



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Larbi Tébessi-Tébessa-
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la vie



Département : Des êtres vivants

MEMOIRE DE MASTER

Domaine: Science de la Nature et de la Vie (SNV)

Filière: Sciences Biologique

Option : Ecophysiologie Animale

Thème:

**Effet d'un insecticide néonicotinoïde sur des
paramètres physiologiques chez un
gastéropode *Helix aspersa***

Présenté par:

CHAIBI Fatma

YOUSFI Manal

Devant le jury :

M^{me}. HAMEL Mahdia

M.A.A Université de Tébessa

Président

M^{me}. ROUACHDIA Roukaya

M.A.A Université de Tébessa

Rapporteur

M^{me}. YAHIA Hadda

M.A.A Université de Tébessa

Examineur

Date de soutenance : Le 29 Mai 2018

Année 2017/2018

Note : /20

ملخص

تمت دراستنا التجريبية باستخدام مبيد حشري acetamiprid ينتمي لعائلة néneoncotinoides حيث قمنا بتطبيقه على الحلزون الترايبي *Helix aspersa* و هو نوع كثير الاستعمال كمؤشر للتلوث الايكولوجي .

قمنا بدراسة سمية acetamiprid من خلال تطبيق تركيزين مختلفين في فترات مختلفة (3 أيام ، 7 أيام و15 يوم) وذلك عن طريق الامتصاص بواسطة الجهاز الهضمي .

قمنا بالمعايرة لبعض المؤشرات الحيوية في الكبد البنكرياسي مثل GSH و مستويات MDA والمعايرة البيوكيميائية (كمية البروتينات و كمية الدهون).

أظهرت نتائجنا تغيرات بدلالة الجرعة و مدة العلاج المتفاوتة زيادة في وزن البنكرياس الكبدي مقارنة مع العينات الشاهدة و زيادة في مستويات أكسدة الدهون MDA و تفعيل نظام إزالة السموم حيث أظهرت انخفاض نشاط GSH.

من ناحية أخرى اظهرت دراستنا اضطرابات معتبرة في التركيب البيوكيميائي على مستوى البنكرياس الكبدي(زيادة كميات البروتينات انخفاض كميات الدهون)

الكلمات الدالة : acetamiprid المؤشرات الحيوية , *Helix aspersa* , نظام ازالة السموم ,البنكرياس الكبدي, التركيب البيوكيميائي.

Résumé

Notre étude expérimentale a porté sur l'insecticide acétamipride, qui appartient à la famille des néonicotinoïdes, où nous l'appliquons à un type d'escargot utilisé comme bio indicateur de la pollution écologique *Helix aspersa*

Nous avons concentré nos travaux sur l'étude de la toxicité de l'acétamipride lors de l'application de concentrations à différents périodes (3 jours 7 jours et 15 jours) par absorption gastro-intestinale

Nous avons calibré certains bio marqueurs dans le foie pancréatique tels que le GSH, les niveaux de MDA et l'étalonnage biochimique (apport protéique et apport en graisse)

En termes de dose et de durée de traitement, nos résultats ont montré l'augmentation du poids du pancréas hépatique par rapport aux échantillons témoins, des niveaux accrus d'oxydation des lipides (MDA) et l'activation du système de détoxification une diminution de l'activité de GSH.

D'autre part, des troubles importants dans la structure biochimique au niveau du l'hépatopancréas (augmentation de la teneur en protéines et diminution de l'apport en lipides) ont été observés

Mots clés: Acétamipride, *Helix aspersa*, Bio toxicité, hépatique Pancréas, Structure biochimique

Abstract

Our experimental study focuses on the insecticide acetamiprid, which belongs to the family Neonicotinoïdes, where it was applied to a type of snail used as an indicator of the *Helix aspera* that is used as an indicator of ecological pollution.

Our work focus on the study of the toxicity of acetamiprid when applying concentrations at different periods (3 days 7 days and 15 days) by gastro-intestinal absorption.

We have calibrated some of the vital indicators in the hépatopancreas liver such as GSH, MDA levels, and biochemical calibration (protein intake and fat intake).

Our results shows changes in dose and duration of treatment, increasing of liver weight of the hépatopancreas compared with control samples, increased levels of lipid oxidation (MDA), and activation of the Detoxification.

On the other hand, significant disorders in the biochemical structure at the level of the hépatopancreas (increased amounts of protein decrease the amounts of fat).

Key words: Acétampride, *Helix aspera*, biotoxicity, hepatic pancreas, biochemical Structure.

REMERCIEMENTS

Avant tout, je remercie le mon Dieu qui m'a éclairé le chemin et m'a donné la patience et le courage pour réaliser ce travail.

Je tiens à adresser mes remerciements à,

Madame Rouachdia Roukaya, mon encadreur qui m'a permis de réaliser ce travail dans les meilleures conditions. Je lui dis merci de m'avoir fait partager votre expérience et votre culture scientifique et de m'avoir fait confiance, travaillé sous votre direction a été un plaisir et un honneur pour moi.

Un grand remerciement au président de jury Me hamel , pour son aide, son soutient et pour avoir exprimé son entière disponibilité.

Madame Yahia Hadda je la remercie beaucoup pour avoir bien voulu juger ce travail et surtout pour son aide pendant toute les étapes de mon travail.

*Enfin mes remerciements s'adressent également à l'ensemble des enseignants qui ont contribué à ma formation au cours de mes années universitaires, sans oublier les responsable de laboratoire ;
karima*

DEDICACE

Je remercie tout d'abord ALLAH qu'il nous aime, nous protège agrée nos sacrifices, pardonne nos péchés, éclaire nos esprit, qui nous offre la chance et bonheur, et qui nous guide vers le bien et le meilleur.

*Je dédie mon travail à mon cher papa adoré qui a souhaité me voir à ce niveau à ce d'étude, je ne serais exprimer mon amour et l'estime que l'ai pour toi, tu resteras mon meilleur guide depuis l'enfonce. Que Dieu son âme (**ALLAH YARHMK**)*

A Ma chère MERE qui ma aidée à avancer dans mon parcours d'études avec amour et joie quelle m'a procurée. Que Dieu la garde la protège.

A MON ONCLE KHALED qui a remplacé la place de mon père durant toute mes études d'enfance jusqu' au jour sans oublier mes oncles moussa et Abdelaziz spécialement ses enfant et ses femmes

A mes Chères et Adorables sœurs et mon frere:

En témoignage de mon affection fraternelle, de ma profonde tendresse et reconnaissance AYMEN-LOUBNA-HANNENE-KAOUTHER, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu, le tout puissant, vous protège et vous garde vous et la petite Razan.

Pour finir je dédie ce modeste travail à mes très chers ami Amine et mes amies manel : hadjer ; abla qui sont devenus des sœurs pour moi et elles aident plus pour finir ce travail.

A tous ceux que j'ai oubliés involontairement.

fatma

TABLE DES MATIERES

ملخص

Abstract

Résumé

Remerciements

Dédicace

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Liste des annexes

Table des matières

Introduction

Titre	page
Partie 01 : Étude Bibliographique Sur Les Pesticides	01
I.1. Définition	01
I.2.1. Classification des pesticides	02
I.2.1.1. Selon leurs caractéristiques chimiques	02
I.2.1.2. Classification biologique	02
I.2.1.3. Selon les organismes vivants ciblés	03
I.2.1.4. Selon l'usage	04
I.3. Contamination dans L'environnement	04
I.3.1. Contamination des eaux	04
I.3.2. Contamination de l'air	05
I.3.3. Contamination des sols	05
I.4. Les pesticides en Algérie	06

Tableau des matiers

I.5. Effets secondaire des produits phytosanitaires	06
I.7. Effets sur la santé humaine	06
I.8. Résistance aux Pesticides.	06
I.9. Caractéristiques physico-chimique	07
I.9.1. Définition	07
I.9.2. Propriétés physicochimiques	07
I.9.3. Structure chimique	07
I.9.3. Structure chimique	08
I.9.4. mode d'action	09
I.9.5. Effets toxicologie	09
I.9.5.1. une toxicité neurologique	09
I.9.5.2. une perturbation endocrinienne	09
I.9.6. toxico-cinétique d'Acétamipride	10
I.9.6.1. Sorption	10
I.9.6.2. Absorption et diffusion	10
I.9.6.3. Biotransformations	10
I.9.6.4. Elimination	10
Partie 2 : Étude Bibliographique Sur l'espèce étudiée	11
I. Présentation et classification de l'espèce	11
I.1.1. Classification	11
I.1.2. Distribution géographique	12
I.1.2. 1. Description, écologie -et comportement de l'espèce <i>Helix aspersa</i>	12
I.1.2. 1. Guelma	12
I.1.3. Anatomie générale de l'escargot	13
I.1.2.1. Anatomie externe de l'escargot	13
I.1.4. Déplacement	14
I.1.5. Hibernation et estivation	15
I.1.6. Reproduction et ponte	15
I.1.7. Interêts de l'utilisation de l'escargot en écotoxicologie	16
I.1.8. Spécificités des escargots	16

Tableau des matiers

II.1.Objectifs et principe de l'étude	17
II.2. Matériel et méthodes	17
II.2.1. Matériel	17
II.2.1.1. Matériel biologique	17
II.2.1.1.1. Présentation et description de l'espèce bioindicatrice	17
II.2.1.1.2. Systématique	21
II.2.1.2. Choix d'insecticide	18
II.2.3. Méthode	20
II.2.3.1.1. Conditions d'élevages	19
II.2.3.2. Méthode de traitement	19
II.2.3.3. Dissection de l'escargot pour le prélèvement des organes	22
II.2.3.4. les Biomarqueurs physiologiques	22
II.1.3.5. Dosage des biomarqueurs biochimiques	23
II.1.3.5.1. Dosage des protéines totales	23
II.1.3.5.2. Dosage des lipides totaux	23
II.1.3.6.. dosage des indicateurs du stress oxydant	24
II.1.3.6.1 Dosage du glutathion GSH	24
II.1.3.6.2. Dosage du malondialdéhyde MDA	24
II.2.3.7. Analyse statistique	26
III. Résultats	27
III.1. Effet de l'acetamipride sur le poids de l'hépatopancréas d' <i>Helix aspersa</i>	27
III.2. Effets de l'acetamipride sur la composition biochimique de l'hépatopancréas d' <i>Helix aspersa</i>	27
III.2.1. Effets sur le taux des métabolites	27
III.2.1.1. Effets sur le taux des protéines totales	27
III.1.1.2. Effets sur le taux des lipides	28
III.3. Effets sur le taux des biomarqueurs du stressoxydan	29
III.3.1. Effet d'acetamipride sur le taux de glutathion (GSH)	29
III.3.2. Effet de l'acetamipridesur le taux du malondialdéhyde (MDA)	30
IV. Discussion	32
IV. 1. Effets du l'acetamipride sur l'hépatopancréas d' <i>Helix aspersa</i>	32

Tableau des matiers

IV.2. Effets d'acetamipride sur le poids de l'hépatopancréas <i>d'Helix aspersa3</i>	33
IV.3. Effets de l'acetamipride sur le taux biochimique de l'hépatopancréas <i>d'Helix</i>	33
IV.3.1. Effets sur le taux des protéines totaux	33
IV.3.2. Effets sur le taux des lipides totaux	34
IV.4. Effets sur le taux des biomarqueurs du stress oxydant	34
IV.4.1.Effets sur le taux de GSH	34
IV.4.2.Effets sur le taux de MDA	35

Conclusion générale

Références bibliographiques

Les Annexes

Tableau des matiers

Listes des tableaux

Liste des tableaux

Tableau N°	Titre	Page
Tableau 01	Informations générales sur l'acetamipride	08
Tableau 02	Classification d' <i>Hélix aspersa</i> .	12
Tableau 03	Classification de <i>Helix aspersa</i>	18

Liste de figure

Figure N°	Titre	Page
Figure 01	l'application des insecticides dans un champ	01
Figure 02	Contamination des eaux	05
Figure 03	Structure spatiale d'Acétamipride	09
Figure 04	Escargot <i>Helix aspersa</i>	11
Figure 05	photos de l' <i>Helix aspersa</i> prise pendant le ramassage	13
Figure 06	Morphologie externe de l'escargot	14
Figure 07	Classification de <i>Helix aspersa</i>	18
Figure 08	Elevage d' <i>Helix aspersa</i> dans le laboratoire	19
Figure 09	solution l'acetamipride dans le laboratoire	20
Figure 10	Schéma représentatif du protocole expérimental	21
Figure 11	Opérations de décoquillage d' <i>Helix aspersa aspersa</i>	22
Figure 12	mesure des Le poids frais de l'hépatopancréas	23
Figure 13	Effet du sur le taux des poids totales chez <i>Helix aspersa</i>	27
Figure 14	Effet sur le taux des protéines totales chez <i>Helix aspersa</i>	28
Figure 15	Effet sur le taux des lipides totales chez <i>Helix aspersa</i>	29
Figure 16	Effet sur le taux des GSH totales chez <i>Helix aspersa</i>	30
Figure 17	Effet du sur le taux des MDA totales chez <i>Helix aspersa</i>	31

Listes des Annexes

Liste des Annexes

Annexes N°	Titre
01	réalisation de la gamme d'étalonnage pour le dosage des protéines Hépatopancréatiques
02	réalisation de la gamme d'étalonnage pour le dosage des lipides hépatopancréatiques
03	Droite de régression exprimant les absorbances à 595 nm en fonction de la quantité des protéines (μg) (R^2 : coefficient de détermination)
04	Droite de régression exprimant les absorbances à 530 nm en fonction de la quantité des lipides (μg) (R^2 : coefficient de détermination)
05	Analyse de la variance à deux critères de classification (dose, temps) de poids de l'hépatopancréas (g) chez <i>Helix aspersa</i>
06	Analyse de la variance à deux critères de classification (dose, temps) du taux des protéines ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de l'hépatopancréas) chez <i>Helix aspersa</i>
07	Analyse de la variance à deux critères de classification (dose, temps) du taux des lipides ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de l'hépatopancréas) chez <i>Helix aspersa</i>
08	Analyse de la variance à deux critères de classification (dose, temps) du taux de GSH ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéine) chez <i>Helix aspersa</i>
09	Analyse de la variance à deux critères de classification (dose, temps) du taux de MDA ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéine) chez <i>Helix aspersa</i>

Listes des Symboles

Liste des symboles

ACP : Analyse en composantes principale

ACTA : Association de coordination technique agricole

BBC : Bleu brillant de Coomassie

BSA : Sérum albumine bovine

CEE : directive du conseil européen

°C: Degré Celsius

DDT : Dichlorodiphényltrichloroéthane

DJA : Dose journalière admissible

DTNB : Acide 5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque

ETM: Elements traces métallique

EDTA : Ethylène diamine tétra-acétique

GSH : Glutathion réduit

GSSG: Disulfure de glutathion (Glutathion oxydé).

