

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
UNIVERSITE MOULOU D MAMMERI DE TIZI-OUZOU
FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES AGRONOMIQUES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue d'obtention du diplôme de

Master en sciences biologiques

Option : Biologie et Physiologie de la Reproduction

Thème

**Effet du Thiamethoxame sur l'appareil reproducteur du
rat mâle.**

Etude Histo-morphométrique.

Réalisé par :

SELMOUNE Dyhia

SMAIL Mounia

Membres du jury :

Mr KHEDDACHE A.

Maître de conférences

Président

Mme BENABDESSELAM R.

Professeur

Promotrice

Mme TOUNSI F.

Doctorante

Co-promotrice

Mme GUENDOUZI S.

Maître assistante

Examinatrice

Année Universitaire : 2021/2022

Remerciement

Nos remerciement les plus sincères vont à :

Mme BENABDESSELAM R, professeur à l'université de Tizi Ouzou, nous tenons à vous témoigner toute notre gratitude d'avoir accepté de diriger ce travail, pour votre aide et vos conseils, de nous avoir enrichi de votre savoir et surtout votre sagesse. On vous remercie très sincèrement pour votre patiente.

Nous tenons à remercier tout particulièrement notre co-promotrice **Mme TOUNSI F** pour sa grande disponibilité et son aide tout au long de ce travail malgré ces nombreuses responsabilités.

Mr KEDDACHE A, maitre de conférences à UMMTO, qui nous a fait honneur de présider le jury de soutenance.

Mme GUENDOZI S, maitre assistante A à UMMTO, merci d'avoir pris le temps de nous guider, orienter et d'avoir accepté d'examiner et de juger ce travail.

Nous remercions les membres de l'équipe de Neurochimie LBPO/INSM-USTHB en leur tête le professeur **DORBANI MAMINE L.**

Nous remercions tous le personnel du laboratoire d'Anatomo-pathologie de l'école nationale supérieur vétérinaire d'Alger de nous avoir accueilli et donné la possibilité de réaliser une bonne partie du travail au sein de leur laboratoire.

Nous remercions toutes les personnes que nous n'avons pas mentionné mais qui ont contribué de pré ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

À mes chers parents

Avec l'expression de ma reconnaissance, remerciement et de respect pour leur soutien et pour leur encouragement durant toutes mes années d'étude, pour la confiance qu'ils m'ont accordé et de m'avoir aidé à aller de l'avant et donner le meilleur de moi-même. Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point vous remercier comme il se doit. Je vous aime.

À mes sœurs

Qui n'ont pas cessée de me conseiller, encourager. Sans votre écoute et amour je ne serai pas arrivé au bout. Je vous adore.

À mes proches

Avec toute ma reconnaissance pour votre encouragement.

À tous ceux que j'aime et qui m'aiment ...

Dyhia

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail en signe de gratitude, respect, reconnaissance et remerciement :

À mes très chers parents pour tout leurs amour encouragements et sacrifices

Je vous aime tellement, que dieu vous garde

À mon cher frère et ma chère sœur merci d'être présents à mes cotés

À ma très chère grand-mère à qui je souhaite une longue vie

À toute ma famille mes proches et mes amis.

À tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Mounia

SOMMAIRE

INTRODUCTION	01
---------------------------	----

CHAPITRE I : RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

I. Pesticides et Thiaméthoxame

1. Pesticides

1.1. Définition	03
-----------------------	----

1.2. Composition	03
------------------------	----

1.3. Caractéristiques	03
-----------------------------	----

1.4. Classification des pesticides	04
--	----

1.5. Sources et voies d'exposition	05
--	----

1.6. Toxicité	05
---------------------	----

1.7. Effets des pesticides sur la physiologie	06
---	----

2. Néonicotinoïdes

2.1. Définition et utilisation	07
--------------------------------------	----

2.2. Mode d'action	07
--------------------------	----

3. Thiaméthoxame

3.1. Histoire et Définition	08
-----------------------------------	----

3.2. Utilisation	08
------------------------	----

3.3. Caractéristiques	09
-----------------------------	----

3.4. Mode d'action	10
--------------------------	----

3.5. Exposition et toxicité	10
-----------------------------------	----

II. RAPPELS ANATOMO-STRUCTURO-FONCTIONNELS DE L'APPAREIL REPRODUCTEUR MALE

1. Généralités sur l'appareil reproducteur mâle	11
---	----

1.1 Testicules et enveloppes testiculaires	11
--	----

1.1.1 Anatomie	11
----------------------	----

1.1.2 Histologie du testicule	13
-------------------------------------	----

1.1.3 Fonctions du testicule	16
1.2 Les voies spermatiques	18
1.2.1 L'épididyme	18
1.2.1.1 Anatomie.....	18
1.2.1.2 Histologie	18
1.2.1.3 Ses fonctions	20
1.2.2. Urètre	20
1.2.3. Pénis	20
1.3. Glandes annexes	
1.3.1. Vésicules séminales	20
1.3.1.1 Anatomie	20
1.3.1.2 Histologie	21
1.3.1.3 Ses fonctions	21
1.3.2. Prostate	
1.3.2.1 Anatomie	22
1.3.2.2 Histologie	22
1.3.2.3 Ses fonctions	23
1.3.3. Glandes de Cowper	
1.3.3.1 Son anatomie	23
1.3.3.2 Son histologie	23
1.3.3.3 Ses fonctions	23
2. Axe gonadotrope chez le mâle	23

CHAPITRE II : ETUDE EXPERIMENTALE

I. Matériel

1. Matériel biologique	25
2. Matériel non biologique	26

II. Méthode

1. Traitement des animaux	27
2. Sacrifice et prélèvement des organes	28
2.1 Perfusion intracardiaque	28
2.2 Prélèvement des organes.....	28
3. Techniques histologiques	29
3.1 Post fixation des échantillons	29
3.2 Déshydratation, éclaircissement et imprégnation	29
3.3 Inclusion ou enrobage des échantillons	29
3.4 Réalisation de coupes	31
3.5 Déparaffinage	32
3.6 Réhydratation	32
3.7 Coloration	32
3.8 Montage	33
3.9 Observation microscopique	33
4. Etude histo-morphométrique	33
5. Etude statistique	34
III. RESULTATS	35
VI. DISCUSSION	51
VII. CONCLUSION & PERSPECTIVES	56

LISTE DES FIGURES :

Figure 1 : mécanisme d'action des néonicotinoïdes	08
Figure 2: Structure chimique du thiaméthoxame	09
Figure 3 : Photographie de l'appareil reproducteur du rat male	11
Figure 4: Testicule et enveloppes testiculaires	12
Figure 5: Coupe histologique au niveau du testicule d'un rat	13
Figure 6 : Schémas de la différenciation germinale masculine (Marieb, 2005).....	15
Figure 7 : Structure de la cellule de Sertoli et l'organisation des cellules germinales. (Humeau et Arnal, 2005)	16
Figure 8 : Représentation schématique simplifiée du déroulement de la spermatogenèse chez le rat (Vernet, 2006)	17
Figure 9 : Représentation schématique de l'épithélium épидидymaire (Girouad, 2009).....	19
Figure 10 : Coupe histologique de la vésicule séminale chez l'homme	21
Figure 11: Schéma montre l'histologie de la glande prostatique.....	22
Figure 12 : Régulation de l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique.....	24
Figure 13 : Image de rats de laboratoire de souche Wistar. (Original 2022).....	25
Figure 14 : Enrobage des échantillons par de la paraffine. (Originale 2022)	30
Figure 15 : Plaque refroidissante. (Originale 2022)	30
Figure 16 : Machine à enrobage. (Originale 2022).....	31
Figure 17 : Microtome. (Originale 2022)	31
Figure 18 : Bain marie. (Original 2022)	32
Figure 19 : Lame prête pour l'observation. (Original 202)	33

Figure 20: Coupes histologiques du testicule chez les rats témoins (A) et traités pendant 10 semaines par le Thiaméthoxame : DJA (B), NOAEL (C), NOAEL x2 (D).....	36
Figure 21 : Le diamètre des tubes séminifères des rats traités par le Thiamethoxame: DJA, NOEL, NOEL x2 comparativement aux témoins	37
Figure 22: La surface de la lumière des tubes séminifères des rats traités par le TMX : DJA, NOEL, NOEL x2 comparativement aux témoins	38
Figure 23: La surface des noyaux des spermatogonies des rats traités par le Thiamethoxame: DJA, NOEL, NOEL x2 comparativement aux témoins.....	39
Figure 24 : La surface des noyaux des cellules de Leydig des rats traités par le Thiaméthoxame : DJA, NOEL, NOEL x2 comparativement aux témoins.....	39
Figure 25 : Coupes histologiques de l'épididyme chez les rats témoins (A) et traités pendant 10 semaines par le Thiaméthoxame : DJA (B), NOAEL (C), NOAEL x2 (D).....	41
Figure 26: Le diamètre des tubes épидидymaire des rats traités par le Thiaméthoxame: DJA, NOEL, NOEL x2 comparativement aux témoins.....	42
Figure27 : La surface des épithéliums épидидymaire des rats traités par le Thiamethoxame: DJA, NOEL, NOEL x2 comparativement aux témoins.....	43
Figure 28 : Rapport nucléo-cytoplasmique de l'épididyme chez les rats traités par le Thiamethoxame comparativement aux témoins.....	43
Figure 29 : Coupes histologiques de la prostate chez les rats témoins (A) et traités pendant 10 semaines par le Thiaméthoxame : DJA (B), NOAEL (C), NOAEL x2 (D).....	45
Figure 30: La surface de l'épithélium prostatique des rats traités par le Thiaméthoxame: DJA, NOEL, NOEL x2 comparativement aux témoins.....	46
Figure 31: Rapport nucléo-cytoplasmique de la prostate chez les rats traités par le Thiamethoxame comparativement aux témoins.....	47
Figure 32 : Coupes histologiques de la vésicule séminale chez les rats témoins (A) et traités pendant 10 semaines par le Thiaméthoxame : DJA (B), NOAEL (C), NOAEL x2 (D).....	48

Figure 33 : La hauteur de l'épithélium de la vésicule séminale des rats traités par le Thiamethoxame: DJA, NOEL, NOEL x2 comparativement aux témoins.....49

Figure 34 : Rapport nucléo-cytoplasmique de la vésicule séminale des rats traités par le Thiamethoxame : DJA, NOEL, NOEL x2 comparativement aux témoins.....50

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Abréviations des différentes formulations des pesticides.....	04
Tableau 2 : Liste des principales classes d'insecticides y compris les néonicotinoïdes selon l'IRAC 2012 (Louat, 2013).	06
Tableau 3 : Les propriétés physico-chimiques du Thiamethoxame	09
Tableau 4 : La répartition de rats par lots et leur traitement	27

LISTE DES ABREVIATIONS

IRAC: Insecticide Resistance Action Committee.

TMX: Thiamethoxame.

g: Gramme.

mg: Milligramme.

L: Litre.

ml: Millilitre.

TS: Tube séminifère.

ADN: Acide Désoxyribonucléique.

GnRH: Gonadolibérine-releasing hormone.

FSH: Follicle Stimulating Hormone.

LH: Luteinizing Hormone.

ABP: Androgen-binding protein.

DJA : Dose journalière Admissible/tolérable.

NOAEL : Non observed adverse effect level « dose sans effet nocif observable ».

cm : Centimètre.

µm : Micromètre.

min : Minute.

EP : Epithélium.

GLOSSAIRE

- **Cytotoxicité** : est la propriété d'un agent chimique ou biologique à d'être toxique pour les cellules éventuellement jusqu'à les détruire.

- **Hyperchromatique** : Aspect dense et sombre du noyau lié à une condensation du nombre des chromosomes.

- **Toxicité subchronique** : une toxicité résulte de l'administration répétée d'une dose ou de l'exposition quotidienne à une concentration de la substance étudiée pendant une durée moyenne de un à trois mois (Fillatre, 2011).

- **DJA : (Dose Journalière Admissible)** : La DJA d'un produit chimique est une estimation de la quantité de substance active présente dans les aliments ou l'eau qui peut être ingérée tout les jours pendant la vie entière sans risque appréciable sur la santé du consommateur, compte tenu de tout les facteurs connus au moment de l'évaluation. Elle est exprimée en milligramme de substance chimique par kilogramme de poids corporel (OMS, 1997). $DJA = NOAEL / 100$.

- **NOAEL : (No Observed Adverse Effect Level)** : elle est définie comme la dose la plus élevée d'une substance qui provoque de faibles effets chez des animaux soumis à l'expérimentation.

RÉSUMÉ

L'utilisation des pesticides dans le monde s'intensifie malgré les différentes alertes des spécialistes par rapport à leurs potentiels effets néfastes sur la santé animale en générale et humaine en particulier. L'objectif de cette étude est d'évaluer l'impact du Thiamethoxame (TMX), un insecticide appartenant à la famille des néonicotinoïdes, sur l'appareil reproducteur des rats mâles,

Pour ce faire, 20 rats mâles adultes de souche "Wistar", ont été répartis en quatre lots : témoins (1 ml/j d'eau) et les traités par gavage pendant 10 semaines avec le TMX à différentes doses (DJA : 0.026 mg/kg), (NOAEL : 2.6 mg/kg), (NOAEL x2 : 5.2 mg/kg). Les épидидymes, testicules, prostate et vésicules séminales ont été prélevés puis fixés au Paraformaldéhyde 4%. Après la confection des coupes histologiques et la coloration à l'hématoxyline et éosine, des photographies sont prises et traitées par le logiciel Axio Vision Rel. 4.8 pour une étude histo-morphométrique.

Les résultats obtenus ont démontré que l'exposition subchronique au Thiamethoxame, surtout à des doses NOAEL x2, provoque des changements histologiques non négligeables aussi bien au niveau du testicule que des organes annexes : épидидyme, prostate et vésicule séminale. Les changements observés au microscope optique et confirmés par des examens morphométriques se résument entre autres à une hausse de la surface du noyau des cellules de Leydig, une dilatation des vaisseaux sanguins et une vacuolisation du tissu interstitiel du testicule, des modifications de la densité des noyaux cellulaires, une réduction de la surface et/ou de la hauteur de l'épithélium, avec parfois des foyers hyperplasiques au sein de l'épидидyme, la prostate et la vésicule séminale. Ainsi une perte d'intégrité de l'épithélium prostatique dans certaines régions.

Ces modifications structurales accompagnées d'une réduction du taux des spermatozoïdes dans la lumière des tubes séminifères et la lumière épидidymaire, ainsi que d'une baisse du liquide prostatique, laissent suggérer des altérations fonctionnelles au niveau des différents organes de l'appareil reproducteur mâle sous l'effet d'un traitement subchronique au Thiamethoxame.

Mots clés : Pesticide, Thiamethoxame, subchronique, Testicule, Epидidyme, Vésicule séminale, Prostate, Rat.

ABSTRACT

The use of pesticides in the world is intensifying despite the various warnings from specialists regarding their potential harmful effects on animal health in general and human health in particular. The objective of this study is to evaluate the impact of Thiamethoxam (TMX), an insecticide belonging to the neonicotinoid family, on the reproductive system of male rats,

To do this, 20 adult male rats of the "Wistar" strain were divided into four groups: controls (1 ml/day of water) and treated by gavage for 10 weeks with TMX at different doses (DJA: 0.026 mg/day). kg), (NOAEL: 2.6 mg/kg), (NOAEL x2: 5.2 mg/kg). The epididymides, testicles, prostate and seminal vesicles were removed and then fixed with 4% paraformaldehyde. After making the histological sections and staining with hematoxylin and eosin, photographs are taken and processed by the Axio Vision Rel software. 4.8 for a histomorphometric study.

The results obtained showed that subchronic exposure to Thiamethoxam, especially at NOAEL x2 doses, causes significant histological changes in both the testis and the adjoining organs: epididymis, prostate and seminal vesicle. The changes observed under the light microscope and confirmed by morphometric examinations include, among others, an increase in the surface area of the Leydig cell nucleus, dilation of the blood vessels and vacuolation of interstitial tissue of the testicle, changes in the density of the cell nuclei, a reduction in surface and/or height of the epithelium, sometimes with hyperplastic foci within the epididymis, prostate and seminal vesicle. Thus loss of integrity of the prostatic epithelium in some areas.

These structural changes accompanied by a reduction in the rate of spermatozoa in the lumen of the seminiferous tubules and the epididymal lumen, as well as a drop in prostatic fluid, suggest functional alterations in the various organs of the male reproductive system under the effect of subchronic treatment with Thiamethoxam.

Keywords: Pesticide, Thiamethoxam, subchronic, Testicle, Epididymis, Seminal vesicle, Prostate, Rat.

Introduction générale

De nos jours, les pesticides sont utilisés partout autour de nous, dans les maisons, les jardins, les écoles, les parcs et les champs agricoles, ce qui rend notre exposition quasi-constante à ces produits. Ils sont utilisés principalement pour lutter contre les organismes considérés comme nuisibles : les insectes (insecticides), les champignons, les moisissures (fongicides), les mauvaises herbes (herbicides), les rongeurs (rongicides) etc...(Feki, 2019).

Ils peuvent entraîner des effets non intentionnels chez les organismes non ciblés, comme les animaux en général, les mammifères en particulier, y compris l'homme, et ce *via* la contamination des eaux, du sol, de l'air et des aliments, comme les végétaux....

Les pesticides ont de variables degrés de nuisance ; leur toxicité dépend de plusieurs facteurs, en l'occurrence la composition chimique, la concentration, ainsi que la forme et la durée d'exposition. De plus, les résultats de différentes études ont suggéré des liens entre l'exposition à certains pesticides et l'apparition de certaines affections graves, telles que des pathologies neurologiques, cancers, infertilité etc... (Bouziani, 2021). Pour pallier à ce qui précède, l'organisation mondiale de la santé (OMS) a classé un grand nombre de pesticides comme "potentiellement" cancérogènes, mutagènes et même reprotoxiques.

Le Thiaméthoxame est un insecticide organique synthétique appartenant à la famille des néonicotinoïdes. Il est apparu sur le marché mondial en 1998 et selon la MADR (2010), il a été homologué en Algérie en juillet 2008. Deux ans plus tard, il a été mis sur le marché (Arbabafti.R, 2014). Il fait partie des néonicotinoïdes de deuxième génération qui se lient sélectivement et fortement aux récepteurs nicotiques de l'acétylcholine (nAChRs) des insectes (Goulson, 2013).

Les propriétés de ce pesticide ont conduit à son utilisation à grande échelle allant de la protection des plantes (cultures, légumes, fruits) contre les ravageurs, à la santé animale, comme les produits vétérinaires.

C'est dans ce contexte que s'inscrit le présent travail d'initiation et dont l'objectif est d'évaluer d'éventuels effets de l'exposition subchronique au Thiaméthoxame sur le fonctionnement de l'appareil reproducteur des rats mâles de souche "Wistar".

Chez les mammifères, l'appareil reproducteur mâle regroupe les testicules, l'épididyme, la prostate et les vésicules séminales. Il permet de générer, stocker et transporter le matériel génétique contenu dans les cellules sexuelles males, les spermatozoïdes. En plus de cette fonction exocrine, il est doté d'une fonction endocrine, représentée essentiellement par la stéroïdogénèse sous le contrôle de l'axe hypothalamo-antéhypophysaire.

Nous avons abordé la présente étude par une approche histologique et morphométrique des quatre organes d'intérêt : le testicule, l'épididyme, la prostate et la vésicule séminale.

Ce manuscrit est composé de deux parties, la première concerne les rappels bibliographiques sur les pesticides, principalement le Thiaméthoxame, et sur l'appareil reproducteur male des mammifères. La deuxième partie démarre par une présentation du dispositif expérimentale mis en œuvre pour répondre à l'objectif du mémoire, suivie de la description, interprétation et discussion des résultats.

Rappels Bibliographiques

I. Pesticides et Thiaméthoxame

1. Pesticides

1.1. Définition

Le mot « pesticide », utilisé aujourd'hui dans le langage courant, est dérivé des termes latins « caedere » qui veut dire (tuer) et « pestis » (fléau), intégré à la langue anglaise dès les années 1940, puis à la langue française à la fin des années 1950 (Baldi et *al.*, 2013).

Un pesticide désigne toute substance naturelle ou de synthèse capables de contrôler, d'attirer, de repousser, de détruire ou de s'opposer au développement des organismes vivants (microbes, animaux ou végétaux) considérés comme indésirables pour l'agriculture, l'hygiène et santé publique (les insectes parasites (poux) ou vecteurs de maladies telles que le paludisme), la santé vétérinaire.

1.2. Composition

Un pesticide est composé par un ensemble de molécules (PuKri, 2019) comprenant : une ou plusieurs matières actives, lui confèrent une partie ou la totalité de l'effet toxique désiré, un diluant pouvant être de nature solide ou liquide (solvant) destiné à abaisser la concentration en matière active et des adjuvants, qui sont des substances dépourvues d'activité biologique mais qui servent à améliorer l'efficacité des propriétés chimiques spécifiques du produit (Boland et *al.*, 2004).

1.3. Caractéristiques

Les produits commerciaux contenant des pesticides sont présentés à l'utilisateur sous différentes formes : liquide, solide ou gazeuse (Baldi et *al.*, 2013). Les formulations liquides incluent les suspensions, les solutions, les concentrés émulsifiables, les suspensions en microcapsules et les aérosols. Les préparations solides comprennent les poussières, les particules, les granulés, les pastilles, les granules solubles, les poudres solubles, les appâts, les tablettes, les comprimés, les pâtes granulées et les poudres mouillables.

Quant aux formulations gazeuses, elles sont généralement des fumigeants (Cchst, 2017). Une abréviation codée, indiquant le type de formulation, se trouve sur l'étiquette de chaque pesticide (Tableau 1). Elle est souvent accompagnée du nom commercial (Cchst, 2017).

Tableau 1 : Abréviations des différentes formulations des pesticides.

D – Poussière ou poudre	SN – Solution
DF – Pâte granulée	SC – Concentré pulvérisable
E ou EC – Concentré émulsifiable	SP – Poudre soluble
F – Suspension concentrée	WDG – Granulé soluble
GR – Granulé	WP – Poudre mouillable
P – Pastille	WS – Concentré soluble dans l'eau

1.4. Classification des pesticides

1.4.1. Selon l'organisme cible

Les pesticides sont classés en fonction de leurs usages (la cible ou l'organisme vivant visé) ; donnant ainsi diverses familles : les herbicides, les fongicides, les insecticides, les parasitocides (contre les parasites), les virucides (contre les virus)...ect

1.4.2. Selon la nature chimique

Les pesticides peuvent être également classés selon la nature chimique de la substance active, ainsi plusieurs groupes se distinguent :

- Les pesticides organiques : contiennent du carbone (Tableau 2). Ils sont très nombreux et appartiennent eux-mêmes à plusieurs grandes familles chimiques, comme par exemple les organochlorés, les organophosphorés, les carbamates, les pyréthriinoïdes, les triazines ou les urées. Ces familles sont établies en fonction du groupe fonctionnel principal de la molécule (Cruz, 2015).

- Les pesticides inorganiques, ne contiennent du carbone que sous forme de carbonate ou de cyanure. Ils sont dérivés essentiellement de minéraux (Cottineau, 2021).

- Les Biopesticides : sont des substances dérivées de plantes ou d'animaux. Ils peuvent également consister d'organismes et comprennent des moisissures, des bactéries, des virus et des nématodes, des composés chimiques dérivés de plantes ainsi que des phéromones d'insectes (Boland et al., 2004).

1.4.3 Selon le risque

En 1973, l'OMS a mis en point un autre système de classification des pesticides selon les dangers qu'ils présentent sur la santé humaine, animale et sur l'environnement. Cette classification repose sur l'évaluation de la toxicité du composé technique et de ses formulations.

1.4.4 Selon la réglementation

Au niveau de la réglementation européenne (Règlement CE n°304/2003), les produits définis sous le terme de « Pesticides » peuvent être classés selon quatre groupes distincts: les

produits phytopharmaceutiques, les biocides, les médicaments et produits à usage humain, et ceux à usage vétérinaire (Baldi et *al.*, 2013).

1.5. Sources et voies d'exposition

L'exposition aux pesticides peut se produire directement, en exposition dite professionnelle. Cette dernière se voit chez les personnes travailleurs exposés lors de la fabrication, la formulation et l'épandage de ces produits, mais aussi indirectement (exposition environnementale) via l'air respiré, l'eau et aliments consommés ou bien au contact des surfaces contaminées (Baldi et *al.*, 2013).

Ces produits peuvent pénétrer dans l'organisme selon trois voies d'exposition (Cchst, 2017) :

- Par contact dermique (absorption par la peau ou les yeux): qui est la voie d'exposition la plus courante.

- Par inhalation (absorption par les poumons).

- Par ingestion (absorption par la bouche) :c'est la voie d'exposition la moins courante mais qui donne lieu aux intoxications les plus graves (Cchst, 2017).

