration (%)
α-pinène	8,11	1,81
Camphène	8,56	0,36
Cis-betaocimène	9,72	0,28
α-phellandréne	10,91	0,22
Limonène	11,68	8,01
3-carène	12,91	0,43
Fenchone	14,22	8,99
α-campholène aldéhyde	16,15	0,47
γ-Elémène	18,1	0,11
Estragole	18,81	7,25
Tans-anéthol	20 ,33	55,44
Cis-Anéthol	21,60	0,18

4. Effet des deux pesticides sur la croissance pondérale des rats :

Le poids constitue un bon indicateur de la croissance des rats expérimentés. Les résultats d'évaluation de la croissance en termes de gain de poids durant la période d'expérimentation chez les différents groupes d'animaux exposés aux deux pesticides sont illustrés par les figures 29 (1-2-3-4-5-6-7).

4.1. Différence entre poids initial et final chez les différents groupes expérimentaux :

Les expériences relatives à la croissance pondérale, permet d'évaluer l'effet des deux pesticides sur l'évolution du poids corporel entre le début d'expérience et sa fin.

Le traitement statistique montre que le poids des rats témoins et témoins traités augmente considérablement à partir du premier jour d'expérimentation jusqu'à la fin du traitement.

Par contre, on remarque une légère évolution du poids corporel des animaux exposés à l'imidaclopride et au Formaldéhyde en comparant le poids initial et final enregistré.

Cependant, on remarque une diminution significative du poids corporel final des rats exposés à l'IMD, Formyl et Formaldéhyde (fig. 29.1 - 29.2 - 29.3) par rapport aux rats intoxiqués traités IMD-EAP ($p < 0.01$) ; Formyl-EAP ($p < 0.05$) ; Formaldéhyde-EAP ($p < 0.01$) respectivement et rats témoins ($p < 0.001$).

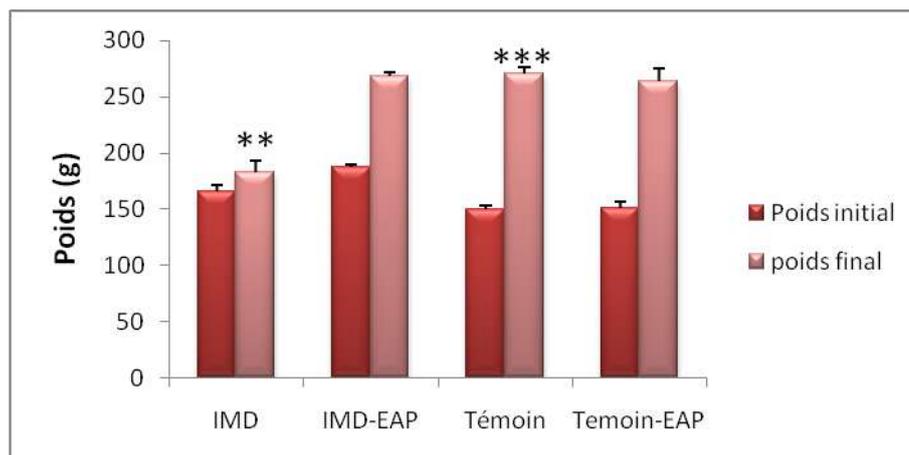


Figure 28.1 : Différence entre poids initial et final chez les animaux exposés à l'IMD, intoxiqués traités (IMD-EPA), témoins, témoins traités (EAP). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (** : $p < 0.01$; *** : $p < 0.001$).

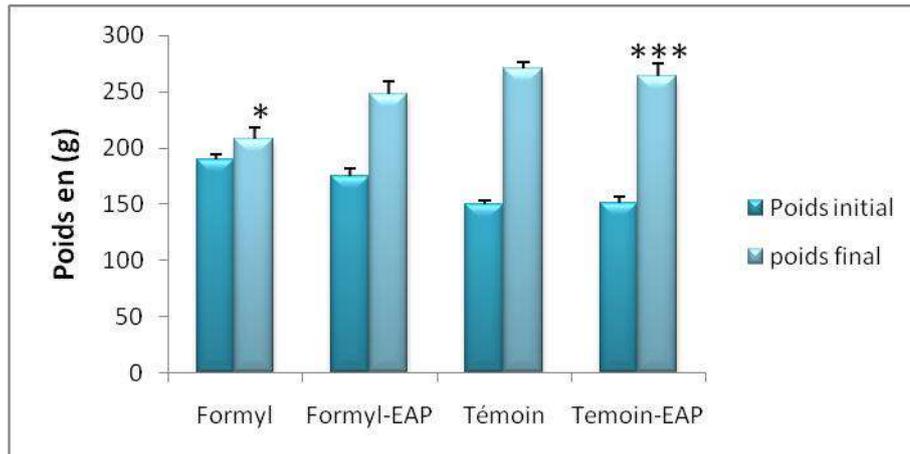


Figure 28.2: Différence entre poids initial et final chez les animaux exposés au Formyl, intoxiqués traités (Formyl-EPA), témoins, témoins traités (EAP). (* : $p < 0.05$; *** : $p < 0.001$).

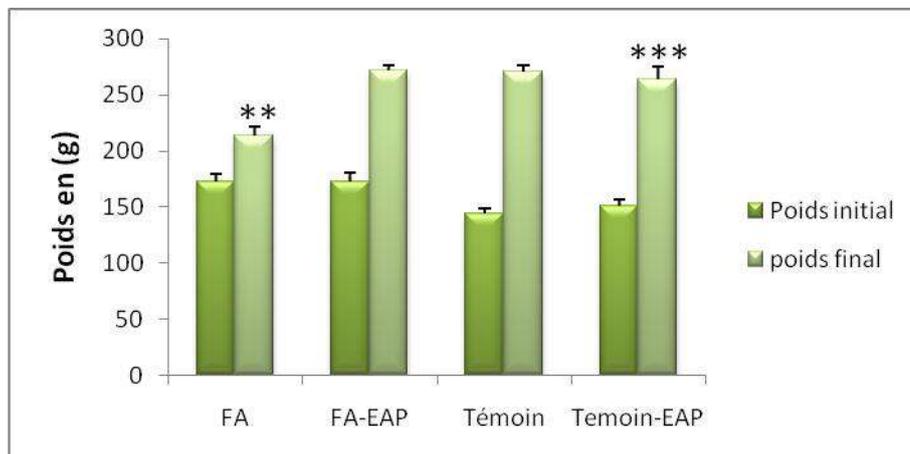


Figure 28.3 : Différence entre poids initial et final chez les animaux exposés au Formaldéhyde (FA), intoxiqués traités (FA -EPA), témoins, témoins traités (EAP). (** : $p < 0.01$; *** : $p < 0.001$).

4.2. Gains de poids :

Les données relatives montrent que l'exposition à l'imidaclopride à raison de 90 mg/kg pendant une durée de 28 jours induit une baisse significative ($p < 0.001$) dans le gain de poids corporels chez les rats intoxiqués par rapport aux rats intoxiqués traités et témoins.

Cependant, les résultats montrent une diminution significative ($p < 0.001$) du gain de poids chez les animaux intoxiqués traités par rapport aux animaux témoins traités.

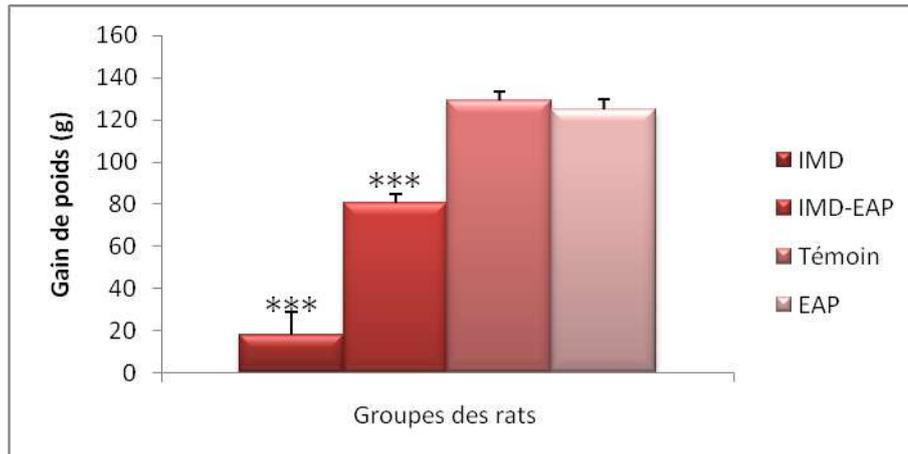


Figure 28.4: Evolution du gain de poids corporel chez les rats intoxiqué par l'IMD, intoxiqués traités (IMD-EPA), témoins, témoins traités (EAP) (***) : $p < 0.001$).

En revanche, les animaux exposés au Formyl ainsi que sa matière active (FA) présentent un gain de poids significativement inférieur à celui des animaux témoins, témoins traités ($p < 0.001$) et intoxiqués traités Formyl-EAP ($p < 0.001$), FA-EAP ($p < 0.01$) respectivement. Ces mêmes résultats (fig. 29.4-29.5) montrent que le gain de poids chez les groupes d'animaux qui ont subi que l'extrait aqueux de *P.anisum L.* est significativement supérieur ($p < 0.001$) à celui des groupes d'animaux intoxiqués traités (Formyl-EAP, FA-EAP).

Les résultats de l'évaluation du gain de poids corporel chez les différents groupes expérimentaux (fig.29.7) ne présentent aucune différence significative entre le groupe d'animaux exposé au Formyl et le groupe d'animaux exposé à sa matière active (FA).

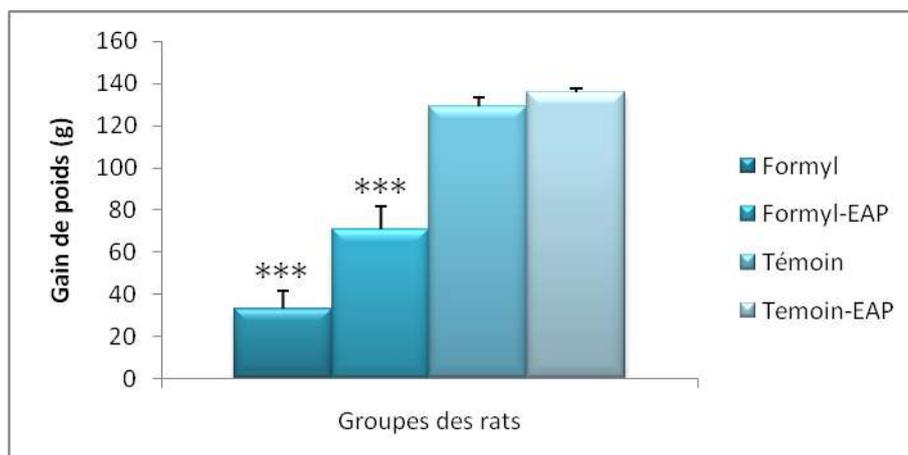


Figure 28.5 : Evolution du gain de poids corporel chez les rats intoxiqué par Formyl, intoxiqués traités (Formyl-EPA), témoins, témoins traités (EAP). (***) : $p < 0.001$).

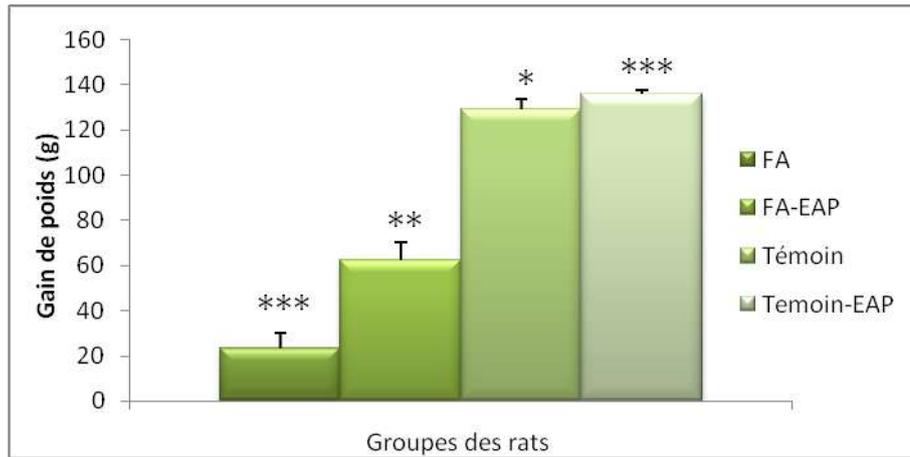


Figure 28.6 : Evolution du gain de poids corporel chez les rats intoxiqué par Formaldéhyde (FA), intoxiqués traités (FA -EPA), témoins, témoins traités (EAP). (***) : $p < 0.001$; ** : $p < 0.01$; * : $p < 0.05$).

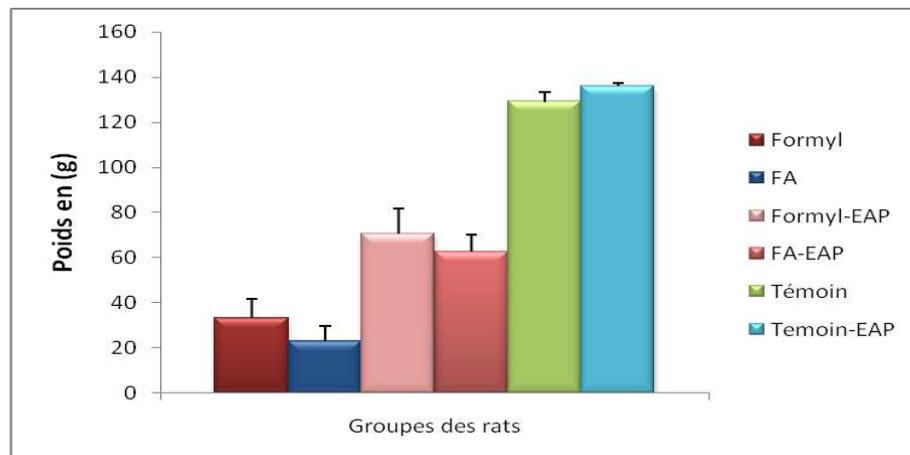


Figure 28.7 : Evolution du gain de poids corporel chez les différents groupes expérimentaux ; rats intoxiqué par (Formyl) et (FA), intoxiqués traités (Formyl -EAP) et (FA-EAP), témoins, témoins traités (EAP).

5. Les tests neurocomportementaux :

5.1. Comportement de type dépressif (Test de la nage forcée) :

L'analyse statistique présente un temps d'immobilité (TIM) significativement ($p < 0,001$) supérieur chez les rats intoxiqués par l'imidaclopride (90 mg/ Kg) par rapport à celui des rats témoins et les rats intoxiqués traités. Les rats exposés à l'imidaclopride à la dose de 90 mg /kg et traité par l'extrait aqueux (EAP) ont une augmentation significative ($p < 0,001$) du TIM par rapport à celui des rats témoins traités.

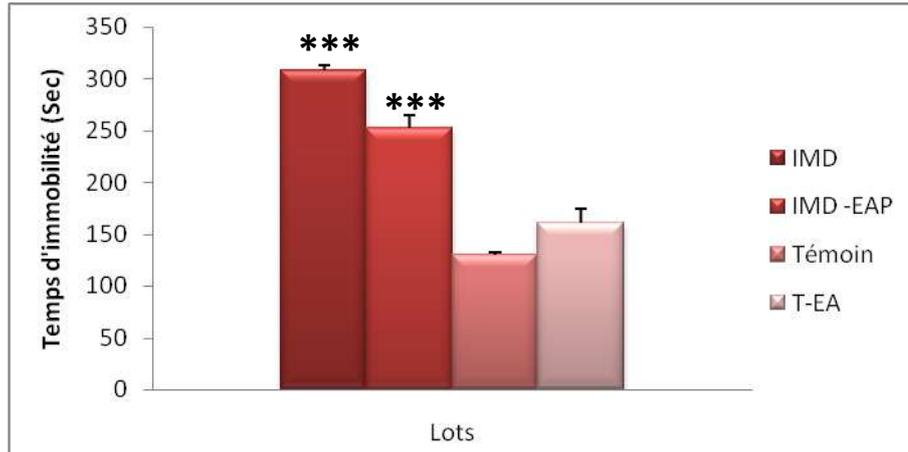


Figure 29.1 : Le temps d'immobilité durant le test de la nage forcée des rats témoins, témoins traités (EA), intoxiqués par l'imidaclopride (90 mg/ Kg) et intoxiqués traités.

Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (***) : $p < 0.001$).

Les résultats de la nage forcée montrent que le temps d'immobilité (TIM) des rats exposés au pesticide (Formyl) et à son principe actif (formaldéhyde) durant les 6 min du test, est élevé d'une manière significative comparativement à celui des rats témoins ($p < 0,001$). Les données relatives montrent une augmentation significative du temps d'immobilité chez les rats exposés au formaldéhyde par rapport aux rats intoxiqués traités ($p < 0,001$). Cependant, l'analyse statistique révèle que durant ce test, le TIM des animaux intoxiqués traités est significativement élevé à celui des animaux traités par l'extrait d'anis ($p < 0,001$). On remarque aussi une augmentation significative du (TIM) chez les témoins traités par l'EAP ($p < 0,05$) comparativement aux témoins.

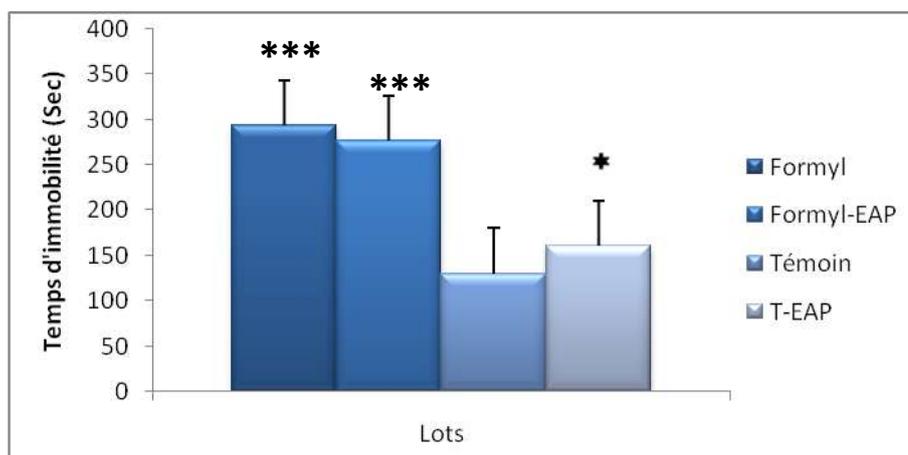


Figure 29.2: Le temps d'immobilité durant le test de la nage forcée des rats témoins, témoins traités (EAP), intoxiqués par Formyl (pesticide) (125 mg/ Kg) et intoxiqués traités. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (***) : $p < 0.001$; * : $p < 0.05$).

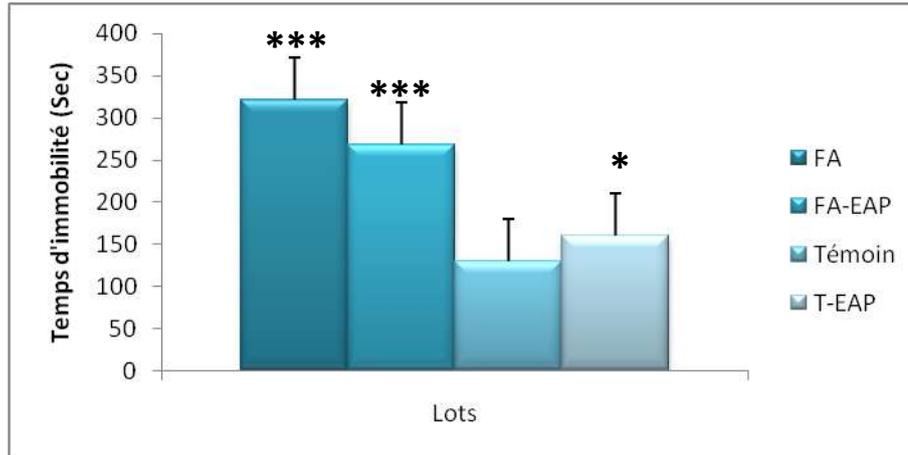


Figure 29.3 : Comparaison du temps d'immobilité durant le test FST entre les rats témoins, intoxiqués formaldéhyde (principe actif), intoxiqué traité et témoins traités. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (***) : $p < 0.001$; * : $p < 0.05$.

5.2. Evaluation du comportement d'exploration : Test d'Open Field

L'exposition à l'imidaclopride provoque une réduction significative ($p < 0.001$) du nombre de carreaux traversés, du nombre de redressement et une diminution significative ($p < 0.01$) dans le nombre de visite au centre avec une augmentation significative ($p < 0.01$) dans le nombre de défécations chez les rats intoxiqués comparativement aux rats témoins.

De plus, Les données obtenues montrent qu'il n'y a aucun changement significatif dans le nombre de toilettage et le temps de latence entre tous les lots.

Tableau 09 : Effet de l'exposition à l'imidaclopride sur l'activité locomotrice (Test open Field) les rats témoins, intoxiqués, et intoxiqués traités Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (***) : $p < 0.001$; ** : $p < 0.01$.

Groupes	Temps de latence	Nombre de carreaux traversés	Nombre de carreaux visités au centre	Redressement	Toilettage	Défécation
IMD	1,42 \pm 0,71	72,85 \pm 13,78 ***	0,42 \pm 0,29 **	9,57 \pm 1,34 ***	6,57 \pm 1,26	4,28 \pm 0,74 **
IMD-EAP	0,85 \pm 0,55	100,42 \pm 6,82	1,28 \pm 0,68	11,57 \pm 1,39	6,14 \pm 0,50	2,71 \pm 1,10
Témoins	1,28 \pm 0,74	161,28 \pm 7,99	6,71 \pm 2,62	22,42 \pm 4,30	5,42 \pm 0,84	1,28 \pm 0,42
EAP	1,71 \pm 1,24	107,14 \pm 9,53 ***	2 \pm 0,65	8,71 \pm 1,49	4,85 \pm 0,34	2 \pm 0,65

L'analyse statistique des résultats obtenus montre une baisse significative du nombre des carreaux traversés chez les rats exposés au (Formyle, Formaldéhyde) comparativement aux rats témoins ($p < 0,001$) et une augmentation significative chez les animaux témoins par rapport aux animaux traités par l'EAP ($p < 0,05$). De même, l'administration par voie per os du pesticide et même de sa matière active seule provoque chez les rats une diminution significative dans le nombre de visites au centre par rapport aux rats traités par l'EAP et une réduction significative chez le lot traité par l'EAP comparativement au lot non traité. De plus, Les données obtenues montrent une diminution significative du nombre de redressement chez les deux lots intoxiqués (Formyle, Formaldéhyde) ($p < 0,001$) et le lot traité par extrait d'anis ($p < 0,05$) par rapport au lot témoin. Concernant le nombre de défécation les résultats révèlent une élévation significative chez les animaux exposés au formaldéhyde comparativement aux animaux témoins et intoxiqué puis traités par EAP ($p < 0,001$), ($p < 0,05$) respectivement. Pour le temps de latence et nombre de toilette aucune différence significative n'a été enregistrée.

Tableau 10 : Effet de l'exposition au Formyl (pesticide), formaldéhyde (principe actif) (FA) sur l'activité locomotrice (Test open Field) chez les rats témoins, intoxiqués, et intoxiqués traités Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (***) : $p < 0,001$; ** : $p < 0,01$; * : $p < 0,05$).

Groupes	Temps de latence	Nombre de carreaux traversés	Nombre de carreaux visités au centre	Redressement	Toilettage	Défécation
FA	9,85 \pm 8,04	92,85 \pm 10,80 ***	0,57 \pm 0,29	9,28 \pm 2,40*	6,57 \pm 0,75	5,14 \pm 0,40 ***
FA-EAP	2,28 \pm 1,30	113,42 \pm 10,12	1 \pm 0,43	9,28 \pm 1,06	6,14 \pm 0,40	2,42 \pm 0,81*
Formyl	0,85 \pm 0,45	70,42 \pm 7,05	0,28 \pm 0,18	6 \pm 0,53 ***	5,42 \pm 0,84	1,71 \pm 0,71
Formyl-EAP	1,28 \pm 0,71	111,28 \pm 18,69	1,57 \pm 0,75	6,71 \pm 0,68	5,85 \pm 0,59	2,28 \pm 0,68
Témoins	1,28 \pm 0,74	161,28 \pm 7,99 ***	6,71 \pm 2,62 *	22,42 \pm 4,30 ***	5,42 \pm 0,84	1,28 \pm 0,42
EAP	1,71 \pm 1,24	107,14 \pm 9,53	2 \pm 0,65	8,71 \pm 1,49	4,85 \pm 0,34	2 \pm 0,65

5.3. Apprentissage spatial

5.3.1. Labyrinthe de Barnes :

5.3.1.1. La phase d'apprentissage :

- **Le nombre d'erreur :**

L'exposition à l'imidaclopride induit chez les rats au cours du premier, troisième et le cinquième jour d'apprentissage une élévation significative ($p < 0.05$; $p < 0.001$; $p < 0.001$) respectivement du nombre d'erreurs comparativement aux rats témoins. De même, le groupe exposé à l'imidaclopride puis traité par l'EAP a un nombre d'erreur significativement ($p < 0.001$) diminué au cours du troisième et cinquième jour par rapport au groupe intoxiqué. Dans le même contexte, les résultats relatifs à ce test ne présentent aucune différence significative au cours du deuxième et quatrième jour.

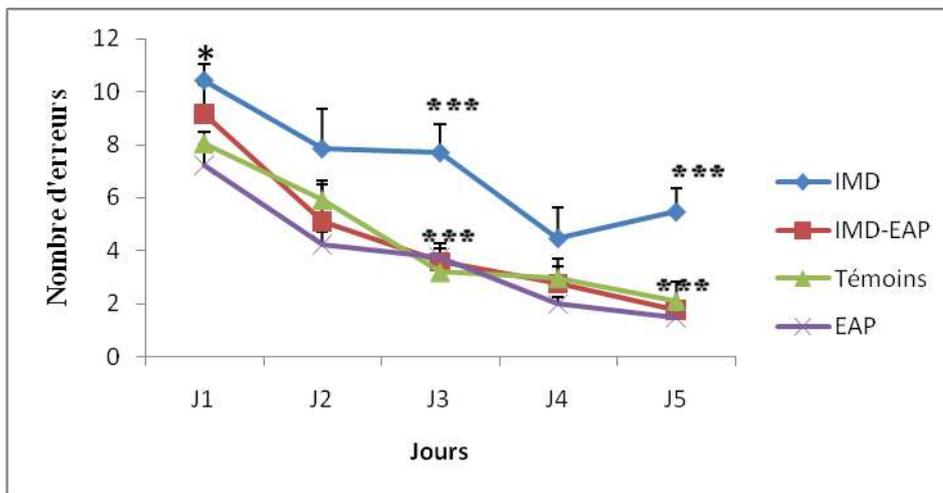


Figure 30.1: Nombre total d'erreurs pour les rats témoins, témoins traités (EAP), intoxiqués par l'IMD et intoxiqués traités au cours de la phase d'acquisition. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (*: $p < 0.05$; *** : $p < 0.001$).

- **Le temps passé avant de trouver la cible :**

Au cours de la phase d'apprentissage, les animaux intoxiqués par l'imidaclopride présentent un temps d'exploration avant de trouver la cible significativement ($p < 0.01$; $p < 0.001$) supérieur à celui des animaux témoins. Par ailleurs, l'administration de l'EAP aux animaux exposés à l'IMD améliore de manière significative leurs performances d'apprentissage spatial comparées aux animaux intoxiqués non traités en termes de temps de séjour avant de trouver la cible au cours du troisième, cinquième ($p < 0.001$), et quatrième jour ($p < 0.05$).

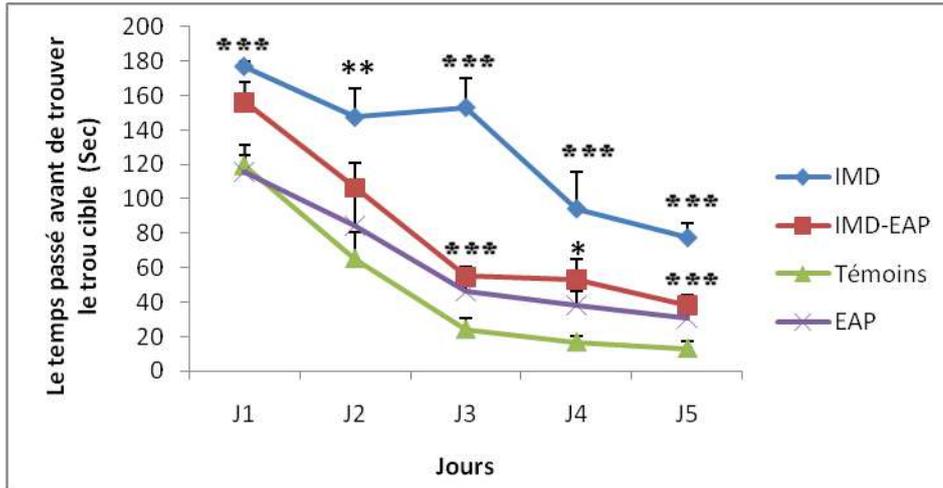


Figure 30.2 : Le temps pour atteindre le trou cible chez les rats témoins, témoins traités (EAP), intoxiqués (90 mg/ Kg d'IMD) et intoxiqués traités au cours de la phase d'acquisition. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (*: $p < 0.05$; **: $p < 0.01$; *** : $p < 0.001$).

5.3.1.2. Le jour d'épreuve :

- **Le temps passé avant de trouver la cible :**

Le traitement statistique des données concernant la phase de mémorisation a révélé que les rats exposés à ce pesticide ont un temps passé avant de trouver la cible significativement ($p < 0.05$; $p < 0.001$) supérieure à celui du lot intoxiqué traité et témoin. Tandis que, les rats témoins représentent une réduction significative ($p < 0.05$) à celui des rats traités à l'EAP.

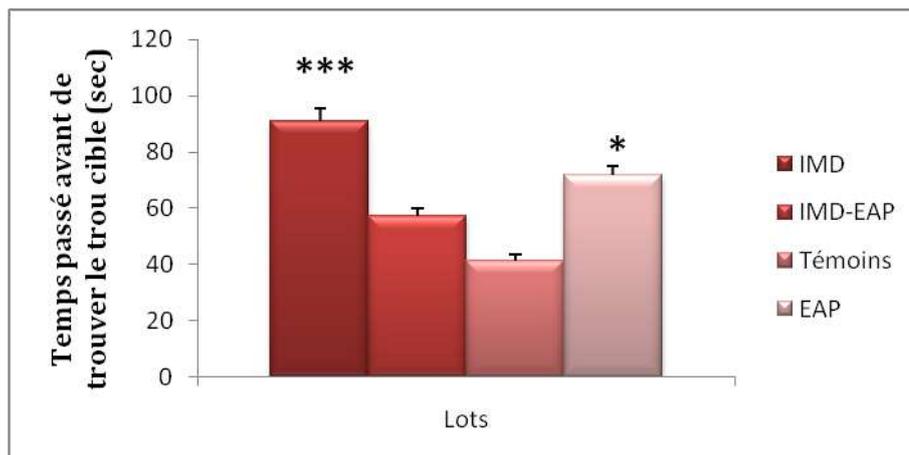


Figure 30.3: Le temps d'exploration pour atteindre le trou cible lors de l'épreuve (sixième jours) chez les animaux témoins, témoins traités (EAP), intoxiqués (IMD) et intoxiqués traités. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (* : $p < 0.05$; *** : $p < 0.001$).

- **Le nombre d'erreur :**

L'administration orale de l'extrait d'anis a entraîné une réduction significative ($p < 0.001$) du nombre d'erreurs chez le lot intoxiqué comparativement au lot intoxiqué non traité. Dans le même contexte, les animaux intoxiqués représentent un nombre d'erreur significativement ($p < 0.01$) important à celui des animaux témoins.

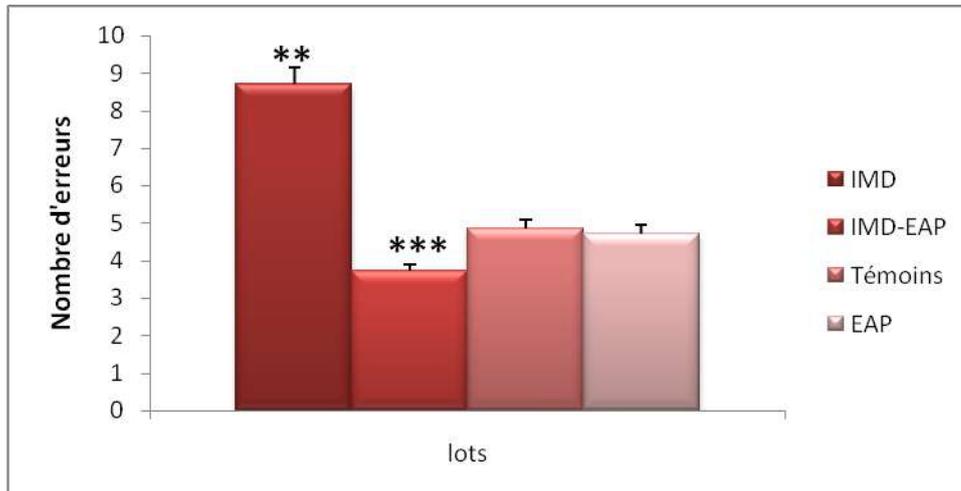


Figure 30.4: Le nombre d'erreurs lors de l'épreuve (sixième jours) chez les rats témoins, témoins traités (EAP), intoxiqués (IMD) et intoxiqués traités. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (** : $p < 0.01$; *** : $p < 0.001$).

Les résultats que nous avons enregistrés durant les trois essais qui suivent l'épreuve montrent une augmentation significative ($p < 0.001$) du nombre d'erreurs chez le groupe d'animaux exposé à l'imidaclopride comparativement aux animaux du groupe témoin et le groupe intoxiqué traité.

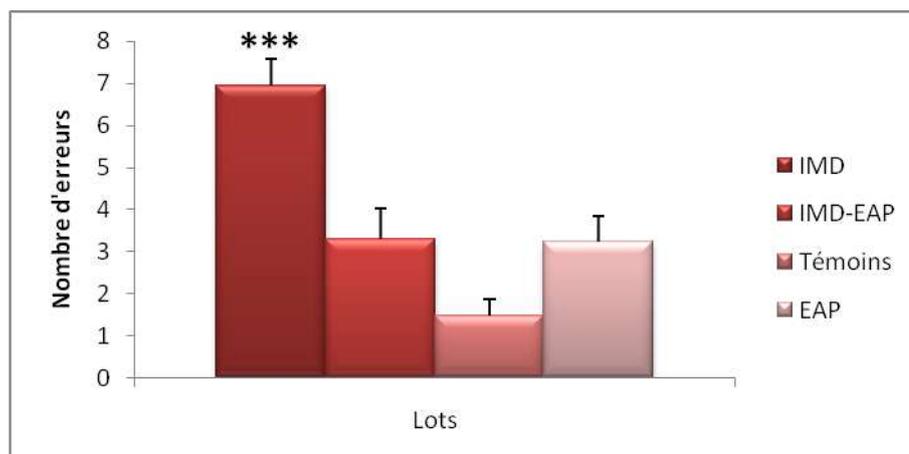


Figure 30.5: Le nombre d'erreurs enregistrés au cours du sixième jour (les trois essais qui suivent l'épreuve) chez les rats témoins, témoins traités (EAP), intoxiqués (IMD) et intoxiqués traités. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (***) : $p < 0.001$).

Les données relatives au temps d'exploration avant de trouver le trou cible montrent une élévation significative ($p < 0.001$) chez les rats exposés à l'imidaclopride par rapport aux rats témoins et aux rats intoxiqués traités.

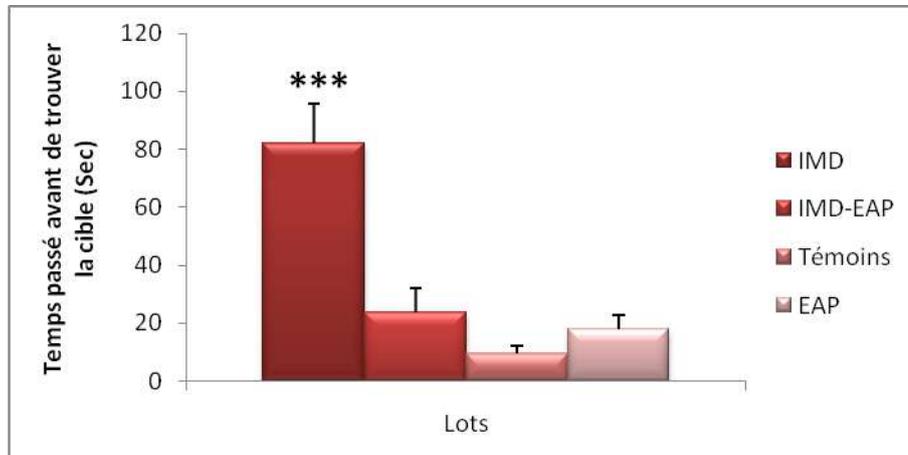


Figure 30.6: Le temps d'exploration pour atteindre le trou cible au cours du sixième jour (les trois essais qui suivent l'épreuve) chez les sujets témoins, témoins traités (EAP), intoxiqués d'IMD et intoxiqués traités. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (***) : $p < 0.001$).

5.3.2. La piscine de Morris :

- **La phase d'apprentissage :**

Durant le 1er et le 4ème jour d'apprentissage aucun changement significatif n'a été enregistré entre les différents groupes ($p > 0,05$). D'autre part, le temps de latence a été significativement ($p < 0.05$) accru au cours du 2ème et 3ème jour chez les rats exposés au formaldéhyde comparativement aux rats non traités. Par ailleurs, une élévation significative a été enregistrée en termes de temps de latence au cours du 2ème jour d'acquisition chez le lot exposés au Formyl par rapport au lot témoins et le lot intoxiqué traité ($p < 0.05$; $p < 0.01$) respectivement. Tandis que durant le 1er, 3ème et le 4ème jour aucune différence significative n'a été révélée ($p > 0,05$).

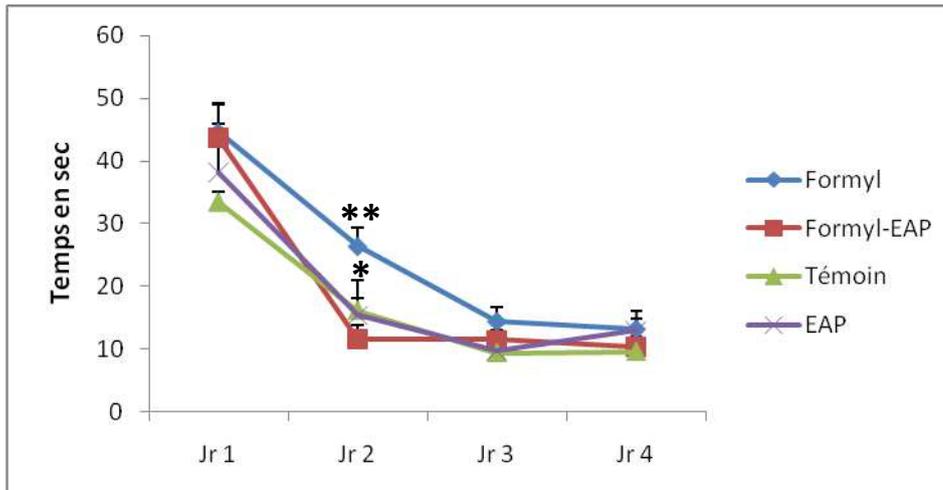


Figure 31.1 : Temps de latence durant la phase d'apprentissage de la piscine de Morris chez les rats exposé au formyl (pesticide), les rats témoins, intoxiqués traités (Formyl-EAP) et les témoins traités (EAP). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM: Jr2 ; **P < 0.01 (Formyl vs. Formyl-EAP) ; *P < 0.05 (témoin vs. Formyl).

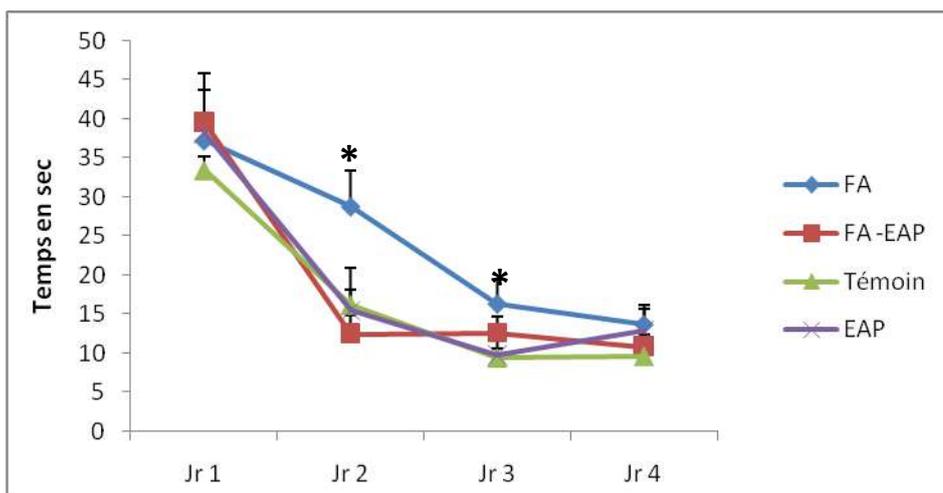


Figure 31.2: Temps de latence durant la phase d'apprentissage de la piscine de Morris chez les rats exposé au Formaldéhyde (FA) (matière active), les rats témoins, intoxiqués traités (FA-EAP) et les témoins traités (EAP). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM: Jr2 et Jr3 ; *P < 0.05 (Témoin vs. FRD).

- **Le probe test :**

Pendant le probe test, les résultats enregistrés montrent que les rats intoxiqués traités (Formyl-EAP et FA-EAP) passe plus de temps dans le quadrant nord ouest (NO) par rapport aux rat traités par l'extrait d'anis (P < 0.001 ; p = 0.032) respectivement. De même, les rats intoxiqués (Formyl et FA) passent moins de temps dans le quadrant (NO) comparativement aux rats témoins.

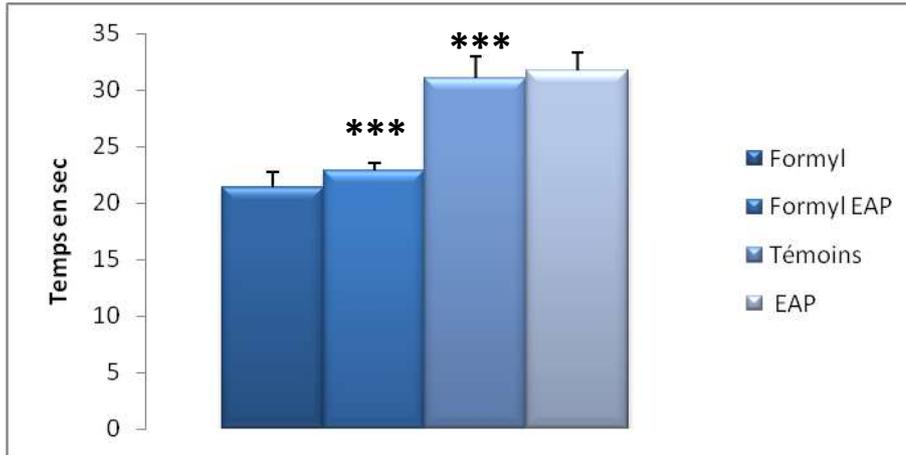


Figure 31.3: Temps passé dans le cadran (NO) durant le probe test par rats exposé au formyl (pesticide), les rats témoins, intoxiqués traités (Formyl-EAP) et les témoins traités (EAP). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM : (***) : $p < 0.001$.