HCH : Hexachlorocyclohexane

L : Litre

mg : milligramme

MDA : Malondialdéhyde

mn : minute

NACHR : nombre Acétylcholine réduit Organisation mondiale de la santé

OMS : Organisation mondiale de la santé

Listes des Symboles

P450 : Cytochrome P450

Ph : Hydrogène Potrntil

-SH : Groupement t **TBA:**

TBA TCA: Acide Trichloroacétique

TCA Acide thiobarbiturique hiol

% : Pourcentage

Introduction

Après la seconde guerre mondiale, les pesticides ont permis le développement de l'agriculture et ont contribué à l'augmentation des rendements et à la régulation de la production agricole. Cependant, aujourd'hui, les pesticides sont soupçonnés de présenter un risque pour la santé de l'homme et pour son environnement. Par ailleurs, de nombreuses études épidémiologiques suggèrent une corrélation entre l'utilisation professionnelle des pesticides et l'apparition de certaines pathologies dans les populations concernées. Des effets cancérigènes, neurotoxiques ou perturbations endocriniennes liées aux pesticides ont été remarquées chez l'animal. La question des risques pour l'homme est donc posée tant au niveau professionnel qu'à celui du consommateur.

Les activités anthropiques, poussées par les avancées technologiques, ont conduit à des augmentations des niveaux de contaminants organiques dans l'environnement. L'agriculture en est une source importante en raison de l'usage généralisé de pesticides pour protéger les cultures et améliorer leur rendement. En effet, depuis les années 40, l'agriculture s'est intensifiée et les pratiques ont profondément changé. Ainsi, la plupart des pesticides inorganiques (cuivre, arsenic, fer, soufre) ont progressivement été remplacés par des pesticides organiques. Ces derniers regroupent de nombreuses familles chimiques, avec des effets variés aussi bien dans leur action que dans leur devenir dans l'environnement ((Lazartigues., 2010). La contamination des différentes matrices environnementales (eau, sol), a été largement rapportée dans la littérature

Les néo nicotinoïdes sont une classe de neuro actifs insecticides chimiquement similaires à la nicotine. Ils ciblent le système nerveux des insectes causant paralysie. Il est systémique et destiné à contrôler les insectes suceurs sur les cultures telles que les feuilles légumes, agrumes, fruits à pépins, raisins, coton, cultures de choux et plantes ornement a les sans avoir d'effets nuisibles sur les non-cibles. (Ambrose, Margery; Peter et al., 2011),

L'évaluation des bio marqueurs du stress oxydatif est donc un bon outil environnemental pour évaluer l'exposition et les effets des xénobiotiques sur les organismes (McLoughlin et al., 2000). Pour minimiser les dommages des ROS induits, les organismes ont développé des complexes de défenses anti-oxydatives de nature à la fois enzymatique et non enzymatique. Les défenses anti-oxydatives non enzymatiques comprennent des molécules de bas poids moléculaire qui agissent comme des piègeurs de radicaux libres tel que le glutathion (GSH) (Nowakowska et al., 2012).

Chapitre I : Etude bibliographique

Les mollusques, grâce à leur capacité d'accumulation, ont été les premiers organismes sentinelles utilisés dans les programmes de surveillance de la contamination chimique des écosystèmes (Siest et al., 1988). Parmi ces derniers, l'escargot qui a été largement utilisé en tant que organisme renseignant sur l'état et le fonctionnement d'un écosystème (Joëlle, 2015).

On s'efforcera dans ce travail de répondre à une question : quel est l'effet des insecticides sur quelques paramètres biologiques chez un gastéropode « *Helix aspersa* » ? Pour répondre, on rapportera et discutera des travaux menés pour les effets d'exemple d'insecticide de famille Néonicotinoïdes grâce à l'utilisation d'un modèle bioindicateur présent dans les écosystèmes terrestres, l'escargot *Helix aspersa*.

Ce mémoire s'articule autour de quatre parties:

- ✓ **Chapitre 1** : Le premier chapitre dresse une étude bibliographique sur les pesticides, l'espèce étudiée enfin
- ✓ **Chapitre 2** : Le deuxième chapitre expose le matériel et les méthodes utilisées pour déterminer les effets d'insecticide de la famille Néonicotinoïdes sur *Helix aspersa* par l'étude des paramètres biochimiques (protéine et lipide) ; la mesure de quelques biomarqueurs de stress oxydants (GSH, MDA)
- ✓ **Chapitre 3** « résultats et discussion », décrit les résultats obtenus
- ✓ **Une conclusion et des perspectives** clôtureront ce travail.

Chapitre I :

Etude Bibliographique

Partie 01 Étude Bibliographique Sur Les Pesticides

I.1. Définition

Le terme pesticide se compose de deux parties: le suffixe "cide" qui a pour origine le verbe latin "caedo, cadere" qui signifie " tuer". On lui a adjoint la racine anglaise "pest" qui signifie animal ou plante nuisible à la culture (**López et al., 2005**).

Chapitre I : Etude bibliographique

Le nom officiel est produit agro-pharmaceutique, le plus employé par la profession est produit phytosanitaire. Les juristes et les toxicologues parlent de produits antiparasitaires à usage agricole et le grand public utilise le terme anglais de pesticides (**Fournier., 1988**). Selon la définition donnée par la directive du conseil européen (91/414/CEE) (**extraits du journal Officiel 230 du 19.08.1991**), les pesticides sont les substances actives et les préparations contenant une ou plusieurs substances actives qui sont présentées sous la forme dans laquelle elle sont livrées à l'utilisateur et qui sont destinées à:

- Protéger les végétaux ou produits végétaux contre tout organisme nuisible ou à prévenir leur action.
- Exercer une action sur les processus vitaux des végétaux, sans pour autant qu'il ne s'agisse de substances nutritives (ex: régulateurs de croissance).
- Assurer la conservation des produits végétaux.
- Détruire les végétaux indésirables.
- Freiner ou prévenir une croissance indésirable des végétaux, par une action chimique ou biologique (**Clavet et al., 2005; Prové et al., 2007**).



Figure 01. L'application des insecticides dans un champ

(<http://www.bioactualites.ch/>)

I.2.1. Classification des pesticides

Les pesticides peuvent être regroupés de manière différente selon l'aspect sous lequel ils sont étudiés. Ils peuvent être classés en fonction de leur cible, de leur structure chimique, de leur persistance dans la nature, de leur mode ou mécanisme d'action (**Guler et al., 2010 ; Djefal, 2014**).

La classification reposant sur le mécanisme d'action présente un intérêt moindre car des pesticides de structures chimiques différentes peuvent avoir des mécanismes d'action similaires ;

c'est le cas par exemple des organophosphorés et des carbamates (Guler *et al.*, 2010 ; Mohajeri *et al.*, 2011). De plus, le mécanisme d'action de certains pesticides n'est pas complètement élucidé (Testud et Grillet, 2007). Donc, il y a beaucoup des critères de classement pour les pesticides, parmi ces critères nous citons les suivants :

I.2.1.1. Selon leurs caractéristiques chimiques

Selon Clavet *et al.* (2005), il existe trois catégories de pesticides:

- 1. Les pesticides inorganiques :** qui sont peu nombreux, sont des pesticides très anciens dont l'emploi est apparu bien avant les débuts de la chimie organique de synthèse.
- 2. Les pesticides organométalliques :** Ce sont des fongicides dont la molécule est constituée par un complexe d'un métal tel que le zinc et le manganèse et d'un anion organique dithiocarbamate. Des exemples de ces pesticides sont le mancozèbe (avec le zinc) et le manébe (avec le manganèse).
- 3. Les pesticides organiques :** qui sont très nombreux et appartiennent à diverses familles chimiques dont il existe actuellement plus de 80 familles ou classes chimiques.

I.2.1.2. Classification biologique

Selon les organismes vivants visés, on distingue plusieurs catégories de pesticides dont les principales sont les insecticides, acaricides, les fongicides et les herbicides (NCI-2). La classification selon l'activité biologique et la classification selon les caractéristiques chimiques se recoupent évidemment. Il n'est pas possible d'établir des règles générales de correspondance entre la nature chimique des pesticides et leur activité biologique, mais on peut faire quelques remarques intéressantes pour une grande partie d'entre eux.

- 1. Les acides**, les chloracétanilides, les nitriles, les urées substituées, les uraciles et les ammoniums quaternaires sont des herbicides.
- 2. Les dérivés organophosphorés** sont, pour la plupart, des insecticides mais certains sont des fongicides.
- 3. Les pyréthrinoides** sont des insecticides ou des acaricides.
- 4. Des familles comme les 1,3,5-triazines et les thiocarbamates** comprennent surtout des herbicides mais aussi quelques fongicides.
- 5. Les carbamates** constituent une famille polyvalente puisqu'on y trouve aussi bien des herbicides que des fongicides ou des insecticides
- 6. Les azoles** sont des fongicides

I.2.1.3. Selon les organismes vivants ciblés

- 1. Les Insecticides**

Chapitre I : Etude bibliographique

Les insecticides sont toutes les substances qui tuent les insectes, empêchent l'éclosion des oeufs, altèrent le développement normal des larves ou la maturation sexuelle (**Faurie et al., 2003**). C'est le plus important groupe de pesticides qui englobe plusieurs familles : les insecticides organophosphorés, les insecticides végétaux et autres produits (**Belmonte et al., 2005**).

2. Les Fongicides

Ils servent à combattre la prolifération des champignons pathogènes. Ils permettent de lutter contre les maladies cryptogamiques qui causent de graves dommages aux végétaux cultivés (**Cairns et Shermaj, 1996**).

3. Les Herbicides

Ils permettent d'éliminer les mauvaises herbes. Ce sont des phénoxydes, des triazines, des amides, des dinitro-anilines dérivés d'urée, des sulfonilurées et uraciles (**Benziane, 2014**). On distingue en outre :

1. Les acaricides (contre les acariens)
2. Les nématocides (toxiques pour les vers du groupe des nématodes).
3. Les rodenticides (contre les rongeurs).
4. Les molluscicides (contre les mollusques : limaces et escargots).
5. Les corvicides et les corvifuges (contre les corbeaux et tous les oiseaux ravageurs de cultures).

I.2.1.4. Selon l'usage

Selon **Clavet et al., (2005)**, les pesticides sont utilisés dans plusieurs domaines d'activité pour lutter contre les organismes vivants nuisible, d'où des usages différents. Il existe six catégories de pesticides classés selon leurs usages, c'est-à-dire, selon la destination des traitements:

1. Les cultures.
2. Les bâtiments d'élevage.
3. Les locaux de stockage des produits végétaux.
4. Les zones non agricoles.
5. Les bâtiments d'habitation.
6. L'homme et les animaux

I.3. Contamination dans L'environnement :

I.3.1. Contamination des eaux :

Une des conséquences environnementales majeures de l'agriculture intensive actuelle est la dégradation de la qualité des eaux (**Ippolito et al., 2012**). Cette dégradation se traduit, pour

Chapitre I : Etude bibliographique

les eaux de surface comme pour les eaux souterraines, par une pollution liée à la dissémination des produits phytosanitaires, des engrais minéraux azotés et phosphatés ou encore des effluents d'élevage. Les pesticides peuvent facilement pénétrer dans le sol et les sources d'eau. La contamination par les pesticides est le plus souvent un phénomène irrégulier. Il est à noter que des pics de concentration sont fréquemment observés dans les quelques heures qui suivent les épisodes pluvieux (Schulz, 2001; Neumann *et al.*, 2003) et que la contamination des eaux de surface est d'autant plus élevée que la surface des bassins versants est faible (Schulz, 2004). Par ailleurs, dans certaines régions, une part significative de la contamination des eaux peut parfois provenir du dépôt de substances transportées par voie aérienne (Blanchoud *et al.*, 2002) ou beaucoup plus fréquemment découler d'usages autres qu'agricoles, qu'il s'agisse du désherbage des infrastructures de transport ou industrielles, des parcs et jardins ou bien d'utilisations domestiques (Gerecke *et al.*, 2002; Revitt *et al.*, 2002; Schiff *et al.*, 2002; Blanchoud *et al.*, 2004).