1.6. Toxicité

Tous les pesticides pourraient éventuellement être responsables de l'apparition d'effets toxiques mais à différents degrés (Samuel et Saint-Laurent, 2001). Le risque d'une intoxication par ces produits augmente en fonction de leur concentration (quantité ou dose) et de la durée d'exposition (Cchst, 2017).

Selon la British Columbia Food and Fisheries, 2022, les pesticides ont de nombreux modes d'action différents, mais en général, ils provoquent des changements biochimiques qui interfèrent avec les fonctions normales des cellules (Tableau 2).

Une substance hautement toxique provoque de graves symptômes d'empoisonnement avec de petites doses. Une substance faiblement toxique nécessite généralement des doses importantes pour produire des symptômes légers de toxicité. Deux types de toxicité se distinguent :

- La toxicité aiguë quand les effets nocifs d'une substance se développent rapidement après l'exposition (quelques heures à un jour).

- La toxicité chronique quand les effets nocifs d'une substance apparaissent sur la santé suite à une exposition à long terme.

1.7. Effets des pesticides sur la physiologie

Le type de pesticide, la durée et la voie d'exposition, ainsi que l'état de santé individuel, comme les carences nutritionnelles et l'état de la peau, sont des facteurs déterminants de l'effet délétère possible sur la santé. Dans le corps humain ou animal, les pesticides peuvent être métabolisés, excrétés, stockés ou bio-stockés dans la graisse corporelle (OMS, 1990 ; Alewu et Nosiri ., 2011 ; Pirsheh et al., 2015).

Les nombreux effets négatifs sur la santé, associés aux pesticides chimiques, comprennent, des effets dermatologiques, gastro-intestinaux, neurologiques, cancérigènes, respiratoires, reproductifs et endocriniens, provoquant ainsi un déséquilibre physiologique. De plus, une forte exposition professionnelle, accidentelle ou intentionnelle aux pesticides peut entraîner une hospitalisation et peut même être mortelle dans certains cas.

Plusieurs pesticides sont avérés des perturbateurs endocriniens (PE) et sont fortement suspectés d'être néfastes au développement intra-utérin (A.R.L.A.S.C, 2007).

Ces produits chimiques notamment les insecticides peuvent interférer les fonctions cellulaires des différents systèmes de l'organisme (le système nerveux, le tube digestif,...) (Tableau 2).

Tableau 2 : Liste des principales classes d'insecticides y compris les néonicotinoïdes selon l'IRAC 2012 (Adapté de Louat, 2013).

Cible	Action	Familles	Exemples De molécules
Croissance et développement	Biosynthèse de la chitine	Benzoylurées	Chlorfluazuron, diflubenzuron
	Récepteur à l'éclydysone	Dyacylhydrazines	Chromafénoside, halofénoside, tébufénoside
Respiration Cellulaire	ATP synthetase mitochondriale		Azocyclotine, cyhexatine, diafenthion
	Transport des électrons dans la mitochondrie		Acequincyl, pyridabène, phosphine
Intestin			<i>Bacillus thuringiensis</i>
Système Nerveux	Canal sodium voltage dépendant	organochlorés	DDT, méthoxychlor
		pyréthrinoides	Cyperméthrine, deltaméthrine, pyréméthrine, téfluthrine
	Acétylcholinestérase	organophosphorés	Chlorpyrifos, diazinon, malathion, parathion
		carbamates	Aldicarbe, carbaryl, carbosulfan, thiocabe
	Récepteurs nicotiniques à l'acétylcholine	néonicotinoïdes	Acétamipride, imidaclopride, nitenpyrime, thiaméthoxam
		spinosines	Spinétorame, spinosad
	Récepteurs GABAergiques	Phénylpyrazoles	Ethiproles, fipronil
		organochlorés	Chlordane, endosulfan
	Récepteurs à l'octopamine		amitraze
	Récepteurs à la ryanodine	diamines	flubendiamide, chlorantranilipride

2. Les néonicotinoïdes

2.1. Définition et utilisation

Les néonicotinoïdes sont apparus dans le début des années 1990 et deviennent la classe des insecticides la plus utilisée dans le monde grâce à sa haute efficacité, sa protection de longue durée, ses multiples voies d'applications et sa systémicité qui lui permet d'atteindre tous les tissus des végétaux (Blottière, 2019 ; 2020) Ils sont des insecticides largement utilisés dans le traitement des semences (enrobage) contre des insectes suceurs de sève (les pucerons...), mais également comme composants de produits vétérinaires, tels que les traitements antipuces pour chiens et chats (Goulson, 2017).

Les néonicotinoïdes les plus couramment utilisés sont le Thiaclopride, l'Imidaclopride et le Thiaméthoxame (Viau, 2008). En plus de leurs effets sur les ravageurs, ils peuvent également toucher les organismes non ciblés qui peuvent en être exposés à la suite d'un contact direct avec des poussières contaminées, par consommation des eaux contaminés ou encore par ingestion d'une plante ayant absorbé l'insecticide (Paquet et al., 2021). Comparativement aux insecticides traditionnels, les néonicotinoïdes étaient longtemps considérés comme peu toxiques pour les mammifères. Cependant, de plus en plus d'études récentes ont montré qu'une exposition aux néonicotinoïdes présente un risque potentiel pour les mammifères et même les humains.

2.2. Mode d'action

Les néonicotinoïdes sont des analogues synthétiques de la nicotine. Ce sont les agonistes des récepteurs cholinergiques nicotiques (de l'acétylcholine), localisés dans la membrane post-synaptique du système nerveux central. Ces récepteurs sont présents dans le SN des vertébrés et des invertébrés et possèdent une grande affinité pour les néonicotinoïdes (Soumis, 2018). Ces derniers se lient fortement aux récepteurs (Figure 1) et entrent en compétition avec l'acétylcholine (Blottière, 2019 ; 2020). Les insecticides néonicotinoïdes ne peuvent pas être décomposés par l'acétylcholinestérase ce qui entraîne une surstimulation des nerfs, qui mène à la paralysie, il s'ensuit un arrêt des activités vitales et donc l'inévitable mort (Tomizawa et Yamamoto, 1992).

Les vertébrés ont une faible quantité de récepteurs nicotiques ayant une haute affinité pour les néonicotinoïdes, c'est pourquoi les néonicotinoïdes montrent a priori une toxicité plus élevée chez les invertébrés que chez les vertébrés, y compris l'homme (Simon-Delso et al., 2014).

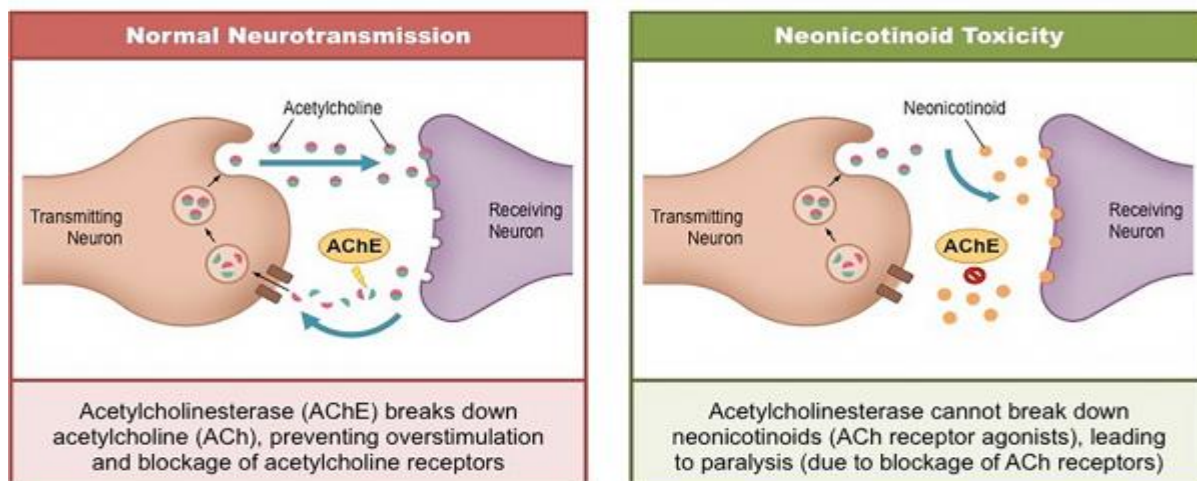


Figure 1 : mécanisme d'action des néonicotinoïdes. <https://ib.bioninja.com.au/standard-level/topic-6-human-physiology/65-neurons-and-synapses/neurotransmitters.html>

3. Thiaméthoxame

3.1. Histoire et Définition

Le thiaméthoxame (TMX) est un pesticide néonicotinoïde, doté de propriétés insecticides à large spectre. C'est un insecticide à action de contact et d'ingestion. Pourvu de propriétés systémiques, il est absorbé rapidement et transporté via le xylème pour atteindre toutes les parties de la plante (Jeschke et Nauen, 2008). Il a été synthétisé pour la première fois en 1991, et est maintenant développé dans le monde entier pour être utilisé dans diverses cultures. Le thiaméthoxame est commercialisé depuis 1998 sous les marques **Actara®** pour le traitement foliaire et du sol et **Cruiser®** pour le traitement des semences (Maienfisch, 2005).

3.2. Utilisation

Le TMX a une activité insecticide qui offre un excellent contrôle d'une grande variété de ravageurs dans de nombreuses cultures. Il est actif contre les insectes suceurs et broyeur comme; les pucerons et les aleurodes.

Ce pesticide est utilisé sur une variété de grandes cultures, notamment celles du maïs, riz et soja. Le mode d'utilisation est soit par enrobage de la semence, pulvérisation sur les feuilles des plantes ou application au sol du fait que le TMX est absorbable par les racines. Il est également utilisé pour protéger les enclos du bétail, les poulaillers, les terrains de golf, les pelouses et les plantes domestiques. Les traitements vétérinaires par ce produit comprennent l'administration orale de comprimés ou l'application de produits topiques (liquides et colliers) (Dryden et Coll, 2001).

3.3. Caractéristiques

- La formule brute du TMX est : C₈H₁₀ClN₅O₃S
- Son nom systématique est : 3-(2-Chloro-thiazol-5-ylméthyl)-5-méthyl-(1,3,5)oxadiazinan-4-ylène-N-nitroamine C₈H₁₀ClN₅O₃S
- Sa structure chimique est : (figure2)

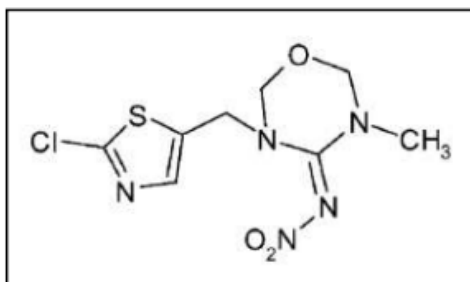


Figure 2: Structure chimique du Thiaméthoxame (Adapté de Bouchema et al., 2016).

- Quant à ses propriétés expérimentales, elles sont regroupées dans le tableau ci-dessous :

Tableau 3 : Les propriétés physico-chimiques du Thiaméthoxame.

Couleur et forme	- Poudre cristalline. (MacBean, 2010). -Granulés marron clair. (Meister, 2008).
Odeur	De moisi. (Meister, 2008).
Point de fusion	139.1 °C. (MacBean, 2010).
Solubilité	Dans l'eau , 4.1X10+3 mg/L à 25 °C. (MacBean, 2010).
Poids moléculaire	291.72 (g/mol-1) (A.R.L.A.S.C, 2007).

- Le TMX est rapidement et complètement absorbé, rapidement distribué dans le corps et aussi rapidement éliminé (MacBean, 2010).

3.4. Mode d'action

Le TMX comme les autres néonicotinoïdes, agit spécifiquement comme agoniste des récepteurs cholinergiques (nicotiniques) (Maienfisch et al., 2001) et entrave la transmission synaptique dans le système nerveux des insectes.

3.5. Exposition et toxicité

Concernant les fabricants et les agriculteurs, les risques professionnels ne sont pas préoccupants lorsque le Thiaméthoxame est utilisé conformément au mode d'emploi proposé sur l'étiquette, lequel comprend des mesures de protection (A.R.L.A.S.C, 2018).

L'exposition occasionnelle à ce pesticide devrait être largement inférieure à l'exposition subie par les travailleurs; par conséquent, les risques sanitaires liés à ce type d'exposition ne sont pas préoccupants (A.R.L.A.S.C, 2018).

3.5.1. Toxicité aiguë

Le TMX peut affecter les insectes par ingestion ou par simple contact. Il est légèrement toxique par voie orale et par inhalation et il possède une faible toxicité par la voie cutanée. Il est peu ou pas irritant pour la peau et les yeux et il ne cause pas de sensibilisation cutanée (Feki el al., 2021). Ses doses aiguës élevées exercent des effets neurotoxiques sur l'activité locomotrice (A.R.L.A.S.C, 2007).

3.5.2. Toxicité chronique

Selon l'Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire de Santé Canada (A.R.L.A.S.C, 2018), l'exposition à plusieurs doses de TMX sur une longue période peut avoir des effets sur la santé, notamment sur le foie, les reins, les testicules et le système nerveux.

Egalement des signes indicateurs d'effets du TMX sur le système endocrinien ont été observés chez plusieurs espèces (A.R.L.A, 2001).

Ainsi l'exposition répétée à ce pesticide peut se traduire par une hépato toxicité, d'une insuffisance rénale, d'une athérosclérose, d'un infarctus du myocarde avec une augmentation de la pression artérielle (A.R.L.A, 2001).

Dans les essais de toxicité pour la reproduction chez l'animal, un retard de la maturation des gonades chez les chiens et les souris femelles ont été observés (A.R.L.A, 2001).

II. Rappels anatomo-structuro-fonctionnels de l'appareil reproducteur mâle

1. Généralités sur l'appareil reproducteur mâle

L'appareil reproducteur mâle assure la production, le stockage et le transport des gamètes mâles : les spermatozoïdes. Chez les mammifères, y compris le rat, il est composé de plusieurs organes (Figure 3).

- Deux gonades ou testicules dont le rôle est d'élaborer les gamètes et de sécréter les androgènes.
- Les voies spermatiques assurant la maturation des spermatozoïdes et leur acheminement dans les voies génitales femelles.
- Les glandes annexes assurant par leurs sécrétions la qualité du sperme et la nutrition des spermatozoïdes.

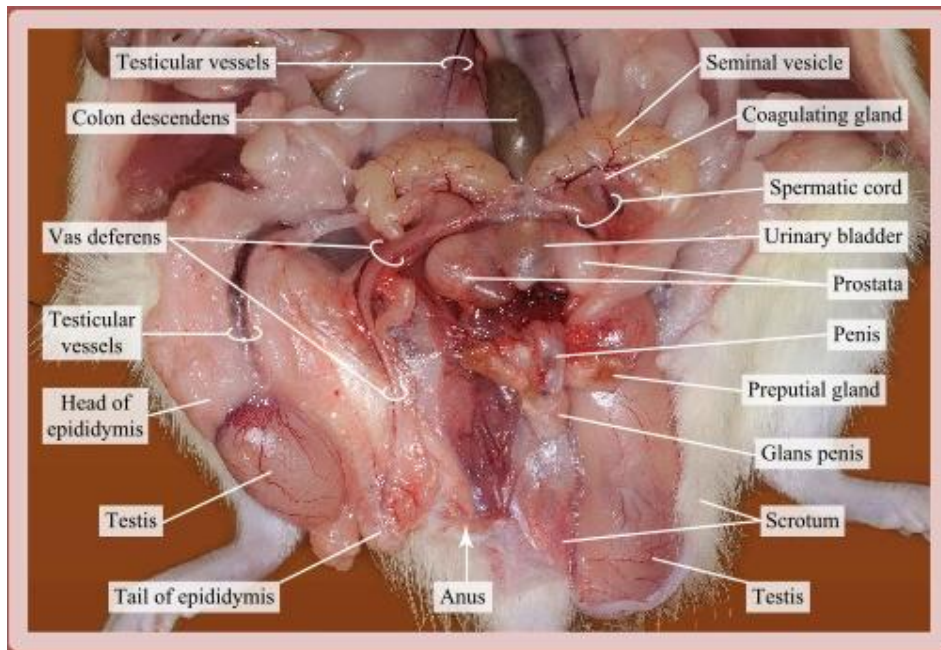


Figure 3 : Photographie de l'appareil reproducteur du rat male.

(<http://bszm.elte.hu/anatomy/mammals/54f/>)

1.1. Testicules et enveloppes testiculaires

1.1.1. Anatomie

Le testicule est un organe pair de forme ovoïde, situé en dehors de la cavité abdominale en position sous inguinale. Il est logé dans le scrotum et coiffé par l'épididyme (Figure 4). Un testicule mesure 2cm de long, et atteint chez le rat un poids d'environ 1g lorsqu'il est dépourvu de l'épididyme (Mansah, 2021).

Les testicules sont maintenus et protégés par des enveloppes testiculaires, on retrouve de l'extérieur vers l'intérieur : le scrotum, un fascia fibreux, une tunique vaginale et enfin une capsule conjonctive fibreuse épaisse et résistante, riche en fibre de collagène et renfermant des fibres musculaires lisses, appelées l'albuginée (Figure 4).

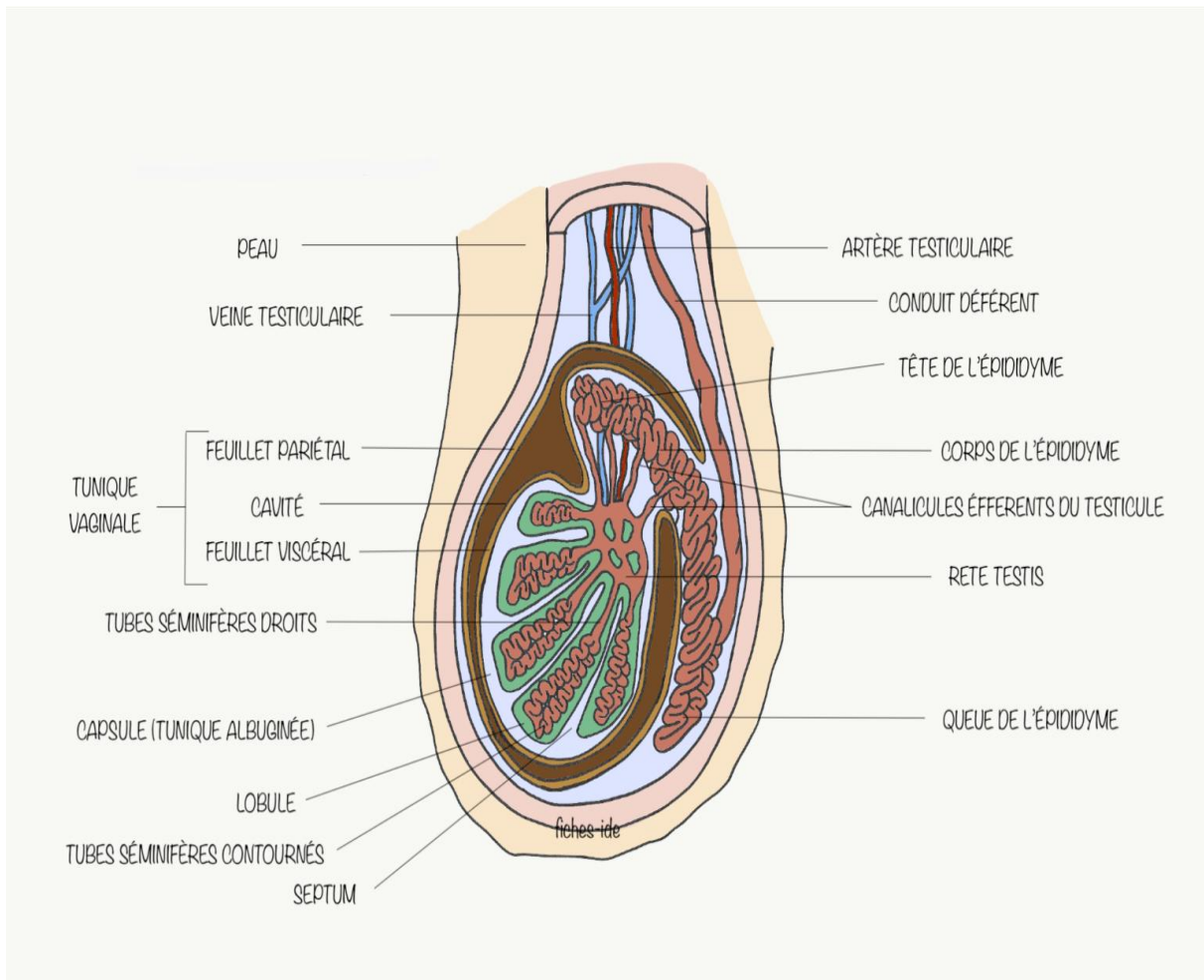


Figure 4: Testicule et enveloppes testiculaires

(<https://www.fiches-ide.fr/anatomie-physiologie/testicule-et-ses-enveloppes/>)

Cette capsule s'épaissit au niveau de la coiffe épидидymaire et s'enfonce à l'intérieur du testicule et forme un cône fibreux, le corps d'Highmore (Mansah, 2021). De ce dernier partent des cloisons conjonctives radiaires interlobulaires, les septa testis, délimitant 200 à 300 lobules testiculaires. Chaque lobule testiculaire contient 2 à 4 tubes séminifères très longs et flexueux (Ait Hamadouche, 2009).

1.1.2. Histologie du testicule

1.1.2.1. Tissu interstitiel

Les espaces entre les tubes séminifères, sont formés de tissu conjonctif lâche vascularisé et innervé, contenant des vaisseaux sanguins, lymphatiques et des nerfs, des fibroblastes, des lymphocytes, des macrophages et des mastocytes, des cellules endocrines groupées en îlots ou isolées, nommées les cellules de Leydig (figure5).

1.1.2.2. Tube séminifère

La paroi du tube séminifère est formée d'un épithélium stratifié comprenant deux types de cellules : les cellules de la lignée germinale et les cellules de Sertoli, cet épithélium est séparé du milieu interstitiel par une membrane basale.

Les limites cellulaires ne sont pas (ou peu) visibles par le microscope optique, ce qui donne une structure syncytiale (syncytium = masse cytoplasmique plurinucléé) au tube séminifère.

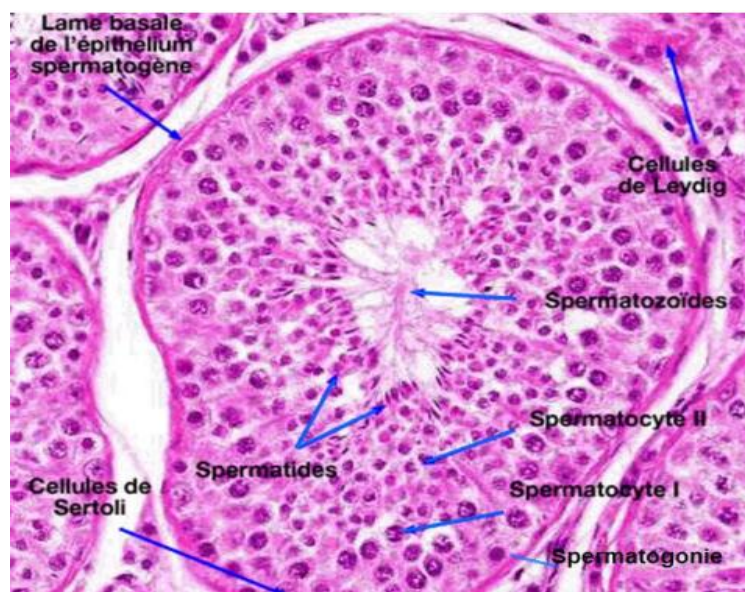


Figure 5 : Coupe histologique au niveau du testicule d'un rat G: x400

https://elearning.univusto.dz/pluginfile.php/96558/mod_resource/content/1/TP1%20BA%20Spermatogen%C3%A8se.pdf

1.1.2.3. Cellules de la lignée germinale

Tous les types de cellules germinales se présentent et s'organisent en plusieurs assises au niveau de l'épithélium séminifère. Ces cellules migrent au fur et à mesure de leur maturation du pôle basal de la périphérie du TS vers son pôle apical où sont libérés sous formes de spermatozoïdes « éléments différenciés de cette lignée ». Elles comprennent

successivement, de la périphérie vers la lumière du tube séminifère, les spermatogonies (**Sp**), les spermatocytes de premier ordre ou spermatocytes I (**Sp I**), les spermatocytes de deuxième ordre ou spermatocytes II (**Sp II**), les spermatides et les spermatozoïdes :

- **Spermatogonie** : sont petites arrondies ou ovalaires, de 10 à 15 μm de diamètre, adhérentes à une membrane basale (Figure 6). On distingue deux catégories de spermatogonies selon l'aspect de leurs noyaux (Fawcette et Burgos, 1956)

- **Les spermatogonies de type A** : caractérisées par un noyau condensé et se subdivisent par mitose en deux sous-types dont celles qui possèdent un noyau arrondi, sombre avec des nucléoles périphériques et des vacuoles nucléaires dites spermatogonies Ad (dark). Le nombre de spermatogonies Ad est limité et constitue un pool de réserve permanent ; et celles qui présentent des noyaux ovalaires pâles, des nucléoles centraux et sans vacuoles nucléaires dites spermatogonie Ap (pâle).