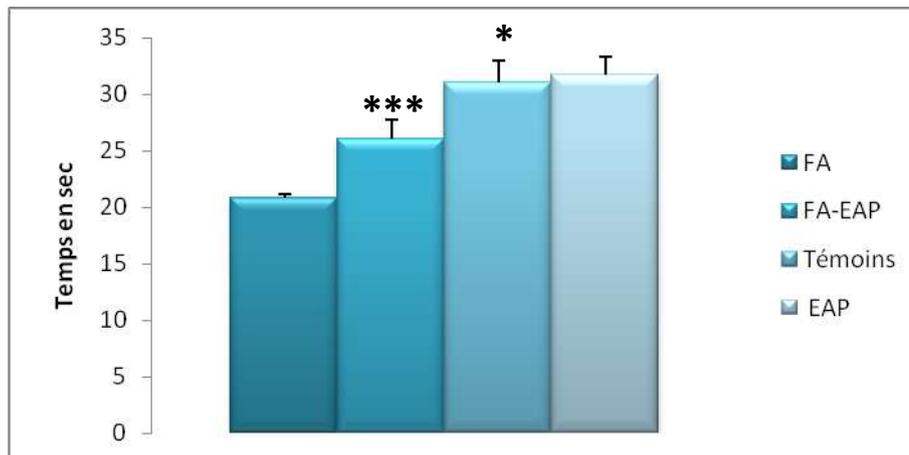


Figure 31.4: Temps passé dans le cadran (NO) durant le probe test par les rats exposé au Formaldéhyde (FA) (matière active), les rats témoins, intoxiqués traités (FA-EAP) et les témoins traités (EAP). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM : (***) : $p < 0.001$; * : $p < 0.05$.

- **Test de la plateforme visible**

Pendant l'essai de la plateforme visible, les différents lots expérimentaux ne présentent aucune différence significative en termes de temps de latence ($p > 0.05$).

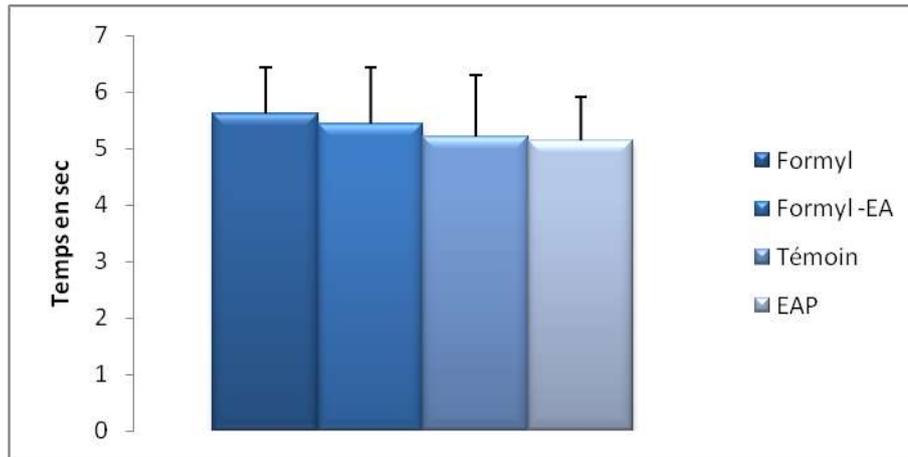


Figure 31.5 : Temps de latence durant le test visible chez les rats exposé au formyl (pesticide), les rats témoins, intoxiqués traités (Formyl-EAP) et les témoins traités (EAP). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. Aucune différence significative n'est observée entre les différents groupes $p > 0.05$.

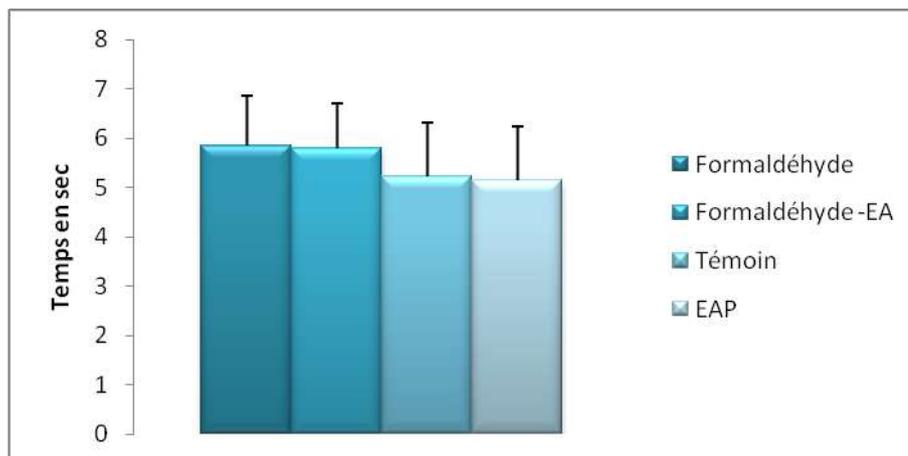


Figure 31.6 : Temps de latence durant le test visible chez les rats exposé au Formaldéhyde (FA) (matière active), les rats témoins, intoxiqués traités (FA-EAP) et les témoins traités (EAP). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. Aucune différence significative n'est observée entre les différents groupes $p > 0.05$.

6. Le dosage de la glycémie

Afin de justifier le comportement anxieux des rats nous avons procédé à déterminer le taux de glucose qui est un bon indicateur de stress. Les résultats montrent une augmentation significative du taux de glucose sanguin chez les rats exposés à l'IMD par rapport aux rats témoins ($p < 0,01$) et les rats intoxiqués traités ($p < 0,05$). En plus, l'analyse statistique révèle une élévation significative ($p < 0,05$) de la glycémie chez les rats intoxiqués traités comparativement aux rats témoins traités (Fig.33.1).

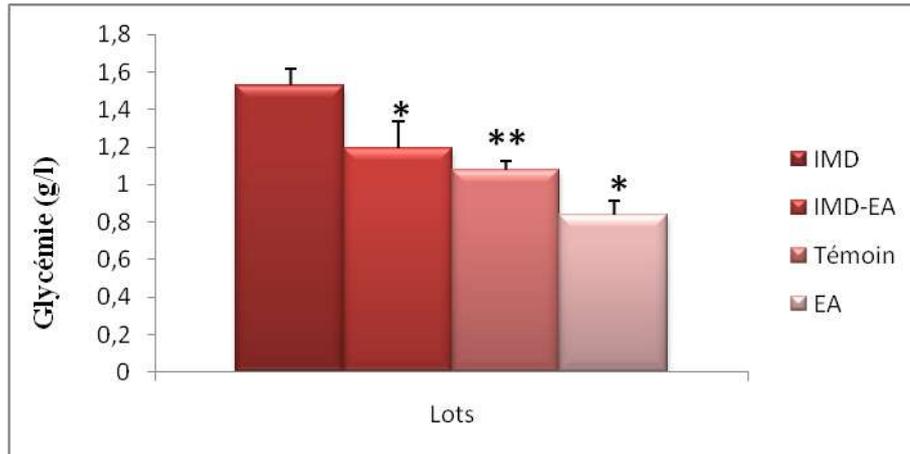


Figure 32.1: Comparaison de la glycémie entre les rats exposés à IMD, témoins, témoins traités, et intoxiqués traités. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM : (* : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$).

Les résultats du taux sérique de glucose montrent une élévation significative chez les lots intoxiqués (Formyl et FA) comparativement aux lots témoins ($P < 0.001$), Formyl-EAP ($p < 0.01$) et FA-EAP ($p < 0.001$). De plus, le lot intoxiqués traités (Formyl-EAP) présente un taux de glucose significativement plus important ($p < 0.01$) que le lot témoin traité (EAP).

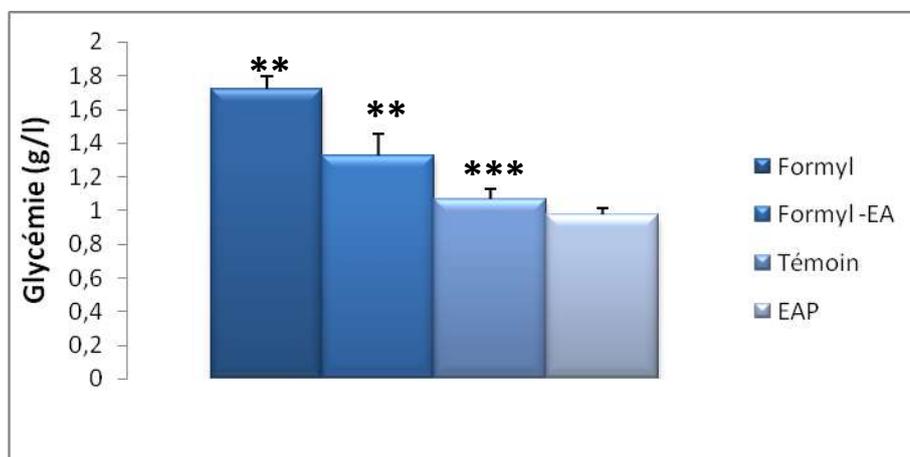


Figure 32.2 : Comparaison de la glycémie entre les rats exposés au Formyl, témoins, témoins traités, et intoxiqués traités. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM : (** : $p < 0.01$; *** : $p < 0.001$).

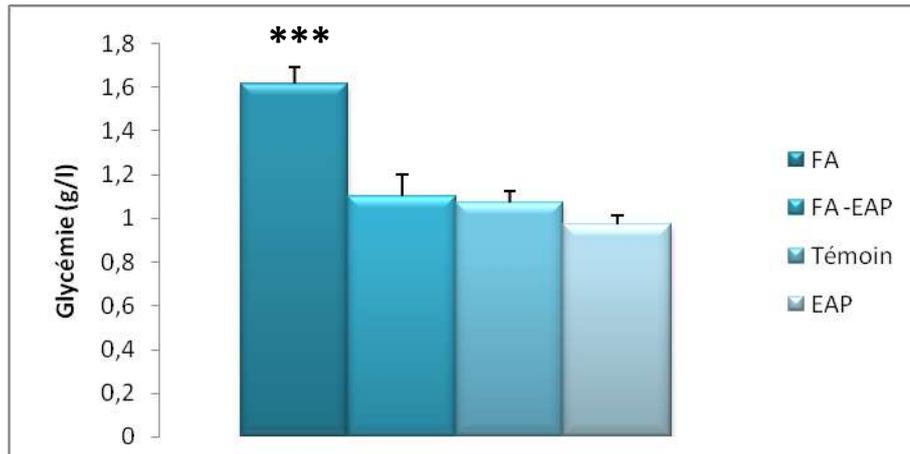


Figure 32.3 : Comparaison de la glycémie entre les rats exposés au Formaldéhyde, témoins, témoins traités, et intoxiqués traités. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM : (***) : $p < 0.01$.

7. Estimation du poids des organes des deux pesticides :

7.1. Évaluation du poids cérébral

Les résultats obtenus ne présentent aucune différence significative ($p > 0.05$) du poids cérébral chez les différents groupes expérimentaux en comparaison avec les groupes témoins et témoins traités.

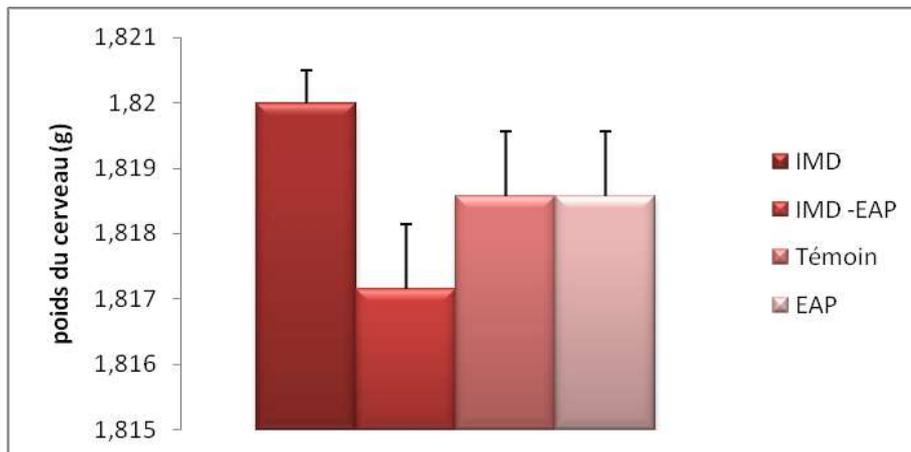


Figure 33.1 : Evaluation du poids cérébral chez les lots expérimentaux. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. Aucune différence significative n'est observée entre les différents groupes $p > 0.05$.

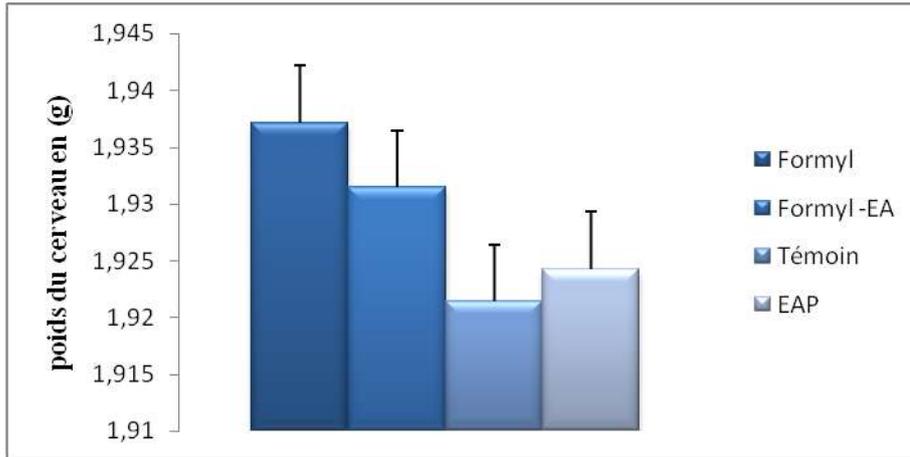


Figure 33.2: Evaluation du poids cérébral chez les rats témoins, témoins traités (EAP), intoxiqués par Formyl (pesticide) (125 mg/ Kg) et intoxiqués traités. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM ($p>0.05$).

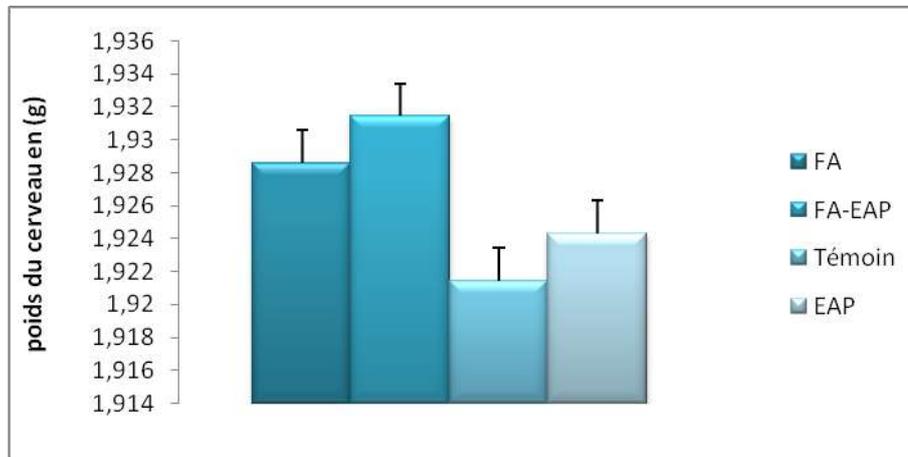


Figure 33.3: Evaluation du poids cérébral chez les rats témoins, témoins traités (EAP), intoxiqués par formaldéhyde et intoxiqués traités. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM ($p>0.05$).

7.2. Évaluation du poids du foie

Le poids du foie des animaux intoxiqué (IMD) et intoxiqués traités (IMD-EAP) est significativement important par rapport à celui des animaux témoins et témoins traités ($p<0,001$).

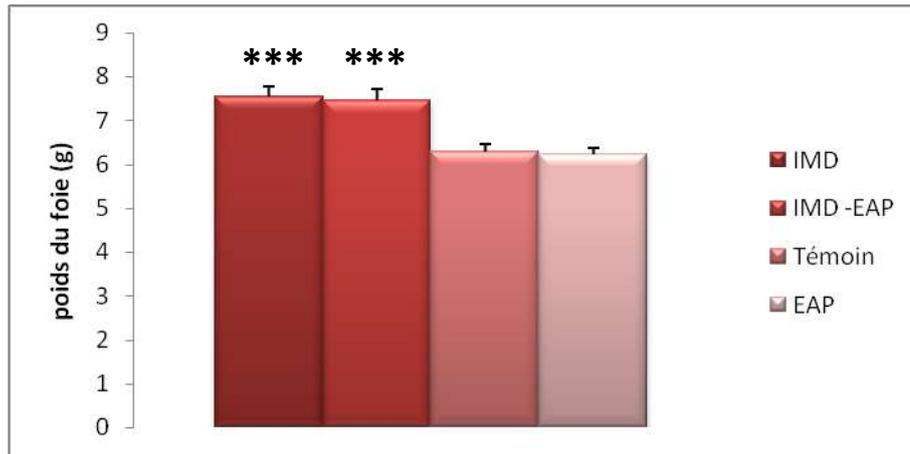


Figure 33.4 : Evaluation du poids du foie chez les lots expérimentaux. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (***) : $p < 0,001$).

Les résultats trouvés révèlent également une augmentation significative du poids du foie chez les rats exposés au pesticide (formyl) et même à sa matière active (formaldéhyde) par rapport aux rats témoins ($p < 0,05$), ($p < 0,001$) respectivement. De même, le poids hépatique une élévation significative ($p < 0,001$) chez les animaux intoxiqué par formaldéhyde puis traités par l'extrait par rapport aux animaux traités (EAP).

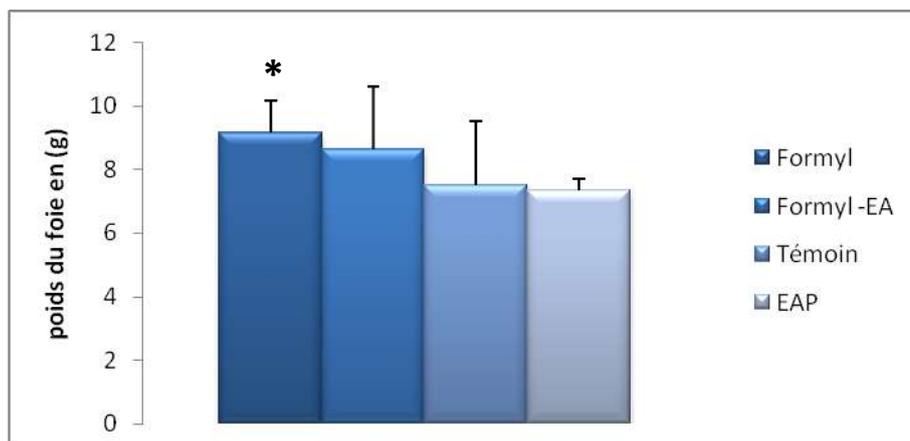


Figure 33.5 : Evaluation du poids du foie chez les animaux témoins, témoins traités (EAP), intoxiqués par Formyl et intoxiqués traités. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (* : $p < 0,05$).

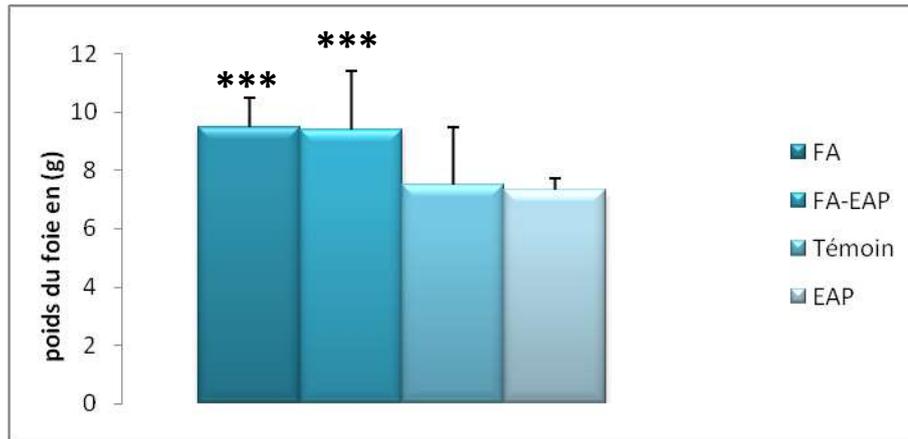


Figure 33.6: Evaluation du poids du foie chez les animaux témoins, témoins traités (EAP), intoxiqués par formaldéhyde et intoxiqués traités. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (***) : $p < 0.001$.

7.3. Évaluation du poids rénal

L'analyse statistique de ces résultats montre une élévation significative du poids rénal chez le lot intoxiqué à l'IMD et intoxiqué traité par rapport à lot témoin et témoin traité ($p < 0,001$), ($p < 0,05$) respectivement

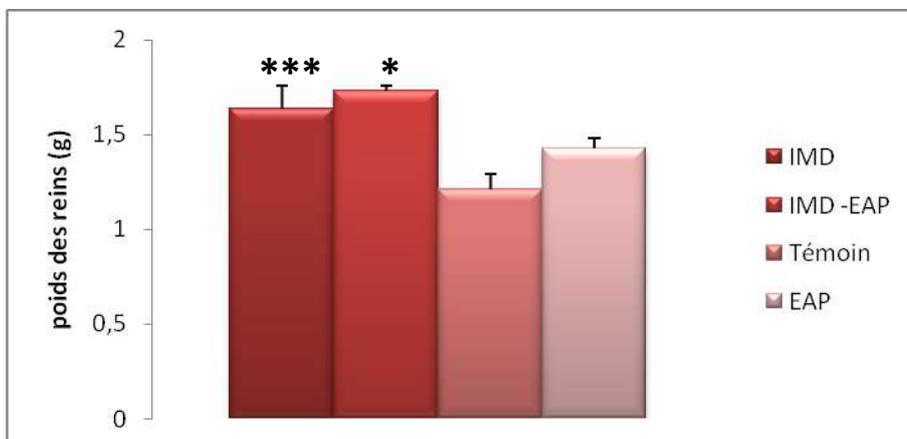


Figure 33.7: Evaluation du poids rénal chez les lots expérimentaux. Les valeurs sont exprimées au moyenne \pm SEM (* : $p < 0,05$), (***) : $p < 0,001$).

De plus, les données relatives au poids de cet organe montrent une élévation significative chez les lots intoxiqués au Formyl ($p < 0,001$) et au formaldéhyde ($p < 0,01$) comparativement au lot témoins. Le poids des reins est significativement plus important chez les rats intoxiqués traités (Formyl-EAP, FA-EAP) par rapport aux rats témoins traités ($p < 0,05$), ($p < 0,01$) respectivement.

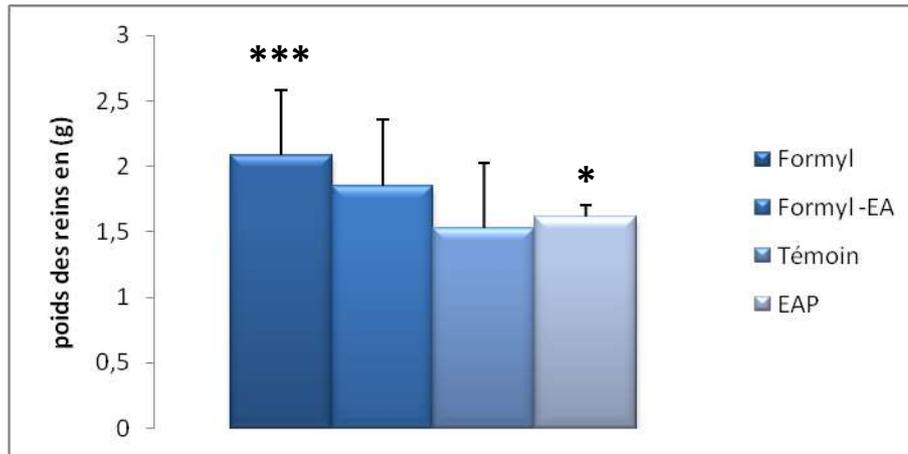


Figure 33.8 : Evaluation du poids rénal chez les lots intoxiqués par Formyl, intoxiqués traités, témoins et témoins traités (EAP). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (***: $p < 0.001$; * : $p < 0.05$).

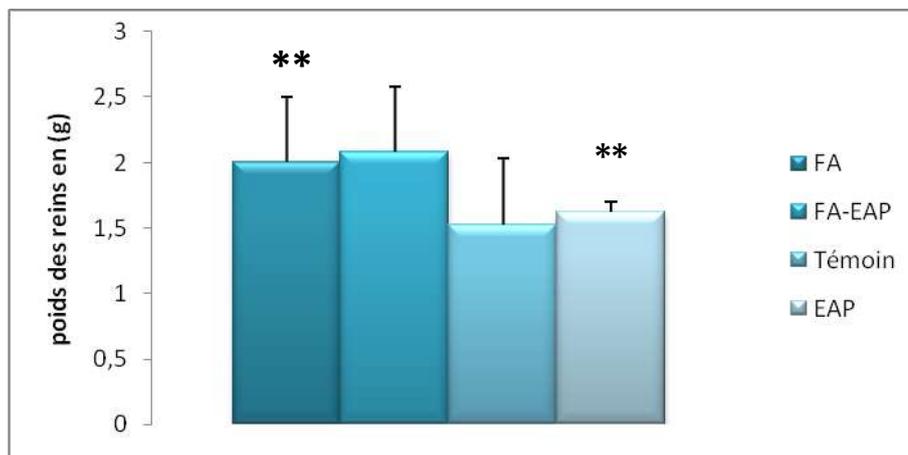


Figure 33.9 : Evaluation du poids rénal chez les lots intoxiqués par formaldéhyde, intoxiqués traités, témoins, témoins traités (EAP). Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM. (** : $p < 0.01$).

8. Fonction rénale :

8.1. Dosage de l'urée et créatinine :

L'analyse biochimique du plasma a la fin de l'expérimentation montre une élévation significative de l'urée et la créatinine chez les rats exposés à l'IMD en comparaison avec les rats témoins ($P < 0.05$), ($P < 0.01$) respectivement. Par ailleurs, le dosage de la créatinine chez les rats exposés à l'IMD et traiter par l'extrait de l'anis est significativement supérieur à celui des rats témoins traités ($P < 0.001$).

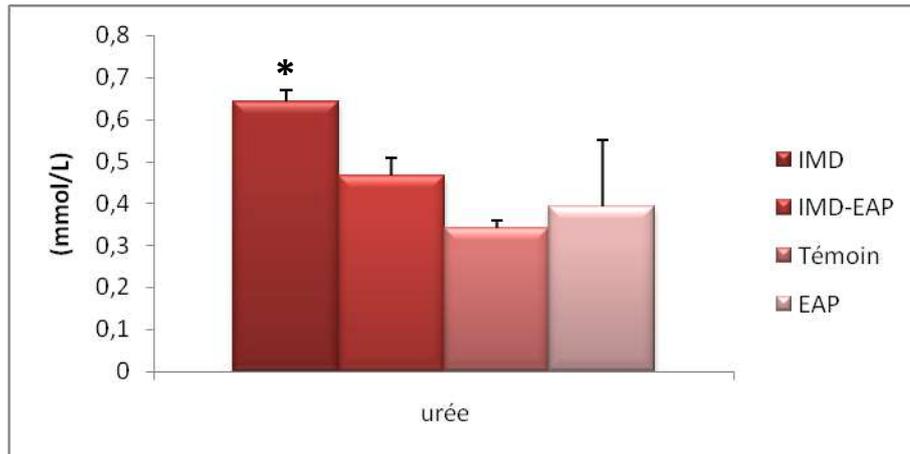


Figure 34.1: Effet de l'IMD sur le taux de l'urée chez les quatre groupes expérimentaux. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM :(* : $p < 0.05$).

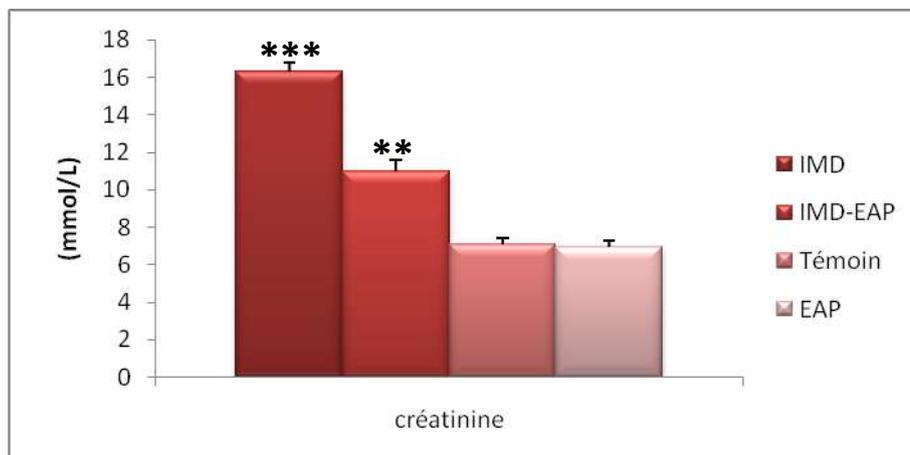


Figure 34.2: Effet de l'IMD sur le taux de la créatinine chez les quatre groupes expérimentaux. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM : (** : $p < 0.01$; *** : $p < 0.001$).

L'exposition au Formyl et Formaldéhyde provoque une augmentation significative du taux de l'urée sanguin chez les groupes intoxiqués par rapport aux groupe témoin ($P < 0.01$; $P < 0.05$) et le groupe intoxiqué traité ($P < 0.01$) respectivement.

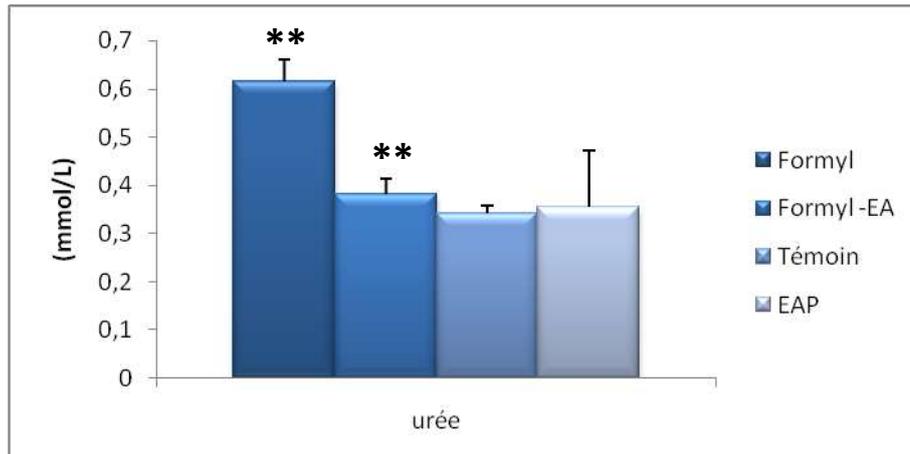


Figure 34.3: Effet du Formyl sur le taux de l'urée chez les quatre groupes expérimentaux. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM : (** : $p < 0.01$).

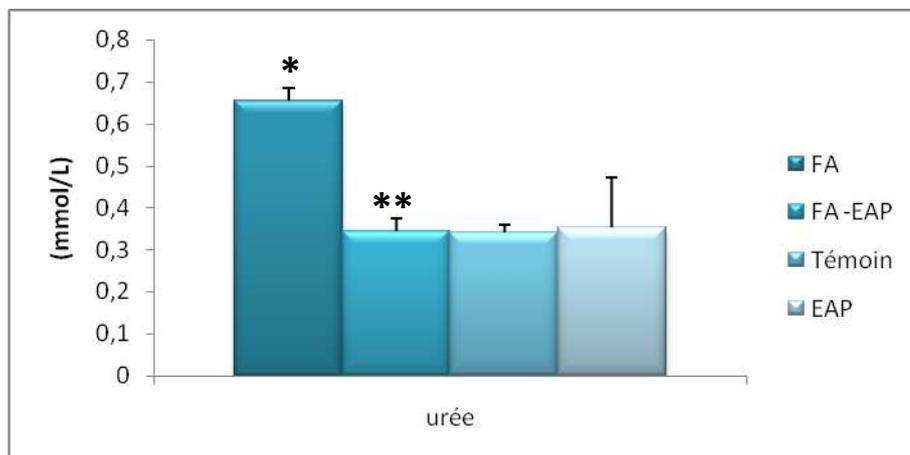


Figure 34.4: Effet du Formaldéhyde sur le taux de l'urée chez les quatre groupes expérimentaux. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM : (* : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$).

Le taux de la créatinine des animaux intoxiqués (Formyl et FA) est significativement supérieur ($P < 0.001$) à celui des animaux témoins et les animaux intoxiqués traités. De plus, le taux de la créatinine chez les rats intoxiqués traités (Formyl-EAP, FA-EAP) est significativement élevé comparativement aux rats témoins traités ($P < 0.001$).

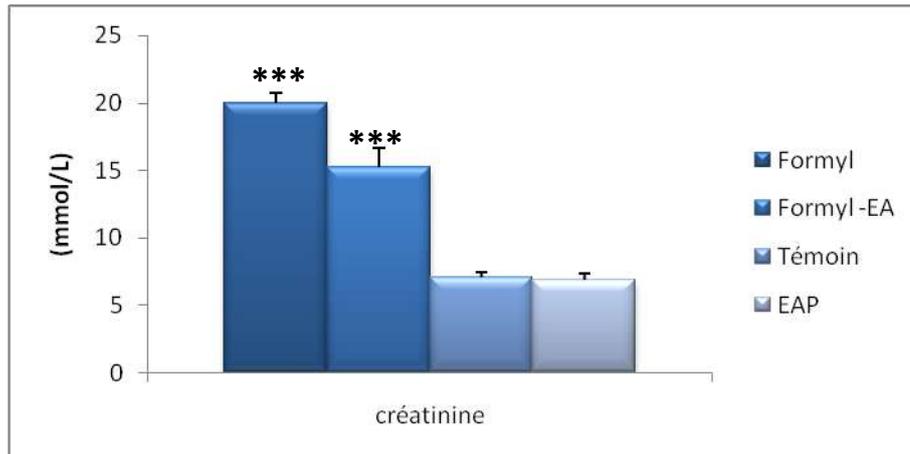


Figure 34.5 : Effet du Formyl sur le taux de la créatinine chez les quatre groupes expérimentaux. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM : (***) : $p < 0.001$).

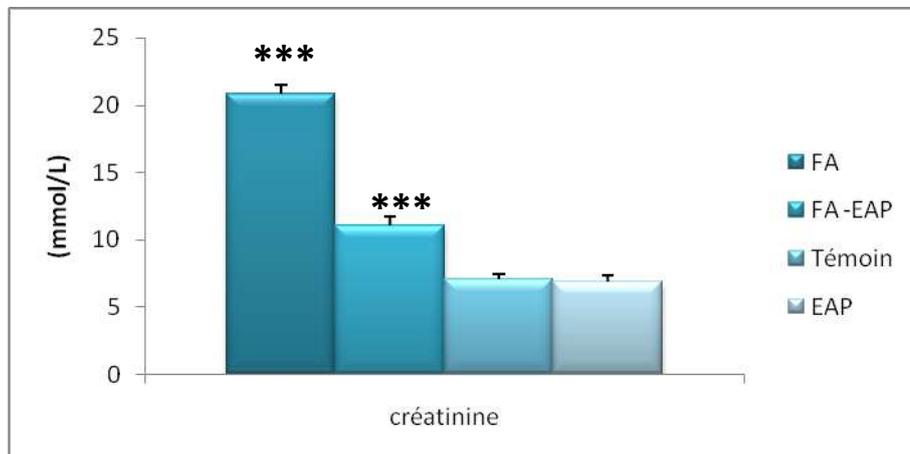


Figure 34.6 : Effet du Formaldéhyde sur le taux de la créatinine chez les quatre groupes expérimentaux. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM : (***) : $p < 0.001$).

8.2. L'effet de l'imidaclopride et formaldéhyde sur l'architecture structurale des reins :

Les coupes histologiques au niveau du cortex rénal des rats intoxiqués par l'imidaclopride montrent une altération tissulaire avec dilatation tubulaire, une légère dégénérescence et la présence des foyers d'hémorragie due à l'éclatement des veines (fig.35.1. (A), (B)).

Le traitement des rats exposés à l'IMD avec l'extrait aqueux de *pimpinella anisium* (IMDT) ne présente aucune désorganisation tissulaire (fig. 35.2(C), (D)).

Cependant, l'étude histo-pathologique des tissus rénaux des animaux exposés au formyl a montré une légère dilatation tubulaire (fig.35.3. (E)), par contre chez les animaux exposés à sa matière active (FA) présente une hypertrophie des cellules

tubulaires de sorte que les tubes rénaux apparaissent dépourvus de lumière tubulaire (fig. 35.4. (F)).

Dans le même contexte, le groupe de rats intoxiqués par formyl ou par le formaldéhyde et traités par l'EAP montrent une organisation tubulaire normale avec l'apparition de quelques cellules inflammatoires (déclenchement de système de défense) (fig. 35.5. (G), (H)).

Les coupes histologiques des rats témoins (fig. 35.6. (I), (J)) et témoins traités (fig. 35.7 (K)) montrent une structure normale des tubes rénaux et glomérules.

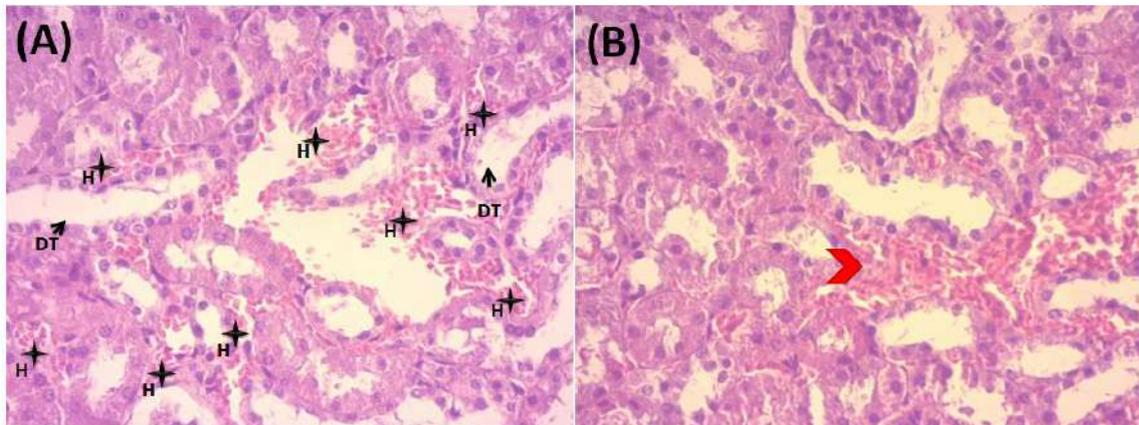


Figure 35.1: Section tissulaire issue du cortex rénal des rats intoxiqués (IMD). **A** : une dilatation tubulaire (DT) (flèches noirs), des foyers d'hémorragie (H) (étoile à 4 branches). **B** : une congestion (chevron rouge) et une légère dégénérescence; Coloration éosine hématoxyline/Grossissement (X40).

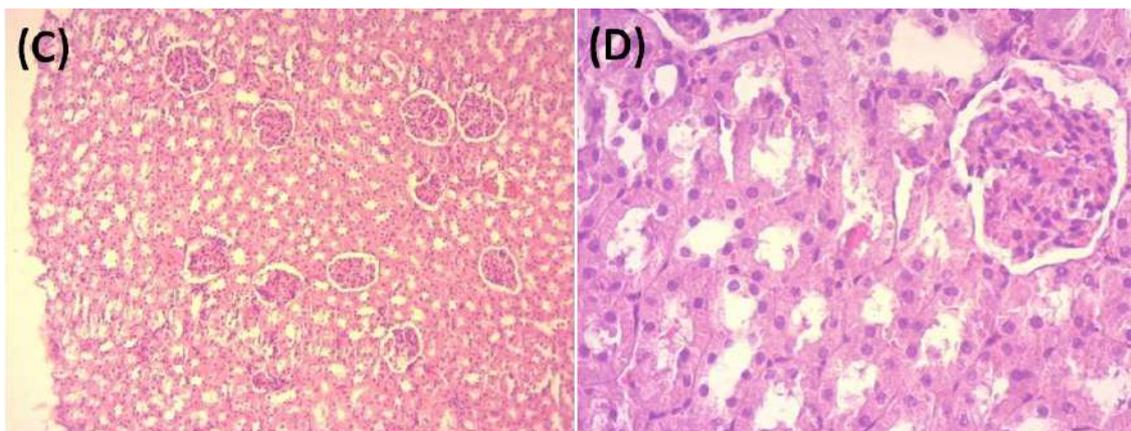


Figure 35.2 : Section tissulaire issue du cortex rénal des rats intoxiqué traité (IMDT); Coloration éosine hématoxyline/Grossissement (C) : (X 10), (D) : (X40).

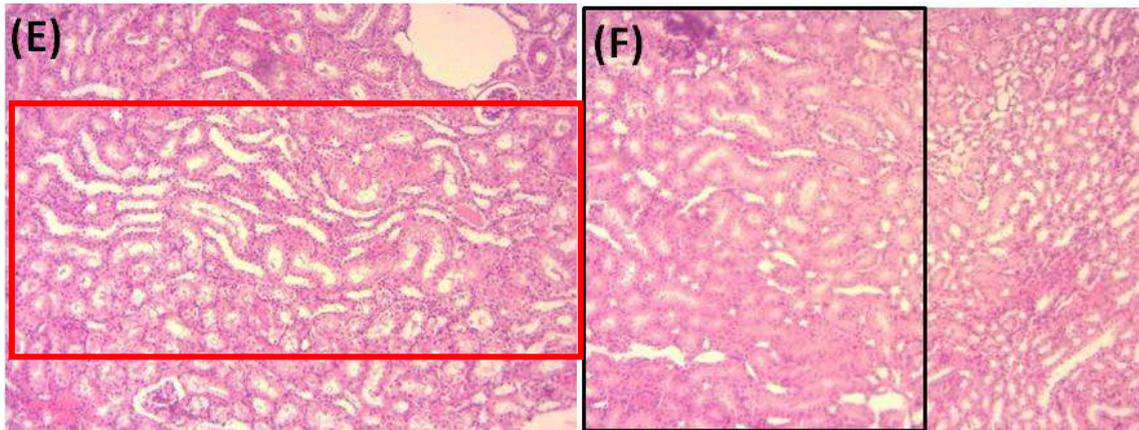


Figure 35.3 : Capture histologique d'une section du cortex rénal issu des animaux intoxiqués au formyl **(E)** et au formaldéhyde **(F)**. **(E)** : montre une légère dilatation tubulaire (rectangle rouge). **(F)** : montre une hypertrophie des cellules de tubes rénaux (rectangle noir) ; Coloration éosine hématoxyline/Grossissement (X10).