Figure02. Contamination des eaux

(<http://www.bioactualites.ch/>)

I.3.2. Contamination de l'air :

✓ Air extérieur

La présence de pesticides est observée dans toutes les phases atmosphériques en concentrations variables dans le temps et dans l'espace (selon la proximité des sources).

✓ Air intérieur

Les pesticides peuvent contaminer l'air intérieur non seulement suite à leur application ou leur stockage dans les logements mais également du fait du transport des produits utilisés à l'extérieur (agriculture, jardins, parcs) par l'intermédiaire des chaussures, des vêtements, des

animaux domestiques ou par l'air. Il existe très peu de programmes de recherche dans le domaine de la qualité de l'air intérieur (**Bouvier et al., 2006**).

I.3.3. Contamination des sols :

Les pesticides dans les sols peuvent provenir des activités agricoles mais également des activités d'entretien des espaces verts et jardins ou de désherbage des réseaux routiers et ferrés. La vitesse d'infiltration des pesticides dans le sol dépend de certains facteurs tels que l'humidité, le taux de matière organique, le pH et du pesticide. Par ailleurs, il n'existe pas de dispositif équivalent à ceux relatifs à l'eau et à l'air pour la caractérisation de la contamination des sols par les pesticides, Il est connu que les insecticides organochlorés sont assez persistants dans l'environnement et certains, bien qu'interdits d'usage peuvent rester présents dans le sol pendant plusieurs années (lindane, alpha-HCH). A l'heure actuelle les insecticides utilisés (organophosphorés, pyréthrinoïdes, carbamates et autres) se dégradent rapidement, par contre les herbicides sont assez persistants dans les sols et leurs produits de dégradation sont souvent stables (**Chaignon et al., 2003**).

I.4. Les pesticides en Algérie

En Algérie, la fabrication des pesticides a été assurée par des entités autonomes de gestion des pesticides: Asmidal, Moubydal. Mais avec l'économie de marché actuelle, plusieurs entreprises se sont spécialisées dans l'importation d'insecticides et divers produits apparentés. Ainsi, environ 100 produits phytosanitaires sont homologués en Algérie, dont une quarantaine de variétés sont largement utilisées par les agriculteurs. C'est la loi n° 87-17 du 1er août 1987, relative à la protection phytosanitaire, qui a instauré au départ les mécanismes qui permettent une utilisation efficace des pesticides (**Bouziati, 2007**).

I.5. Effets secondaire des produits phytosanitaires

Malgré un souci croissant de protection de l'environnement, lors de l'utilisation des produits phytosanitaires, une certaine quantité de ces substances se retrouve dans l'environnement, principalement dans l'air sous forme de gouttelettes ou sur le sol (**Pimentel, 1995**). Ils peuvent alors être soumis à différents processus (**INERIS, 2005**).

la photo-dégradation (**Marcheterre et al., 1988**) Les pesticides peuvent contaminer l'air intérieur non seulement suite à leur application ou leur stockage dans les logements mais également du fait du transport des produits utilisés à l'extérieur (agriculture, jardins, parcs) par l'intermédiaire des chaussures, des vêtements, des animaux domestiques ou par l'air. (**Bouvier et al., 2006**).

I.7. Effets sur la santé humaine

Les pesticides peuvent pénétrer dans l'organisme par contact cutané, par ingestion et par inhalation. Les manifestations peuvent se limiter à des signes locaux irritations de la

peau, des muqueuses, réactions allergiques cutanées ou oculaires, vomissements, toux, gêne respiratoire ou bien traduire l'atteinte d'un ou plusieurs organes ou systèmes : foie, rein, système nerveux central... On parle alors d'effets systémiques. L'intoxication massive peut avoir des conséquences graves, parfois mortelles. (Mohamed DEBBAB ,2014)

I.8. Résistance aux Pesticides.

La résistance aux pesticides est la résultante d'une sélection d'organismes tolérant des doses qui tuent la majorité des organismes normaux. Les individus résistants se multiplient en l'absence de compétition intra spécifique et ils deviennent en très peu de générations les individus majoritaires de la population. La résistante est définie par l'OMS comme « l'apparition dans une population d'individus possédant la faculté de tolérer des doses de substances toxiques qui exerceraient un effet léthal sur la majorité des individus composant une population normale de la même espèce ». Un pesticide se contente de sélectionner la résistance, mais ne la crée pas. Cette résistance a été observée chez les plantes mais aussi chez les insectes et en particulier de plus en plus (Janet *et al.*, 2000). chez de nombreuses souches (Bang *et al.*, 1969)espèces de moustiques(Brown , 1986) devenus rapidement résistants au D.D.T (Amin *et al.*, 1989), puis aux organophosphoré aux carbamates (Anaratnam *et al.*, 1974) et aux pyrethrinoïdes (Ramesh *et al.*, 2001) (Caiet *et al.*, 2002),(Tomalik *et al.*, 2001) .De même chez la mouche domestique (Wan *et al.*, 1989) d'autres insectes vecteurs de zoonoses ou de maladies humaines (Oktey *et al.* , 2003) ,(Ismail *et al.* , 2003) arthropodesLes acariens ont également développé des adaptations à certains acaricides génétiquement transmises à leur descendance (RT. Roush,*et al.*, 1987)

En guise de conclusion, la résistance aux pesticides est un problème en expansion qui pourrait s'aggraver considérablement si des solutions efficaces ne sont pas mises en place rapidement. Le problème de la résistance se retrouve dans tous les systèmes, en réponse aux applications d'herbicides, d'insecticides, de fongicides etc... L'acquisition de la résistance aux pesticides est une réponse évolutive des ennemis des cultures à la pression de sélection provoquée par les traitements phytosanitaires. Plus on traite, plus la pression de sélection est forte, plus vite devrait apparaître la résistance. Ceci signifie que le système porte en lui son propre vice de fonctionnement, et que la venue de la résistance est inéluctable. Un autre facteur à considérer est le fait que dans certains agroécosystèmes, il n'existe pas à l'heure actuelle de méthode alternative de lutte contre les ennemis des cultures suffisamment efficace pour remplacer les pesticides.

I.9. Caractéristiques physico-chimique

I.9.1. Définition

Un pesticide chimique de la famille néonicotinoïde est un produit spécifiquement fabriqué pour tuer ou repousser des organismes entrant en compétition avec les plantes cultivées.

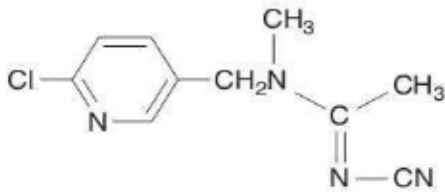
L'acetamipride est un des insecticides très largement utilisé dans le monde et dont les ventes ne cessent d'augmenter depuis leur apparition sur le marché international dans les années 90 (Terayama et al., 2016). Il joue un rôle d'inhibition irréversible sur l'acétylcholinestérase laissant une concentration élevée de l'acétylcholine dans la fente synaptique favorisant une sensibilisation continue des récepteurs à l'acétylcholine (nAChR). Sa caractéristique physicochimiques le rend peu persistant dans l'environnement (Sheets, 2010 ; Testud, 2014).

I.9.2. Propriétés physicochimiques

Leur structure chimique est à l'origine de leurs propriétés communes. Ces caractéristiques physiques conditionnent leur devenir dans l'environnement et déterminent leur mode d'action sélectif des Insectes.

I.9.3. Structure chimique

Tableau 01 : Informations générales sur l'acetamipride (ARLA., 2009).

Informations	
Abréviation	ACT
Synonymes	Acetamiprid (E)-N-[(6-Chloro-3-pyridinyl)méthyl]-N'-cyano-N-méthyléthanimidamid
Type de pesticides	Insecticide
Famille chimique	Néonicotinoïdes
Groupe	4A
Structure	

La structure des néonicotinoïdes se divise en 3 segments (Iwasa *et al.*, 2004; Jeschke, Nauen 2008; Jeschke *et al.*, 2011):

- ✓ un groupe R1 et R2, acyclique acétamipride,
- ✓ un cycle « A » de 5 ou 6 atomes, avec un atome de chlore ;
- ✓ un groupe fonctionnel cyano ou nitro « [X-Y] », indispensable à l'activité insecticide.

Le pouvoir insecticide est également corrélé à la structure chimique (Iwasa *et al.*, 2004., Decourtye, Devillers 2010., Matsuda *et al.*, 2001)

- ✓ les molécules avec un cycle « A » à 5 atomes de carbone sont moins puissantes que celles avec un cycle à 6 atomes ;
- ✓ la présence des substituants oxygène, sulfure ou nitrogène augmentent l'action insecticide ;

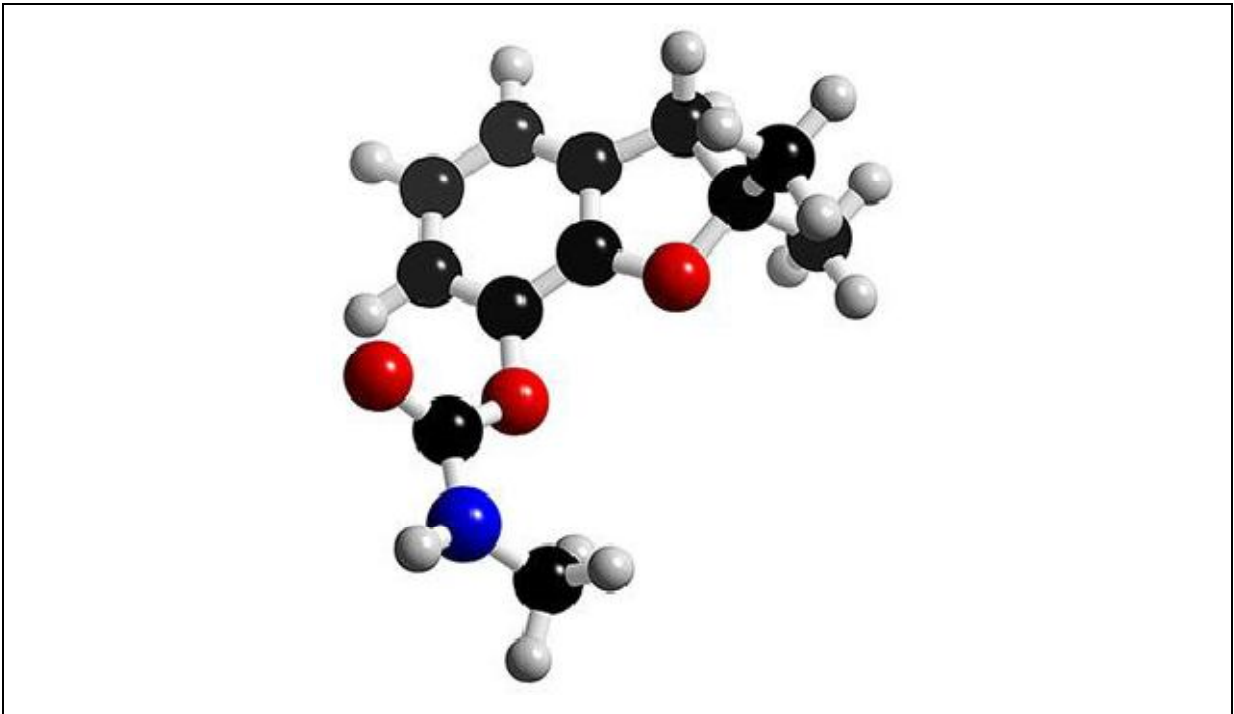


Figure 03. Structure spatiale d'Acétamipride [<http://meddic.jp/acetamipride>].

I.9.4. mode d'action

L'Acetamipride agit par contact et ingestion sur un grand nombre d'insectes piqueurs suceurs puis se diffuse dans toutes les parties. Les ravageurs absorbent le produit en se nourrissant. Il est efficace contre les ravageurs ne pouvant être atteints directement par contact en se cachant sous les feuilles ou dans les fruits.

Il agit sur le système nerveux des insectes mais de manière différente des autres familles (pyréthrinoïdes et organophosphorés). Il peut donc être utilisé en alternance à ces familles de produits pour éviter l'apparition de résistance.

I.9.5. Effets toxicologie

I.9.5.1. une toxicité neurologique : (touchant principalement le cervelet) de l'acetamipride chez les mammifères, toxicité liée à l'inhibition des récepteurs nicotiques du neurotransmetteur qu'est l'acetylcholine, donnant donc des effets de même nature que ceux du tabac; ont aussi été décrites des anomalies morphologiques du développement cérébral et des troubles du comportement tout ceci chez l'animal ; cela a conduit l'EFSA en 2013 à émettre un avis, dans lequel elle souligne les limites de l'étude, demande une méthodologie plus robuste mais reconnaît le danger neurodéveloppemental des deux néonicotinoïdes et propose une nouvelle DJA pour l'acetamipride de 0,025mg/kg de pc/Ji

I.9.5.2. une perturbation endocrinienne : chez les mammifères et l'oiseau touchant principalement la thyroïde en particulier pour l'acétamipride .