- **Les spermatogonies de type B** : ont un noyau arrondi à chromatine condensée en périphérie, elles subdivisent par division mitotique et donnent des spermatocytes I (2n). (Vacheret, 1999 ; Siffroi, 2001).

-**Spermatocytes I** : situées dans le compartiment basal du tube séminifère sont diploïdes, reconnaissables par leur cytoplasme abondant et leur noyau volumineux contenant une chromatine disposée en amas grossiers ou en fins filaments (Baunne, 2009).

- **Spermatocyte II** : Les spermatocytes de deuxième ordre sont des cellules haploïdes, rondes plus petites et d'existence fugace (moins de 24 heures) qui terminent rapidement la deuxième division de la méiose et engendrent des cellules à n chromosomes, les spermatides (Wheater et al., 2001). Les spermatides sont des cellules haploïdes de petites tailles, ovoïde à noyau rond et claire (Dadoune et al., 1990) et localisés à proximité de la lumière des tubes séminifères (Junqueira et Carneiro, 2007). Chaque spermatide subit une maturation et donne un spermatozoïde par un processus appelé spermiogénèse (Vacheret, 1999; Siffroi, 2001).

- **Spermatozoïde** : Les spermatozoïdes sont de très petites cellules allongées, filiformes, disposées en bouquet à l'apex des cellules de Sertoli et dotées d'une motilité flagellaire. Ils sont constitués de trois parties distinctes, la tête, col et la queue ou flagelle (Figure 6).

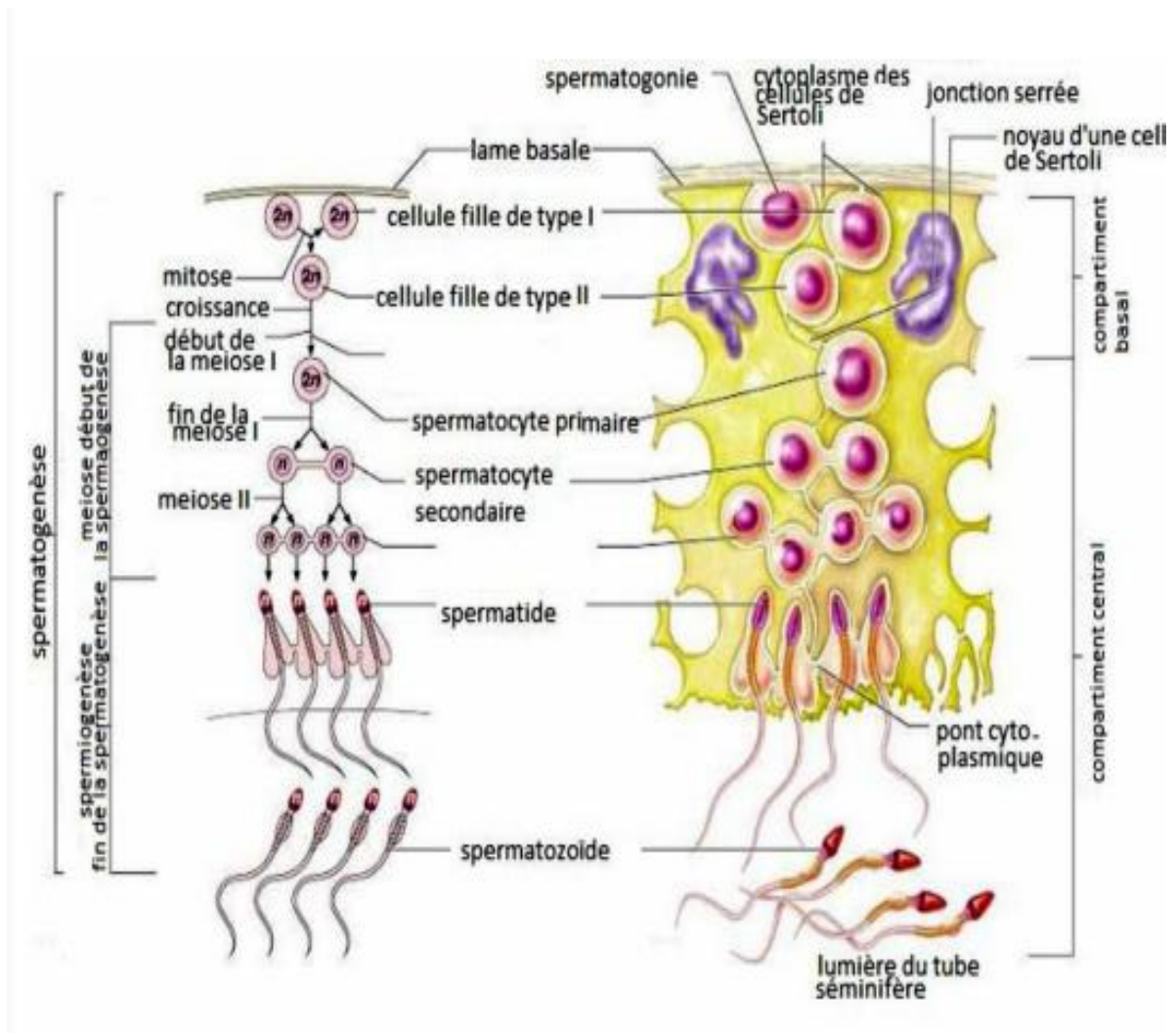


Figure 6 : Schémas de la différenciation germinale masculine (Marieb, 2005).

1.1.2.4. Cellule de Sertoli

La cellule de Sertoli est une grande cellule pyramidale qui s'étend de la membrane basale à la lumière du tube séminifère, leur forme et le volume varient au cours du cycle de l'épithélium séminal (Bensalem et Rabia, 2009). Leurs faces latérales sont enfoncées et ce pour loger les cellules germinales voisines (Figure 7). Elles ont un rôle de soutien pour ces dernières et sont indispensables au bon déroulement de la spermatogénèse en assurant la nutrition des cellules germinales et la mise en liberté des spermatozoïdes matures dans la lumière des tubes séminifères (Bouazza et Meddah, 2013).

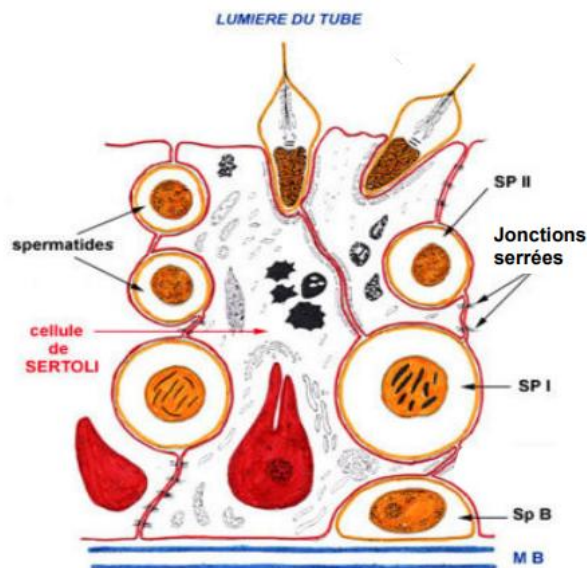


Figure 7: Structure de la cellule de Sertoli et l'organisation des cellules germinales. (Humeau et Arnal, 2005)

1.1.3 Fonctions du testicule

Les testicules assurent une double fonction, la production de spermatozoïdes et la sécrétion des hormones stéroïdiennes (Dadoune et Démolin, 1991)

a. Fonction exocrine

➤ La spermatogenèse

C'est l'ensemble des phénomènes de division et de différenciation cellulaire permettant la formation des cellules haploïdes (n) ou gamètes mâles (les spermatozoïdes) à partir des cellules diploïdes ($2n$), cellules germinales (les spermatogonies) (figure 8). Elle a lieu dans les tubes séminifères. Ce phénomène débute à la puberté et se poursuit jusqu'à un âge avancé (Grizard et Jimenez, 1997 ; Seiffer et al., 1999). Trois étapes de la spermatogenèse se distinguent.

- **La phase de prolifération** : dans cette phase, les spermatogonies se multiplient par des mitoses. Ces divisions permettent le renouvellement des spermatogonies constituant les cellules souches de réserve mais aussi la différenciation de ces cellules en spermatocytes I.

- **La méiose** : cette étape permet la transformation des spermatocytes I ($2n$), en passant par deux divisions successives, en spermatides (n) et ce par la réduction de moitié du nombre de chromosomes et de la quantité d'ADN. Chaque spermatocyte I subit un accroissement de taille et double sa quantité d'ADN puis entre en première division de méiose (division réductionnelle), pour former deux spermatocytes II haploïdes (spermatocytes de deuxième

ordre), contenant chacun 23 chromosomes formés de deux chromatides. Ces derniers vont subir à leur tour la méiose II (division équationnelle) (Figure 8) et donner quatre spermatides contenant 23 chromosomes constitués d'une seule chromatide (Tortora et Derrickson, 2009).

- **La spermiogénèse** : cette étape ne comporte pas de divisions mais uniquement une différenciation des spermatides, aboutissant aux spermatozoïdes. Le spermatide rond, issu de la dernière division de méiose, se différencie en un spermatide allongé et enfin en un spermatozoïde, et ce par des modifications structurales et chimiques (Sharma et Agarwal, 2011). Le spermatide subit de façon concomitante trois événements : la condensation du noyau, la formation de la pièce intermédiaire et du flagelle, ainsi que la formation de l'acrosome.

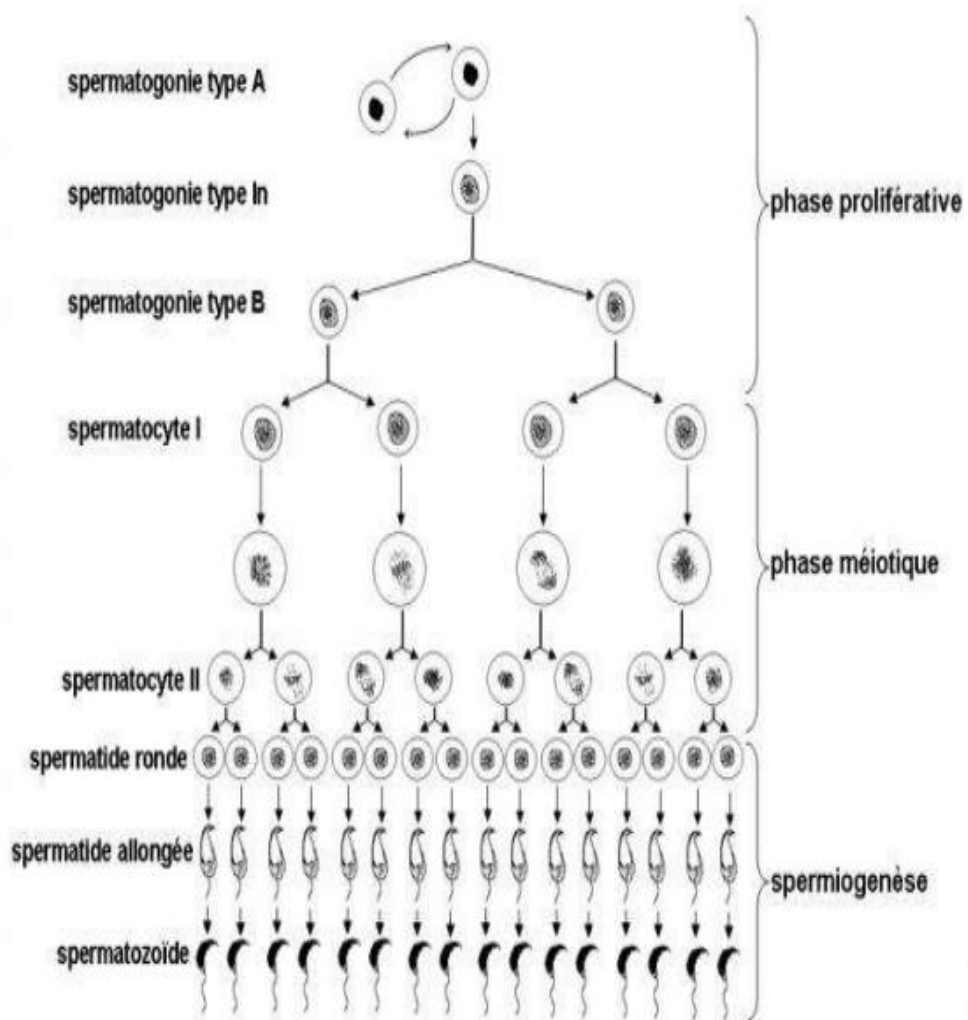


Figure 8: Représentation schématique simplifiée du déroulement de la spermatogénèse chez le rat. (Vernet, 2006)

b. Fonction endocrine

La fonction endocrine du testicule est assurée par les cellules de Leydig qui constituent la glande interstitielle de cette gonade. Ces cellules produisent les hormones stéroïdiennes, la testostérone, la dihydrotestostérone et le 17- β -œstradiol à partir d'un précurseur commun qui est le cholestérol lors de la régulation de la fonction de reproduction (Amann, 2011).

Les hormones stéroïdiennes synthétisés par cette cellule sont responsables du contrôle des caractères sexuels spécifiques mâles : la spermatogenèse, les sécrétions des glandes annexes, le comportement sexuel mais également les caractères sexuels secondaires (Benabou, 2013) comme la libido, la pilosité et la tonalité de la voix.

1.2. Les voies spermatiques

Ce sont les conduits qui transportent les spermatozoïdes depuis le testicule jusqu'à l'extérieur du corps (Marieb et Hoehn, 2014)

Elles sont deux voies : les voies intra-testiculaires comprenant les tubes droits et le Rete testis, et les voies extra-testiculaires composées des cônes efférents, le canal épидидymaire, le canal déférent, et le canal éjaculateur.

1.2.1. L'épididyme

1.2.1.1. Anatomie

Chaque testicule est relié à une structure allongée, nommée l'épididyme, composée de trois parties qui se ressemblent chez le rat et chez l'homme et qui sont d'épaisseur décroissante, une tête, un corps et une queue. La tête se situe au sommet du testicule tandis que le corps est logé au sommet postérieur (L'hote, 2009).

Il est formé par un système caniculaire long, qui débute par les canicules efférentes se réunissant au niveau du corps de l'épididyme afin de donner un conduit unique : le conduit épидидymaire, la queue de l'épididyme se prolonge ensuite par le canal déférent (Laville, 2007) qui débouche dans l'urètre (Bouazza et Meddah, 2013).

1.2.1.2. Histologie

Le canal épидидymaire comprend deux compartiments : un épithélium pseudo-stratifié, entouré de 2 à 6 couches de fibres musculaires lisses et de tissu conjonctif, contenant des terminaisons nerveuses et des capillaires sanguins, et une lumière bordée par cet épithélium (Robaire et Hermo, 1988).

L'épithélium épидидymaire comporte différents types cellulaires. Certaines cellules sont retrouvées sur toute la longueur du canal, alors que d'autres sont plus spécifiques d'une

région, elles présentent des caractéristiques fonctionnelles et structurales très variées de la région proximale à la région distale du tubule. Les types cellulaires retrouvés dans l'épithélium épididymaire sont les cellules principales, apicales, claires, en halo et basales (Figure 9) (Robaire et Hermo, 1988).

- **Les cellules principales** : représentent 65 à 80% des cellules épithéliales épididymaires et elles ne se divisent pas chez l'adulte, ce sont des cellules prismatiques à noyau basal avec des stéréocils (Figure 9) et leur fonction ainsi que leur structure varient selon la région (Herme et Robaire, 2002).

- **Les cellules basales** (de remplacement) : sont de petites cellules à la fois rondes et allongées avec noyau irrégulier et un cytoplasme pauvre en organites comportant de longues et minces projections qui enveloppent une grande proportion de la base de l'épithélium (Figure 9) (Girouard, 2009).

- **Les cellules en halo** : sont des petites cellules disséminées tout le long du canal épididymaire avec un bord étroit et un cytoplasme clair et un noyau dense (Robaire et al., 2006).

- **Les cellules claires** : sont de grandes cellules prismatiques présentes essentiellement dans le corps et la queue de l'épididyme (Olson et Hinton, 1985).

- **Les cellules apicales** : sont retrouvées principalement dans la tête épididymaire. Ces cellules ont un noyau sphérique en position apicale, d'où leur qualification. Leur cytoplasme est dense, très riche en mitochondrie (Martinez-Garcia et al., 1995).

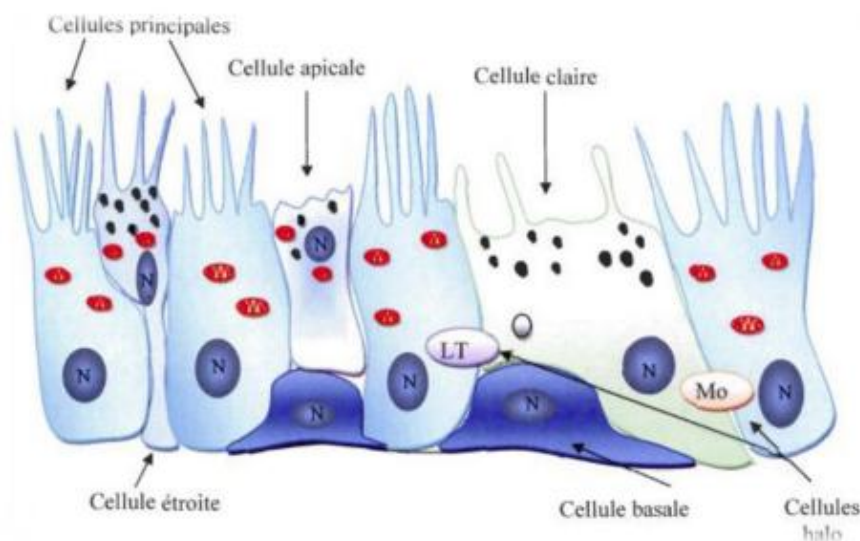


Figure 9: Représentation schématique de l'épithélium épididymaire (Girouard, 2009).

N : noyau ; LT : lymphocyte T ; Mo : monocyte

1.2.1.3. Ses fonctions

L'épididyme collecte, transporte et stocke les spermatozoïdes venant des tubules séminifères (Robaire et Hermo, 1988). Les gamètes poursuivent en son sein leur maturation (acquérant mobilité et capacitation). L'épididyme assure d'une part l'apport de nutriments et oligoéléments nécessaires à la conservation des spermatozoïdes et d'autre part la sécrétion de facteurs de décapacitation, ainsi que de l'élimination de surplus de sécrétion testiculaire.

S'il n'y a pas éjaculation, après plusieurs, les spermatozoïdes sont dégradés au sein de l'épididyme (Vanecke, 2019). Il réabsorbe 90% du liquide séminal primitif (Dacheux, 2002). Ses cellules apicales et claires interviendraient dans l'acidification du fluide épидидymaire (Martinez-Garcia et al., 1995).

1.2.2. Urètre

C'est un conduit à la fois urinaire et génital (Davody, 2015). L'urètre est un canal musculo-membranaire étendue de la vessie jusqu'à l'extrémité de la verge qui achemine le sperme et aussi par lequel la vessie se vidange.

1.2.3. Pénis

C'est l'organe de l'accouplement, il permet de déposer la semence dans les voies génitales femelles. Le pénis est formé de l'urètre, des muscles ischio-caverneux, et de formations érectiles (corps spongieux et caverneux) se dilatant sous l'afflux de sang au moment de l'érection (Bouazza et Meddah, 2013).

1.3. Glandes annexes

Elles sont au nombre de trois (Figure 3): les vésicules séminales (droite et gauche), la prostate (impaire et médiane) et les glandes de Cowper. Leur rôle majeur est d'apporter aux spermatozoïdes des substances énergétiques. Ces derniers favorisent la mobilité et le transfert des spermatozoïdes dans les voies génitales femelles.

1.3.1. Vésicules séminales

1.3.1.1. Anatomie

La vésicule séminale est un organe paire, allongés et ovoïde, elle a une surface irrégulièrement lobulée (Abraham et Kierszenbaum, 2002; Welsch, 2002).

Elles s'étendent dorso-latéralement autour de la vessie au-delà des crêtes iliaques, dorsalement en contact avec le rectum. Leur extrémité antérieure est libre, tandis que leur extrémité postérieure se termine par un canal excréteur qui fusionne en partie avec celui du

conduit défèrent (Figure 3) constituant ainsi le conduit éjaculateur qui débouche dans l'urètre (Barone, 1978).

1.3.1.2. Histologie

Comporte une paroi faite de trois couches (Rouvière et Delmas, 1992)

- Une muqueuse faite par un épithélium prismatique ou cubique simple, de type sécrétoire, produisant un liquide nutritif et de transport pour le sperme.
- Une musculuse (Figure 10) mince organisée en 2 couches de fibres musculaires lisses : une couche interne circulaire et une couche externe longitudinale.
- Une adventice.

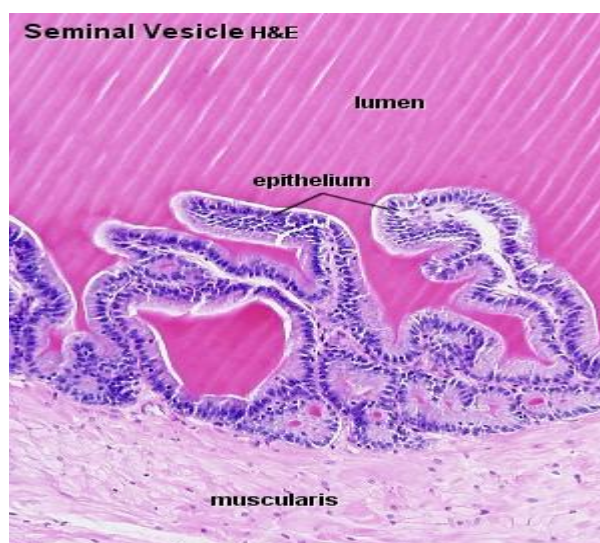


Figure 10 : Coupe histologique de la vésicule séminale chez l'homme.

<http://lecannabiculteur.free.fr/SITES/UNIV%20W.AUSTRALIA/mb140/CorePages/MaleRepro/MaleRepro.htm#Prostate>

1.3.1.3. Ses fonctions

Les vésicules séminales sont dotées de plusieurs fonctions :

- une fonction de sécrétion qui est hormono-dépendante, ainsi, en absence de testostérone entraîne une atrophie glandulaire et donc une absence de sécrétion.
- la sécrétion de plus de la moitié du liquide séminal, environ 60%, (le reste provenant essentiellement de la prostate). Le liquide séminal est jaunâtre, visqueux et alcalin. Il est riche en éléments participant à la nutrition et la mobilité des spermatozoïdes
- une fonction de spermatophagie vis à vis des spermatozoïdes anormaux.
- une fonction de réabsorption de sécrétions prostatiques ayant reflué au cours de l'éjaculation (Rouvière et Delmas, 1992).

1.3.2. Prostate

1.3.2.1. Anatomie

C'est une glande volumineuse, de couleur blanc jaunâtre, située directement sous la vessie et entourant la partie supérieure de l'urètre. Chez les rongeurs, la prostate est séparée en 4 lobes doubles : antérieurs, dorsaux, latéraux et ventraux (Lesson et Lesson, 1976 ; Dadoune et al., 2000 et Marieb, 2008), (Figure 3).

1.3.2.2 . Histologie

Sa paroi est faite:

- d'un épithélium prismatique avec quelques cellules de remplacement reposant sur une lame basale (Figure 11), les cellules présentent une importante activité de synthèse protéique (Kohler , 2010).

- d'un chorion conjonctivo-musculaire

La vessie est constituée par une cinquantaine de glandes tubulo-alvéolaires et sa structure est caractérisée par la présence relativement fréquente dans la lumière des tubulo-acini, de petits corps sphériques appelés corps de Robin (ou sympexions).