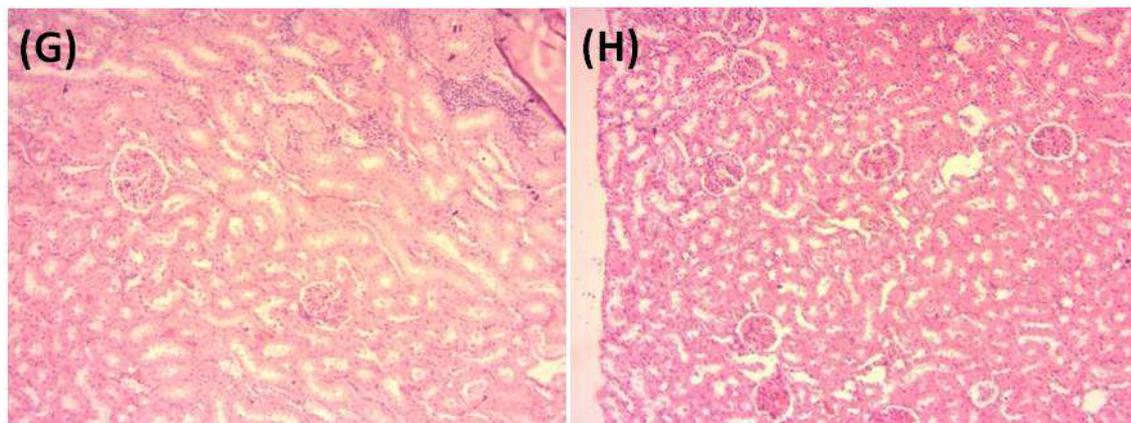


Figure 35.4 : Capture histologique d'une section du cortex rénal issu des animaux intoxiqués traités (formyl-EAP) **(G)** et (FA-EAP) **(H)**. Les deux coupes histologique **(G)** et **(H)** montrent une structure normale du parenchyme rénal avec une infiltration des cellules inflammatoires; Coloration éosine hématoxyline/Grossissement (X10).

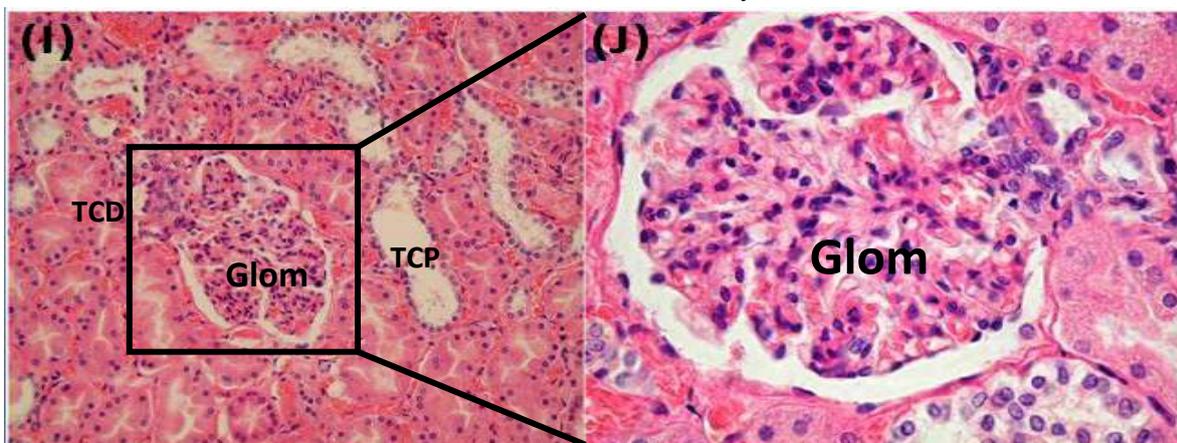


Figure 35.5: Capture histologique d'une section du cortex rénal issu des rats témoins; **(I)** : une architecture normale du parenchyme rénal ; **(TCD)** : tubule contourné distal, **(TDP)** : tubule contourné proximal, **(Glom)** : glomérule (Gr X20). **(J)** : Est un zoom de

la coupe histologique (I), elle montre une structure glomérulaire normale (Gr X100);
Coloration éosine hématoxyline.

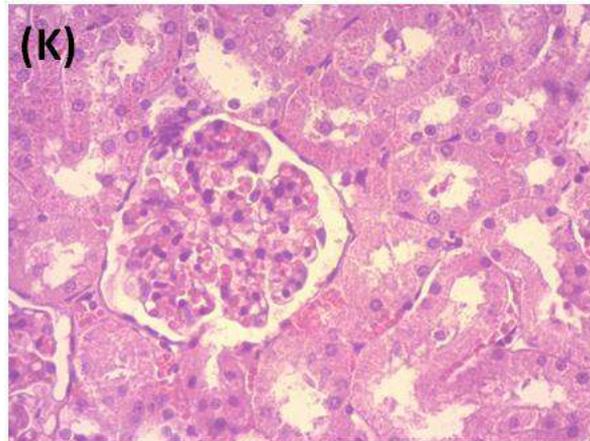


Figure 35.6 : Coupe histologique du rein chez le lot témoin traité, présente une organisation normale des cellules rénales (Gr X40) ; Coloration éosine hématoxyline/Grossissement (X40).

9. Exploration de la fonction hépatique

9.1. Dosage des enzymes hépatiques (ASAT, ALAT, PAL) :

L'exposition à l'IMD pendant 28 jours a provoqué une augmentation significative de l'alanine aminotransférase (ALAT), l'aspartate aminotransférase (ASAT) et la phosphatase alcaline (PAL) chez les animaux intoxiqué comparativement aux animaux témoins et les animaux intoxiqués traités ($P < 0.001$). Cependant, le lot intoxiqué traité présente un taux d'ASAT significativement plus important que celui du lot témoin traité ($P < 0.01$).

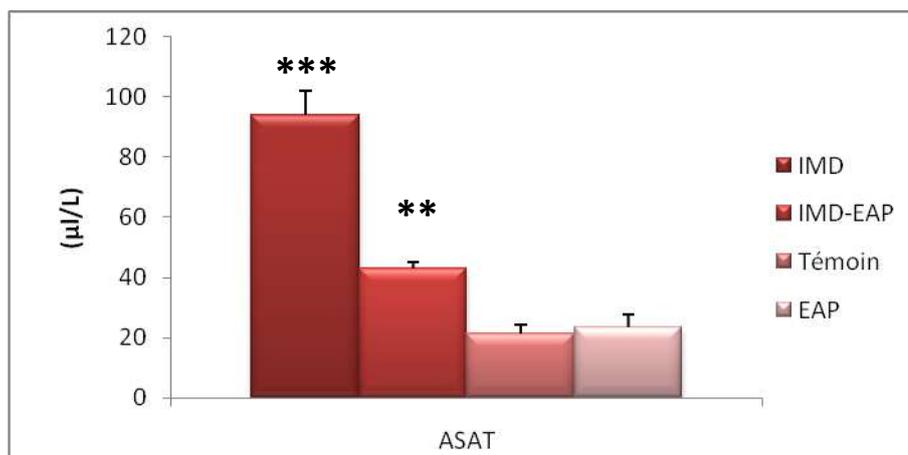


Figure 36.1 : Effet de l'IMD sur le taux de l'aspartate aminotransférase (ASAT) chez les différents groupes expérimentaux. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM : (** : $p < 0.01$; *** : $p < 0.001$).



Figure 36.2: Effet de l'IMD sur le taux de l'alanine aminotransferase (ALAT) chez les différents groupes expérimentaux. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM : (***) : $p < 0.001$).

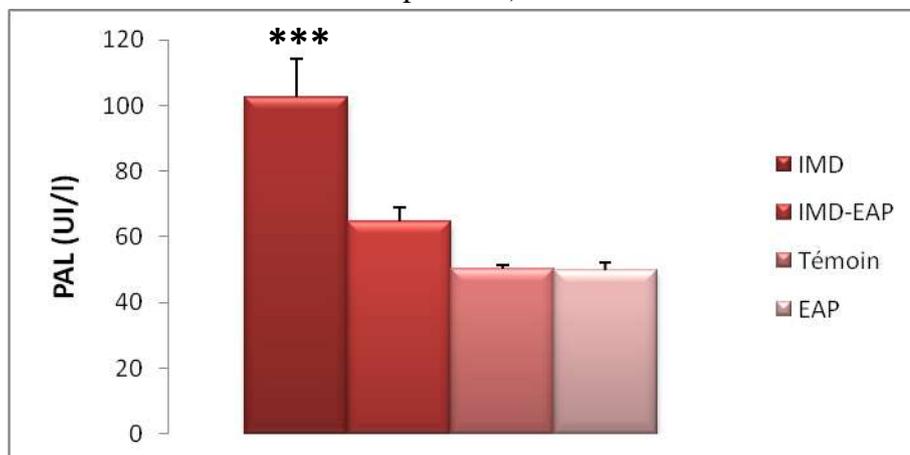


Figure 36.3 : Effet de l'IMD sur le taux de phosphatase alcaline (PAL) chez les différents groupes expérimentaux. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM : (***) : $p < 0.001$).

Le dosage des transaminases et phosphatase alcaline a enregistré une augmentation significative du taux de l'ASAT, ALAT, PAL chez les lots intoxiqués (Formyl et FA) par rapport aux lots témoin et intoxiqués traités ($P < 0.001$). L'administration de l'extrait aqueux de *pimpinella anisium* a amélioré d'une manière significative le taux sanguin de l'ASAT ($P < 0.001$), ALAT ($P < 0.05$) et PAL ($P < 0.01$) chez les rats exposés au pesticide « Formyl » par rapport aux rats témoins traités.

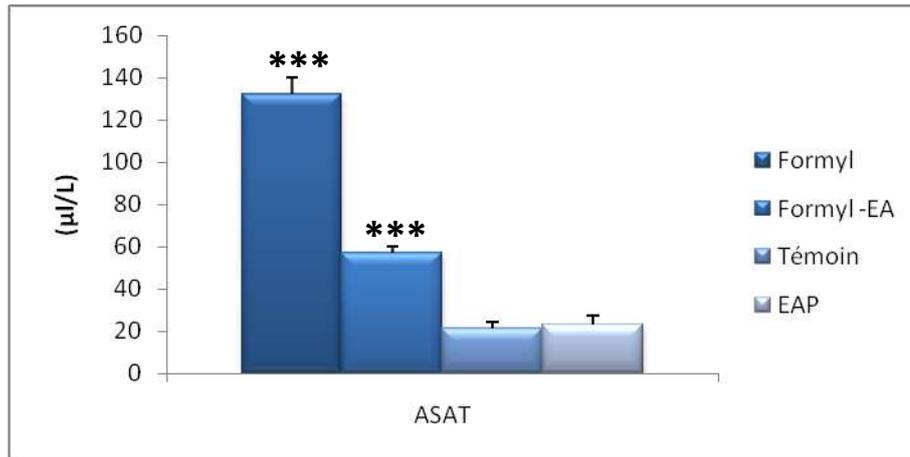


Figure 36.4: Effet du pesticide Formyl sur le taux de l'aspartate aminotransférase (ASAT) chez les différents groupes expérimentaux. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM : (***) : $p < 0.001$).

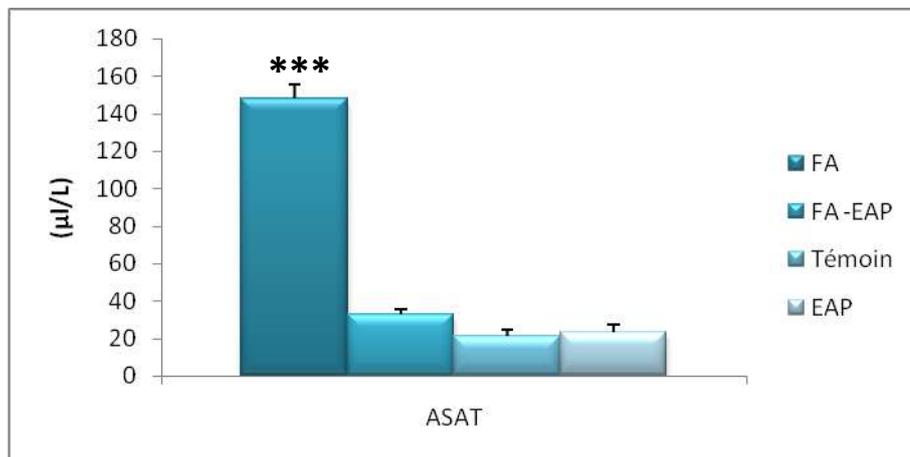


Figure 36.5 : Effet du pesticide Formaldéhyde sur le taux de l'aspartate aminotransférase (ASAT) chez les différents groupes expérimentaux. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM : (***) : $p < 0.001$).

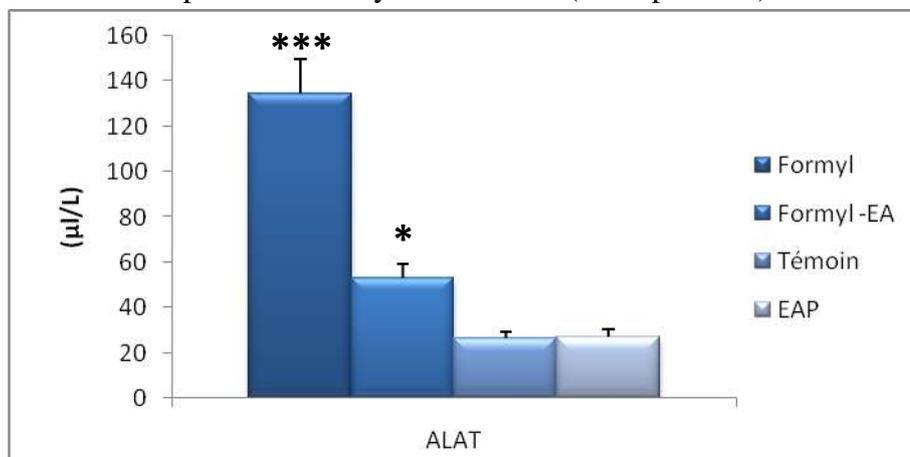


Figure 36.6 : Effet de Formyl sur le taux de l'alanine amino transférse (ALAT) chez les différents groupes expérimentaux. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM : (***) : $p < 0.001$; * : $p < 0.05$).

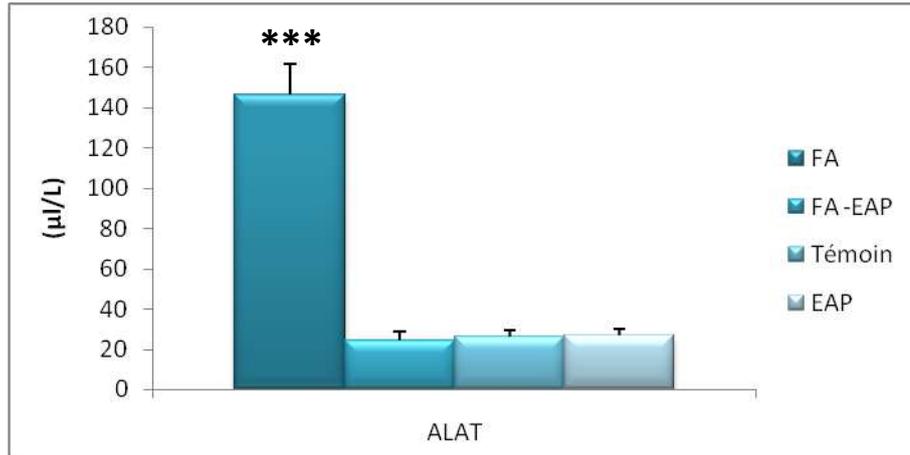


Figure 36.7 : Effet de Formaldéhyde sur le taux de (ALAT) chez les différents groupes expérimentaux. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM : (***) : $p < 0.001$).

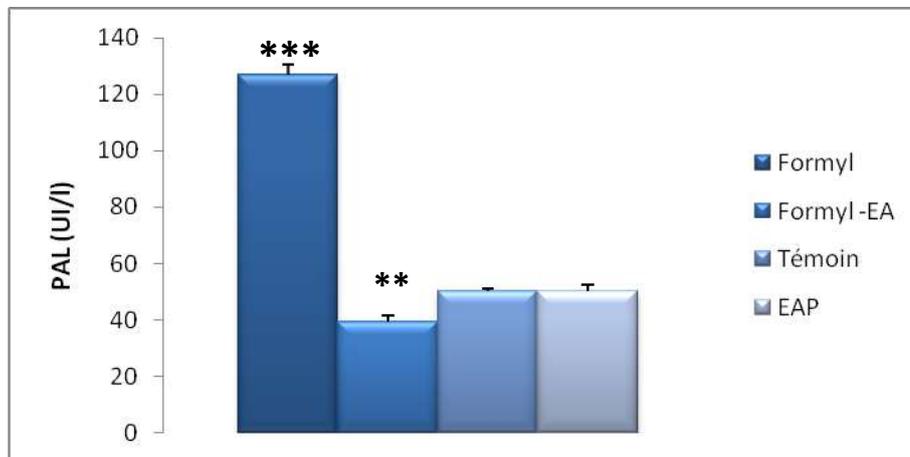


Figure 36.8: Effet de Formyl sur le taux (PAL) chez les différents groupes expérimentaux. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM : (***) : $p < 0.001$; ** : $p < 0.01$).

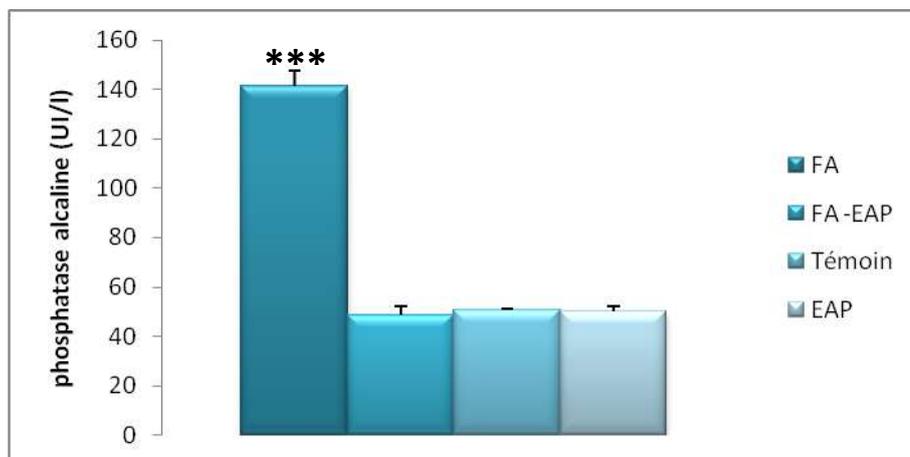


Figure 36.9: Effet de Formaldéhyde sur le taux de (PAL) chez les différents groupes expérimentaux. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM : (***) : $p < 0.001$).

9.2. L'effet de l'imidaclopride et formaldéhyde sur l'architecture structurale du foie :

L'étude histologique des tissus hépatiques des rats témoins et des rats traités par l'extrait d'anis montre une architecture et une histologie normale, contenant des hépatocytes de forme habituelle, ainsi que la présence de quelques cellules Kupffer dans les sinusoides éparpillés dans tous les tissus (fig .37.5(I),(J)).

Par ailleurs, l'observation microscopique des tissus hépatiques des rats intoxiqués par l'IMD avec une dose de 90 mg/kg (fig.37.1(A'), (B')) montre une dilatation et une congestion des capillaires sinusoides, une éosinophilie et clarification et/ou vacuolisation cytoplasmique de certain hépatocytes, en plus d'une pycnose et une nécrose hépatocytaire.

Dans le même contexte, le groupe d'animaux intoxiqués par l'IMD et traités par l'extrait d'anis présente un tissu hépatique avec une organisation cellulaire semblable à celle du tissu hépatique de groupe d'animaux témoins (fig.37.2 (C')).

En revanche, les coupes histologiques du foie des rats exposés au formyl et au formaldéhyde (125 mg/kg), montrent la présence des noyaux pycnotiques, une nécrose partielle, une éosinophilie, ainsi qu'une congestion des capillaires sinusoides (fig .37.3). L'observation microscopique montre aussi une clarification de certains hépatocytes chez les rats exposés au formyl (fig .37.3 (D')) et une hyperplasie des cellules de kupffer chez les rats exposés à sa substance active (formaldéhyde) (fig.37.3(E'),(F')).

Cependant, la structure histologique de sections issues du foie du groupe Formyl-EAP a montré un arrangement normal proche à celui des rats témoins et des rats témoins traités avec diminution du nombre de cellules pycnotiques et l'apparition des cellules de Kupffer (fig.37.4 (G')). Ces derniers sont des macrophages, leur augmentation est un signe d'une réaction inflammatoire. Ainsi chez le groupe FA-EAP, l'arrangement des cellules hépatiques a été normal sans aucun dommage tissulaire (fig.37.4 (H')).

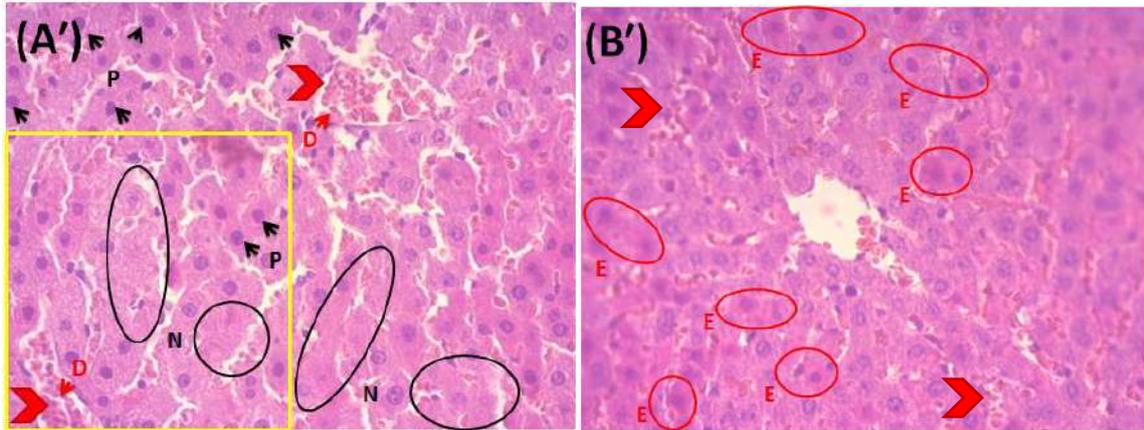


Figure 37.1 : Coupes histologiques du tissu hépatique des rats exposés à l'IMD. **A'** : une dilatation des capillaires sanguins (D) (flèches rouges), une clarification de certains hépatocytes (rectangle jaune), des noyaux pycnotiques (p) (flèches noires) et une nécrose hépatocytaire (N) (cercles noirs). **B'** : une éosinophilie cellulaire (cercles rouges).

Coloration éosine hématoxyline/Grossissement (X40).

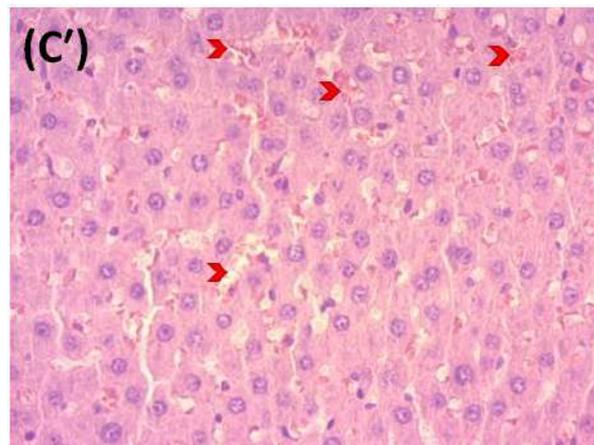
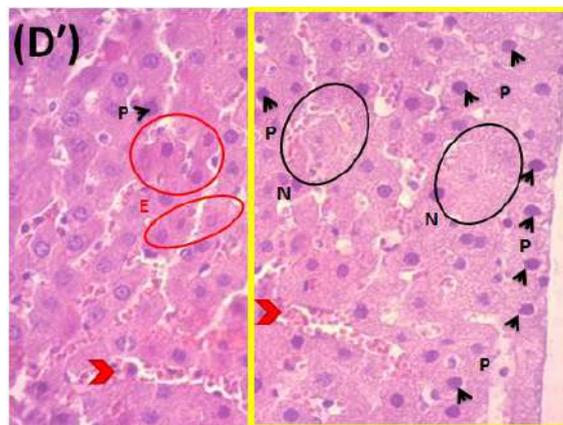


Figure 37.2 : Coupe histologique du tissu hépatique des animaux intoxiqués traités (IMD-EPA). **C'** : une légère congestion (chevron rouge) ; Coloration éosine hématoxyline/Grossissement (X40).



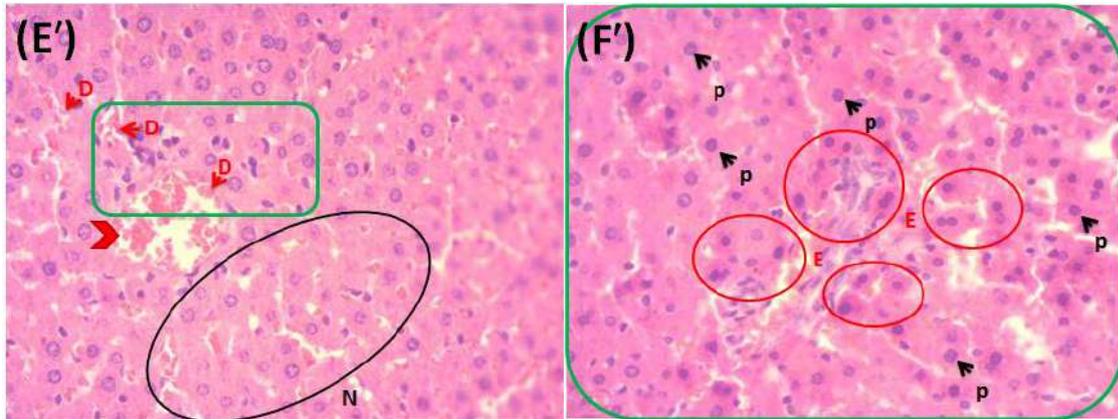


Figure 37.3 : Coupes histologiques du tissu hépatique des rats intoxiqués au formyl (**D'**) et au formaldéhyde (**E'**, **F'**). Les coupes (**D'**, **E'**, **F'**) montrent une pycnose (flèches noirs), nécrose partielle (cercles noir), congestion des capillaires sinusoides (chevron rouge), une éosinophilie (E) (cercle rouge). (**D'**) : Clarification (rectangle jaune). (**E'**, **F'**) : hyperplasie des cellules de kupffer (rectangle vert à coins arrondies) ; Coloration éosine hématoxyline/Grossissement (X40).

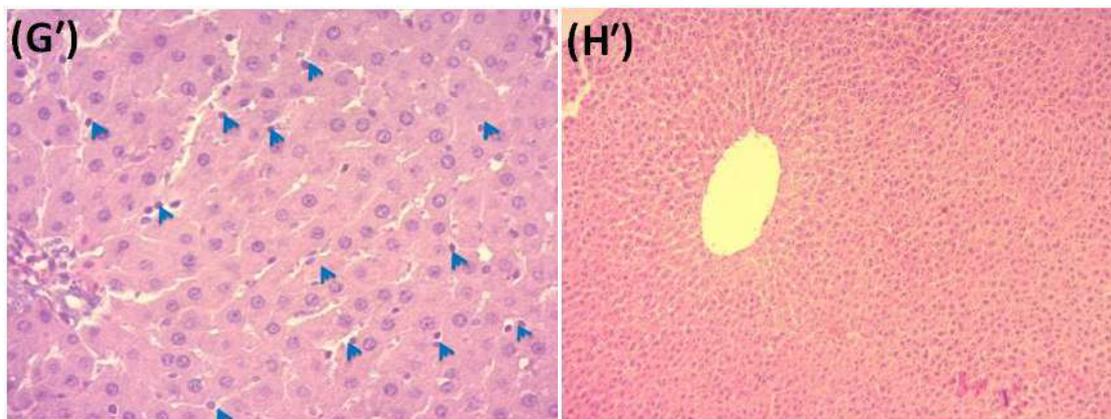


Figure 37.4: Capture histologique d'une section du tissu hépatique issu des animaux intoxiqués traités (formyl-EAP) (**G'**) (Gr X40) et (FA-EAP) (**H'**) (Gr X10). (**G'**) : structure histologique normale avec prolifération de cellules de kupffer. (**H'**) : une organisation cellulaire normale ; Coloration éosine hématoxyline.

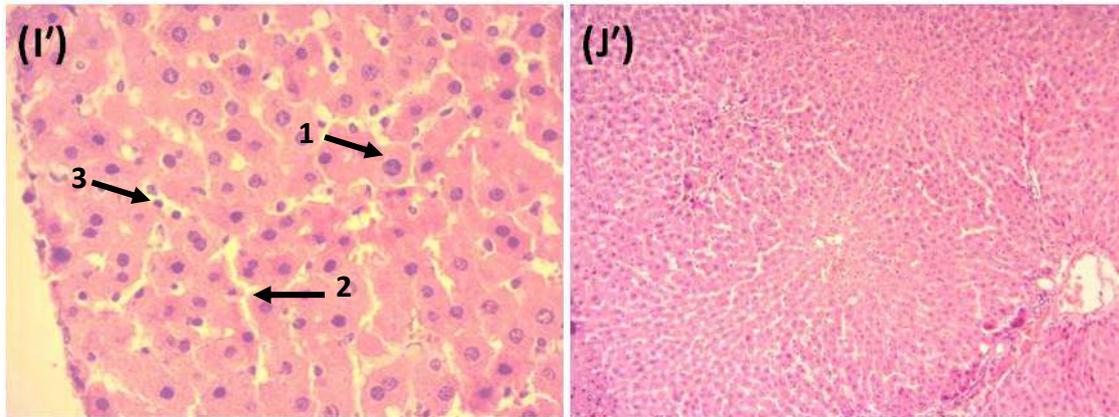


Figure 37.5: Capture histologique d'une section du tissu hépatique issu des animaux témoins (I') (Gr X40) et témoins traités (J') (Gr X10). (1): Hépatocytes, (2) : sinusoides, (3) : cellules de kupffer ; Coloration éosine hématoxyline.

10. Les paramètres hématologiques :

La détermination des paramètres hématologiques (FNS) a révélé une baisse significative du taux des érythrocytes ($P < 0.001$), hémoglobine ($P < 0.001$), et d'hématocrite ($P < 0.05$) chez les rats exposés à l'IMD comparés aux rats témoins. L'administration de l'extrait d'anis aux animaux intoxiqués a augmenté d'une manière significative le taux d'érythrocytes et d'hémoglobine par rapport aux animaux intoxiqués ($P < 0.001$; $P < 0.01$) respectivement. L'analyse statistique a révélé une baisse significative d'hémoglobine chez les rats intoxiqués traités comparativement aux rats témoins traités ($P < 0.001$).

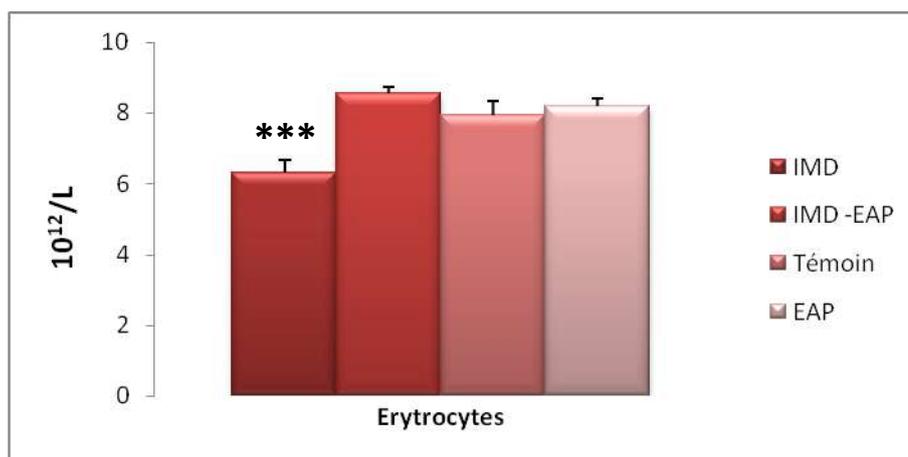


Figure 38.1: Effet de l'IMD sur le taux d'érythrocytes chez les différents groupes expérimentaux. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM : (***) : $p < 0.001$.

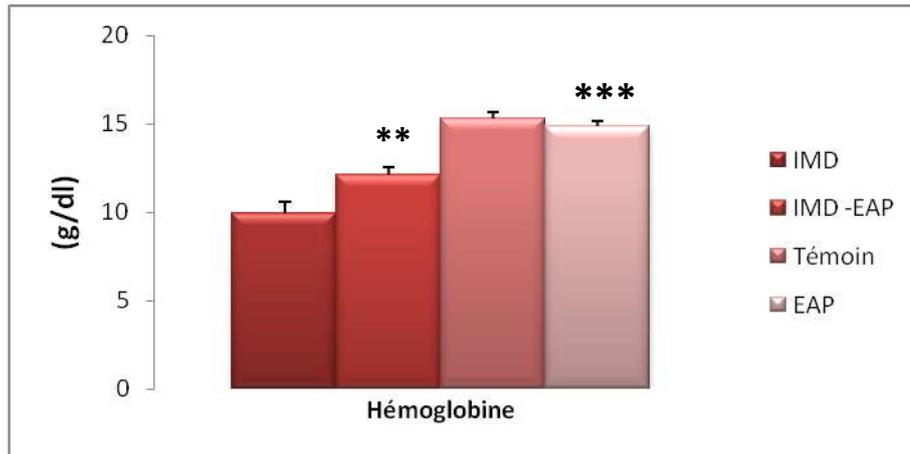


Figure 38.2 : Effet de l'IMD sur le taux d'hémoglobine chez les différents groupes expérimentaux. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM : (** : $p < 0.01$; *** : $p < 0.001$).

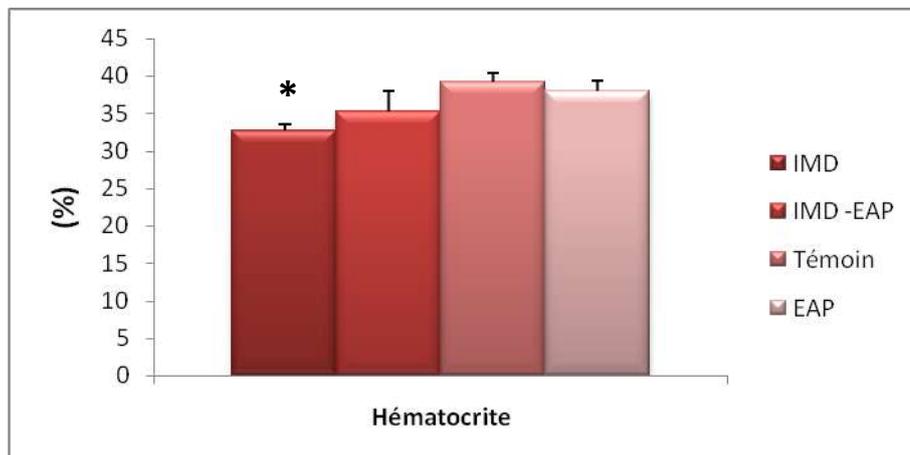


Figure 38.3: Effet de l'IMD sur le taux d'hématocrite chez les différents groupes expérimentaux. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM : (* : $p < 0.05$).

En revanche, le taux des leucocytes est significativement supérieur ($P < 0.01$) chez les rats intoxiqués par rapport aux rats témoins et intoxiqués traités. De même, le groupe des rats intoxiqués à un taux des thrombocytes significativement réduit par rapport au groupe des rats témoins ($P < 0.001$) et intoxiqués traités ($P < 0.05$).

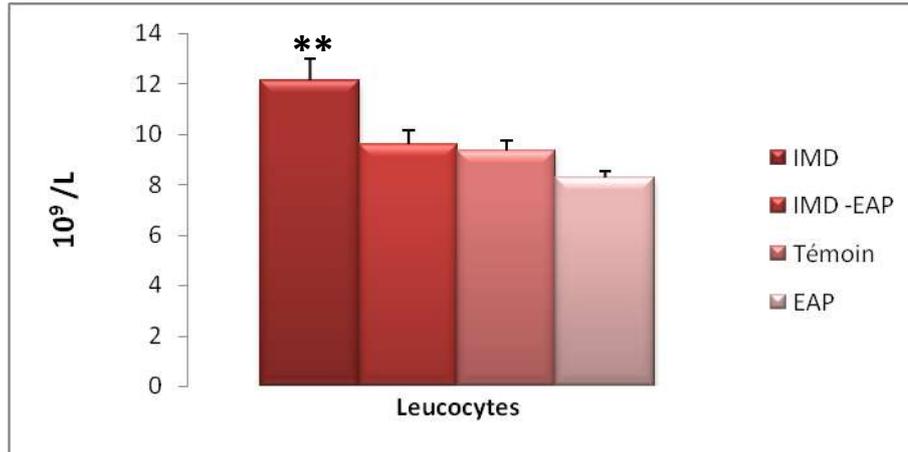


Figure 38.4 : Effet de l'IMD sur le taux des leucocytes chez les différents groupes expérimentaux. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM : (** : $p < 0.01$).

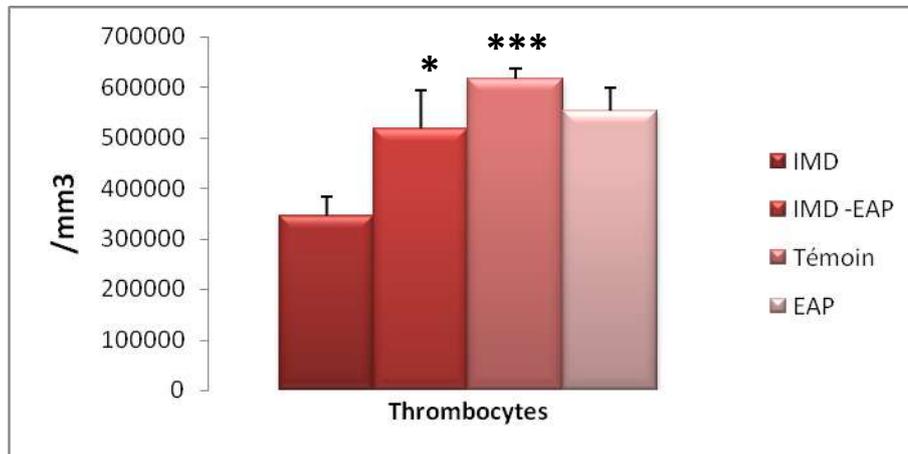


Figure 38.5: Effet de l'IMD sur le taux des thrombocytes chez les différents groupes expérimentaux. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM : (* : $p < 0.05$;*** : $p < 0.001$).

Les analyses hématologiques montrent que les rats exposés au pesticide « Formyl » et son principe actif ont un taux d'érythrocytes, d'hémoglobine et d'hématocrite significativement réduit à celui des rats témoins ($P < 0.001$, $P < 0.001$, $P < 0.01$) et les rats intoxiqués traités ($P < 0.001$; **$P > 0.05$**), ($P < 0.05$, $P < 0.001$), ($P < 0.01$, $P < 0.05$) respectivement. De même, le groupe témoin traité présente un taux d'érythrocytes ($P < 0.001$, $P < 0.05$), d'hémoglobine ($P < 0.01$, **$P > 0.05$**) significativement élevé à celui des groupes intoxiqués traités (Formyl-EAP, FA-EAP) respectivement.

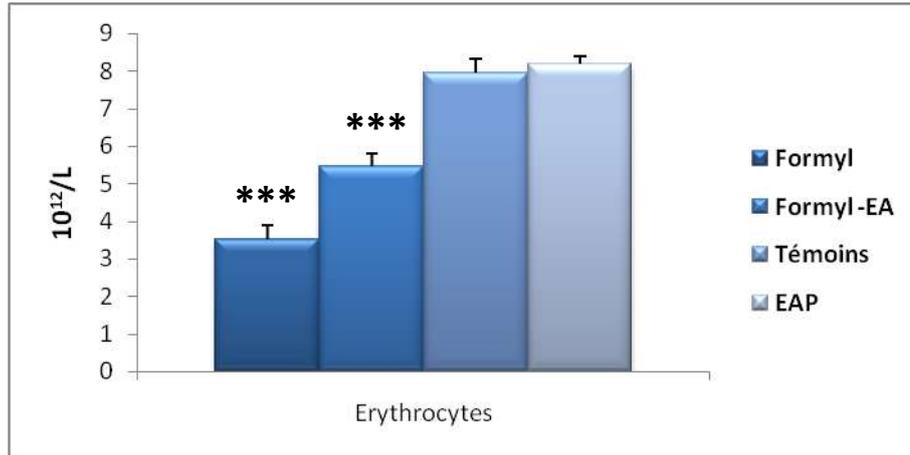


Figure 39.1: Effet de Formyl sur le taux d'érythrocytes chez les différents groupes expérimentaux. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM : (***) : $p < 0.001$).

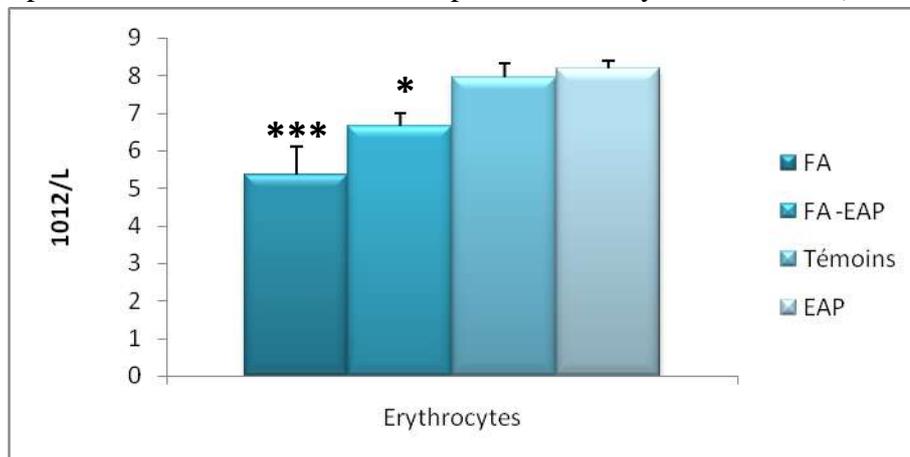


Figure 39.2 : Effet de Formaldéhyde sur le taux d'érythrocytes chez les différents groupes expérimentaux. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM : (* : $p < 0.05$; *** : $p < 0.001$).

