

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
REPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA  
RECHERCHESCIENTIFIQUE  
جامعة باجي مختار - UNIVERSITÉ BADJI MOKHTAR  
Annaba عناية



FACULTÉ DES SCIENCES  
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE  
LABORATOIRE D'ECOPHYSIOLOGIE ANIMALE

Thèse En vue de l'obtention d'un Diplôme de Doctorat  
Domaine : SCIENCE DE LA NATURE ET DE LA VIE

Filière : SCIENCES BIOLOGIQUES  
Spécialité : ECOPHYSIOLOGIE ANIMALE

**Etude comparative des effets toxiques des pesticides  
chimiques et naturels utilisés dans l'alimentation sur  
plusieurs paramètres physiologiques chez le rat *Wistar***

**Intitulée**

**Présentée par : TEKTAK Mohamed**

**Directrice de thèse : MALLEM Leila** Université Badji Mokhtar – Annaba

**Co-Directeur de thèse : RENAULT David** Université Rennes1 – France

**Devant le jury composé de :**

<b>Pr. KHELILI Kamel</b>	<b>Président</b>	<b>U. Badji Mokhtar - Annaba</b>
<b>Pr. MANSOURI Ouarda</b>	<b>Examinatrice</b>	<b>U. Badji Mokhtar - Annaba</b>
<b>Dr. GHEID Samira</b>	<b>Examinatrice</b>	<b>U. Chadli Bendjedid - El-Tarf</b>

Année universitaire : 2023/2024

# *Remerciement*

*Je tiens à exprimer ma profonde gratitude envers toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de cette thèse de doctorat. Ce parcours n'aurait pas été possible sans le soutien, l'encouragement et la collaboration de nombreuses personnes exceptionnelles.*

*En premier lieu, je tiens à remercier chaleureusement ma directrice de thèse, le Pr. MALLEM Leila, et mon co-directeur de thèse, le Pr. RENAULT David, pour leur guidance éclairée, leurs expertises inestimables et leur patience tout au long de ce processus. Leurs conseils judicieux et leur engagement envers l'excellence académique ont été une source constante d'inspiration.*

*J'exprime mes profonds remerciements aux membres de jury qui ont bien voulu juger ce travail. Je souhaite tout d'abord à remercier Pr. KHELILI Kamel de m'avoir fait l'honneur d'accepter de présider le jury de ma thèse de doctorat. Je remercie également Pr. MANSOURI Ouarda et Dr. GHEID Samira, d'avoir accepté d'examiner ce travail, je vous en suis très reconnaissante.*

*Un merci particulier à monsieur le Pr. ABDENNOUR Cherif et mes amis et mes collègues de laboratoire et de recherche d'Ecophysiologie Animale qui ont partagé ce voyage avec moi. Leur collaboration, leurs idées novatrices et leur camaraderie ont créé un environnement stimulant et dynamique, propice à l'épanouissement de ce projet de recherche.*

*Enfin, mes plus sincères remerciements vont à ma famille, pilier inébranlable de mon parcours académique. À mon père, ma mère et mes sœurs, je suis reconnaissant pour leur soutien constant, leurs encouragements infatigables et leur compréhension inépuisable. Leurs sacrifices et leur amour ont été le moteur de ma persévérance, et cette thèse est dédiée à leur dévouement indéfectible.*

*Je tiens à exprimer ma profonde gratitude envers le Dr. SLIMANI Abderrachid, le Pr. HABBACHI Wafa, le Dr. HAMDY Leila et le Dr. AISSAOUI Mohamed pour leur précieuse aide. Je suis également reconnaissant envers Omar, Rania, Narimene, Imene et Salsabil pour leur soutien inestimable.*

*Je suis reconnaissant d'avoir pu partager cette réussite avec des êtres aussi exceptionnels.*

# *Dédicace*

*À mes chers parents et mes sœurs pour leur amour, leur soutien indéfectible et leurs encouragements constants tout au long de ce voyage académique. Leur foi en moi a été ma plus grande source de motivation.*

*À mes brillants directeurs de thèse, Pr. Leila MALLEM et Pr. David RENAULT, pour leur expertise, leur patience et leur mentorat inestimable. Leurs conseils éclairés ont guidé chacune de mes étapes dans cette recherche.*

*À mes amis et collègues qui ont partagé ce parcours avec moi, pour leur camaraderie, leurs conseils précieux et les moments de détente qui ont allégé le poids des défis académiques.*

*À toutes les personnes dont les contributions, petites ou grandes, ont enrichi ce travail de recherche. Leur soutien a été une source d'inspiration constante.*

*Cette thèse est dédiée à vous tous, avec gratitude et reconnaissance.*

## Liste des figures

Figure	Page
<b>Figure 01.</b> Agriculteurs en train d'appliquer des pesticides dans le Piémont en Italie, 1920	6
<b>Figure 02.</b> Trajectoire des pesticides dans l'environnement	8
<b>Figure 03.</b> Les voies d'exposition aux pesticides	9
<b>Figure 04.</b> Mécanisme d'action des néonicotinoïdes	18
<b>Figure 05.</b> Le parcours de l'Imidaclopride dans l'environnement	20
<b>Figure 06.</b> Structures chimiques des variétés du Neem	24
<b>Figure 07.</b> Un des fragments où il est fait mention de l'ail (surligné en clair)	31
<b>Figure 08.</b> Ail en hiératique	31
<b>Figure 09.</b> La toxicocinétique de l'ail	34
<b>Figure 10.</b> Schéma récapitulatif du protocole expérimental.	42
<b>Figure 11.</b> Les paramètres de la motilité spermatique (Illustration de la vitesse curvilinéaire (VCL), la vitesse linéaire (VSL), la vitesse moyenne du trajet (VAP), l'amplitude du déplacement latéral de la tête (ALH) et la fréquence à laquelle la tête traverse le point milieu de la trajectoire (BCF))	44
<b>Figure 12.</b> Caractérisation des malformations morphologiques des spermatozoïdes après l'exposition à un stress hypo osmotique	45
<b>Figure 13.</b> Variation la masse corporelle (g) des animaux comparés au groupe témoin durant la période de traitement ( $M \pm SD$ , $n = 8$ ).	62
<b>Figure 14.</b> Variation des paramètres hématologiques chez les rats témoins (T) et les rats traités après 6 semaines de traitement ( $M \pm SD$ , $n = 8$ )	63
<b>Figure 15.</b> Variation de la masse absolue du foie (g) chez les rats témoins (T) et les rats traités après 6 semaines de traitement ( $M \pm SD$ , $n = 8$ ).	64
<b>Figure 16.</b> Variation de l'activité enzymatique des transaminases (ASAT et ALAT) (U/L) les groupes des rats après 6 semaines de traitement ( $M \pm SD$ , $n = 8$ ).	65
<b>Figure 17.</b> Variation de l'activité enzymatique du PAL chez les groupes des rats après 6 semaines de traitement ( $M \pm SD$ , $n = 8$ ).	65
<b>Figure 18.</b> Variation de la concentration sérique de l'Albumine chez les groupes des rats	66

après 6 semaines de traitement ( $M \pm SD$ , $n = 8$ ).	
<b>Figure 19.</b> Variation de la concentration sérique des protéines totales chez les groupes des rats après 6 semaines de traitement ( $M \pm SD$ , $n = 8$ ).	66
<b>Figure 20.</b> Variation de la masse absolue des reins (g) chez les groupes des rats après 6 semaines de traitement ( $M \pm SD$ , $n = 8$ ).	67
<b>Figure 21.</b> Variation des paramètres biochimiques de la fonction rénale l'urée chez les groupes des rats après 6 semaines de traitement ( $M \pm SD$ , $n = 8$ ).	68
<b>Figure 22.</b> Variation de la masse absolue du testicule et de l'épididyme chez les groupes des rats après 6 semaines de traitement ( $M \pm SD$ , $n = 8$ ).	69
<b>Figure 23.</b> Variation de la concentration des spermatozoïdes ( $\times 10^6/\text{ml}$ ) chez les groupes des rats après 6 semaines de traitement ( $M \pm SD$ , $n = 8$ ).	69
<b>Figure 24.</b> Variation de la mobilité des spermatozoïdes (%) chez les groupes des rats après 6 semaines de traitement ( $M \pm SD$ , $n = 8$ ).	70
<b>Figure 25.</b> Variation de la vitalité des spermatozoïdes (%) chez les groupes des rats après 6 semaines de traitement ( $M \pm SD$ , $n = 8$ ).	71
<b>Figure 26.</b> Variation de la vitesse des spermatozoïdes ( $\mu\text{m/s}$ ) chez les groupes des rats après 6 semaines de traitement ( $M \pm SD$ , $n = 8$ ).	72
<b>Figure 27.</b> Variation de l'amplitude latérale de la tête des spermatozoïdes ( $\mu\text{m}$ ) et du Beat cross frequency : fréquence à laquelle la tête traverse le point milieu de la trajectoire (Hz) chez les groupes des rats après 6 semaines de traitement ( $M \pm SD$ , $n = 8$ ).	72
<b>Figure 28.</b> Variation de la concentration sérique du testostérone (ng/ml) chez les groupes des rats après 6 semaines de traitement ( $M \pm SD$ , $n = 8$ ).	73
<b>Figure 29.</b> Taux du malondialdéhyde (nM/mg de tissu) dans le foie et les testicules chez les rats témoins (T) et traités après 6 semaines de traitement ( $M \pm SD$ , $n = 8$ ).	74
<b>Figure 30.</b> Taux du glutathion (nM/mg prot) dans le foie et les testicules chez les rats témoins (T) et après 6 semaines de traitement ( $M \pm SD$ , $n = 8$ ).	75
<b>Figure 31.</b> Variation de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase ( $\mu\text{M/mg}$ de prot) dans le foie et le testicule chez les rats témoins (T) et après 6 semaines de traitement ( $M \pm SD$ , $n = 8$ ).	76

## Liste des tableaux

<b>Tableau</b>	<b>Page</b>
<b>Tableau 01.</b> Classification des animaux	37
<b>Tableau 02.</b> Propriétés physicochimiques de l'Imidaclopride	38
<b>Tableau 03.</b> Structure et caractérisation de l'Azadirachtine	39
<b>Tableau 04.</b> Classification de l'ail ( <i>Allium sativum</i> )	39
<b>Tableau 05.</b> Doses létales des pesticides utilisés	40
<b>Tableau 06.</b> Variation du poids corporel (g) des rats témoins (G1) et traités après 6 semaines de traitement ( $M \pm SD$ , n = 8).	61

## Liste des photos

<b>Photo</b>	<b>Page</b>
<b>Photo 01.</b> Vue d'ensemble d' <i>Azadirachta indica</i>	23
<b>Photo 02.</b> Fruits du Neem ( <i>Redirect Notice</i> ).	23
<b>Photo 03.</b> Système informatisé d'Analyse de sperme (SCA)	43

## Liste des abréviations

AChR : récepteur nicotinique de l'acétylcholine

ALAT/ALT : L'alanine aminotransférase

ALB : Albumine

ALH : Amplitude of Lateral Head displacement : amplitude du déplacement latéral de la tête

-AP : 4-Aminophénazone

ASAT/AST : Aspartate aminotransférase

AU : Acide urique

BCF : Beat cross frequency : fréquence à laquelle la tête traverse le point milieu de la trajectoire

BCG : Vert de bromocrésol

BSA : *Bovine serum albumin*

CASA : Computer-Assisted Semen Analysis

DCPS : 2-4 dichlorophénol sulfonate

DDT : dichlorodiphényltrichloroéthane

DL<sub>50</sub> : Dose létale

DO : Densité optique.

DTNB : Ellman's Reagent / (5,5-dithio-bis-) ou 2-nitrobenzoic acid.

EDTA : Ethylenediaminetetraacetic acid

ELISA : test immuno-enzymatique sur phase solide

FAO : Organisation Mondiale pour l'Alimentation et l'Agriculture

FNS : Formule de numération sanguine

GB : Globule blanc

GOT : Glutamateoxaloacétate transaminase

GPT : Glutamate-pyruvatetransaminase

GPx : Glutathion peroxydase

GR : Globule Rouge

GSH : Glutathion

GSSG : Disulfure de glutathion

Hb : Hémoglobine

HTC : hématocrite

INRS : Institut nationale de recherche scientifique

LDH : lactate déshydrogénase

LIN : Linéarité

LMC : Lymphocyte

LMR : limites maximales de résidus

MDA : Malondialdéhyde

MDH : Malate déshydrogénase

NADH : nicotinamide adenine dinucleotide (NAD) + hydrogen (H).

NOAEL : No observed adverse effect level

OCP : organochlorés

OMS : Organisation mondiale de santé

PAL : Phosphatase alcaline

pc : poids corporel

EC : Emulsifiable Concentrate

pH : Potentiel hydrogène

PLT : Plaquettes

pNPP : p-Nitophénylphosphate

Ppam : Institut technique des filières plantes aromatiques, médicinales et à parfum

PT : protéines totales

PUFA : produits terminaux formés lors de la décomposition des acides gras polyinsaturés

SCA : Système informatisé d'Analyse de sperme

SD : Standard deviation

SSA : Acide sulfosalicylique

TBA : Acide thiobarbiturique

TBS : Tris-buffered saline

TCA : Acide trichloroacétique.

TRIS : tris(hydroxyméthyl)aminométhane

VAP : Vitesse moyenne du trajet

VCL : Vitesse curvilinéaire

VSL : Velocity Straight Line (vitesse linéaire)

## Résumé

Cette étude vise à comparer les effets de l'insecticide chimique l'Imidaclopride, vis-à-vis au bioinsecticide commercial l'Azadirachtine provenant de *l'Azadirachta indica* et l'extrait aqueux de l'ail, sur plusieurs paramètres physiologiques chez le rat *Wistar* male. 56 rats males ont été répartis en sept groupes, le groupe G1 servant de témoin. Les groupes G2 et G3 ont reçu respectivement 1/30 et 1/15 de DL<sub>50</sub> de l'Imidaclopride. De même, les groupes G4 et G5 ont été exposés à 1/30 et 1/15 de la DL<sub>50</sub> d'Azadirachtine, tandis que les groupes G6 et G7 ont été traités aux mêmes doses 1/30 et 1/15 de la DL<sub>50</sub> de l'extrait aqueux d'ail dans l'alimentation pendant 6 semaines. Les résultats révèlent que le traitement par les pesticides utilisés n'a induit aucun changement significatif du poids corporel des rats par rapport au groupe témoin. Une diminution significative des globules rouges, globules blancs, hémoglobine et hématocrite chez les rats exposés à l'Imidaclopride par rapport au groupe témoin. Le même résultat a été observé dans l'activité enzymatique (ALAT, ASAT, PAL) de la fonction hépatique chez les groupes traités par l'Imidaclopride ainsi que la concentration de l'albumine et la protéine totale comparés au groupe témoin. Concernant la fonction rénale, nous avons enregistré une diminution de la masse absolue du rein chez le groupe traité par les deux doses du pesticide chimique utilisé et la forte dose de l'Azadirachtine et des changements significatifs dans les marqueurs rénaux, tels que l'urée et la créatinine chez les rats traités par l'Imidaclopride et la dose forte de l'Azadirachtine. Il n'y a eu aucun changement notable observé dans les groupes ayant reçu l'extrait aqueux d'ail par rapport au groupe témoin. Pour l'effet reprotoxique, il a été démontré que l'Imidaclopride a provoqué une diminution significative de la masse testiculaire, de la concentration et de la mobilité ainsi que la vitalité des spermatozoïdes toujours comparé au groupe témoin. Des variations significatives sont également observées dans la vitesse du sperme, chez les rats traités surtout les pesticide chimique utilisé comparé au groupe témoin. Concernant les marqueurs du stress oxydant, nous révélons surtout une augmentation significative du malondialdéhyde (MDA), dans le foie et le testicule des rats traités à l'Imidaclopride et la forte dose de l'Azadirachtine, accompagnée d'une diminution du glutathion tissulaire (GSH) et de l'activité de l'enzyme antioxydante glutathion peroxydase (GPx). Aucun changement n'a été enregistré concernant les résultats des paramètres hématologiques, le stress oxydant et les paramètres hépatiques chez les rats traités par l'extrait aqueux de l'ail et l'Azadirachtine. Les résultats de cette étude plaident en faveur d'une approche réfléchie dans l'utilisation des pesticides utilisés en agriculture, mettant

en évidence la nécessité de promouvoir des alternatives plus sûres et durables tels que les biopesticides d'origine végétale.

**Mots-clés :** Imidaclopride, Azadirachtine, extrait aqueux de l'ail, activité hépatique, activité rénale, paramètres de la reproduction, stress oxydant.

## **Abstract**

This study aims to compare the effects of the chemical insecticide Imidacloprid with the commercial bioinsecticide Azadirachtin from *Azadirachta indica* and aqueous garlic extract on various physiological parameters in male Wistar rats. Fifty-six male rats were divided into seven groups, with Group G1 serving as the control. Groups G2 and G3 received 1/30 and 1/15 of the LD50 of Imidacloprid, respectively. Similarly, Groups G4 and G5 were exposed to 1/30 and 1/15 of the LD50 of Azadirachtin, while Groups G6 and G7 were treated with the same doses of 1/30 and 1/15 of the LD50 of aqueous garlic extract in their diet for 6 weeks. The results reveal that treatment with the pesticides did not induce any significant changes in the rats' body weight compared to the control group. However, a significant decrease in red blood cells, white blood cells, hemoglobin, and hematocrit was observed in rats exposed to Imidacloprid compared to the control group. The same result was observed in the enzymatic activity (ALAT, ASAT, PAL) of liver function in groups treated with Imidacloprid as well as the concentration of albumin and total protein compared to the control group. Regarding renal function, a decrease in absolute kidney mass was recorded in the group treated with both doses of the chemical pesticide and the high dose of Azadirachtin, along with significant changes in renal markers such as urea and creatinine in rats treated with Imidacloprid and the high dose of Azadirachtin. No notable changes were observed in groups receiving aqueous garlic extract compared to the control group. For the reproductive toxicity effect, it was demonstrated that Imidacloprid caused a significant decrease in testicular mass, sperm concentration and mobility, as well as sperm vitality compared to the control group. Significant variations were also observed in sperm velocity in rats treated with chemical pesticides compared to the control group. Regarding oxidative stress markers, a significant increase in malondialdehyde (MDA) was mainly observed in the liver and testicle of rats treated with Imidacloprid and the high dose of Azadirachtin, accompanied by a decrease in tissue glutathione (GSH) and glutathione peroxidase (GPx) antioxidant enzyme activity. No changes were recorded in hematological parameters, oxidative stress, and liver parameters in rats treated with aqueous garlic extract and Azadirachtin. The results of this study advocate for a thoughtful approach in the use of pesticides in agriculture, highlighting the need to promote safer and more sustainable alternatives such as plant-based biopesticides.

**Key-words:** Imidacloprid, Azadirachtin, aqueous garlic extract, hepatic activity, renal activity, reproductive parameters, oxidative stress.

## ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى مقارنة تأثير مبيد الحشرات الكيميائي Imidaclopride مع مبيد حشري حيوي تجاري هو Azadirachtine المستخلص من شجرة النيم (*Azadirachta indica*) ، والمستخلص المائي للثوم على عدة عوامل فيزيولوجية لدى ذكور فئران *Wistar*. تم توزيع 56 فأراً ذكراً في سبع مجموعات ، حيث المجموعة G1 مجموعة الشاهد. تلقت المجموعتان G2 و G3 على التوالي 30/1 و 15/1 من LD50 لـ Imidaclopride . بالمثل، تعرضت المجموعتان G4 و G5 إلى 30/1 و 15/1 من LD50 ، Azadirachtine ، بينما تم علاج المجموعتان G6 و G7 بنفس الجرعات من 30/1 و 15/1 من LD50 لمستخلص الثوم في الغذاء لمدة 6 أسابيع. أظهرت النتائج أن العلاج بالمبيدات الحشرية لم يؤد إلى أي تغييرات كبيرة في وزن الجسم لدى الفئران مقارنة بالمجموعة الضابطة. ومع ذلك، تم ملاحظة انخفاض ملحوظ في عدد كرات الدم الحمراء، وكرات الدم البيضاء، والهيموجلوبين، ونسبة الهيماتوكريت في الفئران المعرضة لـ Imidaclopride مقارنة بالمجموعة الضابطة. كما لوحظت نفس النتيجة في النشاط الإنزيمي (ALAT) ، ASAT ، (PAL) لووظيفة الكبد في المجاميع التي تم علاجها بـ Imidaclopride ، بالإضافة إلى تركيز الألبومين والبروتين الكلي مقارنة بالمجموعة الشاهد. فيما يتعلق بالوظيفة الكلوية، تم تسجيل انخفاض في الكتلة الكلوية المطلقة في المجموعة التي تم علاجها بكلا الجرعتين من المبيد الكيميائي والجرعة العالية من Azadirachtine ، إلى جانب التغييرات الملحوظة في علامات الكلى مثل اليوريا والكرياتينين في الفئران التي تم علاجها بـ Imidaclopride والجرعة العالية من Azadirachtine. لم يتم ملاحظة أية تغييرات ملحوظة في المجموعات التي تلقت مستخلص الثوم المائي مقارنة بالمجموعة الشاهد. فيما يتعلق بالتأثيرات على الإنجاب، أظهر النتائج أن Imidaclopride تسبب في انخفاض ملحوظ في كتلة الخصية، وتركيز وحركة الحيوانات المنوية، فضلاً عن نشاطها الحيوي مقارنة بالمجموعة الشاهد. كما لوحظت تغييرات ملحوظة في سرعة الحيوانات المنوية في الفئران المعالجة بالمبيدات الكيميائية مقارنة بالمجموعة الشاهد. فيما يتعلق بعلامات التوتر التأكسدي، تم ملاحظة زيادة ملحوظة في المالونديالدهيد (MDA) بشكل رئيسي في الكبد والخصية للفئران التي تم علاجها بـ Imidaclopride والجرعة العالية من Azadirachtine ، مصحوبة بانخفاض في الغلوتاثيون النسيجي (GSH) ونشاط الإنزيم المضاد للأكسدة الغلوتاثيون بيروكسيداز (GPx). لم تُسجَل أية تغييرات في المعايير الهيماتولوجية، والتوتر التأكسدي، والمعايير الكبدية في الفئران التي تم علاجها بمستخلص الثوم المائي وAzadirachtine. تؤيد نتائج هذه الدراسة ضرورة التفكير في استخدام المبيدات الحشرية في الزراعة، مما يبرز الحاجة إلى تعزيز البدائل الأكثر أماناً واستدامة مثل المبيدات الطبيعية المستخلصة من النباتات.

**الكلمات المفتاحية :** Imidaclopride ، Azadirachtine ، مستخلص الثوم المائي، النشاط الكبدية، النشاط الكلوي، معايير التكاثر، الإجهاد التأكسدي

## Table des matières

Remerciements

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Résumé

<b>I.</b>	<b>Introduction .....</b>	<b>01</b>
<b>II.</b>	<b>Synthèse bibliographique .....</b>	<b>06</b>
<b>1.</b>	<b>Les pesticides .....</b>	<b>06</b>
<b>1.1.</b>	<b>L'historique sur l'utilisation des pesticides .....</b>	<b>06</b>
<b>1.2.</b>	<b>Le parcours des agents phytosanitaires dans leur environnement .....</b>	<b>08</b>
<b>1.3.</b>	<b>Les voies d'exposition aux pesticides .....</b>	<b>09</b>
<b>1.3.1.</b>	<b>Exposition via la nourriture .....</b>	<b>09</b>
<b>1.3.2.</b>	<b>Les pesticides dans les fruits et légumes .....</b>	<b>09</b>
<b>1.3.3.</b>	<b>Exposition via les pulvérisations de pesticides en milieux agricole et urbain ..</b>	<b>10</b>
<b>1.3.4.</b>	<b>Exposition via la poussière domestique, la pulvérisation et la terre des jardins .</b>	<b>11</b>
<b>1.4.</b>	<b>Impacts sanitaires liés à l'exposition aux pesticides .....</b>	<b>11</b>
<b>1.4.1.</b>	<b>Effets de l'exposition in utero et chez les enfants en bas âge .....</b>	<b>11</b>
<b>1.4.2.</b>	<b>Impacts sur le système hormonal .....</b>	<b>11</b>
<b>1.4.3.</b>	<b>Pesticides et hormones sexuelles .....</b>	<b>11</b>
<b>2.</b>	<b>Les biopesticides .....</b>	<b>12</b>
<b>2.1.</b>	<b>Historique .....</b>	<b>12</b>
<b>2.2.</b>	<b>Évolution historique des biopesticides .....</b>	<b>13</b>
<b>2.2.1.</b>	<b>Période pré-moderne (Antiquité) .....</b>	<b>13</b>
<b>2.2.2.</b>	<b>Début du XXe siècle .....</b>	<b>13</b>
<b>2.3.</b>	<b>Classification des biopesticides .....</b>	<b>14</b>
<b>2.3.1.</b>	<b>Biopesticides d'origine animale .....</b>	<b>14</b>
<b>2.3.2.</b>	<b>Biopesticides d'origine microbienne .....</b>	<b>14</b>
<b>2.3.3.</b>	<b>Biopesticides d'origine végétale .....</b>	<b>14</b>
<b>2.4.</b>	<b>Utilisation de Biopesticides d'Origine Végétale .....</b>	<b>15</b>
<b>3.</b>	<b>Les pesticides utilisés .....</b>	<b>15</b>

<b>3.1. L'Imidaclopride</b> .....	<b>15</b>
3.1.1. Historique .....	16
3.1.2. Utilisation en agriculture .....	17
3.1.3. Mode d'action .....	17
3.1.4. Toxicocinétique .....	18
3.1.5. Le parcours de l'Imidaclopride dans l'environnement .....	19
3.1.6. Les conséquences de l'exposition à l'Imidaclopride .....	20
3.1.7. Effets toxiques de l'Imidaclopride .....	21
3.1.7.1. Impacts sur l'hématologie et sur les paramètres sanguins .....	21
3.1.7.2. Toxicité Hépatique .....	21
3.1.7.3. Impacts sur la fonction rénale .....	21
3.1.7.4. Les effets sur les paramètres du stress oxydatifs .....	22
<b>3.2. L'Azadirachtine</b> .....	<b>23</b>
3.2.1. Historique .....	24
3.2.2. Origine du Neem .....	25
3.2.3. Utilisations .....	25
3.2.3.1. Pour les plantes .....	26
3.2.4. Mécanisme d'action .....	27
3.2.5. La dégradation de l'Azadirachtine .....	28
3.2.6. Impact de l'Azadirachtine (Neem) sur la Santé .....	28
3.2.6.1. Impact du Neem sur le Foie .....	28
3.2.6.2. Effets de l'Extrait d' <i>Azadirachta indica</i> sur les Paramètres Hématologiques ...	28
3.2.6.3. Potentiel Antioxydant de l'Azadirachtine .....	29
3.2.6.4. Effets Néphrotoxiques .....	29
<b>3.3. L'ail</b> .....	<b>30</b>
3.3.1. Description botanique .....	30
3.3.2. L'histoire de l'ail .....	30
3.3.3. Description de l'ail, <i>Allium sativum</i> .....	31
3.3.4. Composition de l'ail .....	32
3.3.5. Le mécanisme d'action .....	33
3.3.6. Propriétés insecticides, nématocides et fongicides des extraits d'ail .....	33

3.3.7. Toxicocinétique .....	33
3.3.8. Effets diversifiés de l'Ail sur la Santé .....	34
3.3.8.1. Les effets toxiques d'ail .....	34
3.3.8.2. Propriétés Antioxydantes .....	35
3.3.8.3. Survie Cellulaire en cas de Stress .....	35
3.3.8.4. Effet de l'ail sur le foie .....	35
3.3.8.5. Effet de l'ail sur l'Hématotoxicité .....	36
3.3.8.6. Effets sur la Fonction de Reproduction .....	36
III. Matériel et méthodes .....	37
1. Les animaux .....	37
1.1. Classification des animaux .....	37
1.2. Choix des pesticides et des doses .....	37
1.3. Classification et propriétés physicochimiques des pesticides utilisés .....	38
1.4. Extraction aqueuse de l'ail, <i>Allium sativum</i> .....	40
1.5. Traitement des rats .....	40
1.6. Prélèvement des échantillons .....	41
1.7. Prélèvement du sang .....	41
2. Méthodes utilisées pour le dosage .....	43
2.1. Etude de la biologie du sperme .....	43
2.1.1. Evaluation de la concentration et la mobilité des spermatozoïdes .....	43
2.1.1.1. Evaluation de la concentration spermatozoïdes .....	44
2.1.1.2. Evaluation de la mobilité des spermatozoïdes .....	44
2.1.2. Evaluation de la vitalité des spermatozoïdes .....	45
2.2. Réalisation de la formule de numération sanguine (FNS) .....	46
2.3. Dosage hormonal .....	46
2.4. Dosage des paramètres biochimiques .....	47
2.4.1. Dosage de l'urée .....	47
2.4.2. Dosage de la créatinine .....	48
2.4.3. Dosage de l'acide urique .....	49
2.4.4. Dosage de l'aspartate aminotransférase (ASAT) .....	51
2.4.5. Dosage de l'alanine aminotransférase (ALAT) .....	52

2.4.6. Dosage de la phosphatase alcaline (PAL) .....	53
2.4.7. Dosage de l'albumine .....	54
2.4.8. Dosage de la Protéine totale .....	55
2.5. Dosage des paramètres du stress oxydatif .....	55
2.5.1. Préparation de l'homogénat tissulaire .....	55
2.5.2. Méthode de dosage de glutathion tissulaires (GSH) .....	56
2.5.3. Dosage du malondialdéhyde (MDA) .....	57
2.5.4. Évaluation de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx) .....	58
2.5.5. Dosage des protéines .....	59
3. Analyse statistique des résultats .....	60
IV. Résultats .....	61
1. Variation du poids corporel des rats .....	61
2. Influences du pesticide chimique et les biopesticides utilisés sur les paramètres hématologiques .....	62
3. Influence du traitement sur la fonction hépatique .....	63
3.1. Variation de la masse absolue du foie .....	64
3.2. Effet sur l'activité des amino-transaminases .....	64
3.3. Effet sur l'activité de la phosphatase alcaline .....	65
3.4. Effet sur la concentration sérique en protéines totales et en albumine .....	65
4. Effets du traitement sur la fonction rénale .....	67
4.1. Variation de la masse absolue du rein .....	67
4.2. Effet sur les marqueurs rénaux .....	67
5. Influence du traitement sur la reproduction .....	68
5.1. Variation de la masse absolue des testicules .....	68
5.2. Variation de la concentration des spermatozoïdes .....	69
5.3. Variation de la mobilité des spermatozoïdes .....	70
5.4. Variation de la vitalité des spermatozoïdes .....	70
5.5. Variation de la vitesse du sperme .....	71
5.6. Influence du traitement sur la concentration sérique de la Testostérone .....	73
6. Influence du traitement sur les marqueurs du stress oxydant .....	73
6.1. Influence du traitement sur le malondialdéhyde (MDA) .....	73

6.2. Influence du traitement sur le glutathion tissulaire (GSH) .....	74
6.3. Influence du traitement sur l'activité des enzymes antioxydantes (glutathion peroxydase GPx) .....	75
V. Discussion .....	77
VI. Conclusion et perspective .....	99

Références bibliographiques



# INTRODUCTION



# INTRODUCTION

## INTRODUCTION

La protection des cultures contre les ravageurs et les maladies est un défi crucial en agriculture. Historiquement, cette protection a largement reposé sur l'usage de produits chimiques contenus dans des pesticides. Au fil du temps, l'emploi massif de ces substances, efficaces et abordables, a permis d'accroître les rendements, de réduire les pertes liées aux parasites et de garantir la sécurité alimentaire (**Mybeck *et al.*, 2017**). Environ 350 types de pesticides différents sont répertoriés comme étant utilisés dans l'agriculture. Ce secteur joue un rôle primordial dans le développement socio-économique mondial, employant plus de 40 % de la population active, dont plus de 52 % en Afrique et en Asie (**Momagri, 2016**). Les pesticides sont utilisés en agriculture pour protéger diverses espèces végétales en détruisant les champignons, bactéries, les mauvaises herbes et les insectes (**Richard, 2010**) ainsi que différents ravageurs de plantes et arbres (**Laurin, 2007**).

Les traitements par les pesticides, bien qu'apportant des avantages notables, sont remis en cause en raison de leur toxicité pour l'utilisateur, la résistance émergente, et la contamination environnementale par les résidus. Face à l'accroissement de ces préoccupations, un arsenal législatif et réglementaire a été mis en place à plusieurs niveaux. Il s'agit d'accompagner l'évolution des pratiques agricoles pour assurer une meilleure sécurité et gestion des produits (**Ferroukhi *et al.*, 2022**). La mise en évidence de leurs effets néfastes sur la santé humaine et l'environnement a été prouvée par plusieurs recherches de haut niveau (**Blanchoud, 2011**). Citant que plusieurs études indiquent que certains pesticides pourraient provoquer des anomalies du développement embryonnaire (malformations, retard de croissance et de développement), l'avortement spontané, la prématurité, la diminution de la fertilité, l'infertilité, la diminution de la production des spermatozoïdes et pouvant aussi affecter leur mobilité (**Ouchebbouk & Zibani, 2015**). Outre, une étude menée de **1999 à 2001 par l'Inserm (Institut national de la santé et de la recherche médicale)** a montré que le risque de développer la maladie de Parkinson est multiplié par 1,9 chez les personnes exposées aux pesticides agricoles pendant plus de 15 ans (**Goutille, 2022**). Plusieurs pesticides ont été identifiés comme étant cancérigènes, comme les lymphomes, la leucémie ainsi que le cancer des tissus conjonctifs, du cerveau et de la prostate sont les plus rencontrés lors de l'exposition prolongée aux pesticides (**Palmieri, 2021**). D'autres recherches tendent à démontrer les risques accrus entre l'utilisation des pesticides et le

## INTRODUCTION

cancer du rein et du cerveau ainsi que la leucémie chez les enfants d'agriculteurs, et chez surtout les utilisateurs professionnels de pesticides (**Baldi, 2021**).

L'ensemble de la population peut être exposé aux résidus de l'usage de ces produits, à travers l'alimentation et/ou de l'environnement (**Pascale & Laborde, 2020**).

Parmi les pesticides chimiques les plus utilisés dans la région de l'est algérien, nous citons la famille des Néonicotinoïdes qui sont des insecticides systémiques largement utilisés dans l'agriculture pour protéger les cultures et les arbres fruitiers contre les ravageurs (**Blottière, 2020**). Ils sont classés en cinq sous-familles : la clothianidine, l'Imidaclopride, le thiaméthoxame, l'acétamipride et le thiaclopride (**Bettiche et al., 2023**). La nocivité des néonicotinoïdes a été établie de manière incontestable par plusieurs recherches substantielles s'étalant sur les 25 dernières années. Il a été démontré que les néonicotinoïdes présentent une toxicité aiguë, même à des faibles concentrations d'exposition, mais leur impact s'étend également aux effets sub-létaux, sur le système immunitaire, la perturbation de la reproduction (**Woodcock et al., 2017**).

En tête de liste, nous trouvons l'insecticide utilisé dans cette étude l'Imidaclopride, un des insecticides systémiques les plus utilisés dans le monde. Il est souvent utilisé comme traitement de semence, particulièrement pour le maïs, le tournesol et le colza (**Aureille, 2020**).

Les effets de l'Imidaclopride sur les oiseaux a été démontré (**Millot et al., 2017**). D'autres études ont démontré des impacts, notamment l'empoisonnement des oiseaux par cet insecticide (**Moser et al., 2015**). Ces résultats sont soutenus par des publications mettant en évidence les effets potentiels de l'Imidaclopride sur l'homéostasie des hormones thyroïdiennes et la reproduction (**Pandey et Mohanty, 2015**). Encore une autre recherche a prouvé que le traitement chronique par l'Imidaclopride à une dose de 8 mg/kg peut causer des perturbations sévères dans le système reproducteur des rats mâles, avec une morphologie anormale des spermatozoïdes et une diminution de la motilité des spermatozoïdes (**Sevim et al., 2023**).

Encore plus, l'effet sur la fonction de reproduction a prouvé que l'exposition subchronique à l'Imidaclopride peut provoquer une diminution des niveaux de glutathion dans les organes reproducteurs mâles des rats (**Tariba Lovaković et al., 2021**).

## INTRODUCTION

Plusieurs études ont prouvé les effets à long terme du traitement à l'Imidaclopride chez les rats, sur les enzymes hépatiques et les modifications histopathologiques, révèlent des modifications significatives du profil biochimique, indiquant des altérations métaboliques et des lésions hépatiques accompagnées d'inflammation ou de nécrose chez les animaux traités. Des changements histopathologiques notables ont également été observés dans le foie des rats mâles et femelles suite au traitement à l'Imidaclopride (**Vohra & Khera, 2015 ; Toor et al., 2013 ; Saadi et al., 2012**).

D'autres études sur le profil du stress oxydant ont montré que l'exposition à l'Imidaclopride peut entraîner une augmentation de la peroxydation lipidique, avec une augmentation du malondialdéhyde (MDA) dans les testicules des rats (**Bal et al., 2012**). Cette augmentation du MDA a été corrélée à une réduction des niveaux de glutathion réduit (GSH) et de glutathion peroxydase (GPx) au niveau du foie et des organes reproducteurs mâles des rats (**Tariba Lovaković et al., 2021**),

En ce qui concerne la néphrotoxicité, des dommages des reins chez les rats exposés à l'Imidaclopride pendant une période subchronique ont été observés (**Srivastava, 2010**), confirmant la potentialité néphrotoxique de cette substance.

Notant que l'usage des plantes indigènes dans la conservation des récoltes a été pratiqué avant même l'apparition des insecticides de synthèse. Les plantes sont utilisées contre les ravageurs pour leurs effets répulsifs, de contact ou fumigeant. **Paul & Pollard en 2009**, précisent que l'efficacité des plantes est différente entre les feuilles entières ou réduites en poudre et les graines dans le contrôle de *Callosobruchus maculatus* et *Zahrotes suhfasciatus* (Boheman), (**Badiga, et al 2014**). Leur application dans la protection des stocks et des cultures a fait l'objet de nombreux travaux. Leur toxicité s'exprime de différentes manières : activités ovicide, larvicide, fongicide, acaricide.... (**Regnault-Roger, 2008**).

A partir des vingt dernières années, l'utilisation des plantes à effet pesticide a revu le jour, et des extraits de certaines plantes à pouvoir pesticide sont utilisées pour leurs activités de contact et inhalatrice. Les bénéfices potentiels pour l'agriculture et la santé publique utilisant des biopesticides sont considérables. L'intérêt pour les biopesticides repose sur les avantages associés

## INTRODUCTION

à ces produits qui sont moins nocifs et moins toxiques que leurs homologues chimiques. Conçu pour n'affecter que les organismes nuisibles ou dans certains cas, quelques organismes cibles, souvent efficaces dans de petites quantités et se décomposent souvent rapidement, de ce fait résultant en des expositions plus faibles et en évitant largement les problèmes de pollution et lorsqu'il est utilisé contre les ravageurs, **(Gupta, & Dikshit, 2010)**.

Nous rappelons qu'il a été cité dans une publication récente que les pesticides d'origine naturelle qui auraient un moindre impact environnemental suscitent un intérêt majeur. Parmi eux, l'Azadirachtine, commercialisée sous diverses formulations (huile de neem, BioAza, Neem-Azal, Bioneem, etc.) reste la molécule la plus recommandée dans les agroécosystèmes. L'argument d'une innocuité environnementale de l'Azadirachtine est nuancé par des effets collatéraux notables et controversés sur les organismes non cibles **(Aribi et al, 2020)**. Trois espèces d'Azadirachtine appartiennent à la classe des limonoïdes, l'*Azadirachta indica* (Rutales : Meliaceae), *Azadirachta excelsa* **(Schmutterer et al, 2002)** et *Azadirachta siamensis* **(Smbatsiri et al., 2002)**. Il est chimiquement intéressant en raison de sa structure complexe et des défis que représente sa synthèse ; il est biologiquement intéressant parce qu'il est un facteur de dissuasion alimentaire pour certains insectes et un perturbateur de croissance pour la plupart des insectes et de nombreux autres arthropodes et espèces dans des phyla apparentés.

Malgré ces résultats positifs, **Baligar et al. (2014)** ont souligné la nécessité d'une analyse approfondie de la toxicité persistante de cet extrait ont démontrés que ce produit peut être toxique affectant plusieurs paramètres dans les conditions expérimentales **(Aribi et al., 2020)**. Les résultats d'Ezeigwe **et al. (2020)** ont révélé des effets significatifs sur les paramètres hématologiques chez les rats traités. Une augmentation notable de la concentration d'hémoglobine, du volume des cellules emballées, du nombre de globules rouges et de plaquettes a été observée.

D'autres ont examiné les effets néfastes sur la reproduction des rats montrant que l'extrait éthéré d'écorce de neem, contient de l'Azadirachtine, peut avoir des effets anti fertilité chez les rats mâles, avec une diminution de la production de sperme et une altération de la morphologie des spermatozoïdes **(Srivastava & Raizada, 2011 ; Chaube et al., 2014 ; Njoga et al., 2022)**. En plus, L'Azadirachtine avait des effets dose-dépendants sur la reproduction, suggérant des effets

## INTRODUCTION

anti androgéniques et anti fertilité chez les rats mâles (**Aladakatti et al., 2011**). Les études de **Dafalla et al. (2015)** sur l'extrait aqueux de noyau de semence d'*Azadirachta indica* chez les rats albinos *Wistar* ont révélé une augmentation significative de l'activité de l'enzyme ALT chez les rats, suggérant une toxicité hépatorenale dose-dépendante (**Dafalla et al., 2015**).

Une autre étude sur L'effet sur les paramètres rénaux a montré une augmentation significative des taux sériques de créatinine, d'urée et d'acide urique chez les rats exposés à des doses d'Azadirachtine sur une période prolongée. Les travaux d'**Ali (2016) & Ravindranath (2011)** ont révélé un effet-sur les paramètres rénaux et les paramètres du stress oxydatifs toujours chez le rat (**Nikolova et al., 2020**).

Pari les biopesticides végétales, nous citons aussi que l'utilisation de l'ail (*Allium sativum*) remonte aux civilisations anciennes, et il a été mentionné dans la littérature des grands royaumes du monde antique (**Rosenblum, 2020**). L'ail est utilisé comme biopesticide en agriculture présentant plusieurs avantages. Tout d'abord, l'ail est un pesticide naturel, offrant une alternative aux produits chimiques pour la protection des cultures (**Anwar et al., 2016**). Les extraits d'ail et l'huile d'ail sont couramment utilisés pour lutter contre les maladies cryptogamiques du potager et du verger, telles que le mildiou, ainsi que pour lutter contre les insectes nuisibles (**Nwachukwu & Asawalam, 2014**). L'ail est également reconnu pour ses effets nématocides et herbicides, ce qui en fait un choix polyvalent pour la protection des cultures (**Awais et al., 2009**). Enfin, l'utilisation de l'ail comme biopesticide est considérée comme plus respectueuse de l'environnement que l'utilisation de pesticides chimiques, ce qui en fait une option plus durable pour l'agriculture (**Rinaldi et al., 2019**).

L'objectif de notre étude est d'évaluer les effets toxiques de l'insecticide chimique Imidaclopride, le plus utilisé en agriculture, ainsi que ceux de deux biopesticides : l'Azadirachtine et l'extrait aqueux d'ail, utilisés comme insecticides et fongicides en agriculture traditionnelle. Cette évaluation se fera sur les paramètres hématologiques, les altérations biochimiques de la fonction hépatique et rénale, ainsi que les paramètres de la reproduction et du stress oxydant chez le rat mâle Wistar.



# **SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE**



### Synthèse bibliographique

#### 1. Les pesticides

Les pesticides sont des composés conçus pour éliminer ou maîtriser des organismes nuisibles tels que les insectes, les champignons, les mauvaises herbes, les rongeurs et d'autres agents pathogènes qui peuvent causer des préjudices aux cultures, aux animaux domestiques, à l'écosystème et la santé humaine (Aribi *et al.*, 2020).

##### 1.1.L'historique sur l'utilisation des pesticides

Les pesticides ont été précocement utilisés pour la préservation des cultures et la protection de la santé publique, dans le but de limiter la propagation des parasites et des maladies, et d'améliorer la qualité de la production alimentaire (Tudi *et al.*, 2021). Des traces de l'utilisation du soufre remontent à la Grèce antique, datant de 1000 ans avant J.-C (Szydło, 2022). Homère mentionne l'utilisation du soufre comme agent de fumigation dans ses écrits, tandis que Pline l'Ancien naturaliste romain du Ier siècle, préconisait l'usage de l'arsenic comme insecticide (Pathania *et al.*, 2020).

Au XIXe siècle, un tournant s'opère avec l'essor de la chimie minérale, fournissant de nombreux pesticides minéraux dérivés des sels de cuivre (Meziane & Rezaiguia, 2021). L'utilisation de fongicides à base de sulfates de cuivre se généralise, donnant naissance à la bouillie bordelaise, une combinaison de sulfate de cuivre et de la chaux destinée à lutter contre des maladies cryptogamiques telles que le mildiou de la vigne et de la pomme de terre (Ferault *et al.*, 2022).



**Figure 01.** Agriculteurs en train d'appliquer des pesticides dans le Piémont en Italie, 1920

## SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Le véritable essor des pesticides est lié au développement de la chimie organique de synthèse à partir des années 1930. Les propriétés insecticides du DDT, synthétisé dès 1874, sont découvertes en 1939 (**Traoré, 2023**). Le DDT est commercialisé, devenant ainsi le premier représentant de la famille des organochlorés qui dominera le marché des insecticides jusqu'aux années 1970 (**Meziane & Rezaiguia, 2021**).

Les recherches sur les armes chimiques, menées lors des Première et Seconde Guerres mondiales ont favorisé la découverte de nouveaux composés organiques tels que les organophosphorés (**Fankep, 2019**). Ces derniers ont connu un développement significatif, certains, comme le malathion, étant utilisés jusqu'à maintenant dans plusieurs pays malgré son interdiction en des pays européens depuis le 1er décembre 2008 (**Louat, 2013**).

D'autres pesticides, efficaces et économiques, ont été développés pour divers secteurs tels que l'industrie textile (anti-moisissures, anti-acariens), l'industrie du bois (traitement contre les xylophages et les champignons des charpentes). L'utilisation des pesticides s'est progressivement étendue aux usages domestiques (anti-moustiques, colliers antipuces pour les animaux), à l'entretien des voies publiques, ainsi qu'à des applications en médecine (antiseptiques et désinfectants) (**Busson, 2021**).

La seconde moitié du XXe siècle a été caractérisée par une diffusion mondiale généralisée de l'utilisation des pesticides, bien que les types et les quantités de pesticides aient varié (**El Alami, 2017**). Globalement, une augmentation significative de la consommation de pesticides été remarquablement doublé, tous les dix ans entre 1945 et 1985. Toutefois, au cours de la dernière décennie, une tendance à la baisse des quantités de pesticides vendus s'est manifestée en Europe. Cette diminution peut être attribuée à plusieurs facteurs convergents, tels que le retrait de composés jugés trop dangereux, l'amélioration de l'efficacité des produits, et une prise de conscience croissante des impacts sanitaires et environnementaux liés à une utilisation excessive de ces substances (**Laadjel & Mecheri, 2020**).

Malgré cela, durant les cinquante dernières années ont été caractérisées par une utilisation intense des pesticides pour le développement de l'agriculture. Ils ont été essentiels à l'établissement de systèmes de production intensif, offrant une gestion des risques améliorés,

## SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

une garantie relative de productivité, et une réponse aux besoins croissants des populations (Droy *et al.*, 2012).

De nos jours, il existe un intérêt croissant pour des approches agricoles durables, encourageant l'adoption de méthodes alternatives telles que l'agroécologie (Ouerdaogo & Tapsoba, 2023), la lutte biologique et la rotation des cultures pour réduire la dépendance aux pesticides (Kheddam-Benadjal, 2012).

### 1.2. Le parcours des agents phytosanitaires dans leur environnement

Malgré la croissante préoccupation pour la préservation de l'environnement, une partie inévitable des composés phytosanitaires est libérée lors de l'application de produits agricoles, se présentant généralement sous forme de gouttelettes dans l'air et sur le sol (Sambou, 2018).

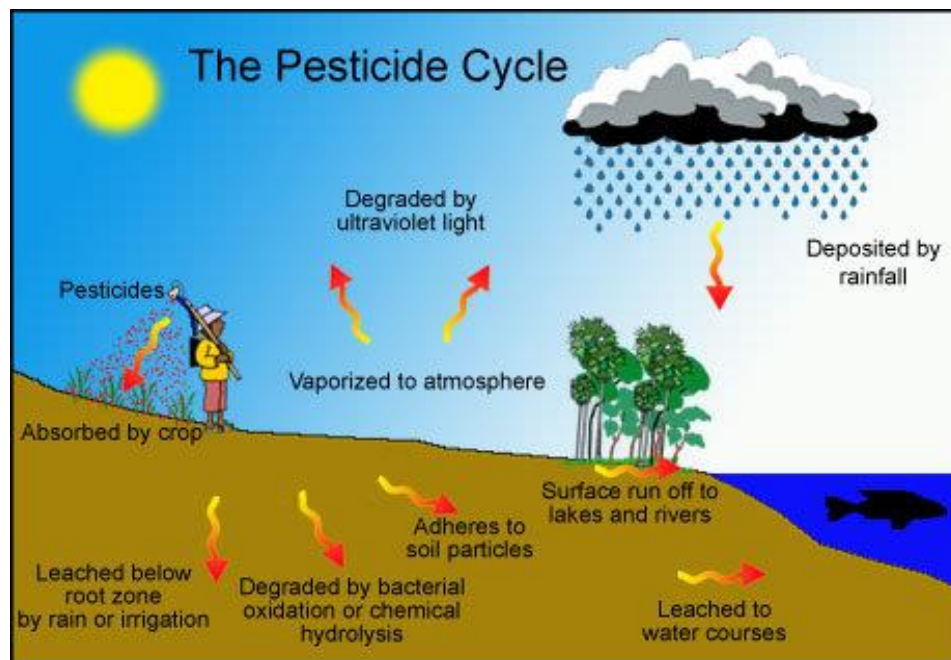
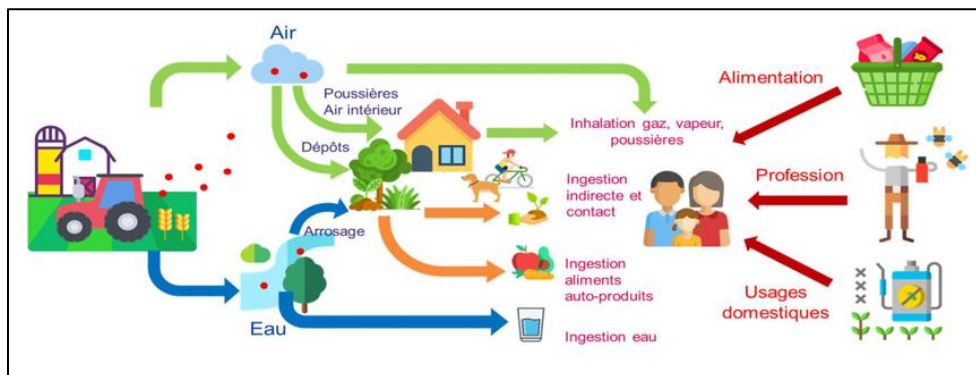


Figure 02. Trajectoire des pesticides dans l'environnement (Basu, 2014).

## SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

### 1.3. Les voies d'exposition aux pesticides

Il y a diverses manières d'être exposé aux pesticides (figure 03) :



**Figure 03.** Les voies d'exposition aux pesticides (**Dereumeaux et al., 2022**).

Plusieurs voies d'exposition sont envisagées, dans la nourriture, les animaux, les fruits et les légumes, les produits des animaux et en milieux agricole et urbain et via les fruits et légumes.

Nous nous limitons dans cette étude à la voie d'exposition utilisée dans ce travail.

#### 1.3.1. Exposition via la nourriture

Les produits de l'agriculture intensive sont souvent contaminés par des résidus de pesticides, d'après diverses études, avec un seul aliment susceptible de contenir plusieurs de ces résidus, exposant ainsi les consommateurs à des mélanges ou cocktails de substances (**Fenik et al., 2011**). Les effets toxiques de ces combinaisons restent largement méconnus, bien que l'on reconnaisse que certaines substances peuvent agir de concert, entraînant des effets plus importants que ceux de chaque composant pris isolément (**Reffstrup et al., 2010**).

Selon les conclusions de **Sutton et al. (2011)**, les habitudes alimentaires courantes aux États Unis peuvent entraîner une exposition cumulative élevée de la population aux pesticides. Ce phénomène semble également se manifester dans d'autres pays, suscitant des inquiétudes en raison de la consommation quotidienne de pesticides, en particulier de substances lipophiles qui ont tendance à s'accumuler dans le corps.