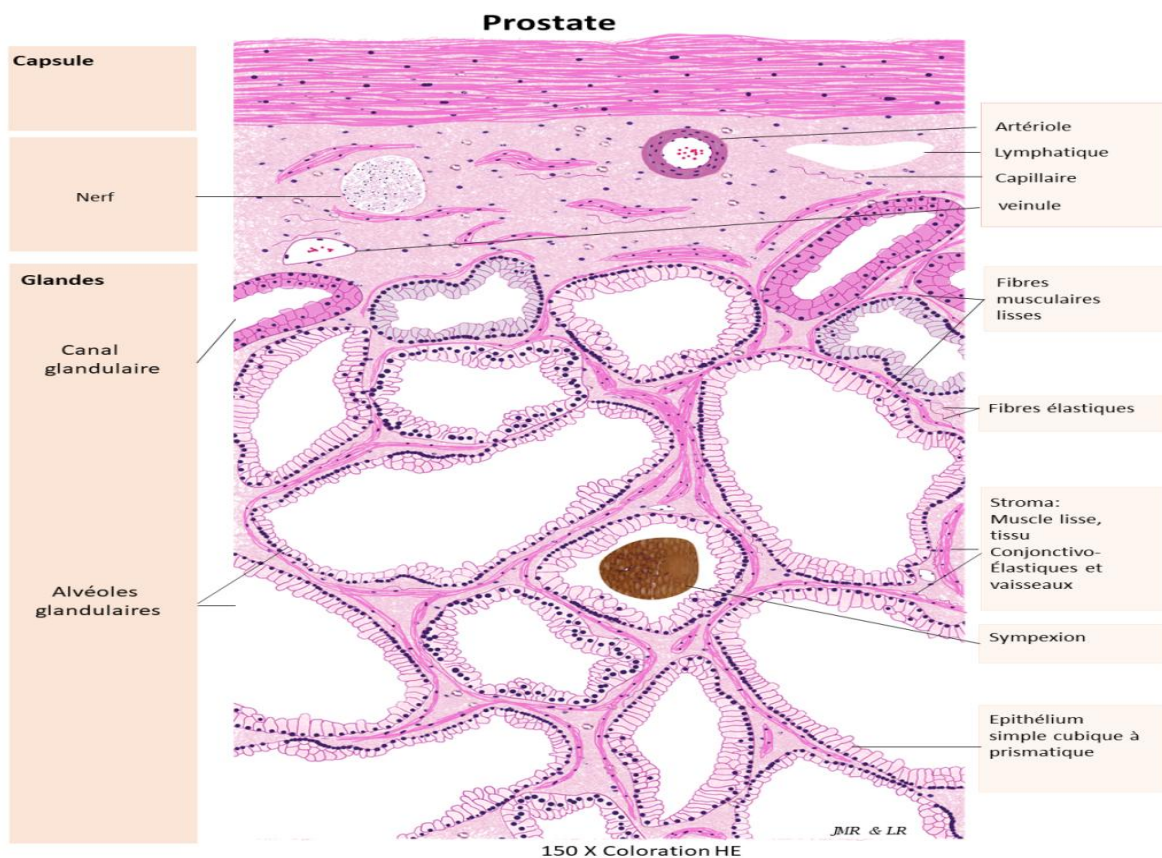


Figure 11 : Schéma montre l'histologie de la glande prostatique.

<https://index.php?module=detail&subaction=desc&vue=2&itm=43&g=0&d=1>

1.3.2.3. Ses fonctions

La prostate secrète un liquide prostatique épais et blanchâtre qui représente environ 30% du volume du sperme et qui est légèrement acide (pH 6,5). Il est riche en acide citrique, phosphatases acides, protéines et glycoprotéines (fibrinolysine, albumine etc.), ainsi qu'en zinc, magnésium et calcium (Tobelem, 1989). Ce liquide alcalin précède les spermatozoïdes et permet de réduire l'acidité des sécrétions vaginales.

1.3.3. Glandes de Cowper

1.3.3.1. Anatomie

Connues sous le nom de glandes bulbo-urétrales, elles sont deux petites glandes tubulo-acineuses situées sur la face dorso-latérale de l'urètre pelvien auquel elles s'attachent (Tobelem, 1989). Elles couvrent toute la partie caudale de ce dernier et leurs extrémités crânielles entrent en contact avec la prostate (Barone, 2001).

1.3.3.2. Histologie

Ces glandes sont entourées d'une capsule conjonctivo-élastique (Roger, 2002) et contenues dans un stroma conjonctif riche en fibres musculaires lisses et en fibres élastiques.

1.3.3.3. Ses fonctions

Les glandes de Cowper secrètent un liquide mucoïde, semblable au liquide prostatique, qu'elles déversent dans la région postérieure de l'urètre membraneux lors de l'éjaculation. Cette sécrétion est androgéno-dépendante (Tobelem, 1989).

2. Axe gonadotrope chez le male

Le processus de la spermatogenèse est régulé par les interactions endocriniennes entre l'hypothalamus, l'hypophyse, les cellules de Leydig et les cellules de Sertoli. Ce système est désigné sous le nom de l'axe hypothalamo-hypophyso-testiculaire (Ait-Hamadouche, 2009).

La sécrétion pulsatile de la gonadoliberine (GnRH) par l'hypothalamus dans la circulation porte hypothalamo-hypophysaire stimule l'hypophyse antérieure (adénohypophyse) qui répond par la production et la sécrétion des gonadotrophines, l'hormone lutéinisante : LH et la folliculostimuline : FSH (Hammond et al., 1997). Ces hormones, libérées dans la circulation générale, empruntent directement le chemin vers leur organe cible : le testicule. A ce niveau, chaque hormone agit sur un type bien précis de cellules caractérisées par la présence de récepteurs spécifiques. D'une part, la FSH agit sur les cellules de Sertoli pour activer la production de facteurs Sertoliens tels que l'ABP, la transferrine et d'autres molécules nécessaires au déroulement adéquat de la spermatogenèse. D'autre part, la LH agit

sur les cellules de Leydig pour la sécrétion de la testostérone, hormone sexuelle nécessaire pour le maintien de la spermatogenèse (Widmaier et al., 2009).

Par ailleurs, la testostérone contrôle à son tour les sécrétions gonadotropes de l'axe hypothalamo-hypophysaire (Figure 12). En effet, quand ses taux circulants augmentent dans le sang, elle exerce un rétrocontrôle négatif sur l'hypothalamus et l'antéhypophyse, qui en réponse vont diminuer leurs activités et donc leurs sécrétions respectives. La fréquence des pics de libération de la GnRH se réduit ce qui induit une diminution des sécrétions antéhypophysaires. L'inhibine qui est une hormone peptidique sécrétée par la cellule de Sertoli exerce également un rétrocontrôle négatif sur la sécrétion de la FSH. L'action de l'inhibine et de la testostérone entraînent une suppression maximale de la libération de la FSH (Heffner, 2003).

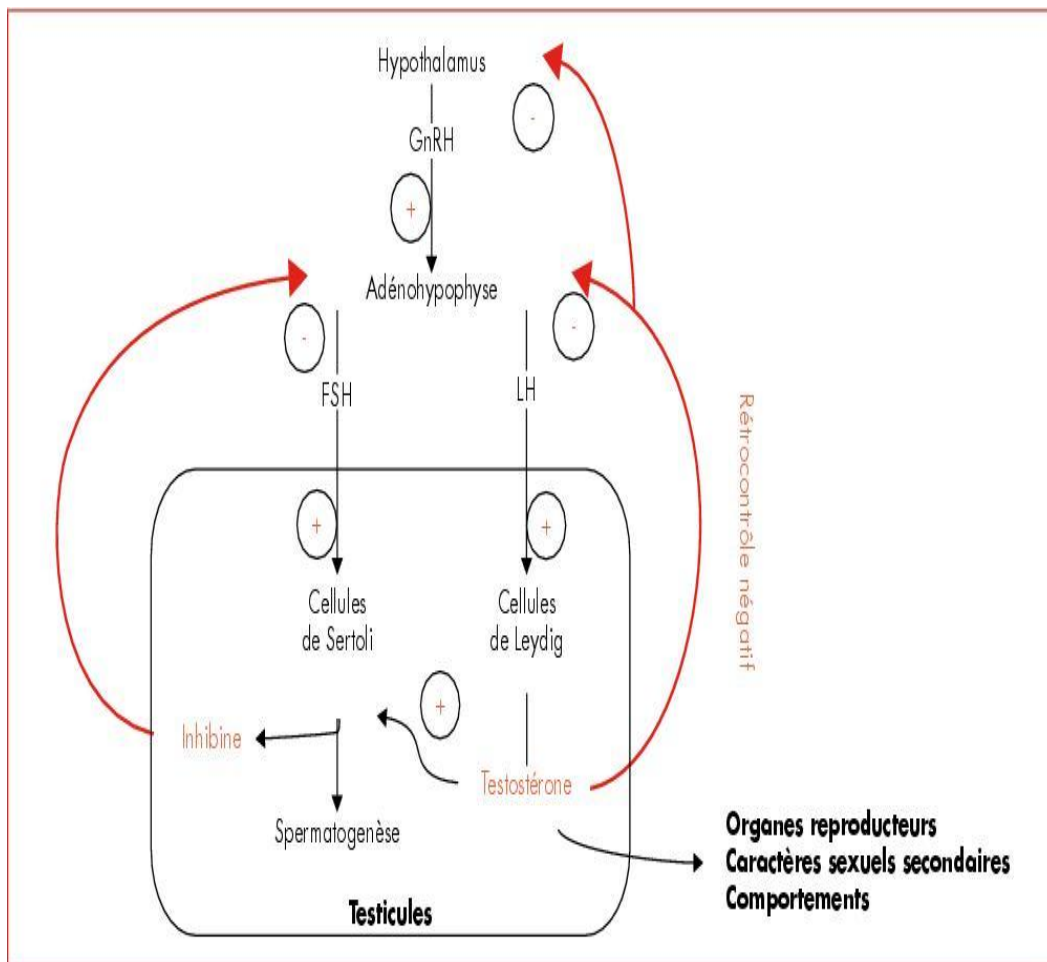


Figure 12 : Régulation de l'axe hypothalamo-hypophysaire-gonadique (Harel et Poirot, 2010).

Etude Expérimentale

Matériel et Méthodes

Le présent travail vise à évaluer l'effet reprotoxique d'une exposition sub-chronique à un insecticide dont la matière active est le Thiaméthoxame (TMX), commercialisé sous le nom **Actara®**, sur la fonction de reproduction en examinant les aspects histomorphométrique des différentes parties de l'appareil reproducteur du rat mâle.

L'expérimentation a été rendue possible grâce à la collaboration de la Faculté des Sciences Biologiques et Sciences Agronomiques de L'université Mouloud Mammeri de Tizi-ouzou (UMMTO) avec :

- L'animalerie de l'Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene (USTHB) où les animaux ont été traités par le produit étudié « TMX », et où les sacrifices ont été faites.

- Le laboratoire de Neurochimie de l'USTHB où les animaux ont été perfusés et les organes sont prélevés.

- Le laboratoire d'anatomo-pathologie de l'école nationale supérieur vétérinaire d'Alger, où la confection des coupes histologiques et leurs colorations ont été faites.

I Matériel

1. Matériel biologique

Pour notre étude, nous avons utilisé 20 rats males de laboratoire : *Rattus norvegicus*, de souche "Wistar" (Figure 13), issus de l'Institut Pasteur d'Alger (Annexe de Kouba Rage). Ce sont des animaux sains et reçus à l'Animalerie de l'USTHB et qui n'ont jamais été soumis à des expériences antérieures.



Figure 13 : Image de rats de laboratoire de souche Wistar (Original 2022)

Selon Chassé et Martel (2006), la position taxonomique du rat "Wistar" est la suivante :

Règne : Animal.

Embranchement : Vertébrés

Classe : Mammifères

Famille : Muridés

Ordre : Rongeurs

Genre : *Rattus*

Espèce : *norvegicus*

2. Matériel non biologique

2.1. La molécule testée

La molécule testée dans la présente étude est une formulation d'un insecticide dont la matière active est le Thiaméthoxame (Actara Thiamethoxam 25% WG).

2.2. Produits utilisés

- Uréthane dilué à 25% (Produit anesthésique).
- Ethanol
- Paraformaldéhyde à 4%
- Xylène
- Hématoxyline
- Eosine
- Paraffine
- Eukitt®
- Eau distillée.

2.3. Appareils et consommable

- Une balance de laboratoire
- Plaque refroidissante
- Microtome
- Bain marie
- Etuve
- Lames et lamelles
- Cassettes
- Microscope optique muni d'un appareil photos, connecté à l'ordinateur

2.4. Matériel de sacrifice et de dissection

- Planche à dissection
- Ciseaux
- Scalpel
- Couteau
- Clamps
- Aiguille épicroânienne / Cathéters

II. Méthodes

1. Traitement des animaux

Avant le début de l'expérimentation, les 20 rats mâles, jeunes adultes, dont l'âge varie entre 6 à 7 semaines et ayant un poids corporel moyen de 300 à 400 grammes, sont adaptés aux conditions du laboratoire. Ils recevaient la nourriture et l'eau à volonté (ad-libitum). La température ambiante moyenne est de 20-25°C, avec un cycle photopériodique de 12 heures de lumière/obscurité. Par ailleurs, un bon état hygiénique des animaux a été assuré.

Les 20 rats de l'expérimentation ont ensuite été répartis au hasard en quatre lots contenant 5 rats chacun. Ces animaux recevaient du TMX par gavage pendant 10 semaines selon les doses indiquées dans le tableau 4.

Tableau 4 : La répartition de rats par lots et traitement.

N° du lot	Nombre de rats	Traitement administré par gavage
Lot 1 : constitué de rats sains n'ayant pas été traités par le thiaméthoxame (Rats témoins).	5	1 ml/j d'eau du robinet.
Lot 2 : DJA (dose journalière Admissible / tolérable).	5	0.026 mg/kg du TXM + 1 ml/j d'eau
Lot 3 : NOAEL (Non Observed Adverse Effect Level) = Dose sans effet nocif observable	5	2.6 mg/kg du TXM + 1 ml/j d'eau
Lot 4 : NOAEL × 2 (Double dose de NOAEL)	5	5.2 mg/kg de TXM + 1 ml/j d'eau

La valeur DJA a été choisie selon les valeurs toxicologiques de référence fixées lors de l'élévation européenne dans le cadre de la réglementation relative aux substances

phytopharmaceutiques en 2006, cette valeur égale à : $DJA = 0.026$ (Anses, 2016). Elle est obtenue à partir de la dose NOAEL (dose sans effet néfaste observable) divisée par 100.

2. Sacrifice et prélèvement des organes

Les sacrifices ont été effectués au niveau de l'animalerie de l'USTHB. L'anesthésie de l'animal a été réalisée par injection intra-péritonéale d'un mélange de 25 g de poudre du produit anesthésique « Uréthane 25% » avec 100 ml d'eau. La quantité injectée de ce mélange dépend du poids de l'animal, il est administré à raison de 0.5 ml pour 100 grammes de poids corporel.

2.1. Perfusion intracardiaque

Ce type de perfusion permet d'introduire le fixateur (PAF 4%), à travers le système circulatoire dans toutes les parties du corps de l'organisme.

Les étapes de perfusion sont les suivantes :

- Immobiliser l'animal anesthésié à l'aide d'aiguilles sur une planche à dissection ;
- Faire une incision latérale de 5-6 cm, à l'aide de ciseaux de dissection, à partir de l'avant de l'orifice urinaire jusqu'en dessous de la cage thoracique sans endommager les organes sous-jacents (foie, cœur, gros vaisseaux...) ;
- Soulever le sternum à l'aide d'une pince hémostatique, permettant une vue claire des principaux vaisseaux ;
- Faire une petite incision à l'extrémité postérieure du ventricule gauche à l'aide de ciseaux à iris ;
- Placer une aiguille épicroténienne dans le ventricule gauche afin d'introduire le perfusant dans l'aorte ascendante, en prenant le soin d'éviter les bulles d'air ;
- Faire une incision rapidement au niveau de l'oreillette droite afin de permettre une circulation ouverte ou l'évacuation du produit de fixation ;
- Laisser le sérum physiologique (eau salée à 9 gr de sel dans 1 litre d'eau) s'écouler jusqu'à ce que le liquide qui ressort de l'oreillette droite soit exempt de sang. Le liquide évacuée doit être claire ;
- Perfuser ensuite avec la solution de fixation PFA (Paraformaldéhyde) à 4% (de 150 à 200 ml) avec un débit moyen de 14 ml/min.

2.2. Prélèvement des organes

Après perfusion, disséquer l'animal, puis prélever les organes d'intérêt, notamment dans le cas de notre étude les testicules, les épидидymes, les vésicules séminales et la prostate.

3. Techniques histologiques

L'étude histologique se déroule en une série d'étapes successives obligatoires qui vont aboutir à l'obtention de coupes fines prêtes pour la coloration histologique d'intérêt. Le protocole expérimental est résumé dans les étapes suivantes :

3.1. Post fixation des échantillons

Après leur prélèvement, les organes sont plongés directement dans la solution de fixation (le Paraformaldéhyde 4%), il s'agit de l'étape de post-fixation.

La fixation a pour but d'immobiliser les constituants cellulaires ou tissulaires et les conserver dans un état proche que possible de l'état vivant (Nzelof, 1972), permettant de pratiquer ultérieurement certaines manipulations avec un minimum de dommages pour les structures cellulaires.

3.2. Déshydratation, éclaircissement et imprégnation

La déshydratation consiste à se débarrasser complètement de l'eau contenue dans l'organe afin de permettre une bonne pénétration de la paraffine dans les tissus. Cette étape est réalisée de façon manuelle par passage dans une série de bains d'éthanol de concentration croissante (70°, 90°, 100°) pendant 2 heures pour chaque bain. Les échantillons sont ensuite transférés dans des bains de xylène pendant 2 heures pour l'éclaircissement.

L'imprégnation consiste à plonger les organes immédiatement après la déshydratation dans 3 bains successifs de la paraffine, à 60° C et ce pendant 2 heures chacun.

3.3. Inclusion ou enrobage des échantillons

L'inclusion fournit au tissu un support qui empêche sa fragmentation dans le but de réaliser des coupes fines et régulières. Les organes sont placés dans des moules spécifiques (cassettes d'inclusion identifiant l'échantillon), remplit de paraffine (Figure 14), puis une cassette est déposée au-dessus, ensuite de la paraffine liquide est versée une autre fois jusqu'à immersion totale de l'échantillon. Pour la solidification du bloc, les moules sont ensuite posés sur une plaque refroidissante (Figure 15). Un appareil d'enrobage est aussi utilisé (Figure 16).

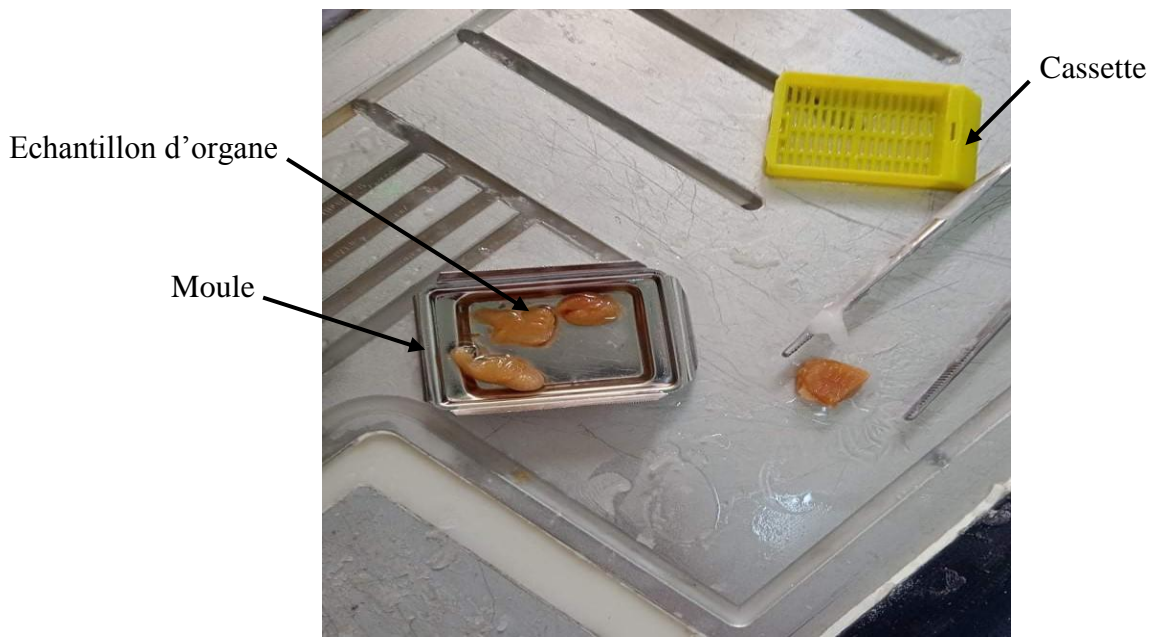


Figure 14 : Enrobage des échantillons par de la paraffine. (Originale 2022)



Figure 15 : Plaque refroidissante. (Originale 2022)



Figure 16 : Machine à enrobage. (Originale 2022)

3.4. Réalisation de coupes

A l'aide d'un microtome (figure 17), des rubans de 2 μm d'épaisseur sont obtenus par passage régulier du bloc à couper devant la lame du microtome en tournant régulièrement et lentement la manivelle de celui-ci. Les rubans de paraffine sont obtenus sous forme plissée. Ces derniers doivent être étalés dans un bain marie à une température de 41°C (Figure 18). Les coupes ainsi étalées sont ensuite récupérées sur une lame en verre.



Figure 17: Microtome. (Originale 2022)



Figure 18 : Bain marie. (Orignal 2022)

3.5. Déparaffinage

Ces lames ont été ensuite incubées dans une étuve à 60°C pendant un minimum de deux heures afin de retirer la paraffine qui imprègne les échantillons pour faciliter ainsi leurs colorations.

3.6. Réhydratation

Cette étape inversement à la déshydratation, consiste à un passage dans deux bains de xylène, puis en bains d'alcool à des degrés décroissants (100°, 90°, 70°).

3.7. Coloration

Le type de coloration utilisé dans notre étude est celle à l'hématoxyline éosine (HE), Elle permet de mettre en évidence les noyaux en violet et le cytoplasme en rose. Cela rend l'observation microscopique des tissus de l'organisme possible.

Cette étape se fait par un passage manuel des lames dans une série de bains selon l'ordre suivant:

- Un bain d'Hématine (pendant 1 min40) ;
- Rinçage à l'eau courante (3 min) ;
- Bain de l'éosine (3 min) ;
- Rinçage rapide (eau de robinet) (15 s) ;
- 3 bains d'alcool selon l'ordre croissant (70°, 90°, 100°) ;
- 2 bains de xylène (5 min chacun).

3.8. Montage

Les coupes colorées sont montées entre lame et lamelle avec de la résine synthétique (Eukitt®), les lames ont été ensuite identifiées par des étiquettes (Figure 19). Cette étape a pour but de conserver les coupes pendant plusieurs années.



Figure 19 : Lame prête pour l'observation. (Original 2022)

3.9. Observation microscopique

Les lames histologiques obtenues sont observées au microscope optique à différents grossissements (x40, x100 et x400) afin de rechercher toute modification histologique chez les animaux des différents lots traités comparativement au lot témoin.

Le microscope photonique est équipé d'un appareil photo, connecté à l'ordinateur.

4. Etude histo-morphométrique

Les photographies des différentes structures histologiques et les différentes mesures ont été obtenus grâce au logiciel « AxioVision 4.8 ». Les mesures prises sont les suivantes :

- Les diamètres des tubes séminifères, épидидymaires et prostatiques;
- La surface de la lumière des tubes séminifères ;
- La surface des noyaux (Cellules de Leydig, Spermatogonies) ;
- La surface des épithéliums épидидymaire et prostatique ;
- La hauteur des cellules ;
- La hauteur de l'épithélium de la vésicule séminale ;
- Le rapport nucléo-cytoplasmique.

Cette étude nous a permis de mettre en évidence d'éventuels changements histologiques en comparant les résultats obtenus chez les animaux de différent lot.

5. Etude statistique

Le traitement des données et les présentations graphiques des résultats ont été réalisés sous Microsoft Office Excel 2007, L'étude statistique a été faite par le « **logiciel R version 4.2.1** ». Les valeurs obtenues sont présentées par la moyenne \pm l'écart type.

La comparaison de la moyenne pour les 4 groupes a été faite comme suite :

- Si la normalité et l'homogénéité sont vérifiées, on utilise un test paramétrique de l'ANOVA.
- Si la normalité et l'homogénéité ne sont pas vérifiées, on utilise un test non paramétrique qui est le test de Kruskal-wallis.

Le degré de significativité de la différence entre les valeurs moyennes est défini par une probabilité P:

Si $P \geq 0.05$: la différence est non significative

Si $P \leq 0.05$: la différence est peu significative *

Si $P \leq 0.01$: la différence est très significative **

Résultats et Discussion

I. Résultats

L'observation en microscopie optique des différents tissus gonadiques chez le rat mâle a permis de révéler des changements histologiques suite à l'exposition au Thiaméthoxame (TMX).