I.9.6. toxicocinétique d'Acétamipride

I.9.6.1. Sorption

La sorption caractérise la capacité de liaison à des particules. Les acétamiprides peuvent se lier aux particules du sol, limitant ainsi le phénomène de lessivage à l'origine de la contamination de l'eau. Plusieurs facteurs entrent en jeu, tandis qu'une faible température ou une faible concentration en insecticide diminuent la sorption. Les acétamipride se fixent également aux particules des sédiments de fond d'eau douce ou d'eau marine (**Bonmatin et al., 2015; Fossen 2006., Gervais et al., 2010**).

Cependant, dans les préparations commerciales, l'ajout de nombreuses substances modifie le comportement de la substance active : ainsi le lessivage est plus élevé avec toutes les formulations du commerce par rapport à l'imidaclopride seul (Bonmatin et al. 2015).

I.9.6.2. Absorption et diffusion

Les néonicotinoïdes sont des pesticides qualifiés de « **systémiques** » comme l'acétamipride ils diffusent dans toutes les parties de la plante. Cette propriété dépend de plusieurs caractéristiques :

- de la solubilité dans l'eau : la diffusion systémique est meilleure avec une bonne solubilité.
- du coefficient de partage octanol/eau : il caractérise la lipophilie d'une substance, et doit être compris entre 0.1 et 5 pour qualifier une molécule de systémique.
- de la masse moléculaire : l'absorption est favorisée avec un faible poids moléculaire.

I.9.6.3. Biotransformations

La métabolisation comporte deux phases, appelées phases I et II. La phase I regroupe un grand nombre de réactions chimiques reposant majoritairement sur l'activité du cytochrome P450 et conduit à des formes réduites, hydrolysées, hydroxylées... La phase II est à l'origine de formes conjuguées.

Les métabolites peuvent être communs à plusieurs néonicotinoïdes, ou bien spécifiques. Certains gardent une activité insecticide, parfois intense. (**Simon-Delso et al., 2015**).

I.9.6.4. Elimination

Dans l'organisme, une fraction de l'ordre de 10% de ce pesticide est éliminée sous forme inchangée. L'acétamipride est converti en méthylamine, plus active que la molécule mère. Il n'y a pas d'accumulation d'acétamipride dans l'organisme ; plus de 90 % d'une dose orale sont éliminés en moins de 72 heures, la totalité en 96 heures. Les voies urinaire (*fig.04*) et fécale sont les principales voies d'élimination pour l'acétamipride. (**Seifert, 2005 ; Sheets, 2010 ; Chen et al., 2014**).

Partie 2-Étude Bibliographique Sur l'espèce étudiée

I. Présentation et classification de l'espèce

L'escargot *Helix aspersa* communément appelé Petit-Gris, est un mollusque gastéropode pulmoné appartenant à l'ordre des stylommatophores, famille des helicidae, sous-famille des helicinae (**Beaumont et Cassier, 1998**).

Sa coquille, dextre, est de couleur brun-jaunâtre avec un diamètre variant de 20 à 35mm et une hauteur de 25 à 40mm. Deux grandes parties sont distinguées : le pied et les viscères).

Les viscères correspondent aux organes situés à l'intérieur de la coquille et comprennent le rein, l'hépatopancréas, le coeur et une partie de l'appareil génital qui se prolonge également dans le pied. Le pied comporte essentiellement la sole pédieuse, musculuse, la partie antérieure du tube digestif et le système nerveux. Il se nourrit principalement de plantes, de lichens et de champignons. Son régime alimentaire n'est pas spécialisé et l'escargot s'adapte en fonction des plantes qui colonisent le milieu (**Chevalier et al., 2001**). Le sol fait également partie de son alimentation et peut influencer sa croissance (**Gomot et al., 1989**). Des sols pauvres en calcium peuvent constituer un facteur limitant à la croissance des escargots, le calcium étant un élément indispensable à la formation de la coquille (**Dallinger et al., 2001**). L'escargot compte de nombreux prédateurs, aussi bien des vertébrés, comme les oiseaux (grive), les petits mammifères (musaraigne, hérisson), les reptiles (lézard, couleuvre), que des invertébrés, comme les carabes, les vers luisants et les limaces (**Barker, 2004**).



Figure04. Escargot *Helix aspersa* [Kerney et al., 2006]

Chapitre I : Etude bibliographique

I.1.1. Classification

Pour la classification, les escargots appartiennent à la classe des gastéropodes. Les escargots proprement dits (pulmonés terrestres à coquille spiralée) forment le groupe des *Stylommatophora*. Selon Bonnet et Vrillon (**Bonnet et al., 1990**) sa position systématique est la suivante :

Tableau02 : Classification d'*Helix aspersa*. (Bonnet et al., 1990)

Règne	Animalia
Embranchement	Mollusca
Classe	Gastropoda
Ordre	Stylommatophora
Famille	Helicidae
Genre	<i>Helix</i>
Espèce	<i>Helix aspersa</i>
Sous-espèce	<i>Helix aspersa aspersa</i>

I.1.2. Distribution géographique

I.1.2. 1. Description, écologie et comportement de l'espèce *Helix aspersa* (Müller, 1774)

Les escargots utilisés au cours de ce travail sont des mollusques gastéropodes pulmonés terrestres et appartiennent à l'espèce *Helix aspersa*, on l'appelle aussi *Cantareus aspersus*. Plus communément appelé Petit gris.

C'est une espèce ubiquiste qui s'adapte à des milieux, des sols et des climats variés et s'accommode très bien aux milieux fortement anthropisés, mais semble cependant préférer les milieux ouverts (**Kerney et al. 2006**). Le petit gris est très répandu en Algérie et dans les régions méditerranéennes et océaniques (**Chevallier, 1998**).

I.1.2. 1. Guelma

Ce site est situé dans la commune de Guelma, au coeur d'une grande région agricole à 290 mm d'altitude, entourée de montagnes (Maouna, Dbegh, Houara) ; la commune de Guelma est entourée au Nord par la commune de Héliopolis, au Sud par Ben Djarrah, à l'Est par Belkheir et à l'Ouest par Medjez Amar. Elle a une superficie de 44,74 km². Ses Coordonnées géographiques sont : N° : 36,59275°, E° : 007,32970°; elle est le chef-lieu de la

Chapitre I : Etude bibliographique

wilaya, et est située à 60 km au Sud-Ouest d'Annaba, à 110 km à l'Est de Constantine, à 60 km de la mer Méditerranée et à 150 km de la frontière tunisienne. Elle se caractérise par un climat subhumide. C'est une zone agricole et comprend quelques industries : CYCMA (Complexe de fabrication cycles et cyclomoteurs), raffinerie de sucre, Unité de céramique et vaisselle (ETER) et le Groupe agro-alimentaire Benamor, entre autres.



Figure 05. photos de *l'Helix aspersa* prise pendant le ramassage (CHAIBI, février 2018)

I.1.3. Anatomie générale de l'escargot

I.1.2.1. Anatomie externe de l'escargot

Sa coquille d'extre, est de couleur brun-jaunâtre avec un diamètre variant de 20 à 35 mm et une hauteur de 25 à 40 mm. Deux grandes parties sont distinguées : le pied et les viscères. Les viscères correspondent aux organes situés à l'intérieur de la coquille et comprennent le rein, l'hépatopancréas, le coeur et une partie de l'appareil génital qui se prolonge également dans le pied (figure 03). Le pied comporte la sole pédieuse, musculeuse, la partie antérieure du tube digestif et le système nerveux (Kerney *et al.*, 2006).

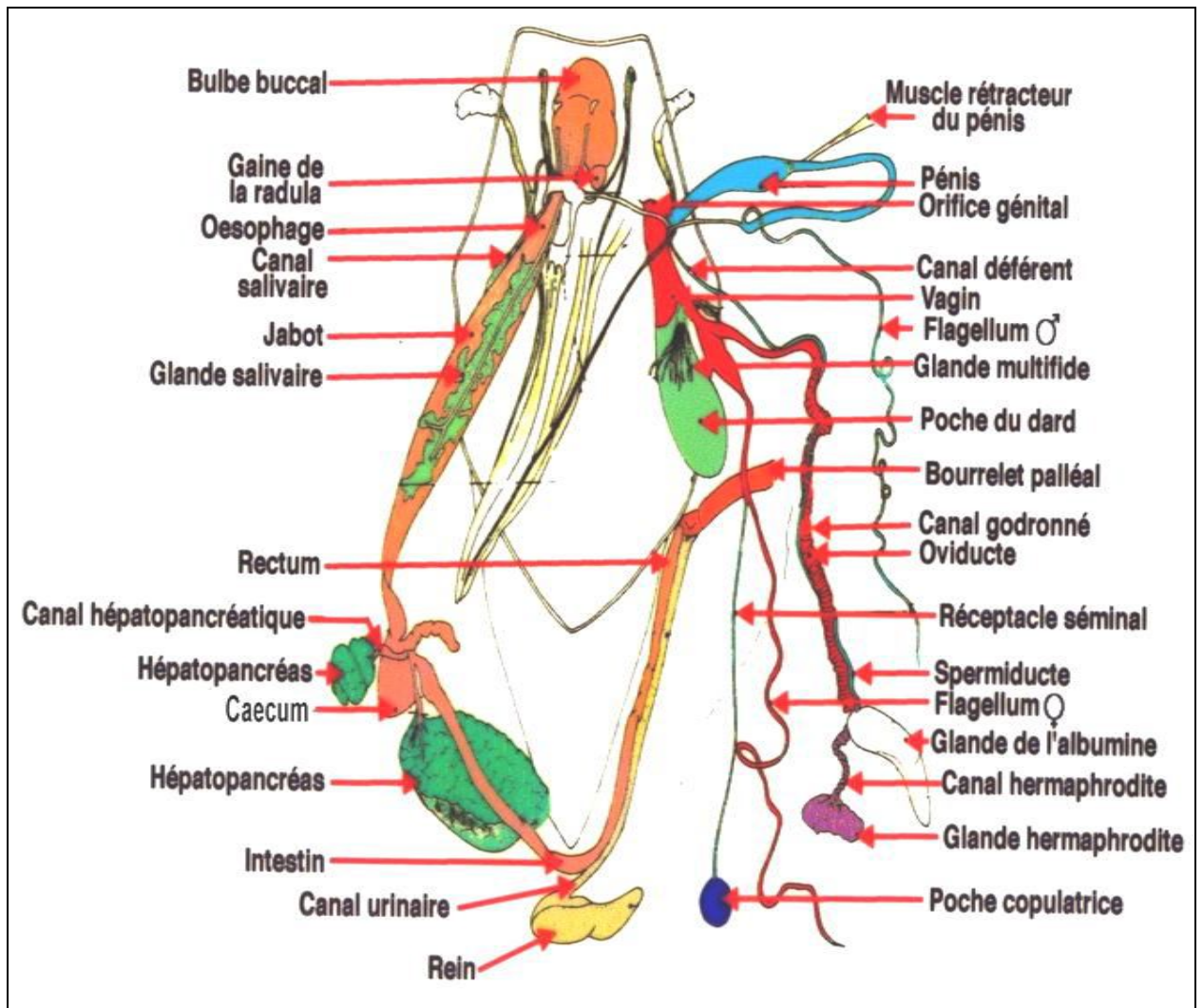


Figure 06 . Anatomie externe de l'escargot (Kerney *et al.*, 2006).

I.1.4. Déplacement

Helix aspersa se déplace, seulement vers l'avant, grâce à son pied, qui est en fait un gigantesque muscle qui se contracte et s'allonge alternativement. Sa vitesse moyenne pour un adulte est d'un 1 mm/s soit 3,6 m/h. L'escargot arrive à déplacer 170 fois son poids, autrement dit un escargot qui pèse 10 g par exemple peut déplacer un poids d'environ 1,5 kg. Ses glandes sécrètent différents types de mucus (la « bave ») contenant de nombreux composés (allantoïne, collagène, élastine) qui lui permettent à la fois d'avancer plus facilement en glissant sur les obstacles et de se fixer même verticalement sur certaines parois. Le mucus sert aussi à se débarrasser de certaines substances, comme les métaux lourds, et entre aussi dans la composition de la coquille. Le mucus est épais, il durcit et sèche au contact de l'air en laissant une traînée brillante à la lumière. Les mucus sont différentes sécrétions visqueuses et translucides, produites par divers organismes, et chez ceux-ci par diverses organes ou

muqueuses. Les escargots produisent des mucus externes ayant des fonctions de protection et parfois de facilité de déplacement, voire de communication.

I.1.5. Hibernation et estivation

Helix aspersa aspersa, escargot terrestre, n'est actif que lorsque l'humidité est suffisamment élevée. Dans le cas contraire, l'animal se rétracte à l'intérieur de sa coquille qu'il obture par un voile muqueux (courte inactivité) ou par un *epiphragme*, ce qui lui évite la déshydratation. La photopériode et la température sont des variables saisonnières qui induisent les états d'inactivité. Hibernation et estivation sont donc des réponses à des *stress* environnementaux prévisibles (Bailey, 1981 ; Aupinel et Daguzan, 1989 ; Aupinel et Bonner, 1996 ; Ansart et Vernon, 2003).