#### 1.3.2. Les pesticides dans les fruits et légumes

Lors de la mise sur le marché des produits alimentaires, des traces de pesticides peuvent subsister dans les tissus des cultures ou à leur surface. Les scientifiques ont mis au point

## SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

diverses méthodes pour évaluer la concentration de pesticides dans les aliments au fil du temps. Ils soulignent l'importance de surveiller en continu ces niveaux pour garantir au mieux le respect des valeurs limites fixées pour les résidus de pesticides dans les produits destinés à la vente (**Wilkowska et Biziuk, 2011 ; Li et al., 2014**). À l'échelle nationale ou régionale, la plupart des pays ont défini des limites maximales de résidus (LMR) pour chaque substance, au-delà desquelles les aliments sont considérés comme impropres à la consommation humaine. L'Union européenne a également établi des LMR (limites maximales de résidus) applicables à tous ses États membres.

Les légumes, en particulier les légumes à feuilles vertes, et les fruits tels que les pommes et les raisins, sont généralement les plus susceptibles de contenir des résidus de pesticides, selon plusieurs études publiées entre 2007 et 2014 (**Bempah et al., 2012 ; Jardim et al., 2012 ; Fan et al., 2013 ; Yuan et al., 2014**). Des données substantielles indiquent que ces substances sont souvent présentes sous forme de mélanges de résidus divers, dépassant parfois les niveaux de limites de résidus (LMR) établis dans certains pays (**Latifah et al., 2011 ; Jardim et al., 2012**). Des pesticides tels que la cyperméthrine, le chlorpyrifos, l'iprodione, le boscalid, les dithiocarbamates et l'acéphate sont fréquemment détectés dans les denrées alimentaires (**Claeys et al., 2011 ; Yuan et al., 2014**). Bien que le lavage et la cuisson des légumes semblent réduire les résidus en surface, dans certains cas, les procédés de préparation peuvent entraîner une augmentation des niveaux de résidus (**Keikotlhaile et al., 2010**).

**1.3.3. Exposition via les pulvérisations de pesticides en milieux agricole et urbain** Les pesticides appliqués sur les terres agricoles et les zones urbaines peuvent se disperser dans l'air et parcourir de longues distances. Par exemple, une étude menée aux États-Unis a révélé que de nombreux pesticides couramment utilisés pouvaient être détectés à des distances considérables des sites d'application. Des substances telles que le diazinon et le chlorpyrifos présentaient encore des niveaux dépassant les limites maximales établies par le gouvernement, à des distances allant de 10 à 150 mètres du point de pulvérisation des pesticides (**Sutton et al., 2011**). Par conséquent, les personnes résidant dans des zones agricoles peuvent être exposées de manière significative aux pesticides par inhalation. De manière similaire, ceux qui sont à proximité des zones agricoles respirent de l'air contaminé, les zones urbaines ou les habitations. Cette exposition atmosphérique soulève des préoccupations quant à la santé des populations.

## SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

### 1.3.4. Exposition via la poussière domestique, la pulvérisation et la terre des jardins

Des études menées sur certains pesticides, ont pu identifier la poussière domestique, en particulier ceux utilisés pour lutter contre les parasites ménagers (Naeher *et al.*, 2010). Sachant que les pyréthrinoïdes, tels que la perméthrine et la cyfluthrine, ainsi que parfois le chlorpyrifos, sont les principaux composés utilisés pour éradiquer les insectes à l'intérieur des habitations. L'ingestion, l'inhalation et le contact cutané avec la poussière contaminée peuvent entraîner une exposition continue et variée aux pesticides (Morgan *et al.*, 2014 ; Starr *et al.*, 2008). D'autres recherches ont montré que les maisons situées dans des zones agricoles, en particulier celles à proximité de terres traitées avec des pesticides, présentent des niveaux de contamination plus élevés (Harnly *et al.*, 2009 ; Naeher *et al.*, 2010).

## 1.4. Impacts sanitaires liés à l'exposition aux pesticides

### 1.4.1. Effets de l'exposition in utero et chez les enfants en bas âge

Les études sur l'exposition aux pesticides durant la période de grossesse ont montré une augmentation des effets néfastes incluant les risques de fausses couches, de malformations congénitales et de leucémie (Grandjean, 2016). Elle peut être associée également à des anomalies génétiques, des troubles de la reproduction et des atteintes cérébrales chez l'enfant consécutives à une exposition en bas âge (Lévêque & Cerisier-Auger, 2018). L'exposition aux pesticides a été associée aux effets néfastes sur le neurodéveloppement des enfants de populations travaillant ou vivant dans des zones agricoles (Jeanne & Cordier, 2022). D'autres chercheurs aux États-Unis ont mentionné que l'exposition en bas âge aux pesticides peut nuire à la fonction pulmonaire d'un enfant après la naissance (Buralli *et al.*, 2020).

### 1.4.2. Impacts sur le système hormonal

De nombreux pesticides agissent comme perturbateurs endocriniens, influençant diverses hormones, entraînant des troubles dans plusieurs fonctions (Mnif *et al.*, 2011).

### 1.4.2. Pesticides et hormones sexuelles

Des études expérimentales menées in vitro (dans un tube à essai ou sur des lignées cellulaires de culture) confirmeraient les observations selon lesquelles l'équilibre des hormones sexuelles peut être perturbé par l'exposition à certains pesticides (Kjeldsen *et al.*, 2013). Certains éléments

## SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

suggèrent également que la fertilité serait réduite aussi bien chez l'homme que chez la femme suite à une exposition prolongée aux pesticides (**Abell *et al.*, 2000 ; Oliva *et al.*, 2001**).

### 2. Les biopesticides

#### 2.1. Historique

Depuis des siècles, les agriculteurs ont traditionnellement utilisé des biopesticides, définis comme des "organismes vivants ou des produits dérivés de ces organismes ayant la capacité de supprimer ou limiter les ennemis des cultures". Ces biopesticides sont classés en trois catégories principales selon leur origine : microbienne, végétale ou animale (**Azzaz & Messaadi, 2022**). Contrairement à leurs homologues chimiques, les biopesticides présentent de nombreux avantages, tels que leur moindre toxicité et leur capacité à aider les plantes à résister aux stress abiotiques (**Madjida, 2022**).

L'application des biopesticides s'étend aussi bien à l'agriculture conventionnelle qu'à l'agriculture biologique. Bien que parfois considérés comme moins efficaces, les biopesticides suscitent un intérêt croissant parmi les agriculteurs, surtout dans le contexte de stratégies de lutte intégrée (**Deravel *et al.*, 2014**).

L'avenir des biopesticides sera influencé par divers facteurs, notamment les avantages et les inconvénients qu'ils offrent. Les inconvénients des biopesticides peuvent inclure des défis à leur efficacité et leur disponibilité (**Deravel *et al.*, 2014**). De plus, ils peuvent être plus coûteux que les pesticides conventionnels, ce qui peut limiter leur utilisation dans certaines régions ou pour certaines cultures (**Korangi Alleluya *et al.*, 2021**).

Cependant, les biopesticides présentent également de nombreux avantages, tels que leur efficacité contre les parasites, leur biodégradabilité et leur impact réduit sur l'environnement (**Azzaz & Messaadi, 2022**). L'utilisation des biopesticides est encouragée dans de nombreux pays, ce qui pourrait stimuler leur croissance et leur adoption plus rapide. De plus, les évolutions dans les préférences des consommateurs auront un impact significatif sur l'adoption de ces alternatives agricoles durables (**Waibena, 2019**).

## SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

### 2.2. Évolution historique des biopesticides

L'utilisation des biopesticides, ou pesticides biologiques, remonte à l'Antiquité, mais leur développement systématique a pris de l'ampleur plus récemment (**Deravel *et al.*, 2014**).

#### 2.2.1. Période pré-moderne (Antiquité)

Les biopesticides ont une longue histoire d'utilisation, remontant à des milliers d'années. Dès le 7<sup>e</sup> siècle av. J.-C., des fermiers chinois utilisaient des plantes comme la citronnelle pour éloigner les insectes nuisibles des cultures (**Deravel *et al.*, 2014**). Au Moyen-Âge, des végétaux tels que l'aconit étaient utilisés contre les rongeurs. Les anciennes civilisations, comme les Égyptiens, les Chinois et les Grecs, utilisaient des extraits de plantes pour lutter contre les ravageurs (**Deravel *et al.*, 2014**). Ils utilisaient des prédateurs naturels tels que les coccinelles et des substances naturelles comme le soufre et le cuivre (**Meziane & Rezaiguia, 2021**).

#### 2.2.2. Début du XX<sup>e</sup> siècle

Il y a eu des efforts continus pour développer et améliorer les biopesticides. Les chercheurs ont exploré les propriétés insecticides et répulsives d'une gamme de micro-organismes, notamment des bactéries, des virus, des champignons et des nématodes, ainsi que des extraits de plantes et des composés naturels (**Deravel, *et al.*, 2013**). L'exploration des biopesticides a débuté vers la fin du 19<sup>e</sup> et le début du 20<sup>e</sup> siècle avec un accent particulier sur l'utilisation des biopesticides de manière plus systémique. Le bactérium *Bacillus thuringiensis* (Bt) a été identifié comme un agent efficace contre les insectes nuisibles, marquant une avancée significative dans la recherche sur les biopesticides (**Deravel *et al.*, 2014**).

Après la Seconde Guerre mondiale, la recherche sur les biopesticides s'est intensifiée. Le *Bacillus thuringiensis* a été développé commercialement dans les années 1950, marquant une transition vers une utilisation plus répandue des agents biologiques dans la lutte antiparasitaire (**Eissa & Zidan, 2010**).

Les années 1970-1980 ont été marquées par une reconnaissance internationale formelle de l'utilisation des biopesticides. Des organisations telles que la FAO ont activement promu l'intégration d'agents biologiques dans les pratiques agricoles (**Lucas *et al.*, 2018**).

## SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Les années 1990 ont vu une expansion significative de l'utilisation des biopesticides, avec le développement de nouvelles souches de *Bacillus thuringiensis* et l'introduction de produits à base de nématodes bénéfiques (**Eissa & Zidan, 2010**).

Les années 2000 ont été caractérisées par une diversification continue des produits biopesticides. En plus du Bt et des nématodes, d'autres biopesticides tels que les champignons entomopathogènes et les phéromones ont été largement utilisés, reflétant une évolution constante vers des méthodes plus holistiques dans la gestion des ravageurs en agriculture moderne (**Laurent *et al.*, 2016**).

### 2.3. Classification des biopesticides

#### 2.3.1. Biopesticides d'origine animale

Ces biopesticides sont des animaux tels que les insectes, les parasites ou les prédateurs, de même, des composés issus d'animaux, fréquemment d'invertébrés tels que les hormones d'insectes, les venins de scorpions et d'araignées, ainsi que des phéromones (**Korangi Alleluya *et al.*, 2021**). L'insecte auxiliaire le plus connu, la coccinelle.

#### 2.3.2. Biopesticides d'origine microbienne

Les pesticides microbiens sont composés d'un micro-organisme tel que les virus, les bactéries, les champignons ou les protozoaires qui sont utilisés comme composant actif (**Deravel *et al.*, 2014**).

#### 2.3.3. Biopesticides d'origine végétale

Les propriétés biopesticides de diverses plantes ont progressivement été découvertes, conduisant à une adoption croissante de leur utilisation en tant que pesticides (**Ahmed *et al.*, 2021**). Ces pesticides végétaux ont été utilisés au Moyen Âge, l'aconit était utilisé pour lutter contre les rongeurs, tandis qu'en Inde, la roténone servait d'insecticide dès la fin du XVI<sup>e</sup> siècle. Un siècle plus tard, les propriétés insecticides de la nicotine, extraite du tabac, ont été identifiées (**Manda *et al.*, 2020**).

Les composés actifs produits par les plantes démontrent des effets insecticides, aseptiques, ou régulateurs de la croissance des plantes et des insectes. Ces actifs sont généralement des

## SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

métabolites secondaires, jouant un rôle protecteur pour les végétaux contre les herbivores **(Bennaim, 2020)**.

Il est essentiel de mobiliser les ressources du règne végétal, ainsi que les molécules qui ont assuré la protection des plantes contre leurs ennemis naturels. Les recherches récentes se sont concentrées sur les activités des composés végétaux impliqués dans les mécanismes de défense des plantes, mettant en lumière des molécules potentiellement insecticides, fongicides, ou herbicides **(Schiffers, 2016)**. Ces avancées ouvrent de nouvelles perspectives pour exploiter ces molécules en tant que produits ou stratégies phytosanitaires, ou encore pour renforcer les défenses naturelles des plantes. Des réflexions ont également émergé concernant la réglementation et l'homologation de ces progrès, ouvrant ainsi de nouvelles perspectives **(Schiffers, 2016)**.

### 2.4. Utilisation de Biopesticides d'Origine Végétale

L'utilisation de biopesticides d'origine végétale remonte également à l'Antiquité, formant une longue histoire d'exploitation des propriétés insecticides et répulsives de certaines plantes. Au fil des civilisations, des extraits de plantes tels que le soufre, la fumée de soufre, et des substances comme le pyrèthre extrait des fleurs de chrysanthème ont été utilisés **(Deravel et al., 2014)**. Même avec l'avènement de la chimie au XIXe siècle, certaines méthodes à base de plantes, comme l'utilisation du tabac comme insecticide, ont persisté **(Bennaim, 2020)**. Au XXe siècle, avec la montée de l'agriculture biologique, les chercheurs ont redécouvert et étudié les propriétés insecticides de diverses plantes, conduisant à une résurgence de l'utilisation de biopesticides d'origine végétale. Aujourd'hui, ces biopesticides sont intégrés dans des programmes de gestion des ravageurs en agriculture moderne, offrant une alternative durable et respectueuse de l'environnement **(Eissa & Zidan, 2010)**.

## 3. Les pesticides utilisés

### 3.1. L'Imidaclopride

Imidaclopride appartenant à la famille des néonicotinoïdes, une famille de pesticides introduite en 1985. Leur structure chimique, similaire à celle de la nicotine, bloque certains passages de la signalisation cellulaire, entraînant un impact négatif sur le développement neurologique des

## SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

organismes exposés (**Kimura-Kuroda et al., 2012**). En raison de leur possible toxicité pour les abeilles domestiques et sauvages, l'Union européenne a imposé des limites à leur utilisation.

L'Imidaclopride, insecticide utilisé aux États-Unis depuis 1994, est conçu pour imiter la nicotine présente naturellement dans certaines plantes, telles que le tabac. Ce composé est efficace contre les insectes suceurs, les termites, certains insectes du sol et les puces (**Bettiche, 2017**). Toutefois, la similarité structurelle entre l'Imidaclopride et la nicotine soulève des préoccupations quant à ses effets sur la faune non ciblée et a conduit à des réglementations visant à minimiser les risques environnementaux (**Cartereau et al., 2021**).

### 3.1.1. Historique

Créé et breveté pour la première fois en 1985, l'Imidaclopride est le premier pesticide commercialisé de la famille néonicotinoïde à être commercialisé. Il a été délivré aux États Unis par Nihon Tokushu Noyaku Seizo K.K. de Tokyo, au Japon, avec des propriétés insecticides de la nicotine et des améliorations de la photostabilité et de la solubilité dans l'eau. Ce pesticide, tout comme les autres néonicotinoïdes, est un produit "systémique" qui se diffuse dans l'ensemble de l'organisme de la plante. Par conséquent, il est présent à des concentrations faibles dans le nectar et les fleurs des cultures industrielles traitées avec ces produits. Suite à des améliorations structurelles, l'Imidaclopride a été trouvé plus efficace lorsqu'il a été appliqué par trempage du sol, par injection directe ou comme enrobage des semences. Cela est dû au fait qu'il est plus efficace lorsqu'il est ingéré qu'il est pulvérisé comme protecteur foliaire (**Jeschke et al, 2011**). En 2013, la Commission européenne a pris la décision d'interdire l'utilisation des néonicotinoïdes sur les plantes attirant les insectes pollinisateurs, ainsi que la commercialisation de graines enrobées, en raison de rapports scientifiques mettant en évidence des effets néfastes significatifs sur la survie des abeilles.

Cependant, l'utilisation de ces substances demeure autorisée sur les céréales après la floraison. Des études, notamment celle de **Millot et al. (2017)**, ont démontré les effets de l'Imidaclopride sur d'autres composants de l'écosystème, notamment l'empoisonnement des oiseaux, élargissant ainsi les conséquences déjà observées sur les abeilles. La fiche toxicologique de l'INRS sur l'Imidaclopride indique que son utilisation prolongée provoque des effets antithyroïdiens chez les rats, comme l'ont également rapporté **Moser et al. (2015)**. Des travaux scientifiques mettent

## SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

en avant les possibles impacts de l'Imidaclopride sur la reproduction et l'homéostasie des hormones thyroïdiennes, comme a été mentionné dans les résultats de **Pandey et Mohanty (2015)**. Par ailleurs, une diminution de l'activité motrice/locomotrice a été observée chez le rat dans le cadre d'une étude de neurotoxicité observé dans l'étude d'**Abou-Donia et al. (2008)** lors de l'administration unique de cette substance pendant la gestation des rattes gravides.

### 3.1.2. Utilisation en agriculture

Les doses d'utilisation de l'Imidaclopride dans l'agriculture varient en fonction des cultures et des espèces cibles. Selon une étude, la dose sans aucun effet néfaste observée chez la souris est de 86 mg/kg/jour (600 ppm), tandis que chez le chien, elle est de 7,3 mg/kg/jour (200 ppm) (**Njoga et al., 2022**). Pour les abeilles, des doses sublétales ont été évaluées dans une fourchette allant de 0,01 à 10 µg/kg. En agriculture, la dose recommandée d'un produit commercial contenant de l'Imidaclopride varie en fonction des cultures et des ravageurs ciblés. Par exemple, pour le produit commercial de l'Imidaclopride ATTAKAN C344, la dose recommandée est de 0,25 litre ou 250 ml de produit commercial par hectare pour les légumes, avec un délai avant récolte de 15 jours et un intervalle de 14 jours entre deux traitements (**Bonmatin et al., 2005**). Il est important de noter que les dosages peuvent varier en fonction des spécificités de chaque culture, de l'espèce de ravageur et des conditions environnementales.

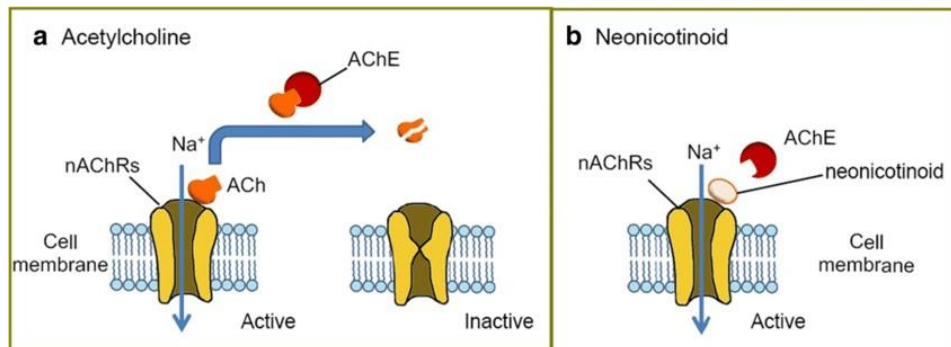
### 3.1.3. Mode d'action

Le système nerveux est constitué d'un réseau de neurones interconnectés par des connexions spécialisées appelées synapses. Le message transmis au niveau d'une synapse peut être électrique ou chimique. Cependant, la perception de l'information au niveau des cellules postsynaptiques entraîne l'activation ou l'inhibition de récepteurs ou de canaux ioniques membranaires, quelle que soit la nature du signal (**Casida, 2017**). Le principal neurotransmetteur exciteur pour les transmissions rapides au niveau du système nerveux central des insectes est l'acétylcholine. La membrane pré-synaptique relâche l'acétylcholine lors de l'influx nerveux et interagit avec le récepteur nicotinique de l'acétylcholine (AChR) (**Jeschke et al, 2013 ; Ahmed 2015**).

L'Imidaclopride agit en se fixant sur le récepteur nicotinique et en perturbant la transmission de l'influx nerveux, ce qui provoque une hyperactivité neuronale. En prenant la place d'un

## SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

neurotransmetteur excitateur, il stoppe la transmission de l'influx nerveux, ce qui a un effet sur les nerfs et les muscles (**Decourtye *et al.*, 2004**).



**Figure 04.** Mécanisme d'action des néonicotinoïdes (**Buszewski *et al.*, 2019**).

### 3.1.4. Toxicocinétique (**Jargot *et al.*, 2015**)

- **Absorption**

L'Imidaclopride est rapidement et largement absorbé chez le rat suite à une administration unique par gavage, que ce soit avec une dose allant jusqu'à 20 mg/kg de poids corporel, ou après une administration répétée par gavage avec une dose de 1 mg/kg de poids corporel pendant 14 jours. La concentration maximale est atteinte en 1 à 2 heures, et dans les 48 heures qui suivent, la biodisponibilité dépasse les 92 % selon les excrétions urinaires et biliaires (**Vohra & Khera, 2015**).

- **Distribution**

L'Imidaclopride est rapidement répartie dans tout l'organisme, se concentrant principalement dans le foie, les reins, les poumons et la peau. La capacité de pénétration de l'Imidaclopride à travers la barrière hémato-encéphalique est relativement limitée chez le rat, avec le cerveau présentant les taux de radioactivité les plus bas 48 heures après une administration orale ou intraveineuse (**Bhardwaj *et al.*, 2010**).

- **Métabolisme**

Le métabolisme de l'Imidaclopride est crucial car jusqu'à 90 % de la dose administrée est métabolisée dans le foie. Chez le rat, au moins 16 métabolites ont été trouvés comprenant l'Imidaclopride-desnitro (M09) et plusieurs autres métabolites mineurs (**Brillant, 2022**). Le rat a

## SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

deux voies de biotransformation principales : soit le clivage oxydatif du cycle imidazolidine et du groupement méthylène suivi de conjugaisons, soit l'hydroxylation du cycle imidazolidine.

- **Elimination**

L'élimination est rapide et quasi totale, avec plus de 95 % de la dose administrée excrétée 48 heures après l'administration, que ce soit par voie orale ou intraveineuse à faible dose (1 mg/kg pc) ou par voie orale à dose élevée (20 mg/kg pc) : 73 à 75 % dans l'urine et 20 à 25 % dans les fèces. Après la cannulation du canal biliaire chez le rat avec une dose de 1 mg/kg pc administrée intra-duodénalement, l'excrétion biliaire peut représenter jusqu'à 36 % de la dose administrée, suggérant l'existence d'un cycle entéro-hépatique. Aucune accumulation n'a été observée (**Jiang et al., 2020**).

### 3.1.5. Le parcours de l'Imidaclopride dans l'environnement (**Pang et al., 2020**)

La dégradation de l'Imidaclopride dans l'environnement est influencée par plusieurs facteurs, dont la température, le pH et la photolyse.

Voici quelques points clés sur le devenir de l'Imidaclopride dans l'environnement :

- La demi-vie d'hydrolyse de l'Imidaclopride peut varier de 33 à 44 jours à un pH de 7 et à 25 °C
- La demi-vie de la photolyse en milieu aqueux est inférieure à 3 heures.
- Lorsqu'il est incorporé dans le sol, la demi-vie de la photolyse est de 39 jours, avec une plage de 26,5 à 229 jours.
- La dégradation de l'Imidaclopride dépend de la température, avec des demi-vies diminuant de 547 à 153 jours, puis à 85 jours aux températures d'incubation de 5, 15 et 25 °C, respectivement.

Malgré son potentiel de dégradation, l'Imidaclopride a été signalé persister dans l'environnement pendant des périodes variables. Par exemple, des concentrations d'Imidaclopride ont été trouvées persistantes dans les eaux de surface dans des conditions de terrain (**Bonmatin et al., 2015**). De plus, l'Imidaclopride a été détecté dans le sol et le matériau de litière pendant jusqu'à 1 000 jours (**Pang et al., 2020**).

## SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

L'impact environnemental de l'Imidaclopride sur les organismes non ciblés, tels que les invertébrés aquatiques et terrestres, a été étudié dans divers microcosmes d'eau douce (Bonmatin *et al.*, 2015).

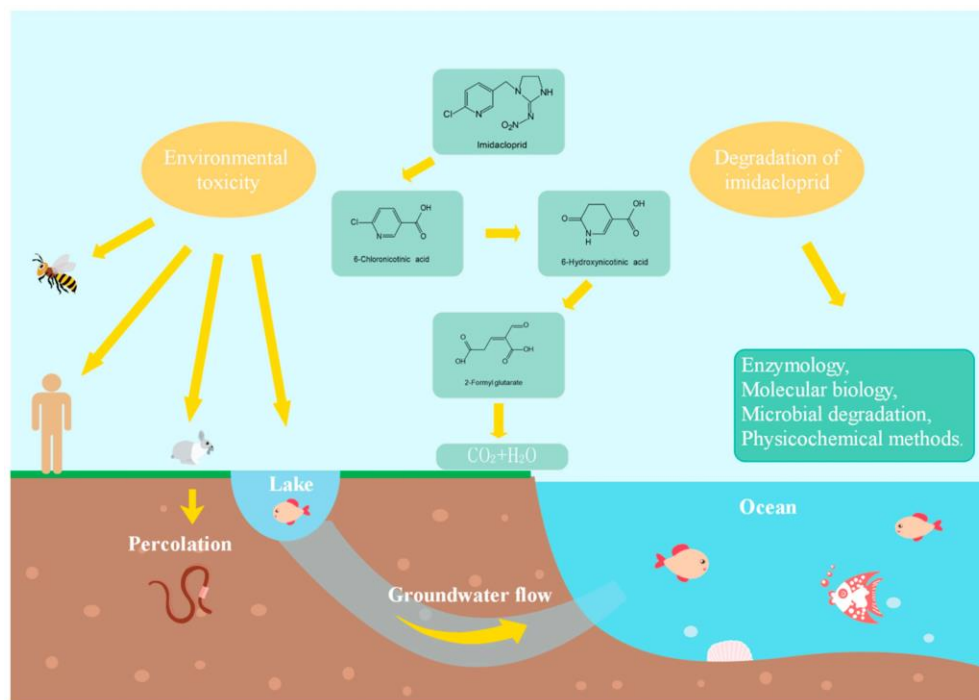


Figure 05. Le parcours de l'Imidaclopride dans l'environnement (Pang *et al.*, 2020)

### 3.1.6. Les conséquences de l'exposition à l'Imidaclopride

L'Imidaclopride, largement utilisé comme insecticide, a suscité des préoccupations importantes concernant ses impacts sur la santé humaine et l'environnement (Samir *et al.*, 2009). Les résultats de plusieurs études approfondies, mettent en lumière des effets préoccupants sur différentes la santé (Frag *et al.*, 2020).

Les risques d'exposition pour les vertébrés terrestres présentent une complexité accrue par rapport aux espèces aquatiques. En effet, plusieurs voies de contamination sont possibles, notamment l'ingestion de semences traitées avec des résidus présents dans ou sur les cultures et le sol, la consommation d'eau, de végétation ou d'invertébrés à proximité (Cotton, 2015).

De plus, l'exposition cutanée peut résulter d'une pulvérisation directe, du contact avec des surfaces traitées, de l'inhalation, voire du lissage des plumes. Les concentrations auxquelles les taxons terrestres peuvent être exposés varient considérablement selon les différentes voies, en

## SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

fonction des exigences en termes d'habitat et des déplacements entre les zones contaminées et non contaminées (**Louat, 2013**).

### 3.1.7. Effets toxiques de l'Imidaclopride

#### 3.1.7.1. Impacts sur les paramètres sanguins

Les divers impacts de l'Imidaclopride sur les paramètres hématologiques ont été corroborés par plusieurs études. Chez les rats, une diminution du poids corporel a été observée, accompagnée d'altérations significatives des paramètres hématologiques (**Soujanya et al., 2020**). De même, des poissons exposés à ce produit ont présenté des baisses des paramètres hématologiques, soulignant les risques potentiels pour la santé des organismes aquatiques (**Alak et al., 2023**).

#### 3.1.7.2. Toxicité Hépatique

Les résultats de plusieurs études ont mis en évidence la présence de toxicité hépatique induite par l'Imidaclopride. Les expérimentations menées sur des rats exposés à cette substance ont révélé des indicateurs de dommages hépatiques significatifs (**Boukhalfa & Harsa 2022**).

Les niveaux élevés d'ALT (alanine aminotransférase) et d'AST (aspartate aminotransférase), enzymes associées au foie, chez les rats exposés suggèrent une altération de la fonction hépatique. Ces enzymes sont généralement présentes dans les cellules hépatiques, et leur libération accrue dans le sang est souvent indicatrice de dommages au foie (**Farag et al., 2020**). Parallèlement, des réductions substantielles ont été observées dans les concentrations totales de protéines et d'albumine chez les rats exposés à l'Imidaclopride.

Ces constatations suggèrent que l'Imidaclopride peut avoir des effets néfastes sur la santé hépatique des organismes exposés. Les implications vont au-delà des indicateurs enzymatiques traditionnels et incluent des changements dans la composition protéique sanguine, ce qui soulève des inquiétudes quant à la fonction hépatique globale et à la santé métabolique des individus exposés à ce pesticide (**Farag et al., 2020**).

#### 3.1.7.3. Impacts sur la fonction rénale

## SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Le rat mâle a fait l'objet d'essais visant à évaluer la toxicité rénale induite par l'Imidaclopride (**Eissa & Zidan, 2010**). Les résultats de ces études ont confirmé la potentialité néphrotoxique de l'Imidaclopride, démontré par des augmentations significatives du poids relatif des reins chez les rats exposés à cette substance (**Saadi et al., 2012**).

Une exposition prolongée à l'Imidaclopride a été associée à des augmentations du poids relatif des reins chez les rats, (**Aladakatti, 2011**). Même à des doses faibles, des altérations significatives des concentrations sériques de créatinine, d'urée et d'acide urique ont été observées, soulignant l'impact néphrotoxique de l'Imidaclopride (**Ali, 2016**).

Dans une étude sur les rats qui ont été exposés à l'Imidaclopride par voie alimentaire à différentes doses, a montré des modifications dans les biomarqueurs rénaux tels que les concentrations d'acide urique et de créatinine, accompagnées de changements histologiques dans le tissu rénal (**Nimako, 2021**). Des résultats similaires ont observé chez les chiots mâles et femelles exposés à des doses variables d'Imidaclopride, des augmentations des biomarqueurs provoquant un dysfonctionnement rénal et des changements structurels dans les tissus rénaux, surtout ceux traités par les doses les plus élevées (**Mossa et al., 2017**).

Une autre étude, où l'Imidaclopride a été administré à des rats mâles à des doses spécifiques pendant des périodes définies, a révélé une augmentation dose-dépendante des concentrations d'urée, d'acide urique et de créatinine dans le sérum, ainsi que des changements histologiques dans la structure des tissus rénaux. Ces effets ont été accentués avec une exposition prolongée à l'Imidaclopride (**Fahim et al., 2016**).

### 3.1.7.4. Les effets sur les paramètres du stress oxydatifs

L'Imidaclopride a été évalué quant à son impact sur la physiologie oxydative, des recherches ont révélé une élévation du malondialdéhyde (MDA) au niveau des testicules des rats exposés. Cette augmentation du MDA s'associe à une diminution des concentrations de glutathion réduit (GSH) et de glutathion peroxydase (GPx), laissant présager une altération du système antioxydant (**Bal et al., 2012**).

La perturbation observée au niveau du système antioxydant suggère un déséquilibre redox dans les testicules des rats soumis à l'Imidaclopride, susceptible d'engendrer des altérations cellulaires. Ces altérations, potentiellement délétères, pourraient impacter des constituants

## SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

cellulaires cruciaux tels que l'ADN et les protéines. La génération accrue d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), consécutive à la perturbation du système antioxydant, pourrait induire un stress oxydatif, contribuant ainsi aux altérations cellulaires susmentionnées (**Bal et al., 2012**).

### 3.2. L'Azadirachtine

L'Azadirachtine, un insecticide extrait des graines d'*Azadirachta indica*, représente le biopesticide d'origine végétale le plus largement utilisé (**Halaimia & Chachoui, 2017**). Plusieurs molécules présentes dans l'huile extraite des graines de Neem ont été identifiées comme biologiquement actives, notamment l'Azadirachtine, la nimbidine, la nimbidinine, la solanine, le déacétylazadirachtinol et le méliantriol. L'ingrédient actif prédominant de cette huile est l'Azadirachtine, qui est un mélange de sept isomères de tétranortritarpinoïde. Ce composé présente la capacité de perturber la morphogénèse et le développement embryonnaire des insectes (**Srivastava et al, 2007 ; Correia et al, 2013**).

BIOAZA 32® est un produit fabriqué à partir d'extraits de neem (*Azadirachta indica* A. Juss). Le neem (*Azadirachta indica* A. Juss), un arbre tropical, a montré des propriétés insecticides sur divers insectes agricoles (**Mahrouch, 2020**).



**Photo 01.** Arbre du Neem *Azadirachta indica*



**Photo 02.** Fruits du Neem (Redirect Notice).

Les alternatives aux pesticides chimiques présentent de nombreux avantages écologiques, constituant une option respectueuse de l'environnement. Même en tant que méthode autonome, elles permettent de réduire la dépendance aux intrants et contribuent à prévenir l'émergence de nuisibles résistants. Lorsqu'elles sont intégrées dans une stratégie de lutte combinée avec des

## SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

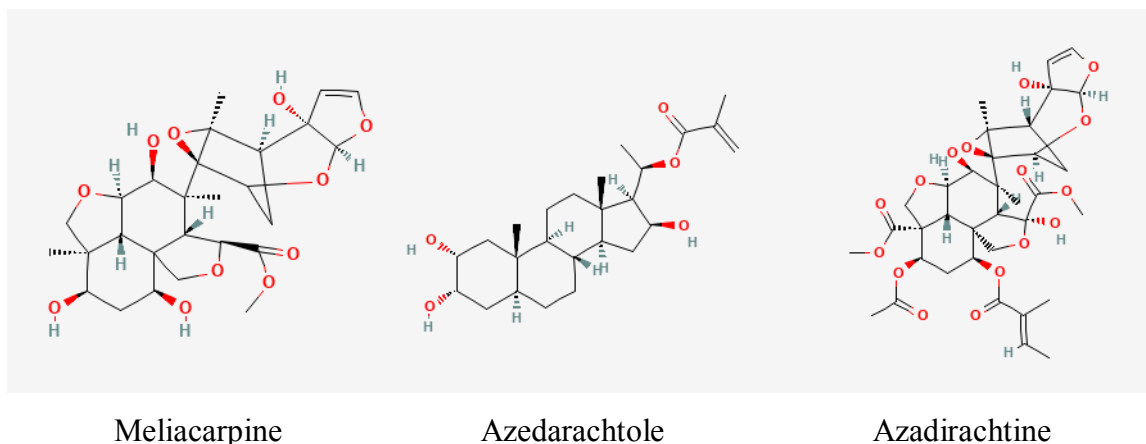
pesticides chimiques, elles peuvent offrir des résultats plus durables (**Malacari et al., 2018**). Selon l'Institut technique des filières plantes aromatiques, médicinales et à parfum (Ppam), l'encouragement des méthodes alternatives à la lutte chimique est motivé par la disparition de certaines substances actives de synthèse au cours des dernières années et par le renforcement de la réglementation. Dans ce contexte, l'utilisation d'extraits végétaux pour la protection des cultures émerge comme une solution viable.

Trois espèces d'Azadirachtine appartiennent à la classe des limonoïdes, l'*Azadirachta indica* (Rutales : Meliaceae), *Azadirachta excelsa* (**Schmuttere et al, 2002**) et *Azadirachta siamensis* (**Sombatsiri, 2002**). Il est chimiquement fascinant en raison de sa structure complexe et des défis que représente sa synthèse ; il est également biologiquement fascinant car il est un facteur de dissuasion alimentaire pour certains insectes et un perturbateur de croissance pour la plupart des insectes et de nombreux autres arthropodes. Il est également incroyablement inoffensif pour les vertébrés (**Chikh & Djema, 2020**).

### 3.2.1. Historique

Le premier isolement de l'Azadirachtine sous sa forme cristalline provient d'extraits méthanoliques de graines de neem, réalisée par **Butterworth et Morgan en 1968**. Bien que cette molécule ait également été détectée dans un autre arbre appelé Melia Azédarach, présent dans les mêmes régions, elle semble spécifique au neem. Depuis la proposition initiale de la structure en 1972, ajustée par **Kraus et al. en 1987** et **Pöhl en 1985**, plusieurs composés de structure similaire ont été isolés du neem, regroupés en trois catégories principales : les méliacarpines, les azedarachtoles et les Azadirachtines. Ces dérivés, partageant le même squelette carboné mais se distinguant par la position ou la nature des substituants, sont collectivement appelés Azadirachtines génériques, avec l'Azadirachtine A servant de motif structural de référence (**Mahrouche, 2020**).

## SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE



**Figure 06.** Structures chimiques des variétés du Neem

L'utilisation répandue de l'Azadirachtine dans les régions tropicales et subtropicales est attribuée à ses caractéristiques appréciées telles que la robustesse, le feuillage persistant tout au long de l'année, le bois de qualité et la variété de produits non ligneux. Son introduction remonte au XIXe siècle, avec une origine présumée dans la région du Myanmar, d'où elle s'est naturellement répandue dans le sous-continent indien (**Fernandes *et al.*, 2019**). Cultivée depuis longtemps en Asie du Sud-Est, elle s'est également étendue vers d'autres régions au cours du 19e siècle, notamment aux Fidji, à Maurice et en Guyane britannique, ainsi qu'en Égypte, en Afrique orientale, en Afrique sub-sahélienne et en Afrique de l'Ouest. Plus récemment, elle a été introduite en Amérique centrale et en Amérique du Sud tropical (Centre mondial d'agroforesterie) (**Mondal & Chakraborty, 2016**).

### 3.2.2. Origine du Neem

Bien que diverses sources bibliographiques mentionnent différentes origines géographiques du Neem, la majorité des auteurs s'accordent sur son origine indienne. Selon plusieurs écrivains, dont **Vartak et Ghate (1990)**, Certains considèrent que cet arbre a ses origines dans la forêt de Chivalik. Néanmoins, d'autres soutiennent qu'il provient des forêts du sud et du sud-est de l'Asie, englobant des régions telles que le Pakistan, le Sri Lanka, la Thaïlande, la Malaisie et l'Indonésie (**Faye, 2010**).

### 3.2.3. Utilisations

## SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Le Neem est utilisé depuis de nombreuses années. Il est connu en Inde sous le nom de "la pharmacie du village". Le Neem est encore assez peu connu en Occident. Cependant, le nom de Neem se répand lentement, ainsi que les produits qu'il produit : l'huile de Neem, les capsules, le savon de Neem, la feuille de Neem séchée, etc. **(Roychoudhury, 2016)**.

Pendant plus de trente ans, les chercheurs ont axé leurs travaux sur les applications traditionnelles du neem (*Azadirachta indica* A. Juss) dans la lutte contre les ravageurs des cultures et des forêts. Les feuilles et les fruits de cet arbre ont émergé comme une source exceptionnelle de molécules biologiquement actives, avec une attention particulière portée à l'Azadirachtine **(Faye, 2010)**.

L'Azadirachtine, extraite du Neem (*Azadirachta indica* A. Juss), est utilisée en médecine traditionnelle depuis plus de 2000 ans **(Morgan, 2005)**, faisant partie d'un ensemble de plus de 300 composés phytochimiques isolés de cet arbre **(Fernández, 2019)**. Parmi ces composés, on retrouve les limonoïdes (Azadirachtine, azadirone, azadirradione, etc.), les protolimonoïdes du groupe gédunine (nimbine, nimboline, salanine, etc.), les flavonoïdes (nimbaflavone) ainsi que d'autres constituants tels que les tanins **(Hein et al, 2016)**. Les travaux de De **Castro et al.** ont approfondi la compréhension de la structure complexe des molécules extraites du margousier et de leurs modes d'action en relation avec leurs propriétés électroniques. Bien que l'Azadirachtine soit la molécule prédominante du Neem, ses concentrations varient selon les différents segments de la plante **(Langner et al, 2016)**.

L'Azadirachtine peut être isolée des deux autres espèces d'*Azadirachta* : *A. excelsa* et *A. Siamensis* **(Langner et al, 2016)**. Depuis longtemps, cette molécule a suscité l'intérêt des chercheurs en raison de sa variété de propriétés pharmacologiques et de son effet pesticide **(Mordue, 2005)**.

En outre, *Azadirachta indica* présente des propriétés fongicides, antiparasitaires (contre les helminthes), antipyrétiques, anti-inflammatoires, immunostimulantes, immunomodulatrices et neuroprotectrices (dans la maladie de Parkinson). Certains composés, notamment l'Azadirachtine et la nimbine, semblent être associés au potentiel fongicide du margousier, tandis que l'Azadirachtine et le nimbolide pourraient contribuer à son effet anticancéreux. L'Azadirachtine est également utilisée comme répulsif contre les moustiques, insectes hématophages vecteurs de nombreux agents pathogènes pour l'homme **(Tyagi et al, 2017)**.

## SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

La préoccupation croissante des agriculteurs pour l'impact écologique a conduit à une adoption progressive des biopesticides, même dans l'agriculture conventionnelle (**Frost et al., 2009**). Cependant, la demande de biopesticides reste significativement inférieure à celle des produits phytosanitaires chimiques (**Chandrashekar, 2010**). Il est essentiel de souligner que l'utilisation des biopesticides présente des disparités à l'échelle mondiale, influencées par divers facteurs tels que les politiques gouvernementales, l'opinion publique et les programmes de recherche industrielle (**Bailey et al, 2010**).

### 3.2.3.1. Pour les plantes

L'huile de neem est une ressource polyvalente dans l'agriculture, utilisée comme fertilisant, stimulateur de défenses naturelles, insecticide et répulsif. Son application en émulsion avec de l'eau par pulvérisation dans les cultures légumières, fruitières et forestières en fait un élément clé de méthodes respectueuses de l'environnement pour la protection des cultures contre les parasites, les champignons et les insectes. Les composants naturels du neem offrent une diversité d'applications bénéfiques (**Regnault et al, 2008**).

Cette approche écologique vise à promouvoir des méthodes durables dans l'agriculture et la foresterie, remplaçant ainsi les pesticides, fongicides et insecticides chimiques. Les extraits de neem présentent une action biologique efficace, permettant de lutter contre plus de 300 espèces d'insectes ravageurs, y compris ceux ayant développé une résistance aux pesticides chimiques (**Regnault et al, 2008**). Cette utilisation de l'huile de neem contribue à la durabilité de la production agricole et forestière, soulignant son rôle crucial dans la mise en œuvre de pratiques respectueuses de l'environnement (**Regnault et al, 2008**).

### 3.2.4. Mécanisme d'action

Chez les espèces cibles, l'Azadirachtine possède notamment des effets anti-appétants, stérilisants et régulateurs du développement (**Benelli et al., 2017 ; Chaudhary et al., 2017**). **Mordue et al. (2005)** notent en particulier qu'elle entraîne une cytotoxicité, l'apoptose des cellules, des effets antimitotiques, et une anomalie de la croissance (mues inhibées, anormales ou retardées). Elle induit également une altération de différents processus reproductifs, comme la fécondité, la fertilité, l'oviposition, la viabilité des œufs, l'oogenèse, la vitellogenèse, la spermiogénèse et le développement des gonads (**Chaudhary et al., 2017**). L'impact de cette

## SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

molécule est aussi observé sur la modulation de l'expression de gènes liés au développement, au stress et à l'immunité (**Shaurub et al., 2014**) et sur la transcription de gènes liés à l'apoptose (**Shao et al., 2016**). Les propriétés anti-appétantes de l'Azadirachtine sont liées à son incidence sur la chémoréception, à des dommages sur différents tissus, comme les muscles (suppression du péristaltisme), le corps gras ou les cellules intestinales (**Shu et al., 2018**), mais aussi à une perturbation des processus physiologiques et biochimiques digestifs (**Chaudhary et al., 2017**). L'induction d'une mémoire sensorielle aversive est également notée (**Yan et al., 2017**).

L'Azadirachtine agit en inhibant la signalisation de l'hormone juvénile (HJ) et de la 20hydroxyecdysone (20E), des hormones essentielles à la reproduction et au développement des arthropodes (**Morgan, 2009**). Elle interfère aussi avec la voie de signalisation de l'insuline, connue pour interagir avec l'HJ et les ecdystéroïdes, les hormones impliquées dans le processus de mue des arthropodes (**Nässel & Broeck, 2016**). L'Azadirachtine agit également sur le système nerveux central (SNC) en inhibant la transmission cholinergique excitatrice *via* les canaux calciques (**Qiao et al., 2014**). À noter que des liens entre insuline et neuromodulation, comme la régulation du métabolisme de la dopamine, ont été mis en évidence (**Nässel & Broeck, 2016**).

### 3.2.5. La dégradation de l'Azadirachtine

L'Azadirachtine subit une dégradation dans l'environnement à travers divers processus. Selon l'Agence européenne des produits chimiques (ECHA), l'Azadirachtine dans l'eau est principalement soumise à une hydrolyse catalysée par une base, ainsi qu'à une photolyse indirecte et à une dégradation microbienne, qui sont censées contribuer significativement à sa dégradation dans les plans d'eau naturels. De plus, l'Azadirachtine peut être facilement dégradée sous l'exposition à la lumière, à des milieux acides ou alcalins, et par des micro-organismes (**Vlaiculescu & Varrone 2022**). La dégradation de l'Azadirachtine dans le sol due à la photolyse n'a pas été entièrement étudiée, et des recherches supplémentaires sont nécessaires dans ce domaine (**EFSA, Arena et al., 2018**). De plus, la demi-vie en laboratoire de l'Azadirachtine cristalline dans des solutions légèrement acides (pH 4 et 5) est d'environ 50 jours (**Sahu et al., 2017**). Ces résultats indiquent que la dégradation de l'Azadirachtine dans l'environnement est influencée par divers facteurs tels que la lumière, le pH et l'activité microbienne (**Bezerra et al., 2021**).

## SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

### 3.2.6. Impact de l'Azadirachtine (Neem) sur la Santé

#### 3.2.6.1. Impact du Neem sur le Foie

**Deng *et al.* (2013)** se sont penchés sur l'administration orale d'huile de neem chez des rats et des souris sur une période de 28 jours. Leur étude a révélé des aspects physiologiques, montrant l'absence de différences significatives dans le poids relatif du foie malgré des doses variées. Cependant, des variations spécifiques ont été observées avec l'extrait de feuille de neem en seulement sept jours.

#### 3.2.6.2. Effets de l'Extrait d'*Azadirachta indica* sur les Paramètres Hématologiques

**Ezeigwe *et al.* (2020)** ont exploré les effets de l'extrait d'*Azadirachta indica* sur les paramètres hématologiques chez des rats diabétiques. Leur étude a mis en évidence des changements physiologiques significatifs, notamment une augmentation de la concentration d'hémoglobine, du nombre de globules rouges et des plaquettes.

#### 3.2.6.3. Potentiel Antioxydant de l'Azadirachtine

L'évaluation des effets antioxydants des extraits de feuilles d'*Azadirachta indica* a révélé, à la lumière de recherches approfondies, des niveaux légèrement accrus de MDA (malondialdéhyde), un marqueur de stress oxydatif, mais a également mis en évidence une augmentation significative de l'activité des enzymes antioxydantes. Ces résultats suggèrent des réponses physiologiques complexes associées aux propriétés antioxydantes de cette plante (**Dallaqua *et al.*, 2012**).

Par ailleurs, une étude menée par **Christian (2019)** a examiné en détail le potentiel antioxydant de l'Azadirachtine et son impact sur la survie cellulaire dans des conditions de stress inflammatoire et oxydatif sévère. Les conclusions de cette recherche soulignent les réponses physiologiques spécifiques induites par l'Azadirachtine dans des situations de stress, mettant ainsi en évidence le potentiel bénéfique du Neem et de ses dérivés dans des contextes liés à l'inflammation.

#### 3.2.6.4. Effets sur la fonction rénale

## SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Une étude épidémiologique suggère que l'exposition chronique à des pesticides, dont l'Azadirachtine, pourrait contribuer à la néphrotoxicité chez les agriculteurs (**Belanger, 2020**). L'exposition à des substances toxiques, y compris les métabolites toxiques, a été identifiée comme une cause potentielle de dommages rénaux, les reins étant essentiels à la multifonctionnalité du corps, notamment dans l'élimination des déchets sanguins, l'équilibre des fluides et d'autres fonctions cruciales. Des études, telles que celle menée par **Ali, (2012)**, a examiné les effets de doses variables d'Azadirachtine sur des rats mâles pendant une période de 90 jours. Ces recherches ont révélé des changements significatifs dans les paramètres rénaux et la structure histologique, soulignant la susceptibilité des reins aux effets néfastes de l'Azadirachtine. De plus, l'étude d'**El-Naggar et al. (2017)** sur des souris mâles a rapporté une augmentation significative de la concentration d'urée dans le sérum à une dose de 350 mg/kg d'Azadirachtine, accompagnée de dégénérescence cytoplasmique et de nécrose cellulaire rénale. Des recherches chroniques sur des souris mâles et femelles, ainsi que des essais sur des rats mâles, ont également révélé des changements histopathologiques dans les reins, particulièrement à des concentrations supérieures. Les résultats de **Ravindranath (2011)** ont complété ces constatations, indiquant des altérations dans les taux sériques de créatinine, d'urée et d'acide urique chez les rats mâles exposés à l'Azadirachtine. La créatinine, l'urée et l'acide urique sont des marqueurs couramment utilisés pour évaluer la fonction rénale, et des niveaux élevés de ces composés peuvent indiquer des problèmes potentiels dans la santé rénale et mettent en avant des aspects physiologiques qui pourraient être affectés par cette substance (**Dafalla et al., 2015**).

### 3.3. L'ail

#### 3.3.1. Description botanique

L'ail (*Allium sativum*) est une plante herbacée vivace reconnaissable par ses feuilles longues et étroites qui émergent d'un bulbe composé de plusieurs caïeux. La plante produit également une hampe florale appelée "scape", portant une inflorescence sphérique composée de petites fleurs blanches ou rosées (**Murkute, 2022**).

#### 3.3.2. L'histoire de l'ail

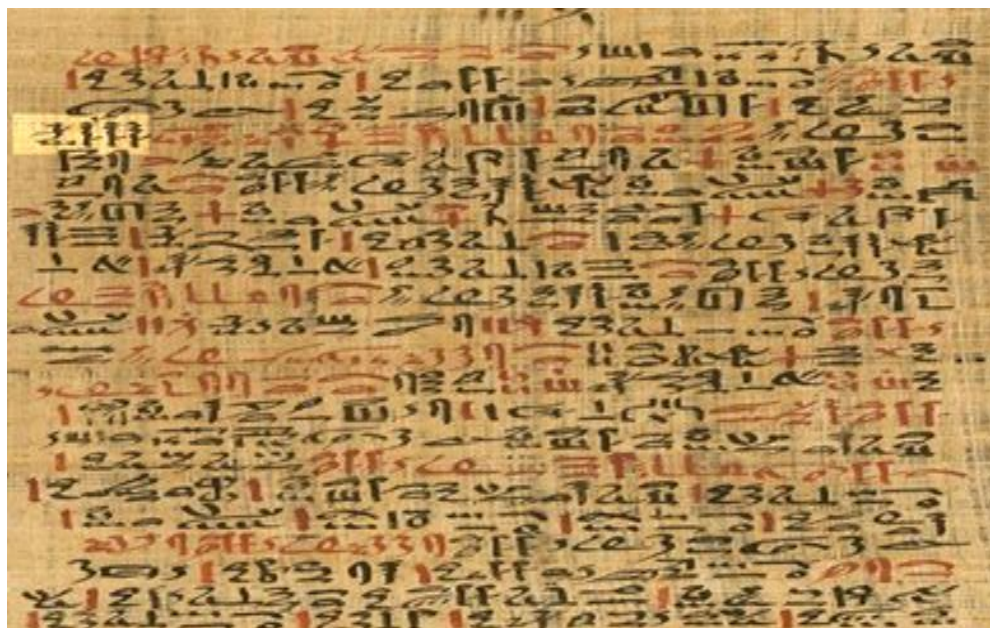
Il est cité dans la bibliographie que l'ail est originaire des montagnes de Tien Shan, situées entre la Chine actuelle, le Kazakhstan et le Kirgizstan, en Asie centrale (**Birlouez, 2020**). Ensuite, les

## SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

humains l'ont répandu partout sur la planète, en commençant par la Chine, la péninsule coréenne et l'Inde (**Pham, 2009**). Entre 2600 et 2100 avant notre ère, les sumériens se procuraient de l'ail de Chine pour soigner diverses affections allant des rhumatismes aux hémorroïdes (**Vignes et al., 2022**). Il poursuivit son voyage dans le monde et a découvert des gousses d'ail dans des endroits tels que la tombe de Toutankhamon et le Sérapéum de Saqqarah (**Amzali Sedda, 2018**).

En Grèce antique, il a été employé en tant que médicament, en tant que présent aux dieux ou encore en tant que motivation avant les batailles. Il a été utilisé par les Romains pour traiter les morsures de serpent, l'impuissance et la fièvre (**Vignes et al., 2022**). Au moyen-âge, ces connaissances seront perdues en Europe, tandis que les physiciens arabes les remettront au goût du jour. Il sera ensuite largement employé dans la cuisine italienne et française (**Astrodoc, 2014**).