1. Histo-morphométrie du testicule

1.1. Aspect histologique du testicule

Des coupes de testicules de rats témoins et traités par le Thiaméthoxame observées au microscope photonique au faible grossissement (G x100) montrent de nombreux canalicules de différents aspects (Figure 20, A-D) correspondant aux tubes séminifères. Ces derniers renferment de l'extérieur vers la lumière plusieurs couches de cellules germinales et les cellules de Sertoli.

Entre les tubes séminifères se trouve un tissu conjonctif (TC) contenant des vaisseaux sanguins (Vs) et les cellules de Leydig (CL).

Comparativement aux testicules du lot témoin (Figure 20A), l'examen morphologique des testicules des rats du lot DJA (Figure 20B), traités par 0.026 mg/kg de TXM, ne montre pas de modifications histologiques remarquables. En effet, on observe de nombreux tubes séminifères séparés par un tissu vascularisé renfermant des cellules interstitielles ou cellules de Leydig. La paroi de ces tubes séminifères englobe une série de cellules germinales à différents stades, allant des spermatogonies jusqu'aux spermatozoïdes accumulés dans la lumière des tubes séminifères, en passant par les spermatocytes et les spermatides.

L'observation des coupes histologiques des testicules de rats du lot NOAEL (Figure 20C), traités par 2.6 mg/kg de TXM, révèle la présence de vacuolisation et de vasodilatation au niveau du tissu conjonctif inter-tubulaire, ainsi qu'une réduction de la surface de la lumière des tubes séminifère.

Le tissu testiculaire des rats du lot NOAEL x2 (Figure 20D, D'), traités par 5.2 mg/kg de TXM, montre une réduction de la surface luminale, une diminution du nombre de spermatozoïdes, ainsi qu'une vacuolisation (beaucoup plus importante chez ces lots) et une dilatation des vaisseaux sanguins présents dans le tissu inter-tubulaire.

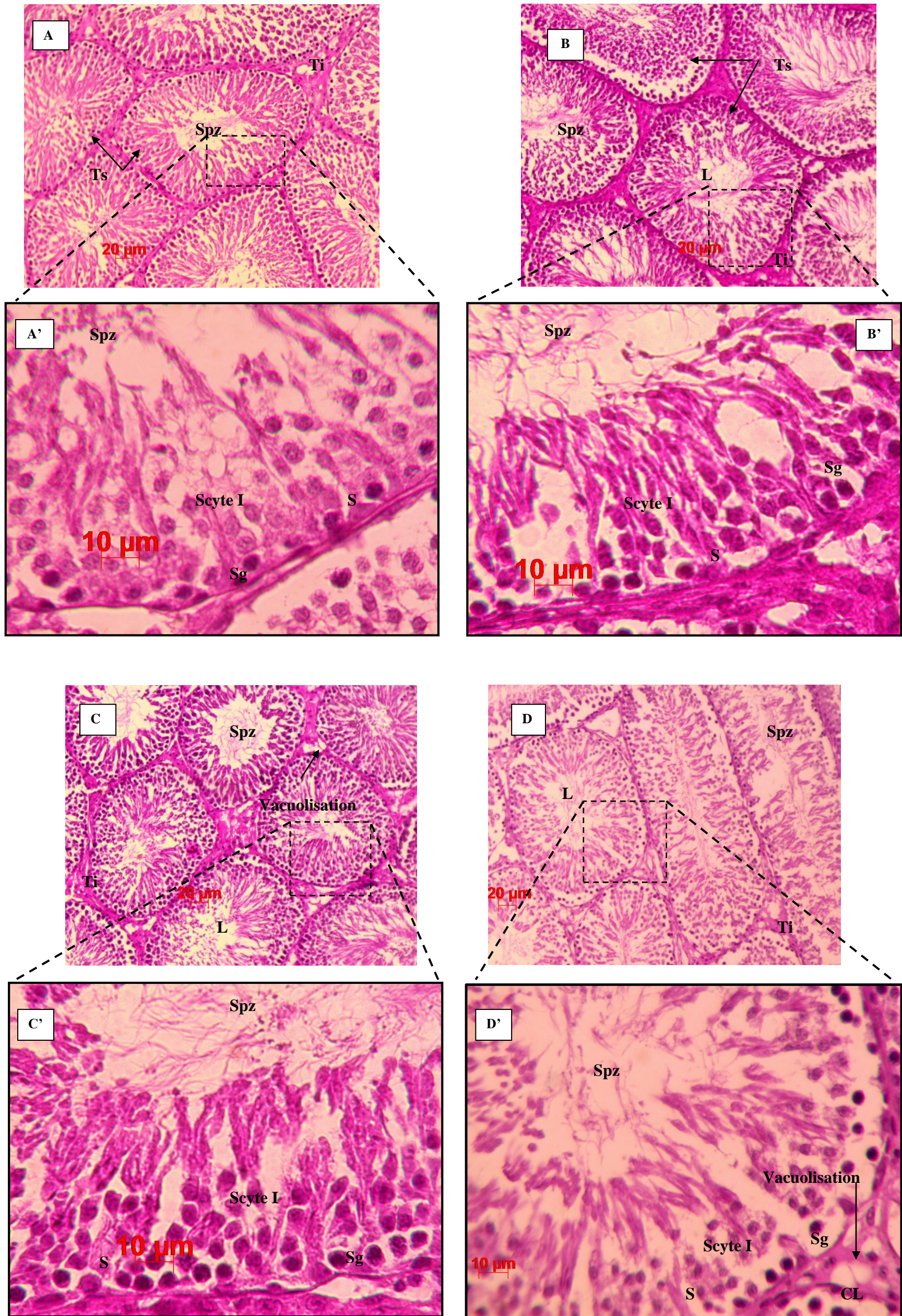


Figure 20: Coupes histologiques du testicule chez les rats témoins (A) et traités pendant 10 semaines par le Thiamethoxam : DJA (B), NOEL (C) et NOEL x 2 (D). Coloration H et E.

L : lumière ; **Spz :** spermatozoïde ; **CL :** cellule de Leydig ; **Ti :** tissu interstitiel ; **Spg :** spermatogonie ; **Scyte I :** spermatocyte ; **S :** cellule de Sertoli ; **Vs :** vaisseau sanguin ; **Ts :** tube séminifère.
 Barres d'échelle : 20 µm (G x100) pour A, B, C, D et 10 µm (G x400) pour A', B', C', D'.

1.2. Données morphométriques du testicule

1.2.1. Diamètre des tubes séminifères

Le diamètre des tubes séminifères est de $196.41 \pm 33.26 \mu\text{m}$ chez les témoins, de $188.11 \pm 33.47 \mu\text{m}$ chez les traités DJA, $204.16 \pm 30.28 \mu\text{m}$ chez les traités NOAEL et de $195.01 \pm 56.76 \mu\text{m}$ chez les traités NOAEL x2.

L'examen comparatif des résultats ci-dessus entre le lot témoin et les lots expérimentaux (DJA, NOAEL, NOAEL x2) ne révèle aucune différence significative ($P > 0.05$) ; (Figure 21).

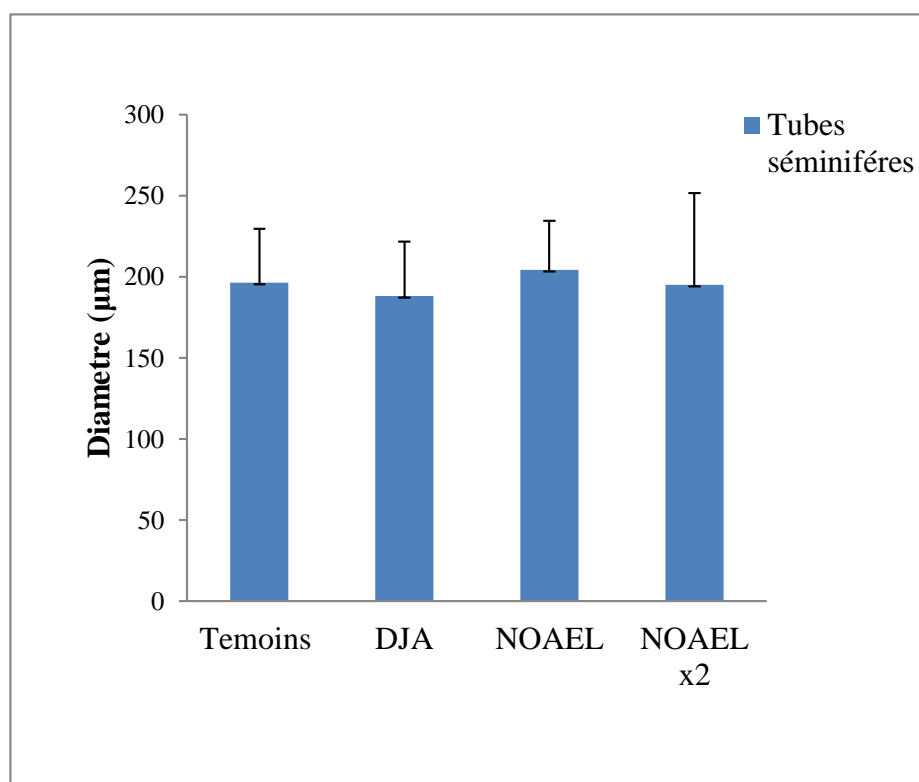


Figure 21: Le diamètre des tubes séminifères des rats traités avec le Thiamethoxame: DJA, NOAEL, NOAEL x2, comparativement aux témoins.

1.2.2. Surface de la lumière des tubes séminifère

Concernant la lumière des tubes séminifères, la surface moyenne mesurée est de $5545.72 \pm 2785.19 \mu\text{m}^2$ pour les témoins, $4628.46 \pm 1414.88 \mu\text{m}^2$ pour DJA, $4577.04 \pm 2606.19 \mu\text{m}^2$ pour NOAEL, et de $3277.24 \pm 1431.81 \mu\text{m}^2$ pour NOEL x2.

Une légère diminution de la surface de la lumière des tubes séminifères a été relevée chez les rats traités, notamment chez le lot NOAEL x2, cependant, ce résultat n'est pas confirmé par l'analyse statistique ($P > 0.05$; Figure 22).

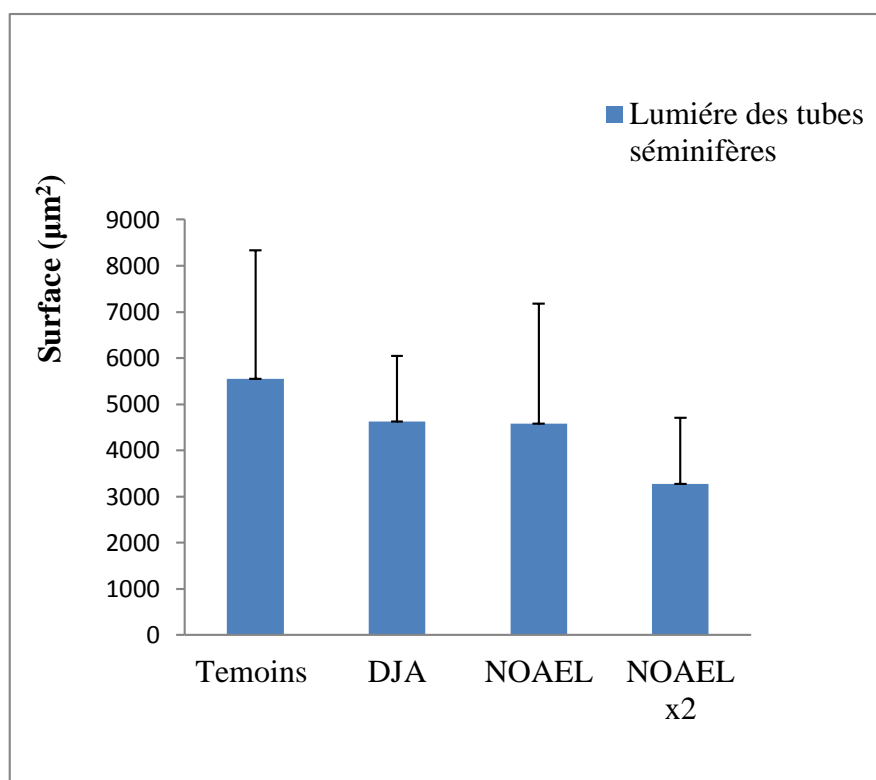


Figure 22 : La surface moyenne de la lumière des tubes séminifères des rats traités par le Thiamethoxame: DJA, NOAEL, NOAEL x2, comparativement aux témoins.

1.2.3. Surface des noyaux des spermatogonies

Les noyaux des spermatogonies présentent une surface de $17.9 \pm 3.52 \mu\text{m}^2$ pour les témoins, $15.64 \pm 5.24 \mu\text{m}^2$ pour les rats du lot DJA, $12.84 \pm 5.11 \mu\text{m}^2$ pour ceux du lot NOAEL, et $15.72 \pm 3.58 \mu\text{m}^2$ pour ceux du lot NOAEL x2.

La comparaison de ce paramètre entre le lot témoin et les traités fait apparaître une légère diminution chez les trois lots traités, mais plus prononcée chez le lot NOAEL, comparativement aux témoins. Cependant, les différences enregistrées sont statistiquement non significatives (Figure 23).

1.2.4. Surface des noyaux de cellules de Leydig

Pour les cellules de Leydig, la surface moyenne du noyau est de $9.09 \pm 3.34 \mu\text{m}^2$ pour les témoins, $6.65 \pm 2.5 \mu\text{m}^2$ pour les traités DJA, $7.56 \pm 2.22 \mu\text{m}^2$ pour les traités NOAEL et $10.83 \pm 3.1 \mu\text{m}^2$ pour les traités NOAEL x2.

L'examen statistique de ces valeurs a révélé une baisse de ce paramètre chez les traités DJA, et NOAEL, ainsi qu'une hausse chez les traités NOAEL x2 ($P < 0.01$; Figure 24).

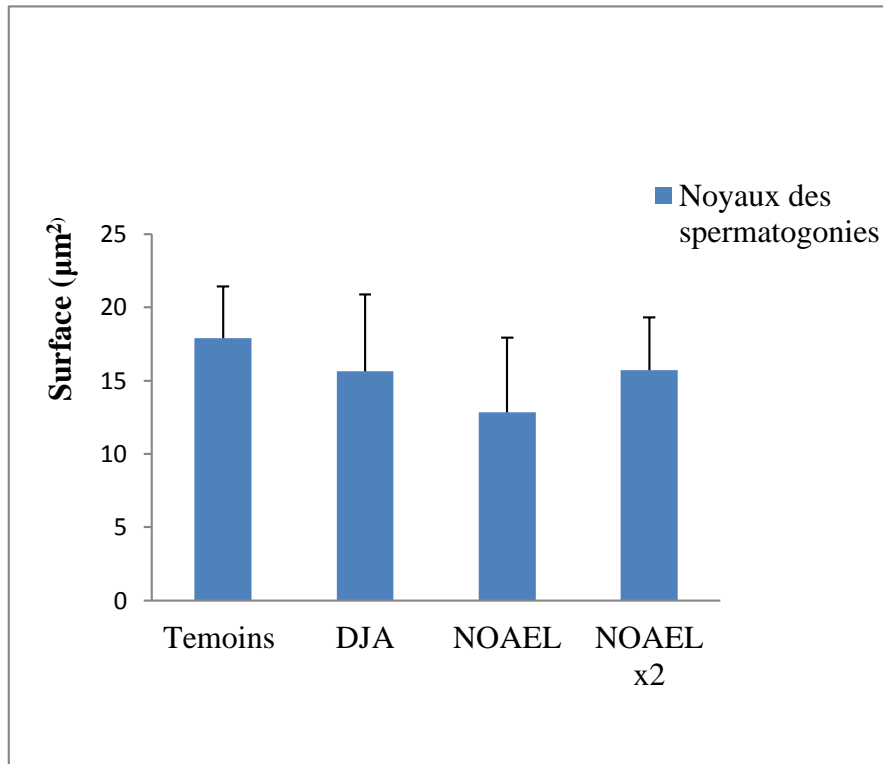


Figure 23: La surface des noyaux des spermatogonies des rats traités par le Thiamethoxame: DJA, NOAEL, NOAEL x2 comparativement aux témoins.

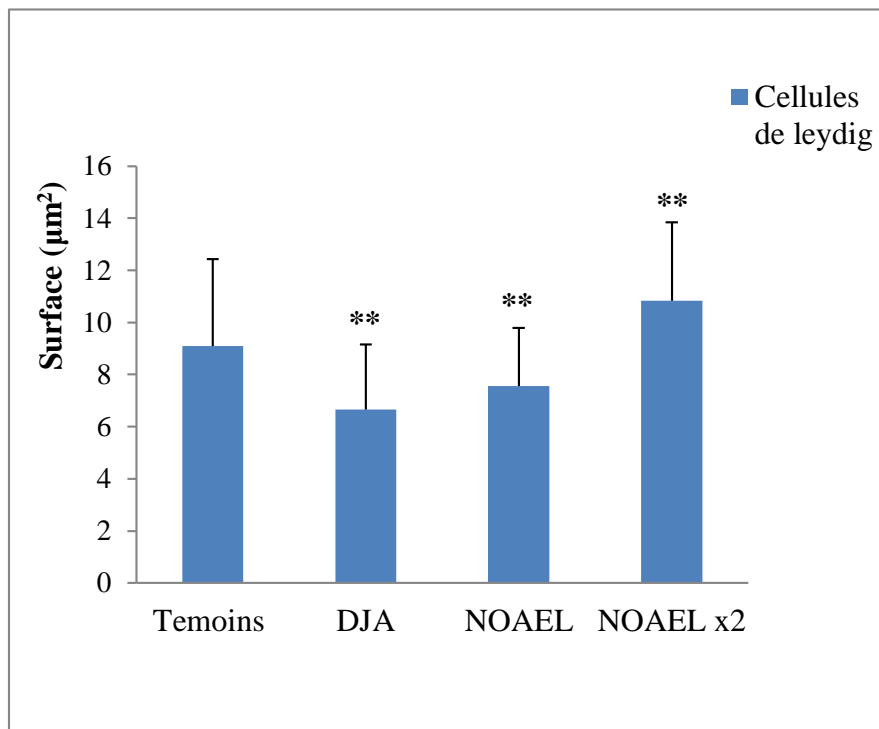


Figure 24 : La surface des noyaux des cellules de Leydig des rats traités par le Thiamethoxame: DJA, NOAEL, NOAEL x2 comparativement aux témoins.

2. Histo-morphométrie de l'épididyme

2.1. Aspect histologique de l'épididyme

Une coupe histologique au faible grossissement (Gx100) au niveau de l'épididyme des rats du lot témoin montre des tubes épидидymaires avec une forme régulière de l'épithélium.

Ces tubes sont délimités par une fine couche de tissus musculaire lisse, des spermatozoïdes occupent la lumière tubulaire (Figure 25A).

Au grossissement Gx400, l'épithélium apparaît pseudostratifié, avec des cellules principales munies de stéréocils du côté apical. Quant aux cellules basales elles sont moins délimitées, apparaissant discontinues à la base de certaines marges épithéliales (Figure 25A').

L'aspect histologique de l'épididyme des rats du lot DJA en apparence est normal (Figure 25 B), laissant apparaître un épithélium pseudostratifié, des stéréocils au pôle apical et une lumière épидидymaire contenant des spermatozoïdes (Figure 25B').

Tout comme pour le lot DIA, pour le lot NOAEL, nous n'avons relevé aucune modification marquante de la structure morphologique de l'épididyme (Figure 25C, C'). Cependant, nous avons noté la présence d'une hyperplasie régénératrice au sein de l'épithélium.

Au niveau de la structure histologique épидидymaire des rats du lot NOAEL x2, nous avons constaté certaines modifications, telles que la présence d'une hyperplasie de l'épithélium pseudostratifié et une augmentation du diamètre des tubes et de l'espace inter tubulaire (Figure 25 D, D'). De plus, les spermatozoïdes paraissent moins importants du point de vue nombre dans la lumière.

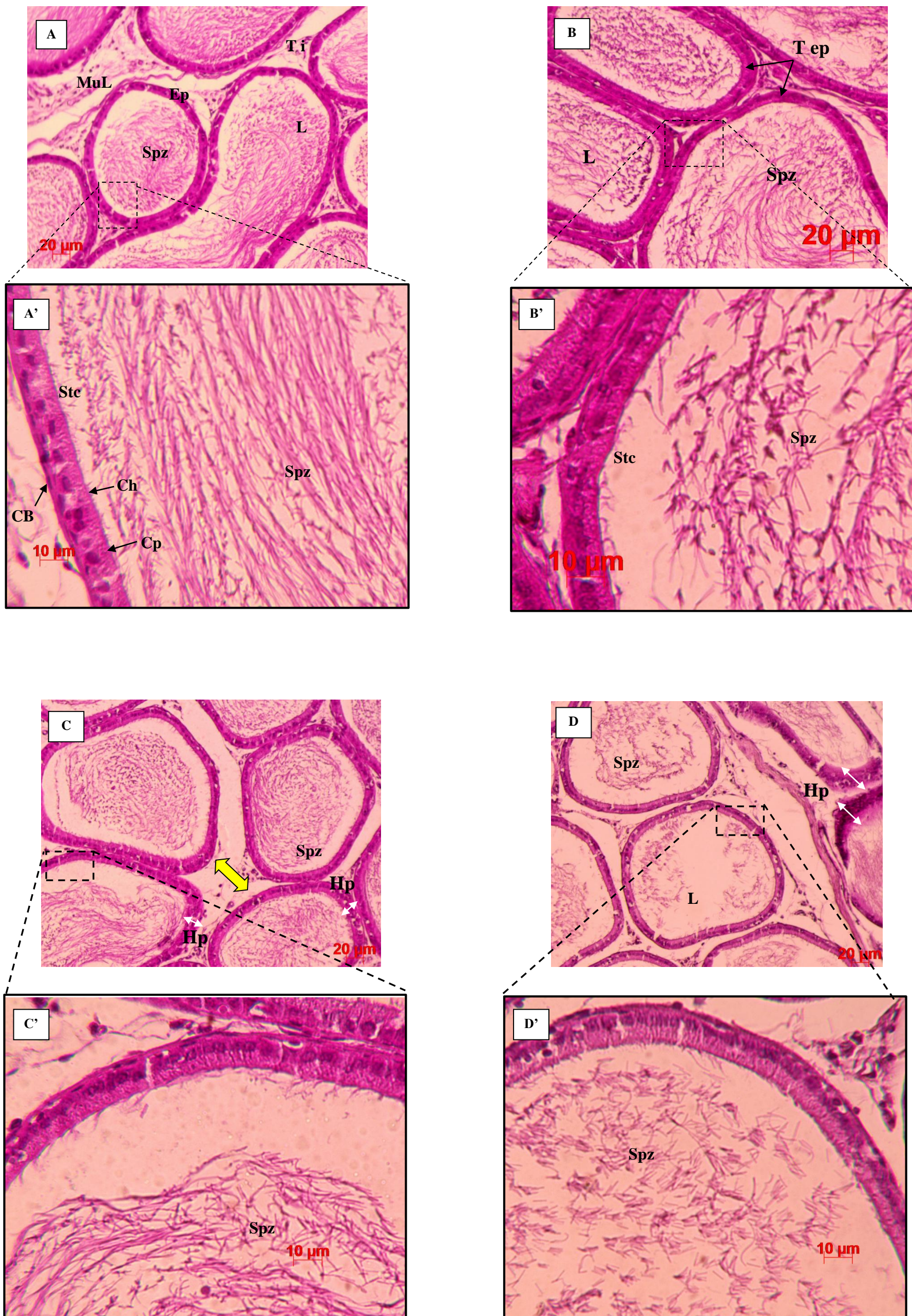


Figure 25: Coupes histologiques de l'épididyme chez les rats témoins (A) et traités pendant 10 semaines par le Thiamethoxame : DJA (B), NOEL (C) et NOEL x 2 (D). Coloration H et E.

Spz: spermatozoïdes ; **L:** lumière ; **CB:** cellule basale ; **Ch:** cellule halo ; **Cp :** cellule principale ; **stc :** stereocils; **vs :** vaisseau sanguin; **T ep :** tube épидидymaire. **Hp :** hyperplasie. **↔ :** Espace intertubulaire.

Barres d'échelle : 20 µm (G x100) pour A, B, C, D et 10 µm (G x400) pour A', B', C', D'.

2.2. Donnés morphométriques de l'épididyme

2.2.1. Diamètre des tubes épидидymaires

Au niveau de l'épididyme, le diamètre est d'une valeur moyenne de $162.36 \pm 10.36 \mu\text{m}$ pour les rats témoins, $155.8 \pm 27.35 \mu\text{m}$ pour les DJA, $183.72 \pm 18.78 \mu\text{m}$ pour les NOAEL, et $213.36 \pm 45.35 \mu\text{m}$ pour les traités NOAEL x2.

La comparaison des moyennes révèle une hausse significative ($P < 0.05$) chez les traités : NOAEL et NOAEL x2 comparativement aux témoins (Figure 26).