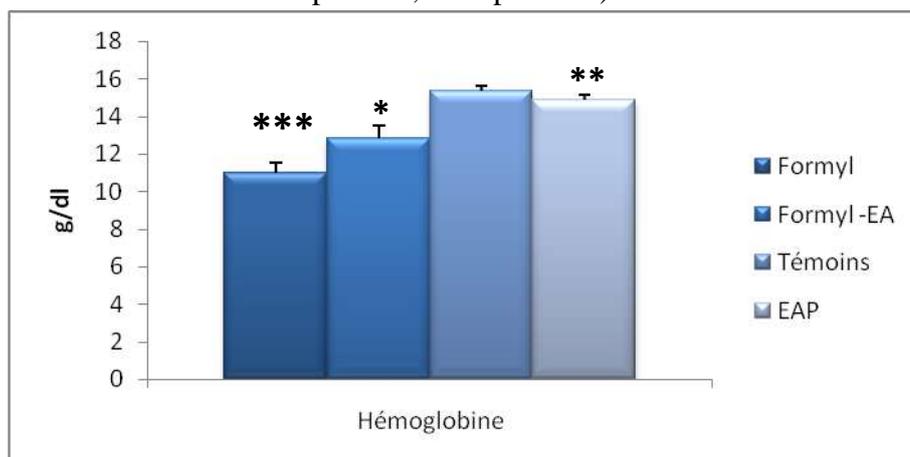


Figure 39.3: Effet de Formyl sur le taux d'hémoglobine chez les différents groupes expérimentaux. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM : (* : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$; *** : $p < 0.001$).

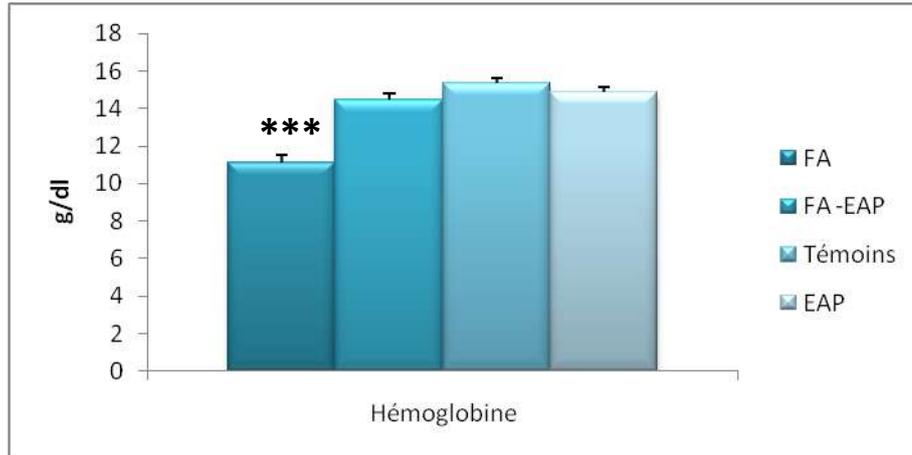


Figure 39.4: Effet de Formaldéhyde sur le taux d'hémoglobine chez les différents groupes expérimentaux. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM : (***) : $p < 0.001$).

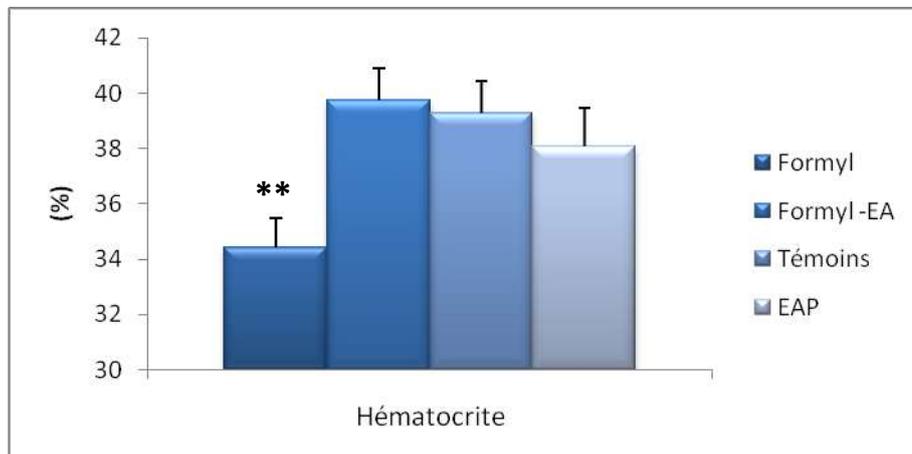


Figure 39.5: Effet de Formyl sur le taux d'hématocrite chez les différents groupes expérimentaux. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM : (**): $p < 0.01$).

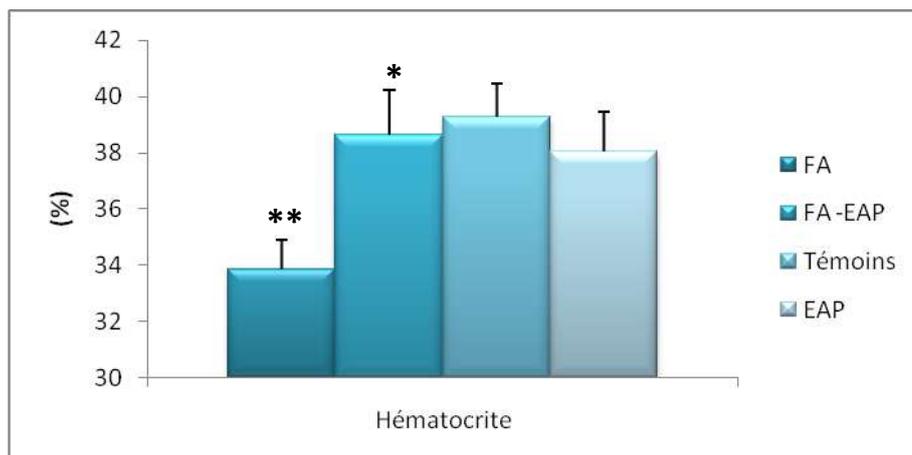


Figure 39.6 : Effet de Formaldéhyde sur le taux d'hématocrite chez les différents groupes expérimentaux. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM : (* : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$).

Néanmoins, le taux des leucocytes a enregistré une réduction significative chez les rats intoxiqués au Formyl et au FA ($P < 0.05$, $P < 0.01$) rapport aux rats témoins respectivement. L'administration de l'extrait d'anis à réduit d'une manière significative le taux des leucocytes chez les rats intoxiqués Formyl-EAP ($P < 0.01$), FA-EAP ($P < 0.05$) comparativement aux rats témoins traités respectivement. En plus, les animaux exposé au Formyl présentent un taux de leucocytes significativement élevé par rapport aux animaux intoxiqués traités ($P < 0.05$).

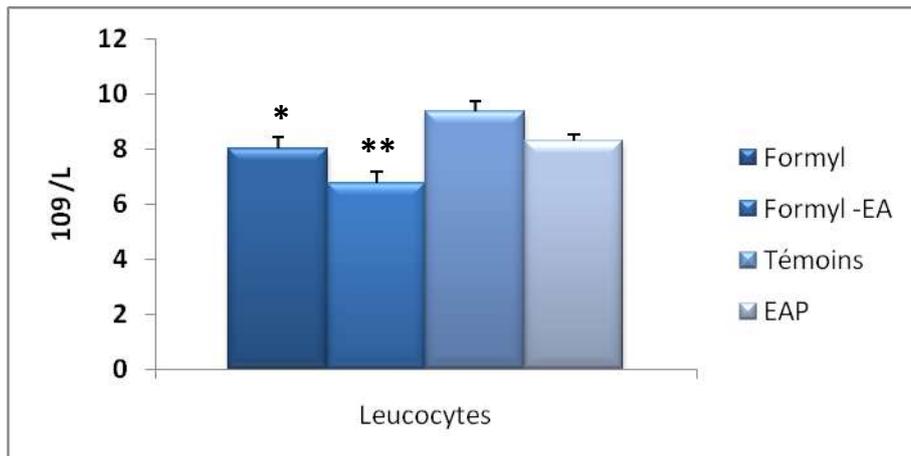


Figure 39.7: Effet de Formyl sur le taux des leucocytes chez les différents groupes expérimentaux. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM : (* : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$).

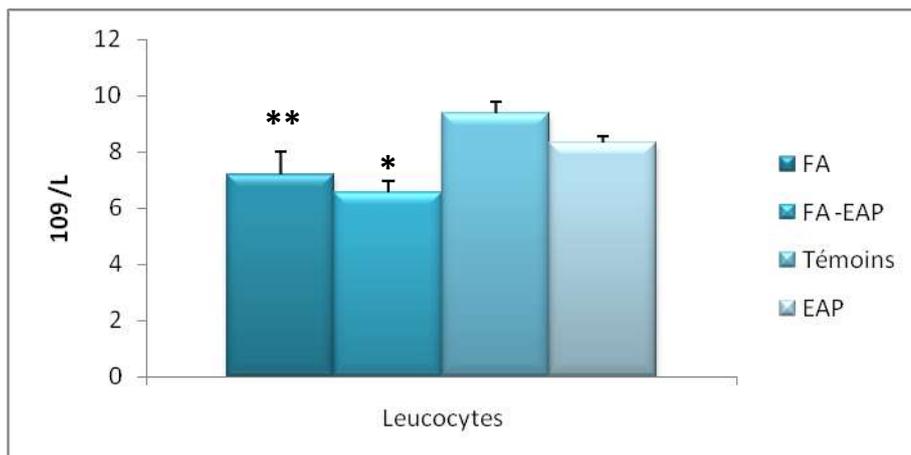


Figure 39.8 : Effet de Formaldéhyde sur le taux des leucocytes chez les différents groupes expérimentaux. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM : (* : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$).

Les résultats montrent également une réduction non significative/significative du taux des thrombocytes chez les rats intoxiqués au Formyl ($P < 0.05$) et au FA ($P < 0.001$) par rapport aux rats témoins. Cependant, l'analyse statistique de ces résultats montre une augmentation non significative/ significative du taux sérique des thrombocytes chez le groupe d'animaux intoxiqués traités Formyl-EAP ($P > 0.05$), FA-EAP ($P < 0.01$) comparativement au groupe d'animaux intoxiqué respectivement.

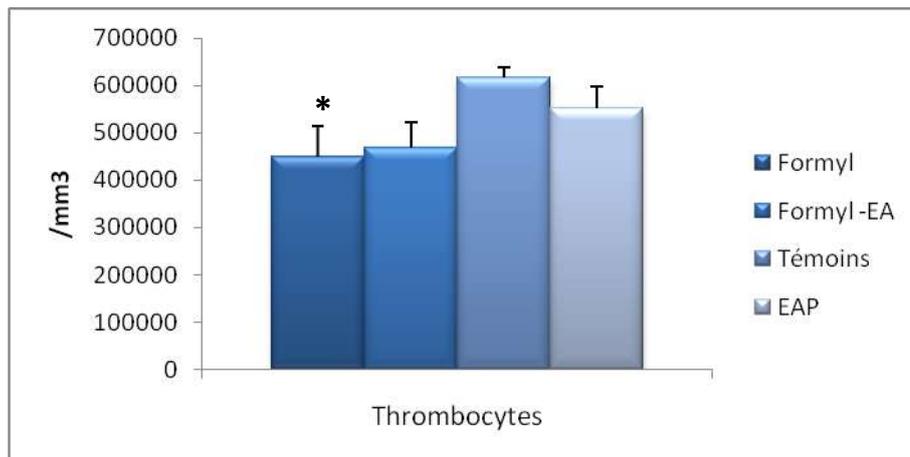


Figure 39.9 : Effet du Formyl sur le taux des thrombocytes chez les différents groupes expérimentaux. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM : (* : $p < 0.05$).

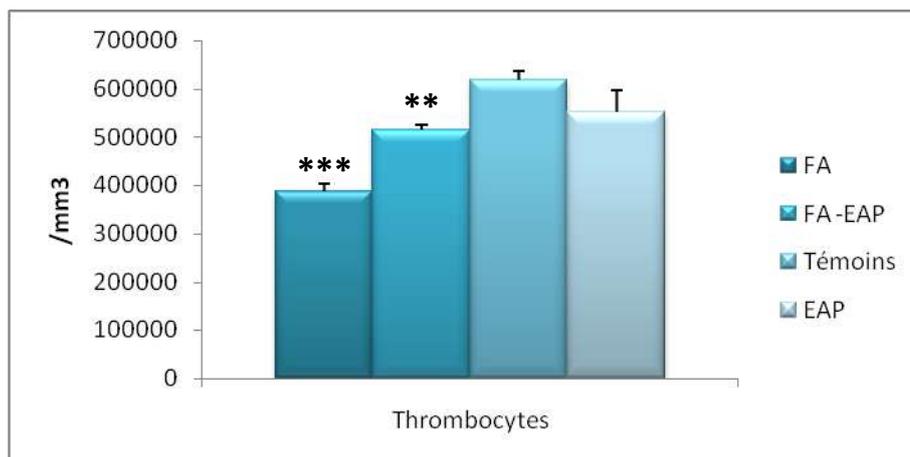


Figure 39.10 : Effet du Formaldéhyde sur le taux des thrombocytes chez les différents groupes expérimentaux. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM : (** : $p < 0.01$; *** : $p < 0.001$).

11. Exploration de la fonction cérébrale :

11.1. L'effet de l'imidaclopride et du formaldéhyde sur l'architecture structurale du cerveau :

L'exposition à l'IMD avec une dose de 90 mg/kg durant 28 jours a causé une dégénérescence de certaines cellules nerveuses, une gliose ainsi qu'une vacuolisation pluricellulaire (fig .40.1 (a)).

Concernant les coupes histologiques issues des rats exposés au formyl, on a observé une prolifération des cellules gliales (une gliose) (fig.40.1 (c)).

De plus, il a été observé chez les rats exposés au FA des régions dans le cerveau ayant une gliose ainsi qu'une nécrose de certains neurones (fig.40.1 (e)).

De même, le traitement par l'extrait aqueux d'anis chez les animaux intoxiqués (IMD-EAP, Formyl-EAP et FA-EAP) a résulté à une atténuation des phénomènes précédents et montre une architecture structurale normale semblable à celle du tissu cérébral des animaux témoins.

Cependant, le cortex cérébral des rats témoins et des rats qui ont subi un traitement avec l'extrait d'anis est apparu avec une architecture et une organisation cellulaire normale (fig .40.1. b), (d), (f)).

D'une autre part, l'ensemble des coupes histologiques réalisées au niveau du cervelet chez les rats exposés à l'IMD (a'), au formyl (c'), ou au FA (e') montrent une altération des cellules de purkinje (nécrose) (fig.40.2 (a'), (c'), (e')), par contre, les rats intoxiqués à ces pesticides et traités par l'EAP montrent une atténuation de ce phénomène (fig.40.2(b'),(d'),(f')).

Par ailleurs, l'observation microscopique des sections tissulaires issues du cervelet des rats témoins et des rats témoins traités montre une organisation normale de cellules de purkinje (fig.40.2(g),(h)).

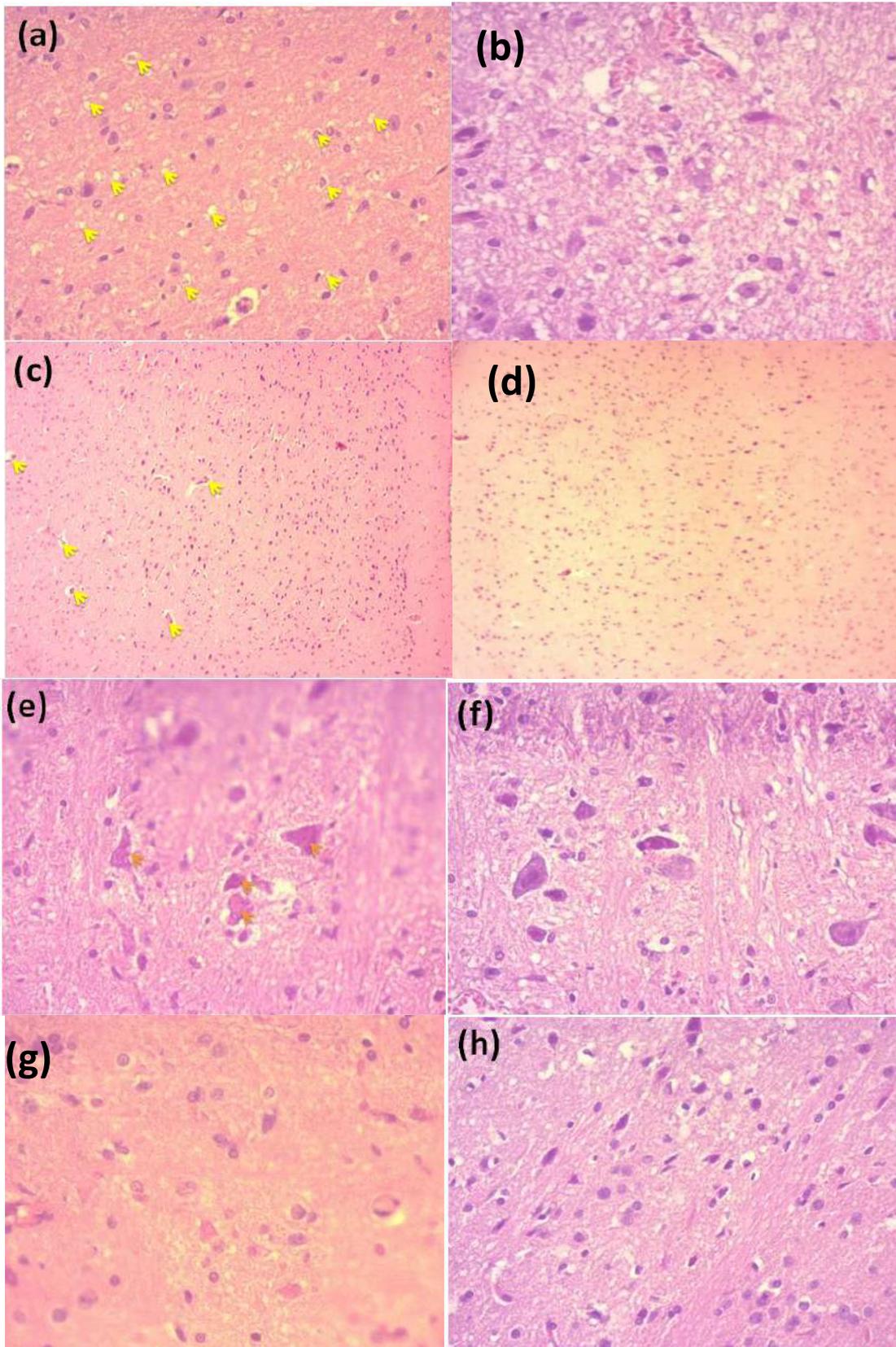


Figure 40.1 : Section tissulaire issue du cortex cérébrale des animaux intoxiqués par l'IMD (a), au formyl (c), au formaldéhyde (e), des animaux intoxiqués traités (IMD-EAP) (b), (formyl-EAP) (d), (FA-EAP) (f), et des animaux témoins (g), témoins traités (h); Coloration éosine hématoxyline/Grossissement (X40).

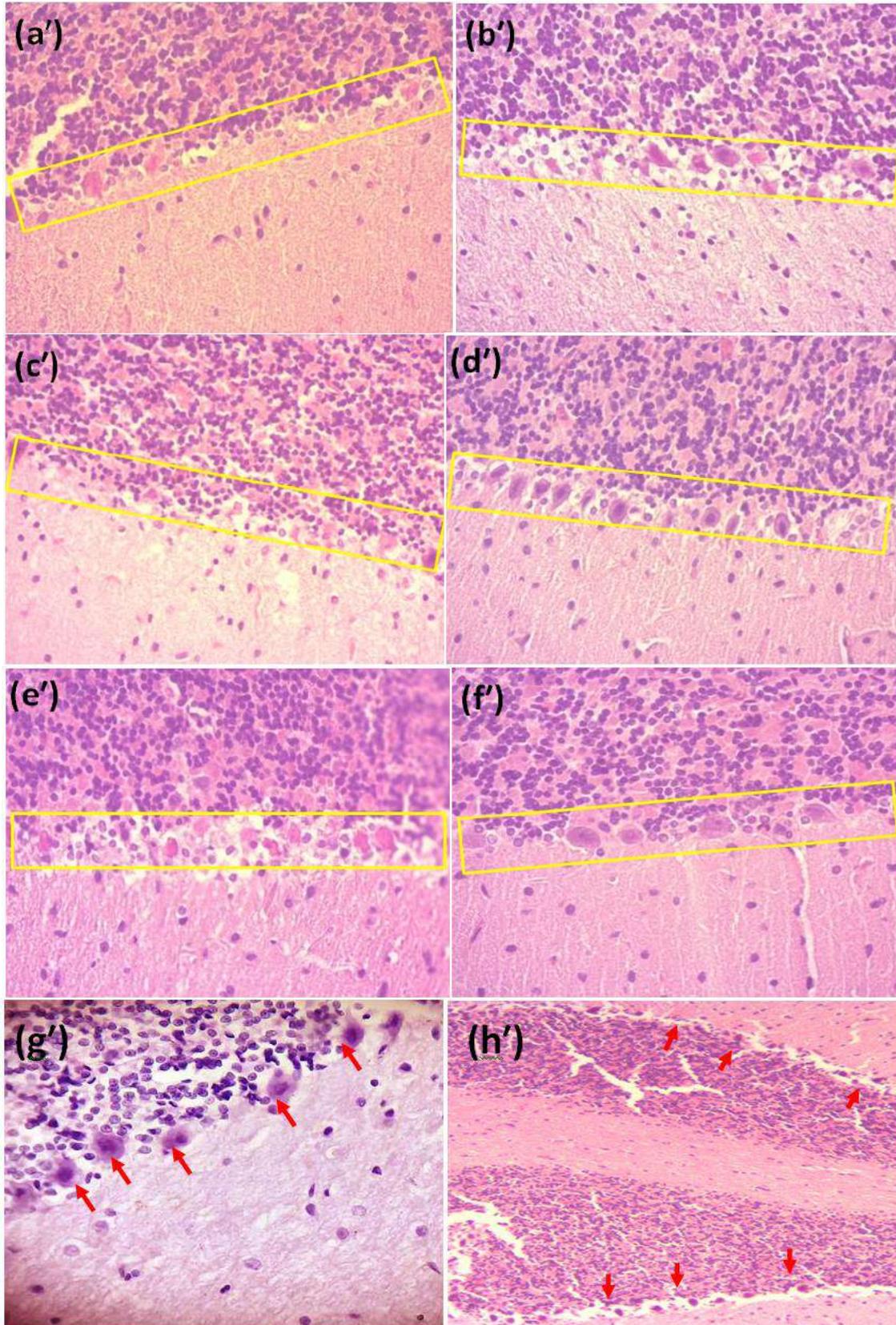


Figure 40.2 : Section tissulaire issue du cervelet des rats exposés à l'IMD (a'), au formyl (c'), au formaldéhyde (e'), rats intoxiqués traités (IMD-EAP) (b'), (formyl-EAP) (d'), (FA-EAP) (f'), et rats témoins (g'), témoins traités (Gr X10) (h'). ((a'), (c'), (e')) : une

altération des cellules de purkinje. ((b'),(d'),(f'),(g'),(h')) : organisation cellulaire normale. (g'),(h') : cellule de purkinje (flèches rouges) ; Coloration éosine hématoxyline/Grossissement (X40).

11.2. Les résultats du dosage des deux pesticides au niveau cérébral et hépatique par (HPLC) :

➤ Imidaclopride

Les résultats obtenus concernant le dosage de l'IMD au niveau cérébral et hépatique montrent une élévation du taux de l'IMD chez les rats intoxiqués par rapport aux rats témoins et intoxiqués traités.

Tableau 11: Dosage de l'imidaclopride au niveau cérébral par Chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC).

Groupes	Concentration $\mu\text{g},\text{g}^{-1}$
Témoin	0,000
IMD	39.220
IMD-EAP	17.930

Tableau 12 : le dosage de l'imidaclopride au niveau hépatique par Chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC).

Groupes	Concentration $\mu\text{g},\text{g}^{-1}$
Témoin	0,000
IMD	68.040
IMD-EAP	43.022

➤ Formaldéhyde

Le dosage cérébral et hépatique du Formaldéhyde a permis d'enregistré une augmentation importante de la concentration de cette matière active chez les rats intoxiqués par rapport aux rats témoins et intoxiqués traités.

Tableau 13 : Dosage du Formaldéhyde au niveau cérébral par Chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC).

Groupes	Concentration $\mu\text{g},\text{g}^{-1}$
Témoin	0,000
FA	30.49
FA-EAP	12.561

Tableau 14 : Dosage du Formaldéhyde au niveau hépatique par Chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC).

Groupes	Concentration $\mu\text{g},\text{g}^{-1}$
Témoin	0,000
FA	86.20
FA-EAP	50.402

Discussion

L'exposition aux pesticides en fonction de leurs propriétés, de la dose et des voies d'entrée peut avoir des effets néfastes pour l'organisme. Ils peuvent provoquer des perturbations endocriniennes, neurologiques, influencer sur le système immunitaire, la reproduction et le développement (**Lushchak et al., 2018**). Les résidus de pollution par les pesticides sont devenus des risques de plus en plus courants pour la santé au cours des dernières décennies en raison de la large utilisation des pesticides (**Yuan., 2019**).

L'imidaclopride (IMD) est un insecticide appartenant à une nouvelle famille de composés, les néonicotinoïdes, utilisé dans un large éventail d'activités agricoles dans le monde. Cependant, il en résulte des perturbations de l'écosystème et des signes de toxicité chez l'homme et les animaux. Le principal site d'action de l'imidaclopride est le système nerveux (**García et al., 2018**). Ce pesticide a montré des effets neurologiques, des troubles neurocomportementaux (**Lonare et al., 2014**).

Le formaldéhyde (FA) est l'un des polluants les plus importants de la planète (**Yu et al., 2019**). Le FA est un produit chimique toxique très réactif. Les propriétés physiques telles que l'incolorité et la solubilité dans l'eau le rendent plus dangereux (**Gerin et al., 2016**). Il a des effets cancérigènes sur la peau, les yeux, le système nerveux central, le tractus gastro-intestinal, et un effet reprotoxique (**Ozmen et al., 2013**).

L'anis (*Pimpinella anisum L.*) qui appartient à la famille des Apiaceae est l'une des plus anciennes herbes médicinales et plantes à épices largement utilisées (**Mosavat et al., 2019**). Des études phytochimiques conduites sur des extraits d'anis ont indiqué la présence de divers constituants phytosanitaires, qui sont en réalité responsables de l'action pharmacologique de la plante (**Mushtaq et al., 2019**).

Notre travail consiste d'un côté à étudier la toxicité de deux pesticides « imidaclopride » et « Formaldéhyde » ; parmi les pesticides les plus largement utilisés en Algérie, et d'un autre côté évaluer l'effet thérapeutique de l'extrait aqueux de *Pimpinella anisum L.* vis à vis de cette intoxication chez des rats mâles adultes de la souche wistar.

1. Détermination de la composition chimique d'extrait / l'huile essentielle de *Pimpinella anisum* par Etude phytochimique /CPG/MS :

Les résultats expérimentaux des tests phytochimiques effectués sur l'extrait aqueux de *Pimpinella anisum L.* ont révélé la présence : Tanins, Flavonoïdes (composé polyphénolique), Anthocyanes, Coumarines, Alcaloïdes, Stérols, et l'absence de certains composés à savoir : Saponosides, Composés réducteurs, Amidon. Ces tests qualitatifs sont en accord avec ceux de

(Aiswarya et al., 2017) qui ont révélé la présence de composés polyphénoliques tels que les flavonoïdes, les tanins ainsi que l'acides phénoliques. Celles-ci sont très vitales pour les activités de piégeage des radicaux libres et antioxydantes des plantes, car elles agissent en tant que donneurs d'hydrogène et neutralisent ainsi les radicaux libres (Aiswarya et al., 2017).

D'après Bekara et al. (2015), le screening primitif des composés bioactifs dans l'extrait aqueux de *Pimpinella anisum L.* a révélé la présence des polyphénols, flavonoïdes, Tanins et les alcaloïdes avec l'absence des résines, saponins et les composés stéroïdes. La quantité des composés phénoliques et des flavonoïdes des extraits de plantes varie d'une plante à l'autre, cela est probablement dû à la localisation géographique, la saison de récolte, les conditions climatiques et environnementales, la maturité de la plante et la durée de conservation (Gheffour et al., 2015). Il a été constaté que les graines d'anis possèdent une puissante activité antioxydante. De nombreux composés polyphénoliques ont été détectés dans des extraits d'espèces d'anis différentes. Les composés polyphénoliques sont de bons exemples d'agents antioxydants ayant différentes caractéristiques dans les systèmes biologiques, par lesquels ils exercent leurs propriétés protectrices (Jamshidzadeh et al., 2015). Selon (Zhou et al., 2001 ; Mushtaq et al., 2019) les flavonoïdes sont présents en abondance dans l'extrait aqueux d'anis, qui est considéré comme une source puissante d'activité antioxydante. Ils sont censés protéger l'ADN des dommages causés par les substances oxydantes.

Cependant, l'analyse chromatographique en phase gazeuse a permis d'identifier 12 composants à savoir : l' α -pinène, camphène, Cis-betaocimène, α -phellandrène, limonène, 3-carène, Fenchone, α -campholène aldéhyde, γ -Elémène, Estragole, Trans-anéthol, Cis-Anéthol, dont le trans-anéthol est le composant majoritaire (55,44 %). Ces résultats concordent avec celles trouvés par Foroughi et al., (2016) qui ont identifié l'huile essentielle de *P. anisum* à l'aide d'un chromatographe en masse en phase gazeuse, et confirmé la présence l' α -pinène, limonène, fenchone, cis-anéthole et le trans-anéthole. Plusieurs études se sont mise d'accord pour la substance la plus trouvée dans cette l'huile est le trans-anéthole (Foroughi et al., 2016 ; Al-Shammari et al., 2017 ; Darici et al., 2019 ; Mohammed, 2019). Les isomères cis et trans sont tous deux présents dans la nature, l'isomère trans étant toujours le plus abondant (Foroughi et al., 2016).

2. Effets des deux pesticides et l'extrait aqueux de *Pimpinella anisum L.* sur la croissance pondérale et le poids des organes :

Il est évident que la surveillance du poids corporel et le poids des organes fournit des informations sur le niveau de santé des animaux, ce qui peut également être une interprétation importante des effets sur la métabolisation et le fonctionnement des différents organes.

L'exposition à l'imidaclopride a permis d'observer chez les groupes des rats intoxiqués une baisse significative dans le gain de poids corporel par rapport aux rats témoins, ainsi qu'une augmentation dans le poids du foie et des reins ce qui est en faveur d'une perturbation dans leurs fonctionnements respectifs. Néanmoins, le poids du cerveau n'a enregistré aucun changement significatif. Ces résultats sont en accord avec ceux apportés par beaucoup de travaux des autres chercheurs (**Bhardwaj et al., 2010 ; Soujanya et al., 2013 ; Lonare et al., 2014 ; Mohamed et al., 2017**) qui ont suggéré que l'IMD induit une réduction significative du gain de poids corporel chez le rat. De la même manière, une étude récente (**Devan et al., 2015**) a montré une réduction significative du gain de poids corporel chez les deux sexes à une dose élevée d'acrylamide, un néonicotinoïde. Cette diminution du poids est liée à la réduction de la prise alimentaire. **Werner et al. (2010)** ont rapporté que la réduction de la consommation d'aliments pouvait être due aux effets répulsifs des pesticides. D'autre part, les résultats obtenus ne sont pas en accord avec les travaux de (**Ince et al., 2013 ; Vohra et al., 2014 ; Chakroun, et al., 2017**) qui ont indiqué que le traitement par l'IMD n'entraîne aucun changement significatif dans la prise de poids corporel.

Cependant, l'augmentation du poids du foie pourrait être due à l'œdème provoqué par cet insecticide (**Chakroun, et al 2017**). **Bhardwaj et al. (2010)** ont étudié la toxicité de l'imidaclopride et ils ont découverts qu'elle entraîne des modifications tubulaires du rein et une augmentation de son poids chez les rats exposés à une dose plus élevée (**Arfat et al., 2014**). En outre, aucun travail n'a montré l'effet de l'imidaclopride sur le changement du poids cérébral malgré sa neurotoxicité marquée.

Par ailleurs, l'exposition au formaldéhyde a induit aussi une diminution significative du gain de poids corporel. Ces résultats concordent avec les travaux de (**Tobe et al., 1989 ; David et Arkerman, 2016**). L'administration de formaldéhyde avec différentes doses à des rats, quel que soit leur sexe provoque un retard de croissance, une diminution de la consommation d'aliments et d'eau (**Tobe et al., 1989 ; Oyama et al., 2002**). Les données obtenues à travers les études scientifiques ont montré que les principales cibles de la toxicité du formaldéhyde étaient les deux parties antérieure et glandulaire de l'estomac. Des

épaississements de la crête limite et une hyperkératose dans la partie antérieure de l'estomac ont également été rapportés chez des rats ingérant du formaldéhyde à une dose de 125 mg / kg de poids corporel / jour pendant 4 semaines (Tobe et al., 1989). D'après David et Arkerman, (2016) l'administration de formaldéhyde dans l'eau de boisson pendant 12 semaines a eu des effets histopathologiques sur la muqueuse gastrique chez le rat, sous la forme de dégénérescence vacuolaire (hydropique) des glandes du ganglion gastrique ceci est due à une nécrose des couches superficielles de la muqueuse gastrique en raison de fortes concentrations de formaldéhyde.

Néanmoins, le travail de (Pitten et al., 2000) a nié que le formaldéhyde induit une réduction de poids corporel et que son exposition ne réduit pas l'appétit des animaux, ni la consommation de nourriture.

Il est intéressant de savoir que les hormones thyroïdiennes sont des régulateurs homéostatiques importants du métabolisme et du développement chez les vertébrés (Yoshimura, 2013 ; Pandey et Mohanty, 2015). Le métabolisme hypothalamique des hormones thyroïdiennes joue un rôle clé dans la régulation saisonnière de l'homéostasie du poids corporel chez les hamsters de Sibérie (Barrett et al., 2007). Ainsi, l'hypothyroïdie induite par les pesticides peut entraîner une perte de poids. Il a été rapporté que l'IMD affecte négativement le métabolisme à fortes doses et réduisent le poids corporel chez les rongeurs (Ksheerasagar et Kaliwal, 2003 ; Bhardwaj et al., 2010). De plus, l'exposition aiguë ou répétée au formaldéhyde, perturberait de nombreuses hormones liées à l'axe hypothalamo-hypophysaire, telles que la triiodothyronine (T3), la thyroxine (T4), l'hormone stimulante de la thyroïde (TSH), l'ACTH et la corticostérone (Sorg et al., 2001; Patel et al., 2001).

Les plantes médicinales peuvent potentiellement être utilisées comme facteurs de croissance naturels en raison de leurs propriétés améliorant la digestion des antimicrobiens et des nutriments (Hernandez et al., 2004). L'amélioration de la consommation alimentaire et de la prise de poids pourrait probablement être le rôle positif de ces plantes médicinales pour maintenir un écosystème microbien équilibré dans le tube digestif et stimuler les sécrétions d'enzymes digestives, ce qui a pour effet d'accroître la digestion des nutriments et un meilleur gain de poids corporel (Ramakrishna et al., 2003),

Le traitement avec l'extrait aqueux de *Pimpinella anisum L.* pendant 15 jours a entraîné une augmentation significative du poids corporel. Cet effet peut être attribué aux substances bioactives de *p. anisum L.* à savoir l'anéthole, l'eugénol, l'anisaldéhyde, l'estragol

et le méthylchavicol (**Al-Mashhadani 2011**). Ces derniers ont un effet stimulant particulier sur le système digestif et par conséquent ils affectent positivement la croissance corporelle.

Le principal composé de *Pimpinella anisum L.* « l'Anéthole » avec son pouvoir antibactérien, joue un rôle particulier dans la prise de poids, en détruisant les micro-organismes pathogène de l'appareil digestif et en améliorant l'utilisation des enzymes digestives et le fonctionnement hépatique (**Langhout, 2000 ; Williams et Losa, 2001 ; Al-Mashhadani 2011**). Selon **Andallu et Rajeshwari, (2011)**, l'anis est riche en composés nutritifs à savoir les protéines 18%, huile grasse 8-23%, huile essentielle 2-7%, sucres 3-5% et fibres brutes 12-15% qui peuvent avoir un effet positif sur la prise de poids. Une étude récente de (**Asadollahpoor et al., 2017**) a expliqué ce gain de poids par le pouvoir de l'huile et extrait d'anis de protéger l'accumulation de graisse dans les tissus du foie en modulant le profil lipidique. Les graines d'anis ont un effet positif sur la digestibilité des nutriments, améliorent la digestion des protéines, de la cellulose et des graisses, augmentent l'activité de la lipase et de l'amylase pancréatiques, ont une activité antioxydante, empêchant l'oxydation des acides gras et une utilisation optimisée des nutriments dans le système digestif (**Jamroz et Kamel 2002; Ramakrisna et al., 2003 ; Hernandez et al., 2004**). Selon l'étude réalisée par **Zeybek et al. (2011)** l'extrait végétal a la capacité de réduire le nombre de bactéries nocives dans le tractus gastro-intestinal des poulets, améliorer la digestion et l'absorption des nutriments et par conséquent entraîner un meilleur gain de poids.

3. Effet des deux pesticides et l'extrait aqueux de *Pimpinella anisum L.* sur le comportement des rats :

On a choisi un ensemble de tests neurocomportementaux pour évaluer l'état de la dépression, de l'anxiété, de l'activité locomotrice, de l'apprentissage spatial et de la mémoire ainsi que le dosage du glucose pour estimer l'état de stress chez des rats exposés aux pesticides étudiés et les rats traités par l'extrait aqueux de *Pimpinella anisum L.*

3.1. Test du champ ouvert (open field tests)

Le test du champ ouvert est utilisé pour analyser la locomotion, l'anxiété et les comportements stéréotypés chez les rongeurs (**Kraeuter et al., 2019**).

Les résultats enregistrés concernant le test de champs ouvert (open field) montrent que durant les six minutes, l'IMD a provoqué une diminution significative de l'activité locomotrice chez les rats intoxiqués, ces résultats sont en accord avec les travaux de **Lonare et al., 2014 et Bhardwaj et al., 2010** qui ont montré une diminution d'activité horizontale et

verticale chez les rats exposés à l'imidaclopride. La réduction d'activité locomotrice est due à l'accumulation de l'imidaclopride ou de ses métabolites dans le cerveau (**Bhardwaj et al., 2010**). L'exposition aux insecticides induit des altérations de l'activité neuromotrice avec des effets cognitifs et une diminution de la force de préhension des membres postérieurs (**Lonare et al., 2014**).

L'étude neurocomportementale de **Lonare et al. (2014)** a montré que l'exposition à l'IMD provoque une diminution de l'activité locomotrice spontanée et stimule la sensation de douleur ainsi que des modifications pathologiques dans le cerveau. De même, cet exposition provoque aussi une nécrose des cellules de Purkinji avec perte de dendrites et de granules dans la couche granulaire du cervelet chez les rats (**Bhardwaj et al., 2010**). Par ailleurs, l'exposition gestationnelle a entraîné des déficits neurocomportementaux et une expression accrue de la protéine acide fibrillaire gliale (GFAP) dans le cerveau de la progéniture (**Abou-Donia et al., 2008**). **Brunet et al. (2004)** ont également signalé que l'imidaclopride absorbée à partir des cellules intestinales et bioaccumulée dans le cerveau pendant un certain temps, responsable de lésions tissulaires et d'après **Taira, (2014)**, il induit une douleur et une faiblesse musculaire.

Notre étude montre que l'exposition au formaldéhyde à une dose de 125 mg/kg pendant 4 semaines a un impact sur le comportement des animaux expérimentaux. Les résultats enregistrés montrent une réduction significative de l'activité locomotrice chez les rats intoxiqués comparativement aux rats témoins. Nos résultats concordent avec ceux de **Malek et al. (2003, 2004)** qui ont suggéré que l'exposition au formaldéhyde par inhalation affecte l'activité exploratoire et locomotrice des rats mâles et femelles en plein champ. Les expositions aiguës ou subaiguës au FA ont des effets toxiques sur le comportement des souris Balb/C, ce qui entraîne une diminution de l'activité locomotrice, d'une manière dépendante de la concentration (**Usanmaz et al., 2000**). D'après l'étude réalisée par **Zararsiz et al. (2007)**, l'administration du formaldéhyde par voie intrapéritonéale avec une dose de 10 mg / kg est la cause d'une activité motrice lente.

De plus, il est suggéré que de petites quantités de formaldéhyde libre pourraient atteindre le système nerveux, interagir directement avec les cellules et provoquer plusieurs altérations pathologiques de la structure du système nerveux telles que l'augmentation du nombre de neurofilaments, le gonflement intra-axonal et la perturbation mitochondriale. Il a été suggéré que l'acide formique est le métabolite responsable des effets délétères du formaldéhyde. L'exposition aux vapeurs d'acide formique affecte de nombreux paramètres

neurochimiques et induit une hypoxie cérébrale (Malek et al., 2003). L'inhibition de l'activité locomotrice et exploratoire induite par l'hypoxie chez le rat a également été observée chez certain travailleurs exposé au formaldéhyde (Nadlewska et al., 2002).

L'administration de l'extrait aqueux d'anis vert a augmenté cette activité mais d'une façon non significative. Nos résultats concordent avec celles obtenues par (Gamberini et al., 2015). (Boskabady et Ramazani-Assari, 2001) qui ont trouvé que l'huile essentielle d'anis (HEA) a un effet myorelaxant par l'inhibition des récepteurs muscariniques d'acétylcholine. Cependant, il a été démontrés que *Pimpinella anisum L.* peut améliorer l'activité Na⁺/K⁺ ATPase (Karimzadeh et al., 2012) dont elle joue un rôle important dans la régulation de l'excitabilité neuronal. Une étude réalisée sur *Pimpinella peregrina*, appartenant à de la même famille et au même genre que notre plante a montré que l'inhalation de son l'huile essentielle a un effet anxiolytique. Il a été rapporté que divers terpènes pourrait moduler l'activité des récepteurs GABA_A. Ainsi, les terpènes avec des caractéristiques distinctes et des propriétés structurales peuvent jouer un rôle de médiateur dans les mécanismes sédatifs ou anxiolytiques impliquant des récepteurs GABA_A (Aydin et al., 2016). Les indicateurs d'anxiété dans le labyrinthe en croix surélevé (le pourcentage de temps passé dans les bras ouverts et le nombre d'entrées à bras ouverts) se sont révélés sensibles aux agents qui étaient supposés agir via le complexe de récepteurs GABA_A (Emamghoreishi et al., 2005). À la lumière de ces rapports, l'analyse chromatographique a montré que notre plante contient un pourcentage de terpènes y compris, l' α -pinène, camphène, Cis-betaocimène, α -phellandrène, limonène, 3-carène, Fenchone, α -campholène aldéhyde, γ -Elémène, qui peuvent avoir ce rôle médiateur sur les récepteurs GABA_A, en conduisant à un effet anxiolytique.