Les plus anciens traitants médicaux trouvés à ce jour, les papyrus médicaux vieux de 3500 ans, contiennent la première trace écrite de l'ail. Les manuscrits d'Ebers, du nom de leur acheteur et traducteur, leur sont attribués. Les manuscrits sont écrits à l'aide d'un alphabet appelé hiéroglyphique, qui est basé sur la simplification des hiéroglyphes (**Astrodoc, 2014**).



**Figure 07.** Un des fragments où il est fait mention de l'ail (surligné en clair)



## SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

**Figure 08.** Ail en hiératique

### 3.3.3. Description de l'ail, *Allium sativum*

La famille des Alliacées compte une plante aromatique et herbacée appelée *Allium sativum*. Malgré ses nombreux traits, il appartient à la famille la plus vaste de plantes à fleurs, mais sa composition est complexe. En grande quantité, l'ail est cultivé sur les cinq continents. Plusieurs études ont également démontré que l'ail peut être cultivé dans n'importe quel type de sol, que ce soit en Asie ou en Méditerranée, où il n'y a pas de basses températures pendant l'hiver. Cependant, pendant sa croissance. En raison de sa résistance aux conditions défavorables comme le froid et la sécheresse, il a besoin d'une période froide pour se développer. La mi-août est la période où l'ail est récolté manuellement ou à l'aide d'une lame de tracteur. Sur la base d'une variété d'indications et de résultats, l'ail a été découvert pour être utile dans la prévention d'une variété de maladies, y compris les troubles cardiovasculaires, il est donc essentiel de créer et de promouvoir des herbes médicinales et des aromathérapies (Ghesquiere, 2016).

### 3.3.4. Composition de l'ail

La composition de l'ail est assez complexe et comprend plusieurs composés biologiquement actifs. Voici une liste des principaux composants de l'ail (Martins *et al.*, 2016)

- **Alliine** : L'alliine est un composé soufré présent dans l'ail cru. Lorsque l'ail est coupé ou écrasé, l'alliine est converti en allicine par l'enzyme alliinase (Voča *et al.*, 2021).
- **Allicine** : L'allicine est un composé soufré instable et fortement odorant. On pense que c'est l'un des principaux responsables de l'odeur distinctive de l'ail et de certaines de ses propriétés antimicrobiennes (Rauf *et al.*, 2022).
- **Ajoène** : L'ajoène est un composé organosulfuré formé à partir de plusieurs composés de l'ail. Il est étudié pour ses propriétés antiplaquettaires et antithrombotiques (Gambogou *et al.*, 2019).
- **Sulfures organiques** : L'ail contient divers sulfures organiques, tels que le diallyl sulfure, le diallyl disulfure, et le diallyl trisulfure. Ces composés contribuent également aux propriétés bénéfiques pour la santé (Martins *et al.*, 2016).

## SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

- **Composés soufrés volatils** : Ces composés se forment lorsque des composés organosulfurés sont libérés lors de la découpe ou de l'écrasement de l'ail (**Rauf et al., 2022**).
- **Composés phénoliques** : L'ail contient des composés phénoliques, tels que les flavonoïdes et les acides phénoliques, qui ont des propriétés antioxydantes (**Bar et al., 2022**).
- **Vitamines et minéraux** : L'ail est une source modérée de vitamines et de minéraux, notamment la vitamine C, la vitamine B6, le manganèse, le sélénium, et l'antioxydant quercétine (**Bar et al., 2022**).
- **Composés organiques variés** : L'ail renferme aussi d'autres composés organiques, tels que des polysaccharides, des stéroïdes, des lectines, et des coposés azotés (**Rauf et al., 2022**).

Il est important de noter que la composition spécifique de l'ail peut varier en fonction de facteurs tels que la variété d'ail, les conditions de croissance. Les composés soufrés, en particulier, sont souvent associés aux propriétés antimicrobiennes, antioxydantes, et autres bienfaits pour la santé (**Martins et al., 2016**).

### 3.3.5. Le mécanisme d'action

L'ail (*Allium sativum*) est connu depuis longtemps pour ses propriétés antimicrobiennes, y compris son activité antifongique (**Colin, 2016**). L'efficacité antifongique de l'ail est attribuée principalement grâce à des composés bioactifs tels que l'allicine et l'ajoène. Ces substances soufrées agissent en perturbant les membranes cellulaires des champignons, altérant leur structure et entraînant une fuite de composés essentiels. De plus, elles inhibent des enzymes clés nécessaires aux processus métaboliques des champignons, compromettant leur croissance et leur reproduction. L'ail peut également stimuler le système immunitaire, renforçant ainsi la capacité de l'organisme à combattre les infections fongiques (**Colin, 2016**). Bien que la recherche soit en cours pour comprendre pleinement ces mécanismes, l'ail est souvent considéré comme un complément antifongique naturel.

## SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

### 3.3.6. Propriétés insecticides, nématicides et fongicides des extraits d'ail

Les extraits d'ail sont efficaces contre une variété d'insectes, notamment le puceron des céréales, le criquet pèlerin, la teigne de la pomme de terre, les larves de doryphore, les moustiques, les puces, la mouche domestique et le dermeste des grains. Ils agissent également contre les coléoptères des stocks tels que le petit ver de la farine et le charançon du maïs. En outre, l'ail montre une activité ovicide sur certaines espèces de punaises et de noctuelles, et il est toxique pour la mouche du vinaigre (**Auger & Thibout, 2002**). De plus, des extraits d'ail ont des effets nématicides sur le nématode *Meloidogyne incognita*, et ils ont également des propriétés répulsives contre l'acarien *Tetranychus urticae*. En ce qui concerne les effets fongicides, les composés sulfurés de l'ail sont efficaces contre divers champignons phytopathogènes tels que *Fusarium oxysporum*, *Verticillium albo-atrum* et *Phytophthora infestans*, mais ils peuvent stimuler la multiplication de certains champignons comme *Sclerotium cepivorum* (**Arnault et al., 2005**).

### 3.3.7. Toxicocinétique

La toxicocinétique de l'ail est un sujet complexe en raison de la diversité des composés présents dans l'ail et de leurs interactions avec le corps humain (**Wang et al., 2017**). Lorsqu'il est consommé, l'ail libère une variété de composés bioactifs, notamment des composés soufrés tels que l'allicine, l'alliine et le sulfure d'allyle, ainsi que des antioxydants comme les flavonoïdes et les composés phénoliques (**Sato et al., 2020**). Ces composés sont absorbés au niveau de l'intestin grêle, où ils peuvent subir un certain degré de métabolisme avant d'être distribués dans tout le corps via la circulation sanguine (**Mahdavi-Roshan et al., 2017**).

Une fois dans le corps, les composés de l'ail peuvent interagir avec divers systèmes biologiques (**Wu et al., 2016**). Les composés soufrés peuvent être métabolisés dans le foie en plusieurs métabolites, certains ayant des activités biologiques distinctes de leurs précurseurs (**Shang et al., 2019**). Ces métabolites peuvent alors être distribués dans les tissus corporels où ils peuvent exercer leurs effets bénéfiques, tels que des propriétés anti-inflammatoires, antimicrobiennes et antioxydantes (**Wu et al., 2016**).

## SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

En ce qui concerne l'excrétion, une partie des composés de l'ail et de leurs métabolites peuvent être excrétés dans l'urine via les reins, tandis que d'autres peuvent être excrétés dans la bile et éliminés dans les selles (Scheffler *et al.*, 2016).

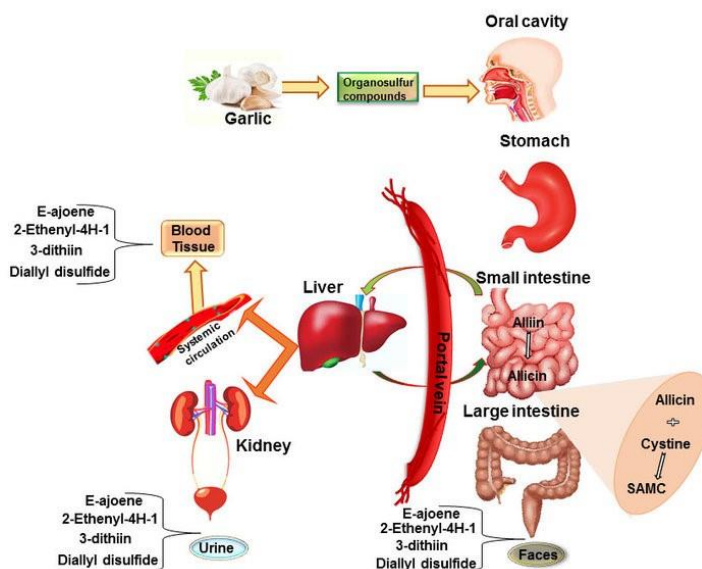


Figure 09. La toxicocinétique de l'ail (Ansary *et al.*, 2020).

### 3.3.8. Effets diversifiés de l'Ail sur la Santé

#### 3.3.8.1. Les effets toxiques d'ail

Des études ont mis en évidence l'existence d'une toxicité aiguë et chronique chez les animaux exposés à des doses extrêmement élevées de préparations d'ail. Néanmoins, des études toxicologiques sur l'extrait d'ail ont révélé qu'à des doses fortes (>10 g par jour). Concernant la  $DL_{50}$  pour les composés de l'ail, il est cité que la dose toxique pour des souris d'allicine chez les souris est évaluée à 363 mg/kg pour les femelles et 309 mg/kg pour les mâles, Le dialcyl disulfite est de 130 mg/kg chez les femelles et de 145 mg/kg chez les mâles. Alors que La  $DL_{50}$  pour S-Allyle cystéine est estimée à 9390 mg/kg pour les femelles et à 8890 mg/kg pour les mâles.

L'ail peut causer de graves brûlures cutanées (Colin, 2016). Une recherche menée sur leurs effets sur les paramètres biochimiques, des rats *Wistar* mâles adultes ont été traités avec une dose d'extrait aqueux d'ail de (p/p) 2 % pendant 4 semaines, a montré que le poids corporel de

## SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

tous les groupes traités par l'ail a significativement augmenté, avec une baisse significative des concentrations de glucose, le cholestérol total sérique et la phosphatase alcaline sérique (**Ahmed & Sharma, 1997**).

### 3.3.8.2. Propriétés Antioxydantes

L'ail se révèle comme une plante aux multiples bienfaits, avec des propriétés antioxydantes, protectrices contre le stress, et des impacts positifs sur des aspects spécifiques de la santé, tels que la fonction hépatique et reproductive **Lotfi et al. (2021)**. L'extrait aqueux de feuilles l'ail induit des niveaux plus élevés de MDA, mais également une augmentation de l'activité antioxydante (**Noori et al., 2012**).

### 3.3.8.3. Survie Cellulaire en cas de Stress

L'extrait d'ail, a démontré la capacité d'augmenter la survie cellulaire en conditions de stress inflammatoire et oxydatif sévère (**Noori et al., 2012**), protégeant les cellules contre les altérations métaboliques et moléculaires (**Christian 2019**).

### 3.3.8.4. Effet de l'ail sur la fonction hépatique

Des études approfondies portant sur l'activité enzymatique antioxydante de l'extrait aqueux d'ail ont révélé des résultats significatifs quant à son impact spécifique sur le foie. Dans une recherche menée sur des rats mâles *Wistar albinos*, l'administration de l'extrait aqueux d'ail a abouti à des réductions significatives de la masse hépatique (**Noori et al., 2012**).

Une étude antérieure, menée sur des souris, a examiné l'efficacité d'un des composés de l'ail, l'allicine afin d'améliorer l'activité hépatique. Les résultats ont démontré une réduction significative du taux plasmatiques d'AST (aspartate aminotransférase) et ALT (alanine aminotransférase) provoqués par l'administration d'un médicament antipyrétique et analgésique l'acétaminophène, suggérant un effet protecteur de l'allicine contre les dommages hépatiques. En outre, l'allicine a contribué à atténuer l'hépatomégalie, une augmentation anormale de la taille du foie (**Colin, 2016**).

Une autre étude, également réalisée par **Colin en 2016**, s'est concentrée sur l'effet d'un extrait de l'ail sur la fibrose hépatique chez des rats présentant des obstructions biliaires pendant 28 jours. Les résultats ont démontré que l'extrait d'ail avait une incidence favorable en réduisant les taux

## SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

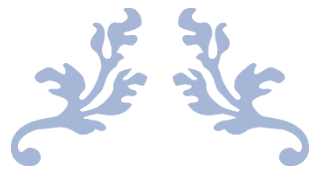
sériques d'enzymes hépatiques telles que l'ALT, l'AST, et la lactate déshydrogénase (LDH) par rapport à un groupe de rats non traités souffrant de fibrose hépatique. De plus, l'ail a contribué à inhiber l'augmentation de la teneur en collagène hépatique, suggérant un potentiel bénéfique dans la modulation des processus associés à la fibrose hépatique.

### **3.3.8.5. Effet de l'ail sur les paramètres hématologiques**

La modulation de l'hématotoxicité induite par le diazinon chez les rats à l'aide d'huile d'ail a été explorée (**Hassouna *et al.*, 2015**), montrant un potentiel bénéfique dans la protection contre les effets néfastes de la substance toxique utilisé (**Hassouna *et al.*, 2015**).

### **3.3.8.6. Effets sur la Fonction de la reproduction**

Des effets bénéfiques de l'ail ont été observés, notamment une augmentation du poids des testicules, indiquant un impact potentiellement positif sur la fonction reproductive. L'ail a également montré des caractéristiques protectrices contre le stress oxydatif et des améliorations dans la spermatogenèse, soulignant son potentiel en tant qu'agent antioxydant et protecteur de la santé reproductive (**Ghalehkandi, 2018**).



# **MATÉRIEL ET MÉTHODES**



# MATERIEL ET METHODES

## Matériel et Méthodes

### 1. Les animaux

Dans notre étude, des rats mâles de la souche Wistar, provenant de l'Institut Pasteur d'Alger, ont été utilisés. Ces rats avaient un poids d'environ 160 g et étaient âgés d'environ 3 mois. Les animaux ont été logés dans l'animalerie du département de Biologie, Faculté des Sciences de l'Université Badji Mokhtar-Annaba. Les animaux ont été soumis à une période d'adaptation de plus de 15 jours dans les conditions naturelles de l'animalerie, température, photopériode et humidité. Les cages ont été nettoyées et le lit a été changé tous les 2 jours. Les animaux ont eu un accès libre à l'eau, et tous les groupes de rats ont été alimentés avec la même quantité d'aliment commercial sec sous forme de croquettes qui ont été broyées, composées essentiellement de maïs, d'orge, de soja, de minéraux, de vitamines provenant de l'unité de l'est de l'alimentation du bétail à Oued Fragha, Guelma, en Algérie.

#### 1.1. Classification des animaux

**Tableau 01.** Classification des animaux (Fischer, 1803)

<b>Règne</b>	Animalia
<b>Embranchement</b>	Chordata
<b>Classe</b>	Mammalia
<b>Ordre</b>	Rodentia
<b>Famille</b>	Muridae
<b>Genre</b>	<i>Rattus Rattus</i>

#### 1.2. Choix des pesticides et des doses utilisés

Le choix des pesticides à tester était la première étape de notre travail. Au début de la présente étude, nous avons choisi de tester les pesticides chimiques et végétaux les plus couramment utilisés dans le domaine de l'agriculture

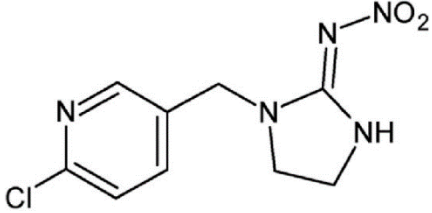
Pour connaître les produits les plus utilisés réellement, nous avons effectué une enquête sur terrain auprès d'agriculteurs et des vendeurs des produits phytosanitaires dans la région de Annaba (El-Hadjar, Ben M'hidi, Dréan et Besbes) ainsi que la maison de l'agriculture d'Annaba

## MATERIEL ET METHODES

et la direction des services agricoles d'El-Tarf. Nous avons choisi trois pesticides. Deux insecticides (un insecticide chimique) **Imidaclopride** et un bio insecticide commercialisé d'origine végétale), **Azadirachtine** et un fongicide végétal (biofongicide extrait de plante), **l'extrait aqueux de l'ail** Tableau (02).

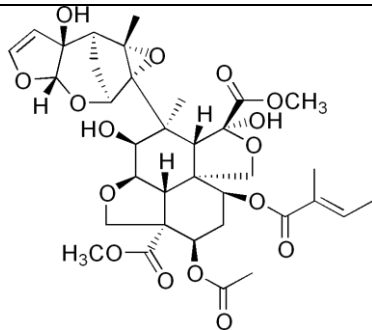
### 1.3.Classification et propriétés physicochimiques des pesticides utilisés

**Tableau 02.** Propriétés physicochimiques de l'Imidaclopride (EFSA, 2008)

<b>Famille</b>	Néonicotinoïdes
<b>Classe</b>	
<b>Poids moléculaire (g/mol) 255.7</b>	255.7
<b>Hydrosolubilité (mg/L)</b>	613 à 20°C (eau déminéralisée, pH5.5) 607 à 20°C et pH 4 601 à 20°C et pH 9
<b>Pression de vapeur (Pa)</b>	4.10-10 à 20 °C 9.10-10 à 25 °C
<b>Constante de Henry (Pa.m3/mol)</b>	1.7.10-10 à 20 °C
<b>Log du coefficient de partage Octanol-eau (log Kow)</b>	0.57 à 21 °C (eau déminéralisée)
<b>Coefficient d'adsorption (carbone organique) (Koc) (L/kg)</b>	225 (109-411)
<b>DL50 (mg/kg)</b>	450
<b>Dose utilisée en agriculture (ml/ha)</b>	250 (50 g/ha)
<b>Structure chimique (Ahmari et al., 2018)</b>	

## MATERIEL ET METHODES

**Tableau 03.** Structure et caractérisation de l'Azadirachtine (Schmutterer, 1995 ; Puri, 1999)

<b>Ordre</b>	Rutales
<b>Sous ordre</b>	Rutineae
<b>Famille</b>	Meliaceae
<b>Sous famille</b>	Melioideae
<b>Genre</b>	Azadirachta
<b>Espèce</b>	<i>Azadirachta indica</i>
<b>Structure chimique</b>	
<b>Formule</b>	$C_{35}H_{44}O_{16}$
<b>DL50 (mg/kg) (Crop Protection Handbook, 2005)</b>	>5000
<b>Dose utilisée dans l'agriculture (ml/ha)</b>	125 (4g/ha)

**Tableau 04.** Classification de l'ail (*Allium sativum*) (Al-Zahim et al., 1997)

<b>Règne</b>	Plantae
<b>Division</b>	Magnolipophyta
<b>Calsse</b>	Liliopsida (Monocotylédones)
<b>Ordre</b>	Asparagales
<b>Famille</b>	Amaryllidaceae
<b>Genre</b>	Allium
<b>Espèce</b>	<i>Allium sativum</i>
<b>DL50 (g/kg) (Gatsing et al., 2005)</b>	32

## MATERIEL ET METHODES

**Tableau 05.** Doses létales des pesticides utilisés

Pesticide	Nature/Origine	DL <sub>50</sub>	Référence
Imidaclopride	Chimique	450 mg/kg	(Seyler, 1994)
Azadirachtine	Biopesticide commercial	>5000 mg/kg	( <i>Crop Protection Handbook, 2005</i> )
L'extrait aqueux de l'ail : <i>Allium sativum</i>	Biopesticide Naturelle	32g/kg	(Gatsing <i>et al.</i> , 2005)

### 1.4. Extraction aqueuse de l'ail, *Allium sativum* (Selon Okombe Embeya et Nzuzi Mavungu (2019),

Le processus de fabrication de l'extrait aqueux d'ail consiste à peser les bulbes d'ail épluchés et à les broyer à l'aide d'un broyeur électrique. La mouture a été mélangée à grande vitesse avec un agitateur en agitant 100 ml d'eau distillée pendant 15 minutes, puis agitée pendant 24 heures pour macérer. Après il a été filtré à l'aide du papier Wattman numéro 3, l'extrait aqueux d'ail a été récupéré et gardé au réfrigérateur à une température de 3 °C (plus ou moins 1 °C) pour être utilisé ultérieurement

### 1.5. Traitement des rats

À la fin de la phase d'adaptation, les animaux ont été organisés en sept (7) groupes, chaque groupe comprenant huit (8) rats, les groupes des rats ont été traités dans l'alimentation pour une période de 6 semaines comme suit :

✓ **G1 T** : un groupe témoin.

Deux groupes ont été traités avec l'Imidaclopride aux doses de :

✓ **G2 IMD1** : 1/30 de la DL50

✓ **G3 IMD1** : 1/15 de la DL50.

Deux groupes ont été traités par l'Azadirachtine aux doses de :

✓ **G4 AZD1** : 1/30 de la DL50.

✓ **G5 AZD2** : 1/15 de la DL50.

Deux groupes ont été exposés à des doses de l'extrait aqueux d'ail (*Allium sativum*) :

✓ **G6 ALD1** : 1/30 de la DL50.

✓ **G7 1LD2** : 1/15 de la DL50.

## MATERIEL ET METHODES

### 1.5. Prélèvement des échantillons

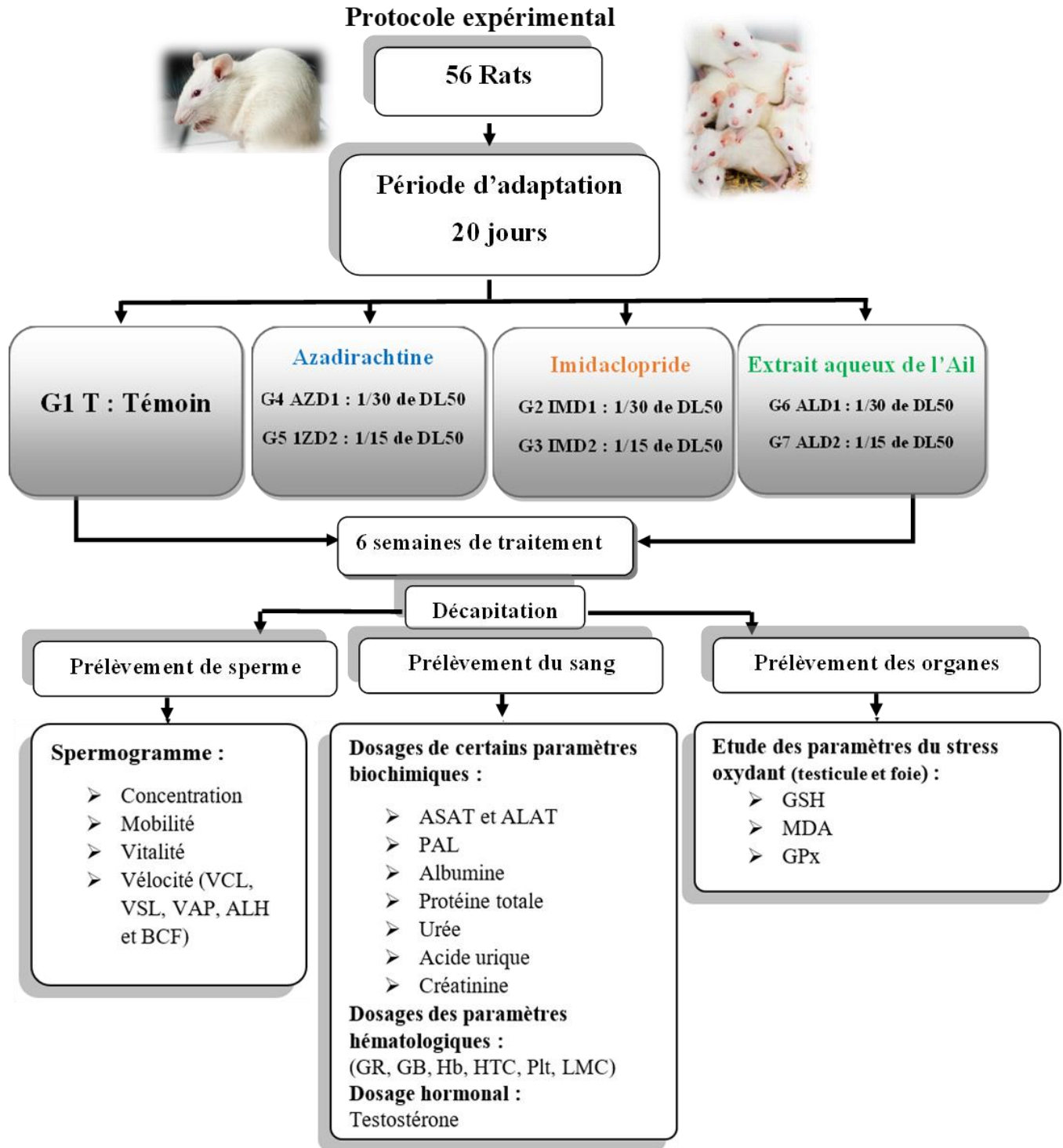
À la fin du traitement, la masse corporelle des animaux des différents groupes a été prise. Les organes de chaque animal ont été extraits et pesés soigneusement avec une balance de précision. Le sang a été prélevé dans des tubes secs et des tubes héparines. Le sperme a été recueilli à partir de la queue de l'épididyme. Une fois les organes débarrassés de leurs tissus adipeux, ils ont été ensuite séchés et pesés pour obtenir leur poids absolu. Les organes sont stockés à une température de -20 °C.

### 1.6. Prélèvement du sang

Le sang a été recueilli immédiatement après décapitation, trois tubes pour chaque animal, un tube héparine, un tube EDTA et un tube sec :

- Les tubes héparines : ils ont été centrifugés à 5000 tours/min pendant 15 minutes. Le plasma récupéré est utilisé pour doser les paramètres biochimiques.
- Les tubes EDTA : utilisé pour la mesure des paramètres hématologiques, y compris la formule de sanguine numérique (FNS).
- Le tube sec : Après centrifugation pendant 15 minutes à 5000 tours par minute, le sérum a été extrait et conservé à une température de -20 °C en vue du dosage hormonal (testostérone). Le protocole expérimental utilisé est décrit dans la **figure (10)** :

## MATERIEL ET METHODES



**Figure 10.** Schéma du protocole expérimental.

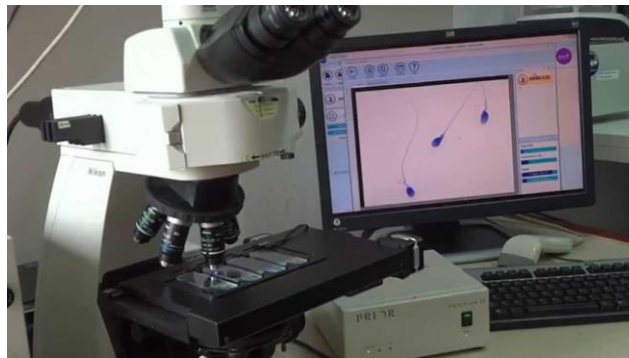
## MATERIEL ET METHODES

### 2. Méthodes utilisées pour le dosage

#### 2.1. Etude de la biologie du sperme

##### ❖ Notions de CASA:

CASA (**Photo 03**) est l'acronyme de «Computer-Assisted Semen Analysis » en Anglais qui peut se traduire en français par système informatisé d'analyse de sperme. Il constitue un outil qui est de plus en plus intégré dans les laboratoires de biologie médicale, permettant la réalisation de spermogrammes. Cet appareil facultatif est surtout utile dans les centres effectuant un grand volume d'analyses ou les centres spécialisés de fertilité (**OPTMQ, 2016**). Le système CASA est constitué d'un microscope optique, d'une caméra et d'un processeur (ordinateur). Les plus récents appareils permettent la mesure et le calcul de nombreux paramètres du spermogramme : la motilité, la concentration des spermatozoïdes, les caractéristiques morpho métriques (telle la longueur, la largeur, le périmètre et surface de la tête, la longueur du flagelle) et les anomalies morphologiques (flagelle enroulé, cassé, vacuoles) (**Boukharouba et Jindli, 2019**)



**Photo 3.** Sperm Class Analyser (SCA)

##### 2.1.1. Evaluation de la concentration et la mobilité des spermatozoïdes

Les spermatozoïdes mobiles sont analysés en suivant la trajectoire du sperme et la vitesse. Les résultats, comprenant tous les **paramètres cinématiques** du CASA, sont présentés question de secondes. Les spermatozoïdes mobiles sont analysés en suivant la trajectoire du sperme et la vitesse. Il est possible de sauvegarder les données détaillées (tous les paramètres analysés) de chaque spermatozoïde dans la base de données **ou** les exporter directement à **Microsoft Excel**.

## MATERIEL ET METHODES

### 2.1.1.1. Evaluation de La concentration spermatozoïdes

La concentration représente le nombre de spermatozoïdes par millimètre cube ( $\text{mm}^3$ ) ou par millilitre (ml) dans un échantillon de sperme.

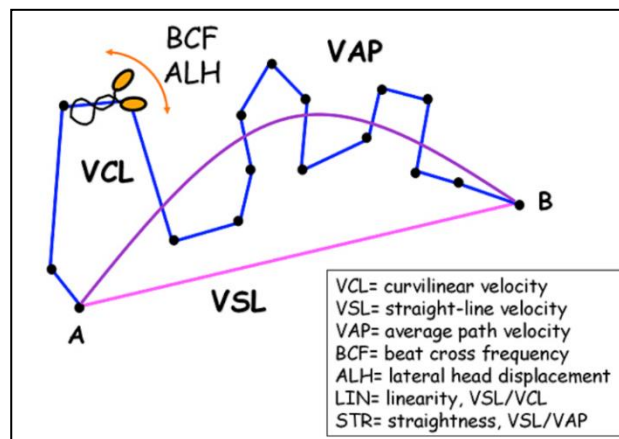
### 2.1.1.2. Evaluation de la mobilité des spermatozoïdes

#### - Matériel :

- Microscope NIKON® ECLIPSE Ci à contraste de phase et avec fluorescence (objectif x10 et x20),
- Une platine motorisée PRIOR® OptiScan II,
- Une platine minitub® et le système d'exploitation SCA® Microptic S.L.

Les mouvements des spermatozoïdes seront détectés par le système et suivis individuellement.

Pratiquement, un échantillon est déposé sur une cellule ( $12 \mu\text{m}$ ) dont la profondeur ne doit pas être excessive afin de faciliter la mise au point du microscope. Tous les mouvements et les analyses sont enregistrés par la caméra en fonction de la mobilité (MOT), la vitesse curviligne (VCL), la vitesse linéaire (VSL), la linéarité ( $\text{LIN} = \text{VSL}/\text{VCL}$ ) et le déplacement latéral de la tête (ALH) (Figure 08) (Olivier & Salson, 2008).



**Figure 11.** Les paramètres de la vélocité du sperme (vélocité curvilinéaire (VCL), la vélocité linéaire (VSL), la vélocité moyenne du trajet (VAP), l'amplitude du déplacement latéral de la tête (ALH) et la fréquence à laquelle la tête traverse le point milieu de la trajectoire (BCF)

(Luconi *et al.*, 2006)

## MATERIEL ET METHODES

### 2.1.2. Vitalité des spermatozoïdes

- **Test de gonflement hypo osmotique**

Ce test est effectué pour étudier les changements morphologiques de la queue des spermatozoïdes en examinant la vitalité et l'intégrité membranaire.

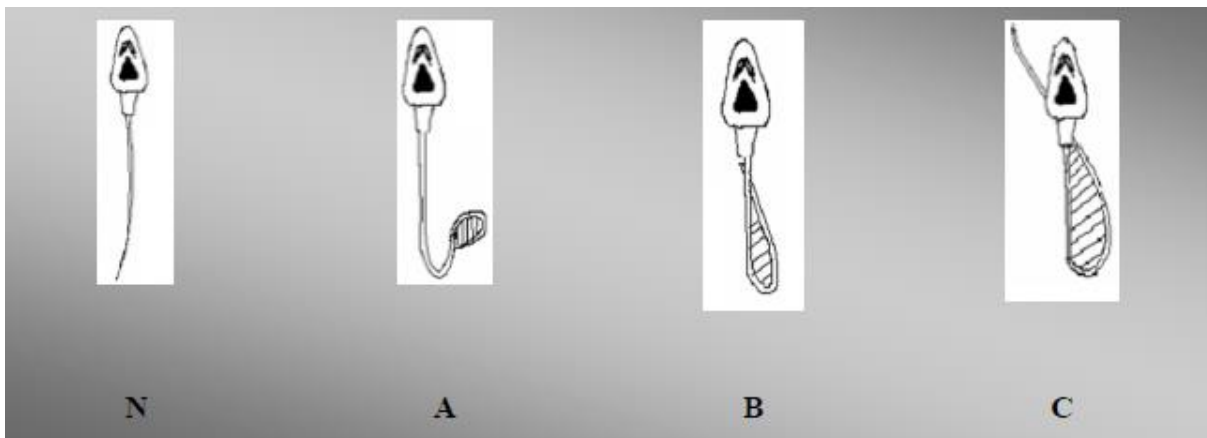
- **Préparation de la solution utilisée**

Dissoutrez 0,367 grammes de citrate de sodium ( $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) et 0,675 grammes de fructose dans 50 millilitres d'eau distillée. Après cela, placez-le au congélateur pendant dix minutes (Jeyendran, 1984). Après la décongélation, bien il faut bien mélanger la solution avant l'utilisation.

#### Mode de travail

Mettre un millilitre de la solution dans un bain marie à 37 degrés Celsius dans un tube Eppendorf fermé pendant 3 minutes. Ensuite, 0,1 ml de sperme est ajouté et on laisse incubé pendant 30 minutes à 37 °C.

Après observation au microscope à l'objectif [X40], on procède au calcul du pourcentage des spermatozoïdes qui ont des anomalies au niveau du flagelle sur le nombre total de spermatozoïdes (OMS, 1993).



**Figure 12.** Caractérisation des malformations morphologiques des spermatozoïdes après l'exposition à un stress hypo osmotique

**N :** Il n'y a pas de malformation au niveau de flagelle = spermatozoïde normale

**A :** La présence d'un petit nœud au niveau du flagelle = Malformation légère

**B :** L'atteinte de la pièce intermédiaire par un nœud typique = Malformation importante

**C :** L'atteinte de la tête du spermatozoïde par un grand nœud = Malformation très importante

## MATERIEL ET METHODES

### 2.2. Réalisation de la formule de numération sanguine (FNS)

La formule de numération sanguine (FNS) a été effectuée à l'aide d'un automate hématologique de marque ABACUS 4. Le dosage commence lors du placement de tube contenant le sang dans l'appareil, les résultats seront affichés sur l'écran et imprimés après 2min. Les paramètres hématologiques mesurés incluent les globules rouges (GR), les globules blancs (GB), l'hémoglobine (Hb), l'hématocrite (HTC) et les plaquettes (Plt)

### 2.3. Dosage hormonal

Le principe de compétition est la base du test immuno-enzymatique sur phase solide (ELISA). Les sites de fixation des anticorps revêtus dans les puits sont compétitifs entre la quantité fixe d'antigènes associés à une enzyme et la quantité inconnue d'antigènes dans l'échantillon. Les puits seront lavés après l'incubation pour empêcher la compétition.

L'intensité de la couleur générée après la réaction avec le substrat est inversement proportionnelle à la quantité d'antigène présente dans l'échantillon. La courbe étalon peut être utilisée pour calculer directement les résultats des échantillons.

#### Calcul des résultats

Sur un papier graphique semi-logarithmique ou par le biais d'une méthode automatisée, les densités optiques (DO) des étalons sont représentées en fonction de leurs concentrations (axe x, logarithmique). Une analyse efficace est obtenue par l'utilisation de méthodes telles que le cubicspline, la Logistics à 4 paramètres ou le Logit-Log. Pour calculer la courbe des étalons, chaque signal des étalons est pris en compte. En cas de détection d'une valeur erronée résultant d'un double dosage, elle peut être négligée et remplacée par une valeur plus plausible.

La concentration des échantillons peut être déterminée en utilisant la courbe étalon. Conformément aux préparations préalables au test, les échantillons avec une concentration excédant celle de l'échantillon le plus concentré doivent être dilués et soumis à un nouveau test. Les résultats des échantillons préalablement dilués doivent être multipliés par le facteur de dilution. Les concentrations seront exprimées en ng/ml.

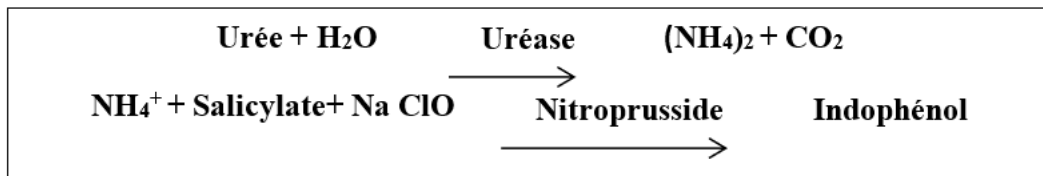
## MATERIEL ET METHODES

### 2.4. Dosage des paramètres biochimiques

Au laboratoire (HIKMA) d'Annaba, les paramètres biochimiques sont mesurés à l'aide d'un système (MINDRAY BS-240). Les méthodes enzymatiques sont utilisées pour examiner les niveaux d'urée, de créatinine (Créât), d'acide urique (AU), de phosphatase alcaline (PAL), d'aspartate aminotransférase (ASAT), d'alanine aminotransférase (ALAT), d'albumine (Alb) et de protéine totale (PT).

#### 2.4.1. Dosage de l'urée

- **Principe :** La détermination du taux de l'urée a été effectuée à l'aide de la méthode enzymatique qui utilise l'uréase et expliquée selon la réaction suivante :



La réaction des ions d'ammonium avec le salicylate et l'hypochlorite de sodium forme un complexe de couleur verte, L'intensité de couleur du complexe vert ainsi formé est proportionnelle à la concentration d'urée présente dans l'échantillon de sérum (**Fawcett & Scott, 1960**).

- **Réactifs**

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

<b>Réactif 1 :</b>	Phosphate pH 6,7	50 mM/L
<b>Tampon</b>	EDTA	2 mM/L
	Salicylate de sodium	400 mM/L
	Nitroprussiate de sodium	10 mM/
<b>Réactif 2 :</b>	Hypochlorite de sodium (NaClO)	140 mM/L
<b>NaClO</b>	Hydroxyde de sodium	150 mM/L
<b>Réactif 3 :</b>	Uréase	3000 U/L
<b>Enzymes</b>		
<b>Urée calibration</b>	Urée aqueuse (standard)	50 mg/dL

**Réactif de travail :** Dissoudre un comprimé de Substance R3 dans un récipient contenant la Solution R1, puis agiter doucement.

### Mode opératoire :

	<b>Blanc</b>	<b>Étalon</b>	<b>Echantillon</b>
<b>Réactif de travail (ml)</b>	1.0	1.0	1.0
<b>Étalon (µL)</b>	-	10	-
<b>Echantillon (µL)</b>	-	-	10

Agiter et laisser reposer pendant 10 minutes à une température ambiante comprise entre 15 et 25°C.

	<b>Blanc</b>	<b>Étalon</b>	<b>Echantillon</b>
<b>R2 (ml)</b>	<b>1.0</b>	<b>1.0</b>	<b>1.0</b>

Agiter vigoureusement et incubé pendant 10 minutes à température ambiante (15-25°C). Mesurer l'absorbance (A) des échantillons et de l'étalon par rapport au blanc à une longueur d'onde de 580 nm. La stabilité de la couleur est maintenue pendant une période de 30 minutes à une température de 15 à 25°C.

## MATERIEL ET METHODES

$$\text{Urée (mg/dl)} = \frac{\text{(A) Echantillon}}{\text{(A) Etalon}} \times 50 \text{ (Concentration de du calibrateur)}$$

### 2.4.2. Dosage de la créatinine

- **Principe :** L'expérience repose sur la réaction de la créatinine avec le picrate de sodium, telle que décrite par Jaffer. La créatinine réagit avec le picrate alcalin pour former un complexe rouge. La durée de l'essai est sélectionnée de manière à éviter toute interférence avec d'autres composants du sérum lors des mesures. L'intensité de la couleur observée est directement proportionnelle à la concentration de créatinine dans l'échantillon (Murray, 1984).



➤ **Réactif :**

<b>Réactif 1 :</b> <b>Réactif picrique</b>	Acide picrique	17,5 mM/L
<b>Réactif 2 :</b> <b>Réactif alcalin</b>	Hydroxyde de sodium	0,29 mM/L
<b>Créatinine calibrateur</b>	Créatinine aqueuse (standard)	2 mg/Dl

**Réactif de travail :** Combinez un volume du réactif 1 avec un volume du réactif 2. Le réactif de travail reste stable pendant une période de 10 jours à une température comprise entre 15 et 25°C.

➤ **Mode opératoire :**

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

	Blanc	Etalon	Echantillon
Réactif de travail (ml)	1.0	1.0	1.0
Etalon (µL)	-	100	-
Echantillon (µL)	-	-	100

Combinez les éléments, démarrez le chronomètre. Mesurez la densité optique (A1) à 492 nm après 30 secondes, puis la densité optique (A2) après 90 secondes.

- **Calcul de la concentration :** la concentration de la créatinine a été calculée en utilisant la formule suivante :

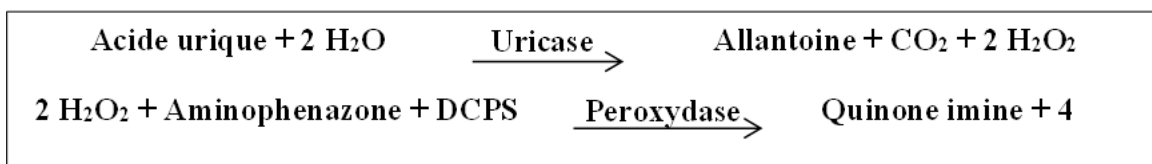
$$\text{Créatinine (mg/dL)} = \frac{(\Delta A) \text{ Echantillon} - (\Delta A) \text{ Blanc}}{(\Delta A) \text{ Etalon} - (\Delta A) \text{ Blanc}} \times 2 \text{ (Concentration de calibrateur)}$$

$(\Delta A) = A2 - A1$

### 2.4.3. Dosage de l'acide urique

- **Principe**

L'uricase catalyse l'oxydation de l'acide urique en allantoïne et peroxyde d'hydrogène (2 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Sous l'influence de la peroxydase, du 4-aminophénazone (4-AP) et du 2-4 dichlorophénol-sulfonate (DCPS), cela conduit à la formation d'un composé rouge de quinone imine, comme décrit par les réactions suivantes :



La concentration en acide urique dans l'échantillon est proportionnelle à l'intensité de la coloration rouge créée (Schultz, 1984).

- **Réactifs**

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

<b>Réactif 1 :</b>	Phosphate pH 7,4	50 mM/L
<b>Tampon</b>	2–4 dichlorophénol sulfonate (DCPS)	4 mM/L
<b>Réactif 2 :</b>	Uricase	60 U/L
<b>Enzymes</b>	Peroxydase (POD) Ascorbate oxydase 4-Aminophénazone (4-AP)	
<b>Acide urique calibrateur</b>	Acide urique aqueux (standard)	6mg/dL

**Réactif de travail :** Suspendre le contenu d'un flacon R2 dans un flacon R1. Homogénéiser complètement. La couleur demeure constante pendant une demi-heure.

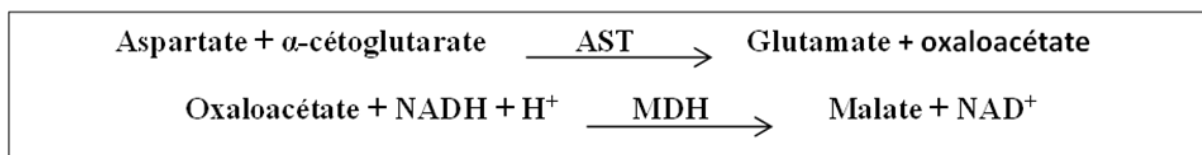
	<b>Blanc</b>	<b>Etalon</b>	<b>Echantillon</b>
<b>Réactif de travail (ml)</b>	1.0	1.0	1.0
<b>Etalon (µL)</b>	-	25	-
<b>Echantillon (µL)</b>	-	-	25

- **Calcul de la concentration :** la concentration en l'acide urique a été calculée en utilisant la formule suivante :

$$\text{Acide urique (mg/dL)} = \frac{\text{(A) Echantillon}}{\text{(A) Etalon}} \times 6 \text{ (Concentration du calibrateur)}$$

### 2.4.4. Dosage de l'aspartate aminotransférase (ASAT)

- **Principe :** L'enzyme aspartate aminotransférase (ASAT), aussi appelée glutamate oxaloacétate transaminase (GOT), facilite le transfert réversible d'un groupe aminé de l'aspartate vers le cétooglutarate, engendrant la production de glutamate et d'oxaloacétate. La malate déshydrogénase (MDH), accompagnée du cofacteur NADH+H<sup>+</sup>, joue un rôle dans la réduction de l'oxaloacétate en malate :



## MATERIEL ET METHODES

La vitesse de décroissance de la concentration de NADH+H<sup>+</sup>, mesurable par photométrie, est directement proportionnelle à l'activité catalytique de l'aminotransférase aspartate (Murray, 1984).

### ➤ Réactif

<b>Réactif 1 :</b>	TRIS pH 7,8	80 mM/L
<b>Tampon</b>	L-Aspartate	200 mM/L
	NADH	150000 U/L
<b>Réactif 2 :</b>	Lactate déshydrogénase	0,18 mM/L
<b>Substrat</b>	(LDH)	800
	Malate déshydrogénase	U/L
	(MDH)	600 U/L
	α-cétoglutarate	12 mM/L

**Réactif de travail :** Dissoudre le contenu d'un comprimé de R2 dans un flacon de R1 et homogénéiser. Ce réactif demeure stable pendant 21 jours à une température de 2-8°C ou 72 heures à une température de 15-25°C.

### ➤ Mode opératoire

<b>Réactif de travail (ml)</b>	1.0
<b>Echantillon (µL)</b>	100

Combiner tous les composants et laisser incuber pendant une minute. Mesurer l'absorbance initiale (A) de l'échantillon à 340 nm. Dès le lancement du chronomètre, effectuer des lectures d'absorbance toutes les trois minutes pendant une durée de trois minutes.

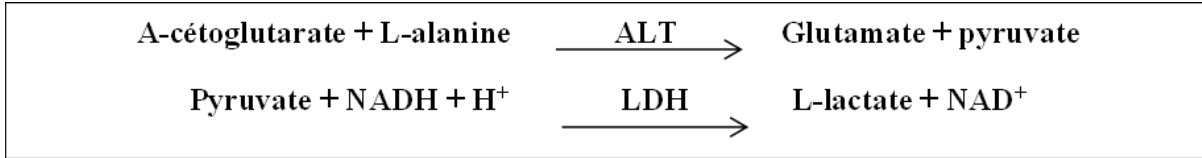
Le calcul de l'activité catalytique de l'aspartate aminotransférase (ASAT) s'effectue selon la formule suivante :  $\text{Activité de l'ASAT (U/L)} = \Delta A / \text{min} \times 1750$ .

### 2.4.5. Dosage de l'alanine aminotransférase (ALAT)

#### ➤ Principe

La transaminase glutamate-pyruvate (GPT), également identifiée sous le nom d'alanine aminotransférase (ALAT), facilite le transfert réversible d'un groupe aminé de l'alanine au cétoglutarate, générant ainsi du glutamate et du pyruvate. Par la suite, la lactate-déshydrogénase (LDH) et le cofacteur NADH interviennent pour réduire le pyruvate en lactate, selon les réactions suivantes :

## MATÉRIEL ET MÉTHODES



La vélocité de la diminution de la concentration en NADH+H<sup>+</sup>, évaluée par photométrie, est en corrélation directe avec l'activité catalytique de l'alanine aminotransférase (**Murray, 1984**).

### ➤ Réactif

<b>Réactif 1 :</b>	TRIS pH 7,8	100 mM/L
<b>Tampon</b>	L-Alanine	500 mM/L
	NADH	0,18 mM/L
<b>Réactif 2 :</b>	NADH	1200 U/L
<b>Substrat</b>	Lactate déshydrogénase (LDH)	15 mM/L
	α-cétoglutarate	

**Réactif de travail :** Suspender le contenu d'un comprimé de R2 dans un flacon de R1 et agiter doucement. La stabilité de ce réactif persiste pendant une période de 21 jours à une température comprise entre 2 et 8°C, ou 72 heures à une température de 15 à 25°C.

### Mode opératoire

<b>Réactif de travail (ml)</b>	1.0
<b>Echantillon (µL)</b>	100

Combinez les composants et incubez pendant une minute. Mesurez l'absorbance initiale (A) de l'échantillon à 340 nm. Démarrez le chronomètre et enregistrez les absorbances toutes les trois minutes pendant une durée d'une minute d'intervalle.

### ➤ Calcul de la concentration

L'activité catalytique de l'alanine aminotransférase (ALAT) est déterminée par la formule suivante : Activité de l'ALAT (U/L) =  $\Delta A / \text{min} \times 1750$ .

### 2.4.6. Dosage de la phosphatase alcaline (PAL)

#### ➤ Principe

## MATERIEL ET METHODES

La phosphatase alcaline (PAL) induit l'hydrolyse du p-nitrophényl phosphate à un pH de 10,4, engendrant la libération de p-nitrophénol et de phosphate, comme illustré par la réaction suivante :



La vélocité de la baisse de la concentration en NADH+H<sup>+</sup>, évaluée via photométrie, est directement liée à l'activité catalytique de la phosphatase alcaline (Wenger, 1984).

### ➤ Réactifs

<b>Réactif 1 :</b>	Diéthanolamine (DEA) pH	1 mM/L
<b>Tampon</b>	10,4	0,5 mM/L
	Chlorure de magnésium	10 mM/L
<b>Réactif 2 :</b>	p-Nitrophénylphosphate	
<b>Substrat</b>	(pNPP)	

### ➤ Réactif de travail

Dissoudre un comprimé du réactif R2 dans un flacon contenant la substance R1 et agiter doucement. La solution ainsi obtenue présente une stabilité de 21 jours lorsqu'elle est conservée à une température de 2-8°C ou de 72 heures à une température variante entre 15 et 25°C.

### ➤ Mode opératoire

<b>Réactif de travail (ml)</b>	1.2
<b>Echantillon (µL)</b>	20

Combinez les composants et laissez incuber pendant une minute. Mesurez l'absorbance initiale (A) de l'échantillon à une longueur d'onde de 405 nm. Démarrez le chronomètre et enregistrez les valeurs d'absorbance toutes les trois minutes pendant une période de trois minutes.

### ➤ Calcul de la concentration

L'activité catalytique de la PAL (phénylalanine ammonium lyase) peut être calculée en utilisant la formule suivante : Activité de PAL (U/L) =  $\Delta A / \text{min} \times 3300$ .

### 2.4.7. Dosage de l'albumine

#### ➤ Principe

Lorsque l'albumine entre en réaction avec le vert de bromocrésol (BCG), un complexe coloré est généré. Le pH de l'environnement est maintenu à 4.2 grâce à l'utilisation d'un tampon. Après la

## MATERIEL ET METHODES

période d'incubation, la mesure de l'absorbance du mélange est effectuée à une longueur d'onde de 628 nm (Doumas, 1971).

<b>Réactif 1 :</b>	Vert bromocrésol	0.14g/L
<b>Tampon</b>	Tampon	75 mmol
	Succinate pH 4,2	7 ml/L
	Brige 35	
<b>Réactif 2 :</b>	Sérum albumine bovin(standard)	50g/L
<b>Calibrant</b>		

### ➤ Mode opératoire

	<b>Blanc</b>	<b>Étalon</b>	<b>Echantillon</b>
<b>Réactif de travail (ml)</b>	5	5	5
<b>Étalon (µL)</b>	-	20	-
<b>Echantillon (µL)</b>	-	-	20

Combinez les éléments et autorisez l'incubation pendant 5 minutes à une température de 37°C. Procédez ensuite à la mesure des densités optiques en référence au blanc à une longueur d'onde de 628 nm.

### Calcul de la concentration

La concentration de l'albumine a été calculée en utilisant la formule suivante :

$$\text{Albumine (g/l)} = \frac{\text{DO Echantillon}}{\text{DO Etalon}} \times \text{Concentration de l'étalon (50/l)}$$

### 2.4.8. Dosage de la Protéine totale

Une approche colorimétrique a été employée pour évaluer les niveaux de protéines. En présence d'un milieu alcalin, les ions cuivre et les protéines génèrent un complexe d'une teinte bleu violet intense. L'intensité de la couleur développée est directement liée à la concentration totale de protéines dans l'échantillon (Koller, 1984 ; Burtis *et al.*, 2005).

## MATERIEL ET METHODES

- Réactifs

Réactif (Biuret)	Tartrate de potassium sodium	15 mmol/l
	Iodure de sodium	100 mmol/l
	Iodure de potassium	5 mmol/l
	Sulfate de cuivre	19 mmol/l
Étalon	Sérum albumine bovin	7 g/dl

- Mode opératoire

	Blanc	Étalon	Échantillon
Réactif de travail (ml)	1.0	1.0	1.0
Étalon (µl)	--	25	--
Échantillon (µl)	--	--	25

Combiner et incuber pendant 5 minutes à 37 degrés Celsius ou 10 minutes à la température ambiante (15 à 25°C). Les absorbances des échantillons et des étalons à 540 nm contre le blanc réactif doivent être étudiées. La couleur finale reste stable pendant au moins trente minutes.