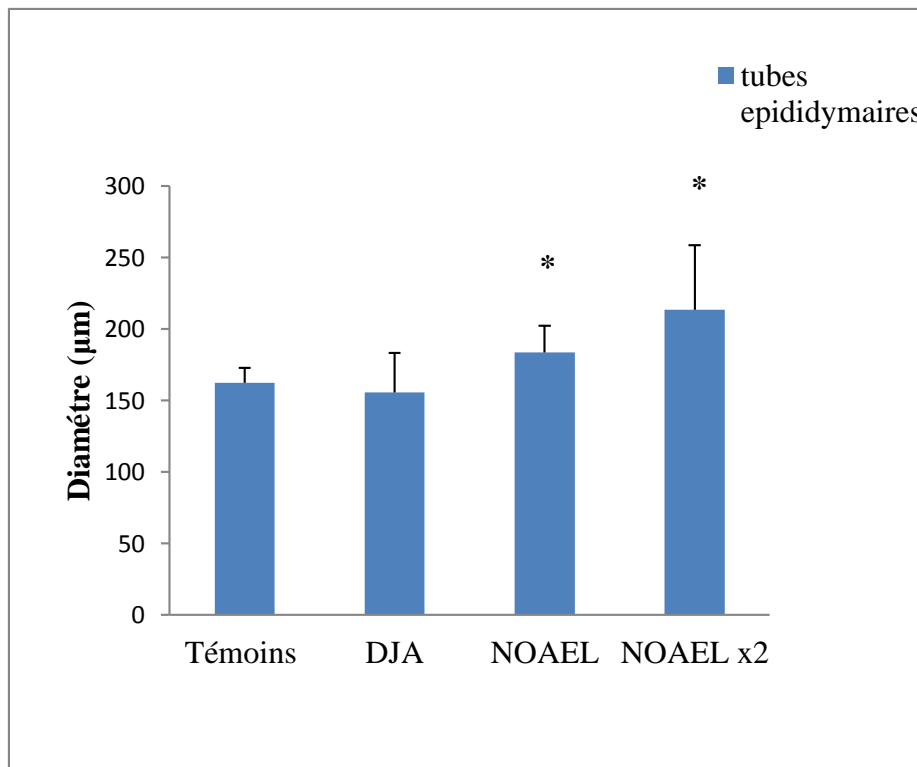


Figure 26: Le diamètre des tubes épидидymaire des rats traités par le Thiamethoxame: DJA, NOAEL, NOAEL x2 comparativement aux témoins.

2.2.2. Surface de l'épithélium épидидymaire

La valeur moyenne de la surface de l'épithélium épидидymaire est de $3868.8 \pm 1679.72 \mu\text{m}^2$ pour les témoins, $5958.24 \pm 1106.46 \mu\text{m}^2$ pour les traités DJA, $6900.07 \pm 952.51 \mu\text{m}^2$ pour les NOAEL et $6700.89 \pm 743.3 \mu\text{m}^2$ pour les NOAEL x 2.

Nous avons relevé une légère augmentation de la surface de l'épithélium chez les trois lots de rats traités et d'une façon plus prononcée chez les NOAEL et NOAEL x2 comparativement aux rats témoins ($P < 0.05$; Figure 27).

2.2.3. Rapport nucléo-cytoplasmique de l'épididyme

Les résultats illustrés dans la figure 31 ne montrent aucune différence du rapport nucléo-cytoplasmique de l'épididyme chez les traités : DJA (0.19 ± 0.01) et NOAEL ($0.18 \pm$

0.03) comparativement aux témoins (0.17 ± 0.04). A l'inverse, une légère augmentation est constatée chez les traités NOAEL x2 comparativement aux témoins (0.22 ± 0.04 vs 0.17 ± 0.04), même si cette différence n'est statistiquement pas significative ($P > 0.05$; Figure 28).

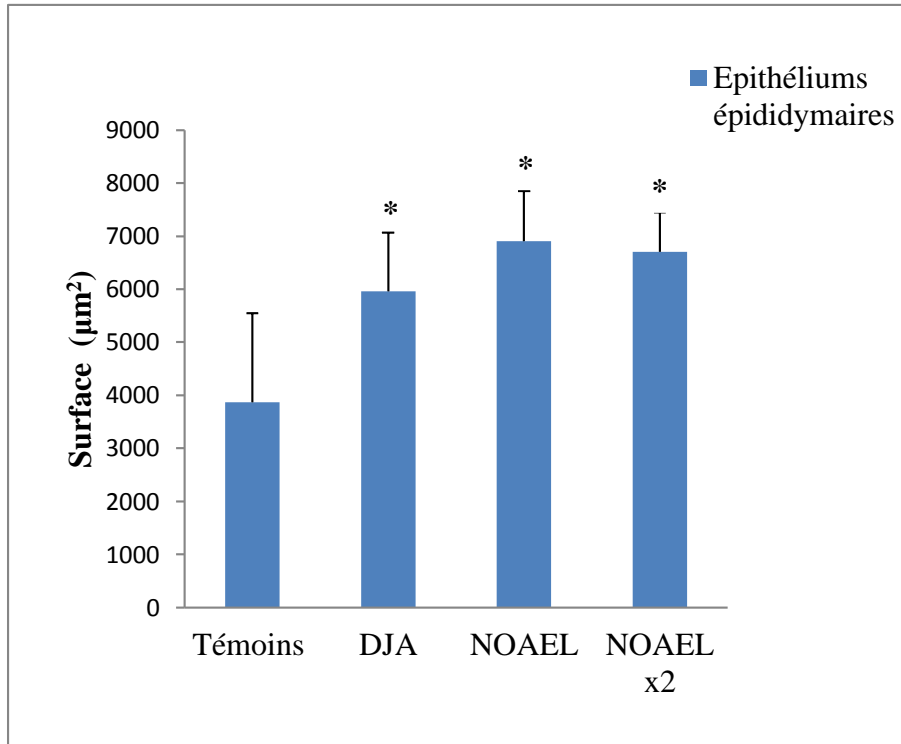


Figure 27 : La surface de l'épithélium épидидymaire des rats traités par le Thiamethoxame: DJA, NOAEL, NOAEL x2 comparativement aux témoins.

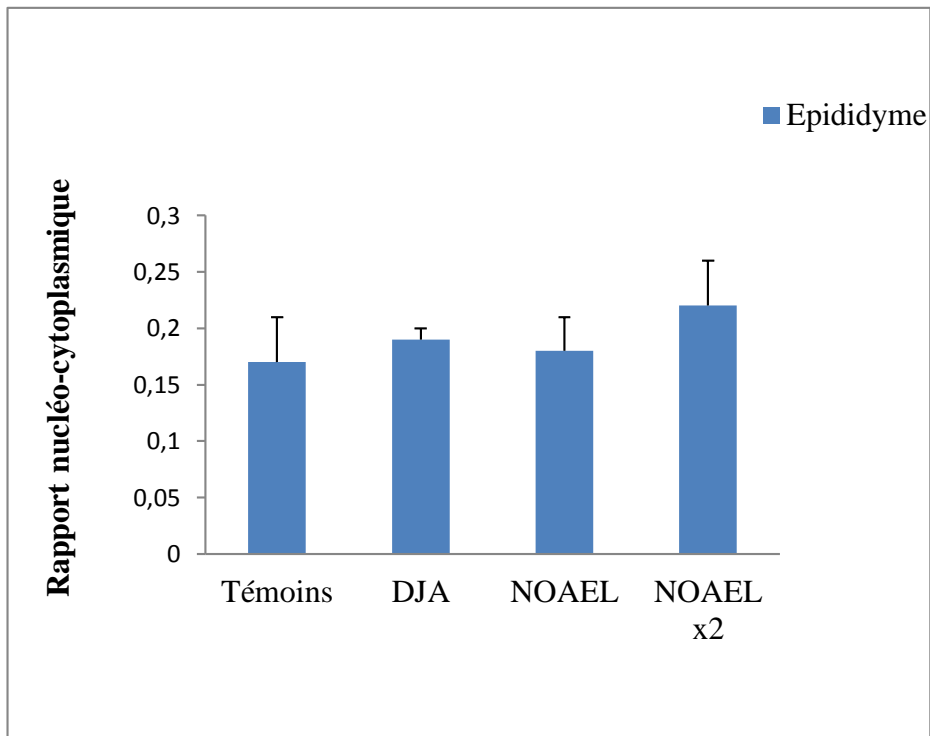


Figure 28 : Rapport nucléo-cytoplasmique de l'épididyme chez les rats traités par le Thiamethoxame: DJA, NOAEL, NOAEL x2 comparativement aux témoins.

3. Histo-morphométrie de la prostate

3.1. Aspect histologique de la prostate

La coupe histologique de la prostate chez les rats du lot témoin montre des glandes tubulo-alvéolaires aux contours irréguliers, entourées par un stroma conjonctif contenant des fibres musculaires distribués au hasard individuellement ou en amas (Figure 29A, A').

L'analyse morphologique de la prostate des rats du groupe DJA (Figure 29A, A') révèle une structure normale, comparable à celle des rats du groupe témoin (Figure 29B, B').

Une hyperplasie à certaines régions de l'épithélium est constatée au niveau de la prostate des rats du lot NOAEL (Figure 29C, C'). Le même constat est relevé au niveau de la prostate des rats NOEAL x2 (Figure 29D, D').

Par ailleurs, une hyposécrétion du liquide prostatique est remarquée au niveau de la prostate des rats du lot NOAEL x2 comparativement aux rats des trois autres lots, avec une perte d'intégrité de l'épithélium glandulaire dans certaines régions.

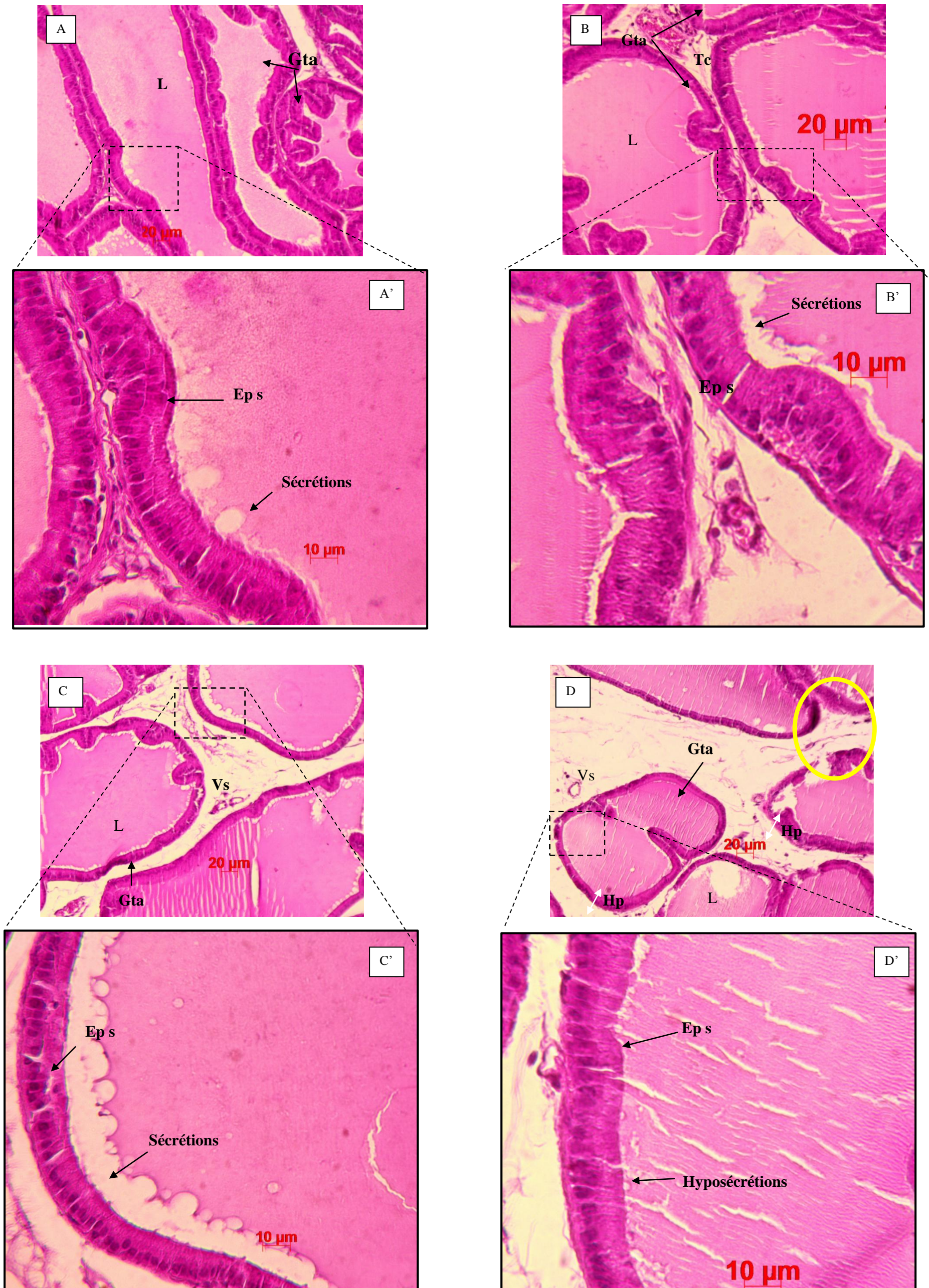


Figure 29: Coupes histologiques de la prostate chez les rats témoins (A) et traités pendant 10 semaines par le Thiamethoxame : DJA (B), NOEL (C) et NOEL x 2 (D). Coloration H et E.

Gta : glandes tubulo-alveolaires; **L**: lumière; **Vs** : vaisseau sanguin; **EP s**: épithélium sécrétoire ; **Tc**: tissu conjonctif; **Hp**: hyperplasie . **○** : perte d'intégrité de l'épithélium.

Barres d'échelle : 20 µm (G x100) pour A, B, C, D et 10 µm (G x400) pour A', B', C', D'.

3.2. Donnés morphométriques

3.2.1. Surface de l'épithélium prostatique

La surface de l'épithélium prostatique est d'une valeur moyenne de $9613.44 \pm 1491.41 \mu\text{m}^2$ pour les témoins, $7164.85 \pm 323.23 \mu\text{m}^2$ pour les traités DJA, $7458.93 \pm 2336.11 \mu\text{m}^2$ pour les NOEL et de $613.89 \pm 1250.91 \mu\text{m}^2$ pour les traités NOEL x2.

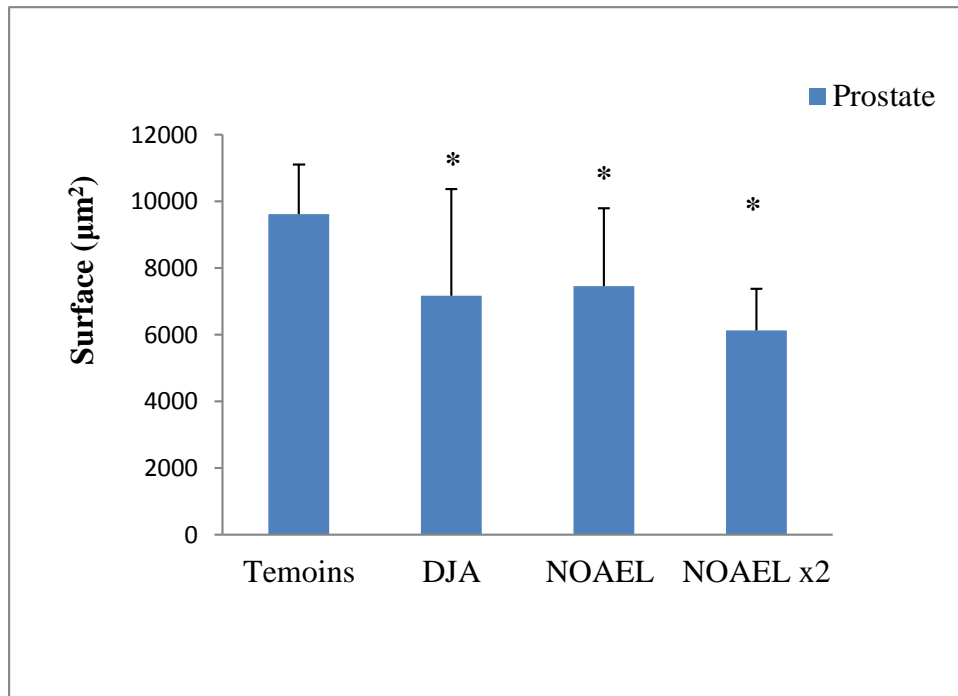


Figure 30: La surface de l'épithélium prostatique des rats traités par le Thiamethoxame: DJA, NOEL, NOEL x2 comparativement aux témoins.

Par rapport aux rats du lot témoin, nous avons noté une diminution ($P < 0.05$) de la surface de l'épithélium prostatique chez les rats des trois lots traités au Thiamethoxame, mais d'une façon plus importante chez le lot NOAEL x2 (Figure 30)

3.2.2. Rapport nucléo-cytoplasmique de la prostate

Le rapport nucléo-cytoplasmique de la prostate est de 0.13 ± 0.01 pour les témoins, 0.12 ± 0.01 pour les traités DJA, 0.16 ± 0.02 pour les traités NOAEL, et de 0.13 ± 0.06 pour les traités NOAEL x2.

La comparaison des moyennes a révélé une augmentation ($P > 0.05$) de ce rapport chez les traités NOAEL par rapport aux témoins (Figure 31).

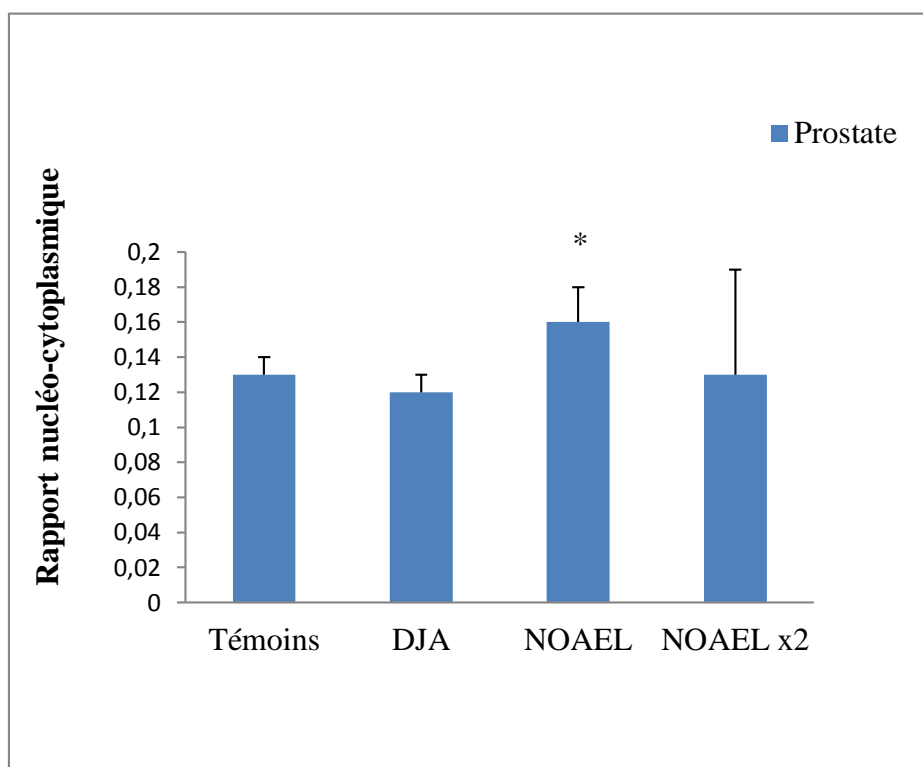


Figure 31: Rapport nucléo-cytoplasmique de la prostate chez les rats traités par le Thiamethoxame: DJA, NOAEL, NOAEL x2 comparativement aux témoins.

4. Histo-morphométrie de la vésicule séminale

4.1. Aspect histologique de la vésicule séminale

Des coupes de vésicules séminales des rats témoins et celles des rats traités (DJA, NOAEL, NOAEL x2) confectionnées ont été observées sous microscope photonique aux grossissements, x100 et x 400.

Au faible grossissement x100, des coupes de la vésicule séminale des rats non traités par le TMX (Figure 32A) montrent une muqueuse munie de nombreux replis anastomosés, formés d'une *lumina propria* (LP). L'épithélium est délimité par une tunique musculaire (M). Au grossissement x400, les replis sont bordés de cellules glandulaires prismatiques formant un épithélium simple qui inclut de rares cellules basales (Figure 32A').

L'aspect histologique de la vésicule séminale des rats du lot DAI (Figure 32B) ne présente pas de changements observables par rapport à celui des rats du lot témoin (Figure 35A). L'analyse des coupes histologiques de vésicules séminales des autres lots (NOAEL et NOAEL x2) au faible grossissement (Figure 32C, D) et surtout au fort grossissement (Figure 32C', D') montre des cellules présentant des noyaux plus denses, autrement dit hyperchromatiques. Nous avons également mis en évidence la présence d'une hyperplasie focale chez les rats du lot NOAEL x2.

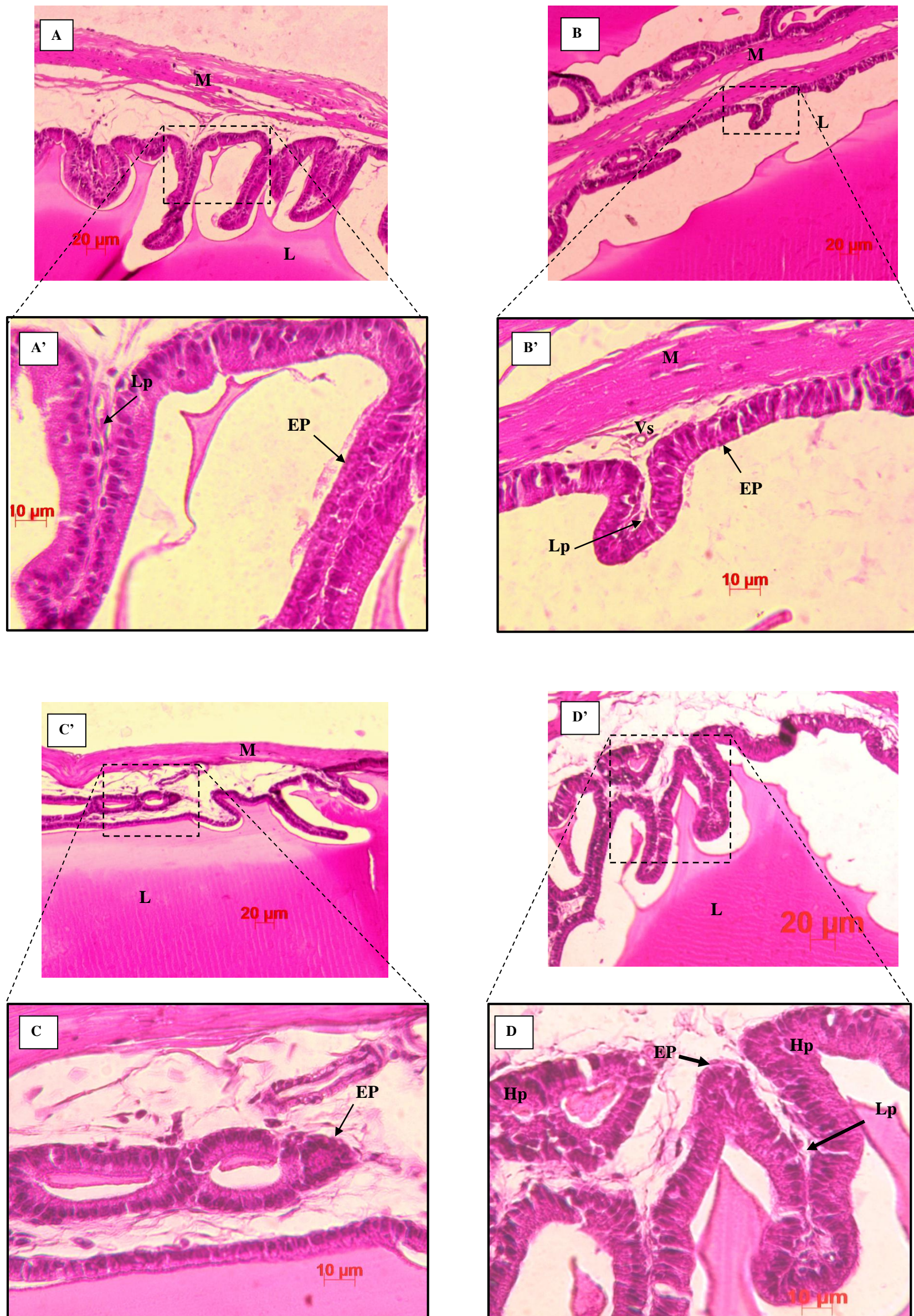


Figure 32: Coupes histologiques de la vésicule séminale chez les rats témoins (A) et traités pendant 10 semaines par le Thiamethoxame : DJA (B), NOEL (C) et NOEL x 2 (D). Coloration H et E.