La photopériode est le principal facteur qui déclenche l'activité ou l'inactivité des escargots, selon qu'ils sont soumis à des régimes lumineux mimant des jours longs (plus de 15 h de lumière) ou courts. La connaissance de ce phénomène est primordiale pour une exploitation rationnelle de l'animal, permettant ainsi, en jouant sur les durées d'éclairage journalier, de stimuler la croissance et la reproduction ou, au contraire, l'entrée en hibernation (Le Guhenec, 1985 ; Lorvellec, 1988 ; Gomot, 1990 ; Buser et Combes, 2009). L'*epiphragme* est un bouchon de mucus, plus ou moins imprégné de calcaire, qui durcit en séchant .

I.1.6. Reproduction et ponte

H. aspersa est hermaphrodite : une seule gonade produit les spermatozoïdes et les ovules qui atteignent l'orifice génital par des conduits séparés. Le processus de l'accouplement est complexe, il peut avoir lieu plusieurs fois avant la ponte. Les 2 escargots se positionnent tête-bêche pour échanger leurs spermatozoïdes. Le temps d'accouplement est variable et peut durer plus de 12 heures La fécondation a lieu au niveau de la chambre de fertilisation, une quinzaine de jours après l'accouplement. Les ovocytes fécondés sont entourés d'albumen (secrété par la glande à albumen), qui constitue les réserves nutritives pour le développement embryonnaire, puis d'une coque calcaire Pour pondre, l'escargot creuse avec sa tête une cavité de 2-4 cm de profondeur dans le sol, et y dépose une ponte constituée en moyenne d'une centaine d'oeufs. La ponte peut durer jusqu'à 36 heures. A une température de 18-20°C, les oeufs vont se développer en 12 à 15 jours avant d'éclore. Ensuite les jeunes éclos remontent ensuite en surface, ce qui prend 4 à 5 jours supplémentaires (Lecalve, 1989) avant de pouvoir les apercevoir.

I.1.7. Intérêts de l'utilisation de l'escargot en écotoxicologie

Les stades juvéniles et adultes d'*H. aspersa* sont utilisés dans de nombreuses études écotoxicologiques. En effet, de par leur place au sein de l'écosystème terrestre, les escargots

sont capables d'intégrer des sources multiples de contamination (sol, atmosphère, végétaux) par diverses voies : digestive, respiratoire et/ou cutanée. Les capacités de résistance d'accumulation des métaux ont été démontrées chez ces escargots (Scheifler et al., 2002a,b). Les petit-gris sont des bioindicateurs d'exposition et d'effets de polluants métalliques (Gomot, 1997 ; Coeurdassier et al., 2000, 2002a ; Scheifler et al., 2002a,b ; Fritsch et al., 2011) ou organiques (Coeurdassier et al., 2002b, 2011 ; de Vaufleury et al., 2006 ; Regoli et al., 2006). Un bioessai évaluant les effets des substances chimiques et des matrices contaminées sur la survie et la croissance d'*H. aspersa* juvéniles a été standardisé (ISO15952:2006). *H. aspersa* a également permis de suivre les transferts des divers polluants (organiques, métalliques, radionucléides) dans des chaînes trophiques (Gomot-de Vaufleury et Pihan, 2000 ; Scheifler et al., 2002b, 2003, 2006 ; Scheifler, 2002 ; Hispard et al., 2008), ou encore d'évaluer les cinétiques de transfert milieu-escargot (Gimbert et al., 2006, 2008).

I.1.8. Spécificités des escargots

En milieu terrestre les escargots remplissent les critères précédemment développés et sont reconnus comme des indicateurs écologiques pertinents car :

- ils représentent une biomasse significative au sein de la communauté des invertébrés du sol (Dallinger et al., 2001)

- ils occupent une situation privilégiée à l'interface sol-plante-atmosphère (Barker, 2001),
- ils intègrent des sources et voies de contamination multiples,
- ils possèdent des capacités de bioaccumulation importantes pour de nombreux polluants métalliques (Dallinger et al., 1984),
- ils présentent des réponses physiologiques : inhibition de croissance, de reproduction, mortalité (Laskowski et al., 1996), et biochimique (coeurdassier et al., 2001) quand ils sont exposés aux contaminants,
- ils constituent un élément des réseaux trophiques qui contribue au transfert des polluants du sol et/ou des plantes aux prédateurs (Beeby, 1985)

Chapitre II :
Materiel et Méthode

II.1. Objectifs et principe de l'étude

Au niveau individuel, les effets toxiques des contaminants sur les processus physiologiques des invertébrés peuvent se traduire par une altération de plusieurs fonctions vitales et peuvent se répercuter sur les performances individuelles impliquées dans la dynamique des populations (**Forbes et Forbes, 1994**). Ces effets sont les conséquences de changements métaboliques, cellulaires ou tissulaires mais aussi de modifications comportementales

II.2. Matériel et méthodes

II.2.1. Matériel

Tous les bioessais de cette étude ont été réalisés au Laboratoire de Toxicologie, du département de Biologie, Université l'Arbie Tebessi- Tebessa.

II.2.1.1. Matériel biologique

II.2.1.1.1. Présentation et description de l'espèce bioindicatrice

L'escargot *Helix aspersa* (syn. *Cantareus aspersus* ou *Cornu aspersum* O.F. Müller, 1774) communément appelé petit-gris, est un mollusque gastéropode pulmoné qui fait partie de l'ordre de stylommatophores, de la famille des helicidae. Il possède une coquille dextre (qui s'enroule de gauche à droite), de couleur brun-jaune avec un diamètre moyen de 30 mm. Le corps de l'escargot est composé de deux parties distinctes : le pied et les viscères. Le pied lui permet de se déplacer avec un mouvement de glisse aidé par -l'émission d'un mucus qui réduit la friction avec les surfaces rugueuses. Il comporte le système nerveux, la partie antérieure du tube digestif, la sole pédieuse et musculeuse. Les viscères sont constitués des organes présents dans le tortillon à l'intérieur de la coquille à savoir : le rein, l'hépatopancréas, le cœur et une partie de l'appareil génital qui se prolonge jusque dans le pied.



Figure 07 : *Helix aspersa*[Bonnet et al.,1990]

II.2.1.1.2. Systématique

Tableau3. Classification de *Helix aspersa*[Bonnet et al.,1990]

Règne	Animalia
Embranchement	Mollusca
Classe	Gastropoda
Ordre	Stylommatophora
Famille	<i>Helicidae</i>
Genre	<i>Helix</i>
Espèce	<i>Helix aspersa</i>
Sous-espèce	<i>Helix aspersa aspersa</i>

II.2.1.2. Choix d'insecticide

Les insecticides de type néonicotinoïdes sont des analogues synthétiques de la nicotine, qui est un alcaloïde naturel extrait des feuilles de tabac, utilisée depuis des siècles comme insecticide (Jeschke et al., 2011).

L'Acetamipride est surtout utilisé pour lutter contre les insectes piqueurs-suceurs (thrips, mouche blanche, cicadelles, cochenilles, pucerons) et les mineuses sur les principales cultures maraîchères (tomate, aubergine, courge, melon, poivron, ...).

L'acetamipride a été utilisé sous forme de préparation commerciale. Nous avons choisi deux doses (20 et 40 mg/L) inférieurs à des concentrations appliquées en culture. En effet,

Chapitre II : Matériel et Méthode

l'insecticide est appliqué à des concentrations de 1000ml/10 m². Ainsi, les concentrations choisies se rapportent à des concentrations plus faibles que celles rencontrées par les escargots en culture.

II.2.3. Méthode

II.2.3.1. Méthode d'élevage

Les escargots utilisés sont les adultes de *Helix aspersa* collectés d'un site non traité par les pesticides, situé dans la région de Guelma (Nord-Est algérien). Les escargots sont ensuite transférés au laboratoire, où ils seront adaptés aux conditions contrôlées pendant 1 mois. Les 50 individus choisis ont une masse moyenne de 9.33 ± 0.2 g.

II.2.3.1.1. Conditions d'élevages

L'élevage des escargots est réalisé dans des conditions d'environnement optimales suivantes: photopériode 18 h de lumière par 24 h, 20°C. Ils sont répartis dans des cristallisoirs transparents, avec couvercle perforé (tulle), et chaque cristallisoir contient une éponge humide pour maintenir l'humidité, les escargots sont nourris exclusivement de feuilles de laitue fraîche. Les cristallisoirs sont nettoyés régulièrement tous les trois jours [Daumeret *al.*, 2007].



Figure08. Elevage d'*Helix aspersa* dans laboratoire

II.2.3.2. Méthode de traitement

Nous avons retenu deux doses d'acetamipride d'alimentation et un milieu témoin. Les escargots sont répartis en 3 lots de 15 escargots pour chaque traitement. Les périodes du traitement sont : 3, 7, 15 jours (figure10). L'acetamipride est ajoutée à la nourriture par pulvérisation après leur mélange avec l'eau distillée. Dans tous les cas, la nourriture apportée est renouvelée, qu'elle soit contaminée ou non, tous les trois jours au moment du nettoyage

Chapitre II : Matériel et Méthode

des cristallisoirs. Ce nettoyage est fait, autant que possible, à heure fixe. Il comprend un lavage des parois des cristallisoirs à l'eau distillée, un changement de l'éponge absorbante au fond des cristallisoirs ou un ramassage des fèces des escargots déposés sur l'alimentation. Ensuite, l'ensemble des cristallisoirs est humidifié à l'eau distillée (Coeurdassier M., 2001)