- Calcul de la concentration

Le calcul de la concentration des protéines totales est effectué en utilisant la formule suivante:

$$\text{Protéine totale (g/dl)} = \frac{\text{DO Echantillon}}{\text{DO Etalon}} \times \text{Concentration de l'étalon (7g/dl)}$$

### 2.5. Dosage des paramètres du stress oxydatif

#### 2.5.1. Préparation de l'homogénat tissulaire

Un gramme de tissu (testicule et foie) de chaque rat des différents groupes a été broyé dans 9 millilitres de solution tampon Tris (TBS). Cette solution était constituée de Tris à une concentration de 50 mM et de chlorure de sodium à une concentration de 150 mM, avec un pH

## MATERIEL ET METHODES

de 7.4. Suite à une centrifugation de la suspension cellulaire à une vitesse de 3000 tr/min pendant une durée de 15 minutes, le surnageant a été préservé à une température de -20°C. Ce surnageant sera utilisé ultérieurement pour évaluer les niveaux de stress oxydatif.

### 2.5.2. Méthode de dosage de glutathion tissulaires (GSH) ( $\mu\text{M}/\text{mg prot}$ )

#### ➤ Principe

Le dosage du glutathion a été réalisé en utilisant la méthode de **Weckbecker et Cory (1988)**. Cette méthode repose sur la mesure de l'absorbance optique de l'acide 2-nitro-5-mercapturique. Le réactif d'Ellman, l'acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB), est réduit par les groupements (-SH) présents dans le GSH (glutathion).

#### ➤ Mode opératoire

- ❖ Prélevez 0,8 millilitres de l'homogène et ajoutez-y 0,2 millilitres d'une solution d'acide sulfosalicylique (SSA) à 0,25 %.
- ❖ Laissez reposer pendant 15 minutes au réfrigérateur, puis centrifugez à 1000 tr/min pendant 5 minutes.
- ❖ Retirez 0,5 ml du surnageant.
- ❖ Ajoutez 1 ml de solution tampon tris (0,4 mol de tris, 0,02 mol de chlorure de sodium, pH 9,6). Mélangez ensuite et ajoutez 0,025 ml de DTNB à 0,01M (dissous dans le méthanol absolu).
- ❖ Laissez le mélange à température ambiante pendant 5 minutes, puis mesurez l'absorbance à 412 nm à l'aide d'un spectrophotomètre d'absorption molaire en comparaison avec le blanc (eau distillée).

#### ➤ Calcul de la concentration :

La concentration du glutathion est obtenue par la formule suivante :

$$[\text{GSH}] (\mu\text{M GSH}/\text{mg protéines}) = \frac{\text{DO} \times 1 \times 1,525}{13,100 \times 0,8 \times 0,5 \times \text{mg protéines}}$$

- DO: Densité optique.
- 1 : Volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation (0.8 mL d'homogénat + 0.2 mL d'acide salicylique).

## MATERIEL ET METHODES

- 1.525 : Volume total des solutions utilisées dans le dosage du GSH au niveau du surnageant (0.5 mL de surnageant + 1 mL de Tris + 0.025 mL de DTNB).
- 13,100 : Coefficient d'absorbance du groupement –SH à 412 nm.
- 0.8: Volume de l'homogénat.
- 0.5: Volume du surnageant.

### 2.5.3. Dosage du malondialdéhyde (MDA)

#### ➤ Préparation de l'homogénat

Le testicule, le foie et les reins ont été testés pour le MDA. En présence de 5 ml d'une solution tampon phosphate (0,1 M, pH 7,4), 50 mg de chaque tissu ont été mélangés avec un broyeur ultra son pendant 30 secondes pour obtenir un homogène.

#### ➤ Principe

L'un des produits terminaux de la décomposition des acides gras polyinsaturés (PUFA) médiées par les radicaux libres est le MDA. La méthode d'**Ohkawa *et al.* (1979)** a été utilisée pour évaluer les taux de MDA hépatique et testiculaire dans notre étude. Le dosage repose sur la formation entre le MDA et l'acide thiobarbiturique (TBA) d'un pigment coloré absorbant à 530 nm, extrait par des solvants organiques comme le butanol, dans un milieu acide et chaud (100 °C).

#### ➤ Mode opératoire :

- ❖ Prélevez 0,5 ml de l'homogénat.
- ❖ Ajoutez-y 0,5 ml d'acide trichloracétique (TCA) à 20 %.
- ❖ Ajoutez 1 ml d'acide thiobarbiturique (TBA) à 0,67 %.
- ❖ Mélangez et incubez au bain-marie à une température de 100 °C pendant 15 minutes.
- ❖ Refroidissez et ajoutez 4 ml de n-butanol.
- ❖ Centrifugez pendant 15 minutes à 3000 tours/min.
- ❖ Récupérez le surnageant et mesurez la densité optique à 530 nm en comparaison avec le blanc.

#### ➤ Calcul de la concentration du MDA (nM/gramme)

La quantité de MDA dans l'échantillon est exprimée en nM/gramme de tissu (foie ou testicule). Cette valeur est obtenue en se référant à une courbe standard élaborée avec du 1,1', 3,3'-tétrahydroxypropane dans des conditions similaires.

### 2.5.4. Évaluation de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx).

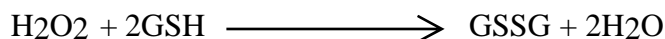
## MATERIEL ET METHODES

### ➤ Préparation de l'homogénat

Le dosage de la glutathion peroxydase a été effectué sur les échantillons de foie et de testicules. Pour chaque tissu (500 mg), une solution TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7.4) de 5 ml a été ajoutée, et le mélange a été broyé à froid pendant 30 secondes pour obtenir un homogène.

### ➤ Principe :

- La méthode de Flohé et Günzler (1984) a été employée pour quantifier l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase (GPx). Cette méthode repose sur la réduction du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) en présence de glutathion réduit (GSH), converti ensuite en GSSG sous l'influence de la GPx selon la réaction suivante :



### ➤ Mode opératoire :

- ❖ Prélevez 0,2 ml de l'homogénat.
- ❖ Ajoutez 0,4 ml de GSH (0,1 mM). Introduisez 0,2 ml de la solution tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7.4).
- ❖ Incubez au bain-marie à 25°C pendant 5 minutes.
- ❖ Ajoutez 0,2 ml de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1,3 mM) pour initier la réaction et laissez agir pendant 10 minutes.
- ❖ Introduisez 1 ml de TCA (1 %) pour arrêter la réaction.
- ❖ Placez le mélange dans la glace pendant 30 minutes.
- ❖ Centrifugez pendant 10 minutes à 3000 tours/minute.
- ❖ Prélevez 0,48 ml du surnageant.
- ❖ Ajoutez 2,2 ml de la solution tampon TBS.
- ❖ Introduisez 0,32 ml de DTNB (1 mM).
- ❖ Mélangez et, après 5 minutes, mesurez les densités optiques à 412 nm en comparaison avec le blanc.

### Calcul de l'activité enzymatique de la GPx (μM GSH/mg prot)

La détermination de l'activité enzymatique de la GPx se fait à l'aide de la formule suivante :

## MATERIEL ET METHODES

$$Q = \frac{(\text{DO échantillon} - \text{DO étalon}) \times 0.04}{\text{DO étalon}}$$

DO échantillon : Densité optique de l'échantillon.

DO étalon : Densité optique de l'étalon.

Q : Quantité de GSH disparue (oxydée).

0.04 : Concentration du substrat (GSH).

$$\text{L'activité de la GPx } (\mu\text{M GSH/min/mg protéines}) = \frac{Q}{\text{mg protéines}}$$

### 2.5.5. Dosage des protéines

#### ➤ Principe:

La méthode de **Bradford (1976)** utilise le bleu de Coomassie (G 250) comme réactif pour déterminer la concentration de protéines. Ce réactif forme un complexe bleu en réagissant avec les groupements amines ( $-\text{NH}_2$ ) des protéines. La couleur bleue reflète le degré d'ionisation dans le milieu acide, et l'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration des protéines.

#### ➤ Mode opératoire:

- ❖ Prélevez 0,1 ml de l'homogénat.
- ❖ Ajoutez 5 ml du réactif de Bradford.
- ❖ Agitez et laissez reposer pendant 5 minutes.
- ❖ Mesurez l'absorbance de l'échantillon à 595 nm en comparaison avec le blanc contenant de l'eau distillée à la place de l'homogénat.
- ❖ Rapportez la densité optique obtenue sur la courbe d'étalonnage (0 à 1 mg/ml de BSA) préalablement réalisée dans les mêmes conditions.

### 3. Analyse statistique des résultats

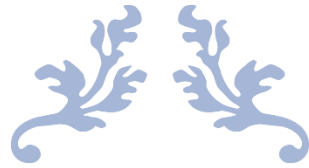
Les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  SD. L'analyse statistique a été effectuée avec le logiciel GraphPad Prism 9 pour Windows en utilisant le *t*-test appuyé par le test de Mann Whitney. Les différences significatives ont été considérées pour :

\*( $P < 0,05$ ) : Différence significative par rapport au témoin.

## MATERIEL ET METHODES

\*\*( $P < 0,01$ ) : Différence hautement significative par rapport au témoin.

\*\*\*( $P < 0,001$ ) : Différence très hautement significative par rapport au témoin.



# RÉSULTATS



## RESULTATS

### RESULTATS

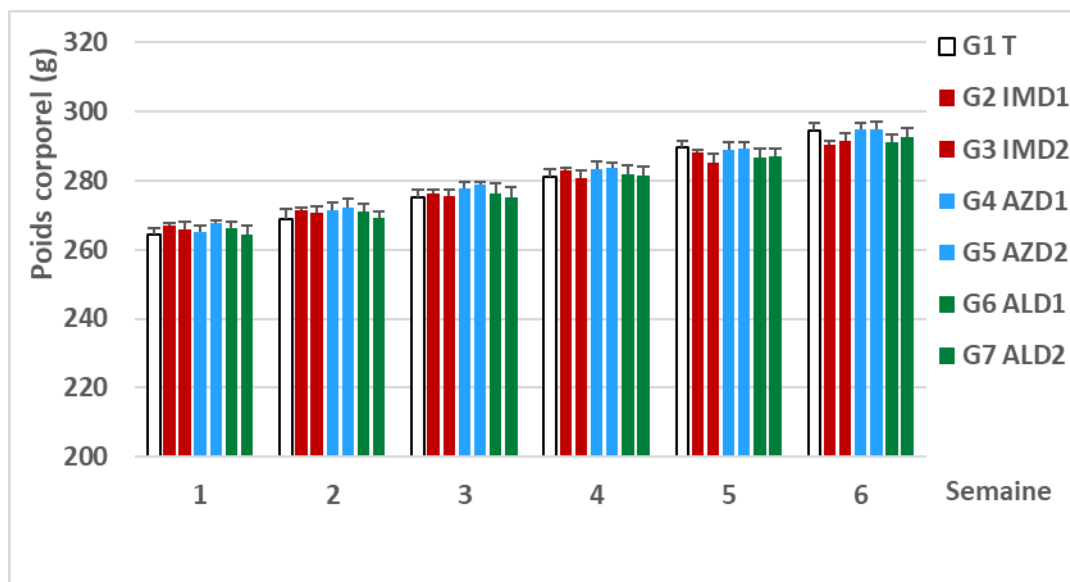
#### 1. Variation du poids corporel des rats (g)

Le suivi de la masse corporelle des animaux durant la période de traitement et dans nos conditions expérimentales indique que la consommation de l'aliment contenant l'Azadirachtine G2 et G3 a induit une diminution non significative ( $p > 0,05$ ) de la masse corporelle des rats après 6 semaines de traitement comparé au groupe témoin. Par contre, la masse corporelle des rats a été plus élevée par rapport au groupe témoin mais qui reste toujours non, même observation a été remarquée chez les autres groupes traités par l'Imidaclopride, ainsi que chez le groupe G4 traité par la forte dose de l'Azadirachtine (**Tableau 06**) et (**Figure 13**).

**Tableau 06.** Variation du poids corporel (g) des rats témoins (G1) et traités après 6 semaines de traitement ( $M \pm SD$ ,  $n = 8$ ).

Paramètres	Groupes		Groupes expérimentaux					
	Témoin		Rats traités par l'Imidaclopride		Rats traités par l'Azadirachtine		Rats traités par l'extrait aqueux de l'ail	
	G1 T		G2 IMD1	G3 IMD2	G4 AZD1	G5 AZD2	G6 ALD1	G7 ALD2
Masse initiale (g)	260,3 ± 4,979		260,4 ± 6,093	259,6 ± 6,948	261,6 ± 5,012	261,1 ± 6,266	259,7 ± 6,500	260,2 ± 7,100
Masse finale (g)	294,5 ± 6,782		294,8 ± 6,296	294,9 ± 7,200	286,6 ± 5,423	289,4 ± 5,208	294,3 ± 5,392	296,5 ± 6,698
Gain/Perte de poids (g)	34,2		34,4	32,3	25	28,3	34,6	36,3

## RESULTATS

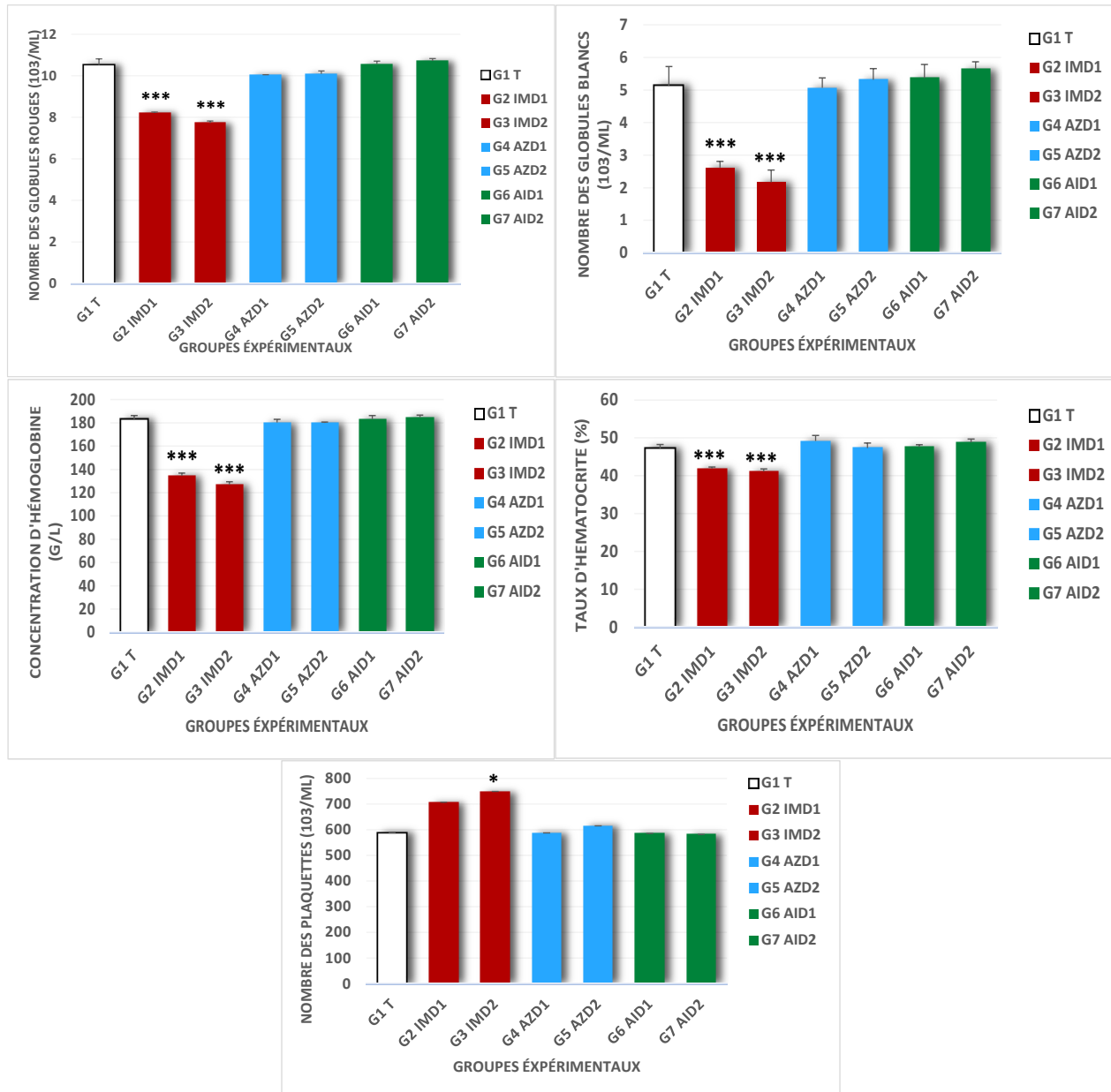


**Figure 13.** Variation la masse corporelle (g) des animaux comparés au groupe témoin durant la période de traitement ( $M \pm SD$ ,  $n = 8$ ).

### 2. Influences du pesticide chimique et les biopesticides utilisés sur les paramètres hématologiques.

Les résultats présentés dans le **les Figures 14** révèlent une diminution hautement significative ( $P < 0,001$ ) des globules rouges, des globules blancs, de l'hémoglobine et de l'hématocrite est chez les rats traités par l'Imidaclopride (G2 et G3) et une augmentation significative ( $P < 0,05$ ) dans du nombre des plaquettes chez les rats exposés à l'Imidaclopride à la forte dose comparé au groupe témoin après 6 semaines de traitement. Nous signalons toujours aucun changement significatif ( $P > 0,05$ ) dans les résultats des paramètres hématologiques étudiés chez les groupes des rats traités par les deux biopesticides, l'Azadirachtine et l'extrait aqueux de l'ail par rapport au groupe de rats non traités

## RESULTATS



**Figure 14.** Variation des paramètres hématologiques chez les rats témoins (T) et les rats traités après 6 semaines de traitement ( $M \pm SD$ ,  $n = 8$ ).

### 3. Influence du traitement sur la fonction hépatique

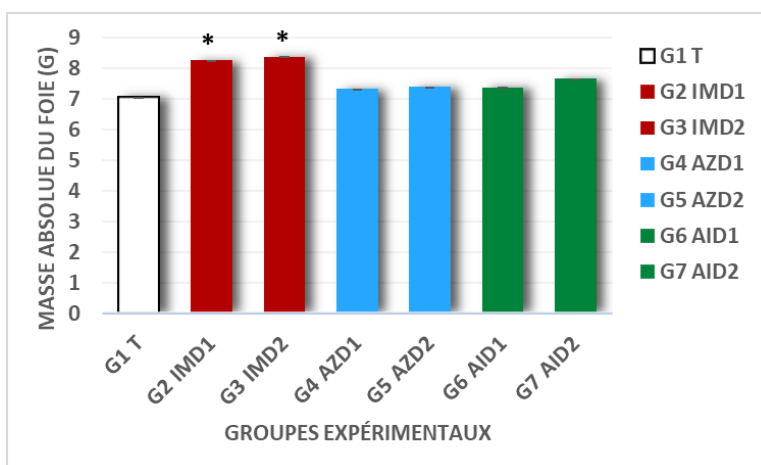
Afin de voir l'effet des pesticides utilisés sur la fonction hépatique, nous avons évalué la masse absolue du foie ainsi que l'activité enzymatique de l'ASAT, l'ALAT, PAL et la concentration sérique de l'Albumine et des protéines totales.

## RESULTATS

### 3.1. Variation de la masse absolue du foie (g)

Nos résultats montrent une augmentation significative ( $P < 0,05$ ) dans la masse absolue du foie (g) seulement chez les groupes traités par l'Imidaclopride par rapport au groupe témoin (**Figure 15**).

Concernant les résultats montrent que l'extrait aqueux de l'ail n'induit que des variations relativement limitées dans les paramètres biochimiques étudiés par rapport au groupe témoin (G1). Pour l'aspartate transaminase (ASAT), l'alanine transaminase (ALAT), la phosphatase alcaline (PAL), l'albumine (ALB) et les protéines totales (PT), les changements observés ne sont pas significatifs ( $P > 0,05$ ).

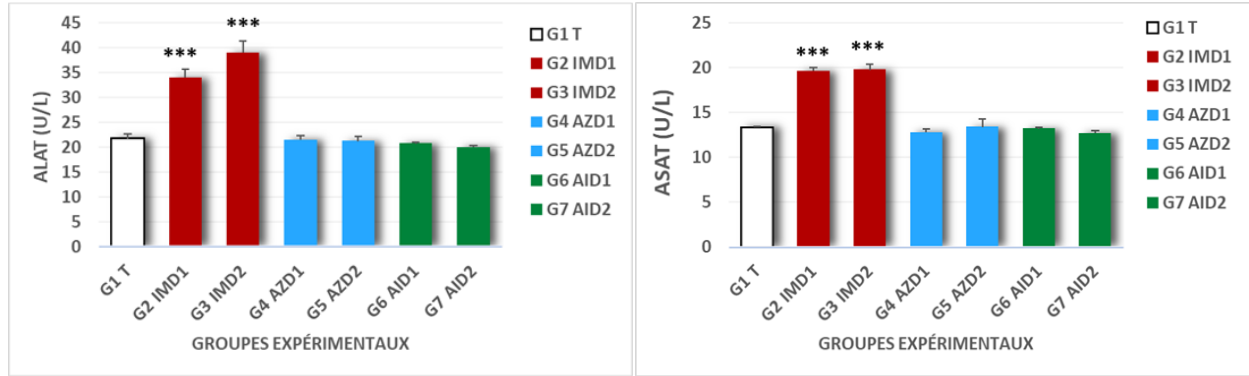


**Figure 15.** Variation de la masse absolue du foie (g) chez les rats témoins (T) et les rats traités après 6 semaines de traitement ( $M \pm SD$ ,  $n = 8$ ).

### 3.2. Effet sur l'activité des amino-transaminases (U/L)

Les résultats du **Figure 16** présentent les résultats des paramètres **l'activité des amino-transaminases** étudiés. Nous remarquons une augmentation hautement significative ( $P < 0.001$ ) chez les rats traités par l'Imidaclopride (G2 et G3), dans la concentration de l'aspartate transaminase (ASAT) et de l'alanine transaminase (ALAT) par rapport au groupe témoin. Le même tableau montre aucun changement significatif de l'ASAT ( $p > 0,05$ ) et une augmentation non significative ( $p > 0,05$ ) de l'ALAT dans les groupes traités par l'Azadirachtine, toujours comparativement au groupe témoin.

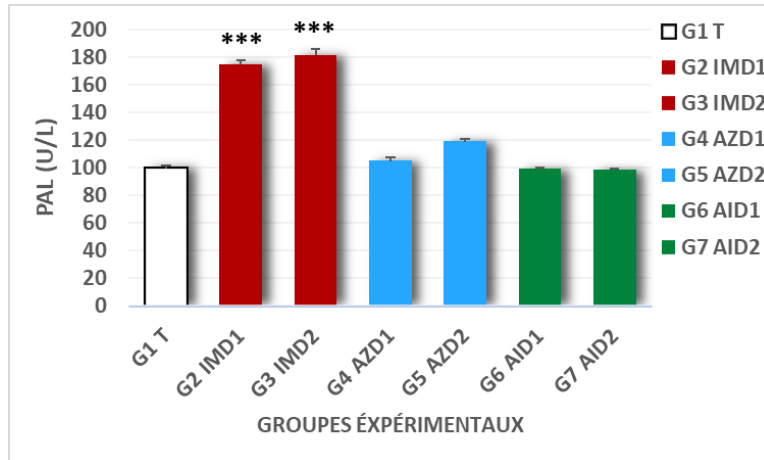
## RESULTATS



**Figure 16.** Variation de l'activité enzymatique des transaminases (ASAT et ALAT) (U/l) chez les groupes des rats après 6 semaines de traitement ( $M \pm SD$ ,  $n = 8$ ).

### 3.3. Effet sur l'activité enzymatique de la phosphatase alcaline (U/L)

En ce qui concerne l'activité enzymatique de la phosphatase alcaline (PAL), les résultats obtenus indiquent une augmentation significative ( $P < 0.05$ ) chez les rats traités par l'Azadirachtine (G5) et très hautement significative ( $P < 0.001$ ) chez les rats traités par l'Imidaclopride (G2 et G3) par rapport au groupe témoin.



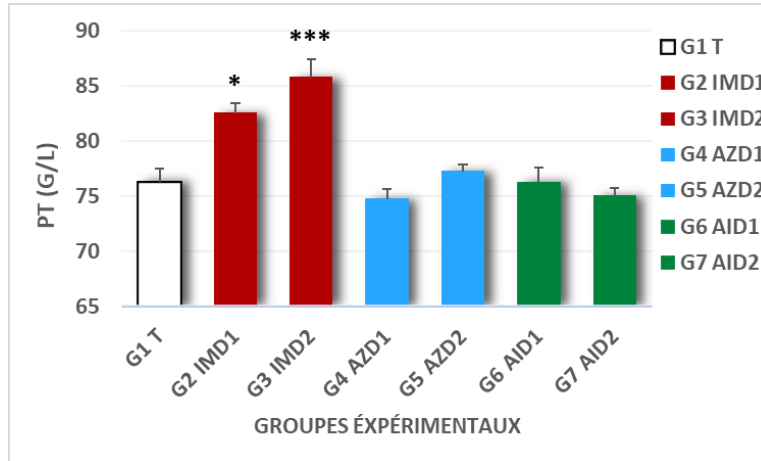
**Figure 17.** Variation de l'activité enzymatique du PAL chez les groupes des rats après 6 semaines de traitement ( $M \pm SD$ ,  $n = 8$ ).

### 3.4. Effet sur la concentration sérique en protéines totales (g/L) et en albumine (g/dl)

En ce qui concerne les protéines totales (PT), une augmentation significative et hautement significative de la concentration sérique en protéines totales dans les groupes G2 et G3 traités avec l'Imidaclopride. En revanche, une diminution hautement significative de la concentration

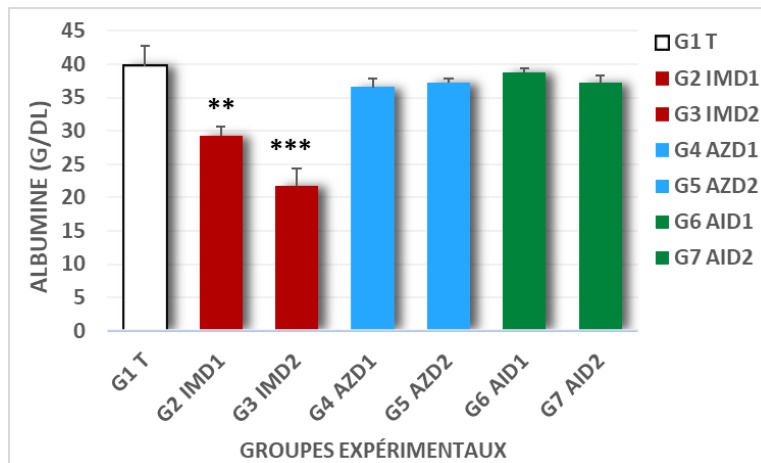
## RESULTATS

sérique en albumine est observée chez ces deux groupes de rats traités, tandis qu'aucun changement significatif n'est enregistré dans les autres groupes traités par rapport au groupe témoin.



**Figure 18.** Variation de la concentration sérique des protéines totales chez les groupes des rats après 6 semaines de traitement ( $M \pm SD$ ,  $n = 8$ ).

Pour l'albumine (ALB), une diminution significative ( $P < 0.01$ ) chez le groupe (G2) et hautement significative ( $P < 0.001$ ) est enregistrée chez les rats traités par l'Imidaclopride à la dose la plus élevée (G3) par rapport au groupe témoin. En revanche, aucun changements significatifs ( $P < 0,05$ ) chez les autres groupes traités par rapport au groupe témoin.



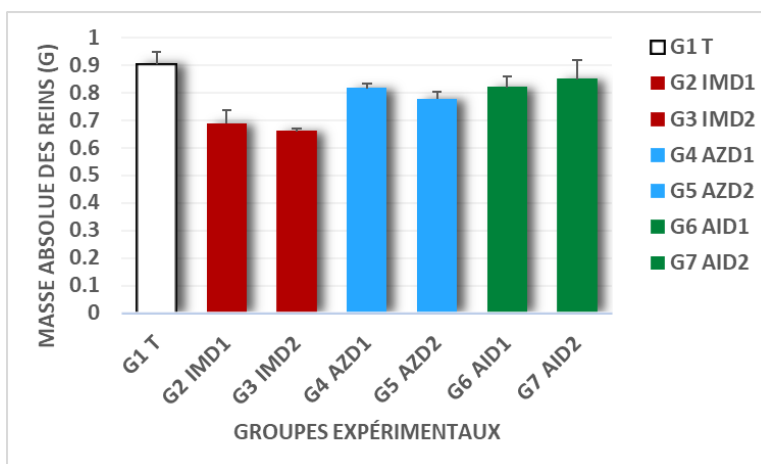
**Figure 19.** Variation de la concentration sérique de l'Albumine chez les groupes des rats après 6 semaines de traitement ( $M \pm SD$ ,  $n = 8$ ).

## RESULTATS

### 4. Effets du traitement sur la fonction rénale.

#### 4. 1. Variation de la masse absolue du rein (g)

L'analyse de la masse du rein dans les différents groupes expérimentaux révèle une diminution significative ( $P < 0.05$ ) chez le groupe G5 traité par l'Azadirachtine en comparaison au groupe témoin. Une diminution très hautement significative ( $P < 0.001$ ) de la masse des reins a été enregistrée chez les groupes G2 et G3 traités par l'Imidaclopride toujours comparé au groupe témoin. Le groupe traité par l'Azadirachtine (G4) et les groupes traités par l'extrait aqueux de l'ail ne montrent pas de changements significatifs ( $P < 0.05$ ) par rapport au groupe témoin (G1)

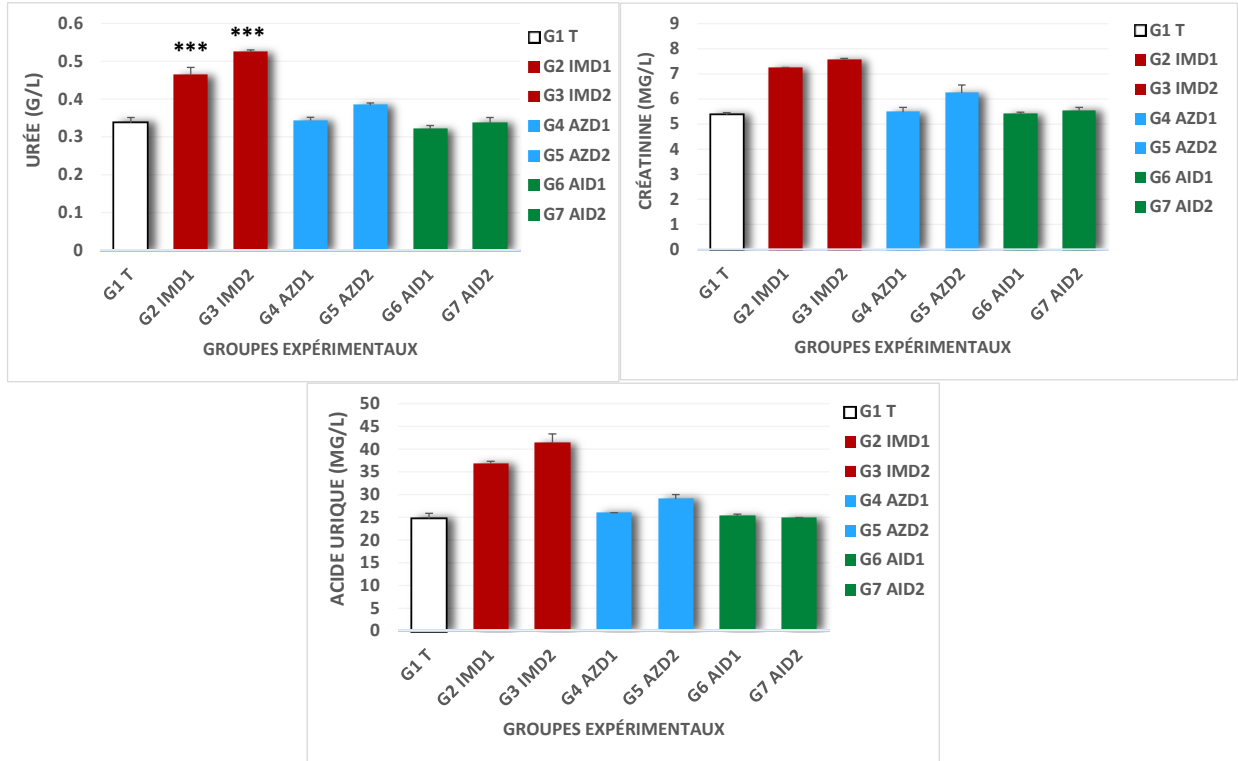


**Figure 20.** Variation de la masse absolue des reins (g) chez les groupes des rats après 6 semaines de traitement ( $M \pm SD$ ,  $n = 8$ ).

#### 4.2. Effet sur les marqueurs rénaux.

Les résultats de la **figure 21** révèlent une augmentation hautement significative ( $P < 0.001$ ) de l'urée dans les groupes G2 et G3 traités par l'Imidaclopride. Par ailleurs, une augmentation hautement significative ( $P < 0.001$ ) de la créatinine est observée dans les groupes traités par l'Imidaclopride, ainsi que dans le groupe G4 traité avec la forte dose d'Azadirachtine ( $P < 0.05$ ). Le taux d'acide urique augmente de manière significative chez les rats traités par l'Imidaclopride (G2) à ( $P < 0.01$ ) et (G3) à ( $P < 0.001$ ), L'augmentation de ce marqueur chez le groupe G5 traité par l'Azadirachtine est également significative ( $P < 0.05$ ) comparativement aux rats témoins. Par contre, aucun changement significatif de ces paramètres chez les groupes traités par l'extrait aqueux G6 et G7 de l'ail et chez le groupe traité par la faible dose de l'Azadirachtine G4.

## RESULTATS



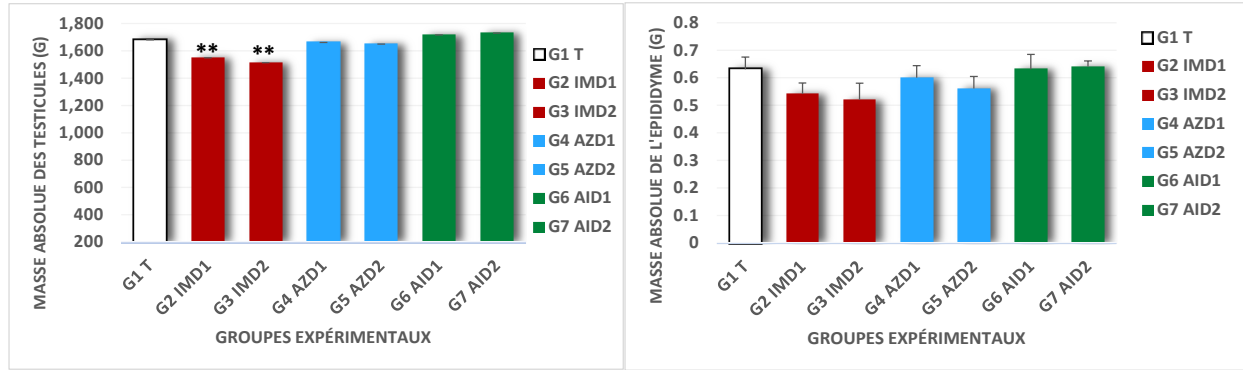
**Figure 21.** Variation des paramètres biochimiques de la fonction rénale chez les groupes des rats après 6 semaines de traitement ( $M \pm SD$ ,  $n = 8$ ).

### 5. Influence du traitement sur la reproduction.

#### 5.1. Variation de la masse absolue des testicules (g)

Les résultats de la masse des testicules et des épидидymes indiquent que les groupes traités par l'Azadirachtine (G4 et G5) et les groupes traités par l'extrait aqueux de l'ail (G6 et G7) ne montrent aucune variation significative chez les animaux traités par rapport au groupe témoin (G1). En revanche, les rats traités par l'Imidaclopride (G2 et G3) montrent une diminution hautement significative ( $P < 0,001$ ) de la masse du testicule.

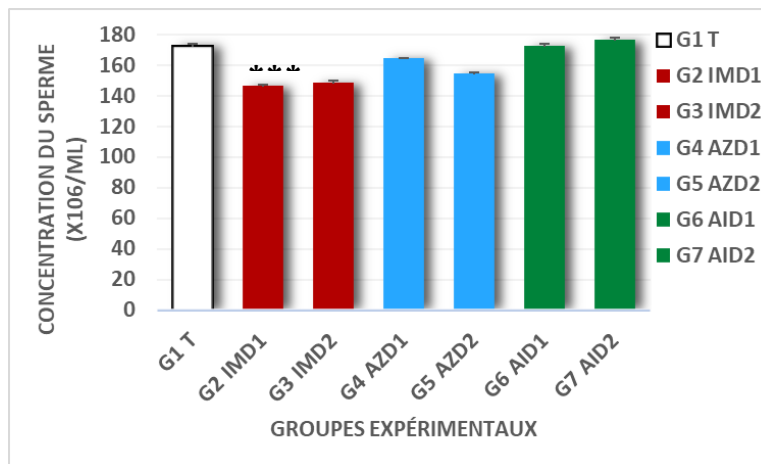
## RESULTATS



**Figure 22.** Variation de la masse absolue du testicule et de l'épididyme (g) chez les groupes des rats après 6 semaines de traitement ( $M \pm SD$ ,  $n = 8$ ).

### 5.2. Variation de la concentration des spermatozoïdes ( $\times 10^6/\text{ml}$ )

Les résultats présentés dans la **Figure 23** indiquent une diminution hautement significative ( $P < 0.001$ ) de la concentration des spermatozoïdes dans les groupes traités par l'Imidaclopride (G2 et G3), l'Azadirachtine à dose élevée (G5), avec une diminution significative ( $P < 0.05$ ) chez le groupe traité par l'Azadirachtine à la dose faible (G4) par rapport au groupe témoin. Cependant, les groupes traités avec l'extrait aqueux de l'ail (G6, G7) ne présentent pas de changement significatif.

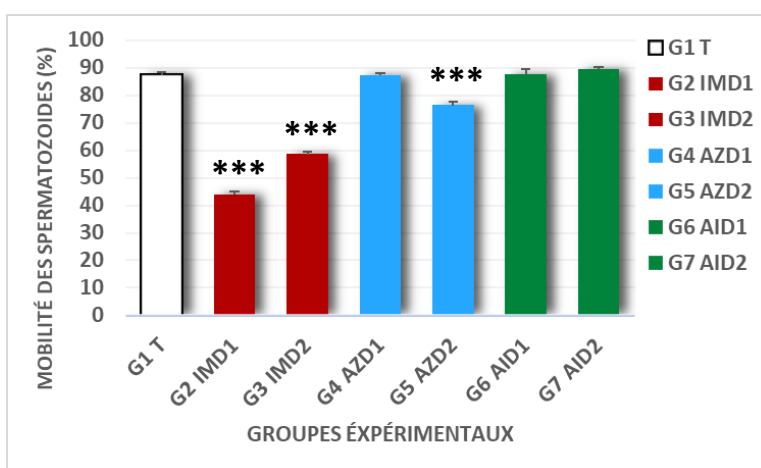


**Figure 23.** Variation de la concentration des spermatozoïdes ( $\times 10^6/\text{ml}$ ) chez les groupes des rats après 6 semaines de traitement ( $M \pm SD$ ,  $n = 8$ ).

## RESULTATS

### 5.3. Variation de la mobilité des spermatozoïdes (%)

Les résultats obtenus de la mobilité des spermatozoïdes révèlent une diminution très hautement significative ( $P < 0.001$ ) de la mobilité des spermatozoïdes chez les groupes exposés aux 2 doses l'Imidaclopride (G2 et G3) ainsi que le groupe G4 traité à la forte dose de l'**Azadiracthine** (G5) par rapport au groupe des animaux non traités. Concernant, les groupes traités à l'extrait aqueux de l'ail (G6 et G7) ainsi que le groupe G5 traité par traité par la faible dose de l'Azadiracthine, aucun changement significatif dans la mobilité des spermatozoïdes toujours comparé au groupe témoin.

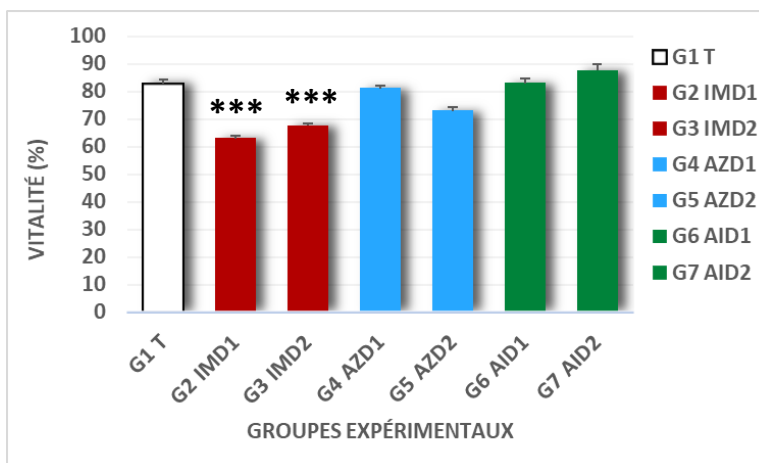


**Figure 24.** Variation de la mobilité des spermatozoïdes (%) chez les groupes des rats après 6 semaines de traitement ( $M \pm SD$ ,  $n = 8$ ).

### 5.4. Variation de la vitalité (%) des spermatozoïdes

Les résultats du (**Figure 25**) indiquent une diminution hautement significative ( $P < 0.001$ ) de la vitalité des spermatozoïdes chez les groupes exposés à l'Imidaclopride aux 2 doses utilisées comparativement au groupe témoin. Cependant, les autres groupes traités par l'Azadiracthine et l'extrait aqueux de l'ail ne montrent pas de changement significatif de la vitalité des spermatozoïdes comparés au groupe témoin.

## RESULTATS

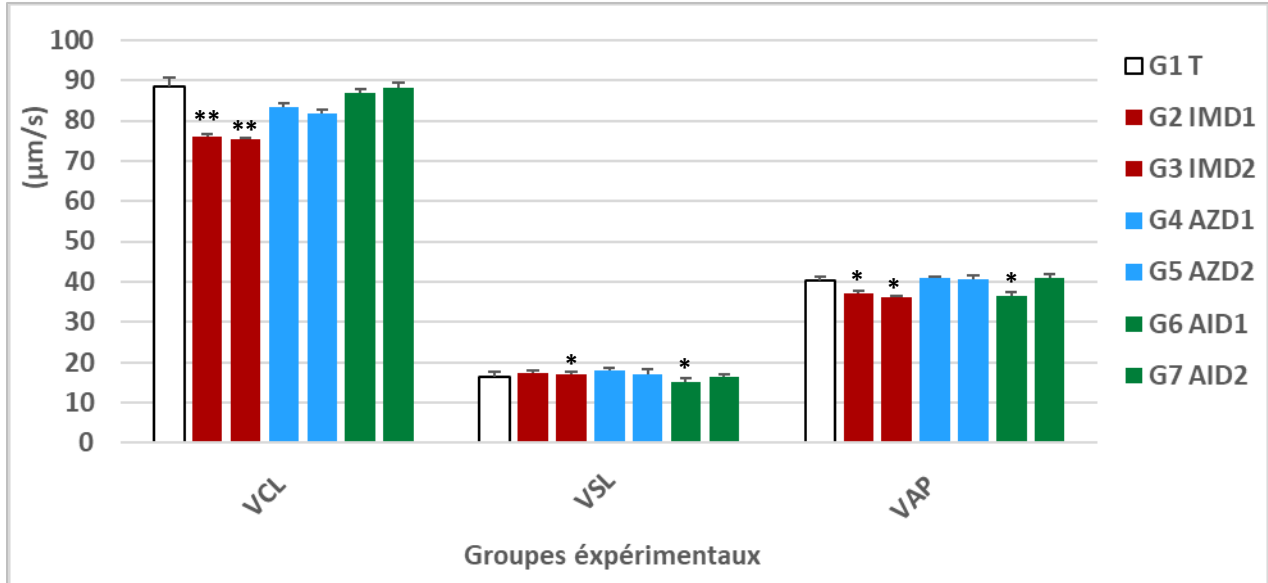


**Figure 25.** Variation de la vitalité des spermatozoïdes (%) chez les groupes des rats après 6 semaines de traitement ( $M \pm SD$ ,  $n = 8$ ).

### 5.5. Variation de la vitesse du sperme ( $\mu\text{m/s}$ )

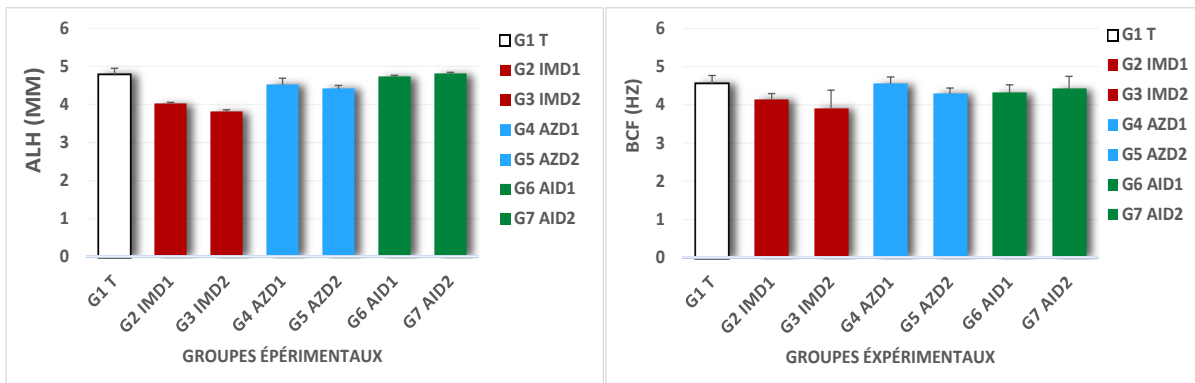
- **VCL (Curvilinear velocity)** : Une diminution hautement significative ( $P < 0.01$ ) est enregistrée dans la VCL chez les groupes traités par l'Imidaclopride, tandis qu'aucun changement significatif n'est noté dans les groupes traités par l'Azadirachtine et l'extrait aqueux de l'ail par rapport au groupe témoin.
- **VSL (straight-line velocity)** : Une diminution significative de la VSL ( $P < 0.05$ ) est constatée uniquement chez les rats traités par la dose la plus élevée de l'Imidaclopride (G3). Tandis que les rats traités à l'Azadirachtine (G5), et à l'extrait aqueux de l'ail, aucun changement significatif n'a été observé par rapport au témoin.
- **VAP (Average path velocity)** : L'administration de l'Imidaclopride- et l'Azadirachtine à la forte dose a entraîné une diminution significative ( $P < 0.05$ ) du VAP, tandis que l'ingestion de l'extrait aqueux de l'ail n'a pas d'effet comparé au groupe témoin.

## RESULTATS



**Figure 26.** Variation de la vélocité des spermatozoïdes ( $\mu\text{m/s}$ ) chez les groupes des rats après 6 semaines de traitement ( $M \pm SD$ ,  $n = 8$ ).

- **ALH (Amplitude de la tête latérale) ( $\mu\text{m}$ )** : Les résultats montrent une diminution significative ( $P < 0.05$ ) de l'amplitude latérale de la tête des spermatozoïdes dans les groupes traités par l'Imidaclopride et la forte dose d'Azadirachtine (G5), avec aucun changement significatif n'a été enregistré dans les groupes G6 et G7 par rapport au témoin.
- **BCF (Beat cross frequency) (Hz)** : Les résultats du BCF révèlent que ce marqueur n'a pas été significativement modifié dans les autres groupes traités.

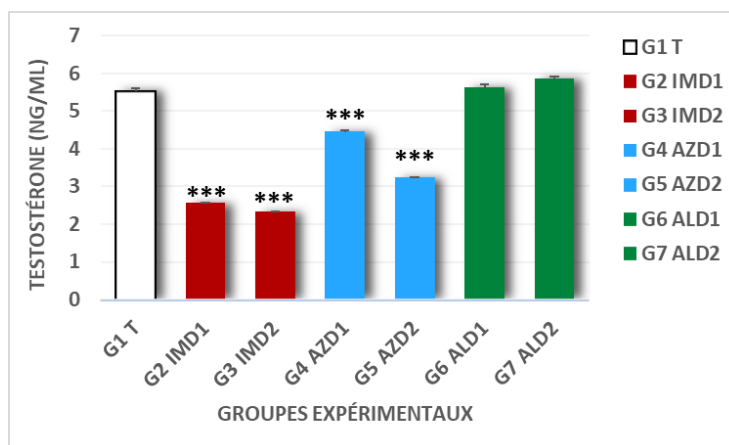


**Figure 27.** Variation de l'amplitude latérale de la tête des spermatozoïdes ( $\mu\text{m}$ ) et du Beat cross frequency : fréquence à laquelle la tête traverse le milieu de la trajectoire (Hz) chez les groupes des rats après 6 semaines de traitement ( $M \pm SD$ ,  $n = 8$ ).

## RESULTATS

### 5.2. Influence du traitement sur la concentration sérique de la Testostérone (ng/ml)

Les résultats du dosage hormonal du testostérone indiquent une diminution hautement significative ( $P < 0.001$ ) chez les groupes des rats traités par l'Imidaclopride et l'Azadirachtine par rapport au groupe témoin. Par contre, aucun changement significatif chez les groupes traités par l'extrait aqueux de l'ail toujours comparé qu groupe témoin (**Figure 28**).



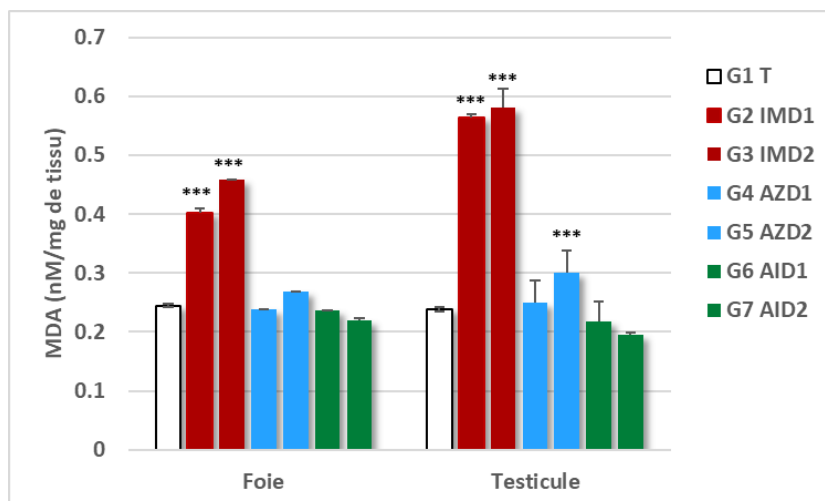
**Figure 28.** Variation de la concentration sérique du testostérone (ng/ml) chez les groupes des rats après 6 semaines de traitement ( $M \pm SD$ ,  $n = 8$ ).

## 6. Influence du traitement sur les marqueurs du stress oxydant.

### 6.1. Influence du traitement sur le malondialdéhyde (MDA) (nM/mg de tissu)

L'évaluation des niveaux de malondialdéhyde (MDA) dans les tissus du foie et des testicules révèle des variations significatives entre les groupes expérimentaux. Dans le foie, les groupes traités par les différentes doses d'Imidaclopride (G2 et G3) présentent une augmentation hautement significative ( $P < 0,001$ ) du taux de MDA par rapport au groupe témoin (G1). Dans le tissu testiculaire, une augmentation très hautement significative ( $P < 0,001$ ) du MDA est enregistrée chez les groupes traités par Imidaclopride (G2 et G3) ainsi que chez les rats traités par la dose élevée d'Azadirachtine (G5) par rapport au groupe témoin. Le groupe G4 traité par l'Azadirachtine et les groupes traités par l'extrait aqueux de l'ail (G6 et G7) ne montrent pas des changements significatifs par rapport au groupe témoin.

## RESULTATS



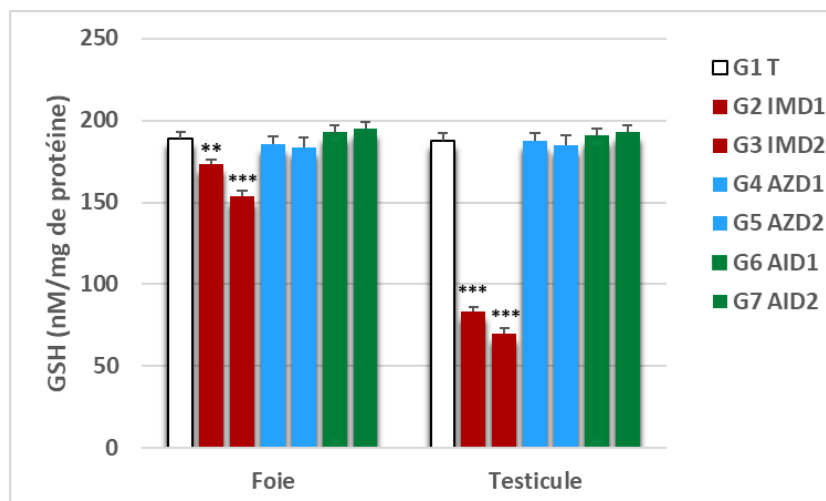
**Figure 29.** Taux du malondialdéhyde (nM/mg de tissu) dans le foie et les testicules chez les rats témoins (T) et traités après 6 semaines de traitement ( $M \pm SD$ ,  $n = 8$ ).