M: tunique musculaire; EP: épithélium; L: lumière; Lp: lumina propria ; Vs: vaisseau sanguin ; Hp : hyperplasie
Barres d'échelle : 20 μm (G x100) pour A, B, C, D et 10 μm (G x400) pour A', B', C', D'.

4.2. Données morphométriques de la vésicule séminale

4.2.1. Hauteur de l'épithélium de la vésicule séminale

Les résultats illustrés dans la figure 33, montrent une légère diminution de la hauteur de l'épithélium de la vésicule séminale chez les traités NOAEL : $12.95 \pm 1.43 \mu\text{m}$, et une baisse plus importante chez les traités NOEL x2 : $10.49 \pm 1.63 \mu\text{m}$ comparativement aux rats du lot témoin : $13.74 \pm 1.82 \mu\text{m}$ ($P < 0.001$).

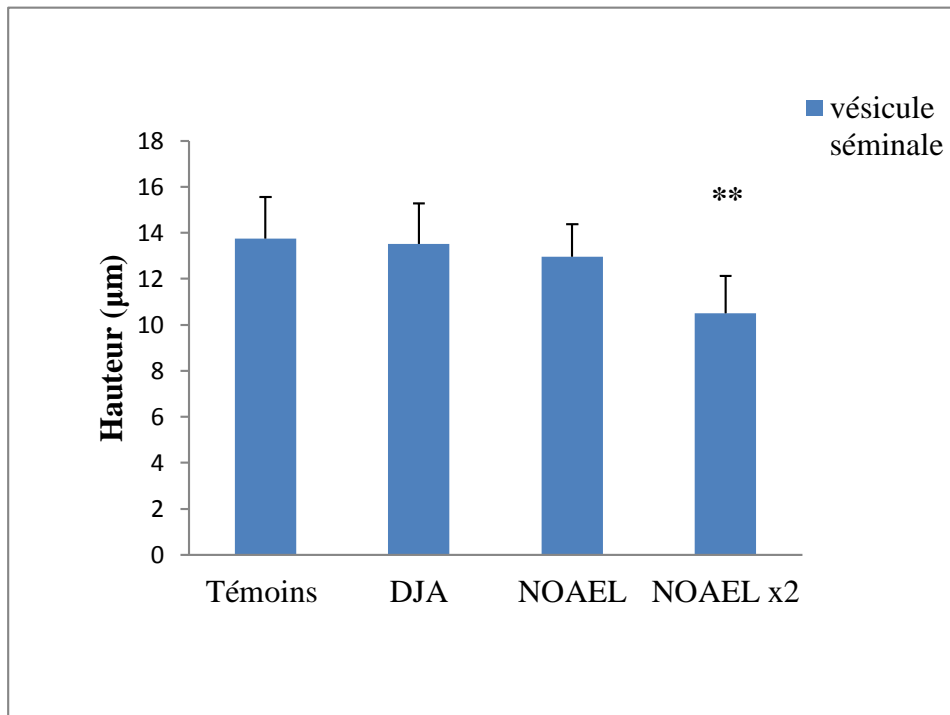


Figure 33 : La hauteur de l'épithélium de la vésicule séminale des rats traités par le Thiamethoxame: DJA, NOEL, NOEL x2 comparativement aux témoins.

A l'inverse, aucun changement n'est obtenu chez les traités DJA: $13.52 \pm 1.75 \mu\text{m}$ (Figure 33).

4.2.2. Rapport nucléo-cytoplasmique de la vésicule séminale

Le rapport nucléo-cytoplasmique de la vésicule séminale est d'une moyenne de 0.22 ± 0.05 chez les rats du lot témoin, 0.21 ± 0.06 pour les traités du lot DJA, 0.26 ± 0.04 pour le lot NOAEL et enfin 0.24 ± 0.05 pour le lot NOAEL x2.

Comparativement au lot témoin, le rapport nucléo-cytoplasmique marque une hausse statistiquement non significative chez les lots NOAEL et NOAEL x 2 (Figure 34).

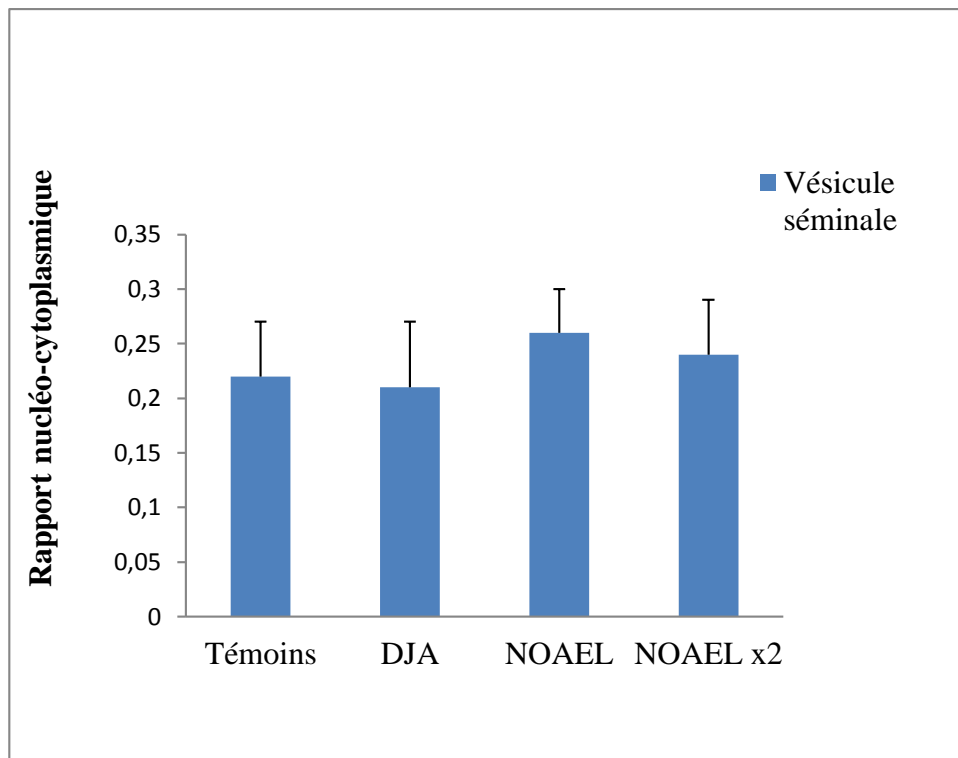


Figure 34 : Rapport nucléo-cytoplasmique de la vésicule séminale des rats traités par le Thiamethoxame : DJA, NOAEL, NOAEL x2 comparativement aux témoins.

II. Discussion

La physiologie de la fertilité chez l'homme et chez les mammifères en générale est très sensible aux agents chimiques exogènes. Il a été indiqué que le nombre et la qualité des cellules sexuelles masculines a été diminué au cours de ces dernières années (Jegou, 1995).

Les néonicotinoïdes représentent un nouveau groupe d'insecticides rapidement imposé à travers le monde, mais malheureusement, plusieurs études soulèvent des inquiétudes quant à leur toxicité environnementale et humaine.

Le Thiaméthoxame (TMX) est un nouvel insecticide néonicotinoïde qui peut potentiellement induire des altérations de nombreuses fonctions physiologiques chez l'homme et chez les animaux, notamment le rat adulte (Shalaby et al., 2010).

Notre étude a pour objectif d'évaluer l'effet sub-chronique du Thiamethoxame sur la fonction de reproduction et ce, en examinant l'état structural des différentes parties de l'appareil reproducteur du rat mâle adulte.

1. Effet du Thiaméthoxame sur l'histo-physiologie du testicule

L'aspect histologique organisé des différentes cellules de la lignée germinale chez les rats traités au Thiamethoxame (DJA, NOAEL, NOAEL x2), la présence de spermatides allongés et de spermatozoïdes sont des indicateurs d'un déroulement correct du processus de la spermatogenèse.

Le diamètre des tubes séminifères des rats traités (DJA, NOAEL et NOAELx2) ne semble pas subir de changements. En revanche, une faible réduction de la lumière des tubes séminifères et de la surface des noyaux de spermatogonies chez les trois lots traités peut traduire un désordre fonctionnel.

Par ailleurs, le rétrécissement de la surface des noyaux de cellules de Leydig chez les rats des groupes DJA et NOAEL laisse suggérer une réduction de l'activité de ces cellules endocrines et éventuellement de leur sécrétion en testostérone. Ce qui pourrait être à l'origine des modifications morphologiques de certaines cellules germinales, comme une réduction de la surface des noyaux des spermatogonies chez les rats de ces mêmes lots traités avec du Thiamethoxame.

Chez les rats du lot NOAEL x2, l'augmentation de la surface des noyaux des cellules de Leydig pour dépasser celle des témoins, peut s'expliquer par un état d'hyperactivité des cellules endocrines testiculaires. Cette hypothèse appuie l'étude faite sur des jeunes lapins (6-7 mois) ayant reçus du Thiaméthoxame par voie orale pendant 90 jours, à raison d'une dose

de 250 mg/kg de poids corporel et chez qui l'analyse hormonale a révélé une importante élévation des taux de testostérone par rapport au groupe contrôle (El-Sawasany et al., 2016).

De plus, la diminution du nombre de spermatozoïdes au niveau de la lumière des tubes séminifères des rats du lot NOAEL x2 suggère une modification du déroulement de la spermatogenèse avec une perturbation de la phase de différenciation des spermatogonies immatures en spermatides matures, puis en spermatozoïdes. Cette hypothèse renforce les données rapportées par l'étude de Abouelghar et al., (2020) qui ont examiné la toxicité subaiguë [6 et 30 mg/kg du poids corporel] par gavage du TMX sur une période de 28 jours sur les souris mâles et dont l'examen histo-pathologique de la section du testicule a montré une absence de spermatozoïdes dans la lumière.

Cet effet néfaste sur les spermatozoïdes a été également obtenu dans une récente étude faite sur des cochons d'Inde mâles, gavés par voie orale par un autre insecticide néonicotinoïdes « Acétamipride » ayant le même principe actif que le TMX, avec des doses de 26.67, 40, 80 mg/kg du poids corporel, durant 90 jours (Kenfack et al., 2018). En effet, ces auteurs ont rapporté que la toxicité par ce pesticide cause une diminution du nombre de spermatozoïdes.

Quant à l'apparition des vacuoles ainsi que la dilatation des vaisseaux sanguins observée dans l'espace intertubulaire au niveau du tissu testiculaire des rats ayant reçu du Thiaméthoxame, des deux lots NOAEL et NOAEL x2, elle est aussi décrite par El-Sawasany et ses collaborateurs (2016) dans une étude de toxicité subchronique du Thiaméthoxame sur la reproduction du lapin mâle adulte.

2. Effets du Thiaméthoxame sur l'histo-physiologie de l'épididyme

Concernant l'épididyme, les rats traités par des doses différentes du TMX présentent une augmentation de surface épithéliale, ainsi la présence d'une hyperplasie focale de l'épithélium épидидymaire et un espace inter tubulaire important chez ceux traités par la dose NOAEL x2 (5.2 mg/kg/j). Le processus d'hyperplasie a déjà été décrit dans une étude antérieure réalisée par Hasan et ses collaborateurs (2017) sur l'effet du TMX sur l'appareil reproducteur de souris albinos mâles ayant reçu un traitement subchronique d'une dose de 83.7mg/kg/jour. En effet, les résultats ont montré une hyperplasie focale des cellules épithéliales de l'épididyme ainsi que la présence des cellules inflammatoires, principalement des neutrophiles, infiltrées sous la couche épithéliale de l'épididyme et dans le tissu interstitiel.

L'hyperplasie peut avoir diverses causes dont principalement le déclenchement d'une réponse inflammatoire chronique, elle peut avoir lieu également en cas de certains dysfonctionnements hormonaux (Porth, 2011).

D'autres changements de l'aspect structural de l'épididyme des rats du lot NOAEL x2 ont été enregistrés par rapport aux témoins et aux autres lots traités, en l'occurrence : une augmentation du rapport nucléo-cytoplasmique des cellules principales de la paroi épидидymaire et une diminution du taux des spermatozoïdes dans la lumière épидидymaire. Il est important de rappeler que l'épididyme est le siège de l'acquisition de la maturité pour les spermatozoïdes. Les cellules composant l'épithélium épидидymaire sont responsables de différentes fonctions : la sécrétion, l'absorption des ions, macromolécules, protéines, ainsi que la synthèse et le métabolisme de stéroïdes et autres substances (Bagnis et *al.*, 2001 ; Leung et *al.*, 2001 ; Badran et Hermo., 2002).

De ce fait, une perturbation de l'activité des cellules composant l'épithélium épидидymaire sous l'effet du Thiaméthoxame pourrait engendrer un dérèglement des fonctions précédemment citées, une chute de la concentration des spermatozoïdes et la diminution de leur mobilité.

De plus, les cellules principales qui représentent le type majoritaire des cellules épithéliales de l'épididyme sont andogène-dépendantes (Pastor-Soler et *al.*, 2002), ainsi la perturbation de la fonction endocrine testiculaire par la perturbation de l'activité des cellules de Leydig peut engendrer un effet néfaste sur l'activité normale de ces cellules.

En revanche, Bal et *al.* (2012) ont constaté que l'exposition à l'insecticide néonicotinoïde « Clothianidine » pendant 90 jours diminue de manière significative la concentration de spermatozoïdes épидидymaires chez les rats mâles, ces résultats sont en accord avec ceux obtenus dans notre étude.

3. Effet du Thiaméthoxame sur l'histo-physiologie de la prostate et de la vésicule séminale

Les principales manifestations observées au niveau de la prostate après traitement au Thiaméthoxame se traduisent par la présence de foyers hyperplasiques au niveau de l'épithélium prostatique accompagnés parfois d'une réduction du liquide prostatique.

Ces affections structurales sont confirmées chez les lots NOAEL et NOAEL x2 par une diminution de la surface de l'épithélium prostatique et un rapport nucléo-cytoplasmique légèrement supérieur.

La prostate secrète une substance dite liquide prostatique, ce dernier rentre dans la composition du sperme en se mélangeant avec les spermatozoïdes qui proviennent des testicules, (Helminen et al., 1975), ce liquide favorise la survie des gamètes mâles et empêche la coagulation du sperme. Pour cela une hyposécrétion de cette glande peut diminuer la qualité du sperme produit.

Quant à la perte d'intégrité de l'épithélium glandulaire dans certains endroits chez les rats traités par la dose NOAEL x2, le même résultats à été révélé par Asgari Hasanluyi et al.,(2016) dans leur étude sur 40 rats Wistar mâles âgés de quatre semaines (200 - 250 gr) traités par le Bisphénol A (un composé organique de la famille des aromatiques de formule C₁₅H₁₆O₂, utilisé principalement dans la fabrication du plastique) par voie intrapéritonéale pendant 15 jours. Leurs résultats ont montré que cette exposition à une dose de 100 µg/kg au Bisphénol A entraîne des ruptures dans l'épithélium glandulaire de la prostate.

D'autre part, des défauts de la sécrétion des androgènes peut avoir un impact sur l'histologie prostatique vu que cette glande est hormono-dépendante.

De plus, des études ont conclut à une relation causale probable entre le risque de survenue de cancer de la prostate et l'exposition aux pesticides, certains de ces produits peuvent affecter la stimulation androgénique de la prostate, conduisant potentiellement à la prolifération cellulaire et au cancer (Cockburn et al., 2011). Parmi ces pesticides, les insecticides organophosphorés : le fonofos, le malathion et le terbufos (Koutros et al., 2013) ; les DDT ; les fongicides tel que dichlone, , soufre, zirame (Pluth et al., 2019)...etc

La vésicule séminale semble également subir l'effet du TMX, notamment pour la dose NOAEL x2. En effet, parmi les modifications marquantes et vérifiées, la réduction de la hauteur de l'épithélium, donc de sa surface et la densité des noyaux cellulaires (hyperchromatiques) témoignant d'une hyperactivité transcriptionnelle. Ces changements structuraux peuvent être derrière des perturbations des cycles cellulaires et des caractéristiques fonctionnelles de la vésicule.

Loin de l'impact des pesticides sur la vésicule séminale, l'exposition de cet organe à certains métaux tel que au plomb a révélé les mêmes conséquences que notre étude, cependant l'auteur dans cette étude a montré que les rats exposés au plomb à une dose de 250 mg/l présentent des noyaux hyperchromatiques au niveau de l'épithélium pseudo stratifié de la vésicule séminale (Ait Hamadouche, 2009).

La vésicule séminale secrète un liquide qui entre dans la composition du sperme, ce liquide est alcalin et riche en glucide, il sert à nourrir les spermatozoïdes stockés dans ces glandes (Guyton et Hall, 1996). L'atteinte de la vésicule séminale par les pesticides peut avoir plusieurs conséquences, parmi eux la mort des spermatozoïdes.

Ainsi, l'activité de l'épithélium sécrétoire de la vésicule séminale est androgéno-dépendante (Creasy et al, 2012), pour cela une perturbation de la fonction endocrine testiculaire par la perturbation de l'activité des cellules de Leydig peut avoir un effet sur l'activité normale de l'épithélium de la vésicule séminale, ces données peuvent expliquer la présence des zones focales d'hyperplasie de l'épithélium de revêtement dans la vésicule séminale chez les rats du lot NOAEL x2.

Nous tenons à noter que le peu d'études réalisées sur l'effet des insecticides néonicotinoïdes, comme le Thiamethoxame, sur l'histologie et les fonctions de la prostate et de la vésicule séminale se sont limités à l'examen des données pondérales des deux organes annexes après le traitement. Parmi ces études celle de Maxwell et al., (2016) qui ont montré que l'insecticide néonicotinoïde « Acétamipride » diminue significativement le poids corporel et le poids des testicules, de l'épididyme, de la vésicule séminale et de la prostate.

L'impact toxique sur ces organes doit être examiné en détail afin de comprendre le mécanisme insecticide des néonicotinoïdes et leurs effets secondaires, tels que la cancérogenèse, la tératogenèse et la mutagenèse.

Conclusion & Perspectives

Dans cette étude d'initiation aux méthodes et techniques d'expérimentation dans le domaine de la biologie et la physiologie de la reproduction, nous avons examiné l'impact d'un insecticide, le Thiamethoxame, sur les caractéristiques histologiques des gonades et des organes annexes de l'appareil reproducteur.

Les résultats obtenus ont démontré que l'exposition subchronique au Thiamethoxame, surtout à des doses NOAEL x 2, provoque des changements histologiques non négligeables aussi bien au niveau du testicule que des organes annexes : épидидyme, prostate et vésicule séminale. Les changements observés au microscope optique et confirmés par des examens morphométriques se résument entre autres à une hausse de la surface du noyau des cellules de Leydig, une dilatation des vaisseaux sanguins du tissu testiculaire, l'apparition des vacuoles dans l'espace entre les tubes séminifères, des modifications de la densité des noyaux cellulaires, une réduction de la surface et/ou de la hauteur de l'épithélium, avec parfois des foyers hyperplasiques au sein de l'épидидyme, la prostate et la vésicule séminale. Ainsi qu'une perte de l'intégrité de l'épithélium prostatique dans certaines régions.

Ces modifications structurales accompagnées d'une réduction du taux des spermatozoïdes dans la lumière des tubes séminifères et la lumière épидидymaire, ainsi que d'une baisse du liquide prostatique, laissent suggérer des altérations fonctionnelles au niveau des différents organes de l'appareil reproducteur mâle sous l'effet d'un traitement subchronique au Thiamethoxame.

L'étude que nous avons effectuée reste insuffisante pour tirer des conclusions probantes, ainsi il serait intéressant de la compléter par :

- Une augmentation de l'effectif des animaux.
- L'analyse du sperme.
- Un dosage hormonal, notamment de la testostérone.
- L'exploration des effets du Thiaméthoxame sur la descendance de la première génération.

En perspective à long terme, nous suggérons :

- L'exploration de l'impact du Thiaméthoxame sur le système hypothalamo-antéhypophysaire dont dépend fortement la fonction de reproduction.
- Des études de toxicité chronique du Thiaméthoxame afin d'évaluer et prévenir des risques probables chez l'être humain.

Références Bibliographiques

A

Abraham L, Kierszenbaum, (2002). *Histologie et biologie cellulaire : une introduction à l'anatomie pathologique*. Paris : éd médicales internationales. P 69.

Abouelghar GE, Yassien RI, Abd-Elghany El-Bermawy Z, Ammar HA, Abd-Elaziz Shalaby Y, (2020). *Sublethal Toxicity of Thiamethoxam Insecticide in Albino Mice: Biochemical, Oxidative Damage and Histopathological Evaluations*. *Adv J Toxicol Curr Res*. 4 (1): 017-028. doi: 10.37871/ajtcrid33.

Ait-Hamadouche N, (2009). *Effet de l'exposition chronique au plomb sur le system reproducteur et l'axe hypothalamo-hypophysaire chez le rat male wistar*. Thèse de Doctorat. Université d'Oran. Algérie.

Alewu B, Nosiri C, (2011). *Pesticides et santé humaine*. Dans : Stoytcheva M, éditeur. *Les pesticides dans le monde moderne – Effets de l'exposition aux pesticides*. InTech. 231–50. Disponible sur : <http://www.intechopen.com/books/pesticides-in-the-modern-world-effects-of-pesticides-exposure/pesticide-and-human-health>.

Amann RP, (2011). *Physiology and Endocrinology*. In: Mc Kinnon AO, SQUIRES EL, VAALA WE, VARNER DD (eds), *Equine Reproduction* (2ed). United Kingdom : 881-908.

Arbabtafti1 R, Sheikhigharjan A, Hosseini Gharalari A, Damghani R, Tajbakhsh M.R, Arab Jafari K.M, (2014). *Drenching Efficacy of Imidacloprid and Thiamethoxam against Dubas Bug, Ommatissus lybicus (Hem : Tropicuchidae)*. *Egyptian Academic Journal of Biological Science Toxicology & pest control*. 6(1): 43-52.

ARLA: Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire, (2001). Note réglementaire REG2001-03: Thiamethoxame, Helix, Helix XTra. Santé Canada, 9 février 2001, 65 p.

ARLA: Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire, (2007). Rapport d'évaluation du Thiamethoxame. ERC 2007-01. Santé Canada.

A.R.L.A.S.C, (2007). Rapport d'évaluation. (Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire de Santé Canada). (13) : 8-11.

A.R.L.A.S.C, (2018). *Évaluation environnementale des néonicotinoïdes imidaclopride, clothianidine et thiaméthoxame*. Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire. Rapport annuel. 2018–2019.

B

Bal R, Türk G, Tuzcu M, Yılmaz Ö, Kuloğlu T, Baydaş G, Naziroğlu M, Yener Z, Etem E, Tuzcu Z, (2013). *Effects of the neonicotinoid insecticide, clothianidin, on the reproductive organ system in adult male rats.* Drug Chem Toxicol. 36: 421-429.

Baldi I, Cordier S, Coumoul X, Elbaz A, Gamet-Payraastre, Lebailly P, Multigner L, Rahmani R, Spinosi J, van Maele-Fabry G, (2013). *Pesticides : Effets sur la santé.* [Rapport de recherche] Institut national de la santé et de la recherche médicale (INSERM). Paris : Inserm : Editions EDP Sciences (ISSN : 1264-1782) / 1014 p. inserm-02102981.

BAGNIS C, Marsolias M, Biemesderfer B, Laprade R, Breston S. (2001). *Na⁺/H⁺-exchanges activity and immunolocalisation of NHC3 in rat epididymis.* American Journal Physiology, 280:P.F426-F436.

BADRAN H H, Hermo L, (2002). *Expression and regulation of aquaporins 1.8 and 9 in the testis, efferent ducts, and epididymis of adult rats and during postnatal development.* Journal of Andrology, 23:358-373.

Barone R, (1978). *Anatomie comparée des mammifères domestiques : Tome 3 : splanchnologie 3 : Appareil uro-génital, fœtus et ses annexes, péritoine et topographie abdominale.* -Paris : vigot.-896p.

Barone R, (2001). *Anatomie comparée des mammifères domestiques.* Tome 4 : splanchnologie II. Edition Vigot frères 241-256.

Baunne F, (2009). *Apoptose du spermatozoïde et fertilité masculine,* thèse doctorat. Université d'Auvergne : 175p.

Bensalem, K et Rabia H. (2009). *Effets de l'huile essentielle de la Menthe poivrée (Mentha piperita) à cinq doses différentes sur la structure épидидymaire des lapins mâles infantiles de la population blanche.* Mémoire de Master. Université Mouloud Mammerie de Tizi-Ouzou. Algérie.