3.2. Test de la nage forcée (Forced Swimming test) :

En ce qui concerne ce test, les rats intoxiqués par l'imidaclopride ont un temps d'immobilité significativement plus important que les rats témoins, ce qui reflète un comportement dépressif. L'incapacité de nager est un désespoir comportementale qui prouve l'effet dépressif d'imidaclopride, Cela est similaire avec l'étude de Karatas, 2009 qui a montré que l'imidaclopride provoque une légère dépression du système nerveux. Le désordre dépressif est lié à un dysfonctionnement ou un hypofonctionnement de système sérotoninergique (Guichenez et al., 2006). Sachant que les récepteurs neuronaux de l'acétylcholine nicotinique (nAChRs) font partie de la famille des récepteurs ionotropes « cys-loop » incluant les récepteurs à la sérotonine (de type 5-HT₃) (Le Novere et Changeux,

2001 ; Raymond et Sattelle 2002), l'imidaclopride peut provoquer des perturbations au niveau du système sérotoninergique.

En outre, les résultats obtenus concernant ce test révèlent un temps d'immobilité est significativement élevé chez le lot intoxiqué par le formaldéhyde par rapport au lot témoin. Cela confirme l'effet dépressif de ce xénobiotique, se manifestant sur la capacité à nager et l'installation d'un état de désespoir, et par conséquent, il induit une perturbation de la voie sérotoninergique au niveau cérébral principalement striatum, hippocampe et l'axe hypothalamo-hypophysaire (**kahloula et al., 2014**).

Des rapports sur des cas de sujets humains après une exposition par ingestion ou par inhalation démontrent le profond effet dépresseur du formaldéhyde sur le SNC (**Malek et al., 2003**). De même, des techniciens en histologie exposés professionnellement au formaldéhyde et les personnes travaillant dans les zones industrielles où le FA est utilisé régulièrement sont évocateurs d'une neurotoxicité, se plaignent de troubles de la mémoire, de l'humeur, de l'équilibre, du sommeil, et fatigue intense (**Zararsiz et al., 2007**). Certains changements neurochimiques à savoir les troubles dopaminergiques et sérotoninergique dans l'hypothalamus, peuvent être attribuer à ces changements comportementaux (**Usanmaz et al., 2000**).

En revanche, les groupes intoxiqués puis traités par l'extrait d'anis ont une réduction significative du temps d'immobilité comparativement aux rats intoxiqués. Cela est en accord avec l'étude de (**Samojlik et al., 2012**) qui ont trouvé que l'HEA a un effet antidépresseur. Selon **kahloula et al. (2013)**, l'anis vert possède un effet neuroprotecteur qui est probablement dû à l'amélioration de la modulation des fonctions NMDA tel que l'activation des sites des récepteurs NMDA. L'HEA peut induire l'excitabilité neuronale, qui a été attribuée à l'activation des canaux Ca^{2+} ou à l'inhibition du canal dépendant de la tension Ca^{2+} / K^{+} (**Janahmadia et al., 2008**). Un effet antidépresseur a été également rapporté suite d'un traitement par inhalation de l'huile essentielle de *Pimpinella peregrina* (plante de la même famille) (**Aydin et al., 2016**). Les résultats obtenus par (**Shahamat et al., 2016**) ont révélé que toutes les doses d'extraits aqueux et éthanoliques de *P. anisum* réduisaient le temps d'immobilité et augmentaient le temps de nage de manière dépendante de la dose. Néanmoins, le mécanisme pharmacologique et le composé responsable de l'activité de *P. anisum* de type antidépresseur n'est pas pu être identifiés.

Plusieurs enquêtes ont révélé que le fruit de *P. anisum* se compose de plusieurs composés actifs et que tous pourraient être responsables des effets analogues à ceux des

antidépresseurs. Des études antérieures ont montré que cette plante contient de l'anéthole comme composé principal responsable des propriétés médicinales (**Gulcin et al., 2003; Rodriguez et al., 2003 ; Salehi Surmaghi, 2010; Zargari, 2011; Shojaii et Abdollahi Fard, 2013; EL-Hodairy, 2014**). En plus, il a été démontré aussi dans plusieurs études l'activité antidépressive des antioxydants (**Scapagnini et al., 2012**). Il s'est avéré que les antioxydants pourraient inhiber la recapture de la 5-HT (**Weinstock et al., 2002; Khanzode et al., 2003**). En outre, il existe un rapport sur l'inhibition de la monoamine-oxydase (MAO) par l'anéthole (**Drukarch et al., 2006**). Par conséquent, l'inhibition de la recapture de la 5-HT ainsi que celle de la MAO par l'anéthole pourraient augmenter la disponibilité de la 5-HT dans les fentes synaptiques, ce qui pourrait désensibiliser les récepteurs 5-HT impliqués dans la dépression. *P. anisum* pourrait avoir une application thérapeutique potentielle pour la gestion des troubles dépressifs (**Shahamat et al., 2016**).

3.3. L'effet des pesticides sur l'apprentissage et la mémoire spatiale :

3.3.1. Test de Barnes :

Les résultats enregistrés dévoilent un nombre d'erreur et un temps de latence pour rejoindre la cible significativement supérieur chez les animaux exposés à l'IMD comparés aux animaux témoins et intoxiqués traités par l'EAP. Cela montre clairement que ce pesticide diminue d'une façon importante les performances d'apprentissage spatial et la mémorisation au cours de ce test. Ces observations s'opposent avec les travaux de (**Beer et al., 2013 ; Kutlu et Gould, 2015**) et concordent avec celle de (**Mondal et al., 2014**) qui démontrent la réduction des capacités d'apprentissage après l'exposition à l'acétamipride (insecticide néonicotinoïde), et **Taira, 2014** qui a révélé que l'exposition aux nécotinoïdes a savoir l'imidaclopride et l'acétamipride provoque une altération de la mémoire à court terme. Selon les études réalisées par **Decourtye et al. (2003) ; Decourtye et al. (2004) ; Farooqui, (2013)**, l'administration du néonicotinoïde, l'imidaclopride, altère l'apprentissage et la mémoire olfactifs chez les abeilles. Les récepteurs nicotiques de l'acétylcholine (cible d'imidaclopride) sont largement distribués dans tout l'hippocampe (**Kenney et Gould., 2008**). Ils ont un rôle dans l'encodage des nouveaux souvenirs après leurs activations (**Hasselmo, 2006**).

Cependant, Les neurotransmetteurs sont parmi les molécules neuronales susceptibles d'être affectées par le stress, conduisant à une perturbation neurocomportementale. La diminution de la synthèse d'acétylcholine est à l'origine de troubles de la contraction

musculaire, de la mémoire, manque de concentration, oublis ...etc (**Gasmi, 2018**). Les régions du cerveau qui offrent la plus forte densité de neurones utilisant la choline, sont celles qui dégénèrent dans la maladie d'Alzheimer (**Nasuti et al., 2007 ; Songlin et al., 2015**). D'après **Mondal et al. (2014)**, l'acétamipride agit de façon agoniste sur les récepteurs neuraux de l'acétylcholine nicotinique. La disponibilité de l'acétamipride dans l'hippocampe ouvre les récepteurs ionotropes, cela est suivi par un flux positif d'ions dans la cellule, entraînant une excitotoxicité. Mais l'ouverture répétitive du nAChR provoquant une désensibilisation du récepteur et du canal ionique et évitant ainsi l'écoulement de Ca^{2+} à travers la membrane. La désensibilisation est une propriété commune des nAChR (**Xiao et al., 2011**). Sachant que l'acétylcholine est dégradé par l'acétylcholine-estérase (AChE) dans la fente synaptique après chaque influx nerveux cholinergique (**Akaike et al., 2010**), l'augmentation de cet enzyme va diminuer la concentration de l'acétylcholine. Les résultats de l'étude réalisée par **Gasmi, (2018)** ont rapportés que l'administration d'acetamipride et deltamethrine (néonicotinoïdes) provoque une augmentation significative de l'activité d'AChE dans le cerveau total, l'hippocampe et le Striatum chez les rats intoxiqués. Cette augmentation implique la diminution de l'ACh, traduisant une variation neurocomportementale telle que la réduction de l'efficacité d'apprentissage et le potentiel de mémorisation.

En outre, les neurotransmetteurs inhibiteurs tels que l'acide Y-butyrique et la glycine libéré au niveau synaptique par les synaptosomes rentrer en compétition avec le glutamate. L'effet néfaste sur les interneurons GABAergiques conduit à des déficits d'apprentissage et de mémoire chez la souris (**Knoferle et al., 2014**).

3.3.2. Test de piscine de Morris :

La présente étude prouve que, l'intoxication au formaldéhyde chez des rats wistar pendant 30 jours a eu comme conséquence la diminution des performances d'apprentissage spatial et de mémoire durant ce test. Les groupes des rats exposés à ce pesticide avaient besoin de plus de temps pour localiser la plate-forme d'échappement, ce qui indique que leurs capacités d'apprentissage avaient été compromises, ainsi que le temps passé dans le quadrant cible a diminué, et leurs itinéraires de nage sont devenus irréguliers et sans but, ce qui démontre que leur capacité à se souvenir a diminué. Ceci explique que le FA perturbe les performances d'apprentissage spatial et la mémorisation. Ces résultats sont similaires à ceux de (**Pitten et al., 2000**) qui ont rapporté que les animaux exposés au FA avait besoin de plus de temps et faisait plus d'erreurs que les animaux témoins en traversant le labyrinthe. Cela

peut être dû au fait que les animaux ont pu compenser les difficultés en mémoire et d'orientation en prenant plus de temps.

Huang et al. (2018) ont rapporté également que l'exposition à de fortes concentrations de formaldéhyde (3 mg / m³) peut provoquer des dommages oxydatifs dans le cerveau de souris, entraînant une inflammation, une lésion neuronale, au point de diminuer la capacité d'apprentissage et de mémorisation des souris. De plus, l'injection de formaldéhyde dans l'hippocampe a entraîné la mort des neurones de cette dernière et interféré avec la formation de la mémoire spatiale, et son accumulation dans le cerveau provoque une déficience cognitive et perte de mémoire (**Li et al., 2016**). **Lu et al. (2008)** ont signalé que l'apprentissage et la mémoire des rats se sont détériorés après l'inhalation du FA. Son exposition répétée par inhalation entraîne des modifications du comportement d'apprentissage des rats mâles et femelles dans le labyrinthe aquatique, les changements de comportement peuvent être considérés comme un signe précoce des processus d'intoxication qui ont lieu dans l'organisme. Les effets délétères des solvants organiques sur le système nerveux sont attribués à l'incorporation de leurs molécules dans la membrane des cellules nerveuses, ce qui perturbe le transfert des ions et le potentiel de repos de la membrane et module la structure lipidique de la membrane. En outre, les protéines intégrales de la membrane des cellules nerveuses sont des cibles pour l'impact des solvants; ils augmentent la fluidité des membranes, ce qui peut affecter le fonctionnement optimal de l'interaction lipide-protéine (**Malek et al., 2003**).

Il est bien connu que le FA provenant de l'environnement est métabolisé en acide formique par l'acide déshydrogénase (FDH) présents dans le foie et les globules rouges ; Le FDH a besoin du glutathion comme co-facteur pour cette réaction. Par conséquent, la réduction d'antioxydant du glutathion augmente la toxicité de FA (**Usanmaz et al., 2002 ; Ozmen et al., 2014**). Ce dernier provoque un stress oxydatif au niveau cérébral (**Kus et al., 2004 ; Matsuoka et al., 2010**) et même avec une faible concentration au niveau hépatique (**Teng et al., 2001**). De nombreuses études indiquent que l'exposition au FA inhibe l'apprentissage, affaiblit la mémoire et supprime certains comportements, mais les mécanismes de ces effets ne sont pas clairs (**Perna et al., 2001 ; Lu et al., 2008 ; Wang et al., 2008**). Il a été rapporté que le FA induit des changements dégénératifs dans les neurones de l'hippocampe (**Kus et al., 2004 ; Gurel et al., 2005 ; Dou et al., 2012 ; Ozmen et al., 2014**).

Le MDA (Malondialdéhyde) est un bon marqueur de l'oxydation des lipides. L'exposition au formaldéhyde provoque une augmentation significative du taux de MDA. Cette dernière peut être un indicateur de dommages oxydatifs à l'hippocampe (**Ozmen et al., 2014**).

Certains auteurs suggèrent que l'exposition à faible concentration au FA affecte de manière sélective les gènes liés à la plasticité synaptique de l'hippocampe. En effet, le blocage des récepteurs du glutamate de N-méthyl-D-aspartate (NMDA) altère à la fois la PLT de l'hippocampe et l'apprentissage spatial dans la tâche du labyrinthe aquatique de Morris chez le rat (**Ahmed et al., 2007**). En ce qui concerne la relation entre l'exposition aux FA et l'activité NMDA, le FA, agit dans le MCS (multiple chemical sensitivity) en induisant une hypersensibilité des récepteurs NMDA et une élévation de l'oxyde nitrique et du peroxy-nitrite (**Pall, 2002, 2003**).

3.4. L'effet de l'extrait aqueux de *Pimpinella anisum L.* sur l'apprentissage et la mémoire spatiale :

L'extrait aqueux d'anis a amélioré d'une façon significative les performances d'apprentissage et de la mémoire spatiale. Parmi de nombreuses huiles végétales, l'anis a des effets bénéfiques sur les troubles de la mémoire, la dépression, l'ischémie cérébrale et la maladie d'Alzheimer (**El-Hodairy., 2014**). **Mushtaq et al. (2019)** ont suggéré que l'EAP augmente la mémoire et l'apprentissage en réduisant le niveau d'acétylcholinestérase (AChE) dans le cerveau des souris. Il est donc évident que cet extrait peut également être utilisé pour la prévention de la maladie d'Alzheimer, supposée être causée par la perte d'innervations cholinergiques dans l'hippocampe du cerveau (**Terry et Buccafusco, 2003 ; Mushtaq et al., 2019**). Il s'est avéré que l'EAP est un puissant antioxydant en empêchant les neurones cholinergiques du cerveau de subir les dommages potentiels de l'AChE. L'activité de cet enzyme est renforcée par les agents oxydants présents dans le cerveau (**Rosemberg et al., 2010**) et les antioxydants préviennent la perte de mémoire à la fois en réduisant le niveau d'AChE et en empêchant l'accumulation de métabolites protéiques toxiques dans les tissus du cerveau (**Frank et Gupta, 2005**).

4. Dosage de la glycémie :

Le glucose est un bon indicateur de stress ainsi l'exposition à l'IMD induit une situation de stress représentée par des modifications comportementales et biochimiques. Nos résultats montrent que l'exposition à ce néonicotinoïde a provoqué une augmentation de la

glycémie. Cela concorde avec l'étude de **(Kim et al., 2013)**, qui ont suggéré que l'IMD pourrait induire une résistance à l'insuline en agissant sur la cascade de signaux d'insuline, en particulier en réduisant la phosphorylation de la protéine kinase B (PKB) (l'un des principaux régulateurs de la signalisation de l'insuline), et la S6 kinase ribosomale (S6K), (une cible en aval de l'AKT et un inhibiteur de rétroaction du signal d'insuline) dans les adipocytes, le foie et le muscle. A fin d'évaluer la réponse au stress chez des rats adultes ayant reçu l'IMD par voie orale, **Khalil et al., 2017** ont prouvé que l'IMD a un effet sur l'homéostasie du glucose chez des rats en développement et des rats adultes, en provoquant une altération d'ARNm des transporteurs de glucose. Les données histopathologiques et immunohistochimiques ont montré des perturbations structurelles dans le tissu pancréatique avec une diminution de l'expression de l'insuline et de GLUT4.

En revanche, l'administration du Formaldéhyde par voie orale avec une dose de 125 mg/kg a provoqué une hyperglycémie chez les rats intoxiqués comparativement aux rats témoins. Cette augmentation est probablement due à l'effet hépatotoxique de ce pesticide qui pourra avoir un effet stimulateur sur la glycolyse hépatique. Le stress est un facteur qui peut influencer aussi sur le contrôle de la glycémie, cela a été démontré dans les résultats précédents concernant le comportement dépressif et anxieux des rats exposé au FA. **(Li et al., 2016)** ont examiné les corrélations entre la consommation d'eau et les modifications l'angiotensine II (ANG II), la vasopressine (AVP), et du formaldéhyde endogène chez des patients atteints de la maladie d'Alzheimer. Les concentrations de formaldéhyde endogène sont positivement corrélées à la sévérité des altérations cognitives des patients atteints de la maladie d'Alzheimer, ce qui suggère que des taux élevés de formaldéhyde incitent ces patients à oublier de boire de l'eau, ce qui aggrave leur déshydratation. Avec son taux endogène élevé, il peut agir comme un facteur de stress qui stimule l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien et élève les niveaux de l'angiotensine II (ANG II) et la vasopressine (AVP). Il s'est avéré que cette dernière (AVP) stimule la voie de la néoglucogénèse et dégrade le glycogène au niveau du cortex rénal, et même elle a un rôle sur la fonction endocrine du pancréas en stimulant la sécrétion du glucagon, cela va aboutir à une augmentation du taux de glucose au niveau sanguin **(Taveau, 2014 ; Li et al., 2016)**.

L'administration orale de l'extrait aqueux de *P. anisum L* a permis de diminuer le taux de glucose dans le sang. Cette diminution a été significative chez les groupes de rats intoxiqués traités. En effet, il a été rapporté que *P. anisum L* provoque une hypoglycémie ou normoglycémie en provoquant une augmentation de la sécrétion d'insuline par les cellules bêta

pancréatique (Nagle et al., 2000). De plus, l'huile essentielle d'anis joue un rôle important dans la protection de l'organisme contre les dommages des radicaux libre qui sont à l'origine de divers facteurs tel que le diabète (El-Hodairy, 2014). L'objectif thérapeutique des patients diabétiques est de maintenir des taux de glycémie proches de la normale, à jeun comme et à l'état postprandial (après le jeûne). De nombreuses ressources naturelles ont α -amylase catalyse l'hydrolyse des liaisons glucosidiques de l'amidon, du glycogène et de divers oligosaccharides (α -1,4-glucosides) et de la α -glucosidase décompose les disaccharides en sucres plus simples, facilement assimilables par l'intestin (Matsui et al., 2007). L'inhibition de l'activité de ces enzymes dans le tube digestif de l'homme est considérée comme efficace pour contrôler le diabète en diminuant l'absorption du glucose hydrolysé à partir de l'amidon par ces enzymes (Shobha et al., 2013). Moins de glucose est absorbé parce que les glucides ne sont pas décomposés en molécules de glucose, menant à une hypoglycémie. Il a été démontré que l'activité des α -glucosidases et des α -amylases est efficacement inhibée par les flavonoïdes et les polyphénols (Tadera et al., 2006). En effet les composés polyphénoliques sont capables d'inhiber les activités des enzymes hydrolysant les glucides, en raison de leur capacité à se lier aux protéines (Shobha et al., 2013). Il a été rapporté que l'amélioration du métabolisme du glucose était apparemment due aux composés phénoliques contenus dans les extraits d'herbes et d'épices culinaires courantes. Comme il a été démontré précédemment, l'anis contient divers composés phénoliques qui soient des composés actifs possibles liés aux activités inhibitrices de l' α -glucosidase et de l' α -amylase. Certain nombre d'études suggèrent que ces composés phénoliques, pourraient avoir un potentiel dans la prévention du diabète de type 2 dans le cadre d'une stratégie alimentaire (Shobha et al., 2013).

5. Impact des pesticides et l'extrait aqueux de *Pimpinella anisum* L. sur l'histologie cérébrale :

L'étude histologique menée sur le cerveau chez les rats exposés subchroniquement aux pesticides a montré des ruptures et des lésions entre les cellules cérébrales des différents groupes.

En ce qui concerne les observations histologiques du cerveau chez les groupes exposés à l'imidaclopride, les coupes histologiques montrent une altération structurale des tissus, marqués par la présence d'une gliose, une dégénérescence de certaines cellules nerveuses, vacuolisation pluricellulaire et une altération des cellules de purkinje. Ces changements histopathologiques sont similaires à ceux rapportés par (Wankhede et al., 2017) qui ont réalisé une étude sur les altérations histopathologiques induites par la toxicité subaiguë de

l'imidaclopride chez la caille japonaise, et qui ont rapporté que l'exposition à ce pesticide induit des modifications histologiques au niveau cérébral présentés par une dégénérescence des neurones, migration nucléaire, vacuolisation, gliose, ainsi qu'une congestion des hémorragies du parenchyme, l'œdème. Un autre travail réalisé par **(Abou-Donia et al., 2008)** sur les déficits neuro-comportementaux suite à une exposition in utero à l'imidaclopride chez les rats de progéniture, il ont indiqué que l'activité de l'AChE dans le cerveau moyen était significativement accrue chez ces descendants mâles, alors que l'activité de l'AChE dans le cortex et le tronc cérébral montrait une élévation significative dans la descendance femelle de rats traités à l'imidaclopride. Une activité accrue de l'AChE dans diverses régions du cerveau peut contribuer aux effets neurotoxiques sur la progéniture résultant d'une diminution de l'ACh et d'une fonction non optimale des récepteurs de l'ACh. **(Day et Greenfield, 2003)** ont montré que l'expression accrue de l'AChE produisait une neurodégénérescence in vivo et in vitro. Ce mécanisme possible implique un afflux d'ions calcium après activation de $\alpha 7$ nAChR et induction d'apoptose neuronale **(Day et Greenfield, 2003 ; Abou-Donia et al., 2008)**. Les insecticides néonicotinoïdes, tels que l'imidaclopride, produisent une gliose généralisée dans le cerveau de la progéniture. L'activation gliale peut résulter de la dégénérescence axonale au niveau du cortex moteur et l'hippocampe **(Atarashi et al., 2001 ; Abou-Donia et al., 2008)**.

Cependant, une autre étude a révélé que l'exposition à l'imidaclopride (80 mg / kg) pendant 28 jours entraînait une neurotoxicité chez le rat, qui se manifestait par des altérations histologiques et ultrastructurales du cerveau. Les coupes de cerveau ont révélé une congestion marquée du cervelet, une dégénérescence de cellules de Purkinje avec perte de dendrites, une vacuolisation autour des neurones, la présence des neurones rétrécis, une chromatolyse et une congestion marquée. D'autres coupes ultra-fines du cerveau ont révélé des mitochondries vacuolaires, des noyaux apoptotiques avec perturbation et margination du matériel chromatinien. Les changements enregistrés dans cette étude pourraient être dus à une accumulation d'imidaclopride et de ses métabolites dans le cerveau **(Soujanya et al., 2012)**. Néanmoins, aucune lésion histopathologique grave n'a été décelée dans les tissus cérébraux des Carpe commune mis à part neurodégénérescence légère **(Özdemir et al., 2018)**.

D'une autre part, l'exposition orale au formaldéhyde à une dose de 125 mg/kg a provoqué des changements structuraux au niveau cérébral marqué par une prolifération des cellules gliales, dégénérescence des cellules de purkinje (au niveau du cervelet), nécrose de certains neurones. Il a été rapporté précédemment que le formaldéhyde pourraient atteindre le

système nerveux et interagir directement avec les cellules et provoque plusieurs altérations pathologiques et structurales (Malek et al., 2003). Selon l'étude de (Huang et al., 2018) l'exposition à de fortes concentrations de formaldéhyde peut provoquer des dommages oxydatifs dans le cerveau, entraînant une inflammation, une lésion neuronale en particulier au niveau de l'hippocampe représentés par des cellules gonflées avec un cytoplasme pâle et une diminution des cellules pyramidales, certaines d'entre elles sont apoptotiques. D'après (Gurel et al., 2005), l'administration de FA provoque des dommages oxydatifs et une altération de la structure et de la fonction des neurones qui se trouve au niveau du cortex frontal et l'hippocampe, semblent être médiés par la production de radicaux. Des modifications dégénératives graves représenté par rétrécissement du cytoplasme, la présence des noyaux picnotiques (Gurel et al., 2005). Il a été démontré aussi que le FA provoque une augmentation du nombre de neurofilaments, un gonflement intra-axonal et une perturbation mitochondriale (Malek et al., 2003).

En outre, les groupes des rats qui ont subi un traitement par l'EAP après leur exposition aux FA et IMD sont apparus avec une architecture cérébrale normale semblable à celle des rats témoins. Ces résultats confirment l'effet neuroprotecteur, le pouvoir antioxydant et effet correcteur apparent sur les troubles neurocomportementaux préalablement rapportés sur *Pimpinella anisum L.*. Son pouvoir antioxydant puissant lui donne la capacité à maintenir la structure des neurones (El-Hodairy., 2014). Ces effets bénéfiques offrent à cette plante le pouvoir d'être utilisé comme un traitement pour certaines maladies neurologiques, y compris les convulsions, l'épilepsie (Kahloula et al., 2013), et même pour la prévention de la maladie d'Alzheimer (Mushtaq et al., 2019).

6. La fonction rénale

6.1. Effets des pesticides et l'extrait aqueux de *Pimpinella anisum L.* sur les paramètres biochimiques et l'histologie rénale:

Dans la présente étude, différents paramètres biochimiques, notamment l'urée, créatinine, l'ASAT, l'ALAT et les phosphatases alcalines, étaient significativement affectés par l'imidaclopride et le formaldéhyde.

Nos résultats montrent que l'exposition orale à une dose de 90 mg/kg de l'imidaclopride à des rats mâles adultes pendant 28 jours a induit une augmentation du taux sérique de l'urée et créatinine. Des résultats similaires ont été rapportés par (Gull et al., 2017) en raison de l'exposition au Thiamethoxam (appartenant à la même famille de notre

insecticide) chez les oiseaux. Cette augmentation a été également rapportée précédemment par (**Kammon et al., 2010**) en raison de l'exposition à l'imidaclopride chez les poussins. L'administration de néonicotinoïdes induit la production de composés azotés, ce qui entraîne une urémie dans laquelle de l'ammoniac toxique est converti en urée non toxique (**Kumar et al., 2010 ; Arfat et al., 2014**). L'augmentation de la créatinine sérique et l'azote uréique sanguin chez le groupe intoxiqué par rapport au groupe témoins est liée à l'insuffisance rénale. La créatinine sérique et l'azote de la circulation sanguine déterminent le débit de filtration glomérulaire (DFG) de manière inappropriée dans l'insuffisance rénale (**Arfat et al., 2014**).

De même, les résultats des analyses au microscope optique appuient les études biochimiques. L'examen histopathologique a révélé des lésions dans les tissus rénaux produits par l'imidaclopride, congestion, dilatation tubulaire, une légère dégénérescence et présence des foyers d'hémorragie due à l'éclatement des veines. (**Arfat et al., 2014**) ont également signalé des signes histopathologiques similaires, à savoir des hémorragies, une dégénérescence vacuolaire des cellules épithéliales tubulaires ainsi qu'une nécrose coagulante focale. D'autres modifications histopathologiques ont été observées par (**Wankhede et al., 2017**), comprenaient des hémorragies interstitielles et une dégénérescence vacuolaire de l'épithélium tubulaire et glomérulaire, avec perturbation de la membrane basale, révélant à nouveau le caractère toxique de l'imidaclopride.

En outre, nous avons observé une augmentation des taux sériques d'urée et de créatinine chez le groupe d'animaux exposés au FA par rapport au groupe non exposé. Nos résultats sont en accord avec ceux de (**Kum et al., 2007 ; Khan et al., 2006 ; De Oliveira Ramos et al., 2017**). Des résultats similaires ont été rapportés par (**Khan et al., 2006**) en raison de l'exposition au formaldéhyde chez les oiseaux, montrent que la concentration élevée d'urée et de créatinine dans le sang pourrait être associée à une insuffisance rénale à des doses élevées de FA.

L'oxydation du Formaldéhyde en acide formique est catalysée par plusieurs enzymes telles que la formaldéhyde déshydrogénase dépendante du NAD (qui nécessite le glutathion (GSH) réduit en tant que cofacteur), la xanthine oxydase, la catalase et la peroxydase (**Kum et al., 2007**). L'augmentation de l'urée peut être associée à la production accrue d'enzymes utilisées dans la détoxification de FA (**Kum et al., 2007; Teng et al., 2001**). Certaines études ont suggéré que la créatinine, le métabolite final de la créatine phosphate, outre ses propriétés antioxydantes, est un marqueur important de la néphrotoxicité. Une augmentation des taux

sériques de créatinine confirme une défaillance de la fonction rénale en raison de l'exposition au FA (**Kunak et al., 2016 ; De Oliveira Ramos et al., 2017 ; Milovanovic et al., 2018**).

Dans notre étude histologique, nous avons observé chez des animaux exposés au formaldéhyde une hypertrophie des cellules tubaires et une dégénérescence tubulaire. Des études antérieures ont rapporté que l'exposition à ce produit fait augmenter l'espace de Bowman et la lumière des tubules rénaux (**De Oliveira Ramos et al., 2017**) ainsi qu'une dégénérescence glomérulaire et tubulaire, une expansion remarquable des tubules distaux, indiquant lésion tissulaire chez les animaux exposés au FA (**Zararsiz et al., 2006**). Dans le même contexte, une autre étude a montré des altérations structurales du tissu rénal marquées par la présence de dégénérescence glomérulaire, formation de vacuoles, dilatation vasculaire et de congestion chez des rats exposés pendant 14 jours au FA (**Zararsiz et al., 2007**). Des modifications morphologiques induites par le FA dans le tissu rénal ont été signalées sous la forme de lésions épithéliales dans les glomérules, d'infiltration de cellules mononucléées, des dégénérescences dans les tubules proximal et distal (**Faghani et al., 2014 ; Aydemir et al., 2017**), en plus d'une infiltration de cellules interstitielles, une desquamation épithéliale et une légère congestion (**Aydemir et al., 2017**).

L'administration orale de *pimpinella anisum L.* à une dose de 500 mg/kg pendant deux semaines a permis de diminuer le taux sérique de l'urée et créatinine. Nos résultats concordent avec les travaux précédents de (**Bekara et al., 2016**) qui ont prouvé que l'administration orale de *pimpinella anisum L.* à des jeunes rats a permis de diminuer le taux sérique de l'urée et créatinine, et que cette plante peut avoir un potentiel néphroprotecteur. Ainsi que l'étude réalisée par (**Aiswarya et al., 2018**), qui a fourni des preuves scientifiques (analyses biochimique et histologique) sur l'effet néphroprotecteur de l'extrait aqueux de *Pimpinella anisum L.* administré par voie orale à des rats exposés à la gentamicine, elle a montré que cet extrait a le pouvoir de diminuer le taux sérique de l'urée, créatinine, acide urique.. *Pimpinella anisum L.* a un effet antioxydant sur la néphroprotection qui pourrait aider à mieux caractériser son mécanisme d'atténuation des lésions rénales (**Aiswarya et al., 2018**). Il est possible que l'alimentation des graines d'anis stimule le foie et les reins à fonctionner plus efficacement (**Al-Shammari et al., 2017**). Les perturbations de la fonction rénale ont pour origine des ROS réactifs ; plusieurs études ont confirmé que les ROS jouent un rôle intermédiaire dans la physiopathologie rénale **Bekara et al., (2016)**. Selon l'étude de **Gulçm et al. (2003)**, l'extrait aqueux de *P. anisum L.* présente un potentiel antioxydant remarquable et la diminution du taux de marqueurs rénaux peut constituer un indice de

diminution des lésions rénales. En outre, l'extrait aqueux de *P. anisum L.* peut avoir un effet correcteur sur la néphrotoxicité, en réduisant les concentrations sériques de marqueurs rénaux et la peroxydation des lipides (LPO) (Bekara et al., 2016), par conséquent, cet effet peut être attribué à l'activité de piégeage des radicaux libres (Rajeshwari et al., 2011). Dans cette même étude, il s'est avéré par ailleurs, que l'extrait aqueux de *Pimpinella anisum L.* a bien joué son effet néphroprotecteur grâce à son pouvoir antioxydant, il a pu restaurer la structure des glomérules et des tubules rénaux et par conséquent de réduire le taux sérique de l'urée, créatinine (Aiswarya et al., 2018). Selon nos résultats, le traitement des rats exposés par l'extrait aqueux de *pimpinella anisium L.* a pu améliorer désorganisation tissulaire causé par les deux pesticides.

7. La fonction hépatique

7.1. Effets des pesticides et de l'extrait aqueux de *Pimpinella anisum L.* sur les paramètres biochimiques et l'histologie hépatique:

Dans la plupart des toxicités liées aux insecticides à savoir l'imidaclopride, le foie est endommagé, en particulier les hépatocytes, en raison de cette détérioration de la membrane des hépatocytes, les enzymes, y compris AST, ALT et PAL situées dans le cytosol des hépatocytes sont drainés dans le sang et l'on observe donc une augmentation du taux sérique (Kammon et al., 2010; Adejumo et al., 2015; Gull et al., 2017; Chakroun et al., 2017). Par ailleurs, Chakroun et al. (2017) ont expliqué l'élévation observée de ces enzymes par un dysfonctionnement du foie attribué à l'effet néfaste de l'IMD sur la membrane cellulaire hépatique. Les résultats obtenus pour l'exploration de la fonction hépatique montrent une élévation du taux sérique de l'ASAT, ALAT, et PAL. Des études antérieures (Bhardwaj et al., 2010; Kapoor et al., 2011; Vohra et Khera., 2016; Chakroun et al., 2017; Gull et al., 2017) avaient déjà démontré que l'IMD induisait une élévation des enzymes hépatiques. L'augmentation de ces enzymes peut être due à un dysfonctionnement du foie et à une perturbation de la biosynthèse de ces enzymes avec une altération de la perméabilité de la membrane du foie (Badawy et al., 2019). Également, Zhang et al. (2011) et Singh et al. (2012) ont rapporté des résultats similaires en raison de l'administration orale de l'acétamipride à des souris.

Cependant, il a été suggéré qu'une augmentation du taux sérique de phosphatase alcaline est due à une lésion des cellules du foie, des reins, de l'intestin grêle et des os,

entraînant la libération de cette enzyme dans les systèmes sanguins (Vohra et Khera., 2016). Selon le travail réalisé par Hedau et al. (2017) sur des cailles japonaises, les activités plasmatiques d'ASAT et d'ALAT étaient significativement supérieures chez le groupe intoxiqué par l'imidaclopride par rapport au groupe témoin. Ces résultats suggèrent que l'administration de cet insecticide provoque des modifications nécrotiques dans le foie, provoquant ainsi une fuite d'enzymes dans le sang. L'élévation de l'activité des enzymes sanguines peut être dû à la dégénérescence et à la nécrose des hépatocytes, qui attribuent à une perméabilité accrue de la membrane cellulaire entraînant la libération de transaminases dans le sang (Arfat et al., 2014). Ces résultats ont été mis en corrélation avec les modifications histopathologiques du foie observées dans notre étude.

Lors de l'examen histopathologique, les coupes histologiques réalisées au niveau du foie des rats intoxiqués par l'IMD ont montré une altération sévère de l'architecture du foie avec une dilatation et congestion capillaires sinusoides, une éosinophilie, vacuolisation cytoplasmique de certain hépatocytes, ainsi qu'une pycnose et une nécrose hépatocytaire. Ces résultats sont en accord avec ceux apportés par beaucoup de travaux récents (Arfat et al., 2014 ; Chakroun et al., 2016 ; Chakroun et al., 2017; Hedau et al., 2017 ; Gull et al., 2017 ; Emam et al., 2018). Des études antérieures avaient montré que l'administration de l'IMD entraînait une dilatation de la veine centrale, triade porte et capillaire des sinusoides (Toor et al., 2013 ; Vohra et al., 2014 ; Chakroun et al., 2017 ; Emam et al., 2018), une vacuolisation (Chakroun et al., 2017 ; Gull et al., 2017 ; Emam et al., 2018) , une congestion sévère des veines centrales, des veines portales et des espaces sinusoidaux , présence des noyaux pycnotiques Chakroun et al., 2017 ,une nécrose (Arfat et al., 2014 ; Chakroun et al., 2017 ; Gull et al., 2017), ainsi qu'une infiltration lymphoïde en tant que signe d'inflammation (Toor et al., 2013 ; Chakroun et al., 2017).

La vacuolisation des hépatocytes peut être due à la rétention de liquide à l'intérieur de la cellule entraînant ce qu'on appelle une dégénérescence hydrophile, un gonflement cellulaire probablement dû à la réduction de l'apport énergétique nécessaire à la régulation de la concentration ionique des cellules, à une anoxie légère ou à court terme, ou stress métabolique (Hedau et al., 2017 ; Emam et al., 2018). De même, la nécrose des hépatocytes, qui attribuent une perméabilité accrue de la membrane cellulaire entraînant la libération de transaminases dans le sang.

D'après les résultats de ce travail, l'exposition des rats au formaldéhyde augmente d'une manière significative le taux sérique de l'ASAT, ALAT et PAL. Ces résultats sont en

accord avec ceux apportés par **(Khan et al., 2006 ; Gerin et al., 2016)**. Une activité accrue des enzymes hépatiques est un indice de lésions hépatiques. Une augmentation significative, proportionnelle à la dose, des concentrations d'ALAT, d'ASAT et PAL a été observé par **(Khan et al., 2006)** suite à une administration par intubation du FA aux oiseaux, causant des dommages hépatiques de degrés variables. Par ailleurs, l'hépatotoxicité induite par le FA peut survenir chez de nombreuses espèces, y compris l'homme, après une injection, une ingestion ou une inhalation. Des études sur l'hépatotoxicité induite par le formaldéhyde ont montré que des taux élevés de ROS et une diminution des taux d'enzymes antioxydantes sont responsables des dommages au foie **(Gulec et al., 2006 ; Bakar et al., 2015)**. La fuite d'ASAT, ALAT et PAL dans le sang et la diminution de la protéine totale et de l'albumine chez le groupe exposé au FA, ont mis en évidence des lésions des cellules hépatiques. Il a été rapporté également que les études macroscopiques, microscopiques et biochimiques du foie montrent des altérations du poids, une vacuolisation centrolobulaire, une nécrose focale cellulaire et une augmentation des concentrations de phosphatase alcaline après une exposition au FA **(Gulec et al., 2006)**. Selon **Gerin et al., (2016)** le FA inhibe également la production d'énergie en détruisant les mitochondries et en causant des lésions hépatocellulaires. Ces résultats concordent avec celles obtenues par notre étude histologique, qui a montré des altérations sévères de l'architecture du foie, à savoir une vasodilatation, une pycnose, une nécrose partielle, une congestion des capillaires sinusoides, ainsi qu'une éosinophilie.

Par ailleurs, le traitement avec l'extrait d'anis a permis de réduire le taux sérique de l'ASAT, l'ALAT et PAL chez les lots intoxiqués. Le résultat que nous avons trouvé est en accord avec celui de **(El-Hodairy, 2014)**. **Asadollahpoor et al. (2019)** ont trouvé que le traitement par l'extrait hydroethanolique ainsi que l'huile essentielle d'anis peut diminuer d'une manière significative le taux sérique de l'ASAT, l'ALAT. D'après **Jamshidzadeh et al. (2015)** les différents extraits et huiles essentielles de fruits d'anis ont une activité hépatoprotectrice à la fois in vitro et in vivo. Les fruits d'anis ont diminué l'hépatotoxicité induite par le CCl₄ (tétrachlorure de carbone) à « Sprague-Dawley rats » ainsi que la lignée de cellules d'hépatome. Le trans-anéthole a montré des activités hépatoprotectrices dans les lésions d'ischémie / reperfusion hépatiques chez la souris avec réduction des taux sériques d'ALAT **(Cho et al., 2013)**.

Toutefois, le groupe des rats intoxiqués par l'IMD ou le formaldéhyde et traités par l'extrait d'anis présentent un tissu hépatique avec une organisation cellulaire semblable à celle

du tissu hépatique de groupe des rats témoins, ce qui indique que le traitement par l'EAP a entraîné une amélioration modérée des dommages histologiques des tissus hépatiques induits par ces pesticides.

8. Effets des pesticides et *Pimpinella anisum L.* sur les paramètres hématologiques :

L'exposition à l'imidaclopride a permis d'enregistrer une diminution significative du taux des globules rouges (RBC), d'hémoglobine (Hb), et d'hématocrite (HTC) chez les rats intoxiqués comparativement aux rats témoins. Nos résultats sont complémentaires à ceux trouvés par (Chakroun et al., 2016 ; Gull et al., 2017) ainsi que les études rapportées par (Pawara Ravindra et Patel Nisar , 2017 ; Inyang et Korogbegha, 2018) sur l'effet de l'imidaclopride chez les poissons. La réduction significative de ces paramètres hématologiques peut être interprétée soit par une augmentation de la lyse des éléments figurés du sang soit par une baisse de leur production. Cela pourrait entraîner une anémie et une leucopénie, comme le rapportent Inyang et Korogbegha (2018). Cela pourrait être dû aux effets du pesticide sur le système hémopoïétique (Kumar et al., 2010).

La réduction du taux d'hémoglobine peut être due à un faible transport d'oxygène dans les tissus (Inyang et Korogbegha, 2018). La diminution de la teneur en hémoglobine indiquée peut être due aussi à une réduction du taux de sa synthèse ou à l'augmentation de son catabolisme. Sa synthèse nécessite du fer qui est généralement obtenu à partir de ferritine stockée et de sources alimentaires, la réduction de l'apport alimentaire général au l'anorexie induite par le pesticide chez le rat expérimental, l'absence d'apport supplémentaire en fer pourraient expliquer la carence en fer essentielle à la synthèse de l'hémoglobine. Une diminution du contenu en Hb peut également être corrélée à la réduction de la taille des globules rouges ou à l'empêchement de la biosynthèse de l'Hème dans la moelle osseuse. Les valeurs d'hématocrite sont directement corrélées au nombre de globules rouges. Il peut en résulter une réduction de la taille ou du nombre d'érythrocytes en raison de la diminution du nombre d'hématocrite chez l'animal intoxiqués (Badawy et al., 2018).

Dans le même contexte l'analyse statistique révèle une élévation du nombre total de leucocytes chez le groupe des rats intoxiqués par l'IMD comparativement aux groupes des rats témoins et intoxiqué traités. Nos résultats sont du même ordre que ceux de (Chakroun et al., 2016 ; Pawara Ravindra et Patel, Nisar , 2017 ; Inyang et Korogbegha, 2018). La raison de cette augmentation pourrait être expliquée par l'activation du système immunitaire et par la présence d'inflammation dans les tissus hépatiques (Yousef et al. 2003). La leucocytose observée indique aussi des dommages dus à une infection des tissus corporels, à un stress

physique important, à une leucémie ou à une mobilisation accrue des leucocytes et peut être directement proportionnelle à la sévérité de la condition de stress causative (**Celik et al. 2009**). Cette possibilité concorde avec notre analyse histopathologique après l'exposition à l'IMD à une dose de 90 mg/kg/jour ayant provoqué une infiltration lymphoïde. En fait, les infiltrats lymphocytaires observés sont un indicateur de l'irritabilité et d'inflammation des cellules.