### 6. 2. Influence du traitement sur la concentration du glutathion tissulaire (GSH) dans le foie et le testicule (nM/mg prot)

La concentration du glutathion tissulaire (GSH), a montré que le traitement par l'Imidaclopride aux doses utilisées a entraîné une diminution du glutathion tissulaire. On note une diminution hautement significative ( $P < 0.01$ ) et très hautement significative ( $P < 0.001$ ) de la teneur en glutathion au niveau du foie chez les groupes traités par l'Imidaclopride G2 et G3 successivement.

Dans le testicule, une diminution très hautement significative ( $P < 0.001$ ) de la concentration du glutathion chez les deux groupes traités par l'Imidaclopride (G2 et G3). Les groupes traités par l'Azadirachtine, la concentration de GSH a diminué d'une manière non significative ( $P > 0.05$ ). Par contre, la concentration du glutathion tissulaire chez les différents groupes traités par l'extrait aqueux de l'ail (G6, et G7) a été n'a montré aucune différence significative (**figure 30**).

## RESULTATS

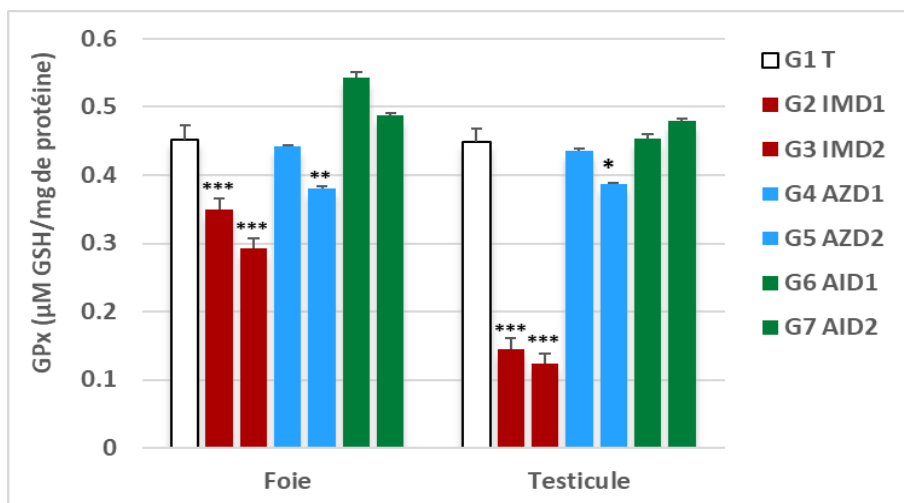


**Figure 30.** Concentration du glutathion (nM/mg prot) dans le foie et les testicules chez les rats témoins (T) et après 6 semaines de traitement ( $M \pm SD$ ,  $n = 8$ ).

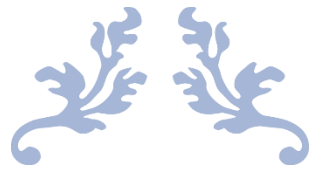
### 6.3. Influence du traitement sur l'activité des enzymes antioxydantes (glutathion peroxydase GPx) ( $\mu\text{M GSH/mg prot}$ )

L'analyse de l'activité de l'enzyme GPx tissulaire révèle une diminution significative ( $P < 0.05$ ) au niveau du testicule et hautement significative ( $P < 0.01$ ) au niveau du foie chez le groupe traité par l'Azadirachtine (G5). L'activité enzymatique de la GPx est diminuée dans les tissus d'une manière très hautement significative ( $P < 0.001$ ) chez les groupes traités par l'Imidaclopride par rapport au groupe témoin. Par contre, le traitement par l'extrait aqueux de l'ail a augmenté la GPx tissulaire d'une façon non significative toujours comparé au groupe témoin.

## RESULTATS



**Figure 31.** Variation de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase ( $\mu\text{M GSH/mg prot}$ ) dans le foie et le testicule chez les rats témoins (T) et traités après 6 semaines de traitement ( $M \pm \text{SD}$ ,  $n = 8$ ).



# DISCUSSION



### DISCUSSION

Les pesticides jouent un rôle majeur dans la production alimentaire. Ils permettent de préserver ou d'accroître les rendements des cultures. En plus, les pesticides ont pour avantage de maximiser les rendements des exploitations agricoles et la qualité des produits, de minimiser la main d'œuvre, de répondre aux exigences en matière de préservation des végétaux. La protection des cultures à l'aide des pesticides appelés aussi produits phytopharmaceutiques est donc un des moyens pour l'agriculteur de lutter contre les ravageurs et les ennemis des cultures, elle vise plutôt à limiter les pertes. Le niveau de pertes engendré par les nuisibles sur une production agricole peut être très important, Par exemple en riziculture, les pertes enregistrées peuvent dépasser 80% (**Batsch, 2011**). Ainsi, leur application s'est tellement répandue que l'on estime désormais à 2,5 millions de tonnes, la quantité de pesticides utilisés sur les cultures de la planète. Or, moins de 0,3 % des pesticides utilisés entrent réellement en contact avec les parasites visés (**Mylène, 2020**), alors qu'environ 400 produits phytosanitaires sont homologués en Algérie, dont une quarantaine de variétés sont largement utilisées par les agriculteurs (**Bouziyani, 2007**). Nous rappelons aussi que Depuis sa naissance dans les années 1960, le concept d'IPM (Integrated Pest Management, protection intégrée des cultures) a visé, entre autres, à rationaliser et à réduire l'usage des produits chimiques contre les organismes nuisibles des cultures. Mais pourtant, 60 ans plus tard, la quantité de pesticides utilisés au niveau mondial continue d'augmenter

Au fil des années, il a été constaté que les pesticides ne rendent pas l'agriculture plus rentable. Au contraire, ils empoisonnent les sols et dégradent leur qualité. En plus, des études scientifiques réalisées à travers le monde affirment ce lien entre pesticides et risques sur l'homme et l'environnement. Suite l'utilisation intensive des produits phytosanitaires et leurs effets néfastes ont conduit à un regain d'intérêt aux méthodes alternatives de lutte dont l'usage des « biopesticides », respectueux de l'environnement (**Laghchimi et al, 2014**). Le développement des biopesticides, notamment ceux d'origine végétal, pour le contrôle des maladies des plantes a évolué ces dernières années. Bien que l'usage des biopesticides végétaux demeurent en grande partie basé sur des huiles essentielles non miscible dans l'eau et difficile à appliquer comme formulation phytosanitaire sur un couvert

## DISCUSSION

végétal. En outre, l'usage des extraits et préparations naturels des plantes pour traitement phytosanitaire est timidement utilisés en agriculture biologique sur des bases non standardisés et sans conformités aux réglementations en vigueur (**Chandler et al, 2011**).

Le développement des biopesticides, notamment ceux d'origine végétal, pour le contrôle des maladies des plantes a évolué ces dernières années. Bien que l'usage des biopesticides végétaux demeurent en grande partie basé sur des huiles essentielles non miscible dans l'eau et difficile à appliquer comme formulation phytosanitaire sur un couvert végétal.

Dans ce contexte, cette étude vise en premier lieu à évaluer la toxicité d'un insecticide chimique Imidaclopride puis la comparer vis-à-vis d'un bio-insecticide végétal commercial isolé du Neem (*Azadirachta indica*) et de l'extrait aqueux d'ail sur plusieurs paramètres physiologiques notamment l'activité hépatique, l'activité rénal et la reproduction et le stress oxydatif chez le rat *Wistar* male après un traitement d'une période subchronique de 6 semaines.

### 1. L'étude de l'hépatotoxicité du pesticide chimique et les biopesticides utilisés

Le foie est l'organe qui élimine les produits toxiques qui circulent dans le sang. Il assure aussi de très nombreuses fonctions très importantes dont, essentiellement la fonction métabolique, la fonction de détoxification et la fonction de sécrétion et d'excrétion biliaire. Il métabolise tous les produits chimiques que le corps rencontre, y compris les xénobiotiques. La santé du foie est essentielle parce que tout ce qui l'affecte se transmet très rapidement aux autres organes (**Ceni et al, 2014**). En plus, la susceptibilité des tissus hépatiques au stress est due à l'exposition aux pesticides et en fonction de l'équilibre global entre le degré de stress oxydatif et la capacité antioxydante

Les transaminases (ou aminotransférases) catalysent la réaction de transfert d'un groupe amine d'un acide aminé. Le groupe amine est transféré soit de l'acide aspartique, soit de l'alanine à l'acide  $\alpha$ cétoglutarique (**Kim et al, 2008**). Elles ont donc une grande importance dans le cycle du citrate. L'alanine aminotransferase (ALT) encore appelée sérum glutamatepyruvate transaminase (SGPT) est une enzyme exclusivement cytoplasmique. L'alanine aminotransférase (ALT = GPT) se trouve essentiellement dans les hépatocytes, elle est donc un marqueur très spécifique d'une atteinte hépatocellulaire. En plus, parmi les pesticides nous trouvons 59 substances (55 %) et 69 produits (75 %) sont hépatotoxiques (**Nakamura, 2020**).

#### 1.1. L'effet du pesticide chimique et les biopesticides utilisés sur le poids du foie

## DISCUSSION

Les résultats de la présente étude montrent une augmentation significative du poids du foie chez les groupes traités par la dose la plus forte d'imidaclopride par rapport groupe témoin. Des études ont également montré que l'exposition à l'imidaclopride peut perturber les processus métaboliques, ce qui peut affecter la capacité des rats à utiliser les nutriments et à maintenir un poids sain (**Farag et al., 2020**). Tandis qu'une autre étude sur l'hépatotoxicité de l'Imidaclopride a mentionné que l'administration la dose de 20 mg/kg d'imidaclopride pendant 90 jours a provoqué une augmentation statiquement non significative ( $P > 0.05$ ) du poids relatif du foie, cette augmentation est due probablement à la sécrétion massive des enzymes au cours de la détoxification (**Bhardwaj et al, 2010**).

Cependant, le poids du foie chez les groupes traités par Azadirachtine et l'extrait aqueux de l'ail, aucun changement n'a été enregistré par rapport au groupe control. Ceci concorde parfaitement avec les résultats de **Baligar et al. (2014)** en traitant les rats par d'Azadirachtine-A aux doses de 500, 1000 ou 2000 g/kg de poids corporel pendant seulement 14 jours. Par contre, **Deng et al. (2013)**, ont trouvé que le traitement des rats et souris par voie orale aux doses 0,2 et 0,3 g/kg d'huile de neem pendant 28 jours n'a montré aucun changement significatif dans le poids du foie. Une autre recherche a indiqué que l'administration de l'extrait de feuille de Neem oralement pendant sept jours, a provoqué une légère augmentation chez le groupe traité par la forte dose par rapport au groupe témoin (**El-Hawary & Kholief, 1990**), les auteurs expliqué cette variation du poids du foie n'est pas causée par d'extrait de neem (**Park et al., 2014**). Ceci est peut-être expliqué par la détoxification hépatique qui transforme les substances toxiques en dérivés capables d'être éliminés facilement par l'organisme, dans les selles ou dans les urines (**Samir et al., 2009 ; Hassan et al, 2019**).

### 1.2. Effets des pesticides chimiques et biologiques utilisés sur les paramètres de l'activité hépatique

Concernant les quatre paramètres étudiés pour vérifier la fonction hépatique, nous avons enregistré une augmentation dans les transaminases l'ASAT, ALAT et l'activité enzymatique du PAL pour l'insecticide chimique, l'Imidaclopride. Des recherches bien avancées ont montré que les pesticides peuvent provoquer l'endommagement du foie par l'augmentation des taux sanguins en transaminases ainsi que la phosphatase alcaline (**Garg et al, 2009 ; Yahia ,2016**). D'autres résultats ont montré que l'administration des pesticides a causé une augmentation

## DISCUSSION

significative des niveaux sériques des transaminases, et ceux-ci suggérant que l'utilisation excessive de cet insecticide peut être causé des dommages critiques au foie. Ceci pourrait résulter de l'hépatotoxicité qui mène à l'altération de la perméabilité de la membrane plasmique, facilitant donc la fuite des enzymes du tissu vers le plasma (**El-Demerdash et al, 2012 ; Yahia ,2016**). Rappelons aussi que, les mesures des activités enzymatiques de foie sont utilisées dans le diagnostic et l'évaluation de l'affection hépatique (**Kim et al, 2008**). Des transaminases élevées peuvent refléter une atteinte hépatocellulaire (**Overbeck-Rezaeiana et Beat Helbling, 2014**). D'autres études ont montrés que les taux élevés des enzymes hépatiques, ALAT et ASAT, après traitement aux pesticides peuvent refléter des lésions hépatiques et une stéatose hépatique (**Mehri et al, 2016**). L'élimination des substances dangereuses du sang est effectuée par le foie (**Shaheamlung et al., 2020**). Elle remplit également un large éventail d'autres fonctions, notamment le métabolisme, la désintoxication, la sécrétion et l'excrétion biliaire. Toute substance qui entre en contact avec le corps, y compris les pesticides, se décompose sous son effet. Le fonctionnement du foie est crucial car tout ce qui l'affecte se propage rapidement à d'autres organes. De plus, l'équilibre entre le niveau de stress oxydatif et la capacité antioxydante détermine le degré dans lequel les tissus hépatiques sont vulnérables au stress causé par l'exposition aux pesticides (**Del Vesco et al., 2017**). En raison du fait que le foie joue un rôle important dans le métabolisme et la désintoxication, des enzymes sanguines telles que l'alanine aminotransférase (ALT) et l'aspartate aminotransférase (AST) ont été utilisées pour évaluer le niveau de lésions hépatiques (**Duzguner & Erdogan, 2010**). Les AST et les ALT sont sécrétés dans la circulation sanguine après la mort cellulaire et les blessures. L'augmentation de l'activité sanguine est liée à leur sécrétion (**Ozaki et al., 1997**). L'AST et l'ALT en particulier, qui sont largement dispersés dans le foie, sont libérés dans le sang en raison d'anomalies dans les cellules ou les tissus causées par des troubles hépatiques, tels que la maladie hépatique grasse et l'hépatite (**Park et al., 2014**).

Concernant la concentration sérique de l'albumine, nous avons enregistré une diminution significative chez les groupes G2 et G3 traités avec l'Imidaclopride aux doses 1/15 et 1/30 de la DL50 comparés au groupe des animaux non traités. Cette diminution n'est pas significative chez les groupes traités à l'extrait de l'ail en comparaison toujours avec le groupe témoin. Sachant que l'albumine est une protéine sérique synthétisée par le foie et son niveau sérique dépend de certains facteurs tels que l'état nutritionnel, la fonction hépatique et les facteurs hormonaux

## DISCUSSION

(Limdi & hyde, 2003 ; Yahia, 2016). Plusieurs études ont montré que la réduction des protéines plasmatiques était liée à l'intoxication par les différents résidus de pesticides (Yousef et al, 2006 ; Yahia, 2016).

Des recherches ont révélé que l'ail cru atténuait les dommages au foie indiqué par la baisse des taux sériques d'ALAT et d'ASAT de 20 patients alcooliques ont été recrutés et ont reçu environ 2,4 g de bulbes d'ail crus par jour le matin pendant 45 jours (Colin,2016). Contrairement à nos résultats, nous citons l'étude de Douaouya (2009), qui ont utilisés 28 rats puis traités par l'extrait d'ail chaque jour par voie orale à deux différentes concentrations 250 mg et 500 mg/kg du poids corporel. Les résultats obtenus ont indiqué une augmentation des activités des transaminases (ALAT, ASAT) ainsi que la phosphatase alcaline (PAL).

Contrairement à nos résultats, une étude a démontré que chez des rats mâles de souche *Wistar* adultes traités par l'extrait aqueux de l'ail à la dose (p/p) 2 %) pendant 4 semaines a provoqué la diminution de phosphatase alcaline sérique (Ahmed & Sharma ,1997). Ceci a été expliqué probablement par une augmentation de la nécrose cellulaire due à la toxicité du pesticide utilisé (Hazira et al 2020).

Une étude sur l'activité enzymatique antioxydante et l'état oxydatif de l'extrait aqueux de l'ail chez les rats mâles *Wistar* albinos qui ont reçu 500 mg/kg de l'extrait aqueux de l'ail de poids corporel par voie orale pendant 13 jours consécutifs. Aucun changement dans le poids corporel n'a été observé, cependant, une réduction du poids du foie a été notée (Noori et al., 2012).

Selon les résultats de Dafalla et al. (2012), une enquête préliminaire a été menée sur les effets de l'extrait aqueux de noyau de semence *Azadirachta indica* sur les rats albinos *Wistar*. L'activité de l'enzyme ALT dans le plasma an augmenté de manière significative chez les rats qui ont participé à l'étude de toxicité aiguë et ont reçu des doses de 80 et 130 mg/kg de poids corporel pendant une période de 14 jours. Dafalla et al. (2015) dans une étude de toxicité sous aiguë, 0,5 mg/kg de poids corporel par jour a été administré aux rats pendant six semaines. Ces résultats suggèrent que l'extrait aqueux du noyau de semences de neem an une toxicité hépatorénale dose-dépendante car aucune modification significative n'a été significative n'a été observée (Dafalla et al., 2012). Des recherches supplémentaires sont nécessaires pour déterminer les facteurs sous-

## DISCUSSION

jacents à ces constatations et évaluer les risques potentiels associés à la consommation de produits de neem à long terme.

En effet, dans une étude précédente, Azadirachtine a été administré par voie orale à des rats pendant 60 jours à des doses de 0, 5, 1,5 et 4,5 mg/kg, l'AST an augmenté considérablement mais l'ALT n'a pas augmenté (**Gupta et al., 1998**), et quand le produit de neem (vepacid) a été administré à des souris albinos mâles pendant 90 jours à des doses de 0, 08, 0, 16 et 0, 32 mg/ kg (**Rahman et al., 2001**). Ces résultats indiquent que les effets d'Azadirachtine sur les enzymes hépatiques peuvent varier en fonction de la dose et de la durée de l'exposition.

Notre recherche est cohérente avec une étude récente menée pour évaluer l'effet hépatotoxique d'Imidaclopride chez des rats mâles adultes (*Rattus norvegicus*) administrés par voie orale avec 0,1 ml d'Imidaclopride pendant trois mois sur une base quotidienne. Les résultats ont montré une augmentation significative des taux d'alanine aminotransférase (ALT) et d'aspartate aminotransférase (AST), ainsi qu'une diminution (**Farag et al., 2020**).

Ces résultats suggèrent que l'administration orale d'Imidaclopride peut être responsable de la diminution des concentrations totales de protéines et d'albumine observées dans la présente étude. Ceci est en accord avec des études antérieures qui ont également montré des résultats similaires après l'administration orale de doses variables d'Imidaclopride (**Samir et al., 2009**).

La capacité de l'hépatite à produire de l'albumine peut être affectée par la maladie du foie, ce qui entraîne une diminution des niveaux de protéines sériques totales. Cela suggère que la prise d'imidaclopride peut affecter la synthèse de l'albumine de manière similaire, ce qui entraînerait une diminution des niveaux de protéines totales sériques (**Nyblom et al., 2004**).

Selon **Samir et al. (2009)**, tous les biomarqueurs hépatiques ont été considérablement augmentés d'une manière dose-dépendante chez les rats traités par Imidaclopride par rapport aux rats de contrôle. Ces résultats suggèrent que l'Imidaclopride peut avoir un effet néfaste sur le système hépatique des rats (**Samir et al., 2009**). Il est possible de conclure que la lésion hépatique, principal site de biotransformation, est à l'origine de l'augmentation de l'activité des aminotransférases chez les rats traités par Imidaclopride (**Farag et al., 2019**).

## DISCUSSION

Une étude récente a examiné l'impact sous aigu de l'imidaclopride sur les paramètres hémo-biochimiques chez des chèvres noires de Bengale qui ont reçu l'imidaclopride par voie orale pendant 28 jours à 45, 25 mg/kg de poids corporel. Les taux de protéines sériques, d'AST et d'ALT ont augmenté aux jours 14 et 28 (**Dattaray et al., 2023**).

Le foie est un organe crucial qui joue un rôle important dans la désintoxication et le métabolisme des pesticides (**Peiris & Dhanushka, 2017**). Les pesticides peuvent nuire au foie et provoquer une dysfonction hépatique, y compris des changements dans les ALT, AST, ALP, la protéine totale et l'albumine, qui sont couramment utilisés comme tests de la fonction hépatique (**Lala et al., 2023 ; Mohafrash et al., 2021**). Les niveaux élevés d'ALT, d'AST et d'ALP, qui indiquent des lésions hépatiques, ont été modifiés par l'exposition des rats mâles à des doses différentes d'imidaclopride. De plus, les niveaux de protéines totales et d'albumine ont diminué, ce qui suggère une mauvaise fonction hépatique.

Lorsque le foie est endommagé ou enflammé, ces enzymes peuvent entrer dans la circulation sanguine et augmenter. Un changement des paramètres biochimiques du sérum, comme une augmentation de la protéine totale et une diminution de l'albumine, est l'un des signes les plus courants de lésions hépatiques. Ces changements montrent que le foie n'est plus aussi efficace dans le métabolisme et la synthèse des protéines (**Giannini et al., 2005 ; Yap & Aw, 2010**). Selon ces résultats, l'imidaclopride a des effets hépatotoxiques sur les rats mâles (**Omar et al., 2023**). Cela suggère également que les dommages oxydatifs causés par l'imidaclopride peuvent être responsables des effets hépatotoxiques sur les rats mâles. De plus, les résultats de **Mansour et Mossa (2011)** mettent l'accent sur le mécanisme potentiel par lequel les pesticides peuvent affecter la fonction hépatique par des dommages oxydatifs et la libération plus tard d'enzymes hépatiques. Cela s'explique probablement par une augmentation de la nécrose cellulaire en raison de la toxicité des pesticides (**Hazira et al., 2020**).

Des études récentes ont révélé que l'ail cru aide à prévenir les lésions hépatiques, comme en témoigne la diminution des taux sériques d'ALAT et d'ASAT chez 20 patients alcooliques qui ont reçu 2,4 g de bulbes d'ail cru chaque matin pendant 45 jours. Nos résultats sont contredits par l'étude de (**Douaouya, 2017**) qui a utilisé 28 rats et a administré l'extrait d'ail par voie orale deux fois par jour à des doses de 250 mg et 500 mg/kg de poids corporel. L'activité de la transaminase (ALAT, ASAT) et de la phosphatase alcaline (ALP) a augmenté. Une étude a

## DISCUSSION

montré que la phosphatase alcaline sérique était inférieure chez les rats mâles adultes de la souche *Wistar* lorsqu'ils ont été traités pendant 4 semaines avec de l'extrait d'ail aqueux à un niveau de (p/p) 2%, contrairement à nos résultats (**Ahmed & Sharma, 1997**).

Les changements hormonaux, la fonction hépatique et les conditions nutritionnelles sont quelques-unes des variables qui influencent le niveau sérique d'albumine du foie (**Limdi & Hyde, 2003**). Selon de nombreuses études, l'exposition à divers résidus de pesticides a été associée à une diminution des protéines plasmatiques (**Yousef et al., 2006**). Ces résultats suggèrent que les pesticides ont un effet sur les fonctions hépatiques et particulièrement biliaires. Les résultats d'une enquête menée sur des chiens sont similaires (**El-Demerdash, 2012**). La diminution des protéines plasmatiques peut être attribuée aux effets négatifs des pesticides sur les cellules hépatiques (**Yousef et al., 2006**). Une maladie du foie qui entrave la capacité du foyer à synthétiser de l'albumine pourrait être la cause de cette hypoalbuminémie (**Eissa & Zidan, 2010**). Selon la recherche, l'ail cru réduit les lésions hépatiques chez 20 patients alcooliques qui ont été recrutés et ont reçu environ 2,4 g de bulbes d'ail cru chaque jour le matin pendant 45 jours (**Colin, 2019**).

Les changements histopathologiques du foie ont été corrélés à une augmentation de l'AST et de la TAL. La fonction de transport des hépatocytes est perturbée lors d'une lésion hépatique, ce qui entraîne une fuite des hépatocytes de la membrane plasmatique, ce qui entraîne une augmentation du taux d'enzymes dans le sérum (**Samir et al., 2009**).

Dans des études approfondies, il a été démontré que les pesticides peuvent endommager le foie en augmentant les niveaux sanguins de phosphatases alcalines et de transaminases (**Garg et al., 2009**). Les tests d'activité des enzymes hépatiques sont utilisés pour diagnostiquer et évaluer les troubles hépatiques (**Lee et al., 2012**). Les transaminases élevées peuvent indiquer une dysfonction hépatocellulaire (**Usende et al., 2020**). D'autres études ont montré que les niveaux élevés d'enzymes hépatiques, ALAT et ASAT, après une exposition aux pesticides peuvent indiquer une lésion hépatique ou une stéatose du foie (**Mehri et al., 2016**).

### 2. L'effet du traitement sur les paramètres hématologiques

Les paramètres hématologiques sont des indicateurs importants pour la surveillance des changements physiologiques et de la santé (**Yang & Liang, 2023**).

## DISCUSSION

Les résultats des paramètres hématologiques ont montré que le traitement des rats aux deux biopesticides utilisés dans nos conditions expérimentales n'avait aucun effet sur tous les paramètres hématométriques étudiés par rapport au groupe de rats témoins.

Dans une étude menée par **Dorababu et coll. (2006)**, où des rats ont reçu des extraits aqueux des feuilles d'*Azadirachta indica* à une dose élevée d'Azadirachtine que la nôtre de 1000 mg/kg de poids corporel pendant une période de 28 jours pour étudier l'hématotoxicité. Les résultats ont indiqué que les marqueurs de la fonction hépatique et les marqueurs hématologiques ont révélé peu ou pas de changement par rapport aux rats témoins.

Contrairement à ces résultats concernant l'hématotoxicité de l'azadirachtine, l'étude (**Ezeigwe et al., 2020**), il a été enregistré chez les rats traités à l'extrait d'*Azadirachta indica* aux doses 100, 200 et 400 mg/kg du poids corporel, une augmentation significative de la concentration d'hémoglobine, le volume des cellules emballées, le nombre des globules rouges et le taux de plaquettes.

Tandis que chez les groupes traités à l'imidaclopride montrent une diminution dans la concentration des globules rouges, des globules blancs, de l'hémoglobine et le % de l'hématocrite ainsi qu'une augmentation dans le nombre des plaquettes / mm<sup>3</sup> de sang surtout chez le groupe de rats traités avec la dose la plus élevée de l'insecticide de la famille néocotinoïde utilisé par rapport au groupe témoin. Nous signalons que la numération plaquettaire élevée peut être indiquée suite à une réaction inflammatoire (thrombocytose réactive ou réactionnelle) mais qui peut aussi provoquer des problèmes de coagulation (**Kuler, 2022**)

Les mêmes résultats ont été enregistrés dans une étude récente visant à évaluer l'exposition des poissons à des doses différentes d'imidaclopride ont induit une diminution des taux de RBC, WBC, Hg et Hct (**Alak et al., 2023**). Des résultats similaires aux nôtres, sont indiqués dans l'étude de **Soujanya et al. (2020)** visait à examiner comment le traitement par voie orale par Imidaclopride affectait les paramètres hématologiques et les poids corporels hebdomadaires des rats albinos *Wistar* femelles à une dose de 30 mg/kg de masse corporelle par jour pendant 30 jours. Le poids corporel hebdomadaire a considérablement diminué, WBC a augmenté considérablement, tandis que RBC, Hb et HTC ont diminué considérablement (**Soujanya et al., 2020**).

## DISCUSSION

Selon **Lonare et al. (2016)**, a expliqué que l'effet du traitement par l'imidaclopride a probablement stimulé la production de ROS chez les rats. Sachant que la production de ces enzymes est régulée par des systèmes de défense composés d'enzymes comme la catalase, le glutathion S-transferase et les molécules antioxydants de petite taille (**Bouabdallah et al., 2022**). Donc, la production de ROS vont nuire les globules rouges par oxydation. Les radicaux libres peuvent accélérer le vieillissement des cellules RBC. Par conséquent, les niveaux de RBC et d'hémoglobine diminueraient, tandis que le mécanisme de défense de l'organisme pour éliminer les déchets hémolytiques augmenterait les cellules de RBC (**Vamsee Veena et al., 2015**). Neem a été largement utilisé dans l'Ayurveda et a été reconnu pour ses avantages médicaux depuis longtemps. La présence de fer, de zinc et de magnésium dans les feuilles de neem peut aider à la production d'hémoglobine (**Ansari et al., 2004**). Les limonoïdes, les terpenoïdes et les flavonoïdes sont également inclus dans cette catégorie (**Biswas et al., 2002**). Rappelant que, les antioxydants comme les flavonoïdes et les limonoïdes ont le potentiel d'atténuer les dommages causés par le ROS produit lors du traitement (**Vamsee Veena et al., 2015**).

De plus, les concentrations posologiques des WBC, RBC et HGB n'ont pas changé significativement, indiquant une faible probabilité d'infection, de tumeur ou de réaction inflammatoire causée par Azadirachtine. Ces résultats indiquent que l'Azadirachtine peut être bien tolérée par l'organisme sans avoir d'effet significatif sur le nombre de cellules sanguines ou les niveaux d'hémoglobine. Néanmoins, d'autres études sont nécessaires pour comprendre complètement les effets et les risques à long terme de l'utilisation d'Azadirachtine (**Kilani-Morakchi et al., 2021**).

L'extrait aqueux de l'ail utilisé aux conditions utilisées, s'est avéré non toxique dans les conditions utilisées sur plusieurs paramètres physiologiques. Ceci est expliqué dans la recherche de **Hassouna et al. (2015)** qui ont examiné comment l'huile d'ail modulait l'hématotoxicité du diazinon chez les rats *Wistar*. Pendant 30 jours, la diazinon a diminué considérablement les RBC, le contenu en Hb, la valeur Ht, le nombre de plaquettes et les comptes WBC. La plupart des paramètres hématologiques ont été régulés par l'huile d'ail administrée 30 minutes avant Diazinon (**Hassouna et al., 2015**).

### 3. Effet du traitement sur les paramètres biochimiques de la fonction rénale

## DISCUSSION

Nous rappelons que l'appareil urinaire est composé d'un ensemble complexe d'organes qui ont pour fonction de filtrer les résidus sanguins et de former, de stocker et d'excréter l'urine. La toxicité rénale, l'hypertrophie tubulaire ou la néphropathie chronique progressive peuvent être des signes de changements de masse des reins (**Sellers *et al.*, 2007**). Le rein est un organe complexe qui remplit plusieurs autres fonctions essentielles, telles que le maintien de l'homéostasie, la régulation de la pression artérielle et de la pression osmotique, ainsi que l'équilibre acido-basique. Le rein reçoit 25 % du débit sanguin cardiaque, ce qui le rend vulnérable aux toxines endogènes et exogènes. Les substances toxiques semblent s'attaquer principalement à des sites particuliers des reins ou de la vessie, ce qui entraîne la libération de marqueurs biologiques spécifiques au segment atteint (**Hemstreet *et al.*, 1996**).

Les résultats obtenus montrent une augmentation de l'urée, de la créatinine et de l'acide urique pour l'insecticide chimique Imidaclopride et les deux biopesticides végétales, dans les trois paramètres étudiés pour évaluer la fonction rénale. Les travaux de **Srivastava (2007)** ont observé les mêmes résultats, une augmentation du poids relatif des reins des rats exposés à Imidaclopride pendant 90 jours.

D'autres chercheurs ont également trouvé chez des rats traités par Azadirachtine à des doses très faibles de 1/100, 1/150 et 1/225 pendant 60 jours une augmentation significative des concentrations sériques de créatinine, d'urée et d'acide urique (**Ali, 2016**). Un autre travail de recherche a trouvé des résultats similaires à nos résultats: chez les rats traités avec Azadirachtine à des doses beaucoup plus faibles de 1/100, 1/150 et 1/225 pendant une période plus longue de 60 jours, une augmentation significative des taux sériques de créatinine, d'urée et d'acide urique a été observée (**Ravindranath, 2011**).

De plus, il convient de noter que la présente étude a révélé une augmentation de la concentration de créatinine (Cr), une autre substance qui traverse le glomérule mais qui est rarement réabsorbée par les tubes proximaux. La créatinine sérique augmente lors de l'insuffisance rénale et les reins perdent leur capacité à éliminer les toxines produites par l'organisme.

Il est important de noter que des études épidémiologiques très récentes ont confirmé que les agriculteurs peuvent avoir une néphrotoxicité après une exposition chronique aux pesticides. Selon l'étude épidémiologique de **Belanger (2020)**, de nombreux cas de maladies rénales

## DISCUSSION

chroniques ont été décrits dans les communautés agricoles de plusieurs pays. Il a été observé chez des patients ne présentant pas les facteurs de risque classiques de maladie rénale chronique tels que le diabète et l'hypertension. Selon la même étude, deux principales causes expliquent l'apparition de ces pathologies rénales chroniques dans le secteur agricole :

- d'une part, l'exposition prolongée à la chaleur au travail, ce qui entraînerait des épisodes aigus de déshydratation, ce qui entraînerait une insuffisance rénale chronique
- d'autre part, l'exposition aux pesticides par voie inhalée ou par ingestion dans le contexte de l'agriculture intensive généralisée qui nécessite une augmentation de l'utilisation des produits phytopharmaceutiques.

De même, les résultats d'analyse de l'acide urique et de l'urée sérique montrent que la faible dose d'Azadirachtine n'a eu aucun effet sur ces paramètres. Par rapport au groupe de rats non traités, les deux doses d'insecticide chimique Imidaclopride ont provoqué une augmentation significative. L'installation d'un dysfonctionnement rénal et la dégénérescence de certains glomérules rénaux peuvent expliquer cela (Saadi *et al.*, 2012). L'acide urique sérique an augmenté chez les rattes *Wistar* traitées par Imidaclopride à la dose de 1/25 DL50 (17,6 mg/kg/j) pendant 60 jours (Ali, 2016). Nos résultats sont également en accord avec ceux d'El-Ela *et al.* (2019), qui ont découvert que chez les rats exposés à l'Imidaclopride pendant seulement 21 jours, les concentrations d'urée et de créatinine augmentaient toujours.

L'exposition à différentes doses d'imidaclopride augmente également les taux sériques d'enzymes d'urée et de créatinine, ce qui indique des lésions rénales (Bhardwaj *et al.*, 2010 ; Arfat., *et al.*, 2014).

#### 4. Effets du traitement sur les paramètres de la reproduction et de la testostérone

Les résultats de la présente étude indiquent une réduction significative du poids des testicules et de l'épididyme du poids des testicules et de l'épididyme associée à une diminution du niveau de testostérone et du nombre, de la vitalité et de la motilité des spermatozoïdes chez les rats traités par Imidaclopride. L'augmentation du poids des testicules dans les groupes ayant reçu l'extrait d'ail mais aucun changement dans le groupe traité à l'Azadirachtine par rapport aux rats témoins.

En fait, on sait que les pesticides ont des propriétés endocriniennes qui incluent la perturbation du système reproducteur masculin en perturbant l'axe hypothalamo-hypophyso-testiculaire

## DISCUSSION

(Bretveld *et al.*, 2007 ; Bouabdallah *et al.*, 2022). Comme son nom l'indique, cet axe est composé de l'hypothalamus, de l'hypophyse et des testicules. Il est suggéré que la diminution du poids des testicules est probablement due à des effets de remorquage ; l'anti-spermatogénèse est : le premier qui peut diminuer le diamètre et le nombre des spermatogénèse, des spermatocytes et des spermatides dans les tubules séminifères des testicules. Le second est l'effet anti-androgène qui réduit le nombre de spermatozoïdes dans les tubules des testicules (Babakhanzadeh *et al.* 2020).

Ensuite, l'hormone pulsatile de libération des gonadotrophines (GnRH), sécrétée par l'hypothalamus, augmente la production par l'adénohypophyse des gonadotrophines lutéinisantes (LH) et folliculostimulantes (FSH). Après cela, la LH se fixe au récepteur LH/gonadotrophine chorionique (LH/CG-R) situé sur la membrane des cellules de Leydig et entraîne la stéroïdogénèse tandis que la FSH voyage via la circulation et se connecte à ses récepteurs sur les cellules de Sertoli (Jin & Yang, 2014 ; Kaprara & Huhtaniemi, 2018). La première et la plus restrictive étape du processus multi phase de la synthèse de la testostérone est l'acte de mobilisation du cholestérol dans les mitochondries (Aghazadeh *et al.* 2015).

Cela peut s'expliquer par la protéine translocatrice (TSPO) et la protéine régulatrice aiguë stéroïdogène (StAR), qui dépendent toutes deux de l'augmentation induite par la LH des niveaux d'AMPc et de la phosphorylation dépendante de l'AMPc par la protéine kinase A, médiant la mobilisation du cholestérol (PKA). Ensuite, la conversion du cholestérol en prégnénolone est catalysée par l'enzyme cytochrome P450 (CYP11A1), qui se trouve du côté matrice de la membrane mitochondriale interne. La prégnénolone est progressivement convertie en testostérone dans le réticulum endoplasmique lisse par trois enzymes : la 17-hydroxystéroïde déshydrogénase de type 3 (HSD17B), la 17-hydroxylase/17,20 lyase (CYP17A1) et la 3-hydroxystéroïde déshydrogénase (HSD3B) (Carrageta *et al.* 2023 ; Moreira *et al.* 2022). L'hormone testostérone régule la production et la sécrétion de LH par l'hypophyse par un mécanisme de rétroaction négative (Tilbrook & Clarke, 2001 ; Moreira *et al.* 2022).

Il y a eu une réduction significative du poids absolu des testicules chez les rats traités avec l'Imidaclopride l'AZA, mais les rats qui ont reçu l'extrait aqueux d'ail avaient un poids légèrement accru des testicules.

## DISCUSSION

Il est connu que la masse testiculaire est un bon marqueur clinique de la fonction reproductive masculine (**Boeri et al. 2021**). La réduction de la masse testiculaire observée chez les rats traités aux pesticides pourrait être attribuée à une diminution de la taille des tubules séminifères (**Moreira et al., 2021**) et à un arrêt de la spermatogenèse suite à l'inhibition de la biosynthèse des stéroïdes ; la testostérone est un élément essentiel du développement et du fonctionnement normaux des testicules, car elle nécessite une stimulation androgénique continue (**Bal et al., 2012**). Plusieurs niveaux de régulation sont en place pour la spermatogenèse, et de nouveaux tests de la fonction des spermatozoïdes utilisent des diagnostics moléculaires (**Sharma, 2021**). Il est également possible qu'elle soit attribuable à une dégradation potentielle de l'histoarchitecture, dans laquelle l'atrophie des cellules germinales favorise la diminution du poids des organes (**Desai et al., 2016 ; Bouabdallah et al., 2022**). Les extraits de Neem ne sont pas ou très peu nocifs pour les mammifères en raison de leurs propriétés médicinales (**Braga et al., 2021**). **Aladakatti et al., (2011)** ont constaté que l'administration d'Azadirachtine (1,5 mg/kg de poids corporel) pendant 24 jours entraînait une réduction du poids moyen des testicules, ce qui corroborait nos conclusions. De même, **Lonare et al (2016)** ont découvert une réduction substantielle du poids des testicules chez les rats traités par voie orale à l'imidaclopride. Il est mentionné que la S-allyle cystéine, un ingrédient actif de l'ail, est le composé bioactif le plus abondant (**Rais et al 2023**). Selon une étude récente sur ses effets, la thérapie n'a eu aucune influence sur le rapport pondéral des testicules du rat **Fischer (Takemura et al 2014)**.

Nos données montrent que le traitement par l'azadirachtine et l'imidaclopride a affecté la concentration des spermatozoïdes, la mobilité et la viabilité des spermatozoïdes. Alors que le traitement des rats avec les doses utilisées d'extrait d'ail n'a montré aucun changement.

La réduction observée de la concentration et de la vitalité des spermatozoïdes pourrait être raisonnablement attribuée au stress oxydatif induit par les pesticides, elle peut s'expliquer par les changements drastiques du tissu testiculaire générés par l'épuisement des spermatogonies de renouvellement de type A causées par l'exposition à l'IMI, qui joue un rôle important dans la phase de prolifération de la spermatogenèse (**Bustos et Gonzalez, 2003**). Alternativement, cela pourrait être dû à tout médicament contraceptif qui affecte directement les spermatozoïdes en modifiant leurs enzymes (**Cooper et Yeung, 1999**). De plus, l'Imidaclopride induit une augmentation de la production de ROS chez le rat (**Lonare et al., 2016**). Ces radicaux libres

## DISCUSSION

peuvent endommager les cellules germinales testiculaires, entraînant une nécrose et des modifications de la spermatogenèse qui réduisent la quantité de spermatozoïdes (**Abedi et al., 2016**). De manière similaire, il a été découvert que le stress oxydatif provoque une rupture de l'ADN, une peroxydation des lipides membranaires et une apoptose, qui affectent tous la fonction des spermatozoïdes (**Lampiao et al., 2013**). Dans ces conditions, la concentration et la vitalité réduites des spermatozoïdes provoqués par les pesticides semblent être médiées par une apoptose accrue et une intégrité membranaire compromise provoquées par la peroxydation lipidique. La diminution des mesures de la motilité des spermatozoïdes trouvée dans notre étude semble être une indication que la motilité des spermatozoïdes ne peut être acquise ou maintenue. La queue des spermatozoïdes étant un organe crucial pour la motilité des spermatozoïdes, ces résultats pourraient s'expliquer par une perturbation de sa morphologie (**Talbi et al. 2022**). En conséquence, il a été constaté que la morphologie des flagelles des spermatozoïdes était significativement corrélée aux modifications de la motilité des spermatozoïdes (**Talbi et al. 2022**).

Les données de la présente étude indiquent une diminution des niveaux de testostérone, en particulier dans les groupes traités avec l'IMD et l'Azadirachtine par rapport aux rats témoins. La destruction de la queue des spermatozoïdes et la dégénérescence acrosomique, ainsi qu'une baisse du taux de testostérone, indiquant un dysfonctionnement testiculaire, ont été observées chez des souris traitées après un traitement aux pesticides (**Ali et al., 2012**). De plus, la densité réduite des spermatozoïdes épидидymaires peut être liée à une modification du métabolisme des androgènes (**Duty et al., 2003**).

Ces résultats confirment ceux de **Mohamed et al., (2017)**, qui ont découvert une augmentation substantielle du nombre de spermatozoïdes et des anomalies du sperme chez les rats adultes soumis à 1 mg/ml/kg de poids corporel Imidaclopride pendant 65 jours. Une autre recherche a révélé que les rats ayant reçu de l'Imidaclopride à des niveaux de 225 et 112 mg/kg avaient une viabilité des spermatozoïdes plus faible. **Najafi et al., (2010)** À 90 mg/kg, le traitement oral Imidaclopride de 15 jours a entraîné une réduction du nombre de spermatozoïdes, de la motilité et de la vitalité chez les rats mâles (**Hafez et al., 2016**).

Dans une autre recherche menée par **Aladakatti et al., (2011)**, les résultats de la thérapie Azadirachtine à une dose de 1,5 mg/kg de poids corporel ont indiqué une réduction substantielle

## DISCUSSION

du nombre, de la motilité et de la vitesse des spermatozoïdes. De plus, des rats ont reçu de la poudre de feuilles de neem à des doses de 20, 40 et 60 dans une autre recherche de **Parrveen et al. (1993)**. Les résultats ont révélé une diminution du nombre de spermatozoïdes, de la motilité et des anomalies des spermatozoïdes. L'essai d'**Aladakatti et al. (2001)**, qui a été réalisé pendant 48 jours à 100 mg/rat, a donné des résultats similaires.

**Osunga et al. (2020)** ont rapporté qu'il y avait une augmentation du nombre de spermatozoïdes, de la motilité des spermatozoïdes et de la viabilité des spermatozoïdes dans le traitement de rats *Wistar* avec de l'extrait d'ail pendant 21 jours. De plus, lorsque des adultes albinos ont reçu de l'extrait aqueux d'ail à une dose de 1 ml/100 g de poids corporel/jour pendant 4 semaines et une élévation de la concentration et de la motilité des spermatozoïdes ont été observées (**Ola-Mudathir et al 2008**). De plus, lorsque des rats *Wistar* ont reçu de l'extrait d'ail à une dose de 250 mg/kg une fois par jour pendant 15 jours pour déterminer les lésions testiculaires induites par le traitement, il y a eu une augmentation du nombre de spermatozoïdes et une diminution des anomalies des spermatozoïdes (**Nasr, 2017**). Dans d'autres recherches, après 35 jours d'administration de 400 mg / kg d'extrait aqueux de bulbe d'ail à des rats, il a été constaté qu'il améliorait la motilité et la viabilité des spermatozoïdes chez le rat *Wistar* (**Asadpour, et al 2013**).

Cela peut expliquer que l'ail contienne des composés organosoufrés qui contribuent à la formation d'espèces soufrées réactives (**Mendiola et al 2010**). Les résultats sont très probablement dus aux nutriments et aux précurseurs producteurs de spermatozoïdes présents dans l'ail. Les composants actifs de différents groupes chimiques peuvent être responsables de l'amélioration de la qualité et de la quantité de la production de sperme (**Sadogh et al 2021**).

Il est important de savoir maintenant que le type de préparations, la technique d'administration et les dosages sont les trois principaux facteurs pouvant expliquer ces différents résultats. De plus, selon la façon dont il est préparé, la concentration de composants bioactifs de l'ail varie considérablement (**Emokpae & Olaode 2021**).

Les résultats de la vitesse des spermatozoïdes n'ont montré aucune diminution significative de la VCL dans les groupes Azadirachtine. Une réduction considérable de la quantité de traitement Imidaclopride. Lorsque l'Extrait aqueux de l'ail n'a pas modifié la VCL. Dans les données VSL, la

## DISCUSSION

dose maximale de l'Extrait aqueux de l'ail a diminué, tandis que les traitements par l'Azadirachtine et l'Imidaclopride n'ont pas montré d'élévations significatives. En termes de PAV, les groupes exposés à l'Azadirachtine, la dose la plus élevée de l'Extrait aqueux de l'ail et le groupe témoin ne différaient pas significativement. Une baisse considérable a été constatée dans les groupes traités par l'Imidaclopride.

Des résultats similaires ont été obtenus lorsque des rats ont reçu de l'Imidaclopride à des doses de 112 et 225 mg/kg par voie orale pendant 60 jours, entraînant une augmentation significative de la vitesse aberrante des spermatozoïdes (Najafi *et al.*, 2010). La réduction des paramètres de vitesse (VSL, VAP et VCL) à pH 6,2 et 5,2 (Zhou *et al.*, 2015) peut mieux montrer l'influence des pesticides sur le pH environnemental.

Il est clair dans nos résultats que le l'Extrait aqueux de l'ail n'a pas modifié l'amplitude du déplacement latéral de la tête (ALH). Alors que la dose plus faible d'Azadirachtine a considérablement réduit l'ALH des spermatozoïdes, alors que d'autres groupes présentaient une baisse significative.

La dose plus élevée de l'Extrait aqueux de l'ail et la dose plus faible d'Azadirachtine n'ont pas affecté la fréquence croisée des battements (BCF). Les doses plus faibles d'Imidaclopride et de l'Extrait aqueux de l'ail et la dose plus élevée d'Azadirachtine ont toutes deux montré une légère réduction. Cela peut s'expliquer par le rôle des mitochondries en tant que générateur d'énergie qui se reflète dans la motilité des spermatozoïdes, les caractéristiques de vitesse (VCL, VSL et VAP), ALH et BCF. Il est possible qu'un dysfonctionnement mitochondrial, qui diminue l'énergie nécessaire au mouvement des flagelles (Talbi *et al.* 2022), et qu'il puisse être à l'origine des effets négatifs sur les paramètres de motilité des spermatozoïdes que l'on retrouve dans nos résultats. De plus, la motilité, la vitesse, le déplacement latéral de la tête et la fréquence des battements des spermatozoïdes dépendent tous de l'activité de l'isoforme Na, K-ATPase  $\alpha 4$  (Jimenez *et al.* 2010). La Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> ATPase est une protéine transmembranaire universelle, et les spermatozoïdes et germes exclusifs expriment son isoforme  $\alpha 4$  (ATP1A4) (Tiwari *et al.* 2022). De plus, l'ATP1A4 contrôle les molécules de signalisation dans les parties radeau et non radeau de la membrane plasmique du sperme pour contrôler l'activation, les contacts spermatozoïdes-ovocytes, l'hyperactivation et les molécules de signalisation impliquées dans la capacitation. Les anomalies dans ces caractéristiques du sperme ont longtemps été utilisées comme prédicteur de

## DISCUSSION

la fertilité masculine (**Shibahara et al., 2004**). Les pesticides peuvent bloquer ou désactiver la Na,K-ATPase ou l'isoforme  $\alpha_4$ , ce qui explique pourquoi.

En termes de concentration de testostérone, nos résultats ont révélé que le traitement par Azadirachtine et Imidaclopride provoque une diminution des niveaux de testostérone. Alors qu'il a été augmenté dans le traitement Extrait aqueux de l'ail.

Les pesticides, en raison de leur affinité pour les récepteurs aux androgènes, peuvent stimuler ou bloquer ces récepteurs, inhibant leur fonction (**Mikolić & Brčić Karačonji, 2018**). Les pesticides sont susceptibles d'avoir un effet sur l'axe hypothalamo-hypophysaire, qui produit la GnRH, responsable de la sécrétion de LH ; LH stimule les cellules de Leydig pour synthétiser la testostérone ; par conséquent, une réduction de la LH peut signifier une réduction des niveaux de testostérone (**Joshi et al., 2011**). De plus, les pesticides perturbateurs endocriniens peuvent interférer avec la production, la sécrétion, le transport, le métabolisme, la liaison ou l'élimination normaux des hormones (**Memon et al., 2014**). De nombreuses études ont montré que les pesticides entravent l'activité des estérases non spécifiques dans les cellules de Leydig, entraînant une synthèse de testostérone plus faible (**Bustos et Gonzalez 2003, Najafi et al. 2010**). Selon **Moreira et al. (2021)**, la baisse des niveaux de testostérone est un impact commun de toutes sortes de pesticides sur les cellules de Leydig, et deux mécanismes principaux semblent être responsables de cette action. Les premiers effets perturbateurs endocriniens des produits chimiques produisent l'inhibition des gènes impliqués dans le processus stéroïdogène, et leur présence dans les organismes provoque des niveaux élevés de ROS, qui à leur tour provoquent des dommages mitochondriaux (**Moreira et al., 2021**).

Ces résultats sont cohérents avec les résultats de (**Mohamed et al., 2016**), qui ont découvert que les taux sanguins de testostérone étaient considérablement plus faibles chez les rats adultes traités à l'Imidaclopride à une dose de 1 mg/ml/kg de poids corporel pendant 65 jours. L'exposition à l'imidaclopride peut altérer le bon fonctionnement des systèmes endocriniens des animaux en interférant avec les hormones endogènes (**Mikolić & Brčić Karačonji, 2018**). **Morovati et al., (2009)** ont découvert que l'administration à des rats mâles d'une dose de 25 mg/kg d'extrait insecticide commercial d'azadirachtine pendant 6 jours n'entraînait aucune variation significative des niveaux de testostérone entre les groupes expérimentaux.

## DISCUSSION

Des résultats similaires ont constaté des augmentations de la concentration de testostérone chez les lapins Bouscat mâles qui ont reçu des doses quotidiennes de 3, 9 et 27 mg/kg d'extrait d'ail pendant 8 semaines (**El Kelawy 2020**). Lorsque la poudre d'ail a été administrée à des rats Sprague-Dawley soumis à un régime à base de caséine pendant 28 jours à une dose de 8 g/kg, les niveaux de testostérone chez les animaux ont augmenté (**Oi et al., 2001**). Des résultats similaires ont été observés lorsque des rats Sprague-Dawley ont reçu de l'huile d'ail à 80 mg/kg/jour pendant cinq jours par semaine pendant 90 jours (**El-Akabawy & El-Sherif, 2016**). Ces études montrent que l'ail augmente la synthèse de testostérone (**Oi et al., 2001**).

En termes de concentration de testostérone, nos résultats ont révélé que le traitement par Azadirachtine et Imidaclopride provoque une diminution des concentrations de la testostérone. Alors qu'il a été augmenté dans les groupes traités par l'extrait aqueux de l'ail.