Blottière E, (2019-2020). *L'impact des néonicotinoïdes sur les abeilles et leurs alternatives.* Master en médecine vétérinaire. Faculté de Médecine Vétérinaire.

Bouchema W F, Menail A H, Ayad-Loucif W, (2016). *Effets de deux insecticides (Spinosad et Thiaméthoxame) sur l'activité enzymatique de l'abeille Apis mellifera intermissa.* [Conférence]. 46ème Congrès du Groupe Français des Pesticides. Annaba, Algérie. Consulté sur : http://www.gfpesticides.org/bdd_fichiers/154c993c91b8db087b368a183fe9431197eac089f5c.pdf.

Bouazza S, Meddah B, (2013). *Etude histologique des testicules du rat Wistar prépubère malnutri puis réalimenté.* Mémoire de Master, Université Djillali Liabes de Sidi Bel Abbes, Algérie

Bouziani M, (2021). *De l'usage intensif des pesticides, et leurs conséquences néfastes.* Journal web El Watan. <https://www.elwatan.com/pages-hebdo/magazine/de-lusage-intensif-des-pesticides-et-leurs-consequences-nefastes-08-04-2021#:~:text=Les%20r%C3%A9sultats%20des%20diff%C3%A9rentes%20%C3%A9tudes,la%20prostate%2C%20my%C3%A9lomes%2C%20infertilit%C3%A9s%E2%80%A6> . Consulté le : 26/06/2022.

Boland J, Koomen I, van Lidth J, Oudejans J, (2004). *Les pesticides : composition, utilisation et risques.* Pays Bas. Fondation Agromisa, Wageningen, 2004. ISBN : 90-77073-01-9.

BRITISH COLOMBIA. Ministry of agriculture, Food and Fisheries. (2022, Fevrier). *Pesticide Toxicity and Hazard.* Consulté sur : <https://www2.gov.bc.ca/assets/gov/farming-natural-resources-and-industry/agriculture-and-seafood/animal-and-crops/plant-health/pesticide-toxicity-hazard.pdf>.

C

Carol P, (2011). *Essentials of Pathophysiology: Concepts of Altered Health States,* Lippincott Williams and Wilkins.

Centre canadien d'hygiène et de sécurité au travail (CCHST), (2017). Fiches d'information Réponses SST : Pesticides – Généralités. Consulté sur : <https://www.cchst.ca/oshanswers/chemicals/pesticides/general.html>

Chassé R et Martel L, (2006). *Paramètres d'exposition chez les mammifères – Rat surmulot.* Fiche descriptive. CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC. Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec : 15 p.

Cottineau S, (2021). Avocat Stéphane Cottineau. *Qu'est-ce qu'un pesticide ?* Consulté sur : <https://www.cottineau.net/qu-est-ce-qu-un-pesticide/#:~:text=Les%20pesticides%20organiques%20contiennent%20du,que%20des%20d%C3%A9riv%C3%A9s%20du%20cyanure>

Cockburn M, Mills P, Zhang X, Zandick J, Goldberg D, Ritz B, (2011). *Prostate cancer and ambient pesticide exposure in agriculturally intensive areas in California.* American journal of epidemiology, 173(11), 1280-1288.

Creasy D, Bube A, Rijk Ed, Kandori H, Kuwahara M, Masson R, Nolt T, Reams R, Regan K, Rehm S, (2012). *Lésions prolifératives et non prolifératives du système reproducteur mâle du rat et de la souris.* J Toxicol pathol 40 : 40S-121S.

Cruz J M, (2015). *Etude de la contamination par les pesticides des milieux eau, air et sols : développement de nouveaux outils et application à l'estuaire de la Gironde.* Chimie analytique. Université de Bordeaux. France. NNT : 2015BORD0221.

D

Dacheux JL, Dacheux F,(2002). *Protein secretion in the epididymis ; From molecules to Clinical Practice,* B Robaire and B Hinton, Editors. Plenum Press : New York:151-168.

Dadoune JP, Hadjiisky P, Siffroi JP, Vendrely E, (1990). *Histologie.* Edition Médecine science Flammarion, Paris : pp 333-348.

DADOUNE J P, DEMOLIN A, (1991). *Structure et fonction du testicule.* La production chez les mammifères et l'Homme . PP . 221-250. Ellipses.

Dadoune J P, Hadjisky P, Siffroi J P et Vendrel E, (2000). *Histologie.* Edition Médecine Science Flammarion (2 èmeEdition): 229-246.

Davody, A P, (2015). *Aspect embryologique et anatomique: localisation des portions de l'urètre.* <https://urologie-davody.fr/stenose-uretrale/diagnostic-uretre/anatomie-de-luretre-masculin/>

Dryden MW, coll, (2001). *Speed of flea kill with nitenpyram tablets compared to imidacloprid spot on and fipronil spot on in dogs.* Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian, 23(3): 24-27.

E

El-Sawasany Ahmed R, El Okle Osama S, El Euony Omnia I, Nazem Ashraf M, (2016). *Impact of the Neonicotinoid Insecticide, Thiamethoxam, on Some Reproductive Parameters in Adult Male Rabbits.* Faculty of Veterinary Medicine, Alexandria University. Alexandria Journal of Veterinary Sciences. Vol. 51 (2): 386-392. November, 2016. DOI: 10.5455/ajvs.245115

F

Fawcette D.D.W, Burgos M.H, (1956). *Observation on the cutomophosis of the germinal and interstitial cells of the human testes.* Ciba fondation colloquium on Agein. 2: 86.

FEKI A, KAMMOUN I, NAIFAR M, MAKNI AYADI F, HAKIM A, BEN AMARA I, (2021). *Etude du profil biochimique chez des rats traités avec des doses croissantes en*

thiamethoxame study of the biochemical profile in rats treated with increasing doses of thiamethoxam. Université de Sfax-Tunisie. N°37; Fév 21 ; 55 – 63.

G

Girouard J, (2009). *Rôle des domaines membranaires rafts dans le transfert et la compartimentation des protéines impliquées dans la maturation épидидymaire des spermatozoïdes bovins.* Thèse de Doctorat en physiologie-endocrinologie. Département d'obstétrique et gynécologie, Faculté De Médecine Université Laval QUÉBEC : 218.

GOULSON D, (2013). REVIEW: *An overview of the environmental risks posed by neonicotinoid insecticides.* J Appl Ecol. 50: 977-987.

GOULSON D, (2017). *Les néonicotinoïdes : nuisent-ils réellement aux abeilles ?* abeilles & cie 3-2017 n°178.

GRIZARD G, JIMENEZ C, (1997). *Les examens du sperme dans l'exploration de la fertilité masculine.* Prog. Urol. 7 : 496-504.

Guyton AC, Hall JE, (1996). *Textbook of Medical Physiology.* 9 Ed. Philadelphia: w.B. Saunders.

H

Hammond GL, Koivisto M, Vihkor R, (1997). *Serum steroids and pituitary hormones in infants with particular reference to testicular activity.* The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 49 (1) : 40-45.

Hassan SL, Kadim, Karimet K, Abdulkarim J, Khalaf JM, (2017). *Histopathologie du système reproducteur des souris albinos suisses mâles en raison des effets toxiques du thiaméthoxame.* Septembre 2018 journal d'études d'entomologie et de zoologie 5(3):1201-1206. E-ISSN : 2320-7078. P-ISSN : 2349-6800.

Harel S, Poirot C, (2010). Service d'hématologie adulte, Hôpital Necker, Paris, Assistances médicales à la procréation–biologie de la reproduction, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris. 162-9.

Heffner LJ, (2003). *Reproduction humaine.* Edition De BoeckSupérieur, 1ère Ed, Paris, 128.

Helminen HJ, Ericson JLE, Rytoluoto R, Vanha-Pertula T, (1997). *Acid phosphatase of the rat ventral prostate.* Springfield, Illinois, Charles C Thomas. 257-316.

Hermo L, Robaire B, (2002). *Epididymal cell types and their functions*. In: Robaire B, Hinton BT. *The epididymis: From Molecules to Clinical Practice*. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York: 81-102.

Humeau C, Arnal F, (2005). *Reproduction et développement*. Editions sauramps médical. 61-80.

I

J

JEGOU B, (1995). *La cellule de Sertoli : actualisation du concept da cellule nourricière*. *Medicine sciences*: 358-373

Jeschke, P, Nauen R, (2008). *Neonicotinoids from zero to hero in insecticide chemistry*. *Pest Management Science*, 64(11): 1084-1098.

Junqueira LC, Carneiro J, (2007). *Basic histology*. 11 Ed copyright c the MC Growthillcompanies.

K

Kenfack A et al., (2018). *Reproductive toxicity of acetamipride in male Guinea pig (Cavia porcellus)*. *Biology Journal of Animal Science and Veterinary Medicine*. DOI: 10.31248/JASVM2018.101. Corpus ID:92141230

KOHLER C, (2010). *L'appareil génital masculin*. Collège universitaire et hospitalier des histologistes, embryologistes, cytologistes et cytogénéticiens (CHEC). Consulté sur : <https://cupdf.com/document/lappareil-genital-masculin.html?page=1>.

Koutros S, Freeman LE B, Berndt S I, Andreotti G, Lubin J H, Sandler D P et Yuengr J, (2010). *Pesticide use modifies the association between genetic variants on chromosome 8q24 and prostate cancer*. *Cancer research*, 70(22): 9224-9233.

L

L'Hôte D, (2009). *Exploitation d'un modèle de souris interspécifiques, recombinantes et congéniques pour la cartographie de QTL de la fertilité mâle et pour l'étude de la régulation génique testiculaire dans le contexte d'un génome mosaïque*. Thèse de doctorat, Université de Limoges, France.

Laville M, (2007). *Néphrologie et urologie : soins infirmiers*. Edition Elsevier Masson, 4ème Ed, Paris, 262 P.

Leesson TS, Leeson RC, (1976). *Histologie*. Masson. Barcelone Milan : 388-403. luminal content. Biol Reprod61, 705-714.

LEUNG GPH , CM TSE, SB Cheng chew, PYD Wong, (2001). *expression of multiple Na⁺/H⁺ exchanger isoforms in cultured epithelial cells from rat efferent duct and cauda epididymis*. Biology of reproduction,64: 482-490

Louat L, (2013). *Etude des effets liés à l'exposition aux insecticides chez un insecte modèle, Drosophila melanogaster*. Sciences agricoles. Université d'Orléans. France. ffNNT : 2013ORLE2062ff. fftel-01058781f

M

MacBean C, (2010). *Ed. Le Manuel e-Pesticide*, 15 Ed., Version 5.0.1. Surrey UK, British Crop Protection Council. Thiaméthoxame (153719-23-4).

Maienfisch P, (2005). *Synthesis and Properties of Thiamethoxam and Related Compounds*. Syngenta Crop Protection AG, Research & Technology, Schwarzwaldallee 215, CH-4002 Basel, Switzerland.

Maiensfisch P, Huerlimann H, Rindlisbacher A, Gsell L, Ettwiler H, Haettenschwiler J, Syeger E, Walti M, (2001). *The discovery of thiamethoxam: a second-generation neonicotinoid*. Pest. Managem. Scien, London, 57 (2): 165-176.

Marieb NE, (2005). *Anatomie et physiologie humaines*. 6 Ed. Renouveau pédagogique : 1096p.

Marieb EN, (2008). *Biologie humaine : Principe d'anatomie et de physiologie*. Edition Pearson / Education (8ème édition) : 571-578.

Marieb E, Hoehn K, (2014). *Anatomie et physiologie humaines*. Edition Pearson Education France, 5 Ed, Montréal, Canada, 1504 P.

Martinez-Garcia F, Regadera J, Cobo P, Palacios J, Paniagua R, And Nistal, (1995). *The apical mitochondria-rich cells of the mammalian epididymis*. Andrologia 27 : 195-206.

Maxwell CK, Leung Jimmy P, Nancy C, Baker Nisha S, Sipes Gary R, Klinefelter et al, (2016). *Systems Toxicology of Male Reproductive Development: Profiling 774 Chemicals for Molecular Targets and Adverse Outcomes*. Environmental Health Perspectives; 124(7):1050-1061.

Meister RT, Sinus C, (2008). Volume 94 du Manuel de protection des cultures. Meister Media Worldwide, Willoughby, OH 2008, p. D 424.

MENSAH D-G D J, (2021). *Propriétés antispermatogénétiques de l'extrait éthanolique des graines de Garcinia kola (Heckel, Clusiaceae) chez le rat Wistar.* Master en Biochimie et Génétique en Santé. Université d'ABOMEY-CALAVI. Benin.

N

NZELOF N, (1972). Technique microscopique. *Ed Flammarion Medecine Science*; 1-3 : 35-70.

O

Olson GE, Hinton BT, (1985). *Regional differences in luminal fluid polypeptides of the rat testis and epididymis revealed by two-dimensional gel electrophoresis.* J.Androl, 6 : 20-34

Organisation mondiale de la santé, (1990). *Impact sur la santé publique des pesticides utilisés en agriculture .* Angleterre : Organisation mondiale de la santé.

P

Pastor-Soler N, Pietrement C et Breton S, (2005). Role of acid/base transporters in the male reproductive tract and potential consequences of their malfunction. *Physiology* 20, 417-428.

Paquet N, Triffault-Bouchet G, Métivier M, Giroux I, Bilodeau, Desrosier M, Houde M, (2021). *Les insecticides néonicotinoïdes : état des connaissances de leurs impacts potentiels sur les organismes aquatiques.* Québec. ISBN : 978-0-660-38206-7. N° de cat. : En4-426/2021F-PDF.

Pirsaheb M, Limoe M, Namdari F, Khamutian R, (2015). *Résidus de pesticides organochlorés dans le lait maternel : une revue systématique.* *Med J Islam Repub Iran* ; 29:228p.

Pluth T B, Zanini L A G, Battisti, I D E, (2019). *Pesticide exposure and cancer : an integrative literature review.* *Saudeem Debate*, 45, 906-924.

Pukri Y, (2019). *"Fiches conseil" pour une meilleure utilisation des matières actives des produits insecticides et acaricides en vente au Niger.* Consulté sur le site Réseau national des chambres d'agriculteurs au Niger. Consulté sur : [https://reca-niger.org/spip.php?article659#:~:text=Une%20\(ou%20plusieurs\)%20mati%C3%A8re%20active,la%20concentration%20en%20mati%C3%A8re%20active](https://reca-niger.org/spip.php?article659#:~:text=Une%20(ou%20plusieurs)%20mati%C3%A8re%20active,la%20concentration%20en%20mati%C3%A8re%20active)

Q

R

RAYMOND S, (2005). *Consultations et dominantes pathologiques du rat.* *Point Vet.* ; 35 (260) : 30-37.

Robaire B, Hermo L, (1988). *Efferent ducts, epididymis, and vas deferens : structure, functions, and their regulation.* In *The physiology of Reproduction* pp 999- 1080 Eds E Knobil and J NEIL. Raven Press, New-York

Robaire B, Hinton B.T, Orgebin-Crist M.C, (2006). *The epididymis.* In: Neill J.D. (ed.) *Physiol. of Reprod*, New York : 1071-1148.

Roger, (2002). *Anatomie comparée des animaux de laboratoire.* Lyon :ENV.p20.

Rouvière H, Delmas A, (1992). *Anatomie humaine, descriptive topographique et fonctionnelle.Tome 2-Tronc.* 13 Ed. Paris; Milan; Barcelone Bonn; Masson 1992:564-96.

S

Samuel O , Saint-Laurent L, (2001). *Guide de prévention pour les utilisateurs de pesticides en agriculture maraîchère.* Institut de recherche en santé et en sécurité du travail du Québec (IRSST), 85 p.

SEIFERBI, FELLOUS M, BIGNON Y.J, (1999). *Causes génétiques de l'infertilité masculine.* *Ann. Biol. Clin,* 57 (3) : 301-330.

Siffroi JP, (2001). *L'appareil génital masculin.* En ligne. Service d'Histologie, Biologie de la Reproduction et Cytogénétique Hôpital Teno : 1-45.

Shalaby S.E, Farrag, El-Saed A.H, G.S. (2010). *Toxicological potential of thiamethoxam insecticide on albino rats and its residues in some organs.* *J Arab Society Med Res.* 5: 165-172.

Sharma R, and Agarwal A, (2011). *Spermatogenesis: An Overview.* Dans *Sperm Chromatin: Biological and Clinical Applications in Male Infertility and Assisted Reproduction*, A. Zini, et A. Agarwal, ed (New York: Springer), pp. 19–44.

Simon-Delso V, Amaral-Rogers L, Belzunces P, Jean-Marc Bonmatin, Chagnon M, et al. (2014). *Pesticides néonicotinoïdes.* Tendances, usages et modes d'action des métabolites, 10.1007/s11356- 014-3470-yff. hal-01171969

Soumis N, (2018). *Les néonicotinoïdes: une menace pour la biodiversité, les écosystèmes et la sécurité alimentaire.* Association canadienne des médecins pour l'environnement ACME. Consulté sur : https://legacy.equiterre.org/sites/fichiers/fiche_neonics_version_fr_finale_18_juillet_2018_0.pdf.

T

TOBELEM G, (1989). *Physiologie de la prostate*. In: Arvis G ed. *Andrologie II*. Maloine. Paris ; pp 893-905.

Tomizawa M, Yamamoto I, (1992). *Liaison des néonicotinoïdes et des composés apparentés au récepteur nicotinique de l'acétylcholine des insectes*. *Journal of Pesticide Science* 17, 231–236.

Tortora G.J, derrickon (2009). *Manuel d'anatomie et de physiologie humaine* (Paris) : 311-322.

U

V

Vacheret N, (1999). *Histologie fonctionnelle des organes* (en ligne). Faculté de médecine. Laennec. Université Claude Bernard- Lyon 1 France : 1-4

Van-Eecke V, (2019). *Causes de l'infertilité masculine et intérêt des FIV ICSI / IMSI*. Sciences pharmaceutiques. ffdumas-02454560f

Viau R, (2008). *L'influence des insecticides néonicotinoïdes sur la stéroïdogénèse dans deux modèles cellulaires humains en co-culture physiologiquement représentatifs*. Université du Québec Institut National de la Recherche Scientifique Institut Armand-Frappier. P-145.

Vernet N, (2006). *Analyse du rôle de l'acide rétinoïque et de ses récepteurs au cours de la spermatogenèse*. Thèse de doctorat, Université Louis Pasteur Strasbourg I, France.

W

Welsh U, (2002). *Précis d'histologie, cytologie, histologie, anatomie microscopique*.- tournai (Belgique) : éd médicales internationales.-260p.

Wheater P, Trad R, Validire P, (2001). *Histologie fonctionnelle*. 4 Ed, Paris : groupe de Boecks .413P.

Widmaier H, Raff K, Strang T, (2009). *Physiologie humaine*. Maloine : 703p.

X

Y

Z

Annexes

Tableau I: Données du diamètre des tubes séminifères (μm) des rats témoins, et traités par le Thiaméthoxame (DJA, NOAEL, NOAEL x2).

Témoins	DJA	NOAEL	NOAEL x2
178,92	220,96	161,52	243,64
159,87	252,47	172,31	265,56
177,59	155,12	192,21	295
174,01	219,27	170,41	271,11
199,7	163,07	229,54	149,56
189,69	163,06	232,31	181,71
174,06	167,82	239,46	148,33
156,33	172,01	236,85	160,42
261,91	202,05	237,94	155,73
225,35	213,77	204,02	136,13
238,79	187,24	202,1	161,4
220,71	140,52	171,33	171,55

Tableau II: Données de la surface de la lumière des tubes séminifères (μm^2) des rats témoins, et traités par le Thiaméthoxame (DJA, NOAEL, NOAEL x2).

Témoins	DJA	NOAEL	NOAEL x2
3496,23	4302,93	1223,75	4827,29
3768,23	5663,42	3047,73	5590,62
2683,05	6556,01	1120,3	3104,44
2643,52	3353,26	1400,56	4330,28
3720,45	4044,33	8450,53	1516,49
5535,74	5768,46	7138,55	2887,44
4077,73	4440,89	5805,23	2813,66
4066,65	3477,75	6623,92	2575,55
9664,31	2853,49	7553,34	1137,31
9159,1	7182,54	4598,3	5038,23
7972,48	2973,15	5824,2	3609,59
9761,16	4925,3	3338,14	1896,04

Tableau III: Données de la surface des noyaux des spermatogonies (μm^2) des rats témoins et traités par le Thiaméthoxame (DJA, NOAEL, NOAEL x2).

Témoins	DJA	NOAEL	NOAEL x2
16,38	10,4	11,5	16,22
14,21	16,66	15,61	15,23
19,49	18,11	22,32	17
18,04	16,56	18,37	13,98
18,58	16,67	10,12	21,05
25,8	22,72	10,29	19,15
19,65	25,21	4,89	10,26
22,4	13,18	4,49	8,09
14,95	5,82	14,63	15,98
15,03	11,21	12,94	17,91
15,08	14,56	13,46	17,23
15,25	16,64	15,48	16,6

Tableau VI: Données de la surface des noyaux des cellules de Leydig (μm^2) chez les rats témoins, et traités par le Thiaméthoxame (DJA, NOAEL, NOAEL x2).

Témoins	DJA	NOEL	NOEL x2
3,92	7	5,91	10,13
5,51	2,72	7,09	8,02
9,81	1,94	8,74	14,82
13,01	7,51	6,59	12,18
8,07	7,78	10,12	11,32
7,15	7,3	10,29	15,64
7,28	7,77	4,89	9,66
8,2	7,81	4,49	6,83
12,09	5	6,39	8,55
13,749,	7,98	6,3	7,51
9,68	5,82	8,69	10,37
15,28	11,21	11,33	14,93

Tableau V: Données du diamètre des tubes épидидymaires (μm) chez les rats témoins et traités par le Thiaméthoxame (DJA, NOAEL, NOAEL x2).

Témoins	DJA	NOAEL	NOAEL x2
152,17	140,22	158,52	167,19
154,43	145,35	175,41	194,13
162,49	131,38	185,82	182,01
164,29	200,67	209,65	256,69
178,46	161,38	189,24	266,81

Tableau VI: Données de la surface des épithéliums épидидymaires (μm^2) chez les rats témoins, et traités par le Thiaméthoxame (DJA, NOAEL, NOAEL x2).

Témoins	DJA	NOAEL	NOAEL x2
4725,73	4764,19	5511,05	6135,35
5944,71	5798,45	8028,95	6676,92
1968,29	6567,55	6515,61	6063,34
2328,58	7513,16	7035,54	6710,18
4376,71	5147,87	7409,21	7918,69

Tableau VII: Donnés du rapport nucléo-cytoplasmique de l'épididyme chez les rats témoins, et traités par le Thiaméthoxame (DJA, NOAEL, NOAEL x2).

Témoins	DJA	NOAEL	NOAEL x2
4,65	5,32	4,33	3,88
9,56	4,66	5,93	5,42
5,16	4,01	5,37	6,69
4,83	5,18	4,37	7,18
5,44	5,39	6,17	6,36

Tableau VIII : Donnés de la surface de l'épithélium prostatique (μm^2) chez les rats témoins, et traités par le Thiaméthoxame (DJA, NOAEL, NOAEL x2).

Témoins	DJA	NOAEL	NOAEL x2
10198.48	7414.2	4423.2	7264.41
9033.44	5753.26	6634.86	4471.98
7145.18	12071.21	7115.71	5843.32
11248.64	3304.51	8338.91	5586.27
10441.49	7281.11	10782	7488.47

Tableau IX: Donnés du rapport nucléo-cytoplasmique de la prostate chez les rats témoins, et traités par le Thiaméthoxame (DJA, NOAEL, NOAEL x2).

Témoins	DJA	NOAEL	NOAEL x2
8,12	7,35	5,64	6,98
7,41	6,74	5,94	5,97
7,42	7,2	5,21	6,78
6,83	8,81	6,28	4,86
8,31	5,42	3,84	5,89

Tableau X: Donnés de la hauteur de l'épithélium de la vésicule séminale (μm) chez les rats témoins, et traités par le Thiaméthoxame (DJA, NOEL, NOEL x2).

Témoins	DJA	NOAEL	NOAEL x2
14,52	14,38	14,39	12,63
16,61	15,74	13,27	10,95
13,85	12,02	13,88	12,69
13,98	15,15	11,15	8,88
12,21	10,27	13,42	10,44
15,46	13,08	11,89	10,92
11,2	14,05	14,65	8,4
12,12	13,47	10,98	9,06

Tableau XI: Données du rapport nucléocytoplasmique de la vésicule séminale chez les rats témoins, et traités par le Thiaméthoxame (DJA, NOAEL, NOAEL x2).

Témoins	DJA	NOAEL	NOAEL x2
4,42	5,14	4,57	3,59
4,75	5,49	4,18	5,9
6,4	4,71	4,57	3,83
4,7	4,4	3,69	5,25
4,66	5,52	3,42	3,56