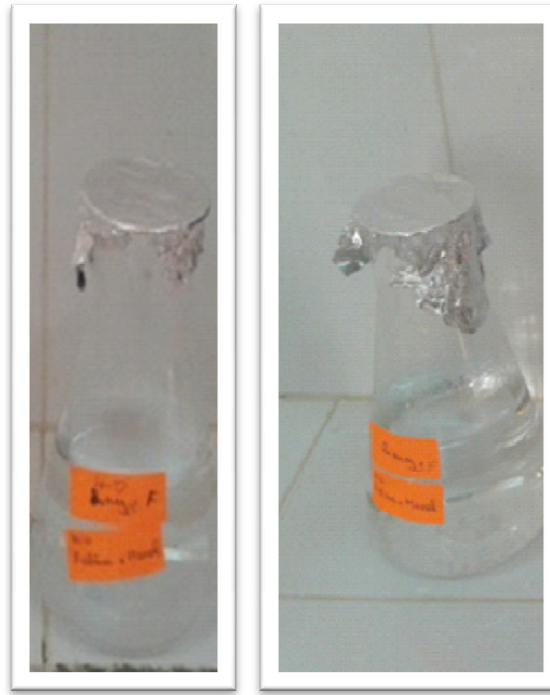


Figure 09. solution d'acetamipride dans laboratoire

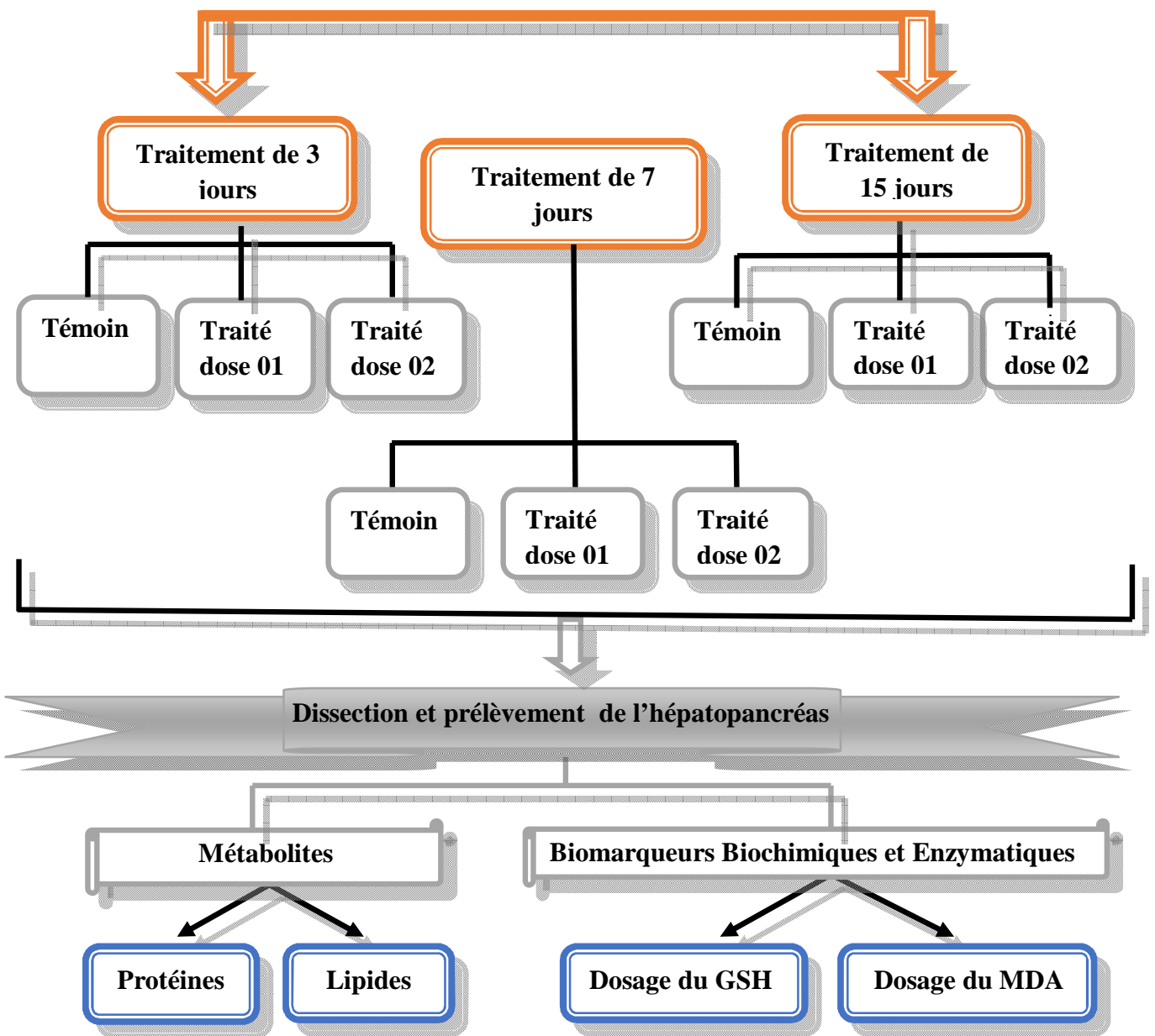


Figure 10. Schéma représentatif du protocole expérimental

II.2.3.3. Dissection de l'escargot pour le prélèvement des organes

Dans une cuvette à dissection, placer un escargot et découper la coquille avec des micro-ciseaux en suivant le bord d'enroulement de la coquille. Après chaque période de traitement, les escargots sont mis à jeun pendant 48 h afin que le contenu de leur tube digestif soit vide. Ceci évite d'éventuelles interférences entre les contaminants présents dans l'aliment ingéré et les quantités de contaminants réellement accumulées dans les tissus. Les boîtes où ils jeûnent sont lavées à l'eau artificielle pour éviter la réingestion des fèces. Après chaque période de traitement les animaux sont sacrifiés par congélation à -80 °C puis disséqués (Coeurdassier et *al.*, 2001). Les escargots sont décoquillés et leurs hépatopancréas rapidement excisés, pesés et est destinées aux mesures des biomarqueurs physiologiques.



Figure 11. décoquillage d'*Helix aspersa*

II.2.3.4. les Biomarqueurs physiologiques

- **Le poids frais de l'hépatopancréas** est mesuré à l'aide d'une balance de précision modèle OHAUS®ANALYTICAL plus [Gomot., 1997a].



Figure 12. mesure des Le poids frais de l'hépatopancréas

II.1.3.5. Dosage des biomarqueurs biochimiques

II.1.3.5.1. Dosage des protéines totales

Le dosage des protéines est effectué selon la méthode de Bradford (1976) dans une fraction aliquote de 100 l à laquelle on ajoute 4 ml de réactif du bleu brillant de commassie (BBC) G 250 (Merck). La solution de BBC, se prépare comme suit: On homogénéise 100 mg de BBC, dans 50 ml d'éthanol 95°, on y ajoute ensuite 100 ml d'acide orthophosphorique à 85% et on complète à 1000 ml avec l'eau distillée. La durée de la conservation du réactif est de 2 à 3 semaines à 4 °C. Celui-ci révèle la présence des protéines en les colorants en bleu. L'absorbance est lue au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 595 nm. La gamme d'étalonnage est réalisée à partir d'une solution d'albumine de sérum de bœuf (Sigma) titrant 1 mg/ml .

II.1.3.5.2. Dosage des lipides totaux

Les lipides totaux ont été déterminés selon la méthode de **Goldsworthy et al. (1972)** utilisant le réactif sulfophosphovanillinique. Le dosage des lipides se fait sur des prises aliquotes de 100 ml des extraits lipidiques ou de gamme étalon aux quelles on évapore totalement le solvant puis on ajoute 1ml d'acide sulfurique concentré, les tubes sont agités, et mis pendant 10 mn dans un bain de sable a 100 °C. Après refroidissement, on prend 200 ml de ce mélange au quel on ajoute 2,5 ml de réactif sulfophosphovanillinique. Après 30 mn à

Chapitre II : Matériel et Méthode

l'obscurité, la densité optique est lue dans un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 530 nm. Les lipides forment à chaud avec l'acide Sulfurique, en présence de la vanilline et d'acide orthophosphorique, des complexes roses. Le réactif est préparé comme suit : Dissoudre 0,38 g de vanilline dans 55 ml d'eau distillée et ajouter 195 ml d'acide orthophosphorique à 85%. Ce réactif se conserve pendant 3 semaines à 4 °C et à l'obscurité. La solution mère des lipides est préparée comme suit : on prend 2,5 mg d'huile de table (tournesol 99% triglycérides) dans un tube eppendorf on ajoute 1 ml d'éther chloroforme (1V/1V).

II.1.3.6.. dosage des indicateurs du stress oxydant

II.1.3.6.1 Dosage du glutathion

Le taux du glutathion (GSH) est quantifié selon la méthode de Weckberker & Cory (1988), dont le principe repose sur la mesure colorimétrique de l'acide 2-nitro 5-mercaptopurique, résultant de la réduction de l'acide 5-5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) par les groupements thiol (-SH) du glutathion mesuré à une longueur d'onde de 412 nm. Le dosage s'effectue après homogénéisation des échantillons témoins et traités des deux espèces dans 1 ml d'une solution d'éthylène diamine tétra-acétique (EDTA) à 0,02 M [7,448 g EDTA, 1000 ml eau distillée]. Afin de protéger les groupements thiols du glutathion, l'homogénat doit subir une déprotéinisation par l'acide sulfosalicylique (ASS) à 0,25 % [0,25 g ASS, 100 ml eau distillée] où 0,2 ml du ASS sont additionnés à 0,8 ml d'homogénat. Le mélange après agitation est plongé dans un bain de glace pendant 15 mn, puis centrifugé à 1000 trs/mn pendant 5 mn. Un aliquote de 500 µl de l'homogénat (séries témoins et traitées) récupéré est ajouté à 1 ml du tampon tris/ EDTA (0,02 M, pH 9,6) [63,04 g tris, 7,4448 g EDTA, 1000 ml eau distillée] et 0,025 ml de DTNB (0,01 M) [3,96 g DTNB, 1000 ml méthanol absolu]. L'essai est conduit avec 3 répétitions comportant chacune 20 individus avec une série témoin. La lecture des absorbances s'effectue à une longueur d'onde de 412 nm après 5 minutes de repos pour la stabilisation de la couleur contre un blanc où les 500 µl de surnageant sont remplacés par 500 µl d'eau distillée.

Le taux du glutathion est estimé selon la formule suivante :

$$\text{GSH} = \Delta \text{Do} / 13100 \times \text{Vd} / \text{Vh} \times \text{Vt} / \text{Vs} \quad / \text{mg} \text{ _ de protéines}$$

[GSH] : micromoles de substrat hydrolysé par mg de protéines.

ΔDo : différence de la densité optique obtenue après hydrolyse du substrat.

13100: coefficient d'extinction molaire concernant le groupement thiol (-SH)(mM-1cm-1).

Vd : volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation : 1 ml [0,2 ml ASS + 0,8 ml homogénat].

Chapitre II : Matériel et Méthode

V_h : volume de l'homogénat utilisé dans la déprotéinisation : 0,8 ml.

V_t : volume total dans la cuve : 1,525 ml [0,5 ml surnageant + 1 ml tris / EDTA + 0,025 ml DTNB].

V_s : volume du surnageant dans la cuve : 0,5 ml.

mg de protéines : quantité de protéines exprimée en mg.

II.1.3.6.2. Dosage du malondialdéhyde MDA

Le taux de malondialdéhyde (MDA) est quantifié selon la méthode de Draper et Hadley [Draper H.H]. Le dosage du malondialdéhyde utilise le test à l'acide thiobarbiturique (TBA).

Cette mesure est basée sur les propriétés de certains composés comme le malondialdéhyde, de réagir avec le TBA pour régénérer un produit coloré qui absorbe la lumière à une longueur d'onde de 532 nm.

Les hépatopancréas témoins et traités de *Helix aspersa* sont prélevés à différentes périodes (3 j, 7 j, 15j) sont broyés à l'aide d'un microciseau dans un 1 ml de tampon tris-Hcl (50mM, Ph 7,5) [1,5137 g tris + 0,0730 g EDTA + 42,78 g sucrose + 250 ml d'eau distillé]. Une fois l'homogénéisation réalisée, une centrifugation est effectuée pendant 10 mn à 10000 tours/mn et le surnageant récupéré servira au dosage du MDA.

Le dosage est réalisé avec 500 µl du surnageant additionné de 2,5 ml de TCA [100 g TCA, 1000 ml d'eau distillée]. Les tubes sont mis pendant 15 mn au bain marie à 100°C. Après refroidissement dans la glace, une centrifugation est effectuée à 10000 trs/mn pendant 10 mn. Une fraction aliquotée de 2 ml du surnageant est alors prélevée à laquelle on ajoute 1 ml de TBA [6,7 g TBA, 1000 ml eau distillée]. Après un second chauffage (100°C, 15 mn) puis refroidit-on ajoute 1,5 ml de butanol. Après agitation une dernière centrifugation (10000 trs/mn, 10 mn) est réalisée et le surnageant constitué de 1 ml de butanol renfermant les complexes TBA/MDA est récupéré et une lecture des absorbances est effectuée à 532 nm contre un blanc ou du tampon tris-Hcl remplace le surnageant.

Le taux du MDA est déterminé selon la formule suivante :

$$\text{MDA} = \text{Do} / 156 \times \text{Vt} / \text{Vs} \times \text{Vt} / \text{Vs} \quad / \text{mg} \text{ _ de protéines}$$

[MDA] : micromole de substrat hydrolysé par mg de protéines (µM/mg de protéines)

Do : la densité optique obtenue après hydrolyse du substrat

156 : coefficient d'extinction molaire du TBA

V_t : volume total dans la cuve : 1 ml [volume total du butanol récupéré renfermant les

complexes TBA/MDA]

V_s : volume du surnageant utilisé dans le dosage : 0,5 ml

mg de protéines : quantité de protéines exprimée en mg

II.2.3.7. Analyse statistique

Dans notre étude, pour mieux visualiser les résultats obtenus, la représentation graphique choisie est celle des histogrammes en utilisant Microsoft Excel 2007. Du logiciel Minitab pour l'analyse statistique et du traitement des données version 13.31.

Chaque paramètre mesuré a fait l'objet d'une analyse de variance avec $\alpha \leq 0.05$ (TEST T). Les données sont représentées par la moyenne plus ou moins l'écart-type ($m \pm s$).

Une analyse de la variance à deux critères de classification (concentration, temps) a été effectuée utilisant le test ANOVA

Chapitre III :

Résultats

III. Résultats

III.1 Effet de l'acetamipride sur le poids de l'hépatopancréas d'*Helix aspersa*

La figure 13 montre une augmentation non significative du poids des hépatopancréas après 3 ; 7 et 15 jours de traitement à la dose de 20 mg/L et à la dose de 40mg/l par rapport aux témoins.

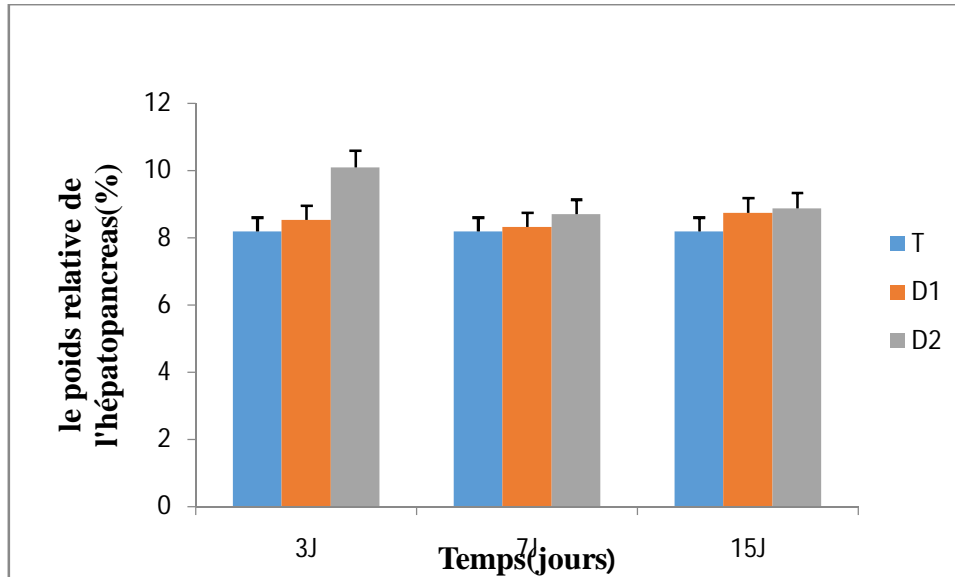


Figure 13. Effet de l'acetamipride sur le poids de l'hépatopancréas chez *Helix aspersa* en fonction du temps ($m \pm s$, n 5) (* Différence significative comparant au témoin ($P \leq 0,05$), P : Seuil de signification)

III.2. Effets de l'acetamipride sur la composition biochimique de l'hépatopancréas d'*Helix aspersa*

III.2.1. Effets sur le taux des métabolites

III.2.1.1. Effets sur le taux des protéines totales

Les effets de l'acetamipride (20, 40mg/l) sur le contenu en protéines totales sont présentés dans la figure 14. Elle montre que la teneur en protéines augmente de façon significative ($P \leq 0,05$)

La comparaison des moyennes des teneurs en protéines entre les escargots témoins et les escargots traités durant 3 j, 7 j et 15 j révèle l'existence d'une différence significative ($P \leq 0,05$) après 3, 7 et 15 j à la dose 1, à la dose 2 l'augmentation des teneurs en protéines est significative après 3 et 7 J et hautement significative ($P \leq 0,001$) après 15 j.