Les pesticides, en raison de leur affinité pour les récepteurs aux androgènes, peuvent stimuler ou bloquer ces récepteurs, inhibant leur fonction (**Mikolić & Brčić Karačonji, 2018**). Les pesticides sont susceptibles d'avoir un effet sur l'axe hypothalamo-hypophysaire, qui produit la GnRH, responsable de la sécrétion de LH ; LH stimule les cellules de Leydig pour synthétiser la testostérone ; par conséquent, une réduction de la LH peut signifier une réduction des niveaux de testostérone (**Joshi et al., 2011**). De plus, les pesticides perturbateurs endocriniens peuvent interférer avec la production, la sécrétion, le transport, le métabolisme, la liaison ou l'élimination normaux des hormones (**Memon et al., 2014**). De nombreuses études ont montré que les pesticides entravent l'activité des estérases non spécifiques dans les cellules de Leydig, entraînant une synthèse de testostérone plus faible (**Bustos et Gonzalez 2003, Najafi et al. 2010**). Selon **Moreira et al. (2021)**, la baisse des niveaux de testostérone est un impact commun de toutes sortes de pesticides sur les cellules de Leydig, et deux mécanismes principaux semblent être responsables de cette action. Les premiers effets perturbateurs endocriniens des produits chimiques produisent l'inhibition des gènes impliqués dans le processus stéroïdogenèse, et leur présence dans les organismes provoque des niveaux élevés de ROS, qui à leur tour provoquent des dommages mitochondriaux (**Moreira et al., 2021**).

Ces résultats sont cohérents avec les résultats de (**Mohamed et al., 2016**), qui ont découvert que les taux sanguins de testostérone étaient considérablement plus faibles chez les rats adultes traités à l'Imidaclopride à une dose de 1 mg/ml/kg de poids corporel pendant 65 jours.

## DISCUSSION

L'exposition à l'imidaclopride peut altérer le bon fonctionnement des systèmes endocriniens des animaux en interférant avec les hormones endogènes (**Mikolić & Brčić Karačonji, 2018**). **Morovati et al., (2009)** ont découvert que l'administration à des rats mâles d'une dose de 25 mg/kg d'extrait insecticide commercial d'azadirachtine pendant 6 jours n'entraînait aucune variation significative des niveaux de testostérone entre les groupes expérimentaux.

Au contraire, une réduction du taux de testostérone a été observée après 48 jours de traitement avec une solution aqueuse d'ail chez des rats *Wistar* nourris avec un régime à 7,5 % par **Hammami et al. (2013)**. Cet écart dans les résultats pourrait être dû à des variations dans les préparations d'ail et la période de traitement (**Emokpae & Olaode 2021**). De plus, l'administration de disulfure de di allyle, un composant clé contenant du soufre volatil présent dans l'ail, a provoqué une augmentation dose-dépendante des taux plasmatiques de LH (**Oi et al 2001**). C'est une des raisons pour lesquelles d'autres recherches ont démontré l'inhibition dose-dépendante de la libération de testostérone par les extraits d'ail (**Sadogh et al 2021**).

### 5. Effet du traitement sur les paramètres du stress oxydant

Nos résultats sont conformes à ceux de **Bal et al., (2012)**, qui ont observé une augmentation des niveaux de MDA dans les testicules après 90 jours d'administration orale d'Imidaclopride à une dose de 8 mg/kg chez des rats mâles en croissance.

Le malondialdéhyde (MDA) est un indicateur essentiel des dommages oxydatifs des lipides puisqu'il s'agit d'un produit oxydatif clé de l'acide gras polyinsaturé peroxydé dans les tissus (**El-Gendy et al., 2010**). Les niveaux de MDA dans les groupes Azadirachtine et Imidaclopride étaient légèrement plus élevés alors qu'ils étaient plus faibles dans les groupes Extrait aqueux de l'ail.

En ce qui concerne les effets de l'ail, des rats ont reçu du jus de bulbe d'ail pendant 4 semaines à des doses de 60 et 120 mg/kg pour voir comment cela les affectait. Une diminution de l'activité du MDA du sperme et une diminution de l'impact de Crcl3 sur le statut antioxydant (**Ghalehkandi, 2018**). Des résultats similaires ont été obtenus lorsque des rats *Wistar* ont reçu 250 mg/kg d'extrait d'ail une fois par jour pendant 15 jours pour déterminer si l'adriamycine causait des lésions testiculaires (**Nasr, 2017**). Selon des études, l'allicine (un composé organique abondant dans l'ail) dans l'ail peut supprimer la LPO (peroxydation des lipides), piéger les

## DISCUSSION

radicaux libres et baisse des taux de lipides sanguins (**Lotfi et al., 2021**). D'autres recherches ont démontré que l'utilisation de l'ail peut augmenter les niveaux de la testostérone en réduisant le stress oxydatif (**Ola-Mudathir et al., 2008 ; Lotfi et al., 2021**).

Nous avons constaté que les niveaux de GSH diminuaient dans les deux groupes Imidaclopride mais restaient inchangés dans tous les autres groupes. En ce qui concerne les niveaux de GPx, ils étaient plus faibles dans le traitement Imidaclopride et Azadirachtine. Néanmoins, ils étaient élevés dans les groupes traités par l'Extrait aqueux de l'ail. C'est peut-être parce que le tissu testiculaire se divise rapidement, il est extrêmement vulnérable aux radicaux libres et au stress oxydatif (**Lotfi et al 2021**). De plus, on pense que les cellules de Leydig dans les testicules sécrètent moins de testostérone lorsque les niveaux de stress oxydatif augmentent (**Cao et al 2004**).

Les niveaux d'activité de la catalase, du superoxyde dismutase et de la glutathion peroxydase ont augmenté dans les groupes traités avec l'extrait aqueux de feuilles d'*Azadirachta indica*, selon les conclusions de **Christian (2019)**. La présence de composés phytochimiques, notamment de phénols, de flavonoïdes et de tanins, dans la plante suggère qu'elle possède des propriétés antioxydantes. Les antioxydants présents dans les composants des plantes médicinales aident au traitement des situations de maladie (**Gülcin, 2012**). Des extraits de plantes à forte teneur en phénols et flavonoïdes ont montré des propriétés antioxydantes démontrées (**Christian et al., 2019**). Nos résultats peuvent avoir été influencées par la présence de ces composés phytochimiques.

Il a été cité que l'azadirachtine peut augmenter la survie cellulaire dans des conditions de stress inflammatoire et oxydatif sévère en protégeant les cellules induites par le LPS suite à des altérations métaboliques et moléculaires liées à l'inflammation et du dysfonctionnement mitochondrial (**John & Raza, 2022**). Cela pourrait expliquer pourquoi nous n'avons pas identifié les modifications MDA, GSH et GPx dans cette recherche. D'autre part, plusieurs recherches ont examiné les capacités antioxydantes de l'ail et comment elles affectent divers organes (**Lotfi et al 2021**).

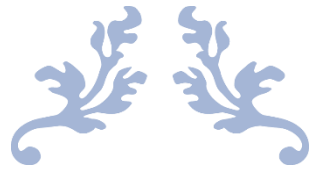
D'autre part, L'Imidaclopride a induit une augmentation de la production de ROS chez le rat (**Lonare et al., 2016**). La création d'une génération excessive de ROS peut modifier le système

## DISCUSSION

de défense antioxydant cellulaire et, par conséquent, altérer la sensibilité au stress oxydatif, qui peut être responsable de l'impact nocif de l'Imidaclopride (**Lonare et al., 2016**). On pense que la formation de ROS cause des dommages à l'ADN, la dégradation des protéines et la peroxydation de lipide (LPO), qui causent tous des dommages à de nombreux tissus essentiels (**Khan et al., 2005 ; Lonare et al., 2016**). Ces radicaux libres extrêmement réactifs épuisent les mécanismes de défense antioxydants, ce qui peut entraîner une instabilité cellulaire et des dommages oxydatifs à la membrane cellulaire (**Kapoor et al., 2009 ; Bal et al., 2012**). Cela pourrait expliquer pourquoi nous n'avons pas identifié les modifications MDA, GSH et GPx dans cette étude.

Nous signalons aussi que dans des recherches antérieures, des rats adultes mâles traités avec de l'Imidaclopride à une dose de 8 mg/kg pendant 90 jours ont présenté une baisse significative des niveaux de GSH (**Bal et al., 2012**). Il y a également eu des résultats significatifs lorsque les niveaux de GSH et de GPx dans les testicules ont été réduits par l'Imidaclopride à 90 mg/kg pendant 28 jours chez des rats adultes mâles (**Lonare et al., 2016**).

Nos résultats ont indiqué que l'ail a également réduit le stress oxydatif, neutralisé les radicaux libres, amélioré la spermatogénèse et augmenté la fertilité (**Asadi et al 2017**). En raison de ses caractéristiques antioxydantes, l'ail est un excellent choix pour cela (**lotfi et al 2021**). De nombreuses études montrent que l'ail a des propriétés antioxydantes ; une augmentation des activités GSH et GPx a été observée chez des rats *Wistar* ayant reçu de l'extrait d'ail à une dose de 250 mg/kg une fois par jour pendant 15 jours afin d'étudier les dommages causés par l'adriamycine aux testicules (**Nasr 2017**). Il y a également eu une augmentation de la protection antioxydante dans les testicules de rats traités avec par l'extrait aqueux d'ail à 400 mg/kg pendant 35 jours (**Asadpour et al., 2013**).



# **CONCLUSION ET PERSPECTIVES**



## CONCLUSION ET PERSPECTIVES

### Conclusion et perspectives

En conclusion, cette étude approfondie a jeté une lumière significative sur les implications physiologiques de l'utilisation d'insecticides chimiques, tels que l'Imidaclopride, en comparaison avec des alternatives bio-insecticides dérivées du Neem et de l'extrait aqueux d'ail, chez des rats Wistar mâles. Les résultats obtenus soulignent des variations notables dans plusieurs paramètres physiologiques, mettant en évidence des différences significatives entre les deux types de pesticides étudiés.

Cette recherche apporte une contribution substantielle à la littérature en soulignant l'importance cruciale de considérer des alternatives plus écologiques aux pesticides chimiques. Les conclusions mettent en garde contre les effets potentiels sur la santé associés à l'utilisation d'insecticides chimiques, en particulier l'Imidaclopride, et encouragent la promotion d'approches plus durables dans le domaine agricole, prenant en compte la santé environnementale.

Les résultats spécifiques de l'étude démontrent que l'Azadirachtine, dérivée du Neem, pourrait représenter une alternative plus sûre, du moins en termes d'impact sur le foie et le poids corporel des rats. À l'inverse, l'Imidaclopride, en particulier à des doses élevées, est associé à des effets néfastes sur la masse hépatique et la croissance des rats.

L'extrait aqueux d'ail présente des résultats contrastés, soulignant la complexité des réponses physiologiques aux traitements, même par des extraits naturels. Les conclusions relatives aux paramètres hématologiques mettent en évidence des différences marquées entre l'Azadirachtine et l'Imidaclopride, soulignant l'importance de considérer la santé globale des organismes exposés.

L'évaluation des paramètres biochimiques de la fonction hépatique et rénale met en évidence des différences significatives entre l'Imidaclopride et l'Azadirachtine, soulignant la nécessité de prendre en compte les impacts spécifiques de chaque substance. Les résultats sur les paramètres de reproduction soulignent les effets délétères des pesticides sur la reproduction masculine, avec des altérations significatives observées avec l'Imidaclopride et l'Azadirachtine, tandis que l'extrait d'ail présente des effets protecteurs potentiels.

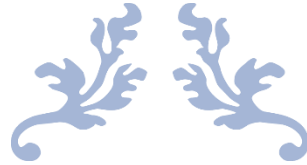
## CONCLUSION ET PERSPECTIVES

L'analyse du stress oxydatif révèle des tendances distinctes, avec l'ail montrant des propriétés antioxydantes marquées, l'Azadirachtine présentant des effets protecteurs, tandis que l'Imidaclopride indique un impact potentiel sur le stress oxydatif.

En synthèse, l'ensemble de ces résultats convergents souligne l'impératif d'une évaluation approfondie des impacts des pesticides sur divers aspects de la santé. Ces conclusions plaident en faveur d'une approche prudente dans l'utilisation des pesticides, mettant en évidence l'importance cruciale de préserver l'équilibre entre l'efficacité agricole et la préservation de la santé globale de notre environnement. Des réglementations plus strictes et des politiques agricoles orientées vers la durabilité sont nécessaires, tout en encourageant la recherche continue pour mieux comprendre les interactions complexes entre les produits chimiques et les composés naturels. En somme, cette étude renforce l'urgence de repenser nos pratiques agricoles pour préserver la santé animale, humaine et environnementale à long terme.

Les résultats de cette étude ouvrent la voie à plusieurs perspectives de recherche et d'application pratique :

1. Dosage des résidus des pesticides par HPLC.
2. Etude histologique plus approfondie des organes cibles des pesticides.
3. Privilégier les biopesticides végétales pour lutter contre les ravageurs des cultures.
4. Faire des études épidémiologiques des maladies chez les agriculteurs en Algérie.



# **REFERENCES**

# **BIBLIOGRAPHIQUES**



## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

### Références bibliographiques

**Abedi, H., Kargar Jahromi, H., Hashemi, S. A., Jashni, H., Kargar Jahromi, Z., & Pourahmadi, M. (2016).** The effect of silymarin on spermatogenesis process in rats. *International Journal of Medical Research & Health Sciences*, 5(6), 146–150.

**Abell, A., Juul, S., & Bonde, J. P. (2000).** Time to pregnancy among female greenhouse workers. *Scandinavian Journal of Work and Environmental Health*, 26, 131–136.

**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.

**Aghazadeh, M., Traub, R. J., Mohandas, N., Aland, K. V., Reid, S. A., McCarthy, J. S., & Jones, M. K. (2015).** The mitochondrial genome of *Angiostrongylus mackerrasae* as a basis for molecular, epidemiological and population genetic studies. *Parasites & Vectors*, 8, 1-11.

**Ahmari, H., Heris, S. Z., & Khayyat, M. H. (2018).** The effect of titanium dioxide nanoparticles and UV irradiation on photocatalytic degradation of Imidaclopride. *Environmental technology*, 39(4), 536-547.

**Ahmed, M. (2015).** Non-alcoholic fatty liver disease in 2015. *World journal of hepatology*, 7(11), 1450.

**Ahmed, N., Alam, M., Saeed, M., Ullah, H., Iqbal, T., Al-Mutairi, K. A., ... & Salman, M. (2021).** Botanical insecticides are a non-toxic alternative to conventional pesticides in the control of insects and pests. *Global decline of insects*, 1-19.

**Ahmed, R. S., & Sharma, S. B. (1997).** Biochemical studies on combined effects of garlic (*Allium sativum* Linn) and ginger (*Zingiber officinale* Rosc) in albino rats. *Indian journal of experimental biology*, 35(8), 841-843.

**Aladakatti, R. H., Ahamed, R. N., Ahmed, M., & Ghosesawar, M. G. (2001).** Sperm parameters changes induced by *Azadirachta indica* in albino rats. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 12(1), 69-76.

**Aladakatti, R. H., Sukesh, B., Jadaramkunti, U. C., & Hiremath, M. B. (2011).** Aspects of the Antiandrogenic/Antifertility Property of Azadirachtin-A from *Azadirachta indica* Leaves in Male Albino Rats: Effect on the Biochemical and Cauda Epididymal Sperm Parameters. *Recent Research in Science and Technology*, 3(2).

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Alak, G., Yıldırım, S., Yeltekin, A. Ç., Ucar, A., Bolat, İ., Kiliçlioğlu, M., ... & Atamanalp, M. (2023).** Self-healing demonstration in imidacloprid toxicity with multibiomarkers and biologic pathways. *Process Safety and Environmental Protection*, 178, 121-134.
- Ali, M. D., Mukul, S., Gupta, D., Singh, A. K., Kumar, R., Nath, A., ... & Kumar, A. (2012).** Endosulfan exposure leads to infertility in male mice. *Asian J Exp Biol Sci*, 3(1), 124-8.
- Ali, M. Z. M. (2016).** The effects of azadirachtin and emamectin benzoate insecticides as organic pollutants on experimental rats. *Annals of Agricultural Science, Moshtohor*, 54(1), 85-94.
- Alvi, M. N., Ansari, M. T., Siddiqi, F. A., Ishaque, A., & Abbas, M. (2020).** Hematopoietic effects of *Azadirachta indica* methanolic extract in cyclophosphamide mediated myelosuppressed albino rat. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 33.
- Amzali Sedda, S. A. (2018).** *Effet du séchage par méthode non conventionnel (micro-onde) sur le potentiel antioxydant des feuilles de coriandre (Coriandrum sativum. L)* (Doctoral dissertation).
- Ansari, T. M., Ikram, N., Najam-ul-Haq, M., Fayyaz, I., Fayyaz, Q., Ghafoor, I., & Khalid, N. (2004).** Essential trace metal (zinc, manganese, copper and iron) levels in plants of medicinal importance. *J. Biol. Sci*, 4(2), 95-99.
- Ansary, J., Forbes-Hernández, T. Y., Gil, E., Cianciosi, D., Zhang, J., Elexpuru-Zabaleta, M., ... & Battino, M. (2020).** Potential health benefit of garlic based on human intervention studies: A brief overview. *Antioxidants*, 9(7), 619.
- Anwar, A., Gould, E., Tinson, R., Groom, M., & Hamilton, C. J. (2016).** Think yellow and keep green—role of sulfanes from garlic in agriculture. *Antioxidants*, 6(1), 3.
- Arfat, Y., Mahmood, N., Tahir, M. U., Rashid, M., Anjum, S., Zhao, F., ... & Qian, A. R. (2014).** Effect of imidacloprid on hepatotoxicity and nephrotoxicity in male albino mice. *Toxicology reports*, 1, 554-561.
- Aribi, N., Denis, B., Kilani-Morakchi, S., & Joly, D. (2020).** Azadirachtin, a natural pesticide with multiple effects. *Medecine Sciences: M/S*, 36(1), 44-49.
- Arnault, I., André, I., Diwo-Allain, S., Auger, J., & Vey, F. (2005).** Propriétés pesticides des alliacées. *PHYTOMA• La Défense des Végétaux*, (578), 40.
- Asadi, N., Bahmani, M., Kheradmand, A., & Rafieian-Kopaei, M. (2017).** The impact of oxidative stress on testicular function and the role of antioxidants in improving it: A review. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 11(5), IE01–IE05.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Asadpour, R., Azari, M., Hejazi, M., Tayefi, H., & Zaboli, N. (2013).** Protective effects of garlic aqueous extract (*Allium sativum*), vitamin E, and N-acetylcysteine on reproductive quality of male rats exposed to lead. *Veterinary Research Forum*, 4(4), 251–257.
- Astrodoc. (2014).** Medizinische Papyri, sur [medizinische-papyri.de](http://www.medizinische-papyri.de) (2014) [http://www.medizinische-papyri.de/PapyrusEbers/html/kolumne\\_xxxiii.html](http://www.medizinische-papyri.de/PapyrusEbers/html/kolumne_xxxiii.html)
- Auger J. et Thibout E., (2002).** - Substances soufrées des Allium et des crucifères et leurs potentialités phytosanitaires. *Biopesticides d'origine végétale*, Ed Tec et Doc, 77- 95.
- Aureille, M. (2020).** What is killing the bees? Beekeepers and the production of uncomfortable knowledge. *Etudes rurales*, 206(2), 110-130.
- Awais, A., Groom, M., & Sadler-Bridge, D. (2009).** Garlic-from nature's ancient food to nematicide. *Pesticides News*, (84), 18-20.
- Azzaz, L., & Messaadi, A. (2022).** *Utilisation des biopesticides: avantages et inconvénients* (Doctoral dissertation, Université Larbi Tébessi-Tébessa).
- Babakhanzadeh, E., Nazari, M., Ghasemifar, S., & Khodadadian, A. (2020).** Some of the factors involved in male infertility: A prospective review. *International Journal of General Medicine*, 13, 29–41.
- Bailey, K. L., Boyetchko, S. M., & Längle, T. (2010).** Social and economic drivers shaping the future of biological control: A Canadian perspective on the factors affecting the development and use of microbial biopesticides. *Biological Control*, 52(3), 221-229.
- Bal, R., Naziroğlu, M., Türk, G., Yılmaz, Ö., Kuloğlu, T., Etem, E., & Baydas, G. (2012).** Insecticide imidacloprid induces morphological and DNA damage through oxidative toxicity on the reproductive organs of developing male rats. *Cell Biochemistry and Function*, 30(6), 492–499.
- Baldi, I., Jérémie, B., Chevrier, C., Coumoul, X., Elbaz, A., Goujon, S., ... & Spinosi, J. (2021).** *Pesticides et effets sur la santé: Nouvelles données* (Doctoral dissertation, Institut national de la santé et de la recherche médicale (INSERM)).
- Baligar, N. S., Aladakatti, R. H., Ahmed, M., & Hiremath, M. B. (2014).** Hepatoprotective activity of the neem-based constituent azadirachtin-A in carbon tetrachloride intoxicated Wistar rats. *Canadian journal of physiology and pharmacology*, 92(4), 267-277.
- Bar, M., Binduga, U. E., & Szychowski, K. A. (2022).** Methods of isolation of active substances from garlic (*Allium sativum* L.) and its impact on the composition and biological properties of garlic extracts. *Antioxidants*, 11(7), 1345.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Basu, A. (2014).** Kinetic biosorption studies of chemical pesticides by microbial biomass isolated from agricultural soils. *Master Sci. Biotechnol*, 1-56.
- Batsch, D. (2011).** *L'impact des pesticides sur la santé humaine* (Doctoral dissertation, UHP-Université Henri Poincaré).
- Bélangier, L., Jobin, B., Lacroix, G., & Bédard, Y. (2020).** Biophysical features determining avian use of roadside verges in southern Quebec's suburban and rural landscapes. *Northeastern Naturalist*, 27(4), 773-791.
- Belanger, V., Benmoussa, A., Napartuk, M., Warin, A., Laverdiere, C., Marcoux, S., ... & Marcil, V. (2021).** The role of oxidative stress and inflammation in cardiometabolic health of children during cancer treatment and potential impact of key nutrients. *Antioxidants & Redox Signaling*, 35(4), 293-318.
- Belmain, S., & Stevenson, P. (2001).** Ethnobotanicals in Ghana: reviving and modernising age-old farmer practice. *Pesticide outlook*, 12(6), 233-238.
- Bempah, C. K., Buah-Kwofie, A., Enimil, E., Blewu, B., & Agyei-Martey, G. (2012).** Residues of organochlorine pesticides in vegetables marketed in Greater Accra Region of Ghana. *Food control*, 25(2), 537-542.
- Benelli, G., Canale, A., Toniolo, C., Higuchi, A., Murugan, K., Pavela, R., & Nicoletti, M. (2017).** Neem (*Azadirachta indica*): towards the ideal insecticide?. *Natural product research*, 31(4), 369-386.
- Bennaim Oussama, D. F. (2020).** *Champignons endophytes: un puissant agent de lutte biologique et un réservoir de métabolites secondaires bioactifs* (Doctoral dissertation).
- Bettiche, F. (2017).** *Usages des produits phytosanitaires dans les cultures sous serres des Ziban (Algérie) et évaluation des conséquences environnementales possibles* (Doctoral dissertation, Université Mohamed Kheider-Biskra).
- Bettiche, F., Bengouga, K., Diab, N., Bakroune, N., Djoghma, A., Guesmia, H., ... & Rouahna, H. (2023).** Les risques des pesticides Néonicotinoïdes sur les pollinisateurs. *Journal Algérien des Régions Arides*, 16(1), 68-74.
- Bezerra, D. G., de Andrade, I. R., Santos, H. L. V., da Silva Xavier, M. D., Fernandes, P. Í., Devilla, I. A., ... & de Paula, J. A. M. (2021).** *Azadirachta indica* A. Juss (Meliaceae) microencapsulated bioinsecticide: Spray drying technique optimization, characterization, in vitro release, and degradation kinetics. *Powder Technology*, 382, 144-161.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Bhardwaj, S., Srivastava, M., Kapoor, U. & Srivastava, L. (2010).** A 90 days oral toxicity of imidacloprid in female rats: morphological, biochemical and histopathological evaluations. *Food and chemical toxicology*, 48, 1185-1190.
- Birlouez, É. (2020).** Petite et grande histoire des légumes. *Petite et grande histoire des légumes*, 1-176.
- Biswas, K., Chattopadhyay, I., Banerjee, R. K., & Bandyopadhyay, U. (2002).** Biological activities and medicinal properties of neem (*Azadirachta indica*). *Current science*, 1336-1345.
- Blanchoud, H., Barriuso, E., Chevreuil, M., Guery, B., Moreau-Guigon, E., Schott, C., ... & Tournebize, J. (2011).** Les pesticides dans le bassin de la Seine.
- Blottière, E. (2020).** L'impact des néonicotinoïdes sur les abeilles et leurs alternatives.
- Boeri, L., Belladelli, F., Capogrosso, P., Cazzaniga, W., Candela, L., Pozzi, E., ... & Salonia, A. (2021).** Normal sperm parameters per se do not reliably account for fertility: A case–control study in the real- life setting. *Andrologia*, 53(1), e13861.
- Bonmatin, J. M., Giorio, C., Girolami, V., Goulson, D., Kreuzweiser, D. P., Krupke, C., ... & Tapparo, A. (2015).** Environmental fate and exposure; neonicotinoids and fipronil. *Environmental science and pollution research*, 22, 35-67.
- Bonmatin, J. M., Moineau, I., Charvet, R., Colin, M. E., Fleche, C., & Bengsch, E. R. (2005).** Behaviour of imidacloprid in fields. Toxicity for honey bees. *Environmental chemistry: green chemistry and pollutants in ecosystems*, 483-494.
- Bouabdallah, N., Mallem, L., Abdennour, C., Chouabbia, A., & Tektak, M. (2021).** Toxic impacts of a mixture of three pesticides on the reproduction and oxidative stress in male rats. *Journal of Animal Behaviour and Biometeorology*, 10(1), 1–9.
- Boukhalfa, A., & Harsa, Y. (2022).** *Hépatotoxicité d'un pesticide néonicotinoïde chez les rats Wistar* (Doctoral dissertation, Université Larbi Tébessi-Tébessa).
- Bouziani, M. (2007).** L'usage immodéré des pesticides. De graves conséquences sanitaires. Le Guide de la Médecine et de la Santé. *Epidémiologiste*, Faculté De Médecine d'Oran. Guide de la médecine et santé en Algérie.
- Bradford, M. M. (1976).** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1–2), 248–254.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

**Braga, T. M., Rocha, L., Chung, T. Y., Oliveira, R. F., Pinho, C., Oliveira, A. I., Morgado, J., & Cruz, A. (2021).** *Azadirachta indica* a. Juss. in vivo toxicity—an updated review. *Molecules*, 26(2), 1–21.

**Bretveld, R., Brouwers, M., Ebisch, I., & Roeleveld, N. (2007).** Influence of pesticides on male fertility. *Scandinavian Journal of Work, Environment & Health*, 33(1), 13–28.

**Brillant, M. (2022).** Écotoxicité du fipronil et de l'Imidaclopride dans le cadre de leur utilisation antiparasitaire chez le chien: connaissances des vétérinaires praticiens.

**Buralli, R. J., Dultra, A. F., & Ribeiro, H. (2020).** Respiratory and allergic effects in children exposed to Pesticides—A systematic review. *International journal of environmental research and public health*, 17(8), 2740.

**Burtis C, Ashwood E, Bruns D. (2005).** *Tiets textbook of clinical chemistry*. 4<sup>th</sup>.

**Busson, A. (2021).** *Rôle des expositions agricoles, en particulier de certains pesticides, sur la survenue de lymphomes non hodgkiniens par sous-types* (Doctoral dissertation, Normandie Université).

**Bustos-Obregón, E., & González-Hormazabal, P. (2003).** Effect of a single dose of malathion on spermatogenesis in mice. *Asian Journal of Andrology*, 5(2), 105–107.

**Buszewski, B., Bukowska, M., Ligor, M., & Staneczko-Baranowska, I. (2019).** A holistic study of neonicotinoids neuroactive insecticides—properties, applications, occurrence, and analysis. *Environmental Science and Pollution Research*, 26, 34723–34740.

**Butterworth, J. H, Morgan, E. D. (1968).** Effects of dietary exposure to insecticide Raid ® on the survival, growth and inhibition of metabolic processes in Wistar rats. *Journal of Environmental Chemistry and Ecotoxicology*.2(8) : 120-125.

**Cao, R., & Zhang, Y. (2004).** The functions of E (Z)/EZH2-mediated methylation of lysine 27 in histone H3. *Current opinion in genetics & development*, 14(2), 155-164.

**Carrageta, D. F., Freire-Brito, L., Guerra-Carvalho, B., Ribeiro, J. C., Monteiro, B. S., Barros, A., ... & Alves, M. G. (2023).** Inhibition of Mitochondrial Uncoupling Proteins Arrests Human Spermatozoa Motility without Compromising Viability. *Antioxidants*, 12(2), 409.

**Cartereau, A., Taillebois, E., Le Questel, J. Y., & Thany, S. H. (2021).** Mode of action of neonicotinoid insecticides Imidacloprid and Thiacloprid to the cockroach *Pamea7* nicotinic acetylcholine receptor. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(18), 9880.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Casida, J. E. (2017).** Pesticide interactions: mechanisms, benefits, and risks. *Journal of agricultural and food chemistry*, 65(23), 4553-4561.
- Ceni, E., Mello, T., & Galli, A. (2014).** Pathogenesis of alcoholic liver disease: role of oxidative metabolism. *World Journal of Gastroenterology: WJG*, 20(47), 17756.
- Chandrashekar, H. M. (2010).** Changing scenario of organic farming in India: An overview.
- Chaube, S. K., Shrivastav, T. G., Tiwari, M., Prasad, S., Tripathi, A., & Pandey, A. K. (2014).** Neem (*Azadirachta indica* L.) leaf extract deteriorates oocyte quality by inducing ROS-mediated apoptosis in mammals. *SpringerPlus*, 3(1), 1-5.
- Chaudhary, S., Kanwar, R. K., Sehgal, A., Cahill, D. M., Barrow, C. J., Sehgal, R., & Kanwar, J. R. (2017).** Progress on *Azadirachta indica* based biopesticides in replacing synthetic toxic pesticides. *Frontiers in plant science*, 8, 610.
- Chikh, S., & Djema, K. (2020).** *Synthèse bibliographique sur les moustiques (Diptera: Culicidae) en Algérie et lutte employée*. Université Mouloud Mammeri.
- Christian, E. O., Felicia, E. C., Helen, I. N., Nneka, S. V., Vivian, C. U., & Ogochukwu, A. P. (2019).** Antidiabetic property and antioxidant potentials of aqueous extract of *Azadirachta indica* leaves in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Med Plants Stud [Internet]*, 7(6), 18-23.
- Claeys, W. L., Schmit, J. F., Bragard, C., Maghuin-Rogister, G., Pussemier, L., & Schiffers, B. (2011).** Exposure of several Belgian consumer groups to pesticide residues through fresh fruit and vegetable consumption. *Food control*, 22(3-4), 508-516.
- Colin L. (2016).** L'ail et son interet en phytothérapie. Thèse de doctorat, Université de Lorraine. p73.
- Collin, F. (2019).** Chemical basis of reactive oxygen species reactivity and involvement in neurodegenerative diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(10), 2407. <https://doi.org/10.3390/ijms20102407>
- Cooper, T. G., & Yeung, C. H. (1999).** Recent biochemical approaches to post-testicular, epididymal contraception. *Human reproduction update*, 5(2), 141-152.
- Correia, A. W., Pope III, C. A., Dockery, D. W., Wang, Y., Ezzati, M., & Dominici, F. (2013).** The effect of air pollution control on life expectancy in the United States: an analysis of 545 US counties for the period 2000 to 2007. *Epidemiology (Cambridge, Mass.)*, 24(1), 23.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Cotton, J. (2015).** *Application de l'analyse métabolomique à la détection ciblée et globale de contaminants organiques dans des matrices agroalimentaires et environnementales par spectrométrie de masse à ultra-haute résolution* (Doctoral dissertation, Paris 6).
- Dafalla, M. B., Konozy, E., & Saad, H. A. (2012).** Biochemical and histological studies on the effects of *Azadirachta indica* seeds kernel extract on albino ratsψ.
- Dallaqua, B., Saito, F. H., Rodrigues, T., Calderon, I. M. P., Rudge, M. V. C., Herrera, E., & Damasceno, D. C. (2012).** Treatment with *Azadirachta indica* in diabetic pregnant rats: negative effects on maternal outcome. *Journal of Ethnopharmacology*, 143(3), 805-811.
- Dattaray, D., Garnaik, T. K., & Loganathan, R. (2023).** Effects of subacute exposure of imidacloprid on haemato-biochemical parameters in black Bengal goat ( *Capra hircus* ). 12(5), 4561–4566.
- De Castro Marcato, A. C., de Souza, C. P., & Fontanetti, C. S. (2017).** Herbicide 2, 4-D: a review of toxicity on non-target organisms. *Water, Air, & Soil Pollution*, 228, 1-12.
- Decourtye A, Armengaud C, Renou M, Devillers J, Cluzeau S, et al. (2004)** *Imidacloprid impairs memory and brain metabolism in the honeybee (Apis mellifera L.)*. *Pestic Biochem Physiol* 78: 83–92
- Deguine, J. P., Aubertot, J. N., Flor, R. J., Lescourret, F., Wyckhuys, K. A., & Ratnadass, A. (2021).** Integrated pest management: good intentions, hard realities. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 41(3), 38.
- Del Vesco, A. P., Khatlab, A. S., Goes, E. S. R., Utsunomiya, K. S., Vieira, J. S., Neto, A. O., & Gasparino, E. (2017).** Age-related oxidative stress and antioxidant capacity in heat-stressed broilers. *Animal*, 11(10), 1783-1790.
- Deng, Y. X., Cao, M., Shi, D. X., Yin, Z. Q., Jia, R. Y., Xu, J., ... & Zhao, J. (2013).** Toxicological evaluation of neem (*Azadirachta indica*) oil: acute and subacute toxicity. *Environmental toxicology and pharmacology*, 35(2), 240-246.
- Deravel, J., François K. & Philippe J. (2014).** Les biopesticides, compléments *et* alternatives aux produits phytosanitaires chimiques (synthèse bibliographique). Base. Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement/Biotechnology, Agronomy, Society and Environment. Volume 18.
- Dereumeaux, C., Mercier, F., Soulard, P., Hulin, M., Oleko, A., Pecheux, M., ... & Quenel, P. (2022).** Identification of pesticides exposure biomarkers for residents living close to vineyards in France. *Environment International*, 159, 107013.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

**Desai KR, Moid N, Patel PB, and Highland HN (2016).** Evaluation of Deltamethrin induced reproductive toxicity in male Swiss Albino mice. *Asian Pacific Journal of Reproduction*.

**Dorababu, D., Joshi, M. C., Kumar, B. G. M. M., Chaturvedi, A., & Goel, R. K. (2006).** Effect of aqueous extract of neem (*Azadirachta indica*) leaves on offensive and defensive gastric mucosal factors in rats. *Indian journal of physiology and pharmacology*, 50(3), 241.

**Douaouya, L. (2009).** Contribution à l'étude de l'effet de l'ail (Doctoral dissertation, Annaba).

**Doumas, B. T. (1971).** Automated analysis. *Boehringer Mannheim Clin. Acta*, 31-87.

**Droy, I., Bélières, J. F., & Bidou, J. E. (2012).** Entre crise et rebond: questions autour de la durabilité des systèmes de production cotonniers au Mali. *The European Journal of Development Research*, 24, 491-508.

**Duty, S. M., Silva, M. J., Barr, D. B., Brock, J. W., Ryan, L., Chen, Z., Herrick, R. F., Christiani, D. C., & Hauser, R. (2003).** Phthalate exposure and human parameters. *Epidemiology*, 14(3), 269–277.

**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.

**EFSA (2008).** Conclusion regarding the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance Imidaclopride. Finalised., European Food Safety Authority.: 148: 1-120. HSDB. (2011). "Hazardous Substances Data Bank." from <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgibin/sis/htmlgen?HSDB>.

**Eissa F., Zidan N. (2010).** Haematological, biochemical and histopathological alterations induced by abamectin and bacillus thuringiensis in male albino rats. *Acta Biologica Hungarica*, 61(1):33–44.

**El Alami, A. (2017).** *Mise en oeuvre de biocapteurs en vue de la détection de pesticides dans l'eau par diffusion Raman exaltée* (Doctoral dissertation, Université du Maine).

**El-Akabawy, G., & El-Sherif, N. M. (2016).** Protective role of garlic oil against oxidative damage induced by furan exposure from weaning through adulthood in adult rat testis. *Acta Histochemica*, 118(5), 456–463.

**El-Demerdash, F., Attia, A. A., & Elmazoudy, R. H. (2012).** Biochemical and histopathological changes induced by different time intervals of methomyl treatment in mice liver. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 47(12), 1948-1954.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

**El-Ela, F. I. A., & Abdel-Aziz, A. M. (2019).** Investigating the potential protective effects of natural product quercetin against imidacloprid-induced biochemical toxicity and DNA damage in adults rats. *Toxicology reports*, 6, 727-735.

**El-Gendy, K. S., Aly, N. M., Mahmoud, F. H., Kenawy, A., & El-Sebae, A. K. H. (2010).** The role of vitamin C as antioxidant in protection of oxidative stress induced by imidacloprid. *Food and chemical Toxicology*, 48(1), 215-221.

**El-Hawary, Z. M., & Kholief, T. S. (1990).** Biochemical studies on hypoglycemic agents (I) effect of *Azadirachta indica* leaf extract. *Archives of Pharmacal Research*, 13, 108-112.

**Elkelawy, H., Mansour, M., El-Naggar, R., & Elkassas, N. (2020).** Effect of garlic (*Allium sativum*) on hematological, biochemical, hormonal and fertility parameters of male bouscat rabbits. *Egyptian Journal of Rabbit Science*, 30(1), 43-60.

**El-Naggar, H. A., & Hasaballah, A. I. (2017).** Acute larvicidal toxicity and repellency effect of octopus cyanea crude extracts against the filariasis vector, culex pipiens. *Journal of the Egyptian Society of Parasitology*, 48(3), 721-728.

**Emokpae, M. A., & Olaode, O. (2021).** Dose-dependent effect of garlic (*Allium sativum*) extract feeding on semen characteristics and testes in Wistar rats. *Journal of Infertility and Reproductive Biology*, 9(3), 130-135.

**Etiemble, J., & Cordier, S. (2022).** Pesticides et neurodéveloppement de l'enfant. *Environnement, Risques & Santé*, 21(1), 51-65.

**European Food Safety Authority (EFSA), Arena, M., Auteri, D., Barmaz, S., Brancato, A., Brocca, D., ... & Villamar-Bouza, L. (2018).** Peer review of the pesticide risk assessment of the active substance azadirachtin (Margosa extract). *EFSA Journal*, 16(9), e05234.

**Ezeigwe, O. C., Ezeonu, F. C., Okani, C. O., Onwusulu, D. N., & Onuegbu, M. E. (2020).** Aqueous extract of *Azadirachta indica* leaves favorably alters the course of streptozotocin-induced diabetes in rats: A comparative prospective cohort study. *Biomedical Research and Therapy*, 7(7), 3877-3889.

**Fahim H. I., Ahmed O. M., Boules M. W., Ahmed H. Y. (2016).** Nephrotoxic effects of abamectin and Calotropis procera latex and leaf extract in male albino rats. *American Journal of Medicine and Medical Sciences*. 6(3):73–86.

**Fan, S., Zhang, F., Deng, K., Yu, C., Liu, S., Zhao, P., & Pan, C. (2013).** Spinach or amaranth contains highest residue of metalaxyl, fluazifop-p-butyl, chlorpyrifos, and lambda-cyhalothrin on six leaf vegetables upon open field application. *Journal of agricultural and food chemistry*, 61(9), 2039-2044.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

**Fankep, D. U. B. (2019).** *Nanostructuration et fonctionnalisation de microleviers pour la détection d'agents organophosphorés* (Doctoral dissertation, Université de Strasbourg).

**Farag, M. R., Fotoh, M. F. A. E., El-Sayed, G., & El-Sayed, E. (2019).** Modulatory effect of ginger aqueous extract on imidacloprid induced hepatotoxicity in rats. *Adv. Anim. Vet. Sci*, 7(s2), 34-43.

**Fawcett, J., & Scott, J. (1960).** A rapid and precise method for the determination of urea. *Journal of clinical pathology*, 13(2), 156-159.

**Faye M. (2010).** Nouveau procédé de fractionnement de la graine de neem (*Azadirachta indica* A. JUSSI) Sénégalais : production d'un biopesticide d'huile et de tourteau. Thèse de doctorat de l'Université de Toulouse, France, 228 p

**Fenik, J., Tankiewicz, M., & Biziuk, M. (2011).** Properties and determination of pesticides in fruits and vegetables. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 30(6), 814-826.

**Ferault, C., Délos, M., Dron, M., & Gasquez, J. (2022).** Histoire de la gestion des plantes adventices en grandes cultures: De la première herbe arrachée au rappel à la nature.

**Fernandes, S. R., Barreiros, L., Oliveira, R. F., Cruz, A., Prudêncio, C., Oliveira, A. I., ... & Morgado, J. (2019).** Chemistry, bioactivities, extraction and analysis of azadirachtin: State-of-the-art. *Fitoterapia*, 134, 141-150.

**Fernández, S. F., Pardo, O., Corpas-Burgos, F., & Yusà, V. (2020).** Exposure and cumulative risk assessment to non-persistent pesticides in Spanish children using biomonitoring. *Science of The Total Environment*, 746, 140983.

**Ferroukhi, S. A., Bouzid, A., Grimes, S., Kaabache, R., & Lazereg, M. (2022).** Les politiques de soutien à l'agriculture et la pêche en Algérie-une prospective stratégique vers la sécurité alimentaire durable 2035. *les cahiers du cread*, 38(3), 379-412.

**Forum Médical Suisse, 14(21) ,422–425.Ozaki, M., Nakamura, M., Teraoka, S., & Ota, K. (1997).** Ebselen, a novel anti-oxidant compound, protects the rat liver from ischemia-reperfusion injury. *Transplant international*, 10(2), 96-102.

**Frost & Sulliva(2009).** North American and Western European biopesticides market. M472-39.

**Gambogou, B., Ameyapoh, Y. A., Gbekley, H. E., Soncy, K., Anani, K., & Karou, S. D. (2019).** Revue sur l'Ail et ses Composés Bioactifs.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Garg, D. P., Bhalla, P., Kiran, R., Bansal, A., & Dhawan, D. K. (2009).** Vitamin E-mediated protection on methomyl-induced alterations in rat liver. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 91(4), 685-698.
- Ghalehkandi, J. G. (2018).** Garlic (*Allium sativum*) juice protects from semen oxidative stress in male rats exposed to chromium chloride. *Animal Reproduction (AR)*, 11(4), 526-532.
- Ghesquiere .C, (2016).** Les bienfaits de l'ail dans les maladies cardiovasculaires. thèse de doctorat. Université de Picardie Jules verne.p21, p22, p25.
- Giannini, E. G., Testa, R., & Savarino, V. (2005).** Liver enzyme alteration: a guide for clinicians. *Cmaj*, 172(3), 367-379.
- Goutille, F. (2022).** *Ne plus ignorer les agriculteurs: Une contribution de l'ergonomie à la prévention du risque pesticides en milieu viticole* (Doctoral dissertation, Université de Bordeaux).
- Grandjean, P. (2016).** *Cerveaux en danger: Protégeons nos enfants*. Buchet Chastel.
- Gülcin, I. (2012).** Antioxidant activity of food constituents: an overview. *Archives of toxicology*, 86, 345-391.
- Gupta, S., & Dikshit, A. K. (2010).** Biopesticides: An ecofriendly approach for pest control. *Journal of Biopesticides*, 3(Special Issue), 186.
- Gupta, S., Gupta, P.K., Kataria, M., Somvanshi, R., Shakoore, A., & Vijjan,V.K. (1998).** Toxicity of azadirachtin (neem) based formulation in rats. *Indian J. Environ. Toxicol.* 8. 77 - 80.
- Hafez, E. M., Issa, S. Y., Mazroua, M. K. A., Ibrahim, K. T., & Rahman, S. M. A. (2016).** The Neonicotinoid Insecticide Imidacloprid: A Male Reproductive System Toxicity Inducer-Human and Experimental Study. *Toxicology: Open Access*, 02(01), 1-8.
- Halaimia, A., & Chachoui, D. (2017).** *Effet d'un biopesticide, Azadirachtine à l'égard d'un ravageur des denrées stockées* (Doctoral dissertation, Université laarbi tebessi tebessa).
- Hall, A. P., Elcombe, C. R., Foster, J. R., Harada, T., Kaufmann, W., Knippel, A., ... & York, M. J. (2012).** Liver hypertrophy: a review of adaptive (adverse and non-adverse) changes—conclusions from the 3rd International ESTP Expert Workshop. *Toxicologic pathology*, 40(7), 971-994.
- Hammami, H., Bormann, J., M'hamdi, N., Montaldo, H. H., & Gengler, N. (2013).** Evaluation of heat stress effects on production traits and somatic cell score of Holsteins in a temperate environment. *Journal of dairy science*, 96(3), 1844-1855.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Harnly, M. E., Bradman, A., Nishioka, M., McKone, T. E., Smith, D., McLaughlin, R., ... & Eskenazi, B. (2009).** Pesticides in dust from homes in an agricultural area. *Environmental science & technology*, 43(23), 8767-8774.
- Hassouna, I., Ibrahim, H., Abdel Gaffar, F., El-Elaimy, I., & Abdel Latif, H. (2015).** Simultaneous administration of hesperidin or garlic oil modulates diazinon-induced hemato-and immunotoxicity in rats. *Immunopharmacology and immunotoxicology*, 37(5), 442-449.
- Hazira, S. B., Subhasini, S., Sasikumar, K., & Senthilnathan.(2020).** S. Effect of chronic exposure to azoxystrobin on enzyme activities in zebra fish (Danio Rerio). *Significance*, 4(131.786), 31-766.
- Hein.w, steinfeld.L ,Ourahmoun.N, Coleman.C.A , Zayer.L and littlefield. J. (2016).** Gender justice and the market : a transformative consumer research perspective . *Journal of Public Policy & Marketing* , 35 (2) , 233-236.
- Hemstreet III, G. P., Rao, J. Y., Hurst, R. E., Bonner, R. B., Waliszewski, P., Grossman, H. B., ... & Bane, B. L. (1996).** G- actin as a risk factor and modulatable endpoint for cancer chemoprevention trials. *Journal of Cellular Biochemistry*, 63(S25), 197-204.
- Jardim, A. N. O., & Caldas, E. D. (2012).** Brazilian monitoring programs for pesticide residues in food – results from 2001 to 2010. *Food Control*, 25, 607-616.
- 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.
- Jeyendran, R. (1984).** Van der V en H, Pérez-Peláez M, Grabo B & Zaneveld L. Development of an assay to asses the functional integrity of the human sperm membrane and its relationship to other semen characteristics. *J Reprod Fertil*, 70, 219-228.
- Jiang, X., Song, D., Wang, D., Zhang, R., Fang, Q., Sun, H., & Kong, F. (2020).** Eliminating imidacloprid and its toxicity by permanganate via highly selective partial oxidation. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 191, 110234.
- Jin, H., Yan, M., Pan, C., Liu, Z., Sha, X., Jiang, C., Li, L., Pan, M., Li, D., Han, X., & Ding, J. (2022).** Chronic exposure to polystyrene microplastics induced male reproductive toxicity and decreased testosterone levels via the LH-mediated LHR/cAMP/PKA/StAR pathway. *Particle and Fibre Toxicology*, 19(1), 1–17.
- Jin, J. M., & Yang, W. X. (2014).** Molecular regulation of hypothalamus–pituitary–gonads axis in males. *Gene*, 551(1), 15-25.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

**John, A., & Raza, H. (2022).** Alterations in Inflammatory Cytokines and Redox Homeostasis in LPS-Induced Pancreatic Beta-Cell Toxicity and Mitochondrial Stress: Protection by Azadirachtin. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 10(June), 1–14.

**Joshi, S. C., Bansal, B., & Jasuja, N. D. (2011).** Evaluation of reproductive and developmental toxicity of cypermethrin in male albino rats. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 93(3), 593-602.

**Kapoor, R., Srivastava, S., & Kakkar, P. (2009).** Bacopa monnieri modulates antioxidant responses in brain and kidney of diabetic rats. *Environmental toxicology and pharmacology*, 27(1), 62-69.

**Kaprara, A., & Huhtaniemi, I. T. (2018).** The hypothalamus-pituitary-gonad axis: Tales of mice and men. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 86, 3–17.

**Keikotlhaile, B. M., Spanoghe, P., & Steurbaut, W. (2010).** Effects of food processing on pesticide residues in fruits and vegetables: A meta-analysis approach. *Food and Chemical Toxicology*, 48(1), 1-6.

**Khan, D. A., Bhatti, M. M., Khan, F. A., Naqvi, S. T., & Karam, A. (2008).** Adverse effects of pesticides residues on biochemical markers in Pakistani tobacco farmers. *International journal of clinical and experimental medicine*, 1(3), 274.

**Khan, M., Shobha, J. C., Mohan, I. K., Naidu, M. U. R., Sundaram, C., Singh, S., ... & Kutala, V. K. (2005).** Protective effect of Spirulina against doxorubicin- induced cardiotoxicity. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 19(12), 1030-1037.

**Kheddam-Benadjal N. (2012).** Enquête sur la gestion des pesticides en Algérie et recherche d'une méthode de lutte alternative contre meloidogyne incognita (nématoda : meloidogynidae) .Mémoire de magister en sciences agronomiques: écologie des communautés biologiques. école nationale supérieure agronomique el Harrach-Alger ; 78p)

**Kilani-Morakchi, S., Morakchi-Goudjil, H., & Sifi, K. (2021).** Azadirachtin-based insecticide: Overview, risk assessments, and future directions. *Frontiers in Agronomy*, 3, 676208.

**Kim, M. R., Yukio, K., Kim, K. M., & Lee, C. H. (2008).** Tastes and structures of bitter peptide, asparagine-alanine-leucine-proline-glutamate, and its synthetic analogues. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(14), 5852-5858.

**Kimura-Kuroda, J., Komuta, Y., Kuroda, Y., Hayashi, M., & Kawano, H. (2012).** Nicotine-like effects of the neonicotinoid insecticides acetamiprid and imidacloprid on cellular neurons from neonatal rats. *PLoS ONE*, 7, e32432.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

**Kjeldsen, L. S., Ghisari, M., & Bonfeld-Jørgensen, E. C. (2013).** Currently used pesticides and their mixtures affect the function of sex hormone receptors and aromatase enzyme activity. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 272, 453-464.

**Koller, A. (1984).** Total serum protein. *Clin Chem*, 1316-1324.

**Korangi Alleluya, V., Kubindana, G., Fingu Mabola, J., Sulu, A., Kasereka, G., Matamba, A., & Ndindir, J. (2021).** Utilisation des biopesticides pour une agriculture durable en République Démocratique du Congo (Synthèse bibliographique). *Revue Africaine d'Environnement et d'Agriculture*.

**Kraus, W., Baumann, S., Bokel, M., Keller, U., Klenk, A., Pohnl, H., & Schwinger, M. (1987).** Insect feeding and development control by constituents of *Melia azedarach* and *Azadirachta indica*. In 11. International Congress of Plant Protection, Manila (Philippines), 5-9 Oct 1987.

**Kuler, D. (2022).** Présentation des maladies des plaquettes. M.D DPhil, Havard Medical School

**LAADJEL, T., & MECHERI, H. (2020).** *Nephrototoxicité induite par la Deltamethrine chez le rat et l'effet préventif d'une plante médicinale (Melissa officinalis) sur cette toxicité* (Doctoral dissertation, Université laarbi tebessi tebessa).

**Laghchimi Z. M., Majidi L., Renucci F., El Harrak A., & Costa J. (2014).** Composition chimique et effet des phases liquide et vapeur de l'huile essentielle de *Lavandula multifida* sur la croissance mycélienne des moisissures responsables de la pourriture de la pomme. *J. Mater. Environ. Sci.* 5 (6) 1770-1780.

**Lala, V.; Zubair, M.; Minter, D.A. (2022).** *Liver Function Tests*; StatPearls Publishing: Tampa, FL, USA.

**Lampiao, F., Matambo, E., & Banda, A. (2013).** The effects of acute administration of Chinese aphrodisiacs sold in Blantyre City on sperm characteristics and fertility profile in guinea pigs. *Malawi Medical Journal*, 25(3), 60–61.

**Langner, S. S., Hein, D. F., Sanguanpong, U., & Schmutterer, H. (2016).** Unusually versatile plant genus *Azadirachta* with many useful and so far incompletely exploited properties for agriculture, medicine and industry. *Acta Fytotechnica et Zootechnica*, 18(5), 1269-175

**Latifah, Y., Sherazi, S. T. H., & Bhangar, M. I. (2011).** Assessment of pesticide residues in commonly used vegetables in Hyderabad, Pakistan. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74(8), 2299-2303.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

**Laurent, P., Aubertot, J. N., Deguine, J. P., Ratnadass, A., & Gloanec, C. (2016).** *Protection agroécologique des cultures*. Quae.

**Laurin Marle-Claude.( 2007).** Etudes biologiques et toxicologiques de pesticides utilisés en pomiculture québécoise sur le prédateur acarien *anystis baccarum* (L.) Et analyse critique des dispositifs d'évaluation canadien et amérlicain de la toxicité des pesticides. Mémoire de Maîtrise en sciences de l'environnement. Université du Québec à Montréal. 172 p.

**Lee, T. H., Kim, W. R., & Poterucha, J. J. (2012).** Evaluation of elevated liver enzymes. *Clinics in liver disease*, 16(2), 183-198.