Les paramètres hématologiques liés au transport de l'oxygène (RBC et Hb), aux mécanismes de défense (WBC) ont tous présenté des altérations marquées entre les groupes témoins et intoxiqués en réponse à l'insecticide Imidaclopride chez les poissons « *Corydoras punctatus* » récemment étudiés, (**Pawara Ravindra et Patel Nisar , 2017**). Une diminution du taux d'hémoglobine, de globules rouges et l'augmentation des globules blancs indiquent des lésions dues à une infection des tissus corporels, à un stress physique important et à une leucémie. (**Pawara Ravindra et Patel Nisar, 2017**). Donc, finalement, l'anémie devient évidente en raison de cette exposition aux pesticides (**Kumar et al., 2010 ; Roy et Nath, 2011 ; Gul et al., 2017**).

Une réduction significative du nombre des thrombocytes a été observée chez les animaux exposés à l'imidaclopride par rapport aux animaux témoins. Ces résultats sont complémentaires aux résultats de (**Gawade et al., 2013**) qui ont indiqués que cette réduction peut provoquer un risque de lymphopénie et d'immunomodulation . Une réduction similaire du nombre de plaquettes et une coagulation sanguine perturbée a également été rapportée dans une étude de toxicité subchronique à l'IMD chez des rats Wistar femelles (**Badgujar et al., 2013**).

Par contre, nos résultats ne concorde pas avec ceux rapportés par (**Chakroun et al., 2016**) qui ont constaté que l'exposition subchronique à l'acrilamide chez les rats wistar a augmenté le taux sérique des thrombocytes. En règle générale, les substances toxiques présentes dans la moelle osseuse, la rate et d'autres organes hématopoïétiques peuvent provoquer une pancytopénie (**Inyang et Korogbegha, 2018**).

En outre, les résultats de l'évaluation des paramètres hématologiques suggèrent que l'administration du Formaldéhyde provoque une réduction significative du taux sérique des érythrocytes, d'hémoglobine, d'hématocrite, des leucocytes, et des thrombocytes chez les animaux intoxiqués par rapport aux animaux témoins. Ces résultats sont cohérents avec plusieurs rapports de littérature (**Zhang et al. 2010 ; Zhang et al. 2013 ; Wei et al., 2016 ; Gerin et al., 2016**). Une diminution significative du taux sérique des globules rouges, de la

concentration d'hémoglobine et du volume de globules rouges chez les oiseaux de groupes ayant reçu du formol à des doses de 15 et 20 mL par tube de culture et de 10 mL/ kg d'aliments a été observée dans l'étude de **Khan et al. (2006)**, cette diminution prouve les effets délétères du formaldéhyde sur le tissu sanguin ne tendance à la baisse de l'érythrogramme chez les oiseaux auxquels a été administré des concentrations plus élevées de formaline, suggère que le FA pourrait avoir un effet inhibiteur sur la synthèse de ces cellules dans la moelle osseuse.

En effet, l'exposition au FA pourrait induire également une toxicité de la moelle osseuse en affectant la croissance et la survie des progéniteurs myéloïdes par le biais du stress oxydatif et des modifications au niveaux de récepteurs CSF (facteurs stimulant les colonies) (**Zhang et al., 2013**).

Le formaldéhyde affecte le système immunitaire et peut entraîner une modification de la quantité de différents types de cellules immunitaires (**Gerin et al., 2016**). Des études antérieures ont signalé que le nombre de globules blancs, les principaux types de cellules myéloïdes, les lymphocytes ainsi que les globules rouges et les plaquettes étaient significativement plus faibles chez les travailleurs exposés aux FA que chez les témoins (**Zhang et al., 2013 ; Wei et al., 2016**). De même, les protéines sériques sont principalement synthétisées dans le foie, la diminution de leur niveau est indicative d'une perturbation dans le système immunitaire (**Khan et al., 2006**).

Toutefois, les analyses hématologiques ont montré que le traitement avec l'extrait de *Pimpinella anisum L.* a permis d'augmenter le nombre des érythrocytes, d'hémoglobine et l'hématocrite. Ces résultats sont en accord avec l'étude précédente de **Al-Shammari et al., (2017)** qui ont indiqué que l'administration des graines d'anis améliore le profil sanguin en augmentant le taux d'hémoglobine, d'hématocrite et le nombre des globules rouges par stimulation de la synthèse érythrocytaire, différenciation cellulaire, ainsi que la circulation sanguine.

9. Analyse des deux pesticides aux niveaux hépatique et cérébral par Chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) :

Des études antérieures ont montré que la concentration des pesticides et de leur métabolites au niveau plasmatique et cérébral était généralement corrélée à la sévérité de la toxicité et aux symptômes de neurotoxicité, qui augmentaient avec la concentration de pesticides dans le cerveau (**Bhardwaj et al., 2010**).

La détermination du taux de l'IMD au niveau cérébral par HPLC, nous a permis de constater que la concentration de ce néonicotinoïde dans le cerveau est significativement supérieure à celle des rats témoins et intoxiqués traités. Cela est en accord avec (**Mohammed et al., 2009 ; Bean et al., 2019**) qui ont prouvé les néonicotinoïdes en général et l'imidaclopride en particulier ont la capacité de traverser la barrière hémato-encéphalique mais avec une faible portion. Dans la présente étude, les changements histologiques cérébraux provoqués par l'imidaclopride sont également une preuve d'accumulation de ce pesticide dans le cerveau. **Bhardwaj et al. (2010)** ont signalé que les cellules de purkinje nécrosées et la perte de granules dans la couche granulaire de cervelet ont également corroboré les effets neurocomportementaux, indiquant une accumulation de l'imidaclopride et de ses métabolites dans le cerveau.

Cependant, le traitement par l'EAP a permis de réduire d'une manière significative le taux de l'IMD au niveau cérébral chez les rats intoxiqués. L'effet agoniste de l'IMD sur les récepteurs nicotiques de l'acétylcholine, va aboutir à un surplus d'acétylcholine, ce dernier est normalement dégradé par l'acétylcholinestérase. Le trans-anéthol en tant qu'un composant majeur de *P. anisum L.* est un anticholinestérasique en agissant par l'inhibition de l'acétylcholinestérase (**Goetz, 2011**). L'inhibition de son action entraîne un allongement de la durée d'action de l'acétylcholine, une très grande quantité de ceci pourrait donc être la cause pour que l'acétylcholine entre en compétition avec l'imidaclopride sur le même site de fixation, ce dernier sera détaché et l'influx nerveux se propage normalement.

En outre, le dosage du formaldéhyde au niveau cérébral est significativement plus important à celui des animaux témoins et intoxiqués traités. Ces résultats sont en accord avec l'étude de **Tong et al. (2016)** qui ont signalé que le taux anormalement élevé de formaldéhyde s'accumule dans l'hippocampe de souris et des rats âgés. Le FA peut facilement passer à travers la barrière hémato-encéphalique, et s'accumule progressivement avec l'âge (**Tong et al., 2016**). Son exposition à long terme peut entraîner une neurotoxicité irréversible (**Luo et al., 2012**). De plus, des concentrations élevées de formaldéhyde ont été observées dans le sang, l'urine et l'hippocampe autopsié de patients atteints la maladie d'Alzheimer, de modèles de rats, ainsi que dans le cerveau de trois modèles de souris transgéniques par de cette maladie. Il s'est avéré en préalable, qu'une petite quantité de cette matière active libre pourraient atteindre le système nerveux en traversant la barrière hémato-encéphalique et interagir directement avec les cellules nerveuses et provoquer plusieurs altérations pathologiques et structurales du système nerveux (**Malek et al., 2003**). De même, il a été

signalé que l'injection du formaldéhyde dans l'hippocampe a entraîné la mort des neurones (Tang et al., 2013 , Tong et al., 2016). Il a été rapporté également que les patients atteints la maladie d'Alzheimer présentent des concentrations élevées de formaldéhyde endogène (Li et al., 2016), et que son accumulation est progressive avec l'âge (Mei et al., 2015 ; Li et al., 2016).

Néanmoins, l'administration de l'EAP aux animaux intoxiqués par le FA a permis de réduire le taux de ce dernier au niveau cérébral. Il est avéré que le FA provoque un stress oxydatif dans le cerveau, et induit des changements dégénératifs dans les neurones de l'hippocampe (Ozmen et al., 2014). Comme nous avons mentionné auparavant, l'extrait de la plante peut être utilisé pour la prévention de la maladie d'Alzheimer, en agissant sur l'hippocampe du cerveau (Mushtaq et al., 2019). Il est bien connu que l'EAP est un puissant antioxydant en empêchant les neurones cholinergiques du cerveau de subir les dommages potentiels de l'AChE. L'activité de l'AChE est renforcée par les agents oxydants dans le cerveau (Rosemberg et al., 2010) et les antioxydants préviennent la perte de mémoire à la fois en réduisant le niveau d'AChE et en empêchant l'accumulation de métabolites protéiques toxiques dans les tissus cérébraux (Frank et Gupta, 2005). Une étude phytochimique de l'EAP a suggéré la présence d'alcaloïdes et des flavonoïdes, caractéristiques de l'activité anti-AChE (Obob et al., 2012). Ceci vas aboutir à une élévation du taux d'Ach. En revanche, le stress oxydatif sévère dans le cerveau provoque une peroxydation des lipides, ce qui augmente le taux de MDA dans les homogénats de cerveau (Mushtaq et al., 2019), ce taux va être réduit par l'utilisation de l'EAP, cela indique un fort potentiel antioxydant de cet extrait. De même, l'EAP a également augmenté le niveau des antioxydants endogènes tels que la SOD, le GSH et le CAT. Ces enzymes sont responsables de la prévention de la peroxydation lipidique et du maintien de la structure des neurones (Koruk et al., 2004).

Vu les altérations biochimiques et histopathologiques du foie, l'imidaclopride et le formaldéhyde induisent une hépatotoxicité remarquable suite à leur exposition subchronique à des doses de 90 mg/kg et 125 mg/kg respectivement. Cela peut confirmer la présence des traces de ces pesticides au niveau hépatique après une analyse par HPLC.

L'apoptose hépatocytaire et la fibrose des tissus hépatiques ont été observées chez l'Eremias argus (petit lézard des terres agricoles), une accumulation nucléaire significative s'est produite chez les groupes intoxiqués par l'IMD, résultant de l'accumulation de métabolites lipidiques (Wang et al., 2014), ce qui indique des dommages importants dus au stress oxydatif dans le foie (Wang et al., 2019). Le glutathion thiotransféras (GST) est l'un

des principaux indicateurs du système de stress antioxydant (Cid et al., 2015). Il a été rapporté que l'IMD induit une baisse de la régulation de l'expression des gènes liés à la GST dans le foie pendant une exposition aiguë (Wang et al., 2018). Il a été signalé également que l'IMD peut causer des effets de stress oxydatif chez d'autres animaux tels que les vers de terre, poissons, zèbres (Ge et al., 2015). Il a été démontré que le thiamethoxam; un néonécotinoïde, entraîne une diminution de l'activité des enzymes hépatiques, des taux élevés de bilirubine et des modifications de la structure hépatique du foie de lapin (El Okle et al., 2018). L'exposition à l'imidaclopride entraîne une diminution significative de l'activité de la superoxyde dismutase hépatique (SOD) et de la concentration de glutathion (GSH) dans le foie des cailles du Japon (Emam et al., 2018).

Par ailleurs, Teng et al. (2001) ont signalé que de faibles niveaux de FA provoquaient un stress oxydatif dans des hépatocytes de rat en augmentant le taux des ROS et en diminuant le taux des enzymes antioxydantes. Il a été mentionné auparavant que l'exposition au formaldéhyde causant des dommages hépatiques de degrés variables y compris, une fuite d'ASAT, ALAT et PAL dans le sang suite aux lésions hépatocellulaires et les altérations histopathologiques sévères (Gulec et al., 2006 ; Bakar et al., 2013 ; Gerin et al., 2016). Le FA développe un effet cytotoxique en formant une réticulation entre les protéines et l'ADN, entraînant des dommages pouvant entraîner un cancer ou la mort cellulaire, et la formation d'espèces réactives peut accélérer ce processus (Saito et al., 2005; Zararsiz et al., 2007).

En effet, l'exposition des animaux intoxiqués par le FA à l'EAP a permis de réduire le taux de ce dernier au niveau hépatique. Cela confirme nos résultats précédents à travers lesquels nous avons conclu que l'extrait de graine d'anis possède des effets protecteurs in vitro et in vivo contre l'hépatotoxicité, probablement en raison de ses constituants antioxydants (Jamshidzadeh et al., 2014). L'activité hépatoprotectrice de cette plante est due de sa richesse en anéthole (Cho et al., 2013).

Conclusion

Et

Perspectives

Les pesticides constituent un enjeu important pour la qualité de notre alimentation et de notre environnement. Ils sont aujourd'hui au cœur d'une problématique d'ordre aussi bien environnementale, avec une contamination de la faune et de la flore, que sanitaire. En effet, de part leurs propriétés toxiques, les pesticides représentent un réel danger pour l'homme lorsqu'ils ne sont pas utilisés dans des conditions appropriées.

L'intérêt de la présente étude était d'évaluer la toxicité subchronique chez les rats mâle adultes des deux pesticides utilisés en Algérie à savoir l'imidaclopride et le formaldéhyde et d'estimer l'effet thérapeutique de *pimpinella anisum L.* sur cette toxicité. À la lumière des résultats obtenus, on peut conclure que :

L'administration de l'IMD et le FA respectivement par voie orale à dose 90 mg/kg/j et 125 mg/kg/j du poids corporel chez les rats mâles adultes entraîne un effet anorexigène, traduit par une réduction du poids corporel ainsi que le poids hépatique et rénal.

L'exposition subchronique aux deux pesticides altère le métabolisme glucidique, en provoquant une hypoglycémie. Cette exposition induit également des perturbations du comportement Par l'installation d'un état anxieux, dépressif, une hypoactivité locomotrice et une atteinte des performances d'apprentissage spatial et de mémorisation, cela à travers l'utilisation de différentes techniques (Open field, FST, Labyrinthe de Barnes/ aquatique).

L'intoxication aux pesticides (IMD et FA) a provoqué également des altérations dans le bilan sanguin qui se traduit par :

- Une perturbation des paramètres biochimiques à savoir la réduction de la concentration plasmatique des biomarqueurs hépatiques (ASAT, ALAT, PAL) et une élévation des biomarqueurs rénaux (urée et créatinine).
- une modification des paramètres hématologiques à savoir la diminution du taux sanguin des érythrocytes, hémoglobine, hématocrite ainsi qu'une augmentation du nombre des thrombocytes.
- Un taux réduit/élevé des leucocytes chez les rats exposé aux IMD et FA respectivement.

En ce qui concerne les analyses histologiques, l'IMD et le FA causent des modifications structurales et des altérations tissulaires des trois organes ; foie, rein, cerveau.

Toutefois, le traitement par *pimpinella anisum L.* à dose de 500mg/kg/j pendant 15 jours a permis de rétablir toutes les valeurs à la normal et atténuer les altérations tissulaires chez les rats intoxiqués par l'IMD et le FA, ce qui confirme le pouvoir thérapeutique de la plante sur le dysfonctionnement de divers organes.

À partir de ces données, nous pouvons conclure que l'extrait aqueux de *pimpinella anisum L.* pourrait avoir un effet bénéfique potentiel sur les perturbations et les troubles neurologiques causés par l'intoxication aux pesticides. Cet effet pourrait être dû au potentiel antioxydant de cette plante, lié à leur richesse en molécules bioactives, essentiellement l'anéthole.

En outre, l'utilisation des pesticides doit être parcimonieuse et doit être réglementée selon le principe de précaution dans le respect de la santé humaine.

Ce travail de recherche peut être complété par des études plus approfondi, et comme perspectives on propose de :

- Evaluation des paramètres de stress oxydatif provoqué par les deux pesticides ainsi que le pouvoir antioxydant de la plante.
- Dosage des différents neurotransmetteurs et l'acétylcholine en particulier qui sont responsables de la neurotoxicité induite par les pesticides.
- Détermination de la composition chimique de l'extrait par HPLC
- Le recours aux cultures cellulaires permet une meilleure appréciation des mécanismes d'action des pesticides sur les différents tissus (cerveau, foie et rein).

Enfin, d'autres études doivent être menées pour savoir que le ou les composés sont responsables de l'effet bénéfique de l'anis et du ou des mécanismes impliqués.

***Références
bibliographiques***

A

- Abd-Elhakim, Y. M., Mohammed, H. H., & Mohamed, W. A.** (2018). Imidacloprid Impacts on Neurobehavioral Performance, Oxidative Stress, and Apoptotic Events in the Brain of Adolescent and Adult Rats. *Journal of agricultural and food chemistry*, 66(51), 13513-13524.
- Aboelnaga, S.** (2015). Effect of some levels of cardamom, clove and anise on hepatotoxicity in rats caused by CCL4. *World Appl Sci J*, 33(6), 854-865.
- Abou-Donia, M. B., Goldstein, L. B., Bullman, S., Tu, T., Khan, W. A., Dechkovskaia, A. M., & Abdel-Rahman, A. A.** (2008). Imidacloprid induces neurobehavioral deficits and increases expression of glial fibrillary acidic protein in the motor cortex and hippocampus in offspring rats following in utero exposure. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 71(2), 119-130.
- ACTA** (2005) Index Phytosanitaire. 41ème éd. Paris. France. 820p.
- Adejumo IO, Ologhobo AD, Babalola TO.** (2015). Effect of pre-planting seed dressers on serum enzymes of laying chickens. *Am Chem Sci J* 9: 1–5.
- Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail** (2008). Risques sanitaires liés à la présence de formaldéhyde dans les environnements intérieurs et extérieurs. Toxicité du formaldéhyde. Etat des connaissances sur la caractérisation des dangers et choix des valeurs toxicologiques de référence (VTR). Avis et rapport d'expertise collective. MaisonsAlfort: Afsset.
- Ahmed, M. M., & Nasr, S. A.** (2015). Protective effect of broccoli and ferulic acid on imidacloprid-induced neurotoxicity in rats. *Journal of Biomedical and Pharmaceutical Research*, 4(4), 82-89.
- Ahmed, S., Tsukahara, S., Yamamoto, S., Kunugita, N., Arashidani, K., & Fujimaki, H.** (2007). Effects of low-level formaldehyde exposure on synaptic plasticity-related gene expression in the hippocampus of immunized mice. *Journal of neuroimmunology*, 186(1-2), 104-111.
- Aiswarya, N., Chandran, V., Teerthanath, S., & Rakesh, K.** (2018). Nephroprotective effect of aqueous extract of Pimpinella anisum in gentamicin induced nephrotoxicity in wistar rats. *Pharmacognosy Journal*, 10(3).
- Aiyegoro, O. A., & Okoh, A. I.** (2010). Preliminary phytochemical screening and in vitro antioxidant activities of the aqueous extract of Helichrysum longifolium DC. *BMC complementary and alternative medicine*, 10(1), 21.

- Akaike, A., Takada-Takatori, Y., Kume, T., & Izumi, Y.** (2010). Mechanisms of neuroprotective effects of nicotine and acetylcholinesterase inhibitors: role of $\alpha 4$ and $\alpha 7$ receptors in neuroprotection. *Journal of Molecular Neuroscience*, 40(1-2), 211-216.
- Akalın, E., Yeşil, Y., & Akpulat, A.** (2016). Fruit anatomy of the Turkish Pimpinella species. *Flora*, 223, 62-73.
- Al – Mashhadani, E. H., K. A. Farah, M. F. Yansoon and Hanan E. Al- Mashhadani,** (2011). Effect of Anise, Thyme essential oils and their mixture (EOM) on broiler performance and some physiological traits. *Egypt, Poult. Sci. Vol. (31) (II): (481 – 489).*
- Albulushi S.M.A., Al Saidi H., Amaresh N et Mullaicharam A.R.** (2014). Study of Physicochemical Properties, Antibacterial and GC-MS Analysis of Essential Oil of the Aniseed (*Pimpinella anisum Linn.*) in Oman. *Research and Reviews: Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. 2, 24-33.
- Al-Mashhadani, E. H., Farah, K., & Al-Jaff, Y.** (2011). Effect of anise, thyme essential oils and their mixture (EOM) on broiler performance and some physiological traits. *Egyptian Poult Sci*, 31(2), 481-489.
- AlSalhi, M. S., Devanesan, S., Alfuraydi, A. A., Vishnubalaji, R., Munusamy, M. A., Murugan, K., Nicoletti, M., Benelli, G.** (2016). Green synthesis of silver nanoparticles using Pimpinella anisum seeds: antimicrobial activity and cytotoxicity on human neonatal skin stromal cells and colon cancer cells. *International journal of nanomedicine*, 11, 4439.
- Al-Sayeda H,** (2007). Transfert d'un insecticide systémique, l'imidaclopride, chez la tomate : implication du transport phloémien. Thèse de Doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse, France, 1-69.
- Al-Shammari, K., Batkowska, J., & Gryzińska, M.** (2017). Effect of various concentrations of an anise seed powder (*Pimpinella anisum L.*) supplement on selected hematological and biochemical parameters of broiler chickens. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 19(1), 41-46.
- Andallu, B., & Rajeshwari, C.** (2011). Aniseeds (*Pimpinella anisum L.*) in health and disease *Nuts and seeds in health and disease prevention* (pp. 175-181): Elsevier.
- Andra, S. S., Austin, C., Patel, D., Dolios, G., Awawda, M., et Arora, M.** (2017). Trends in the application of high-resolution mass spectrometry for human biomonitoring: an analytical primer to studying the environmental chemical space of the human exposome. *Environment international*, 100, 32-61.

- Aprea, C., Lunghini, L., Banchi, B., Peruzzi, A., Centi, L., Coppi, L., Catalano, P.** (2009). Evaluation of inhaled and cutaneous doses of imidacloprid during stapling ornamental plants in tunnels or greenhouses. *Journal of exposure science & environmental epidemiology*, 19(6), 555-569.
- Arfat, Y., Mahmood, N., Tahir, M. U., Rashid, M., Anjum, S., Zhao, F., Li, D., Suna, Y, Hua, L., Zhihao, C., Yina, C., Shang, P** (2014). Effect of imidacloprid on hepatotoxicity and nephrotoxicity in male albino mice. *Toxicology reports*, 1, 554-561.
- Arpino, P., Prévôt, A., Serpinet, J., Tranchant, J., Vergnol, A., & Witier, P.** (1995). Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse. *Ed Masson Paris*.
- Arslan, N., Gürbüz, B., Sarihan, E. O., Bayrak, A., & GÜMÜŞÇÜ, A.** (2004). Variation in essential oil content and composition in Turkish anise (*Pimpinella anisum* L.) populations. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 28(3), 173-177.
- Arts, J. H., Rennen, M. A., & de Heer, C.** (2006). Inhaled formaldehyde: evaluation of sensory irritation in relation to carcinogenicity. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 44(2), 144-160.
- Asadollahpoor, A., Abdollahi, M., & Rahimi, R.** (2019). *Pimpinella anisum* L. fruit: Chemical composition and effect on rat model of nonalcoholic fatty liver disease. *Journal of research in medical sciences: the official journal of Isfahan University of Medical Sciences*, 22.
- Atarashi, R., Sakaguchi, S., Shigematsu, K., Arima, K., Okimura, N., Yamaguchi, N., Li, A., Kopacek, J. and Katamine, S.** (2001). Abnormal activation of glial cells in the brains of prion protein-deficient mice ectopically expressing prion protein-like protein, PrPLP/Dpl. *Molecular Medicine*, 7(12), 803-809.
- Aydemir, S., Beceren, A., Gecim, M., Ozakpinar, O. B., Sehirli, A. O., & Omurtag, G. Z.** (2017). The role of St. John's Wort against formaldehyde toxicity induced by inhalation in rats.
- Aydin, E., Hritcu, L., Dogan, G., Hayta, S., & Bagci, E.** (2016). The effects of inhaled *Pimpinella peregrina* essential oil on scopolamine-induced memory impairment, anxiety, and depression in laboratory rats. *Molecular neurobiology*, 53(9), 6557-6567.

B

- Baan, R., Grosse, Y., Straif, K., Secretan, B., El Ghissassi, F., Bouvard, V., Galichet, L.** (2009). A review of human carcinogens—part F: chemical agents and related occupations: Elsevier.

- Baba-Aïssa F.** (2000), Encyclopédie des Plantes Utiles, Flore d'Algérie et du Maghreb, Substances Végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident. EDAS Algérie.
- Babulka P.** (2004). Les plantes de nos tisanes : L'anis vert (*Pimpinella anisum L.*). *Phytothérapie*, 2(2), 57-59.
- Badawy, M. E., Ismail, A. M., & Ibrahim, A. I.** (2019). Quantitative analysis of acetamiprid and imidacloprid residues in tomato fruits under greenhouse conditions. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 54(11), 898-905.
- Badgujar, P. C., Jain, S., Singh, A., Punia, J., Gupta, R., & Chandratre, G. A.** (2013). Immunotoxic effects of imidacloprid following 28 days of oral exposure in BALB/c mice. *Environmental toxicology and pharmacology*, 35(3), 408-418.
- Bagri, P., Kumar, V., & Sikka, A. K.** (2016). Assessment of imidacloprid-induced mutagenic effects in somatic cells of Swiss albino male mice. *Drug and chemical toxicology*, 39(4), 412-417.
- Bakar, E., Ulucam, E., & Cerkezkayabekir, A.** (2015). Investigation of the protective effects of proanthocyanidin and vitamin E against the toxic effect caused by formaldehyde on the liver tissue. *Environmental toxicology*, 30(12), 1406-1415.
- Baldi I., Lebailly P., Jean S., Rougetet L., Dulaurent S., Marquet P.** (2006). Pesticide contamination of workers in vineyards in France. *Journal of Exposure Science & Environmental Epidemiology*. 16(2): 115-124.
- Bardeau F.**, 2009. Les huiles essentielles, Propriétés et utilisations de l'aromathérapie. édition : Lanore. Collection Santé Pratique 318p
- Barrett, P., Ebling, F.J.P., Schuhler, S., Wilson, D., Ross, A.W., Warner, A., Jethwa, P., Boelen, A., Visser, T.J., Ozanne, D.M., et al.** (2007). Hypothalamic thyroid hormone catabolism acts as a gatekeeper for the seasonal control of body weight and reproduction. *Endocrinology* 148, 3608–3617.
- Baser, K. H. C., & Buchbauer, G.** (2010). Essential oils science, technology, and applications. *Florida, Estados Unidos: CRC Press. doi, 10, 9781420063165-c9781420063163.*
- Baster H. C., Buchbauer, G.** (2009) Handbook of essential oils: Science, Technologie, and application. Edit. CRC. Press, 975p.
- Batikian, C. M., Lu, A., Watanabe, K., Pitt, J., et Gersberg, R. M.** (2019). Temporal pattern in levels of the neonicotinoid insecticide, imidacloprid, in an urban stream. *Chemosphere*, 223, 83-90.

- Bean, T. G., Gross, M. S., Karouna-Renier, N. K., Henry, P. F., Schultz, S. L., Hladik, M. L., Rattner, B. A.** (2019). Toxicokinetics of imidacloprid-coated wheat seeds in Japanese quail (*Coturnix japonica*) and an evaluation of hazard. *Environmental science & technology*, 53(7), 3888-3897.
- Beer A.L, Vartak D, Greenlee M.W** (2013). Nicotine facilitates memory consolidation in perceptual learning. *Neuropharmacology* 64:443–51
- Bekara A., Aithamadouche N., Kahloula K., Sadi N., Aoues A.K.** (2016). Effect of *pimpinella anisum.L* on histological and biochemical damage in cerebrum and cerebellum of young rats intoxicated by lead acetate; *Pharmacology*; vol 1 pp 120-126.
- Belhaouchet N** (2014). Evaluation de la toxicité du Spinosad « insecticide nouvellement introduit en Algérie » sur un modèle expérimental bioindicateur de la pollution « *Helix aspersa* ». These Doctorat LMD. Université Badji Mokhtar-Annaba. 17-82
- Benelli, G., Pavela, R., Petrelli, R., Cappellacci, L., Canale, A., Senthil-Nathan, S., & Maggi, F.** (2018). Not just popular spices! Essential oils from *Cuminum cyminum* and *Pimpinella anisum* are toxic to insect pests and vectors without affecting non-target invertebrates. *Industrial Crops and Products*, 124, 236-243.
- Benzeggouta, N.** (2014). Evaluation des effets biologiques des extraits aqueux de plantes médicinales seules et combinées. Thèse Doctorat, Université Mentouri-Constantine, 118p.
- Besharati-Seidani A., Jabbari A., Yamini Y.** (2005). Headspace solvent microextraction: a very rapid method for identification of volatile components of Iranian *Pimpinella anisum* seed. *Analytica Chimica Acta*, vol.530, pp.155-161.
- Bhagya H.P., Raveendra Y.C., Lalithya K.A.** (2017). Mulibeneficial uses of spices: a brief review. *Acta Sci. Nutr. Health* 1, 3–6.
- Bhardwaj S, Srivastava M.K, Kapoor U, Srivastava L.P** (2010). A 90 days oral toxicity of *Food and Chemical Toxicology*, 48(5), 1185-1190
- Bodereau, B.** (2011). Récepteurs nicotiques neuronaux d'insectes et insecticides : caractérisation de facteurs cellulaires impliqués dans la modulation de l'efficacité des néonicotinoïdes. Thèse Doctorat .Université d'Angers. 124 p. + annexes.
- Bonnard N., Falcy M., Pasquier E. et Protois J.C.** (2008), « Aldéhyde formique et solutions aqueuses. Fiche Toxicologique n°7 ».
- Bonvallot N.** (2014). Application de la metabolomique a l'etude du lien entre les expositions environnementales aux pesticides pendant la grossesse et le developpement de l'enfant. Thèse Doctorat. SEVAB. INRA 256pp

- Boskabady, M., & Ramazani-Assari, M.** (2001). Relaxant effect of Pimpinella anisum on isolated guinea pig tracheal chains and its possible mechanism (s). *Journal of ethnopharmacology*, 74(1), 83-88.
- Bourbia, S.** (2013). Évaluation de la toxicité de mixtures de pesticides sur un bio-indicateur de la pollution des sols *Helix aspersa*, Doctorat Thesis. *Univ Annaba pp177*.
- Brunet, J.-L., Maresca, M., Fantini, J., & Belzunces, L. P.** (2004). Human intestinal absorption of imidacloprid with Caco-2 cells as enterocyte model. *Toxicology and applied pharmacology*, 194(1), 1-9.
- Bruneton J.** (2009). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Tec & Doc Lavoisier, paris. 1292 pages. ISBN: 978-2743011888.
- Bruneton, J.** (1993). Pharmacognosie phytochimie plantes médicinales. Edition Lavoisier Paris. — 1996. Plantes toxiques. Végétaux dangereux pour l'homme et les animaux. Edition Lavoisier, Paris, 529 pp.
- Brüning T, Bartsch R, Bolt HM, Desel H, Drexler H, Gundert-Remy U, Hartwig A, Jäckh R, Leibold E, Pallapies D, Rettenmeier AW, Schlüter G, Stropp G, Sucker K, Triebig G, Westphal G, van Thriel C.** (2014). Sensory irritation as a basis for setting occupational exposure limits. *Arch Toxicol* 88:1855–1879

C

- Caballero, B., Finglas, P., & Toldrá, F.** (2016). *Encyclopedia of food and health*: Academic Press. ISBN : 978-0-12-384953-3.4006p.
- Casida, J. E., & Durkin, K. A.** (2013). Neuroactive insecticides: targets, selectivity, resistance, and secondary effects. *Annual review of entomology*, 58, 99-117.
- Çavaş, T., Çinkılıç, N., Vatan, Ö., & Yılmaz, D.** (2014). Effects of fullereneol nanoparticles on acetamiprid induced cytotoxicity and genotoxicity in cultured human lung fibroblasts. *Pesticide biochemistry and physiology*, 114(7): 1-7.
- Celik, I., Yilmaz, Z., & Turkoglu, V.** (2009). Hematotoxic and hepatotoxic effects of dichlorvos at sublethal dosages in rats. *Environmental Toxicology: An International Journal*, 24(2), 128-132.
- Cengiz, N., Ozbek, H., & Him, A.** (2008). Hepatoprotective effects of Pimpinella anisum seed extract in rats. *Pharmacologyonline*, 3, 870-874.
- Centre International de Recherche sur le Cancer (Circ)** (2006). Résumé de la partie de la monographie sur l'exposition au formaldéhyde et les leucémies. Contribution écrite.

- Chakroun, S., Ezzi, L., Grissa, I., Kerkeni, E., Neffati, F., Bhourri, R., Sallem, A., Fadhel Najjar, M., Hassine, M., Mehdi, M., Haouas, Z.** (2016). Hematological, biochemical, and toxicopathic effects of subchronic acetamiprid toxicity in Wistar rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(24), 25191-25199.
- Chakroun, S., Grissa, I., Ezzi, L., Ammar, O., Neffati, F., Kerkeni, E., Najjar M.F., Haouas.Z., Cheikh, H. B.** (2017). Imidacloprid enhances liver damage in Wistar rats: Biochemical, oxidative damage and histological assessment. *Journal of Coastal Life Medicine*, 5(12), 540-546.
- Charles D.J.** (2013). *Antioxidant Properties of Spices, Herbs and Other Sources*. Springer, New York, 612 pages. ISBN 978-1-4614-4309-4.
- Chatterjee, P. K., Al-Abed, Y., Sherry, B., & Metz, C. N.** (2009). Cholinergic agonists regulate JAK2/STAT3 signaling to suppress endothelial cell activation. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 297(5), C1294-C1306.
- Cherin P., Voronska E., Fraoucene N and De Jaeger C.** Toxicité aiguë des pesticides chez l'homme. *Médecine & Longévité*, 4(2), 68-74.
- Cho, H.-I., Kim, K.-M., Kwak, J. H., Lee, S. K., & Lee, S.-M.** (2013). Protective mechanism of anethole on hepatic ischemia/reperfusion injury in mice. *Journal of natural products*, 76(9), 1717-1723.
- Cid, A., Picado, A., Correia, J. B., Chaves, R., Silva, H., Caldeira, J., Diniz, M. S.** (2015). Oxidative stress and histological changes following exposure to diamond nanoparticles in the freshwater Asian clam *Corbicula fluminea* (Müller, 1774). *Journal of hazardous materials*, 284, 27-34.
- Cloteaux, A.** (2015). *Conception, modélisation et réalisation d'un procédé d'élimination du formaldéhyde dans l'air intérieur*. Thèse Doctorat. Université de Lorraine. 186p.
- Consuelo Amantinic, Massimo Nabissia, Filippo Maggi,** (2018). Aniseed (*Pimpinella anisum* L.) essential oil reduces pro-inflammatory cytokines and stimulates mucus secretion in primary airway bronchial and tracheal epithelial cell lines, *Industrial Crops & Products* 114 .81–86, Elsevier.
- Costa L.G et Aschner M.** (2014). *Toxicology of Pesticides. Reference Module in Biomedical Sciences*, pp.1-9.
- CPP.** (2002). Risques sanitaires liés à l'utilisation des produits phytosanitaires. Comité de la Prévention et de la Protection. <http://www.ecologie.gouv.fr/PPP-Rapport-2002-02-Risques.html>.

D

- Darıci, M., Bergama, D., & Cabaroğlu, T.** (2019). Effect of triple pot still distillation on the volatile compositions during the Raki production. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43(6), e13864.
- David, D., & Arkerman, H.** (2016). Evaluation of the oral toxicity of formaldehyde in rats. *Universa medicina*, 27(3), 106-112.
- De Jaeger C., Cherin P., Fraoucene N et Voronska E.** (2012). Place, intérêt et danger des produits phytosanitaires. *Médecine & Longévité*, vol.4, n° 2, pp.59-67.
- De Oliveira Ramos, C., Nardeli, C. R., Campos, K. K. D., Pena, K. B., Machado, D. F., Bandeira, A. C. B., De Paula Costa, G., Talvani, A., Bezerra, F. S.** (2017). The exposure to formaldehyde causes renal dysfunction, inflammation and redox imbalance in rats. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 69(6), 367-372.
- Debray, M., Jacquemin, H., & Razafindrambao, R.** (1971). Contribution to the inventory of medicinal plants of Madagascar.
- Decourtye, A., Devillers, J., Cluzeau, S., Charreton, M., & Pham-Delègue, M.-H.** (2004). Effects of imidacloprid and deltamethrin on associative learning in honeybees under semi-field and laboratory conditions. *Ecotoxicology and environmental safety*, 57(3), 410-419.
- Decourtye, A., Lacassie, E., & Pham-Delègue, M. H.** (2003). Learning performances of honeybees (*Apis mellifera* L) are differentially affected by imidacloprid according to the season. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, 59(3), 269-278.
- Degryse, A., Delpla, I., & Voinier, M.** (2008). Risques et bénéfices possibles des huiles essentielles. *Rapport de stage en vue de l'obtention du diplôme d'ingénieur du génie sanitaire*.
- Delmas, C., Weiler, A.-S., Ortega, S., Duong, O., Dazy, A., Ott, M., Schneider, C., Moritz, R., Leclec, N., Rivière, E.** (2016). Mesure de la concentration aérienne de COV terpéniques (dont le limonène) selon plusieurs procédures lors de pulvérisations d'un mélange d'huiles essentielles. *Revue Française d'Allergologie*, 56(4), 357-363.
- Devan, R. S., Mishra, A., Prabu, P., Mandal, T., & Panchapakesan, S.** (2015). Sub-chronic oral toxicity of acetamiprid in Wistar rats. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 97(9), 1236-1252.
- Djeffal A.** (2014) Evaluation de la toxicité d'un insecticide carbamate « méthomyl » chez le rat Wistar : Stress oxydant et exploration des effets protecteurs de la supplémentation en sélénium et/ou en vitamine C. Thèse Doctorat. Université Badji Mokhtar-Annaba. 132pp.

Dohou, R., Yamni, K., Tahrouch, S., Hassani, L. I., Badoc, A., & Gmira, N. (2003). Screening phytochimique d'une endémie iberomarocaine, *Thymelaea lythroïdes*. *Bulletin-Société de Pharmacie de Bordeaux*, 142(1/4), 61-78.

Dou, X. J., Zhang, Y., & Wu, Y. H. (2012). Study on neurotoxicity of formaldehyde in mice. *Toxicology and Environmental Health Sciences*, 4(2), 115-120.

Druart, C. (2011). *Effets des pesticides de la vigne sur le cycle biologique de l'escargot dans divers contextes d'exposition*. Thèse Doctorat. Université de Franche-Comté.316p.

Drukarch, B., Flier, J., Jongenelen, C., Andringa, G., & Schoffemeer, A. (2006). The antioxidant anethole dithiolethione inhibits monoamine oxidase-B but not monoamine oxidase A activity in extracts of cultured astrocytes. *Journal of neural transmission*, 113(5), 593-598.

Duzguner, V., & Erdogan, S. (2010). Acute oxidant and inflammatory effects of imidacloprid on the mammalian central nervous system and liver in rats. *Pesticide biochemistry and physiology*, 97(1), 13-18.

E

Ekaluo, U. B., Ibiang, Y. B., Ikpeme, E. V., Ekanem, B. E., & Erem, F. A. (2013). Effect of deltamethrin and ridomil on sperm parameters and reproductive hormones of male albino rats. *Toxicology and Environmental Health Sciences*, 5(1), 9-14.

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(5), 4678-4689.

El-Hodairy, F. (2014). Neuroprotective effects of *pimpinella anisum* on neurotoxicity induced by bisphenol a on normal and diabetic rats. *Int J Pharm Pharm Sci*, 6(3), 9-12.

Elshaer N.S.M., Mahmoud M.A.E. (2017) Toxic effects of formalintreated cadaver on medical students, staff members, and workers in the Alexandria Faculty of Medicine. *Alexandria J Med* 53, 337–343.

Elshaer, N. S. M., & Mahmoud, M. A. E. (2017). Toxic effects of formalin-treated cadaver on medical students, staff members, and workers in the Alexandria Faculty of Medicine. *Alexandria journal of medicine*, 53(4), 337-343.

Emam, H., Ahmed, E., & Abdel-Daim, M. (2018). Antioxidant capacity of omega-3-fatty acids and vitamin E against imidacloprid-induced hepatotoxicity in Japanese quails. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(12), 11694-11702.

Emamghoreishi, M., Khasaki, M., & Aazam, M. F. (2005). Coriandrum sativum: evaluation of its anxiolytic effect in the elevated plus-maze. *Journal of ethnopharmacology*, 96(3), 365-370.

F

Faghani, M., Kohestani, Y., Nasiri, E., Moladoust, H., & Mesbah, M. (2014). Protective effect of Vitamin E on formaldehyde-induced injuries in the rat kidney. *Gene, Cell and Tissue*, 1(3).

Farooqui, T. (2013). A potential link among biogenic amines-based pesticides, learning and memory, and colony collapse disorder: a unique hypothesis. *Neurochemistry international*, 62(1), 122-136.

Farzaneh, V., Gominho, J., Pereira, H., & Carvalho, I. S. (2018). Screening of the antioxidant and enzyme inhibition potentials of portuguese Pimpinella anisum L. seeds by GC-MS. *Food Analytical Methods*, 11(10), 2645-2656.

Foroughi, A., Pournaghi, P., Najafi, F., Zangeneh, A., Zangeneh, M. M., & Moradi, R. (2016). Antibacterial effect and phytochemical screening of essential oil of Pimpinella anisum against Escherichia coli O157: H7 and Staphylococcus aureus. *Int J Current Med Pharm Res*, 7(6), 367-371.

Frank, B., & Gupta, S. (2005). A review of antioxidants and Alzheimer's disease. *Annals of Clinical Psychiatry*, 17(4), 269-286.

G

Gamberini, M. T., Rodrigues, D. S., Rodrigues, D., & Pontes, V. B. (2015). Effects of the aqueous extract of Pimpinella anisum L. seeds on exploratory activity and emotional behavior in rats using the open field and elevated plus maze tests. *Journal of ethnopharmacology*, 168, 45-49.

García, K., Salazar, M., & García, J. (2018). Efecto del neonicotinoide-tiametoxam en el desarrollo embrionario del pez cebra (Danio rerio). *Rev. Toxicol*, 35, 22-27.

Gasmi S.(2018). Neurotoxicité de deux pesticides (Acetamipride et Deltamethrine) et la prévention de cette toxicité par la quercétine chez le rat, Thèse Doctorat, Université de Tébéssa. 217p.

Gawade, L., Dadarkar, S. S., Husain, R., & Gatne, M. (2013). A detailed study of developmental immunotoxicity of imidacloprid in Wistar rats. *Food and Chemical Toxicology*, 51, 61-70.