Les résultats d'analyse de la variance à deux critères (ANOVA) révèlent un effet dose ($P \leq 0,001$)

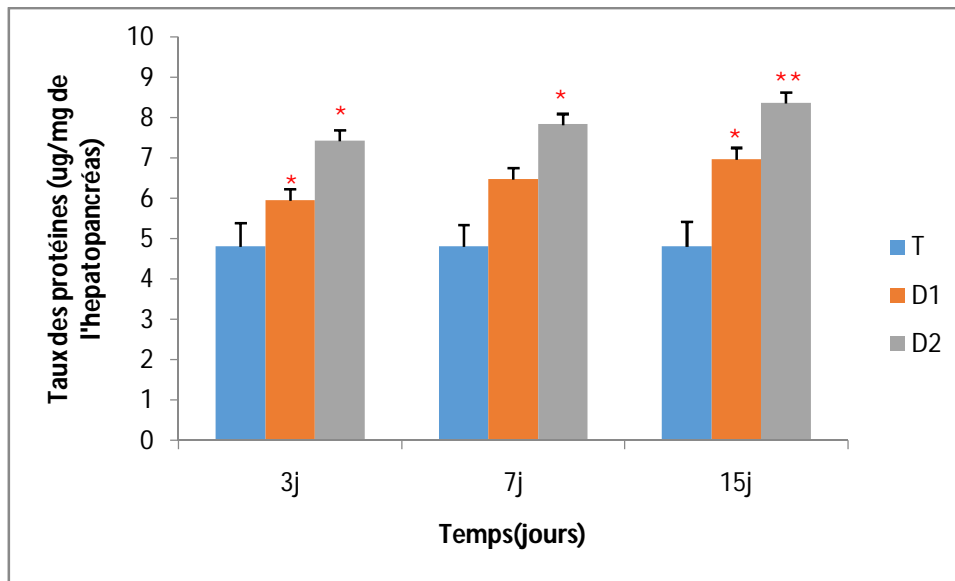


Figure 14. Effet sur le taux des protéines totales chez *Helix aspersaen* fonction du temps ($m \pm s$, n 5) (* Différence significative comparant au témoin ($P \leq 0,05$), ** Différence hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0,01$), comparant au témoin ($P \leq 0,001$), P : Seuil de signification).

III.1.1.2. Effets sur le taux des lipides

Les résultats portés par la figure 15 révèlent que le traitement des escargots par l'acetamipride induit une diminution des lipides hépatopancréatiques.

Nous remarquons une diminution hautement significative de lipide après 7 et 15 j du traitement par rapport aux témoins à la dose de 20 mg/l. La comparaison des moyennes des teneurs en lipides entre les escargots témoins et les escargots traités révèle l'existence d'une différence hautement significative ($P \leq 0,01$) et très hautement significative ($P \leq 0,001$) respectivement après 3 j, 7 j et après 15 j à la forte dose.

Les résultats d'analyse de la variance à deux critères (ANOVA) révèlent un effet temps ($P \leq 0,05$) et un effet dose ($P \leq 0,001$)

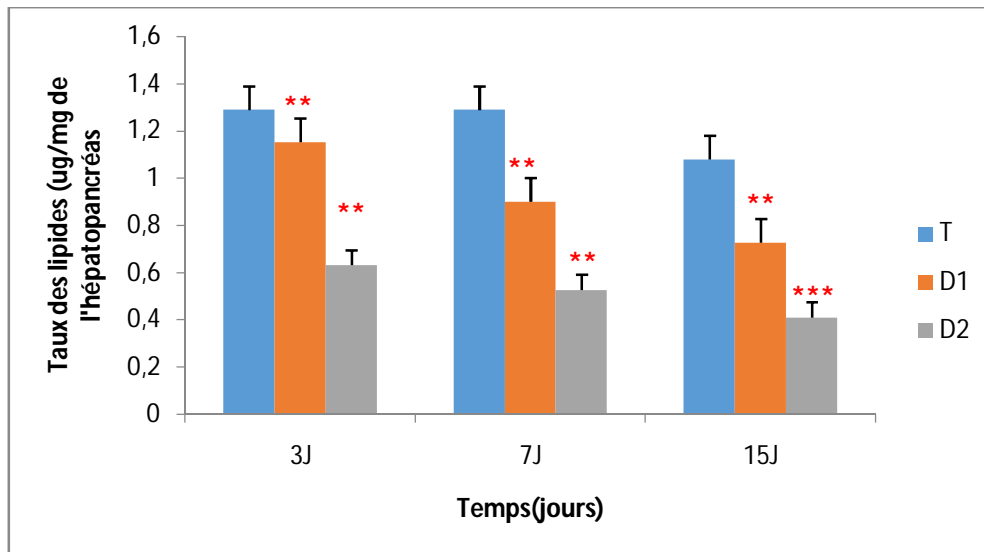


Figure 15. Effet d'acétamipride sur le taux des lipides totaux chez *Helix aspersaen* Fonction du temps ($m \pm s$, n 5) (** Différence hautement significative($P \leq 0,001$) Différence*** très hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0,001$), P : Seuil de signification).

III.3. Effets sur le taux des biomarqueurs du stress oxydant

III.3.1. Effet d'acétamipride sur le taux de glutathion (GSH)

Les résultats portés par la figure 16 révèlent que le traitement des escargots par l'acétamipride induit une diminution de GSH hépatopancréatique.

Nous remarquons une diminution non significative et très hautement significative ($P \leq 0,001$) respectivement après 3 j du traitement par rapport aux témoins à la dose de 20 mg/l

diminution hautement significative ($P \leq 0,01$) des teneurs en GSH après 7 et 15 j de traitement par les deux doses : 20 mg/g et 40 mg/l

Les résultats d'analyse de la variance à deux critères (ANOVA) révèlent un effet temps ($P \leq 0,05$) et un effet dose ($P \leq 0,001$)

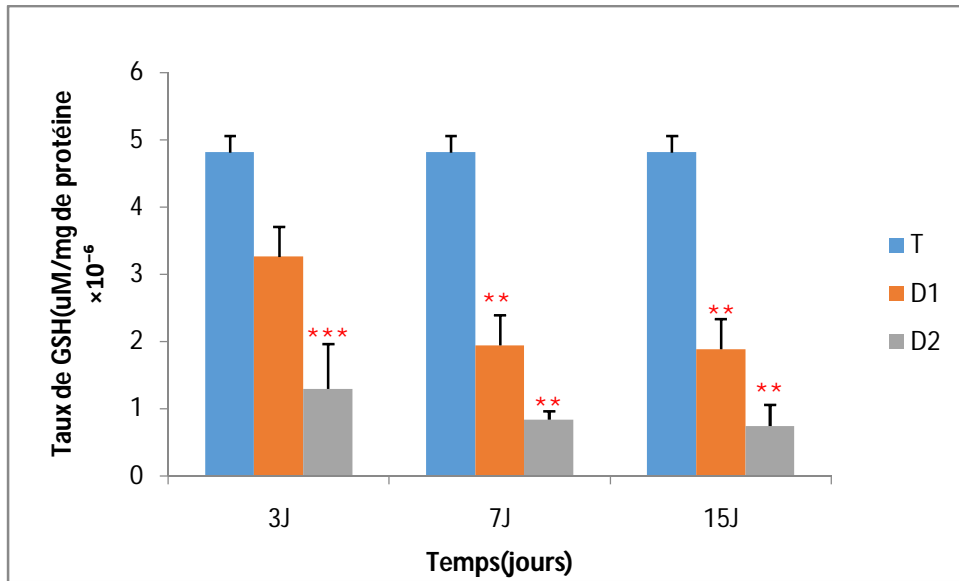


Figure 16. Effet du sur le taux des GSH totales chez *Helix aspersa* en fonction du temps ($m \pm s$, n 5) (* Différence significative **hautement significative *** différence très hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0,05$), P : Seuil de signification)

III.3.2. Effet de l'acetamipride sur le taux du malondialdéhyde (MDA)

Les résultats obtenus montrent qu'il n'existe pas de différence significative ($p > 0,05$) chez les escargots traités par les deux doses d'acetamipride au différent temps (3, 7 jours) et une différence significative chez les escargots traités par la faible dose après 15j (Figure 15).

Les résultats de l'analyse de la variance à deux critères (ANOVA) révèlent un effet temps ($P \leq 0,05$) et un effet dose ($P \leq 0,05$).

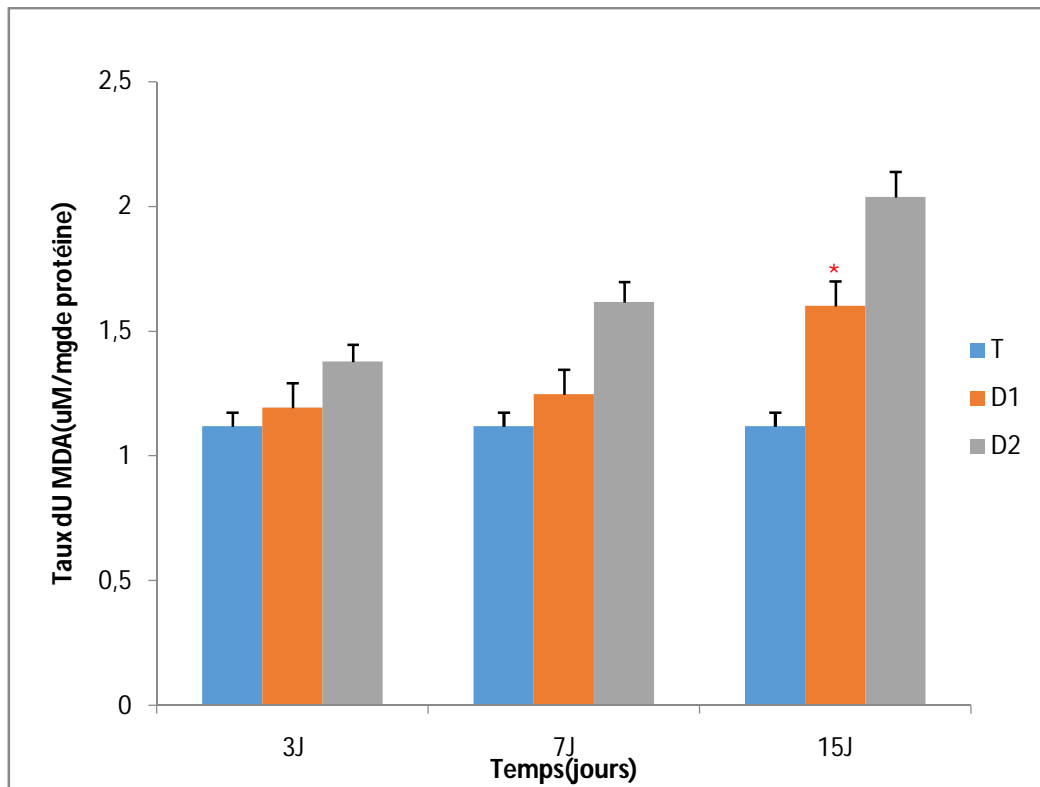


Figure 15. Effet d'acetamipride sur le taux de MDA chez *Helix aspersa* en fonction du temps ($m \pm s$, n 5) (* Différence significative comparant au témoin ($P \leq 0,05$), P : Seuil de signification)

Chapitre IV :
Discussion

IV. Discussion

Les activités enzymatiques et les réserves d'énergie ont été explorées comme marqueurs biochimiques potentiels pour une variété d'organismes différents parce que ces paramètres sont très sensibles, moins variables et conservés entre les espèces et souvent plus faciles à mesurer que le stress indices (**Agrahari et al., 2007**).

Le stress oxydatif est l'un des principaux mécanismes de toxicité associés à une panoplie de xénobiotiques dans l'environnement, parmi lesquels, on retrouve les pesticides et les produits phytosanitaires (**Lauvverys et al., 2007 ; Lukaszewicz, 2008 ; Michael et al., 2016**). Des quantités importantes de pesticides sont rejetées dans l'environnement, induisant ainsi une contamination chronique d'un nombre croissant d'écosystèmes (**Sarkar et al., 2006**). Cette contamination altère les organismes vivants à tous les niveaux d'organisation. De ce fait, l'utilisation d'organismes bio indicateurs pour la bio surveillance éco toxicologique s'impose grâce à des bio marqueurs qui rendent compte des niveaux de pollution auxquels sont soumis ces organismes. L'exposition aux pesticides peut produire des perturbations biochimiques, histologiques ou morphologiques, se traduisant par des altérations spécifiques d'un organe, d'un processus biochimique ou biologique (cancer et mutagenicité). Ces effets varient selon l'intensité, la voie, la fréquence et la durée de l'exposition mais aussi en fonction de l'espèce, du sexe, de l'âge et de l'état de santé des populations exposées. Ils peuvent être réversibles ou irréversibles, immédiats ou différés (**Maran et al., 2010**).