**Lévêque, A., & Cerisier-Auger, A. (2018).** Biodiversité-Les Chiffres Clés-Edition 2018.

**Li, W., Tai, L., Liu, J., Gai, Z., & Ding, G. (2014).** Monitoring of pesticide residues levels in fresh vegetable form Heibeï Province, North China. *Environmental monitoring and assessment*, 186, 6341-6349.

**Lindi, J. K., & Hyde, G. M. (2003).** Evaluation of abnormal liver function tests. *Postgraduate medical journal*, 79(932), 307-312.

**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.

**Lotfi, F., Ziamajidi, N., Abbasalipourkabir, R., Goodarzi, M. T., & Asl, S. S. (2021).** Impacts of garlic extract on testicular oxidative stress and sperm characteristics in type 1 and 2 diabetic rats: An experimental study. *International Journal of Reproductive BioMedicine*, 19(10), 929.

**Louat F. (2013).** Etude des effets liés à l'exposition aux insecticides chez un insecte modèle, *Drosophila melanogaster* », Thèse de doctorat, sous la direction de [Martine DECOVILLE], Orléans, Université d'Orléans ,214p

**Lucas, V., de Tourdonnet, S., Barbier, J. M., Cittadini, R. A., & Gasselin, P. (2018, December).** Le glyphosate en agriculture de conservation: un cas illustratif de la dépendance de l'agriculture française aux pesticides. In 12. *Journées de recherches en sciences sociales* (p. np).

**Luconi, M., Forti, G., & Baldi, E. (2006).** Pathophysiology of sperm motility. *Frontiers in Bioscience*, 11, 1433-1447.

**Madjida, B. O. U. A. A. L. I. (2022).** *PGPR et leur action sur les mécanismes de tolérance au stress abiotiques* (Doctoral dissertation, university center of abdalfahid boussouf-MILA).

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Mahdavi-Roshan, M., Mirmiran, P., Arjmand, M., Nasrollahzadeh, J., & Rismanchi, M. (2017).** Effects of garlic on brachial endothelial function and capacity of plasma to mediate cholesterol efflux in patients with coronary artery disease. *The Anatolian Journal of Cardiology*, 18(2), 116.
- Mahrouche Khaoula, N. S. (2020).** *Evaluation de l'activité de l'huile essentielle d'Azadirachta indica vis-à-vis d'Aspergillus flavus des noix du Juglans regia* (Doctoral dissertation).
- Malacari, L., Pétremand, G., Cochard, B., Lefort, F., & Rochefort, S. (2018).** Écologie saisonnière d'une espèce du genre Monophadnus (Hymenoptera: Tenthredinidae) sur Helleborus spp. et tentative de lutte biologique. *Revue d'écologie*.
- Manda, R. R., Addanki, V. A., & Srivastava, S. E. W. E. T. A. (2020).** Microbial bio-pesticides and botanicals as an alternative to synthetic pesticides in the sustainable agricultural production. *Plant Cell Biotechnol. Mol. Biol*, 21, 31-48.
- Mansour, S. A., & Mossa, A. T. H. (2011).** Adverse effects of exposure to low doses of chlorpyrifos in lactating rats. *Toxicology and industrial health*, 27(3), 213-224.
- Martins, N., Petropoulos, S., & Ferreira, I. C. (2016).** Chemical composition and bioactive compounds of garlic (*Allium sativum* L.) as affected by pre-and post-harvest conditions: A review. *Food chemistry*, 211, 41-50.
- Mehri, N., Felehgari, H., Harchegani, A. L., Behrooj, H., Kheiripour, N., Ghasemi, H., ... & Ranjbar, A. (2016).** Hepatoprotective effect of the root extract of green tea against malathion-induced oxidative stress in rats. *Journal of herbmed pharmacology*, 5(3), 116-119.
- Memon, S. A., Memon, N., Mal, B., Ahmed, S., & Shah, M. A. (2014).** Histopathological changes in the gonads of Male rabbits ( *Oryctolagus cuniculus* ) on exposure to imidacloprid insecticide. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 2(4), 159–163.
- Mendiola, J., Jørgensen, N., Andersson, A. M., Calafat, A. M., Ye, X., Redmon, J. B., ... & Swan, S. H. (2010).** Are environmental levels of bisphenol a associated with reproductive function in fertile men?. *Environmental health perspectives*, 118(9), 1286-1291.
- Meybeck, A., Laval, E., Lévesque, R., & Parent, G. (2017, September).** Sécurité alimentaire et nutrition à l'heure des changements climatiques. In *Communication présentée au Actes du Colloque international organisé par le gouvernement du Québec en collaboration avec la FAO, Québec* (pp. 24-27).
- Meziane, A., & Rezaiguia, A. (2021).** *Effet protecteur de Laurus nobilis contre le stress oxydant induit par un fongicide synthétique* (Doctoral dissertation, Université laarbi tebessi tebessa).

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

**Mikolić, A., & Karačonji, I. B. (2018).** Imidacloprid as reproductive toxicant and endocrine disruptor: Investigations in laboratory animals. *Arhiv Za Higijenu Rada i Toksikologiju*, 69(2), 103–108.

**Millot, P Pacaux-Lemoine, M. P., Trentesaux, D., Rey, G. Z. (2017).** Designing intelligent manufacturing systems through Human-Machine Cooperation principles: A human-centered approach. *Computers & Industrial Engineering*, 111, 581-595.

**Mnif, W., Hassine, A., Bouaziz, A., Bartegi, A., Thomas, O., & Roig, B. (2011).** Effect of endocrine disruptor pesticides: A review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 8, 2265-2303.

**Mohafrash, S. M. M., Hassan, E. E., El-shaer, N. H., & Mossa, A. T. H. (2021).** Detoxification Gene Expression, Genotoxicity, and Hepatorenal Damage Induced by Subacute Exposure to the New Pyrethroid, Imiprothrin, in Rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 28, 33505–33521.

**Mohamed, A. A. R., Mohamed, W. A. M., & Khater, S. I. (2017).** Imidacloprid induces various toxicological effects related to the expression of 3B-HSD, NR5A1, and OGG1 genes in mature and immature rats. *Environmental Pollution*, 221, 15–25.

**Momagri. (2016).** Chiffres-clés de l'Agriculture, <http://www.momagri.org/FR/chiffres-cles-de-l-agriculture/> Avec-pres-de-40%25-de-la-population-activemondiale-l-agriculture-est-le-premier-pourvoyeur-demploi-de-la-planete\_1066.html, (20/09/2017).

**Mondal, E., & Chakraborty, K. (2016).** *Azadirachta indica*-A tree with multifaceted applications: An overview. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 8(5), 299.

**Mordue, L.A.J., Morgan, E.D. & Nisbet, A.J. (2005).** Azadirachtin, a natural product in insect control. In: Gilbert, L.I., Iatrou, K. & Gill, S.S. (Eds). *Comprehensive Molecular Insect Science*. Elsevier, Oxford, UK.6: 117–135.

**Moreira, S., Pereira, S. C., Seco-Rovira, V., Oliveira, P. F., Alves, M. G., & Pereira, M. de L. (2021).** Pesticides and male fertility: A dangerous crosstalk. *Metabolites*, 11(12). <https://doi.org/10.3390/metabo11120799>

**Moreira, S., Silva, R., Carrageta, D. F., Alves, M. G., Seco-Rovira, V., Oliveira, P. F., & Lourdes Pereira, M. (2022).** Carbamate pesticides: shedding light on their impact on the male reproductive system. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(15), 8206.

**Morgan, E. C., & Overholt, W. A. (2005).** Potential allelopathic effects of Brazilian pepper (*Schinus terebinthifolius* Raddi, Anacardiaceae) aqueous extract on germination and growth of selected Florida native plants I. *The Journal of the Torrey Botanical Society*, 132(1), 11-15.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

**Morgan, E. D. (2009).** Azadirachtin, a scientific gold mine. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 17(12), 4096-4105.

**Morgan, M. K., Wilson, N. K., & Chuang, J. C. (2014).** Exposures of 129 preschool children to Organochlorines, Organophosphates, Pyrethroids, and Acid Herbicides at Their Homes and Daycares in North Carolina. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 11, 3743-3764.

**Morovati, M., Mahmoudi, M., Ghazi-Khansari, M., Jabbari, L., & Khalililaria, A. (2009).** Sterility effect of the commercial neem extract NeemAzal-T/S<sup>®</sup>(*Azadirachta indica* A. Jus.) on male rats (*Rattus norvegicus*). *Turkish Journal of Zoology*, 33(2), 201-206.

**Moser, A. K. (2015).** Thinking green, buying green? Drivers of pro-environmental purchasing behavior. *Journal of consumer marketing*.

**Mossa A.-T. H., Abdel Rasoul M. A., Mohafrash S. M. M. (2017).** Lactational exposure to abamectin induced mortality and adverse biochemical and histopathological effects in suckling pups. *Environmental Science and Pollution Research*. 24 (11):10150–10165.

**Murkute, A. A. (2020).** In-vitro scape and bulb formation in garlic (*Allium sativum*). *Current Horticulture*, 8(2), 44-46.

**Murray, R. L. (1984).** Creatinine. In: Kaplan, L. A. and Pesce, A. J. (Eds.), *Clinical Chemistry: Theory, Analysis, and Correlation*. St. Louis, Toronto, Princeton: The C. V. Mosby Company, 1261-1266.

**Mylène. P. (2022).** L'impact des pesticides sur l'environnement ://abgi-france.com/impact-des-pesticides-sur-environnement/

**Naeher, L. P., Tulse, N. S., Egeghy, P. P., Barr, D. B., Adetona, O., Fortmann, R. C., ... & Sheldon, L. S. (2010).** Organophosphorus and pyrethroid insecticide urinary metabolite concentrations in young children living in a southeastern United States city. *Science of the total environment*, 408(5), 1145-1153.

**Najafi, G. R., Razi, M., Houshyar, A., Shah, M. S., & Feyzi, S. (2010).** The effect of chronic exposure with imidacloprid insecticide on fertility in mature male rats. 4(1), 9–16.

**Nakamura, K., Ishii, Y., Takasu, S., Nohmi, T., Shibutani, M., & Ogawa, K. (2020).** Lack of in vivo mutagenicity of acetamide in a 13-week comprehensive toxicity study using F344 gpt delta rats. *Toxicological Sciences*, 177(2), 431-440.

**Nasr, A. Y. (2017).** The impact of aged garlic extract on adriamycin-induced testicular changes in adult male Wistar rats. *Acta Histochemica*, 119(6), 648-662.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Nässel, D. R., & Broeck, J. V. (2016). Insulin/IGF signaling in *Drosophila* and other insects: factors that regulate production, release and post-release action of the insulin-like peptides. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 73, 271-290.
- Nikolova, G., Ananiev, J., Ivanov, V., Petkova-Parlapanska, K., Georgieva, E., & Karamalakova, Y. (2022). The *Azadirachta indica* (Neem) Seed Oil Reduced Chronic Redox-Homeostasis Imbalance in a Mice Experimental Model on Ochratoxine A-Induced Hepatotoxicity. *Antioxidants*, 11(9), 1678.
- Nimako, C., Ikenaka, Y., Okamatsu-Ogura, Y., Bariuan, J. V., Kobayashi, A., Yamazaki, R., ... & Ishizuka, M. (2021). Chronic low-dose exposure to imidacloprid potentiates high fat diet-mediated liver steatosis in C57BL/6J male mice. *Journal of Veterinary Medical Science*, 83(3), 487-500.
- Njoga, U. J., Jaja, I. F., Onwuka, O. S., Ilo, S. U., Eke, I. G., Abah, K. O., ... & Ochiogu, I. S. (2022). Reproductive effects of medicinal plant (*Azadirachta indica*) used as forage and for ethnoveterinary practices: new insights from animal models. *Challenges*, 13(2), 40.
- Noori, S., Azmat, M., & Mahboob, T. (2012). Study on antioxidant effects of cinnamon and garlic extract in liver, kidney and heart tissue of rat. *Biosci Res*, 9(1), 17-22.
- Nwachukwu, I. D., & Asawalam, E. F. (2014). Laboratory evaluation of freshly prepared juice from garlic (*Allium sativum* L.) Liliaceae as protectants against the maize weevil, *Sitophilus zeamais* (Motsch.)(Coleoptera: Curculionidae]. *African Journal of Biotechnology*, 13(10).
- Nyblom, H. B. U. B. J., Berggren, U., Balldin, J., & Olsson, R. (2004). High AST/ALT ratio may indicate advanced alcoholic liver disease rather than heavy drinking. *Alcohol and alcoholism*, 39(4), 336-339.
- O.M.S. (Organisation Mondiale de la Santé). (1993). Manuel de laboratoire de l'OMS. *Analyse du sperme humain et de l'interaction des spermatozoïdes avec le mucus cervical*. Paris, Editions INSERM, 99-103.
- Ohkawa, H., Ohishi, N., & Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*, 95(2), 351-358.
- Oi, Y., Imafuku, M., Shishido, C., Kominato, Y., Nishimura, S., & Iwai, K. (2001). Garlic supplementation increases testicular testosterone and decreases plasma corticosterone in rats fed a high protein diet. *The Journal of nutrition*, 131(8), 2150-2156.
- Okombe Embeya, V., & Nzuzi Mavungu, G. (2019). Study of the antibacterial activity (in vitro) of aqueous and methanolic extracts of garlic (*Allium sativum* L.). *Journal of Applied Biosciences*, 141, 14419-14425.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

**Ola-Mudathir, K. F., Suru, S. M., Fafunso, M. A., Obioha, U. E., & Faremi, T. Y. (2008).** Protective roles of onion and garlic extracts on cadmium-induced changes in sperm characteristics and testicular oxidative damage in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 46(12), 3604–3611.

**Oliva, A., Spira, A., & Multigner, A. (2001).** Contribution of environmental factors to the risk of male infertility. *Human Reproduction*, 16(8), 1768-1776.

**Olivier, G., & Salson, L. (2008).** Recolte et conservation du sperme chez les felins: etude bibliographique.

**Omar, A. A. A.-H., Gad, M. F., Refaie, A. A., Abdelhafez, H. M., & Mossa, A.-T. H. (2023).** Benchmark Dose Approach to DNA and Liver Damage by Chlorpyrifos and Imidacloprid in Male Rats: The Protective Effect of a Clove-Oil-Based Nanoemulsion Loaded with Pomegranate Peel Extract. *Toxics*, 11(7), 569.

**Osonuga, I., Faponle, A., Ezima, E., Adenowo, T., & Adelegan, A. (2020).** Effect of aqueous extract of *Allium sativum* (Garlic) on fertility in male Wistar rats. *Annals of Health Research*, 8642, 100–107.

**OUEDRAOGO, F., & TAPSOBA, K. P. (2023).** Chapitre I. *L'agroécologie sous le prisme de la recherche scientifique pluridisciplinaire*, 23.

**Overbeck, R.K., Beat, H. (2014).** Transaminases : quand les doser – comment les interpréter.

**Palmieri, O. (2021).** Place des Vêtements imprégnés industriellement de perméthrine dans la protection des salariés exposés professionnellement aux piqûres de tiques et à la maladie de Lyme.

**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.

**Pang, S., Lin, Z., Zhang, Y., Zhang, W., Alansary, N., Mishra, S., ... & Chen, S. (2020).** **Insights** into the toxicity and degradation mechanisms of imidacloprid via physicochemical and microbial approaches. *Toxics*, 8(3), 65.

**Park, K. H., Yoon, H., Han, B. S., Lee, J. B., Jeong, M. H., Cho, N., ... & Paik, M. K. (2014).** Effects of Aqueous *Azadirachta indica* Extract on Hepatotoxicity in Rats. *Korean Journal of Environmental Agriculture*, 33(4), 395-402.

**Parveen, G. H. A. Z. A. L. A., & Alam, M. M. (1993).** Bioactivity against plant pathogens. *Neem Research and Development*. Society of Pesticide Science, New Delhi, India, 144-153.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

**Pascale, A., & Laborde, A. (2020).** Impact of pesticide exposure in childhood. *Reviews on environmental health*, 35(3), 221-227.

**Pathania, D., Thakur, M., & Sharma, A. (2020).** Photocatalytical degradation of pesticides. In *Nano-Materials as Photocatalysts for Degradation of Environmental Pollutants* (pp. 153-172). Elsevier.

**Paul, A. S., & Pollard, T. D. (2009).** Review of the mechanism of processive actin filament elongation by formins. *Cell motility and the cytoskeleton*, 66(8), 606-617.

**Peiris, D. C., Dhanushka, T. (2017).** Low Doses of Chlorpyrifos Interfere with Spermatogenesis of Rats through Reduction of Sex Hormones. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(22), 20859–20867.

**Pham, A.-L. (2009).** Pourquoi l'ail prévient du H1N1 selon les Chinois. L'Express. [http://www.lexpress.fr/styles/saveurs/pourquoi-l-ail-previent-du-h1n1-selon-les-chinois\\_835119.html#2bkgbeJc8vw68utl](http://www.lexpress.fr/styles/saveurs/pourquoi-l-ail-previent-du-h1n1-selon-les-chinois_835119.html#2bkgbeJc8vw68utl).

**Pöhl, H. (1985).** Neue verbindungen der Azadirachtin-Reihe und andere biologisch active tetranor-triterpenoide aus *Melia azedarach* L. Isolierung und Strukturaufklärung. Doctor. Thesis, Univ. of Hohenheim, Germany.

**Qiao, J., Zou, X., Lai, D., Yan, Y., Wang, Q., Li, W., ... & Gu, H. (2014).** Azadirachtin blocks the calcium channel and modulates the cholinergic miniature synaptic current in the central nervous system of *Drosophila*. *Pest management science*, 70(7), 1041-1047.

**Rahman, M.F., Siddiqui, M.K.J., & Jamil, K. (2001).** Effects of vepacide (*Azadirachta indica*) on aspartate and alanine aminotransferase profiles in a subchronic study with rats. *Hum. Exp. Toxicol.* 20. 243 - 249.

**Rais, N., Parveen, K., Ahmad, R., Siddiqui, W. A., Nadeem, A., & Ved, A. (2022).** S-allyl Cysteine and Taurine revert peripheral metabolic and lipid profile in non-insulin-dependent diabetes mellitus animals: Combination vs Monotherapy. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 58, 1–10. <https://doi.org/10.1590/s2175-97902022e201183>

**Rauf, A., Abu-Izneid, T., Thiruvengadam, M., Imran, M., Olatunde, A., Shariati, M. A., ... & Kazhybayeva, G. (2022).** Garlic (*Allium sativum* L.): Its chemistry, nutritional composition, toxicity, and anticancer properties. *Current topics in medicinal chemistry*, 22(11), 957-972.

**Ravindranath H, Aladakatti. B, Sukesh1, Umadevi. C, Jadaramkunti and M.B. Hiremath. (2011).** Aspects of the antiandrogenic/antifertility property of Azadirachtin-a from *Azadirachta indica* leaves in male albino rats: effect on the biochemical and cauda epididymalsperm parameters, *Recent Research in Science and Technology*, 3(2): 34-46.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Reffstrup, T. K., Larsen, J. L., Meyer, O. (2010).** Risk assessment of mixtures of pesticides: Current approaches and future strategies. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 56, 174-192.
- Regnault-Roger, C., Philogène, B. J. R. (2008).** Past and Current Prospects for the Use of Botanicals and Plant Allelochemicals in Integrated Pest Management. *Pharmaceutical Biology*, 46(12), 4152.
- Richard, C., Walters, K. F., Gaskell, P. H., Lee, Y. C., Thompson, H. M., Emerson, D.R., & Gu, X. J. (2010).** Recent advances in computational fluid dynamics relevant to the modelling of pesticide flow on leaf surfaces. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, 66(1), 2-9.
- Rinaldi, S., Casorri, L., Masciarelli, E., Ficociello, B., Visconti, U., Papetti, P., ... & Beni, C. (2019).** Prospects of using garlic extracts for pest control in sustainable agriculture. *Fres. Environ. Bull*, 28, 535-540.
- Rosenblum, J. D. (2020).** A Brief History of Jews and Garlic. *Feasting and Fasting: The History and Ethics of Jewish Food*, 147.
- Roychoudhury, R. (2016).** Neem products. In *Ecofriendly pest management for food security* (pp. 545-562). Academic Press.
- Saadi, G., EL- ANSARY, M. E. R. V. A. T. & ABD EL- HAMID, S. M. (2012).** Mesenchymal stem cells are a rescue approach for recovery of deteriorating kidney function. *Nephrology*, 17(7), 650-657.
- Sadogh, A., Gorji, N., & Moeini, R. (2022).** Herbal foodstuffs in Avicenna's recommended diet to improve sperm quality and increase male fertility; an evidence-based approach. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, 19(1), 47–70. <https://doi.org/10.1515/jcim-2020-0254>
- Sahu, A. K., Sahu, B., Soni, A., & Naithani, S. C. (2017).** Active oxygen species metabolism in neem (*Azadirachta indica*) seeds exposed to natural ageing and controlled deterioration. *Acta Physiologiae Plantarum*, 39, 1-12.
- Sambou, A. K. (2018).** Pratiques agricoles et risques sanitaires associés à l'utilisation des produits phytosanitaires en milieu rural casamançais: cas des villages de Diannah et de Kabadio (district de santé de Diouloulou).
- Samir AM, Z., Eman GE, H., Nabil, F., Mohammed SAA, A. S., & Amira B, A. G. (2009).** Physiological study about imidacloprid toxicity and the role of vitamin" C" as a protective agent on Japanese quails.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Sani, I., Umar, R. A., Hassan, S. W., Faruq, U. Z., Bello, F., Aminu, H., & Sulaiman, A. (2020).** Hepatoprotective effect of *Azadirachta indica* leaf fractionated extracts against snake venom toxicity on albino rats. *Saudi J. Biomed. Res*, 5(6), 112-117.
- Sato, S., Sekine, Y., Kakumu, Y., & Hiramoto, T. (2020).** Measurement of diallyl disulfide and allyl methyl sulfide emanating from human skin surface and influence of ingestion of grilled garlic. *Scientific Reports*, 10(1), 465.
- Scheffler, L., Sauermann, Y., Heinlein, A., Sharapa, C., & Buettner, A. (2016).** Detection of volatile metabolites derived from garlic (*Allium sativum*) in human urine. *Metabolites*, 6(4), 43.
- Schiffers, B. (2016).** Produits de bio-contrôle, biopesticides, bioherbicides: Quels sont ces produits? A-t-on évalué les risques liés à leur emploi?. *Gestion différenciée-Newsletter*.
- Schmutterer, H. (2002).** The Neem Tree, *Azadirachta indica* A. Juss and Other Meliaceae Plant Sources of Unique Natural Products for Integrated Pest Management, Medicine and Purposes. Mumbai, India. Neem Foundation, 2, 893.
- Schultz, A. (1984).** Uric acid. In: Kaplan LA and Pesce AJ. Eds. *Clinical Chemistry: Theory, Analysis and Correlation*. St Louis. Toronto. Princeton: The C. V. Mosby Company. 1261-6.
- Sellers, R.S., Morton, D., Michael, B., Roome, N., Johnson, J.K., Yano, B.L., Perry, R., & Schafer, K. (2007).** Society of Toxicologic Pathology Position Paper: Organ Weight Recommendations for Toxicology Studies. *Toxicologic Pathology*, 35, 751–755.
- Sevim, Ç., Akpınar, E., Aksu, E. H., Ömür, A. D., Yıldırım, S., Kara, M., ... & Ersoylu, R. N. (2023).** Reproductive Effects of *S. boulandii* on Sub-Chronic Acetamiprid and Imidacloprid Toxicity in Male Rats. *Toxics*, 11(2), 170.
- Shaheamlung, G., Kaur, H., & Kaur, M. (2020, June).** A Survey on machine learning techniques for the diagnosis of liver disease. In *2020 International Conference on Intelligent Engineering and Management (ICIEM)* (pp. 337-341). IEEE.
- Shang, A., Cao, S. Y., Xu, X. Y., Gan, R. Y., Tang, G. Y., Corke, H., ... & Li, H. B. (2019).** Bioactive compounds and biological functions of garlic (*Allium sativum* L.). *Foods*, 8(7), 246.
- Shao, X., Lai, D., Zhang, L., & Xu, H. (2016).** Induction of autophagy and apoptosis via PI3K/AKT/TOR pathways by azadirachtin in *Spodoptera litura* cells. *Scientific Reports*, 6(1), 35482.
- Sharma, A., Minhas, S., Dhillo, W. S., & Jayasena, C. N. (2021).** Male infertility due to testicular disorders. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 106(2), E442–E459. <https://doi.org/10.1210/clinem/dgaa781>

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Shaurub, E. S. H., Abd El-Meguid, A., & Abd El-Aziz, N. M. (2014).** Quantitative and ultrastructural changes in the haemocytes of *Spodoptera littoralis* (Boisd.) treated individually or in combination with *Spodoptera littoralis* multicapsid nucleopolyhedrovirus (SpliMNPV) and azadirachtin. *Micron*, 65, 62-68.
- Shibahara, H., Obara, H., Ayustawati, Hirano, Y., Suzuki, T., Ohno, A., Takamizawa, S., & Suzuki, M. (2004).** Prediction of pregnancy by intrauterine insemination using CASA estimates and strict criteria in patients with male factor infertility. *International Journal of Andrology*, 27(2), 63–68. <https://doi.org/10.1111/j.0105-6263.2004.00437.x>
- Shu, B., Zhang, J., Cui, G., Sun, R., Yi, X., & Zhong, G. (2018).** Azadirachtin affects the growth of *Spodoptera litura* Fabricius by inducing apoptosis in larval midgut. *Frontiers in physiology*, 9, 137.
- Sombatsiri, K., Ermel, K., & Schmutterer, H. (2002).** The Thai neem tree: *Azadirachta siamensis*. *The Neem Tree*, 745-760.
- Soujanya, S., Lakshman, M., Madhuri, D., Reddy, A. G., & Rao, S. V. (2020).** Hematological Alterations Induced by Imidacloprid and Ameliorative Effect of *Withania somnifera* in Female Albino Wistar Rats. *Journal of Animal Research*, 10(2), 215-220.
- Srivastava, A. K., Trivedi, P., Srivastava, M. K., Lohani, M., & Srivastava, L. P. (2011).** Monitoring of pesticide residues in market basket samples of vegetable from Lucknow City, India: QuEChERS method. *Environmental Monitoring and Assessment*, 176, 465-472.
- Srivastava, S. K. (2007).** Green supply- chain management: a state- of- the- art literatur review. *International journal of management reviews*, 9(1), 53-80.
- Starr, J., Graham, S., & Stout, I. (2008).** Pyrethroid pesticides and their metabolites in vacuum cleaner dust collected from homes and day-care centers. *Environmental Research*, 108, 271-279.
- Sutton, P., Wallinga, D., Perron, J., Gottlieb, M., Sayre, L., & Woodruff, T. (2011).** Reproductive health and the industrialized food system: a point of intervention for health policy. *Health Affairs*, 30(5), 888-897.
- Szydło, Z. A. (2022).** The beginnings of chemistry: from ancient times until 1661. *Pure and Applied Chemistry*, 94(7), 869-888.
- Takemura, S., Ichikawa, H., Naito, Y., Takagi, T., Yoshikawa, T., & Minamiyama, Y. (2014).** S-allyl cysteine ameliorates the quality of sperm and provides protection from age-related sperm dysfunction and oxidative stress in rats. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 55(3), 155–161.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Talbi, A., Khelili, K., Remita, F., & Abdennour, C. (2022).** The benefit of Silybum marianum in ethanol-induced reprotoxicity of male Wistar rat. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 58, 1–10.
- Tariba Lovaković, B., Kašuba, V., Sekovanić, A., Orct, T., Jančec, A., & Pizent, A. (2021).** Effects of sub-chronic exposure to imidacloprid on reproductive organs of adult male rats: antioxidant state, dna damage, and levels of essential elements. *Antioxidants*, 10(12), 1965.
- Tilbrook, A. J., & Clarke, I. J. (2001).** Negative feedback regulation of the secretion and actions of gonadotropin-releasing hormone in males. *Biology of reproduction*, 64(3), 735-742.
- Tiwari, S., Rajamanickam, G., Unnikrishnan, V., Ojaghi, M., Kastelic, J. P., & Thundathil, J. C. (2022).** Testis-Specific Isoform of Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> ATPase and Regulation of Bull Fertility. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(14). <https://doi.org/10.3390/ijms23147936>
- 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.
- Traoré, A. (2023).** Etude socio-anthropologique sur les usages et perceptions des produits chimiques (produits phytosanitaires de synthèse et antibiotiques) utilisés en agriculture et en élevage dans le département de Vélingara.
- Tudi, M., Daniel Ruan, H., Wang, L., Lyu, J., Sadler, R., Connell, D., ... & Phung, D. T. (2021).** Agriculture development, pesticide application and its impact on the environment. *International journal of environmental research and public health*, 18(3), 1112.
- Tyagi AK, Gupta SC, Prasad S, Tyagi AK et al. (2017).** Neem (*Azadirachta indica*): An indian traditional panacea with modern molecular basis. *Phytomedicine*; 34: 14-20.
- Usende, I. L., Olopade, J. O., Emikpe, B. O., & Nafady, A. A. H. M. (2020).** Biochemical and ultrastructural changes in kidney and liver of African Giant Rats (*Cricetomys gambianus*, Waterhouse, 1840) exposed to intraperitoneal sodium metavanadate (vanadium) intoxication. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 79, 103414.
- Vamsee Veena, A., Jyothi, Y., Rina Pokhrel, R. G., & Yadav, V. (2015).** Comparative anti anemic activity of *Azadirachta indica* leaves and its combination with *Embllica officinalis* in phenyl hydrazine induced anemia using rats. *Journal of chemical and Pharmaceutical research*, 7(8), 1019-1022.
- Vignes, P., Vignes, D., Debuigne, G., & Couplan, F. (2022).** *L'herbier des plantes qui guérissent*. Larousse.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Vlaiculescu, A., & Varrone, C. (2022).** Sustainable and eco-friendly alternatives to reduce the use of pesticides. In *Pesticides in the Natural Environment* (pp. 329-364). Elsevier.
- Voća, S., Šic Žlabur, J., Fabek Uher, S., Peša, M., Opačić, N., & Radman, S. (2021).** Neglected potential of wild garlic (*Allium ursinum* L.)—Specialized metabolites content and antioxidant capacity of wild populations in relation to location and plant phenophase. *Horticulturae*, 8(1), 24.
- Vohra, P., & Khera, K. S. (2015).** A Three Generation Study with effect of imidacloprid in rats: biochemical and histopathological investigation. *Toxicology International*, 22(1), 119.
- Waibena, T. È. D. (2019).** Effet de l'adoption de la fertilisation organique et de la jachère améliorée sur le revenu des producteurs de maïs de la région maritime au Togo.
- Wang, S., Li, M., Wang, X., Li, X., Yin, H., Jiang, L., ... & Xie, K. (2017).** Diallyl trisulfide attenuated n-hexane induced neurotoxicity in rats by modulating P450 enzymes. *Chemico-biological interactions*, 265, 1-7.
- Weckbecker, G., & Cory, J. G. (1988).** Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione-depleted mouse leukemia L1210 cells in vitro. *Cancer Letters*, 40(3), 257–264.
- Wilkowska, A., & Biziuk, M. (2011).** Determination of pesticide residues in food matrices using the QuEChERS methodology. *Food Chemistry*, 125, 803-812.
- Woodcock, B. A., Bullock, J. M., Shore, R. F., Heard, M. S., Pereira, M. G., Redhead, J., ... & Pywell, R. F. (2017).** Country-specific effects of neonicotinoid pesticides on honey bees and wild bees. *Science*, 356(6345), 1393-1395.
- Wu, C., Wang, M., Cheng, Z., & Meng, H. (2016).** Response of garlic (*Allium sativum* L.) bolting and bulbing to temperature and photoperiod treatments. *Biology Open*, 5(4), 507-518.
- Yahia, E. (2016).** Effet de certains perturbateurs endocriniens (pesticides) sur la reproduction chez le rat Wistar. Thèse de doctorat. Université d'Annaba. P36.
- Yan, Y., Gu, H., Xu, H., & Zhang, Z. (2017).** Induction of aversive taste memory by azadirachtin and its effects on dopaminergic neurons of *Drosophila*. *Journal of South China Agricultural University*, 38(4), 12-18.
- Yang, C., & Liang, J. (2023).** Associations between neonicotinoids metabolites and hematologic parameters among US adults in NHANES 2015–2016. *Environmental Science and Pollution Research*, 30, 26327–26337. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-23997-4>.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

**Yap, C.Y.F., & Aw, T.C. (2010).** Liver Function Tests (LFTs). *Proceedings of the Singapore Healthcare*, 19, 80–82.

**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.

**Yuan, Y., Chen, C., Zheng, C., Wang, X., Yang, G., Wang, Q., & Zhang, Z. (2014).** Residue of chlorpyrifos and cypermethrin in vegetables and probabilistic exposure assessment for consumers in Zhejiang Province, China. *Food Control*, 36, 63-68.

**Zhang, W. (2018).** Global pesticide use: Profile, trend, cost/benefit and more. *Proceedings of the International Academy of Ecology and Environmental Sciences*, 8(1), 1.

**Zhou, J., Chen, L., Li, J., Li, H., Hong, Z., Xie, M., Chen, S., Yao, B., & Drevet, J. R. (2015).** The semen pH affects sperm motility and capacitation. *PLoS ONE*, 10(7), 1–15.

## Productions Scientifiques

Le travail exposé dans cette thèse de doctorat a fait l'objet d'une publication scientifique et plusieurs communications dans des congrès scientifiques nationaux et internationaux.

### ➤ Publication internationale

**TEKTAK Mohamed, MALLEM Leila, RENAULT David, & CHOUABIA Amel. (2023).**

Comparative toxic effects of chemical and botanical insecticides on the reproduction *Wistar* male rat. *Fresenius Environmental Bulletin* 32(12), 3332–3342.

Lien: [https://www.prt-parlar.de/download\\_list/?c=FEB\\_2023#](https://www.prt-parlar.de/download_list/?c=FEB_2023#)

### ➤ Communications scientifiques

#### Communications internationales

**TEKTAK Mohamed, MALLEM Leila, RENAULT David, ABDENNOUR Cherif.** Evaluation de la toxicité hépatique induite par un bio-insecticide d'origine végétale par rapport à un insecticide de synthèse chez le rat *wistar* male. 1<sup>st</sup> International Seminar on Pollution, Health, Environment and bio-monitoring, [Skikda, Algérie, Decembre 2021].

**TEKTAK Mohamed, MALLEM Leila, RENAULT David, BOUABDALLAH Narimene, ABDENNOUR Cherif.** Etude comparative des effets toxiques d'un insecticide chimique par rapport à un bio-insecticide sur les paramètres hématologiques chez le rat *Wistar*. Séminaire International sur la Biodiversité, Environnement et santé. [Tlemcen, Algérie, 21/09/2021-22/09/2021]

**TEKTAK Mohamed, MALLEM Leila, RENAULT David.** Etude comparative de la toxicité d'un pesticide chimique et un bio-pesticide sur la fonction rénale chez le rat *Wistar*. Congrès du Groupe Français de Recherche sur les Pesticides (GFP 2021). [Bruxelles, Belgique, 20/05/2021 - 27/05/2021].

**TEKTAK Mohamed, MALLEM Leila, ABDENNOUR Cherif.** Biopesticides in Algeria. International Biodiversity & Ecology Sciences Symposium. [Istanbul, Turquie Septembre 2019].

**TEKTAK Mohamed, MALLEM Leila, ABDENNOUR Cherif.** Biopesticides of plant origin in Algeria. International Seminar on Green Chemistry and Sustainable Engineering. [El-Oued, Algérie, Décembre 2019].

**TEKTAK Mohamed, MALLEM Leila, ABDENNOUR Cherif.** Etude comparative des effets toxiques des pesticides chimiques et naturels. 9e Rencontre Internationale de Toxicologie, [Oran, Algérie, Novembre 2019].

## **Communications nationales**

**TEKTAK Mohamed, MALLEM Leila, RENAULT David, ABDENNOUR Cherif.** Investigation sur l'induction d'un stress oxydant par un bio-insecticide vegetal par rapport à un insecticide chimique au niveau du foie chez le rat *Wistar* male. National Doctoral day and research FSNV. [Souk Ahras, Algérie, 15/12/2021].

**TEKTAK Mohamed, MALLEM Leila, RENAULT David, ABDENNOUR Cherif.** La reprotoxicité induite par un bio-insecticide d'origine végétale par rapport à un insecticide chimique chez le rat *Wistar* male. La 1ère Journée scientifique sur La Biochimie fonctionnelle et la physiopathologie cellulaire (JSBFPC). [Alger, Algérie, 06/11/2021]

**TEKTAK Mohamed, MALLEM Leila, RENAULT David, ABDENNOUR Cherif.** Comparative study on toxic effects of chemical insecticide and bio-insecticide on some fertility parameters in the male *Wistar* rat. Séminaire National: Ressources végétales, Produits Naturels et Santé (RVPNS2021). [Blida, Algérie, 06/2021].

**TEKTAK Mohamed, MALLEM Leila, BOUABDALLAH Narimene.** L'effet toxique d'un insecticide chimique par rapport à un bio-insecticide extrait du Neem. Conservatoire National des Formations à l'Environnement & Association Nationale Eco-conception, Analyse de Cycle de Vie et de Développement Durable affiliée au réseau des clubs UNESCO en Algérie, [Boumerdes, Algérie, Février 2020].

**TEKTAK Mohamed, MALLEM Leila, BOUABDALLAH Narimene, ABDENNOUR Cherif.** Study on the medicinal properties of Neem (*Azadirachta indica*). Première journée scientifique sur la biologie des plantes médicinales. [Tebessa, Algérie, Janvier 2020].

**TEKTAK Mohamed, MALLEM Leila, ABDENNOUR Cherif.** Etude sur les pouvoirs biofongicides de l'Ail (*Allium sativum*), 1er Séminaire national : L'apport des Biotechnologies sur la Protection de l'Environnement, [M'sila, Algérie, Décembre 2019].

**TEKTAK Mohamed, MALLEM Leila, ABDENNOUR Cherif.** Biopesticides, Plantes pesticides et protection naturelle des cultures. 2e édition du symposium national : Protection des végétaux en zones arides, [Biskra, Algérie, Novembre 2019]. « Communication Orale »

**TEKTAK Mohamed, MALLEM Leila, ABDENNOUR Cherif.** Etude sur les Biopesticides d'origine végétale en Algérie. Séminaire national de Biodiversité, Biologie médicale et ecotoxicologie environnementale. [Skikda, Algérie, Octobre 2019]

**TEKTAK Mohamed, MALLEM Leila, ABDENNOUR Cherif.** Etude comparative des effets toxiques des pesticides chimiques et naturels sur plusieurs paramètres physiologiques. 1er Séminaire national de Toxicologie « Perturbateurs endocriniens : Risques et impact sur la santé ». [Annaba, Algérie, Septembre 2019].

**TEKTAK Mohamed, MALLEM Leila, ABDENNOUR Cherif.** Les Biopesticides, des alternatives naturelles pour dispenser les pesticides chimiques. Séminaire national « Alimentation, Santé et Environnement : avancées et perspectives ». [Béjaia, Algérie, Septembre 2019].

# COMPARATIVE TOXIC EFFECTS OF CHEMICAL AND BOTANICAL INSECTICIDES ON THE REPRODUCTION AND OXIDATIVE STRESS PARAMETERS IN THE *Wistar* MALE RAT

Tektak Mohamed<sup>1,\*</sup>, Mallem Leila<sup>1,2</sup>, Renault David<sup>3</sup>, Chouabia Amel<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Animal Ecophysiology, Department of Biology, Faculty of Sciences, University Badji-Mokhtar-Annaba, BP 12 Sidi Amar Annaba 23000, Algeria

<sup>2</sup>Department of Dental Medicine, Faculty of Medicine, Route El Zaafrania BP 205, Annaba 23000, Algeria

<sup>3</sup> University of Rennes 1, UMR CNRS 6553 EcoBio, 35042 Rennes Cedex, France

## ABSTRACT

Occupational and environmental exposure to pesticides, that induce oxidative damage may impair male fertility. The present study aims to compare the toxic effects of a chemical insecticide (Imidacloprid) against two bio-pesticides (Azadirachtin) and aqueous garlic extract on male fertility and oxidative stress parameters in *Wistar* male rats. Animals were divided into 7 groups, the G1 served as the control group. G2, G3, G4, and G5 were orally fed Azadirachtin and Imidocloropid at 1/30 and 1/15 LD50, respectively. G6 and G7 were treated with 1/30 and 1/15 LD50 garlic aqueous extract for 6 weeks. The results showed a decrease in absolute testis mass in Imidocloropid and Azadirachtin-treated groups, and a significant decrease in testosterone level in Imidacloprid-treated groups compared to the control group. Sperm concentration, motility, viability, velocity, amplitude of lateral head displacement, and beat cross frequency were all significantly lower in Imidacloprid treated groups. In addition, as compared to the control group, these pesticides caused an increase in oxidative stress parameters such as MDA levels and a substantial decrease in GSH and GPx levels. Thus, we suggested that the bio-insecticide Azadirachtin was not strictly safe, and the aqueous garlic extract was less toxic than the two insecticides regarding its negative effects on male reproductive and oxidative stress parameters.

## KEYWORDS:

Chemical pesticide, fertility, insecticide, bio-insecticides, oxidative stress, rats

## INTRODUCTION

Agricultural productivity, can be adversely affected by numerous pests [1]. To maintain agriculture production at high levels, pesticides have been extensively used, but require careful identification of the factors impacting livestock or crop production so

that on-time application using the recommended method can be realized [2]. In many instances, pesticides have been proven successful at reducing pest populations, yet also had several unwanted environmental consequences owing to the negative effects they incur on non-target species [3]. They cause acute poisoning in mammals, as well as long-term health impacts, such as adverse effects on reproduction [4].

Among neonicotinoids, Imidacloprid have being intensively used over the years, representing a major class of highly potent insecticides sprayed for crop protection against piercing-sucking insects [5], yet although having adverse effects on non-target species, and could affect reproductive function [6], [7], reduce sperm count, motility, and viability [8], and cause oxidative effects by reducing testis GSH, and GPx [9]. Subchronic exposure to Imidacloprid can cause sperm abnormal velocity, and can also reduce the testosterone levels in male rats [10]. All of these alterations can lead to infertility [9].

Many countries have amended their policies to minimize – or ban – the use of chemical pesticides, in order to promote biopesticides [1], which can be defined natural products from living organisms including plants that limit or reduce pest populations [3]. Botanic pesticides are efficient for controlling a wide range of crop pests, they are easily biodegradable, have varied modes of action, and have low toxicity for non-target organisms [11]. They are able to disrupt insect mating or kill certain insect larvae. The protectors incorporated in the plants are pesticide substances produced from genetic material [12].

Azadirachtin is the main substance obtained from extracts of *Azadirachta indica*, belonging to the Meliaceae family [13] and has bio-insecticidal capabilities [14]. Azadirachtin has a variety of physiological effects on many insect pests, such as antifeedancy [15]. Importantly, the efficacy of Azadirachtin varies depending the plant part, especially when isolated from leaves or seeds [16]. Neem plants are growing on various continents [14]. Many investigations on male rats have indicated that oral administration of Azadirachtin was observed to lower sperm viability and serum testosterone levels [17].

On the other hand, plant-based insecticides derived from garlic extract, can be used to repel crop pests. In agriculture, it is well known that the odor of garlic (*Allium sativum*) can be utilized to repel numerous pests in plants. Garlic includes beneficial chemical substances such as essential oils, allyl disulfide, and allicin, which are good pest repellents. Furthermore, allicin is a chemical that gives garlic its characteristic odor [18].

The present work aims to comparing the toxic effects of the Imidacloprid, Azadirachtin, and an aqueous extract of garlic as bio-insecticide on male fertility and stress oxidative status in male Wistar rats.

## MATERIALS AND METHODS

**Animals.** This study was carried out on 56 male Wistar rats (8 in each group), each, about four months old and weighing between **250 and 300 g**. They were purchased from the Pasteur Institute in Algiers, Algeria. Rats were placed in polypropylene cages (230\*430 mm) at the animal housed in the biology department at Badji Mokhtar University under natural conditions of photoperiod at a temperature of  $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ . Animals were provided with a diet based on Corn, Barley, Soy, Phosphate, Limestone, Cellulose, Minerals and Vitamins from the eastern livestock feed unit, Oued Fragha – Guelma, Algeria) and free access to water *ad libitum*.

**Plant extraction.** In the manufacturing process of the aqueous garlic extract according to [19]. The method involved weighing and pulverizing peeled garlic bulbs using an electric grinder. The resulting grind was homogenized with 100 mL of distilled water in a high-speed blender for 15 minutes, followed by swirling for 24 hours for maceration. After filtration using a Wattman no.3 paper, the resultant aqueous extract of garlic was stored at  $3\pm 1^{\circ}\text{C}$  for subsequent use.

**Treatment.** After the adaptation period (20 days), rats were weighed and divided into 7 groups (8 rats in each group), and the rats were daily supplied with treated diet for 6 weeks as follows:

**Group 1 (G1):** the control group received a standard diet

**Group 2 (G2):** treated with 1/30 LD50 of Azadirachtin

**Group 3 (G3):** treated with 1/15 LD50 of Azadirachtin

**Group 4 (G4):** treated with 1/30 LD50 of Imidacloprid

**Group 5 (G5):** treated with 1/15 LD50 of Imidacloprid

**Group 6 (G6):** treated with 1/30 LD50 of the garlic aqueous extraction

**Group 7 (G7):** treated with 1/15 LD50 of the garlic aqueous extraction

For all experimental treatments, the bio-insecticide Azadirachtin, the aqueous extract of garlic, and the chemical pesticide Imidacloprid were mixed with a standard diet. Imidacloprid has an LD50 of 450 mg/kg [20], Azadirachtin has an LD50 of >5000 mg/kg [21], and garlic has an LD50 of 32g/kg [22].

**Collection of blood, sperm and testes. Sample collection.** At the end of the 6-week treatment period, rats were sacrificed. A volume of 3 ml of blood was collected dry tubes, which were centrifuged at 3000 rpm for 15 minutes at  $4^{\circ}\text{C}$  to separate the serum for testosterone analysis. Testes were pre-weighed and weighted using a KERN PRS 320-3 precision balance ( $d=0.1\text{mg}$ ) and stored at  $-20^{\circ}\text{C}$  for evaluation the oxidative stress parameters.

**Hormonal assays.** The enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method, as described in the manual for the commercial kit (produced by DGR Instruments GmbH, Germany), was used to measure the serum testosterone concentration.

**Sperm Analysis.** Sperm parameters including concentration, mobility, curvilinear velocity (VCL), velocity straight-line path (VSL), beat cross frequency (BCF), and lateral head displacement (ALH) were measured using CASA (Computer-Assisted Sperm Analysis) method with Sperm Class Analysis (SCA®, Microptic S.L, Barcelona, Spain. The sperm was diluted in a physiological solution of 0.9% NaCl at  $37^{\circ}\text{C}$ . 5  $\mu\text{l}$  of the mixture were placed in the Gold-Cyto counting chamber and the examination was carried out under a NIKON® ECLIPSE Ci microscope (Nikon E200-LED) using a x40 objective with negative-phase contrast and phase condenser contrast.

**Vitality.** The hypo-osmotic swelling test is used to assess the vitality and membrane integrity of spermatozoa, in particular the morphological changes of their tail. A solution containing sodium citrate and fructose is prepared and frozen for 10 minutes. After thawing, the solution is well mixed. To perform the test, 1 ml of the solution is placed in a water bath at  $37^{\circ}\text{C}$  for 3 minutes. Then, 0.1 ml of semen fluid is added and the whole is incubated at  $37^{\circ}\text{C}$  for 30 minutes. After observation under a microscope at a magnification of x40. The percentages of live and dead spermatozoa were manually calculated based on the analysis of 100 counted spermatozoa.

**Oxidative stress assays.** The preparation of the tissue homogenate was carried out by grinding one gram of tissue with 9 ml of a buffer solution called Tris-buffered saline (TBS) containing 50 mM Tris, 150 mM NaCl and a pH of 7.4. The cell suspension obtained was centrifuged at 3000 rpm for 15 minutes and the supernatant was stored at -20°C. This supernatant was used for the assays of the oxidative stress parameters.

The dosage of reduced glutathione (GSH) was carried out according to the method of Weckbecker & Cory [23]. This assay is based on the measurement of the optical absorbance of 2-nitro-5-mercaptopuric acid, which is formed by the reduction of 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoic acid (reagent of Ellman, DTNB) by the sulfhydryl groups (-SH) present in GSH.

The malondialdehyde (MDA) assay was performed on testicular samples. For the preparation of the homogenate, 500 mg of tissue were cold ground in the presence of a phosphate buffer solution. MDA is a product formed during the degradation of polyunsaturated fatty acids by free radicals. In our study, MDA levels in hepatic and testicular tissues were assessed according to the method of [24]. The assay is based on the reaction between MDA and thiobarbituric acid (TBA) at high temperature and in acidic medium, forming a colored pigment absorbing at 530 nm, which can be extracted by organic solvents such as butanol.

The enzyme activity of glutathione peroxidase (GPx) was assayed on testicle samples. For the preparation of the homogenate, 500 mg of each tissue were cold ground in the presence of a TBS solution. The enzymatic activity of GPx was measured according to the method of [25]. This method is based on the reduction of hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) in the presence of reduced glutathione (GSH), which is converted into oxidized glutathione (GSSG) by the action of GPx.

**Protein assay.** The protein concentration is determined using the method of [26] which uses Coomassie blue (G 250) as a reagent. Coomassie blue reacts with amino groups (-NH<sub>2</sub>) of proteins to form a blue colored complex. The intensity of the blue color reflects the degree of ionization of the acid medium and corresponds to the concentration of proteins.

**Statistical Analysis.** All results were expressed as means ± SEM. The statistical analysis was performed by computing *t*-student pairs between the control group and each treated group. The statistical analysis was carried out using GraphPad Prism Version 5.

## RESULTS AND DISCUSSION

Synthetic pesticides represent a significant cost for smallholder farmers and may not be widely available [27]. The purpose of this study is to evaluate the toxicity of a chemical insecticide to a plant bio-insecticide isolated from Neem (*Azadirachta indica*) and the aqueous extract of garlic on male fertility in *Wistar* rats after 6 weeks of treatment.

**Effects of the 6-week treatment on rats.** No death was recorded during the 6-week oral treatment of the rats, and no sign of adverse effects was noticed.

**Effects of the treatment on the weight of testes and epididymis.** The results of the experiment are presented in Table (1) and revealed a significant reduction in the mass of the testes in the rats which received one of the two tested doses of Imidacloprid, as compared with their control relatives. Conversely, the mass of the testes of the rats supplied with the garlic extracts was increased. There was no significant decrease in the weight of the testis and epididymis in the group treated with Azadirachtin as compared to the untreated rats.

Actually, pesticides have endocrine-affecting qualities that can disrupt the male reproductive system by upsetting the hypothalamic-pituitary-testicular axis [28]. As its name suggests, this axis is made up of the hypothalamus, pituitary gland, and testes. Multiple levels of regulation are in place for spermatogenesis, and new sperm function tests use molecular diagnostics [29].

It is known that testicular mass is a good clinical marker of male reproductive function [30]. It is suggested that the decrease in testis weight is probably due to two effects: the anti-spermatogenic is the first, which can decrease the diameter and number of spermatogonia, spermatocytes, and spermatids in the seminiferous tubules of the testis. The second one is the anti-androgenic effect, which reduces the number of sperm in the tubules of the testis [31]. The reduction in testicular mass observed in pesticide-treated rats could be attributed to a decrease in seminiferous tubule size [32] and a halt in spermatogenesis as a result of steroid biosynthesis inhibition; testosterone is a critical component in the normal development and functioning of the testes as it requires continuous androgenic stimulation [6].

Aladakatti et al. found that administering Azadirachtin (1.5 mg/kg body mass) for 24 days resulted in a reduction in the mean testis weight, which corroborated our findings [33]. Similarly, Lonare et al. discovered a substantial reduction in testis weight in rats orally treated with Imidacloprid [9]. It is mentioned that S-allyl cysteine, an active ingredient in garlic, is the most abundant bioactive compound [34]. According to a recent study on its effects, the garlic therapy had no influence on the Fischer rat's

testis weight ratio [35].

#### The effect of the chemicals on reproductive parameters and testosterone concentration.

Sperm concentration, viability, and velocity in the tail of the epididymis showed that sperm concentration was significantly decreased in the rat group treated with the lowest dose of Azadirachtin ( $p < 0.01$ ) (Table 2). These reproduction parameters were significantly decreased ( $p < 0.001$ ) in rats treated with the highest Azadirachtin dose. A similar finding was noted on the vitality (%) for the rats that were exposed to Imidacloprid in comparison to controls (Table 3). The motility of the sperm was also decreased at the highest dose of Azadirachtin, and with the two doses of the chemical pesticide imidacloprid, as compared to the control. As shown in Table (2), the number of viable spermatozoa decreased significantly in the Imidacloprid-treated animals as compared to the control group. The same result was observed in the curvilinear velocity (VCL) and average path velocity (VAP), which showed a significant reduction ( $p < 0.001$ ) in the G4 and G5 groups treated with imidacloprid compared to the control group (Table 3).