- Gazengel J-M., Orecchioni A-M.** (2013). Le préparateur en pharmacie. 2ème édition. Ed. Lavoisier, Paris, 2013.
- Ge, W., Yan, S., Wang, J., Zhu, L., Chen, A., & Wang, J.** (2015). Oxidative stress and DNA damage induced by imidacloprid in zebrafish (*Danio rerio*). *Journal of agricultural and food chemistry*, 63(6), 1856-1862.
- Gerin, F., Erman, H., Erboğa, M., Sener, U., Yılmaz, A., Seyhan, H., & Gurel, A.** (2016). The effects of ferulic acid against oxidative stress and inflammation in formaldehyde-induced hepatotoxicity. *Inflammation*, 39(4), 1377-1386.
- Gharib, R., Greige-Gerges, H., Jraij, A., Auezova, L., & Charcosset, C.** (2016). Preparation of drug-in-cyclodextrin-in-liposomes at a large scale using a membrane contactor: Application to trans-anethole. *Carbohydrate polymers*, 154, 276-286.
- Ghazi, A., Ghani, F. H., & Mohsin, N. M.** (2019). In Vitro Regeneration of *Pimpinella Anisum* L. Using Different Plant Growth Regulators. *Iraqi Journal of Science*, 60(4), 715-723.
- Gheffour, K., Boucherit, K., & Boucherit-Otmani, Z.** (2015). Étude phytochimique et évaluation de l'activité antioxydante des extraits d'*Echinops spinosus*. *Phytothérapie*, 13(5), 288-294.
- Giovanni Benellia,b; Roman Pavelac,d, Riccardo Petrelle; Loredana Cappellacic; Angelo Canalea; Sengottayan Senthil-Nathanf; Filippo Maggie.** (2018). Not just popular spices. Essential oils from *Cuminum cyminum* and *Pimpinella anisum* are toxic to insect pests and vectors without affecting non-target invertebrates, *Industrial Crops & Products* 124 (2018) 236–243, Elsevier
- Gómez, A.** (2013). Neonicotinoides versus abejas. *Consultores apícolas, asistencia técnica y formación. Castellón, España.*
- Goulson, D.** (2013). An overview of the environmental risks posed by neonicotinoid insecticides. *Journal of Applied Ecology*, 50(4), 977-987.
- Gul, S. T., Khan, A., Farooq, M., Niaz, S., Ahmad, M., Khatoon, A., Hassan, M. F.** (2017). Effect of sub lethal doses of thiamethoxam (a pesticide) on hemato-biochemical values in cockerels. *Pak Vet J*, 37(2), 135-138.
- Gülçın, İ., Oktay, M., Kireççi, E., & Küfrevioğlu, Ö. İ.** (2003). Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. *Food chemistry*, 83(3), 371-382.

Gulec, M., Gurel, A., & Armutcu, F. (2006). Vitamin E protects against oxidative damage caused by formaldehyde in the liver and plasma of rats. *Molecular and cellular biochemistry*, 290(1-2), 61-67.

Guler GO, Cakmak YS, Dagli Z, Aktumsek A and Ozparlak H (2010) Organochlorine pesticide residues in wheat from Konya region, Turkey. *Food and Chemical Toxicology* 48: 1218-1221

Gurel A , Coskun O , Armutcu F , Kanter M , Ozen OA (2005). Vitamin E against oxidative damage caused by formaldehyde in frontal cortex and hippocampus: biochemical and histological studies . *J. Chem. Neuroanat* . 29 : 173 – 178 .

H

Handa S.S. (2008) An Overview of Extraction Techniques for Medicinal and Aromatic Plants. In: Handa S.S., Khanuja S.P.S., Longo G., Rakesh D.D. (Eds) *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants*. International Centre For Science and High Technology, Trieste, Italy. p 21-54.

Hashem, A. S., Awadalla, S. S., Zayed, G. M., Maggi, F., & Benelli, G. (2018). Pimpinella anisum essential oil nanoemulsions against *Tribolium castaneum*—insecticidal activity and mode of action. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(19), 18802-18812.

Hasselmo, M. E. (2006). The role of acetylcholine in learning and memory. *Current opinion in neurobiology*, 16(6), 710-715.

Hauptmann M., Stewart P. A., Lubin J.H., Beane Freeman L.E., Hornung R.W., Herrick R.F., Hoover R.N., Fraumeni J.F., Aaron Blair Jr., Hayes R.B (2009). Mortality from lymphohematopoietic malignancies and brain cancer among embalmers exposed to formaldehyde. *Journal of the National Cancer Institute*, 101(24), 1696-1708.

Hedau, M., Wankhede, V., & Wade, M. (2018). Effect of *Butea monosperma* feeding in ameliorating the toxicity of imidacloprid in liver in Japanese quails. *Indian Journal of Animal Research*, 52(12), 1766-1769.

Hellal, A. A., & Haderbache, K. (2011). *Les techniques d'extraction des huiles essentielles par: micro ondes*: Éditions universitaires européennes. ISBN: 9786131500916

Hernandez, F., Madrid, J., Garcia, V., Orengo, J., & Megias, M. (2004). Influence of two plant extracts on broilers performance, digestibility, and digestive organ size. *Poultry science*, 83(2), 169-174.

- Hernandez, J., Volland, A., Leyshon, B., Juda, M., Ridlon, J. M., Johnson, R. W., & Steelman, A. J.** (2018). Effect of imidacloprid ingestion on immune responses to porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Scientific Reports*, 8(1), 1-13.
- Herrero-Hernández, E., Rodríguez-Cruz, M. S., Pose-Juan, E., Sánchez-González, S., Andrades, M. S., & Sánchez-Martín, M. J.** (2017). Seasonal distribution of herbicide and insecticide residues in the water resources of the vineyard region of La Rioja (Spain). *Science of the Total Environment*, 609, 161-171.
- Hladik, M. L., Main, A. R., & Goulson, D.** (2018). Environmental risks and challenges associated with neonicotinoid insecticides: ACS Publications.
- Hopkins, W. G.** (2003). *Physiologie végétale: De Boeck Supérieur*: 514p. ISBN: 9782744500893.
- Hosseinzadeh, H., Tafaghodi, M., Abedzadeh, S., & Taghiabadi, E.** (2014). Effect of aqueous and ethanolic extracts of Pimpinella anisum L. seeds on milk production in rats. *Journal of acupuncture and meridian studies*, 7(4), 211-216.
- Houlot, R.** (1984). Techniques d'histologie et de cytologie. Paris: Edition Maloine human disease: an overview. *Methods Enzymol*, 186, 1-85.
- Huang, S., Zhu, X., Cheng, B., Yu, J., & Jiang, C.** (2018). Flexible nickel foam decorated with Pt/NiO nanoflakes with oxygen vacancies for enhanced catalytic formaldehyde oxidation at room temperature. *Environmental Science: Nano*, 4(11), 2215-2224.
- Hussein, M., Singh, V., & Singh, A.** (2017). Effects on biochemical parameters in chick embryos after single exposure of Imidacloprid. *Journal of the Anatomical Society of India*, 66, S58.

I

- Iannarelli, R., Marinelli, O., Morelli, M. B., Santoni, G., Amantini, C., Nabissi, M., & Maggi, F.** (2018). Aniseed (Pimpinella anisum L.) essential oil reduces pro-inflammatory cytokines and stimulates mucus secretion in primary airway bronchial and tracheal epithelial cell lines. *Industrial Crops and Products*, 114, 81-86.
- Ince S, Kucukkurt I, Demirel HH, Turkmen R, Zemheri F, Akbel E** (2013).. The role of thymoquinone as antioxidant protection on oxidative stress induced by imidacloprid in male and female Swiss albino mice. *Toxicol Environ Chem* 2013; 95: 318-29.
- Institut de veille sanitaire (2006).** Exposition professionnelle au formaldéhyde et effets sur la santé. Rapport d'expertise réalisé à la demande de la Direction Générale du Travail. SaintMaurice: Invs.

International Program on Chemical Safety (IPCS). Concise International Chemical Assessment Documents CICAD n°40. Formaldehyde. OMS, UNEP, ILO. 2002.

Inyang I.R, Korogbegha T.F (2018). Haematological and Biochemical Responses of *Heterobranchus bidorsalis* to Imidacloprid. *Annals of Ecology and Environmental Science* ; 2(2):41-46.

J

Jacquot.M. Usage des rodenticides anticoagulants et conséquences en termes d'exposition et d'impact pour les populations de Renard roux. *Ecologie, Environnement.* Université de Franche-Comté, 2013.

Jaffer, H., Mahmood, M., Jawad, A., Naji, A., & AL-Naib, A. (1983). Phytochemical and biological screening of some Iraqi plan *Fitoterapia Lix* 299.

Jakubowski M., and Trzcinka-Ochocka M. (2005). Biological monitoring of exposure: trends and key developments. *Journal of occupational health*, 47(1), 22-48.

Jamroz, D., & Kamel, C. (2002). Plant extracts enhance broiler performance. In non-ruminant nutrition: Antimicrobial agents and plant extracts on immunity, health and performance.

Jamshidzadeh, A., Heidari, R., Razmjou, M., Karimi, F., Moein, M. R., Farshad, O., Akbarizadeh, O.R., Shayesteh, M. R. H. (2015). An in vivo and in vitro investigation on hepatoprotective effects of *Pimpinella anisum* seed essential oil and extracts against carbon tetrachloride-induced toxicity. *Iranian journal of basic medical sciences*, 18(2), 205.

Janahmadi, M., Farajnia, S., Vatanparast, J., Abbasipour, H., & Kamalinejad, M. (2008). The fruit essential oil of *Pimpinella anisum* L.(Umbelliferae) induces neuronal hyperexcitability in snail partly through attenuation of after-hyperpolarization. *Journal of ethnopharmacology*, 120(3), 360-365.

Jeschke, P. et Nauen, R. (2008). Neonicotinoids-from zero to hero in insecticide chemistry. *Pest Management Science* 64, 1084-1098

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.

Jouault S. (2012). La qualité des huiles essentielles et son influence sur leur efficacité et sur leur toxicité. Thèse de doctorat d'état en pharmacie. Université de Lorraine. Faculté de pharmacie. France. 137 p.

K

- Kahloula, K., Adli, D. E. H., Slimani, M., Terras, H., & Achour, S.** (2014). Effet de l'exposition chronique au nickel sur les fonctions neurocomportementales chez les rats Wistar pendant la période de développement. *Toxicologie Analytique et Clinique*, 26(4), 186-192.
- Kahloula, K., Slimani, M., Adli, D. E. H., Rachdi, S., & Boumediene, D.** (2013). Neuro beneficial effects of *Pimpinella anisum* against lead exposure. *International Journal of Green Pharmacy (IJGP)*, 7(1).
- Kaloustian, J., & Hadji-Minaglou, F.** (2012). *La connaissance des huiles essentielles: qualilogie et aromathérapie; Entre science et tradition pour une application médicale raisonnée*: Springer. 210p.
- Kammon, A. M., Brar, R. S., Banga, H. S., & Sodhi, S.** (2010). Patho-biochemical studies on hepatotoxicity and nephrotoxicity on exposure to chlorpyrifos and imidacloprid in layer chickens. *Veterinarski arhiv*, 80(5), 663-672.
- Kapoor, U., Srivastava, M., & Srivastava, L.** (2011). Toxicological impact of technical imidacloprid on ovarian morphology, hormones and antioxidant enzymes in female rats. *Food and Chemical Toxicology*, 49(12), 3086-3089.
- Karatas, A. D.** (2009). Severe central nervous system depression in a patient with acute imidacloprid poisoning. *The American journal of emergency medicine*, 27(9), 1171. e1175-1171. e1177.
- Karimzadeh, F., Hosseini, M., Mangeng, D., Alavi, H., Hassanzadeh, G. R., Bayat, M., Gorji, A.** (2012). Anticonvulsant and neuroprotective effects of *Pimpinella anisum* in rat brain. *BMC complementary and alternative medicine*, 12(1), 76.
- Kenney, J. W., & Gould, T. J.** (2008). Modulation of hippocampus-dependent learning and synaptic plasticity by nicotine. *Molecular neurobiology*, 38(1), 101-121.
- Kfoury, M., Auezova, L., Greige-Gerges, H., Ruellan, S., & Fourmentin, S.** (2014). Cyclodextrin, an efficient tool for trans-anethole encapsulation: Chromatographic, spectroscopic, thermal and structural studies. *Food chemistry*, 164, 454-461.
- Khalid A.K.** (2015). Quality and quantity of *Pimpinella anisum L.* essential oil treated with macro and micronutrients under desert conditions. *International Food Research Journal*, 22(6), 2396-2402.
- Khalil, S. R., Awad, A., Mohammed, H. H., & Nassan, M. A.** (2017). Imidacloprid insecticide exposure induces stress and disrupts glucose homeostasis in male rats. *Environmental toxicology and pharmacology*, 55, 165-174.

- Khan, A., Hussain, S., & Khan, M.** (2006). Effects of formalin feeding or administering into the crops of white leghorn cockerels on hematological and biochemical parameters. *Poultry science*, 85(9), 1513-1519.
- Khanzode, S. D., Dakhale, G. N., Khanzode, S. S., Saoji, A., & Palasodkar, R.** (2003). Oxidative damage and major depression: the potential antioxidant action of selective serotonin re-uptake inhibitors. *Redox Report*, 8(6), 365-370.
- Kidd, H., James, D.R., (Eds.)**, (1991). *The Agrochemicals Handbook*, third ed. Royal Society of Chemistry Information Services, Cambridge, UK, pp. 10–12
- Kim K.H, Kabir E et Jahan S.A.** (2016). Exposure to pesticides and the associated human health effects. *Science of the Total Environment*, 575, 525-535.
- Kim, J., Park, Y., Yoon, K. S., Clark, J. M., & Park, Y.** (2013). Imidacloprid, a neonicotinoid insecticide, induces insulin resistance. *The Journal of toxicological sciences*, 38(5), 655-660.
- Kimbaris, A. C., Koliopoulos, G., Michaelakis, A., & Konstantopoulou, M. A.** (2012). Bioactivity of *Dianthus caryophyllus*, *Lepidium sativum*, *Pimpinella anisum*, and *Illicium verum* essential oils and their major components against the West Nile vector *Culex pipiens*. *Parasitology research*, 111(6), 2403-2410.
- Knoferle, J., Yoon, S. Y., Walker, D., Leung, L., Gillespie, A. K., Tong, L. M., Huang, Y.** (2014). Apolipoprotein E4 produced in GABAergic interneurons causes learning and memory deficits in mice. *Journal of Neuroscience*, 34(42), 14069-14078.
- Koriem, K. M. M.** (2015). Approach to pharmacological and clinical applications of Anisi aetheroleum. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5(1), 60-67.
- Koruk, M., S. Taysi, M. C. Savas, O. Yilmaz, F. Akcay, and M. Karakok** (2004). Oxidative stress and enzymatic antioxidant status in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Ann Clin Lab Sci*. 34(1): 57-62
- Kosalec, I., Pepeljnjak, S., & Kuštrak, D.** (2005). Antifungal activity of fluid extract and essential oil from anise fruits (*Pimpinella anisum* L., Apiaceae). *Acta Pharmaceutica*, 55(4), 377-385.
- Kraeuter, A.-K., Guest, P. C., & Sarnyai, Z.** (2019). The open field test for measuring locomotor activity and anxiety-like behavior *Pre-Clinical Models* (pp. 99-103): Springer.
- Kraft K., Hobbs C.** (2004) *Pocket Guide to Herbal Medicine*. Thieme, Stuttgart, New York. p16.

Ksheerasagar, R. L., & Kaliwal, B. B. (2003). Temporal effects of mancozeb on testes, accessory reproductive organs and biochemical constituents in albino mice. *Environmental toxicology and pharmacology*, 15(1), 9-17.

Kuşçuoğlu, Z., Zararsız, Y., İmmez HR, Özdemir T, Ürküoğlu A, Pekmez H, Sarsılmaz M (2004) the protective effects of melatonin hormone against exposure of formaldehyde-induced oxidative damage in prefrontal cortex of rats. *E. Ü. J. Health Sci.* 13 : 1 – 7 .

Kum, C., Sekkin, S., Kiral, F., & Akar, F. (2007). Effects of xylene and formaldehyde inhalations on renal oxidative stress and some serum biochemical parameters in rats. *Toxicology and industrial health*, 23(2), 115-120.

Kumar VA, Janaiah C, Venkateshwarlu P. (2010). Effect of thiamethoxam alters serum biochemical parameters in *Channa punctatus* (Bloch). *Asian J Bio Sci* 5:106–10.

Kunak, C. S., Ugan, R. A., Cadirci, E., Karakus, E., Polat, B., Un, H., Karaman, A. (2016). Nephroprotective potential of carnitine against glycerol and contrast-induced kidney injury in rats through modulation of oxidative stress, proinflammatory cytokines, and apoptosis. *The British journal of radiology*, 89(1058), 20140724.

Kutlu MG, Gould TJ (2015) Nicotine modulation of fear memories and anxiety: implications for learning and anxiety disorders. *Biochem Pharmacol* 97:498–511

Ł

Laforest L, Luce D, Goldberg P, Bégin D, Gérin M, Demers PA, et al. (2000). Laryngeal and hypopharyngeal cancers and occupational exposure to formaldehyde and various dusts: a case-control study in France. *Occup Environ Med.* 57(11):767-73.

Laguznez R.L., (2006). Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffée par induction thermomagnétique directe. Thèse Doctorat, Institut national polytechnique de Toulouse. P. : 15- 35.

Lan, Q., Smith, M. T., Tang, X., Guo, W., Vermeulen, R., Ji, Z., . . . McHale, C. M. (2015). Chromosome-wide aneuploidy study of cultured circulating myeloid progenitor cells from workers occupationally exposed to formaldehyde. *Carcinogenesis*, 36(1), 160-167.

Langhout, P. (2000). New additives for broiler chickens. *World Poult.* Elsevier. 16: 22-27.

Le Novère, N., & Changeux, J.-P. (2001). LGICdb: the ligand-gated ion channel database. *Nucleic acids research*, 29(1), 294-295.

Li, J., Galley, M., Brockett, C., Spithourakis, G. P., Gao, J., & Dolan, B. (2016). A persona-based neural conversation model. *arXiv preprint arXiv:1603.06155*.

Lis-Balchin, M. (2006). *Aromatherapy science: a guide for healthcare professionals*: Pharmaceutical press.London.

Lonare, M., Kumar, M., Raut, S., More, A., Doltade, S., Badgujar, P., et Telang, A. (2014). Evaluation of ameliorative effect of curcumin on imidacloprid-induced male reproductive toxicity in wistar rats. *Environmental toxicology*, 31(10), 1250-1263.

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

Louat, F. (2013). *Etude des effets liés à l'exposition aux insecticides chez un insecte modèle, Drosophila melanogaster*. Université d'Orléans. 224p.

Lu Z., Li C. M., Qiao Y., Yan Y. and Yang X. (2008) Effect of inhaled formaldehyde on learning and memory of mice. *Indoor Air* 18, 77– 83

Luo, F.-C., Zhou, J., Lv, T., Qi, L., Wang, S.-D., Nakamura, H., Bai, J. (2012). Induction of endoplasmic reticulum stress and the modulation of thioredoxin-1 in formaldehyde-induced neurotoxicity. *Neurotoxicology*, 33(3), 290-298.

Lushchak, V. I., Matviishyn, T. M., Husak, V. V., Storey, J. M., & Storey, K. B. (2018). Pesticide toxicity: a mechanistic approach. *EXCLI journal*, 17, 1101.

M

Malek, F. A., Möritz, K.-U., & Fanghänel, J. (2004). Effects of a single inhalative exposure to formaldehyde on the open field behavior of mice. *International journal of hygiene and environmental health*, 207(2), 151-158.

Malek, F., Möritz, K.-U., & Fanghänel, J. (2003). A study on the effect of inhalative formaldehyde exposure on water labyrinth test performance in rats. *Annals of Anatomy-Anatomischer Anzeiger*, 185(3), 277-285.

Malhotra S.K., (2012). Fennel and fennel seed. In: *Handbook of Herbs and Spices: Volume 2*. Woodhead Publishing Limited, 275–302.

Matsui, T., Tanaka, T., Tamura, S., Toshima, A., Tamaya, K., Miyata, Y., Tanaka, K., and Matsumoto, K. (2007). α -Glucosidase inhibitory profile of catechins and theaflavins. *J. Agric. Food Chem.*, 55, 99-105.

Matsuoka, T., Takaki, A., Ohtaki, H., & Shioda, S. (2010). Early changes to oxidative stress levels following exposure to formaldehyde in ICR mice. *The Journal of toxicological sciences*, 35(5), 721-730.

- McGregor, D., Bolt, H., Cogliano, V., & Richter-Reichhelm, H.-B.** (2006). Formaldehyde and glutaraldehyde and nasal cytotoxicity: case study within the context of the 2006 IPCS Human Framework for the Analysis of a cancer mode of action for humans. *Critical reviews in toxicology*, 36(10), 821-835.
- Mei, Y., Jiang, C., Wan, Y., Lv, J., Jia, J., Wang, X., Tong, Z.** (2015). Aging-associated formaldehyde-induced norepinephrine deficiency contributes to age-related memory decline. *Aging cell*, 14(4), 659-668.
- Meister, R.T. (Ed.)**, (1995). Farm Chemicals Handbook. Meister Publishing Company, Willoughby, OH.
- Merhi, M.** Etude de l'impact de l'exposition à des mélanges de pesticides à faibles doses : caractérisation des effets sur des lignées cellulaires humaines et sur le système hématopoïétique murin. Pathologie, Toxicologie, Génétique & Nutrition .Toulouse. : Université de Toulouse, 2008, p249
- Milovanovic, V., Buha, A., Matovic, V., Curcic, M., Vucinic, S., Nakano, T., & Antonijevic, B.** (2018). Oxidative stress and renal toxicity after subacute exposure to decabrominated diphenyl ether in Wistar rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(8), 7223-7230.
- Moffat, C., Buckland, S. T., Samson, A. J., McArthur, R., Pino, V. C., Bolland, K. A., Huang, J.T., Connolly, C. N.** (2016). Neonicotinoids target distinct nicotinic acetylcholine receptors and neurons, leading to differential risks to bumblebees. *Scientific Reports*, 6, 24764.
- Mohamed, A. A.-R., Mohamed, W. A., & Khater, S. I.** (2017). Imidacloprid induces various toxicological effects related to the expression of 3 β -HSD, NR5A1, and OGG1 genes in mature and immature rats. *Environmental Pollution*, 221, 15-25.
- Mohamed, F., Gawarammana, I., Robertson, T. A., Roberts, M. S., Palangasinghe, C., Zawahir, S., Buckley, N. A.** (2009). Acute human self-poisoning with imidacloprid compound: a neonicotinoid insecticide. *PloS one*, 4(4).
- Mohammed, A., Desneux, N., Fan, Y., Han, P., Ali, A., Song, D., & Gao, X.-W.** (2018). Impact of imidacloprid and natural enemies on cereal aphids: Integration or ecosystem service disruption. *Entomol Gen*, 37, 47-61.
- Mondal, S., Sengupta, T., Pradhan, S., Hansda, R., Mandal, P., Tiwari, R., & Mukhopadhyay, S.** (2014). Impaired learning and memory after a week-long exposure of acetamiprid in adult rats. *Adv. Anim. Vet. Sci*, 2(10), 543-548.

Morris, R. (1984). Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *Journal of neuroscience methods*, 11(1), 47-60.

Mosavat, S.H., Jaberi, A.R., Sobhani, Z., Mosaffa-Jahromi, M., Iraj, A., Moayedfard, A., (2019), Efficacy of Anise (*Pimpinella anisum* L.) oil for migraine headache: A pilot randomized placebo-controlled clinical trial, *Journal of Ethnopharmacology*. 236, 155-160.

Mushtaq, A., Anwar, R., & Ahmad, M. (2019). Memory enhancing effect of anise (*pimpinella anisum*) with respect to its antioxidant activity in albino mice. *JAPS: Journal of Animal & Plant Sciences*, 29(2).

Muther, L. (2015). *Utilisation des huiles essentielles chez l'enfant*. Thèse Doctorat en pharmacie: Université d'auvergne.186p.

N

Nacache, L. A. (2017). Évaluation des risques toxiques liés au formaldéhyde dans les structures d'anatomopathologie. Thèse Doctorat .Université GRENOBLE ALPES. 106 p.

Nadlewska, A., Car, H., Oksztel, R., & Wisniewski, K. (2002). Effect of (S)-3, 5-DHPG on learning, exploratory activity and anxiety in rats with experimental hypoxia. *Polish journal of pharmacology*, 54(1), 11-18.

Nagle DG, Ferreira D, Zhou YD. (2000).Epigallocatechin-3-gallate (EGCG): chemical. Beneficial effects of high dietary fiber intake in patients with type 2 diabetes mellitus. *N Engl J Med*;342[19]:1392-8.

Nasuti, C., Gabbianelli, R., Falcioni, M. L., Di Stefano, A., Sozio, P., & Cantalamessa, F. (2007). Dopaminergic system modulation, behavioral changes, and oxidative stress after neonatal administration of pyrethroids. *Toxicology*, 229(3), 194-205.

Nriagu, J. O. (2019). *Encyclopedia of environmental health*: Elsevier.**ISBN:9780444639523**. 4884p.

Nureddin Cengiz ; Hanefi Özbek ; Aydın Him; (2008). Hepatoprotective Effects of *Pimpinella anisum* Seed Extract in Rats; *Pharmacology* vol 3, 870-874.

O

Oboh, G., A. O. Ademiluyi, and A. J. Akinyemi (2012). Inhibition of acetylcholinesterase activities and some pro-oxidant induced lipid peroxidation in rat brain by two varieties of ginger (*Zingiber officinale*). *Exp Toxicol Pathol*. 64(4): 315-319.

Oriol, R., del Pilar Bernícola, M., Brillas, E., Cabot, P. L., & Sirés, I. (2019). Paired electro-oxidation of insecticide imidacloprid and electrodenitrification in simulated and real water matrices. *Electrochimica Acta*, 317, 753-765.

Ouis, N. (2015). *Etude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre, des fenouils et de persil*. Thèse de doctorat, Université Ahmed Ben Bella-Oran, Alger.239p.

Ozcan M.M et Chalchat J.C. 2006, Chemical composition and antifungal effect of anise (*Pimpinella anisum L.*) fruit oil at ripening stage. *Annals of Microbiology*, vol.56, n° 4, pp.353-358.

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

Özgüven, M. (2012). Aniseed *Handbook of Herbs and Spices* (pp. 138-150): Elsevier.

Ozmen, E., Ozsoy, S., Donmez, N., Ozsoy, B., & Yumuşak, N. (2014). The protective effect of L-carnitine against hippocampal damage due to experimental formaldehyde intoxication in rats. *Biotechnic & Histochemistry*, 89(5), 336-341.

P

Pall, M. L. (2002a). NMDA sensitization and stimulation by peroxy nitrite, nitric oxide, and organic solvents as the mechanism of chemical sensitivity in multiple chemical sensitivity. *The FASEB Journal*, 16(11), 1407-1417.

Pall, M. L. (2003b). Elevated nitric oxide/ peroxy nitrite theory of multiple chemical sensitivity: central role of N-methyl-D-aspartate receptors in the sensitivity mechanism. *Environmental health perspectives*, 111(12), 1461-1464.

Pandey, S. P., & Mohanty, B. (2015). The neonicotinoid pesticide imidacloprid and the dithiocarbamate fungicide mancozeb disrupt the pituitary–thyroid axis of a wildlife bird. *Chemosphere*, 122, 227-234.

Parthasarathy, V. A., Chempakam, B., & Zachariah, T. J. (2008). *Chemistry of spices*: Cabi, 464 pages. ISBN: 978-1845934057

Patellis C. (2002). Etude du risque mutagène lié à l'exposition au formaldéhyde dans les laboratoires d'anatomo-pathologie. Thèse de Doctorat, Médecine du travail. Marseille: Université Aix-Marseille 2; 2002.

Patil, S. S., Sunyer, B., Höger, H., & Lubec, G. (2009). Evaluation of spatial memory of C57BL/6J and CD1 mice in the Barnes maze, the Multiple T-maze and in the Morris water maze. *Behavioural brain research*, 198(1), 58-68.

Pavela, R. (2014). Insecticidal properties of Pimpinella anisum essential oils against the *Culex quinquefasciatus* and the non-target organism *Daphnia magna*. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 17(3), 287-293.

Pawara., H. Ravindra., Patel., and Nisar, G. (2017). Effect of Imidacloprid on Haematological parameters of a *Channa Punctatus* (Bloch.) and reversal responses. *Int. J. Innov. Res. Sci.*, 6(1): 1258-1264.

Perna R.B , Bordini E.J , Deinzer-Lifrak M (2001). A case of claimed persistent neuropsychological sequelae of chronic formaldehyde exposure clinical, psychometric, and functional findings . *Arch. Clin. Neuropsych* . 16 : 33 – 44

Peter K.V. 2001, Handbook of herbs and spices. Woodhead Publishing Limited, Cambridge England, 319 pages. ISBN: 1 85573 562 8.

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

Pitten, F.-A., Kramer, A., Herrmann, K., Bremer, J., & Koch, S. (2000). Formaldehyde neurotoxicity in animal experiments. *Pathology-Research and Practice*, 196(3), 193-198.

Polese, J.-M. (2006). *La culture des plantes aromatiques*: Editions Artemis.p94

Pons-Lebeau, F. (2007). Hypersensibilité au formaldéhyde: mécanisme d'action. *Revue française d'allergologie et d'immunologie clinique*, 47(3), 139-143.

Ponte, E. L., Sousa, P. L., Rocha, M. V., Soares, P. M., Coelho-de-Souza, A. N., Leal-Cardoso, J. H., & Assreuy, A. M. (2012). Comparative study of the anti-edematogenic effects of anethole and estragole. *Pharmacological Reports*, 64(4), 984-990.

Porsolt, R. D., Le Pichon, M., & Jalfre, M. (1977). Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature*, 266(5604), 730-732.

Q

Quiroz Torres, J. J. (2012). *Formaldehyde catalytic oxidation over mesoporous manganese based materials*. Thèse Doctorat .Université Lille 1. 222p.

R

- Rajeshwari, C., Abirami, M., & Andallu, B.** (2011). In vitro and in vivo antioxidant potential of aniseeds (*Pimpinella anisum*). *Asian Journal of Experimental Biological Sciences*, 2(1), 80-89.
- Ramakrishna Rao, R., Platel, K., & Srinivasan, K.** (2003). In vitro influence of spices and spice-active principles on digestive enzymes of rat pancreas and small intestine. *Food/Nahrung*, 47(6), 408-412.
- Ramakrishna RR, Platel K, Srinivasan K. 2003. Invitro influence of species and specie-active principles on digestive enzymes of rat pancreas and small intestine. *Nahrung* 47: 408 - 412.
- Raymond, V., & Sattelle, D. B.** (2002). Novel animal-health drug targets from ligand-gated chloride channels. *Nature Reviews Drug Discovery*, 1(6), 427-436.
- Rebey I.B., Wannas W.A., Kaab S.B., Bourgou S., Tounsi M.S., Ksouri R., Fauconnier, M.L.** (2019). Bioactive compounds and antioxidant activity of *Pimpinella anisum L.* accessions at different ripening stages. *Scientia horticulturae*, 246, 453-461.
- Remington, J. P.** (2006). *Remington: The science and practice of pharmacy* (Vol. 1): Lippincott Williams & Wilkins.
- Revuz, J.** (2009). *Traité EMC: cosmétologie et dermatologie esthétique*: Elsevier Masson.500p. ISBN: 9782842999490
- Rios, F. M., Wilcoxon, T. E., & Zimmerman, L. M.** (2017). Effects of imidacloprid on *Rana catesbeiana* immune and nervous system. *Chemosphere*, 188, 465-469.
- Rizk, A., AM, R., AL NAGDY, S., & EL MISSIRY, M.** (1982). CONSTITUENTS OF PLANT GROWING IN QATAR.
- Rocha, L., & Fernandes, C. P.** (2016). Aniseed (*Pimpinella anisum*, Apiaceae) Oils *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety* (pp. 209-213): Elsevier.
- Rodrigues, V. M., Rosa, P. T., Marques, M. O., Petenate, A. J., & Meireles, M. A. A.** (2003). Supercritical extraction of essential oil from aniseed (*Pimpinella anisum L*) using CO₂: solubility, kinetics, and composition data. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(6), 1518-1523.
- Rosemberg, D. B., da Rocha, R. F., Rico, E. P., Zanotto-Filho, A., Dias, R. D., Bogo, M., Souza, D.** (2010). Taurine prevents enhancement of acetylcholinesterase activity induced by acute ethanol exposure and decreases the level of markers of oxidative stress in zebrafish brain. *Neuroscience*, 171(3), 683-692.
- Roux D.** (2008). *Conseil en aromathérapie - 2e édition*. Pro-Officina. 187p

Roy, B., & Nath, S. (2011). Some haematological investigations on *Oreochromis niloticus* (Trewavas) following exposure to Thiamethoxam. *Acta Zoologica Lituanica*, 21(4), 301-305.

S

Saito, Y., Nishio, K., Yoshida, Y., & Niki, E. (2005). Cytotoxic effect of formaldehyde with free radicals via increment of cellular reactive oxygen species. *Toxicology*, 210(2-3), 235-245.

Salehi Surmaghi, M. (2010). Medicinal plants and phytotherapy. Vol 1: Donyay Taghziah Press, Tehran, Iran.

Samojlik, I., Mijatović, V., Petković, S., Škrbić, B., & Božin, B. (2012). The influence of essential oil of aniseed (*Pimpinella anisum*, L.) on drug effects on the central nervous system. *Fitoterapia*, 83(8), 1466-1473.

Samojlik, I., Petković, S., Stilinović, N., Vukmirović, S., Mijatović, V., & Božin, B. (2016). Pharmacokinetic herb–drug interaction between essential oil of aniseed (*Pimpinella anisum* L., Apiaceae) and acetaminophen and caffeine: a potential risk for clinical practice. *Phytotherapy research*, 30(2), 253-259.

Sayed-Ahmad, B., Talou, T., Saad, Z., Hijazi, A., & Merah, O. (2017). The Apiaceae: Ethnomedicinal family as source for industrial uses. *Industrial Crops and Products*, 109, 661-671.

Scapagnini, G., Davinelli, S., Drago, F., De Lorenzo, A., & Oriani, G. (2012). Antioxidants as antidepressants. *CNS drugs*, 26(6), 477-490.

Shahamat, Z., Abbasi-Maleki, S., & Motamed, S. M. (2016). Evaluation of antidepressant-like effects of aqueous and ethanolic extracts of *Pimpinella anisum* fruit in mice. *Avicenna journal of phytomedicine*, 6(3), 322.

Sheikh, B. A., Pari, L., Rathinam, A., & Chandramohan, R. (2015). Trans-anethole, a terpenoid ameliorates hyperglycemia by regulating key enzymes of carbohydrate metabolism in streptozotocin induced diabetic rats. *Biochimie*, 112, 57-65.

Shobha, R., Rajeshwari, C., & Andallu, B. (2013). Anti-peroxidative and anti-diabetic activities of aniseeds (*Pimpinella anisum* L.) and identification of bioactive compounds. *American Journal of Phytomedicine and clinical therapeutics*, 1(5), 516-527.

Shojaii, A., & Abdollahi Fard, M. (2012). Review of pharmacological properties and chemical constituents of *Pimpinella anisum*. *ISRN pharmaceuticals*, 2012.

Simon-Delso, N., Amaral-Rogers, V., Belzunces, L. P., Bonmatin, J.-M., Chagnon, M., Downs, C., Girolami, V. (2015). Systemic insecticides (neonicotinoids and fipronil): trends,

uses, mode of action and metabolites. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(1), 5-34.

Singh T. B., Mukhopadhyay S. K., Sar T. K., Ganguly S. (2012). Acetamiprid induces toxicity in mice under experimental conditions with prominent effect on the hematobiochemical parameters. *Journal of drug and metabolism toxicology*, 6: 1-5.

Songlin, C., Xiaoli, Y., Yinying, L., Weiyi, M., Xiaoyun, L., & Changran, Z. (2015). Alzheimer's disease treated with combined therapy based on nourishing marrow and reinforcing Qi. *J Tradit Chin Med*, 35(3), 255-259.

Soualeh, N., & Soulimani, R. (2016). Huiles essentielles et composés organiques volatils, rôles et intérêts. *Phytothérapie*, 14(1), 44-57.

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

Sousa, J. C., Ribeiro, A. R., Barbosa, M. O., Pereira, M. F. R., & Silva, A. M. (2018). A review on environmental monitoring of water organic pollutants identified by EU guidelines. *Journal of hazardous materials*, 344, 146-162.

Sun, Q., Xiao, X., Kim, Y., Kim, D., Yoon, K. S., Clark, J. M., & Park, Y. (2016). Imidacloprid promotes high fat diet-induced adiposity and insulin resistance in male C57BL/6J mice. *Journal of agricultural and food chemistry*, 64(49), 9293-9306.

T

Tadera, K., Minami, Y., Takamatsu, K., & Matsuoka, T. (2006). Inhibition of α -glucosidase and α -amylase by flavonoids. *Journal of nutritional science and vitaminology*, 52(2), 149-153.

Taira, K. (2014). Human neonicotinoids exposure in Japan. *Japanese Journal of Clinical Ecology*, 23(1), 14-24.

Taleb-Toudert, K. (2015). Extraction et caractérisation des huiles essentielles de dix plantes aromatiques provenant de la région de Kabylie (Nord Algérien): évaluation de leurs effets sur la bruche de niébé *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). Université Mouloud MAMMARI. Thèse doctorat. 160p

Tang, X.-Q., Zhuang, Y.-Y., Zhang, P., Fang, H.-R., Zhou, C.-F., Gu, H.-F., . . . Wang, C.-Y. (2013). Formaldehyde impairs learning and memory involving the disturbance of

hydrogen sulfide generation in the hippocampus of rats. *Journal of Molecular Neuroscience*, 49(1), 140-149.

Taveau, C. (2014). *Rôle de la vasopressine dans les troubles du métabolisme glucidique: possible impact dans le développement du diabète.* .

Teng, S., Beard, K., Pourahmad, J., Moridani, M., Easson, E., Poon, R., & O'Brien, P. J. (2001). The formaldehyde metabolic detoxification enzyme systems and molecular cytotoxic mechanism in isolated rat hepatocytes. *Chemico-biological interactions*, 130, 285-296.

Teng, S., Beard, K., Pourahmad, J., Moridani, M., Easson, E., Poon, R., & O'Brien, P. J. (2001). The formaldehyde metabolic detoxification enzyme systems and molecular cytotoxic mechanism in isolated rat hepatocytes. *Chemico-biological interactions*, 130, 285-296.

Tepe, A. S., & Tepe, B. (2015). Traditional use, biological activity potential and toxicity of *Pimpinella* species. *Industrial Crops and Products*, 69, 153-166.

Terry, A. V., & Buccafusco, J. J. (2003). The cholinergic hypothesis of age and Alzheimer's disease-related cognitive deficits: recent challenges and their implications for novel drug development. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 306(3), 821-827.

Testud F. (2012). Toxicologie médicale professionnelle et environnementale. Paris: Eska.

Testud F. (2014) Insecticides néonicotinoïdes. EMC-Pathologie professionnelle et de l'environnement. EMC-Toxicologie-Pathologie. doi: 10.1016/S1877-7856(13)62786-5

Testud, F., & Grillet, J. (2007). Insecticides organophosphorés, carbamates, pyréthrinoides de synthèse et divers. *Encycl méd chir*, 16, 059-C-010.

Thany, S. H., Lenaers, G., Raymond-Delpech, V., Sattelle, D. B., & Lapied, B. (2007). Exploring the pharmacological properties of insect nicotinic acetylcholine receptors. *Trends in pharmacological sciences*, 28(1), 14-22.

Til, H., Woutersen, R., Feron, V., & Clary, J. (1988). Evaluation of the oral toxicity of acetaldehyde and formaldehyde in a 4-week drinking-water study in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 26(5), 447-452.

Tobe M, Naito K, Kurokawa Y (1989) Chronic toxicity study of formaldehyde administered orally to rats. *Toxicology*, 56:79–86.

Tomizawa, M., Lee, D. L., & Casida, J. E. (2000). Neonicotinoid insecticides: molecular features conferring selectivity for insect versus mammalian nicotinic receptors. *Journal of agricultural and food chemistry*, 48(12), 6016-6024.

Tong, Z., Han, C., Qiang, M., Wang, W., Lv, J., Zhang, S., Zhou, J. (2016). Age-related formaldehyde interferes with DNA methyltransferase function, causing memory loss in Alzheimer's disease. *Neurobiology of Aging*, 36(1), 100-110.

Toor, H. K., Sangha, G. K., & Khera, K. S. (2013). Imidacloprid induced histological and biochemical alterations in liver of female albino rats. *Pesticide biochemistry and physiology*, 105(1), 1-4.

Toumi H (2013) Ecotoxicité de la deltaméthrine et du malathion sur différentes souches de *Daphnia magna* (Crustacea, Cladocera): apport de la protéomique dans la recherche de nouvelles cibles cellulaires.. Thèse doctorat. Université de Lorraine .208p

Trease, G., & Evans, W. (1987). A text book of pharmacognosy. ELSB Baillere Tindal: Oxford.

U

Ullah, H., Mahmood, A., Awan, M. I., & Honermeier, B. (2015). EFFECT OF ROW SPACING AND SEED RATE ON FRUIT YIELD, ESSENTIAL OIL AND COMPOSITION OF ANISE (*Pimpinella anisum* L.). *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 52(2).

Usanmaz, S. E., Akarsu, E. S., & Vural, N. (2002). Neurotoxic effects of acute and subacute formaldehyde exposures in mice. *Environmental toxicology and pharmacology*, 11(2), 93-100.

Utup B, Young B, Ibiang E, Victor I, Bassey E, Francis A (2013) Effect of deltamethrin and ridomil on sperm parameters and reproductive hormones of male rats. *Toxicol Environ Health* 5(1):9–14. doi:10.1007/s13530-013-0149-6

V

Van der Sluijs, J. P., Amaral-Rogers, V., Belzunces, L., Van Lexmond, M. B., Bonmatin, J.-M., Chagnon, M., Giorio, C. (2015). Conclusions of the Worldwide Integrated Assessment on the risks of neonicotinoids and fipronil to biodiversity and ecosystem functioning: Springer.

Vincent R, Jeandel B. (2006). Exposition professionnelle au formaldéhyde en France: informations fournies par la base de données Colchic. *Les Cahiers de notes documentaires-Institut national de sécurité*, 203, 19-33. .

Vohra, P., & Khera, K. (2016). Effect of imidacloprid on Reproduction of Female Albino Rats in Three Generation Study. *Journal of Veterinary Science & Technology*, 7, 340.

Vohra, P., Khera, K. S., & Sangha, G. K. (2014). Physiological, biochemical and histological alterations induced by administration of imidacloprid in female albino rats. *Pesticide biochemistry and physiology*, 110, 50-56.

W

Wang X L , Yuan F S , Zhang Z H. (2008). Effect of formaldehyde inhalation on mice ' s learning and memory . *J. Env. Health* 25 : 400 – 402.

Wang, X., Wei, L., Wang, Y., He, B., Kong, B., Zhu, J.,Fu, Z. (2019). Evaluation of development, locomotor behavior, oxidative stress, immune responses and apoptosis in developing zebrafish (*Danio rerio*) exposed to TBCH (tetrabromoethylcyclohexane). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 217, 106-113.

Wang, Y., Guo, B., Gao, Y., Xu, P., Zhang, Y., Li, J., & Wang, H. (2014). Stereoselective degradation and toxic effects of benalaxyl on blood and liver of the Chinese lizard *Eremias argus*. *Pesticide biochemistry and physiology*, 108, 34-41.

Wang, Y., Han, Y., Xu, P., Guo, B., Li, W., & Wang, X. (2018). The metabolism distribution and effect of imidacloprid in chinese lizards (*Eremias argus*) following oral exposure. *Ecotoxicology and environmental safety*, 165, 476-483.

Wankhede, V., Hedau, M., Ingole, R., Hajare, S., & Wade, M. (2017). Histopathological alterations induced by subacute imidacloprid toxicity in Japanese quails and its amelioration by *Butea monosperma*. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6(3), 252-257.

Wei, Y., Li, Y., Tan, Y., Wu, Z., Pan, L., & Liu, Y. (2016). Short-channeled mesoporous Zr–Al-SBA-15 as a highly efficient catalyst for hydroxyalkylation of phenol with formaldehyde to bisphenol F. *Chemical Engineering Journal*, 298, 271-280.

Weinstock, M., Poltyrev, T., Bejar, C., & Youdim, M. B. (2002). Effect of TV3326, a novel monoamine-oxidase cholinesterase inhibitor, in rat models of anxiety and depression. *Psychopharmacology*, 160(3), 318-324.

Werner, S. J., Linz, G. M., Tupper, S. K., & Carlson, J. C. (2010). Laboratory efficacy of chemical repellents for reducing blackbird damage in rice and sunflower crops. *The Journal of Wildlife Management*, 74(6), 1400-1404.

Williams, P. and R. Losa. (2001). The use of essential oils and their compounds in poultry nutrition. *World Poult.* Elsevier, 17:14-15.

Wood, T. J., & Goulson, D. (2017). The environmental risks of neonicotinoid pesticides: a review of the evidence post 2013. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(21), 17285-17325.

X

Xiao, C., Srinivasan, R., Drenan, R. M., Mackey, E. D., McIntosh, J. M., & Lester, H. A. (2011). Characterizing functional $\alpha 6\beta 2$ nicotinic acetylcholine receptors in vitro: mutant $\beta 2$ subunits improve membrane expression, and fluorescent proteins reveal responsive cells. *Biochemical pharmacology*, 82(8), 852-861.

Y

Yari, K., Seidmohammadi, A., Khazaei, M., Bhatnagar, A., & Leili, M. (2019). A comparative study for the removal of imidacloprid insecticide from water by chemical-less UVC, UVC/TiO₂ and UVC/ZnO processes. *Journal of Environmental Health Science and Engineering*, 17(1), 337-351.

Yoshimura, T. (2013). Thyroid hormone and seasonal regulation of reproduction. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 34(3), 157-166.

Yousef, M. I., Awad, T. I., & Mohamed, E. H. (2006). Deltamethrin-induced oxidative damage and biochemical alterations in rat and its attenuation by Vitamin E. *Toxicology*, 227(3), 240-247.

Yu, G., Wang, C., Song, X., Liu, S., Zhang, Y., Fan, L., Yang, Y., Huang, Y., Song, J. (2019). Formaldehyde induces the apoptosis of BMCs of BALB/c mice via the PTEN/PI3K/Akt signal transduction pathway. *Molecular medicine reports*, 20(1), 341-349.

Yuan, X., Pan, Z., Jin, C., Ni, Y., Fu, Z., & Jin, Y. (2019). Gut microbiota: an underestimated and unintended recipient for pesticide-induced toxicity. *Chemosphere*.

Z

Zang, Z.-J., Fang, Y.-Q., Ji, S.-Y., Gao, Y., Zhu, Y.-Q., Xia, T.-T., . . . Zhang, Y.-N. (2017). Formaldehyde inhibits sexual behavior and expression of steroidogenic enzymes in the testes of mice. *The journal of sexual medicine*, 14(11), 1297-1306.

Zararsiz, I., Sarsilmaz, M., Tas, U., Kus, I., Meydan, S., & Ozan, E. (2007). Protective effect of melatonin against formaldehyde-induced kidney damage in rats. *Toxicology and industrial health*, 23(10), 573-579.

- Zararsiz, I., Sonmez, M. F., Yilmaz, H. R., Tas, U., Kus, I., Kavakli, A., & Sarsilmaz, M.** (2006). Effects of ν -3 essential fatty acids against formaldehyde-induced nephropathy in rats. *Toxicology and industrial health*, 22(5), 223-229.
- Zargari A.** Medicinal plants (2011). 7th ed. Vol 2. Teharn: Tehran University Press. pp. 532–537.
- Zeid, E. H. A., Alam, R. T., Ali, S. A., & Hendawi, M. Y.** (2019). Dose-related impacts of imidacloprid oral intoxication on brain and liver of rock pigeon (*Columba livia domestica*), residues analysis in different organs. *Ecotoxicology and environmental safety*, 167, 60-68.
- Zhang J. J., Wang Y., Xiang H. Y., Li M. X., Li W. H., Ma K. G., Wang X. Z., Zhang J. H.** (2011). Oxidative stress: role in acetamipridinduced impairment of the male mice reproductive system. *Agricultural Sciences in China*, 10: 786-796.
- Zhang, L., Tang, X., Rothman, N., Vermeulen, R., Ji, Z., Shen, M., Reiss, B.** (2010). Occupational exposure to formaldehyde, hematotoxicity, and leukemia-specific chromosome changes in cultured myeloid progenitor cells. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, 19(1), 80-88.
- Zhang, W., Li, X., Yu, T., Yuan, L., Rao, G., Li, D., & Mu, C.** (2015). Preparation, physicochemical characterization and release behavior of the inclusion complex of trans-anethole and β -cyclodextrin. *Food research international*, 74, 55-62.
- Zhang, W., Ma, Y., Wang, C., Li, S., Zhang, M., & Chu, F.** (2013). Preparation and properties of lignin–phenol–formaldehyde resins based on different biorefinery residues of agricultural biomass. *Industrial Crops and Products*, 43, 326-333.
- Zhou, J., L. Wang, J. Wang, and N. Tang** (2001). Antioxidative and anti-tumour activities of solid quercetin metal (II) complexes. *Transit Metal Chem.* 26(1-2): 57-63.

Article : *Effet thérapeutique de l'extrait aqueux de Pimpinella anisum L. chez les rats Wistar exposés de manière subchronique à l'imidaclopride. Étude neurocomportementale.*

Effet thérapeutique de l'extrait aqueux de *Pimpinella anisum* L. chez les rats Wistar exposés de manière subchronique à l'imidaclopride. Étude neurocomportementale

Therapeutic Effect of the Aqueous Extract *Pimpinella anisum* L. in Wistar Rats Subchronically Exposed to Imidacloprid: Neurobehavioral Study

N. Taibi · K. Kahloula · D. E. H. Adli · W. Arabi · M. Brahimy · M. Slimani

© Lavoisier SAS 2020

Résumé La présente étude a été réalisée afin d'évaluer le pouvoir thérapeutique de l'extrait aqueux de la *Pimpinella anisum* L. suite à une exposition à l'imidaclopride (IMD) durant 28 jours chez les rats Wistar. Les résultats relatifs au test d'*open field* représentent une réduction significative ($p < 0,001$) du nombre de carreaux traversés chez le lot intoxiqué comparé à celui du lot témoin, ce qui traduit une réduction de l'activité locomotrice. En outre, le test de la nage forcée présente une augmentation significative ($p < 0,001$) du temps d'immobilité chez les rats exposés à l'IMD comparativement aux rats témoins et exposés traités. L'analyse statistique des données concernant l'épreuve de test de Barnes a montré que les rats exposés à ce pesticide ont un nombre d'erreurs et un temps de latence pour rejoindre le trou cible significativement ($p < 0,001$) plus élevés que ceux des rats témoins et intoxiqués traités. Ce qui reflète une atteinte des performances d'apprentissage et de la mémoire spatiale. En conclusion, l'extrait de *Pimpinella anisum* L. présente un effet bénéfique sur le système nerveux des rats adultes intoxiqués à l'IMD.

Mots clés Imidaclopride · *Pimpinella anisum* L. · Activité locomotrice · Performances d'apprentissage · Mémoire spatiale

Abstract This study was carried out in order to evaluate the therapeutic power of the aqueous extract of *Pimpinella anisum* L. (EAP) following 28-days exposure to imidacloprid (IMD) in Wistar rats. The results of the open field test represent a significant reduction ($P < 0.001$) in the number of squares crossed in the intoxicated lot compared to the control lot, which trans-

lates into a reduction in locomotor activity. In addition, the forced swimming test showed a significant increase ($P < 0.001$) in the immobility time in rats exposed to IMD compared to control and exposed treated rats. Statistical analysis of the data from the Barnes test showed that rats exposed to this pesticide have a significant high number of errors and latency to reach the target hole ($P < 0.001$) compared to the control and the intoxicated treated rats, reflecting an achievement of learning and spatial memory performance. In conclusion, the extract of *Pimpinella anisum* L. has a beneficial effect on the nervous system of adult rats poisoned by imidacloprid.

Keywords Imidacloprid · *Pimpinella anisum* L. · Locomotor activity · Learning performance · Spatial memory

Introduction

Pimpinella anisum L. (anis) est une plante aromatique annuelle qui appartient à la famille des Apiaceae [1]. Elle est cultivée comme plante condimentaire pour ses graines aromatiques [2]. *Pimpinella anisum* L. a plusieurs effets thérapeutiques, cela est dû à son importante teneur en anéthol. Ces graines ont une action antioxydante, antiseptique, anti-inflammatoire, diurétique, anticonvulsivante, antidépressive, myorelaxante et des effets neuroprotecteurs [1,3,4].

Les insecticides sont l'un des principaux polluants de l'environnement. Bien qu'ils jouent un rôle important dans la protection des cultures contre les ravageurs, ils représentent une grave menace pour la santé humaine lorsqu'ils sont utilisés d'une façon irrationnelle [5,6].

L'imidaclopride (IMD) [1-(6-chloro-3-pyridylmethyl)-N-nitro-imidazolidin-2-ylidène-amine] est actuellement l'insecticide le plus utilisé au monde, il appartient à la famille des Néonicotinoïdes [7]. Sa toxicité sélective résulte de sa

N. Taibi (✉) · K. Kahloula · D. E. H. Adli · W. Arabi · M. Brahimy · M. Slimani
Laboratoire de biotoxicologie, pharmacognosie et valorisation biologique des plantes, département de biologie, faculté des sciences, université Moulay-Taher, Saïda, Algérie
e-mail : taibinarimane@yahoo.com

grande affinité pour les récepteurs nicotiques de l'acétylcholine chez les insectes par rapport aux mammifères. L'IMD agit sur les récepteurs nicotiques postsynaptiques de l'acétylcholine. Après sa liaison, les impulsions nerveuses sont spontanément libérées, suivies de l'incapacité du neurone à propager le moindre signal. L'activation prolongée du récepteur résulte de l'incapacité des acétylcholinestérases à décomposer le pesticide, ce processus de liaison est irréversible [8]. Il est actif à une très faible dose, et en fonction de la dose, l'inactivation du système nerveux peut entraîner la mort des personnes touchées directement, ou une série de troubles tels qu'incoordination, paralysie, perte d'orientation et la thermorégulation [6,9].

L'exposition à l'IMD entraîne des modifications biochimiques, histopathologiques et ultrastructurales marquées dans divers organes, de sorte qu'il s'est avéré être un agent puissant de la toxicité hépatique, néphrétique et neurologique. L'exposition chronique à l'IMD induit également une inflammation et un stress oxydatif dans le foie et le système nerveux central du rat [7].

L'intérêt de ce travail est d'évaluer l'effet thérapeutique de l'extrait aqueux de *Pimpinella anisum* L. (EAP) sur des rats Wistar mâles adultes exposés à l'IMD, en se fondant sur une étude neurocomportementale.

Matériels et méthodes

Matériel végétal

Selon la méthode d'Hosseinzadeh et al. [10], l'EA a été préparé à partir des graines pulvérisées. En réalisant la méthode de décoction, 100 g de poudre ont été mélangés avec 100 ml d'eau distillée, le mélange a été mis sous agitation pendant 15 minutes avec (température < à 100 °C). Après refroidissement, le décocté obtenu est ensuite filtré, puis lyophilisé. Le rendement d'extraction était de 17,18 %.

Matériel chimique

L'insecticide testé est le « Confidor® OD » [CAS n° 138261-41-3] renfermant 19,42 % de matière active qui correspond à une concentration de 200 g/l de l'IMD, il est produit par la firme chimique allemande Bayer.

Répartition des groupes

Les expériences sont réalisées sur des rats mâles adultes de souche Wistar pesant 100 à 120 g. Ils sont disposés dans une animalerie ventilée, à une température de 21 ± 1 °C avec un éclairage artificiel qui établit un cycle jour/nuit (jour entre 7 et 19 h). Les animaux sont maintenus en période de stabilisation deux semaines avant l'expérimentation.

Ils ont été divisés au hasard en trois groupes comprenant chacun sept animaux ; EAP et IMD ont été administrés par gavage :

- groupe 1 : rats témoins reçoivent l'eau de boisson ;
- groupe 2 : rats traités par la dose 90 mg/kg d'IMD pendant 28 jours ;
- groupe 3 : rats intoxiqués par IMD pendant 28 jours qui sont ensuite traités par l'EAP pendant 15 jours à une dose de 500 mg/kg.

Tests de comportement

Test de l'open field

Ce test est réalisé afin d'évaluer l'activité locomotrice des rats. L'arène *utilisée* est une boîte rectangulaire ouverte (90 × 70 × 60 cm), à fond noir, et des lignes blanches au sol délimitaient des carreaux (10 × 10 cm). Chaque rat est initialement placé dans un des quatre coins de l'*open field*, la tête orientée vers un coin. Son comportement est observé pendant six minutes ; entre chaque essai, on nettoie la cage avec l'éthanol 70 %. Six paramètres sont mesurés par l'expérimentateur : le temps de latence (exprimé en secondes), le nombre total de carreaux traversés, le nombre de visites dans les neuf carreaux du centre, le nombre total de redressements, le nombre total de toilettages et le nombre total de défécations. Ce test analyse le comportement exploratoire du rat dans un espace clos. On l'utilise avant tout pour mesurer ses fonctions motrices, mais aussi, pour évaluer son degré d'anxiété. Un animal anxieux évite le centre du terrain qui est ouvert et reste au périphérique [11].

L'épreuve de la nage forcée

Le test de la nage forcée (Forced Swimming Test) est un modèle comportemental permettant la sélection de molécules à activité antidépressive [12]. Les rats sont placés individuellement pendant six minutes dans un cylindre en verre (hauteur : 39 cm, diamètre : 20,7 cm) rempli aux deux tiers d'eau à 22 ± 1 °C, dans lequel il n'y a aucune issue possible. L'animal est considéré comme étant immobile lorsqu'il flotte en position verticale et ne fait que quelques mouvements afin de maintenir sa tête hors de l'eau. Cette immobilité est interprétée comme étant le reflet d'un « désespoir comportemental », qui survient lorsque l'animal réalise qu'il pourrait ne pas s'en sortir. La durée d'immobilité est révélatrice du degré de désespoir chez l'animal (Fig. 1).

Labyrinthe de Barnes

Le labyrinthe de Barnes est une approche comportementale pour mesurer rapidement et efficacement l'apprentissage et

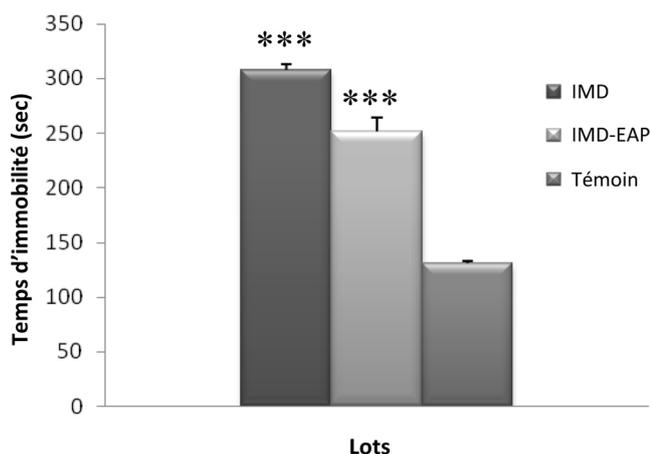


Fig. 1 Le temps d'immobilité durant le test de la nage forcée des rats témoins, intoxiqués par l'imidaclopride (90 mg/kg) et intoxiqués traités. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (***) $p < 0,001$

la mémoire visuospatiale chez les rongeurs. Le dispositif est constitué d'une plateforme circulaire en bois (100 cm de diamètre, hauteur : 65 cm) élevée avec 12 trous égaux (diamètre du trou : 10 cm) situés à 9 cm de la bordure et séparés d'une distance constante. Sur ce dispositif, les rats utilisent des repères visuels extralabyrinthe pour localiser un trou équipé d'une cavité où il peut s'enfuir, cette dernière a été maintenue sous l'un des trous au bord de la plateforme. Cette boîte d'échappement est restée dans une position constante par rapport à la pièce tout au long du test [13]. Le rat est placé au centre de la plateforme dans une chambre fortement éclairée et riche en indices spatiaux localisés de manière constante. Le rat explore librement la plateforme jusqu'à trouver la cible dans laquelle il s'échappe. Le rat qui n'a pas trouvé la boîte cible en six minutes doit être guidé doucement vers son emplacement. Chaque rat réalise trois essais par jour pendant cinq jours. Tous les animaux sont restés dans la boîte cible pendant 60 secondes après leur entrée. Le sixième jour, les rats sont soumis à une première épreuve : le rat est déposé au centre de la plateforme de façon identique aux essais, mais les 12 trous sont bouchés. Deux paramètres sont mesurés : la latence nécessaire à l'animal pour rejoindre le trou donnant accès à la caisse, le nombre d'erreurs effectuées, c'est-à-dire le nombre de visites aux trous non reliés à la caisse (un trou est considéré comme visité lorsque le rat y passe la tête).

Dosage de l'imidaclopride au niveau cérébral

Chromatographie en phase liquide à haute performance

L'analyse par chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) est réalisée sur un appareil Agilent 1260 équipé d'un système de pompe quaternaire, muni d'un

détecteur UV (272 nm), réalisée sur colonne Beckman Ultra-spère[®], ODS, 5 μ \times 4,6 mm \times 25 cm. La phase mobile est isocratique, composée de 70 % d'eau et de 30 % d'acétonitrile, le débit est de 1 ml/min et le volume d'injection est de 20 μ l. Cette méthode d'analyse permet d'identifier et de quantifier l'IMD dans le cerveau des rats.

Résultats

Comportement de type dépressif (test de la nage forcée)

L'analyse statistique présente un temps d'immobilité (TIM) significativement ($p < 0,001$) supérieur chez les rats intoxiqués par l'IMD (90 mg/kg) par rapport à celui des rats témoins et intoxiqués traités (Fig. 1).

Évaluation d'un comportement d'exploration : test d'open field

L'exposition à l'IMD provoque une réduction significative ($p < 0,001$) du nombre de carreaux traversés et du nombre de redressements et une diminution significative ($p < 0,01$) du nombre de visites au centre, avec une augmentation significative ($p < 0,01$) du nombre de défécations chez les rats intoxiqués comparativement aux témoins. De plus, les données obtenues montrent qu'il n'y a aucun changement significatif sur le nombre de toilettes et le temps de latence chez tous les lots (Fig. 2).

Labyrinthe de Barnes

L'exposition à l'IMD induit chez les rats intoxiqués au cours du premier, troisième et le cinquième jour d'apprentissage une élévation significative respectivement ($p < 0,05$; $p < 0,001$; $p < 0,001$) du nombre d'erreurs comparativement aux rats témoins. De même, les rats intoxiqués par l'IMD puis traités par l'EAP ont un nombre d'erreurs significativement ($p < 0,001$) diminué au cours des troisième et cinquième jours par rapport aux rats intoxiqués. Dans le même contexte, les résultats relatifs à ce

Groupes	Temps de latence	Nombre de carreaux traversés	Nombre de carreaux visités au centre	Redressement	Toilette	Défécation
IMD	1,42 \pm 0,71	72,85 \pm 13,78***	0,42 \pm 0,29**	9,57 \pm 1,34***	6,57 \pm 1,26	4,28 \pm 0,74**
IMD-EAP	0,85 \pm 0,55	100,42 \pm 6,82	1,28 \pm 0,68	11,57 \pm 1,39	6,14 \pm 0,50	2,71 \pm 1,10
Témoins	1,28 \pm 0,74	161,28 \pm 7,99	6,71 \pm 2,62	22,42 \pm 4,30	5,42 \pm 0,84	1,28 \pm 0,42

Fig. 2 Effet de l'exposition à l'imidaclopride sur l'activité locomotrice (test *open field*) les rats témoins, intoxiqués, et intoxiqués traités. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (***) $p < 0,001$; ** $p < 0,01$

test ne présentent aucune signification au cours des deuxième et quatrième jours (Fig. 3).

Au cours des premier, troisième, quatrième et cinquième jours d'apprentissage, les rats intoxiqués par l'IMD ont un temps passé avant de trouver la cible significativement ($p < 0,001$) supérieur à celui des rats témoins ainsi qu'au deuxième jour ($p < 0,01$). Par ailleurs, l'administration de l'EAP aux animaux exposés à l'IMD améliore de manière significative leurs performances d'apprentissage spatial comparés aux animaux intoxiqués non traités en termes de temps de séjour avant de trouver la cible au cours des troisième, cinquième ($p < 0,001$), et quatrième jours ($p < 0,05$) (Fig. 4).

Le traitement statistique des données concernant la phase de mémorisation a révélé que les animaux exposés à ce pesticide ont un temps passé avant de trouver la cible significativement ($p < 0,05$; $p < 0,001$) supérieur à celui des animaux intoxiqués traités et témoins (Fig. 5).

L'administration orale de l'extrait d'anis a provoqué une réduction significative ($p < 0,001$) du nombre d'erreurs chez le lot intoxiqué comparativement au lot intoxiqué non traité. Dans le même contexte, les animaux intoxiqués présentent un nombre d'erreurs significativement ($p < 0,01$) important par rapport à celui des animaux témoins (Fig. 6).

Les résultats obtenus concernant le dosage de l'IMD au niveau cérébral montrent une élévation significative ($p < 0,001$) du taux cérébral de l'IMD chez les rats intoxiqués par rapport aux rats témoins et intoxiqués traités (Fig. 7).

Discussion

Le principal site d'action de l'IMD est le système nerveux [6]. Ce pesticide a montré des effets neurologiques et des troubles neurocomportementaux [14]. Les résultats enregistrés concernant le test de champ ouvert (*open field*) montrent que durant les six minutes, le pesticide a provoqué une diminution significative de l'activité locomotrice chez les rats

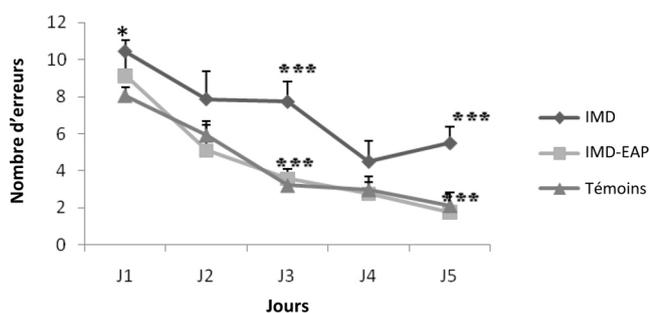


Fig. 3 Nombre total d'erreurs pour les rats témoins, intoxiqués par l'IMD et intoxiqués traités au cours de la phase d'acquisition. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM ($*p < 0,05$; $***p < 0,001$)

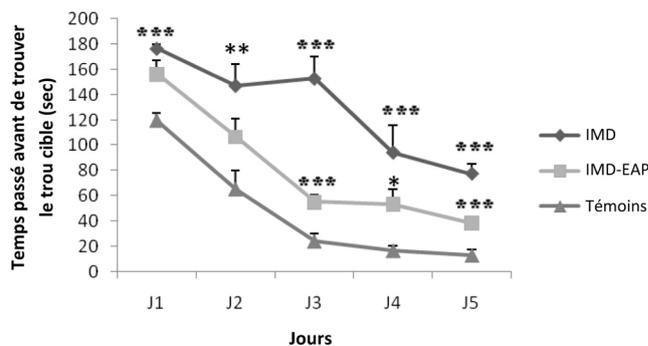


Fig. 4 Le temps de latence avant trouver le trou cible chez les rats témoins, intoxiqués (90 mg/kg d'IMD) et intoxiqués traités au cours de la phase d'acquisition. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM ($*p < 0,05$; $**p < 0,01$; $***p < 0,001$)

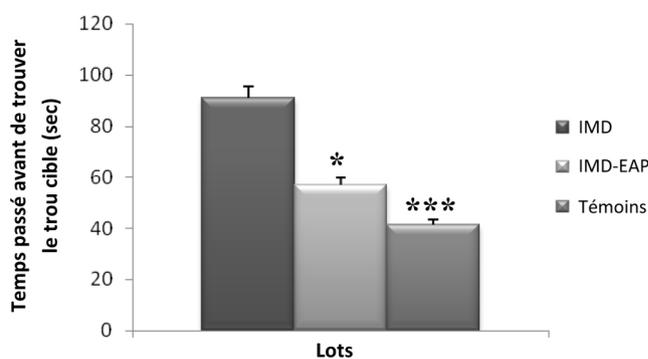


Fig. 5 Le temps d'exploration pour atteindre le trou cible lors de l'épreuve (sixième jour) chez les sujets témoins, intoxiqués par l'IMD et intoxiqués traités. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM ($*p < 0,05$; $***p < 0,001$)

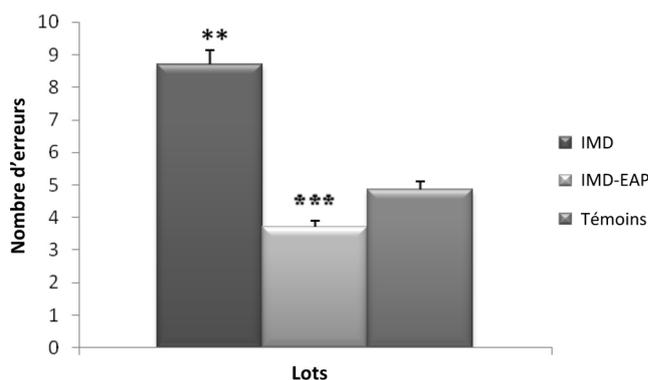


Fig. 6 Le nombre d'erreurs lors de l'épreuve (sixième jour) chez les rats témoins, intoxiqués et intoxiqués traités. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM ($**p < 0,01$; $***p < 0,001$)

intoxiqués, ces résultats sont en accord avec les travaux de Lonare et al. [14] et de Bhardwaj et al. [15] qui ont montré une diminution d'activités horizontale et verticale chez les rats exposés à l'IMD. La réduction d'activité locomotrice a

Groupes	Temps de rétention en min	Concentration $\mu\text{g},\text{g}^{-1}$
Témoin	6.880	0,000
IMD	6.880	39.220 \pm 2,90***
IMD-EAP	6.880	17.930 \pm 1,450

Fig. 7 Analyse de l'imidaclopride dans le cerveau par chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) chez les rats témoins intoxiqués (90 mg/kg d'IMD) et intoxiqués traités. Les valeurs sont exprimées en moyenne \pm SEM (***) $p < 0,001$

révélé l'accumulation de l'IMD ou de ses métabolites dans le cerveau [15]. Brunet et al. [16] ont également signalé que l'IMD est fortement absorbé dans les cellules intestinales humaines suggérant ses effets potentiels ; et d'après Taparia [17], il induit une douleur et une faiblesse musculaire. L'administration de l'EA d'anis vert a augmenté cette activité, mais d'une façon non significative. Nos résultats concordent avec celles obtenues par Gamberini et al. [3]. Boskabady et Ramazani-Assari, [18] ont trouvé que l'huile essentielle d'anis (HEA) a un effet relaxant musculaire par l'inhibition des récepteurs muscariniques d'acétylcholine.

Cependant, il a été démontré que *Pimpinella anisum* L. peut améliorer l'activité Na^+/K^+ ATPase [19], elle joue un rôle important dans la régulation de l'excitabilité neuronale.

En ce qui concerne le test de la nage forcée, les rats intoxiqués par l'IMD ont un TIM significativement plus important que les rats témoins. L'incapacité de nager est un désespoir comportemental qui prouve l'effet dépressif de l'IMD, cela est similaire avec l'étude de Karatas [20], qui a montré que l'IMD provoque une légère dépression du système nerveux. Le désordre dépressif est lié à un dysfonctionnement ou à un hypofonctionnement du système sérotoninergique [21,22]. Sachant que les récepteurs neuronaux de l'acétylcholine nicotinique (nAChRs) font partie de la famille des récepteurs ionotropes « Cys-loop » incluant les récepteurs à la sérotonine (de type 5-HT₃) [23,24], l'IMD peut provoquer des perturbations au niveau du système sérotoninergique.

En revanche, les rats intoxiqués par la dose de 90 mg/kg et traités par l'extrait d'anis ont une réduction significative du TIM. Cela est en accord avec l'étude de Samojlik et al. [25] qui ont trouvé que l'HEA a un effet antidépressif. Selon Kahloula et al. [26], l'anis vert possède un effet neuroprotecteur qui est probablement dû à l'amélioration de la modulation des fonctions NMDA telles que l'activation des sites des récepteurs NMDA. L'HEA peut induire l'excitabilité neuronale, qui a été attribuée à l'activation des canaux Ca^{2+} ou à l'inhibition du canal dépendant de la tension $\text{Ca}^{2+}/\text{K}^+$ [27].

Par ailleurs, le test de Barnes est un test qui évalue l'apprentissage et la mémoire spatiale, ce dispositif a montré que durant la phase d'acquisition et le jour d'épreuve, les résultats enregistrés dévoilent un nombre d'erreurs et un temps de latence pour rejoindre la cible significativement supérieurs chez les animaux exposés à l'IMD comparés aux animaux

témoins et intoxiqués traités par l'EA. Cela montre clairement que ce pesticide diminue d'une façon importante les performances d'apprentissage spatial et la mémorisation au cours de ce test. Ces observations s'opposent avec les travaux de Beer et al. [28], Kutlu et Gould [29] et concordent avec celles de Mondal et al [30] qui démontrent la réduction des capacités d'apprentissage après l'exposition à l'acétamipride (insecticide néonicotinoïde), et Taparia [17] qui a révélé que l'exposition aux néonicotinoïdes, à savoir l'IMD et l'acétamipride, provoque une altération de la mémoire à court terme. Selon les études réalisées par Decourtye et al. [31], Decourtye et al. [32], et Farooqui [33], l'administration du néonicotinoïde, l'IMD, altère l'apprentissage et la mémoire olfactifs chez les abeilles. Les récepteurs nicotiques de l'acétylcholine (cible d'IMD) sont largement distribués dans tout l'hippocampe [34]. Ils ont un rôle dans l'encodage des nouveaux souvenirs après leur activation [35].

D'après Mondal et al. [30], l'acétamipride agit de façon agoniste sur les récepteurs neuronaux du nAChRs. La disponibilité de l'acétamipride dans l'hippocampe ouvre les récepteurs ionotropes, cela est suivi par un flux positif d'ions dans la cellule, entraînant une excito-toxicité. Mais une ouverture répétitive du nAChR provoquant une désensibilisation du récepteur et du canal ionique et évitant ainsi l'écoulement de Ca^{2+} à travers la membrane. La désensibilisation est une propriété commune des nAChR [36]. Cependant, les neurotransmetteurs inhibiteurs tels que l'acide γ -aminobutyrique et la glycine libérés au niveau synaptique par les synoptosomes rentrent en compétition avec le glutamate. L'effet néfaste sur les interneurons GABAergiques conduit à des déficits d'apprentissage et de mémoire chez la souris [37].

Par contre, l'EAP a amélioré d'une façon significative les performances d'apprentissage et de la mémoire spatiale. Parmi de nombreuses huiles végétales, l'anis a des effets bénéfiques sur les troubles de la mémoire, la dépression, l'ischémie cérébrale et la maladie d'Alzheimer [38].

En outre, la détermination par HPLC du taux de l'IMD au niveau cérébral nous a permis de constater que le taux de ce néonicotinoïde dans le cerveau est significativement supérieur à celui des rats témoins. Cela est en accord avec Testud et Grillet [39], Badawy et al. [8] qui ont prouvé que l'IMD inhibe la transmission de l'influx nerveux au niveau des synapses cholinergiques en se liant de manière irréversible aux récepteurs nicotiques postsynaptiques de l'acétylcholine.

Cependant, le traitement par l'EAP a permis de réduire le taux de l'IMD au niveau cérébral chez les rats intoxiqués. L'effet agoniste de l'IMD sur les récepteurs nicotiques de l'acétylcholine va aboutir à un surplus d'acétylcholine, ce dernier est normalement dégradé par l'acétylcholinestérase. Le trans-anéthol en tant que composant majeur de *Pimpinella anisum* L. est un anticholinestérasique agissant par l'inhibition de l'acétylcholinestérase [40]. L'inhibition de

son action entraîne un allongement de la durée d'action de l'acétylcholine, une très grande quantité de cela pourrait donc en être la cause pour que l'acétylcholine entre en compétition avec l'IMD sur le même site de fixation, ce dernier sera détaché et l'influx nerveux se propagera normalement.

Conclusion

À travers cette expérimentation, nous pouvons conclure que l'EAP pourrait avoir un effet bénéfique potentiel sur les troubles neurologiques causés par l'intoxication à l'IMD.

Liens d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts.

Références

- Bekara A, Ait Hamadouche N, Kahloula K, et al (2016) Nephro-protective effect of *Pimpinella anisum* L. aqueous extract against lead toxicity: in vivo study. *Int J Green Pharm* 10:2-86
- Arslan N, Gürbüz B, Bayrak A, et al (2004) Variation in essential oil content and composition in Turkish anise (*Pimpinella anisum* L.) populations. *Turk J Agric For* 28:173-7
- Gamberini MT, Rodrigues DS, Rodrigues D (2015) Effects of the aqueous extract of *Pimpinella anisum* L. seeds on exploratory activity and emotional behavior in rats using the open field and elevated plus maze tests. *J Ethnopharmacol* 168:45-9
- Rebey IB, Wannas WA, Kaab SB, et al (2019) Bioactive compounds and antioxidant activity of *Pimpinella anisum* L. accessions at different ripening stages. *Sci Hort* 246:453-61
- Taparia N, Mathur L, Shahani L (2014) Toxic action of quinalphos 25% ec (flash), an organophosphate insecticide in induction of skeletal malformations in the embryos of *Gallus domesticus*. *World J Pharm Pharm Sci* 3:2078-88
- García K, Salazar M, García J (2018) Efecto del neonicotinoide-tiametoxam en el desarrollo embrionario del pez cebrá (Danio Rerio). *Toxicología* 35:22-7
- Ahmed MM, Nasr SA (2015) Protective effect of broccoli and ferulic acid on imidacloprid-induced neurotoxicity in rats. *J Biomed Pharm Res* 4:82-9
- Badawy MH, Ahmed NS, Attia AM (2018) Sub-acute oral toxicity of imidacloprid and fipronil pesticide mixture in male albino rats; biochemical and reproductive toxicity evaluation. *J Mater Environ Sci* 9:2431-7
- Gómez A (2013) Neonicotinoides versus abejas. Consultores apícolas, asistencia técnica y formación. Castellón, España, 179:36-40
- Hosseinzadeh, H, Tafaghodi M, Abedzadeh S, et al (2014) Effect of aqueous and ethanolic extracts of *Pimpinella anisum* L. seeds on milk production in rats. *J Acupunct Meridian Stud* 7:211-6
- Kahloula K, Adli DEH, Slimani M, et al (2014) Effet de l'exposition chronique au nickel sur les fonctions neurocomportementales chez les rats Wistar pendant la période de développement. *Toxicol Anal Clin* 26:186-92
- Porsolt R, Le Pichon M, Jalfre M (1977) Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature* 266:730
- Patil SS, Sunyer B, Höger H, et al (2009) Evaluation of spatial memory of C57BL/6J and CD1 mice in the Barnes maze, the multiple T-maze and in the Morris water maze. *Behav Brain Res* 198:58-68
- Lonare M, Kumar M, Raut S, et al (2014) Evaluation of imidacloprid-induced neurotoxicity in male rats: a protective effect of curcumin. *Neurochem Int* 78:122-9
- Bhardwaj S, Srivastava MK, Kapoor U, et al (2010) A 90 days oral toxicity of imidacloprid in female rats: morphological, biochemical and histopathological evaluations. *Food Chem Toxicol* 48:1185-90
- Brunet JL, Maresca M, Fantini J, et al (2004) Human intestinal absorption of imidacloprid with Caco-2 cells as enterocyte model. *Toxicol Appl Pharmacol* 194:1-9
- Taparia K (2014) Human neonicotinoid exposure in Japan. *Jpn Clin Ecol* 23:14-24
- Boskabady M, Ramazani-Assari M (2001) Relaxant effect of *Pimpinella anisum* on isolated guinea pig tracheal chains and its possible mechanism(s). *J Ethnopharm* 74:83-8
- Karimzadeh F, Hosseini M, Mangeng D, et al (2012) Anticonvulsant and neuroprotective effects of *Pimpinella anisum* in rat brain. *BMC Complement Altern Med* 12:76
- Karatas AD (2009) Severe central nervous system depression in a patient with acute imidacloprid poisoning. *Am J Emerg Med* 27:1171.E5-1171.E7
- Gardier AM, Jacquot C, Artigas F (1995) Base neurobiologique du rôle des récepteurs 5-HT_{1A} dans le mode d'action des anti-dépresseurs sérotoninergiques
- Guichenez P, Perriot J, Quantin X, et al (2006) Troubles anxieux et dépressifs dans l'aide à l'arrêt du tabagisme. *Lettre du pneumologue* 9:200-6
- Le Novère N, Changeux JP (2001) LGICdb: the ligand-gated ion channel database. *Nucleic Acids Res* 29:294-5
- Raymond V, Sattelle DB (2002) Novel animal-health drug targets from ligand-gated chloride channels. *Nat Rev Drug Discov* 1:427-36
- Samojlik I, Mijatović V, Petković S, et al (2012) The influence of essential oil of aniseed (*Pimpinella anisum* L.) on drug effects on the central nervous system. *Fitoterapia* 83:1466-73
- Kahloula K, Slimani M, Adli DEH, et al (2013) Neuro beneficial effects of *Pimpinella anisum* against lead exposure. *Int J Green Pharm* 7:18-24
- Janahmadi M, Farajnia S, Vatanparast J (2008) The fruit essential oil of *Pimpinella anisum* L.(umbelliferae) induces neuronal hyperexcitability in snail partly through attenuation of after-hyperpolarization. *J Ethnopharmacol* 120:360-5
- Beer AL, Vartak D, Greenlee MW (2013) Nicotine facilitates memory consolidation in perceptual learning. *Neuropharmacology* 64:443-51
- Kutlu MG, Gould TJ (2015) Nicotine modulation of fear memories and anxiety: implications for learning and anxiety disorders. *Biochem Pharmacol* 97:498-511
- Mondal S, Sengupta T, Pradhan S, et al (2014) Impaired learning and memory after a week-long exposure of acetaminophen in adult rats. *Adv Anim Vet Sci* 2:543-8
- Decourtye A, Lacassie E, Pham-Delegue MH (2003) Learning performances of honeybees (*Apis mellifera* L.) are differentially affected by imidacloprid according to the season. *Pest Manag Sci* 59:269-78
- Decourtye A, Devillers J, Cluzeau S, et al (2004) Effects of imidacloprid and deltamethrin on associative learning in honeybees under semi-field and laboratory conditions. *Ecotoxicol Environ Saf* 57:410-9
- Farooqui T (2013) A potential link among biogenic amines-based pesticides, learning and memory, and colony collapse disorder: a unique hypothesis. *Neurochem Int* 62:122-36

34. Kenney JW, Gould TJ (2008) Modulation of hippocampus-dependent learning and synaptic plasticity by nicotine. *Mol Neurobiol* 38:101–21
35. Hasselmo ME (2006) The role of acetylcholine in learning and memory. *Curr Opin Neurobiol* 16:710–5
36. Xiao C, Srinivasan R, Drenan R (2011) Characterizing functional $\alpha 6\beta 2$ nicotinic acetylcholine receptors in vitro: mutant $\beta 2$ subunits improve membrane expression, and fluorescent proteins reveal responsive cells. *Biochem Pharmacol* 82: 852–61
37. Knoferle J, Yoon SY, Walker D (2014) Apolipoprotein E4 produced in gabaergic interneurons causes learning and memory deficits in mice. *J Neurosci* 34:14069–78
38. El-Hodairy F (2014) Neuroprotective effects of *Pimpinella anisum* on neurotoxicity induced by bisphenol a on normal and diabetic rats. *Int J Pharm Pharm Sci* 6:9–12
39. Testud F, Grillet J (2007) Insecticides organophosphorés, carbamates, pyréthrinoïdes de synthèse et divers. *Encycl Med Chir* 16:059-C-10
40. Goetz P (2011) Actualités en phytothérapie. *Phytothérapie* 9:189–91

Travaux
scientifiques

Communication internationale

N. Taibi · K. Kahloula · D. E. H. Adli · W. Arabi · M. Brahimi · M. Slimani.. Evaluation des effets thérapeutiques de l'huile essentielle de *juniperus oxycedrus* au niveau hépatique chez des jeunes rats wistar préalablement intoxiqués par le manganèse. 5^{ème} congrès International de l'ATP-BE 2016 « Tunisie ». **Poster.**

Communications nationales

N. Taibi · K. Kahloula · D. E. H. Adli · W. Arabi · M. Brahimi · M. Slimani.. Contribution a l'étude de l'effet antifongique de l'huile essentielle de la cannelle chinoise (*cinnamomum cassia*) sur quelques souches fongiques du genre *aspergillus*. 1^{ier} Séminaire National Biologie et Santé « 1^{ier} SNBS 2015 » 2015 de Sidi Bel Abbas. **Poster.**

N. Taibi · K. Kahloula · D. E. H. Adli · W. Arabi · M. Brahimi · M. Slimani.. L'aspect qualitatif et quantitatif de l'huiles essentielle et l'extrait de '*Pimpinella Anisum*' (Anis vert) selon les techniques : l'hydrodistillation et le soxhlet. Séminaire national en biologie "Biodiversité et gestion des Bioressources en zones arides et semi arides" 2017, à Naâma. **Poster.**

N. Taibi · K. Kahloula · D. E. H. Adli · W. Arabi · M. Brahimi · M. Slimani.. **N. Taibi** · K. Kahloula · D. E. H. Adli · W. Arabi · M. Brahimi · M. Slimani. Contribution a l'étude de l'effet d'une exposition subchronique a l'imidaclopride (insecticide) chez les rats wistar. Etude neurocomportementale 2^{ème} Séminaire National Biologie et Santé 2017 « 2^{ème} SNBS 2017 » de Sidi Bel Abbas. **Poster.**

N. Taibi · K. Kahloula · D. E. H. Adli · W. Arabi · M. Brahimi · M. Slimani.. L'évaluation de l'effet thérapeutique d'anis vert (*Pimpinilla anisum*) suite à une exposition subchronique à l'imidaclopride. Etude neurocomportementale. Journée d'étude : « les plantes au service de l'homme » 2018, à Saida. **Orale.**