The reduction observed in sperm concentration and vitality in the groups treated with the chemical pesticide could be reasonably attributed to oxidative stress induced by the pesticides; it may also be explained by the drastic changes in testicular tissue generated by the depletion of type A turnover spermatogonia caused by Imidacloprid exposure, which plays an important role in the proliferation phase of spermatogenesis [36]. In addition, Imidacloprid induces an increase in ROS production in rats [9]. These free radicals may damage the testicular germ cells, resulting in changes in spermatogenesis that reduce the amount of spermatozoa [37]. Similar to this, it was discovered that oxidative stress causes DNA breakage, membrane lipid peroxidation, and apoptosis, all of which affect spermatozoa function [38].

The decrease in sperm motility measures found in our study appears to be an indication that sperm motility cannot be acquired or maintained. Since the spermatozoa tail is a crucial organ for spermatozoa motility, these results might be explained by disruptions to its morphology [39]. As a result, it was found that sperm flagella morphology significantly correlated with changes in sperm motility [39]. Alternatively, it might be due to any contraceptive drug that directly affects spermatozoa by changing their enzymes [40].

These findings back up those of Mohamed et al., who discovered a substantial sperm abnormality in adult rats subjected to 1 mg/mL/kg body weight of Imidacloprid for 65 days [41]. At 90 mg/kg, Imidacloprid oral 15-day therapy resulted in a reduction in sperm count, motility, and vitality in male rats [8]. In another study conducted by Aladakatti et al., the findings of Azadirachtin therapy at a dosage of 1.5 mg/kg body weight indicated a substantial reduction in sperm count and motility [33].

Osonuga et al. have reported that there were increases in sperm count, motility, and viability in the treatment of Wistar rats with garlic extract for 21 days [42]. Also, when Wistar rats were given garlic extract at a dose of 250 mg/kg for 15 days, there was an increase in sperm count and a decrease in sperm abnormalities [43]. In other research, after 35 days of administration of 400 mg/kg of garlic bulb aqueous extract to rats, it was found to improve sperm motility and viability in the Wistar rat [44].

It can be explained that garlic contains organo-sulfur compounds that contribute to the formation of reactive sulfur species [45]. The results are most likely due to the nutrients and sperm-producing precursors found in garlic. The active components from different chemical groups may be responsible for improving the quality and quantity of sperm production [46].

**TABLE 1**  
Mean body weight, testicular, and epididymis absolute weights (g) in treated rats compared to the control. Results are expressed as (Mean  $\pm$  SD, N = 8).

Groups	Control rats	Rats treated with Azadirachtin		Rats treated with Imidacloprid		Rats treated with Garlic Extracts	
	G1	G2 1/15 LD50	G3 1/30 LD50	G4 1/15 LD50	G5 1/30 LD50	G6 1/15 LD50	G7 1/30 LD50
TM (g)	1.681 $\pm$ 0.041	1.662 $\pm$ 0.070	1.650 $\pm$ 0.029	1.556 $\pm$ 0.148	1.549 $\pm$ 0.060*	1.717 $\pm$ 0.073	1.730 $\pm$ 0.041
EM (g)	0.631 $\pm$ 0.044	0.600 $\pm$ 0.044	0.561 $\pm$ 0.044	0.542 $\pm$ 0.139	0.520 $\pm$ 0.060	0.631 $\pm$ 0.054	0.640 $\pm$ 0.021
IBM (g)	260.3 $\pm$ 4.979	261.6 $\pm$ 5.012	261.1 $\pm$ 6.266	261.1 $\pm$ 5.436	260.4 $\pm$ 2.387	260.4 $\pm$ 6.093	262.6 $\pm$ 6.948
FBM (g)	294.5 $\pm$ 6.782	296.4 $\pm$ 5.208	294.8 $\pm$ 6.296	296.9 $\pm$ 6.232	298.3 $\pm$ 5.392	291.9 $\pm$ 7.200	286.6 $\pm$ 5.423
MG (g)	34.2	34.8	33.7	35.8	37.9	31.5	24

NS: at  $p > 0.05$ ; \* Significantly different from control at  $p < 0.05$  level; \*\* Significantly different from control at  $p < 0.01$  level; \*\*\* Significantly different from control at  $p < 0.001$  level; TW: Testes mass; EM: Epididymis mass; IBM: Initial body mass; FBM: Final body mass; MG: Mass gain.

Similar results in velocity parameters were obtained when rats were given Imidacloprid at dosages of 112 and 225 mg/kg orally for 60 days, resulting in a significant increase in aberrant sperm velocity [10]. The reduction in velocity parameters (VSL, VAP, and VCL) at pH 6.2 and 5.2 [47] may better show the influence of pesticides on environmental pH. In other hand the results can be explained by the role of the mitochondria as an energy generator, which is reflected in the sperm motility, velocity characteristics (VCL, VSL, and VAP), ALH, and BCF. It is possible that mitochondrial dysfunction, which lowers the energy needed for flagella movement [39], is the cause of the negative effects on the sperm motility parameters found in our results. Additionally, sperm motility, velocity, lateral head displacement, and beat cross frequency all depend on Na,K-ATPase  $\alpha 4$  isoform activity [48]. The Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> ATPase is a universal transmembrane protein, and only sperm and germ cells express its  $\alpha 4$  isoform (ATP1A4) [49]. Additionally, ATP1A4 controls signaling molecules in the raft and non-raft portions of the sperm plasma membrane to control activation, sperm-oocyte contacts, hyperactivation, and signaling molecules involved with capacitation. Abnormalities in these sperm characteristics have long been utilized as a predictor of male fertility [50]. Pesticides may block or deactivate the Na,K-ATPase or the  $\alpha 4$  isoform, which explains why.

The level of testosterone was significantly reduced in the rats which were supplied with food contaminated by Imidacloprid or Azadirachtin groups ( $p < 0.001$ ) as compared with control rats. This drop was more severe for rats exposed to Imidacloprid in comparison to untreated animals. The level of this hormone was increased in the rats treated with the highest dose of garlic extract in comparison to the control rats ( $p < 0.01$ ).

The sperm tail destruction and the drop in testosterone levels, indicating testicular dysfunction, was observed in mice treated with pesticides [51]. Furthermore, the reduced density of epididymal sperm may be linked to a change in androgen metabolism [52].

Pesticides, due to their affinity for androgen receptors, can stimulate or block these receptors, inhibiting their function [7]. They are likely to have an effect on the hypothalamus-pituitary axis, which produces the pulsatile gonadotropin-releasing hormone (GnRH), which is responsible for gonadotropins luteinizing (LH) secretion [53]. LH stimulates Leydig cells to synthesize testosterone; consequently, a reduction in LH may mean a reduction in testosterone levels [54]. Furthermore, endocrine-disrupting pesticides can interfere with normal hormone production, secretion, transport, metabolism, binding, or removal [55]. Many studies have found that pesticides impede non-specific esterase activity in Leydig cells, resulting in lower testosterone synthesis [10]. According to Moreira et al., the lowering of testosterone levels is a common impact of all kinds of pesticides on Leydig cells, and two main mechanisms appear to be responsible for this action [32]. The chemicals' first endocrine disruptive effects produce the inhibition of genes involved in the steroidogenic process, and their presence in organisms causes elevated levels of ROS, which in turn cause mitochondrial damage [32].

These findings are consistent with those of Mohamed et al., who discovered that blood testosterone levels were considerably lower in adult rats treated with Imidacloprid at a dosage of 1 mg/mL/kg body weight for 65 days [41]. Imidacloprid exposure can impair the proper functioning of animal endocrine systems by interfering with endogenous hormones [7]. Auta & Hassan discovered that giving male albino mice (5, 50 and 100 mg/kg body weight) dosages of commercial Azadirachtin insecticide extract for 6 days resulted in no significant variations in testosterone levels across experimental groups [56].

Similar outcomes have been noted in male Bouscat rabbits receiving daily doses of 3, 9, and 27 mg/kg of garlic extract for 8 weeks [57]. Similar outcomes were shown when Sprague-Dawley rats were given garlic oil at 80 mg/kg/day for five days a week for 90 days [58].

TABLE 2

Variation of the mean reproduction parameters in the control Azadirachtin treated groups ( $\bar{X} \pm SD$ ,  $n=8$ ).

Groups	G1: Control	Azadirachtin	
		G2: 1/30 LD50	G3: 1/15 LD50
Concentration (10 <sup>6</sup> / ml)	171.74 ± 4.620	164.222 ± 1.56 *	153.582 ± 2.72 ***
Motility (%)	87.29 ± 2.698	87.14 ± 2.315	76.27 ± 2.821 ***
Vitality (%)	82.80 ± 3.033	81.00 ± 2.550	73.00 ± 3.082
VCL (µm/s)	88.40 ± 5.520	83.41 ± 3.27	81.78 ± 2.38
VSL (µm/s)	16.29 ± 1.248	17.89 ± 1.410	17.19 ± 1.421
VAP (µm/s)	40.23 ± 0.460	40.83 ± 1.134	40.49 ± 0.822
ALH (µm)	4.764 ± 0.229	4.520 ± 0.185	4.408 ± 0.157
BCF (Hz)	4.542 ± 0.102	4.544 ± 0.083	4.284 ± 0.070**

**TABLE 3**  
Variation of the mean reproduction parameters in the control and Imidacloprid treated groups ( $\bar{X} \pm SD$ , n=8).

Groups	G1: Control	Imidacloprid	
		G4: 1/30 LD50	G5: 1/15 LD50
Concentration ( $10^6$ / ml)	171.74 $\pm$ 4.620	145.012 $\pm$ 3.45 ***	141.216 $\pm$ 4.60 ***
Motility (%)	87.29 $\pm$ 2.698	58.57 $\pm$ 0.691 ***	43.79 $\pm$ 2.776 ***
Vitality (%)	82.80 $\pm$ 3.033	57.00 $\pm$ 3.391 ***	53.60 $\pm$ 4.848 ***
VCL ( $\mu$ m/s)	88.40 $\pm$ 5.520	76.82 $\pm$ 3.32 *	75.17 $\pm$ 2.78
VSL ( $\mu$ m/s)	16.29 $\pm$ 1.248	16.29 $\pm$ 1.849	17.43 $\pm$ 1.156
VAP ( $\mu$ m/s)	40.23 $\pm$ 0.460	37.07 $\pm$ 0.668 **	36.04 $\pm$ 1.542 ***
ALH ( $\mu$ m)	4.764 $\pm$ 0.229	4.138 $\pm$ 0.156	3.906 $\pm$ 0.478 **
BCF (Hz)	4.542 $\pm$ 0.102	4.536 $\pm$ 0.0763 ***	4.220 $\pm$ 0.129 ***

**TABLE 4**  
Variation of the mean reproduction parameters in the control and groups with Garlic aqueous extract ( $\bar{X} \pm SD$ , n=8).

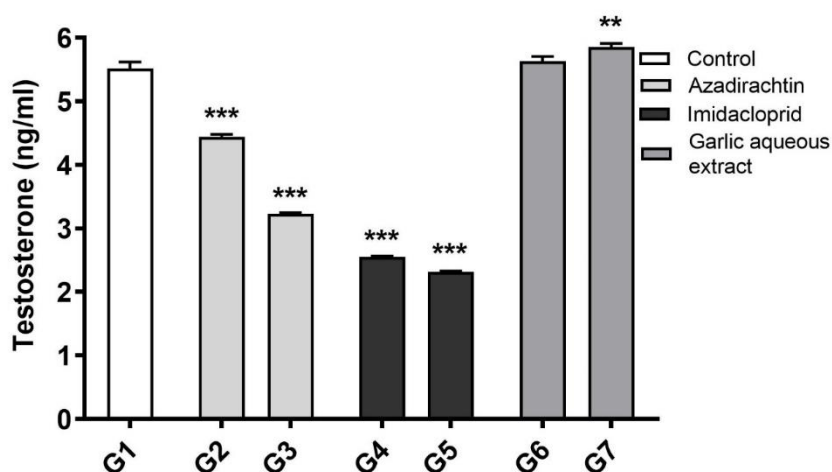
Groups	G1: Control	Garlic Aqueous Extract	
		G6: 1/30 LD50	G7: 1/15 LD50
Concentration ( $10^6$ / ml)	171.74 $\pm$ 4.620	172.68 $\pm$ 3.07	176.122 $\pm$ 4.22
Motility (%)	87.29 $\pm$ 2.698	86.41 $\pm$ 2.057	87.46 $\pm$ 4.658
Vitality (%)	82.80 $\pm$ 3.033	83.00 $\pm$ 2.00	87.60 $\pm$ 1.949
VCL ( $\mu$ m/s)	88.40 $\pm$ 5.520	86.19 $\pm$ 2.18	88.52 $\pm$ 3.53
VSL ( $\mu$ m/s)	16.29 $\pm$ 1.248	15.08 $\pm$ 0.797	12.56 $\pm$ 1.403 ***
VAP ( $\mu$ m/s)	40.23 $\pm$ 0.460	36.51 $\pm$ 2.076 **	41.05 $\pm$ 1.951
ALH ( $\mu$ m)	4.764 $\pm$ 0.229	4.306 $\pm$ 0.219	4.408 $\pm$ 0.337
BCF (Hz)	4.542 $\pm$ 0.102	4.016 $\pm$ 0.089	4.028 $\pm$ 0.221

NS: Not significantly different from control at  $p > 0.05$

\* Significantly different from control at  $p < 0.05$  level

\*\* Significantly different from control at  $p < 0.01$  level

\*\*\* Significantly different from control at  $p < 0.001$  level



**FIGURE 1**  
Mean testosterone concentration (ng/ml) in treated rats compared to the control group. (Mean  $\pm$  SD, N = 8).

NS: Not significantly different from control at  $p > 0.05$ , \* Significantly different from control at  $p < 0.05$  level, \*\* Significantly different from control at  $p < 0.01$  level, \*\*\* Significantly different from control at  $p < 0.001$  level.

**Effects of the chemicals on the oxidative stress markers.** The MDA levels were significantly higher in rats supplied with Imidacloprid-contaminated food and G3 treated with the highest dose of Azadirachtin than in the control group ( $p < 0.001$ ).

They were considerably higher and different from the control group in the Azadirachtin treatment group on the lower dose (Figure 1). When compared to the control group, they were significantly lower in

the garlic extract group at the highest dose, particularly in G7 treated with the highest dose.

In comparison to the control group, GSH and GPx levels decreased significantly ( $p < 0.001$ ) in both Imidacloprid groups. GSH did not show any changes in other groups (Figure 2). GPx levels were slightly decreased in G2 and showed a significant drop ( $p > 0.05$ ) in G3, which was treated with Azadirachtin at the highest dose. But there were not significantly higher levels in the garlic extract groups compared to the control group (Figure 2).

Malondialdehyde (MDA) is an essential indicator of oxidative lipid damage since it is a key oxidative product of peroxidized polyunsaturated fatty acids in tissue [59]. The MDA levels in the Azadirachtin and Imidacloprid treatments were somewhat significantly higher, while they were lower in the G-Ext groups.

Our findings are congruent with those of Bal et al., who observed a rise in MDA levels in the testes following 90 days of oral Imidacloprid administration at a dosage of 8 mg/kg to male rats [6]. Regarding the garlic effects, rats were given garlic bulb juice for 4 weeks at doses of 60 and 120 mg/kg, a decrease in the activity of semen MDA [60]. Similar outcomes were obtained when Wistar rats were given 250 mg/kg of garlic extract for 15 days [43]. According to Lotfi et al., the allicin in garlic can suppress LPO, trap free radicals, and lower blood lipid

levels [61]. Other research has demonstrated that the use of garlic can reduce oxidative stress [62].

Because testicular tissue divides rapidly and is extremely vulnerable to free radicals and oxidative stress [61]. Glutathione peroxidase activity levels increased in the groups treated with the aqueous extract of *A. indica* leaves, according to Christian et al.'s findings. Plant extracts with significant phenol and flavonoid content have demonstrated antioxidation properties [63]. Our findings may have been influenced by the presence of these phytochemicals. It is now that Azadirachtin can increase cellular survival under severe inflammatory and oxidative stress circumstances by shielding LPS-induced cells from inflammatory-related metabolic and molecular alterations and mitochondrial malfunction [64].

Imidacloprid induces an increase in ROS production [65]. The creation of excessive ROS generation may modify the cellular antioxidant defense system and, as a result, impair susceptibility to oxidative stress, which may be accountable for Imidacloprid's harmful impact [9]. ROS formation is believed to cause DNA damage, protein degradation, and lipid peroxidation (LPO), all of which cause harm to numerous essential tissues [9]. These extremely reactive free radicals deplete antioxidant defense mechanisms, which can lead to cell instability and oxidative damage to the cell membrane [6].

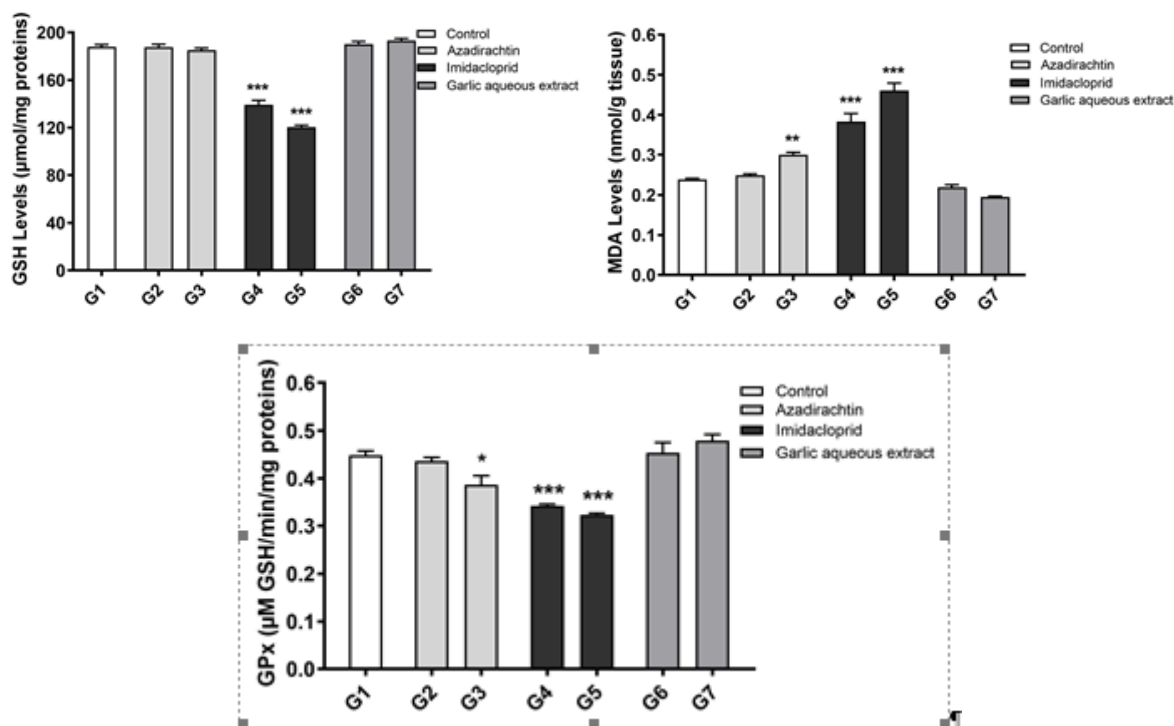


FIGURE 2

The mean Testicular levels of malondialdehyde (MDA) ( $\mu\text{mol/g tissue}$ ); glutathione (GSH) ( $\mu\text{mol/mg proteins}$ ) and glutathione peroxidase (GPx) ( $\mu\text{M GSH/min/mg proteins}$ ) of treated rats compared to control. (Mean  $\pm$  SD, N = 8).

NS: Not significantly different from control at  $p > 0.05$ , \* Significantly different from control at  $p < 0.05$  level, \*\* Significantly different from control at  $p < 0.01$  level, \*\*\* Significantly different from control at  $p < 0.001$  level.

In previous research, male adult rats treated with Imidacloprid at a dosage of 8 mg/kg for 90 days had a significant drop in GSH levels [6]. There were also some significant findings when GSH and GPx levels in the testis were reduced by Imidacloprid at 90 mg/kg

Garlic also reduced oxidative stress, neutralized free radicals, improved spermatogenesis, and increased fertility [66]. Due to its antioxidant characteristics, garlic is a wonderful choice for this [61]. Numerous studies show that garlic has antioxidant properties; an increase in GSH and GPx activities was seen in Wistar rats given garlic extract at a dosage of 250 mg/kg once daily for 15 days in order to study the damage Adriamycin caused to the testicles [43]. There was also an increase in antioxidant protection in the testes of rats treated with aqueous garlic extract at 400 mg/kg for 35 days [44]

## CONCLUSION

Exposure of rats to two doses of Imidacloprid and Azadirachtin by alimentation for 60 consecutive days may induce reproductive toxicity in male rats, which is manifested in reduced organ weight, decreased sperm concentration, motility, and velocity, and perturbation in the stress oxidative parameters. The treatment with the aqueous extract of garlic is less toxic in our experimental conditions.

## ACKNOWLEDGEMENTS

This research is supported by The Research Laboratory of Animal Ecophysiology, and thanks are given to Director Prof. ABDENNOUR Cherif for his support.

**Ethical approval.** Experimental procedures were performed according to the natural guide for the care and use of laboratory animals and approved by the animal sciences committee at Badji Mokhtar University in Algeria.

## REFERENCES

- [1] Kumar, S. and Singh, A. (2015) Biopesticides: Present Status and the Future Prospects. *J. Biofertil. Biopestic.* 06(02), 1-2.
- [2] Al-ahmadi, M.S. (2019) Pesticides, anthropogenic activities, and the health of our environment safety. In M. Larramendy & S. Soloneski (Eds.), *Pesticides-use and misuse and their impact in the environment*. IntechOpen. 136 (Chapter 4).
- [3] Samada, L.H. and Tambunan, U.S.F. (2020) Biopesticides as promising alternatives to chemical pesticides: A review of their current and future status. *Online J. Biol. Sci.* 20(2), 66–76.
- [4] Upadhayay, J., Rana, M., Juyal, V., Bisht, S. S., & Joshi, R. (2020). Impact of pesticide exposure and associated health effects. *Pesticides in crop production: physiological and biochemical action*, 69-88.
- [5] Duzguner, V. and Erdogan, S. (2010) Acute oxidant and inflammatory effects of imidacloprid on the mammalian central nervous system and liver in rats. *Pestic. Biochem. Physiol.* 97(1), 13–18.
- [6] Mikolić, A. and Karačonji, I.B. (2018) Imidacloprid as reproductive toxicant and endocrine disruptor: Investigations in laboratory animals. *Arh. Hig. Rada Toksikol.* 69(2), 103–108.
- [7] Bal, R., Naziroğlu, M., Türk, G., Yılmaz, Ö., Kuloğlu, T., Etem, E. and Baydas, G. (2012) Insecticide imidacloprid induces morphological and DNA damage through oxidative toxicity on the reproductive organs of developing male rats. *Cell Biochem. Funct.* 30(6), 492–499.
- [8] Hafez, E.M., Issa, S.Y., Mazroua, M.K.A., Ibrahim, K.T. and Rahman, S.M.A. (2016) The Neonicotinoid Insecticide Imidacloprid: A Male Reproductive System Toxicity Inducer-Human and Experimental Study. *Toxicol. Open Access.* 02(01), 1–8.
- [9] Lonare, M., Kumar, M., Raut, S., More, A., Doltade, S., Badgujar, P. and Telang, A. (2016) Evaluation of ameliorative effect of curcumin on imidacloprid-induced male reproductive toxicity in wistar rats. *Environ. Toxicol.* 31(10), 1250–1263.
- [10] Najafi, G.R., Razi, M., Houshyar, A., Shah, M.S. and Feyzi, S. (2010) The effect of chronic exposure with imidacloprid insecticide on fertility in mature male rats. *Inter. J. Fertil. Steril.* 4(1), 9–16.
- [11] Lengai, G.M.W., Muthomi, J.W. and Mbega, E.R. (2020) Phytochemical activity and role of botanical pesticides in pest management for sustainable agricultural crop production. *Sci. Afr.* 7, e00239.
- [12] Butu, M., Rodino, S. and Butu, A. (2022) Biopesticide formulations - current challenges and future perspectives. In *Biopesticides*. Elsevier. 19–29.
- [13] Seriana, I., Akmal, M., Darusman, D., and Wahyuni, S. (2019) Neem leaves extract (*Azadirachta indica* A. Juss) on male reproductive system: A mini-review. *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.* 399(1).
- [14] Oni, B.A. and Oluwatosin, D. (2020) Emission characteristics and performance of neem seed (*Azadirachta indica*) and Camelina (*Camelina sativa*) based biodiesel in diesel engine. *Renew. Energy.* 149, 725–734.

- [15] Qin, D., Zhang, P., Zhou, Y., Liu, B., Xiao, C., Chen, W. and Zhang, Z. (2020) Antifeeding effects of azadirachtin on the fifth instar *Spodoptera litura* larvae and the analysis of azadirachtin on target sensilla around mouthparts. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 103(4), 1–12.
- [16] Jahanban-Esfahlan, A., Ostadrahimi, A., Tabibiazar, M. and Amarowicz, R. (2019) A comparative review on the extraction, antioxidant content and antioxidant potential of different parts of walnut (*Juglans regia* L.) fruit and tree. *Mol.* 24(11).
- [17] Braga, T.M., Rocha, L., Chung, T.Y., Oliveira, R.F., Pinho, C., Oliveira, A.I., Morgado, J. and Cruz, A. (2021) *Azadirachta indica* a. Juss. in vivo toxicity—an updated review. *Mol.* 26(2), 1–21.
- [18] Hardiansyah, M.Y., Al Ridho, A.F. and Nurhidayat. (2020) The Effect of Garlic (*Allium sativum*) Extract Pesticides in Repelling Rice Eating Bird Pests. *Indonesian J. Agric. Res.* 3(3), 145–152.
- [19] Okombe Embeya, V. and Nzuzi Mavungu, G. (2019) Study of the antibacterial activity (in vitro) of aqueous and methanolic extracts of garlic (*Allium sativum* L.). *J. Appl. Biosci.* 141, 14419–14425.
- [20] Dattaray, D., Garnaik, T.K. and Loganathan, R. (2023) Effects of subacute exposure of imidacloprid on haemato-biochemical parameters in black Bengal goat (*Capra hircus*). *J. Pharm. Innov.* 12(5), 4561–4566.
- [21] Darfour, B. and Rosentrater, K.A. (2022) Environmental Assessment and Cost Analysis of the Manufacturing, Transport, and Use of Actellic Super and Azadirachtin Insecticides for the Treatment of Maize Grains. *Front. Sustain. Food Syst.* 6.
- [22] Siddique, A., Din, H.M.U., Ahmed, H.S., Munawar, S. and Iqbal, J. (2022) Atrophic Changes in Hepatocytes by Excess of Garlic Consumption. *Pakistan J. Medical Health Sci.* 16(3), 83–84.
- [23] Weckbecker, G. and Cory, J.G. (1988) Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione-depleted mouse leukemia L1210 cells in vitro. *Cancer Lett.* 40(3), 257–264.
- [24] Ohkawa, H., Ohishi, N. and Yagi, K. (1979) Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* 95(2), 351–358.
- [25] Flohé, L. and Günzler, W.A. (1984) Assays of Glutathione Peroxidase. *Meth. Enzymol.* 105, 114–120.
- [26] Bradford, M.M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72(1–2), 248–254.
- [27] Belmain, S.R. and Stevenson, P.C. (2001) Natural Products Ethnobotanicals in Ghana : Reviving and Modernising. *Pestic. Outlook*, December. 233–238.
- [28] Bouabdallah, N., Mallem, L., Abdennour, C., Chouabbia, A. and Tektak, M. (2021) Toxic impacts of a mixture of three pesticides on the reproduction and oxidative stress in male rats. *J. Anim. Behav. Biometeorol.* 10(1), 1–9.
- [29] Sharma, A., Minhas, S., Dhillo, W.S. and Jayasena, C.N. (2021) Male infertility due to testicular disorders. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 106(2), E442–E459.
- [30] Boeri, L., Capogrosso, P., Ventimiglia, E., Cazzaniga, W., Pozzi, E., Belladelli, F., Pederzoli, F., Alfano, M., Abbate, C., Montanari, E., Valsecchi, L., Papaleo, E., Viganò, P., Rovere-Querini, P., Minhas, S., Montorsi, F. and Salonia, A. (2021) Testicular volume in infertile versus fertile white-European men: a case-control investigation in the real-life setting. *Asian J. Androl.* 23(5), 501.
- [31] Babakhanzadeh, E., Nazari, M., Ghasemifar, S. and Khodadadian, A. (2020) Some of the factors involved in male infertility: A prospective review. *Int. J. Gen. Med.* 13, 29–41.
- [32] Moreira, S., Pereira, S.C., Seco-Rovira, V., Oliveira, P.F., Alves, M.G. and Pereira, M. de L. (2021). Pesticides and male fertility: A dangerous crosstalk. *Metabolites.* 11(12).
- [33] Aladakatti, R.H., Sukesh, B., Jadaramkunti, U.C. and Hiremath, M.B. (2011) Aspects of the Antiandrogenic/Antifertility Property of Azadirachtin-A from *Azadirachta indica* Leaves in Male Albino Rats: Effect on the Biochemical and Cauda Epididymal Sperm Parameters. *Recent Res. Sci. Technol.* 3(2).
- [34] Rais, N., Parveen, K., Ahmad, R., Siddiqui, W.A., Nadeem, A. and Ved, A. (2022) S-allyl Cysteine and Taurine revert peripheral metabolic and lipid profile in non-insulin-dependent diabetes mellitus animals: Combination vs Monotherapy. *Braz. J. Pharm. Sci.* 58, 1–10.
- [35] Takemura, S., Ichikawa, H., Naito, Y., Takagi, T., Yoshikawa, T. and Minamiyama, Y. (2014) S-allyl cysteine ameliorates the quality of sperm and provides protection from age-related sperm dysfunction and oxidative stress in rats. *J. Clin. Biochem. Nutr.* 55(3), 155–161.
- [36] Bustos-Obregón, E. and González-Hormazabal, P. (2003) Effect of a single dose of malathion on spermatogenesis in mice. *Asian J. Androl.* 5(2), 105–107.
- [37] Abedi, H., Kargar Jahromi, H., Hashemi, S.A., Jashni, H., Kargar Jahromi, Z. and Pourahmadi, M. (2016) The effect of silymarin on spermatogenesis process in rats. *Int. J. Med. Health Res.* 5(6), 146–150.

- [38] Lampiao, F., Matambo, E. and Banda, A. (2013) The effects of acute administration of Chinese aphrodisiacs sold in Blantyre City on sperm characteristics and fertility profile in guinea pigs. *Malawi Med. J.* 25(3), 60–61.
- [39] Talbi, A., Khelili, K., Remita, F. and Abdenour, C. (2022) The benefit of *Silybum marianum* in ethanol-induced reprotoxicity of male Wistar rat. *Braz. J. Pharm. Sci.* 58, 1–10.
- [40] Ghosh, A., Jana, K., Pakhira, B.P., Tripathy, A. and Ghosh, D. (2015) Anti-fertility effect of aqueous-ethanolic (1:1) extract of the fruit of *Terminalia chebula*: Rising approach towards herbal contraception. *Asian Pac. J. Reprod.* 4(3), 201–207.
- [41] Abdel-Rahman Mohamed, A., Mohamed, W.A.M. and Khater, S.I. (2017) Imidacloprid induces various toxicological effects related to the expression of 3B-HSD, NR5A1, and OGG1 genes in mature and immature rats. *Environ. Pollut.* 221, 15–25.
- [42] Osonuga, I., Faponle, A., Ezima, E., Adenowo, T. and Adelegan, A. (2020) Effect of aqueous extract of *Allium sativum* (Garlic) on fertility in male Wistar rats. *Ann. Med. Res.* 8642, 100–107.
- [43] Nasr, A.Y. (2017) The impact of aged garlic extract on adriamycin-induced testicular changes in adult male Wistar rats. *Acta Histochem.* 119(6), 648–662.
- [44] Asadpour, R., Azari, M., Hejazi, M., Tayefi, H. and Zaboli, N. (2013) Protective effects of garlic aqueous extract (*Allium sativum*), vitamin E, and N-acetylcysteine on reproductive quality of male rats exposed to lead. *Vet. Res. Forum.* 4(4), 251–257.
- [45] Goncharov, N., Orekhov, A.N., Voitenko, N., Ukolov, A., Jenkins, R. and Avdonin, P. (2016) Organosulfur compounds as nutraceuticals. In *Nutraceuticals*. Academic Press. 555-568.
- [46] Sadogh, A., Gorji, N. and Moeini, R. (2021) Herbal foodstuffs in Avicenna's recommended diet to improve sperm quality and increase male fertility; an evidence-based approach. *J. Complement. Integr. Med.* 19(1), 47-70.
- [47] Zhou, J., Chen, L., Li, J., Li, H., Hong, Z., Xie, M., Chen, S., Yao, B. and Drevet, J.R. (2015) The semen pH affects sperm motility and capacitation. *PLoS ONE.* 10(7), 1–15.
- [48] Jimenez, T., Sánchez, G., Wertheimer, E. and Blanco, G. (2010) Activity of the Na,K-ATPase  $\alpha 4$  isoform is important for membrane potential, intracellular  $Ca^{2+}$ , and pH to maintain motility in rat spermatozoa. *Reproduction.* 139(5), 835–845.
- [49] Tiwari, S., Rajamanickam, G., Unnikrishnan, V., Ojaghi, M., Kastelic, J.P. and Thundathil, J.C. (2022) Testis-Specific Isoform of Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> ATPase and Regulation of Bull Fertility. *Int. J. Mol. Sci.* 23(14).
- [50] Shibahara, H., Obara, H., Ayustawati, Hirano, Y., Suzuki, T., Ohno, A., Takamizawa, S. and Suzuki, M. (2004) Prediction of pregnancy by intrauterine insemination using CASA estimates and strict criteria in patients with male factor infertility. *Int. J. Androl.* 27(2), 63–68.
- [51] Ali, Md., Mukul, S., Gupta, D., Singh, A.K., Kumar, R., Nath, A., Singh, J.K., and Kumar, A. (2012) Endosulfan Exposure Leads to Infertility in Male Mice. *Asian J. Exp. Biol. Sci.* 3(1), 124–128.
- [52] Duty, S.M., Silva, M.J., Barr, D.B., Brock, J.W., Ryan, L., Chen, Z., Herrick, R.F., Christiani, D.C. and Hauser, R. (2003) Phthalate exposure and human parameters. *Epidemiology.* 14(3), 269–277.
- [53] Kaprara, A. and Huhtaniemi, I.T. (2018) The hypothalamus-pituitary-gonad axis: Tales of mice and men. *Metabolism.* 86, 3–17.
- [54] Jin, H., Yan, M., Pan, C., Liu, Z., Sha, X., Jiang, C., Li, L., Pan, M., Li, D., Han, X. and Ding, J. (2022) Chronic exposure to polystyrene microplastics induced male reproductive toxicity and decreased testosterone levels via the LH-mediated LHR/cAMP/PKA/StAR pathway. *Part. Fibre Toxicol.* 19(1), 1–17.
- [55] Memon, S.A., Memon, N., Mal, B., Ahmed, S. and Shah, M.A. (2014) Histopathological changes in the gonads of Male rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) on exposure to imidacloprid insecticide. *J. Entomology Zool. Stud.* 2(4), 159–163.
- [56] Auta, T. and Hassan, A.T. (2016) Reproductive toxicity of aqueous wood-ash extract of *Azadirachta indica* (neem) on male albino mice. *Asian Pac. J. Reprod.* 5(2), 111–115.
- [57] Elkelawy, H., Mansour, M., El-Naggar, R. and Elkassas, N. (2020) Effect of garlic (*Allium sativum*) on hematological, biochemical, hormonal and fertility parameters of male bouscat rabbits. *Egypt. J. Rabbit Sci.* 30(1), 43–60.
- [58] El-Akabawy, G. and El-Sherif, N.M. (2016) Protective role of garlic oil against oxidative damage induced by furan exposure from weaning through adulthood in adult rat testis. *Acta Histochem.* 118(5), 456–463.
- [59] Bencivenga, D., Arcadio, F., Piccirillo, A., Annunziata, M., Ragione, F.D., Cennamo, N., Borriello, A., Zeni, L. and Guida, L. (2023) Plasmonic optical fiber biosensor development for point-of-care detection of malondialdehyde as a biomarker of oxidative stress. *Free Radic. Biol. Med.* 199, 177–188.
- [60] Ghiasi Ghalehkandi, J. (2014) Garlic (*Allium sativum*) juice protects from semen oxidative stress in male rats exposed to chromium chloride. *Anim. Reprod.* 11(4), 526–532.

- [61] Lotfi, F., Ziamajidi, N., Abbasalipourkabir, R., Goodarzi, M.T. and Asl, S.S. (2021) Impacts of garlic extract on testicular oxidative stress and sperm characteristics in type 1 and 2 diabetic rats: An experimental study. *Int. J. Reprod. Biomed.* 19(10), 929–942.
- [62] Abouzed, T.K., Althobaiti, F., Omran, A.F., El-domany, E.B., El-Shazly, S.A., Alharthi, F., Elkattawy, A.M., Kahilo, K.A.A. and Dorghamm, D.A. (2022) The chemoprevention of spirulina platensis and garlic against diethylnitrosamine induced liver cancer in rats via amelioration of inflammatory cytokines expression and oxidative stress. *Toxicol. Res.* 11(1), 22–31.
- [63] Christian, E.O., Felicia, E.C., Helen, N., Nneka, S.V. and Vivian, C.U. (2019) Antidiabetic property and antioxidant potentials of aqueous extract of *Azadirachta indica* leaves in streptozotocin-induced diabetic rats Antidiabetic property and antioxidant potentials of aqueous extract of *Azadirachta indica* leaves in streptozotocin-ind. February 2023. *J. Med. Plants Stud.* 7(6): 18-23.
- [64] John, A. and Raza, H. (2022) Alterations in Inflammatory Cytokines and Redox Homeostasis in LPS-Induced Pancreatic Beta-Cell Toxicity and Mitochondrial Stress: Protection by *Azadirachtin*. *Front. Cell Deve. Biol.* 10(June), 1–14.
- [65] Miao, Z., Miao, Z., Wang, S., Wu, H. and Xu, S. (2020) Exposure to imidacloprid induce oxidative stress, mitochondrial dysfunction, inflammation, apoptosis and mitophagy via NF-kappaB/JNK pathway in grass carp hepatocytes. *Fish Shellfish Immunol.* 120, 674-685.
- [66] Asadi, N., Bahmani, M., Kheradmand, A. and Rafieian-Kopaei, M. (2017) The impact of oxidative stress on testicular function and the role of antioxidants in improving it: A review. *J. Clin. Diagnostic Res.* 11(5), IE01–IE05.

---

**Received:** 11.10.2023

**Accepted:** 28.10.2023

---

#### **CORRESPONDING AUTHOR**

##### **Tektak Mohamed**

Laboratory of Animal Ecophysiology  
University Badji-Mokhtar-Annaba  
Sidi Amar Annaba 23000 – Algeria

e-mail: mohamedtektak93@gmail.com



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
People's Democratic Republic of Algeria  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministry of Higher Education and Scientific Research  
قسم علوم الطبيعة والحياة - كلية العلوم - جامعة 20 أوت 1955 - سكيكدة -  
UNIVERSITY 20 August 1955 - SKIKDA- Faculty of Sciences- Department of Natural and Life Sciences



**CERTIFICATE**

OF ATTENDENCE

**TEKTAK Mohamed**

For attending :

**1st International Seminar on Pollution, Health,  
Environment and Bio-monitoring**

SIPSEB'21 DECEMBER 27-28, 2021, SKIKDA, ALGERIA

And Presenting **Oral Communication** entitled :

**Evaluation De La Toxicité Hépatique Induite Par Un Bio-Insecticide D'Origine Végétale Par Rapport  
À Un Insecticide De Synthèse Chez Le Rat Wistar Male**

**Authors:** TEKTAK Mohamed, MALLEM Leila, RENAULT David, ABDENNOUR Cherif

CONFERENCE CHAIR

*Dr. BOUCETTA Sabrina  
Maître de Conférences .A*

SIGNATURE

Université 20 Août 1955 Skikda  
Faculté des Sciences  
Séminaire International de Pollution,  
Santé, Environnement et Bio-monitoring  
SIPSEB 2021



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers



LABORATOIRE DE RECHERCHE : VALORISATION DES ACTIONS DE L'HOMME  
POUR LA PROTECTION DE L'ENVIRONNEMENT ET APPLICATION EN SANTÉ PUBLIQUE

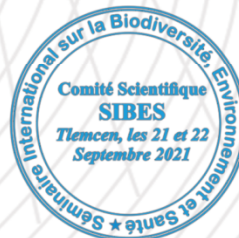
## ATTESTATION DE PARTICIPATION

Le Comité Scientifique du Séminaire International sur la Biodiversité, Environnement et Santé organisé,  
les 21 et 22 Septembre 2021

Atteste que : **TEKTAK Mohamed**, a présenté une communication affichée intitulée :

« **Etude comparative des effets toxiques d'un insecticide chimique par rapport à un bio-insecticide sur les paramètres hématologiques chez le rat *wistar*** »

Co-auteurs : **MALLEM Leila, RENAULT David, BOUABDALLAH Narimène, CHERIF Abdennour**



Le Président du Comité Scientifique  
Dr. BOUCHIKHI TANI Zoheir

  
Dr. BOUCHIKHI TANI Zoheir  
Faculté SNV - STU  
Univ. Tlemcen



## Attestation de participation

Pour le Congrès du Groupe Français de recherche sur les Pesticides,  
Tenue en ligne les 20 et 27 mai 2021

Le comité d'organisation atteste par la présente que :

**Taketak Mohamed**

Co-auteurs : Mallem Leila, Renault David

A présenté un poster dans la session : « Monitoring des pesticides dans les aliments et les matières végétales environnementales, évaluation du risque pour la santé et agroécologie », tenue en ligne le 27 mai 2021, et intitulé :

*Etude comparative de la toxicité entre un pesticide de synthèse et un bio-pesticide sur la fonction rénale chez le rat Wistar*

Directeur du comité d'organisation

GFP

Olivier Pigeon



People's Democratic Republic of Algeria  
Ministry of Higher Education and Scientific Research  
University of Echahid Hamma Lakhdar, El-Oued  
Faculty of Technology



**International Seminar on Green Chemistry and Sustainable Engineering (ISGCSE)**

## CERTIFICATE OF PARTICIPATION

This Certifies That

**TEKTAK Mohamed**

Presented a poster communication at the first **International Seminar on Green Chemistry and Sustainable Engineering (ISGCSE)**

, organized from December 17-18, 2019 at the University of Echahid Hamma Lakhdar, El-Oued, entitled:

" Biopesticides of plant origin in Algeria "

Co-author (s): MALLEM Leila, ABDENNOUR Cherif.

Chairman of ISGCSE 2019

Dr. Salah Eddine LAOUINI

**International Seminar  
on Green Chemistry  
and Sustainable Engineering  
GCSE 2019, December 17-18/2019**

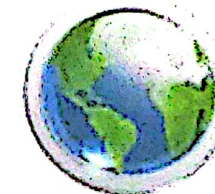




Société Algérienne  
de Toxicologie

# 9<sup>ème</sup> Rencontre Internationale de Toxicologie

Oran, 16 - 18 novembre 2019



Laboratoire de Recherche  
en Santé Environnement

## Attestation

La présidente du comité d'organisation atteste que la communication affichée (POSTER) :

Etude comparative des effets toxiques des pesticides chimiques et naturels.

Tektak M.<sup>1</sup>, Mallem L.<sup>1,2</sup>, Abdenmour C.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Recherche d'Ecophysiologie Animale. Département de Biologie. Faculté des sciences. Université Badji Mokhtar, Annaba.

<sup>2</sup>Département de Médecine Dentaire, Faculté de Médecine, Annaba.

A été présentée lors de la 9<sup>ème</sup> Rencontre Internationale de Toxicologie qui s'est tenue à Oran, du 16 au 18 novembre 2019.

La présidente de la 9<sup>ème</sup> RIT

Université Oran - 1  
LABORATOIRE DE RECHERCHE  
EN SANTE ENVIRONNEMENT  
Pr REZK - KALLAM HACHBA  
Directrice

Peoples' Democratic Republic of Algeria  
Ministry of Higher Education and Scientific Research  
Mohamed Cherif Messaadia University, Souk Ahras, Algeria  
Faculty of Nature and Life Sciences  
Department of Biology



LSTSE



National Doctoral Day and Research Posters FSNV  
15 December 2021

## CERTIFICATE OF PARTICIPATION

The undersigned hereby, president of the "NDD & RP" and Dean of faculty of Nature and Life Sciences, certify that **TEKTAK Mohamed** (PhD. student from Annaba University) presented a Poster entitled:

**Investigation sur l'induction d'un stress oxydant par un bio-insecticide végétal par rapport à un insecticide chimique au niveau du foie chez le rat Wistar mâle**

Co-authors: MALLEM L, RENAULT D, ABDENNOUR C

President of NDD & RP:

الأستاذة الدكتورة:  
حبايدية كوثر

Dean:





Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Alger 1, Benyoucef Benkhedda  
Faculté des Sciences  
Laboratoire de Valorisation et Bio-ingénierie des Ressources Naturelles (LVBRN)



## Attestation de participation

A

**La 1ère Journée scientifique sur  
La Biochimie fonctionnelle et la physiopathologie cellulaire (JSBFPC)  
Le 06 novembre 2021 à Alger**

Je soussigné, Mohamed El Fadel OUSMAAL, président de la JSBFPC atteste que:

Melle/Mme/M. **Mohamed TEKTAK**

A présenté **une communication affichée**

Intitulée : **La reprotoxicité induite par un bio-insecticide d'origine végétale par rapport à un insecticide chimique chez le rat Wistar male**

Co-auteurs : **Leila MALLEM, David RENAULT, Cherif ABDENNOUR**

Fait à Alger, le 06 novembre 2021

Président de la JSBFPC  
Dr. Mohamed EL Fadel OUSMAAL



Doyen de la Faculté des Sciences  
Pr. BENOUDAH Ali

عميد كلية العلوم لجامعة الجزائر 1

أ.د. بن واضح علي





REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITE SAAD DAHLAB BLIDA 1  
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET E LA VIE  
LABORATOIRE DE RECHERCHE EN BIOTECHNOLOGIE, ENVIRONNEMENT ET SANTE (LBES)  
DEPARTEMENT DES SCIENCES BIOLOGIQUES



# Attestation De Participation

## Séminaire National : Ressources végétales, Produits Naturels et Santé (RVPNS2021)

*Le comité scientifique du séminaire national Virtuel des RVPNS 2021 atteste que :*

***Dr Mohamed TEKTAK. ; Leila MALLEM, David RENAULT, Cherif ABDENOUR***

*A participé avec une Communication Affichée intitulée*

**« Comparative study on toxic effects of chemical insecticide and bio-insecticide on some fertility parameters in the male Wistar rat »**

*Qui s'est tenu en ligne sous forme de Webinaires « visioconférences », le 9,10,11 juin 2021.*



La Présidente du séminaire RVPNS2021

**Dr. Cherif Hamida Saida**  
**Présidente**  
**RVPNS 2021**



Association nationale Eco-conception , Analyse de Cycle de Vie et  
Développement Durable

Affiliée au Réseau des Clubs UNESCO en Algérie

Conservatoire national des formations à l'environnement



## ***ATTESTATION DE PARTICIPATION***

Le président de la 1<sup>ère</sup> journée nationale sur «Analyse de Cycle de Vie, Eco-Conception, Eco-Education, Eco-Innovation au service du développement durable », Organisée le 11 Février 2020, par l'Association nationale ,Eco-conception , Analyse de Cycle de Vie et Développement Durable (ANEADD) affiliée au Réseau des Clubs UNESCO en Algérie en partenariat avec le Conservatoire national des formations à l'environnement (CNFE), atteste que :

***TEKTAK Mohamed***

A présenté une communication affichée intitulée L'effet toxique d'un insecticide chimique par rapport à un bio-insecticide extrait du Neem

Co-auteurs: MALLEM Leila , BOUABDALLAH Narimene

Le président de l'association

الرئيس  
أ.د. نوحاب كريمة



MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITE LARBI TEBESSI – TEBESSA –  
FACULTE DES SCIENCES EXACTES ET SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE APPLIQUEE



## Attestation de Participation

*Le comité d'organisation de la première journée scientifique sur la biologie des plantes médicinales, tenue à Tébessa le 22 janvier 2020, atteste par la présente que : **TEKTAK Mohamed** a participé à cette manifestation par une communication affichée intitulée :*

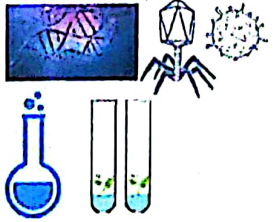
*« Study on the medicinal properties of Neem (*Azadirachta indica*) »*

*Co-auteurs; **MALLEM Leïla**, **BOUABDALLAH Narimene**, **ABDENNOUR Cherif***

Président de la journée

**Dr. Samira BOUSSEKINE**





الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Mohamed Boudiaf de M'Sila  
Faculté des Sciences  
Département des Sciences de la Nature et de la Vie



**1<sup>er</sup> Séminaire National :**  
**L'Apport des Biotechnologies sur la Protection de**  
**L'Environnement**

**Le 15-16 décembre 2019 à M'sila**

**ATTESTATION DE PARTICIPATION**

Le comité scientifique du Séminaire atteste que :

Melle/Mme/Mr : **TEKTAK MOHAMED**

A présenté **une communication affichée**

Intitulée: **Etudes sur les pouvoirs biofongicides de l'Ail (*Allium sativum*)**

Co Auteurs : **MALLEM LEILA, ABDENNOUR CHERIF**

Le Président du Séminaire

**Dr. Mouloud GHADBANE**

Univ M. B. M'Sila  
Faculté des Sciences / SNV  
SNABPE 15-16.12.2019

Le Doyen de la Faculté des Sciences

**Pr. Ettayib BENSACI**





Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université 20 Aout 1955 Skikda  
Faculté des Sciences  
Département des Sciences de la Nature et de la Vie



# ATTESTATION DE PARTICIPATION

Séminaire National de Biodiversité, Biologie Médicale et Ecotoxicologie Environnementale  
Skikda le 30-31 octobre 2019

Le Président du Séminaire National de Biodiversité, Biologie Médicale et Ecotoxicologie Environnementale, atteste que:

Mme.: **BOUABDALLAH NARIMENE**

A présentée une communication *Affichée* intitulée

**ETUDE D'UN MELANGES DES PESTICIDES SUR QUELQUE PARAMETRES BIOCHIMIQUE ET HISTOLOGIQUE**

**CHEZ LE RATS MALE.**

Co-auteurs: **MALLEM L. & TEKTAK M.**

Université 20 Aout-1955-Skikda-  
Faculté des sciences  
Département des Sciences de la nature et de la vie  
Séminaire National de Biodiversité, Biologie Médicale et Ecotoxicologie Environnementale  
**Président du SNBBMEE**  
SSNBBMEE 2019  
Dr: LAIB Messaoud



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Mohamed Khider  
Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie  
Département d'Agronomie



## ATTESTATION DE PARTICIPATION

Cette attestation est délivrée à : **TEKTAK Mohamed**

Pour sa participation a la deuxième édition du symposium national : Protection des végétaux en zones arides  
en présentant une communication orale intitulée :

**Biopesticides, plantes pesticides et protection naturelle des cultures**

Biskra, le 12 Novembre 2019

Chef du département d'Agronomie

رئيس قسم العلوم الزراعية بكلية العلوم  
الدقيقة وعلوم الطبيعة والحياة

خشعي سليمان



Président du comité scientifique

رئيس اللجنة العلمية  
للسymposium الوطني  
لحماية النباتات في  
المناطق الجافة  
دا  
عبد رزاق ناصر





# 1<sup>ER</sup> SEMINAIRE NATIONAL DE TOXICOLOGIE

"PERTURBATEURS ENDOCRINIENS : Risques et Impact sur la Santé"

Annaba les 18 et 19 Septembre 2019

## ATTES TATION De Communication AFFICHÉE

Le président du séminaire atteste que :

**Mr TEKTAK MOHAMED**

*Université BADJI MOKHTAR, Annaba*

A affiché le poster N° 135, intitulé :

« Etude comparative des effets toxiques des pesticides chimiques et naturels utilisés dans l'alimentation sur plusieurs paramètres physiologiques chez le Rat Wistar »

Co-auteurs : *MALLEM L., ABDENOUR C.*

Le Président



الأستاذ الدكتور  
رشيد جعفر



جامعة بجاية  
Tasdawit n Bgayet  
Université de Béjaïa

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie



## Attestation de communication

Le comité d'organisation du séminaire national « Alimentation, Santé et Environnement : Avancées et Perspectives », organisé par la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie à l'université de Bejaia les 25 et 26 Septembre 2019, atteste que M<sup>r</sup> TEKTAK Mohamed a présenté une communication Poster intitulée :

«Les biopesticides, des alternatives naturelles pour dispenser les pesticides chimiques»

Co-auteurs : MALLEM Leila & ABDENNOUR Cherif.

Présidente du comité d'organisation  
Pr. BENDALI F.

Doyen de la Faculté  
Pr. ATMANI D.