IV. 1. Effets du l'acetamipride sur l'hépatopancréas d'*Helix aspersa*

L'hépatopancréas, site important du métabolisme, de l'accumulation, de la biotransformation, et de l'excrétion de nombreux xénobiotiques, fait partie des organes les plus étudiés (**Odendaal et Reinecke, 2003; Hamed et al., 2007; Radwan et al., 2008; Zaldibar et al., 2008**

Les insecticides pénètrent dans le corps de l'escargots par diverses voies et franchissent plusieurs barrières avant d'atteindre l'hépatopancréas, organe de détoxification des xénobiotiques (**Tribskorn et Künast, 1990; Hamed et al., 2007; Frias-Espéricueta et al., 2008**).

IV.2. Effets d'acetamipride sur le poids de l'hépatopancréas d'*Helix aspersa*

Certains organes du corps contiennent des enzymes chargées de catalyser une série de réactions permettant de détoxiquer l'organisme des composés nocifs présents. La biotransformation de toute molécule xénobiotique à caractère hydrophobe met en jeu des mécanismes permettant d'augmenter son hydrosolubilité afin de faciliter son excrétion. Ce processus se déroule principalement au niveau de la glande digestive (hépatopancréas) chez les mollusques (**Michel X., 1993**).

Nos résultats montre une augmentation non significative remarquable du poids de l'hépatopancréas des escargots *Helix aspersa* traités, qui pourrait être due à l'accumulation d'acetamipride et leur métabolites au niveau des hépatocytes en vue d'une détoxification ou d'un effet d'induction enzymatique (**Wayland J. and Edward R., 1991**). Notre résultat est similaire aux résultats chez les lapins traités par les doses (2, 3, 5 et 8 mg/kg/j) d'un insecticide carbamate (**Mallem L., Keck G., Franck M. and Boulakoud M., 2007**).

IV.3. Effets de l'acetamipride sur le taux biochimique de l'hépatopancréas d'*Helix aspersa*

IV.3.1. Effets sur le taux des protéines totaux

Les protéines sont essentielles dans la construction et la réparation des tissus. Sous contrainte conditions, les protéines peuvent fournir de l'énergie grâce au catabolisme. L'augmentation significative du taux des protéines d'une manière dose dépendante à l'acetamipride peuvent s'expliquer par la synthèse des enzymes et peptides de défense contre le déséquilibre homéostatique du stress oxydatif (**Anadn et al., 1991 ; Benbouzib, 2012 ; Rouabhi et al., 2015**). Nos résultats sont conformes aux travaux réalisés sur des rats mâles *Rattus rattus* de la souche *Wistar* traités par un insecticide néonicotinoïde l'acetamipride . . (**Cory-Slechta DA. et al.,2005 et Banerjee BD. et al.,2001**)

La fluctuation du niveau de protéines totales pourrait résulter de déséquilibre entre le taux de synthèse et le taux de dégradation. De plus, pendant le stress, les animaux synthétisent soi-disant les protéines de stress. Ainsi, l'augmentation observée du niveau de protéines pourrait être expliqué par une augmentation de la synthèse protéique des escargots en réponse à un tel stimulus (**M.A. Radwan et M.S. Mohamed, 2013**). Nos résultats sont en bon accord avec ceux rapportés par **M.A. Radwan et M.S. Mohamed. (2013)** qui ont trouvé que les escargots terrestres, *Helix aspersa* présentaient une augmentation significative de la protéine totale après une exposition d'une 1, 3 et 7journées à 0,2 DL50 d'imidaclopride. D'autres études ont aussi montré une augmentation significative de la protéine totale après une exposition d'une semaine à un sol pollué par l'imidaclopride chez les vers de terre. Une

augmentation de la teneur totale en protéines a également été détecté chez des juvéniles de *P. scaber*, après deux semaines d'exposition à 5 mg d'imidaclopride / g de nourriture sèche (Drobne et al., 2008).

IV.3.2. Effets sur le taux des lipides totaux.

Les lipides jouent des rôles extrêmement importants dans la fonction normale d'une cellule (M.A. Radwan et M.S. Mohamed, 2013). La diminution dose-dépendante du taux des lipides après exposition de *Helix aspersa* à l'acetamipride peut être due au stress chimique causé par le composé testé. En effet, des résultats rapportés que l'effet nocif des composés chimiques pourrait être attribué à l'augmentation de la formation de malondialdéhyde (MDA) le résultat de l'activation de la peroxydation lipidique (dégradation des acides gras polyinsaturés) par les radicaux libres (Dixit et al., 2001 ; Alpha Jalloh et al., 2009). Ou peut être dû à une synthèse réduite de lipides ou à activité de la lipase impliquée dans l'oxydation des lipides. Également la diminution des lipides totaux peut être due à une déplétion du glycogène dans le même tissu, moyennant quoi la teneur en lipides peut être utilisée pour la production d'énergie. Nos résultats en concorde avec les résultats obtenus chez *Helix. aspersa* exposés à des doses sublétales (0,2 - 0,6 DL50) d'imidaclopride après 1, 3 et 7 jours d'exposition, respectivement (M.A. Radwan et M.S. Mohamed, 2013)

IV.4. Effets sur le taux des biomarqueurs du stress oxydant

IV.4.1. Effets sur le taux de GSH

L'une des réactions majeures de la détoxification assurant la protection de l'organisme vivant dans un milieu pollué est la conjugaison avec le groupement thiol (-SH) du glutathion. Le GSH est un tripeptide bien connu pour être un élément de la première ligne de défense contre le stress oxydant et considéré dès lors un composé essentiel qui maintient l'intégrité cellulaire grâce à sa propriété réductrice et sa participation active dans le métabolisme cellulaire (Sauer, 2014 ; Aoun et Tiranti, 2016). Il est considéré comme un important antioxydant qui assure la protection des membranes cellulaires contre les dommages provoqués par les radicaux libres (Sies & Akerboom, 1984 ; Martinez-Alvarez et al., 2005 ; Lam, 2009). Il existe sous deux formes : une forme oxydée (GSSG) et une forme réduite (GSH) (Anders et al., 1988). Certains des rôles importants de glutathion sont la réduction ou l'inactivation des ROS par la formation de glutathion disulfure (GSSG) et la conjugaison du glutathion réduit (GSH) pour l'élimination des xénobiotiques (Di-Monte et Lavasani, 2002 ; Arora et al., 2016 ; Rjeibi, 2016). Donc il joue un rôle important dans le maintien de l'état

réduit de la cellule. Cette fonction thiol peut aussi interagir avec des molécules électrophiles et intervient dans les mécanismes de détoxification des cellules vis-à-vis de nombreux contaminants (Adam et al., 2005).

En accord avec nos résultats, la diminution du taux de GSH a été également observée dans l'hépatopancréas de deux adultes d'*H. aspersa* et d'*H. asperata* et leur juvéniles traités par le thiaméthoxam à des concentrations (200 et 400 mg/L) après 96 heures d'exposition (Louiza DOUAFER., 2015).

IV.4.2.Effets sur le taux de MDA

Le MDA est le principal composé provenant de la formation de divers aldéhydes toxiques pour l'organisme suite à la dégradation oxydative des acides gras polyinsaturés des membranes cellulaires. (ZIELINSKI & PÖRTNER, 2000).

Le MDA est considéré comme un biomarqueur de stress oxydatif en général, et de peroxydation lipidique en particulier (Grara et al., 2012). Il est un oxydant majeur produit d'acide gras polyinsaturé peroxydé (Zhang et al., 2004). Le MDA est le résultat de l'attaque des lipides polyinsaturés par des ERO dans certaines conditions de stress, en particulier avec des contaminants organiques (HAPs, PCBs, pesticides) et inorganiques (métaux). Beaucoup de travaux ont indiqué que le niveau de peroxydation des lipides est un paramètre important évaluant le niveau de l'effort oxydant dans les organismes vivants. Dans plusieurs travaux, le MDA a été utilisé comme un biomarqueur de la peroxydation lipidique : chez l'escargot (Grara et al., 2012). Toutefois, la lipoperoxydation présente aussi une variation en fonction de l'espèce, de l'âge, de la saison, des conditions abiotiques et du tissu étudié (KappusH., 1987 ; Viarengo et al., 1990).

Le taux du MDA a été évalué à 3, 7 et 15j chez des escargots *Helix aspersa* témoins et traités. Les résultats obtenus montre une augmentation significative après traitement par deux concentrations d'acetamipride et cela comparativement aux témoins. En accord avec nos résultats, une augmentation du taux du MDA a été signalée dans les tissus des poissons *Cyprinus carpio* L traités par deux doses létales (50 et 100 ng/L) de carbofuran (Ensibil et al, 2010). Une exposition aux métaux lourds induit une peroxydation lipidique, cette observation est signalée chez la moule *M galloprovincialis* exposée au cuivre, cadmium et au mercure (Viarengo et al., 1990), et chez *Donax trunculus* (Sifi, 2009).

Conclusion

Conclusion

Conclusion

De nos jours, nous vivons dans un monde de plus en plus pollué, et le nombre des maladies est en pleine expansion. En cause, les produits chimiques, notamment les pesticides et les plastifiants. Ces substances toxiques ne touchent pas les êtres humains mais aussi tous les organismes vivants, l'escargot terrestre *Helix aspersa* (Mollusques gastéropodes pulmonés terrestres) est parmi les animaux utilisables comme bioindicateurs pour révéler et évaluer la contamination de l'écosystème.

Le travail réalisé, nous a permis d'étudier chez un espèce d'escargot *Helix aspersa* l'effet d'un insecticide néonicotinoïde, l'acetamipride, sur le poids de l'hépatopancréas, la composition biochimique des escargots (protéines, lipides) et les variations de deux biomarqueurs: le glutathion (GSH) et le malondialdéhyde (MDA) au niveau de l'hépatopancréas.

Les résultats obtenus, ont montré que l'exposition de *Helix aspersa* à deux doses d'acetamipride (20mg/g ,40mg) aux différents temps testés (3, 7 et 15 jours) entraîne l'apparition d'un stress oxydatif qui se manifeste par:

- Une augmentation du taux de l' MDA ;
- Une diminution des taux de GSH chez les séries traitées comparativement aux témoins ;
- De plus, l'étude de la composition biochimique (protéines et lipides) révèle une augmentation significative du taux de protéines totales avec une diminution significative du taux de lipides.

Ce travail mériterait d'être approfondi par des nouvelles voies d'approche (enzymologie, embryologie, génétique...) qui pourrait peut être élucidé d'autres problèmes.

References bibliographique

A

- Adam V., Petrlovà J., Potesil D., Lubal P., Zehnàlek J., Sures B and Kizek R., 2005. New electrochemical biosensor to determine platinum cytostatic to DNA structure. *Chemistry Listy*. 99: 353-393.
- Agrahari, S., Pandey, K.C., Gopal, K., 2007. Biochemical alteration induced by monocrotophos in the blood plasma of fish, *Channa punctatus* (Bloch). *Pestic. Biochem. Physiol.* 88, 268–272
- Alpha Jalloh, M., Chen, J., Zhen, F. and Zhang, G., 2009. Effect of different N fertilizer forms on antioxidant capacity and grain yield of rice growing under Cd stress. *Journal of Hazardous Materials*, 162, 1081–1085
- Ambrose, Margery, Characterization of the insecticidal properties of acetamiprid under field and laboratory conditions. (Dr. J.R. Bradley, Jr. and Dr. J.)
- Amin AM, Hemingway J. 1989. Preliminary investigation of the mechanisms of DDT and pyrethroid resistance in *Culex quinquefasciatus* say (Diptera : culicidae) From Saudi Arabia. *Bull. Entomol. Res.* 79 : 361-66.
- Anadn A, Martinez L, Diaz M, Bringas P, Fernandez M (1991) Effect of deltamethrin on antipyrine pharmacokinetics and metabolism in rat. *Arch Toxicol* 65: 156-159
- Aoun M, Tiranti V (2016) Mitochondria: A crossroads for lipid metabolism defect in neurodegeneration with brain iron accumulation diseases. *Inter Journal Bioch & Cell Bio* 01-018

B

- Barker G.M., 2004. Natural enemies of terrestrial mollusks. Wallingford, UK, CABI Publishing, p. 644.
- Bailey S.E.R., 1981. Circannual and circadian rhythms in the snail *Helix aspersa* Müller and the photoperiodic control of annual activity and reproduction. *Jorn. Comp. Physiol*, 142, 89-94.
- Banerjee BD, Seth V, Ahmed RS. Pesticide-induced oxidative stress: perspectives and trends. *Rev Environ Health*. 2001;16:1-40
- Bang Y.H., Tonn R.J, Runurai P., 1969, Insecticide Susceptibility and resistance found in 14 strains of *Aedes Aegypti* collected from Bangkok-Thonburi, Thailand. *WHO/Vector Biol.Control/69* : 117.
- Barker G.M., 2004. Natural enemies of terrestrial mollusks. Wallingford, UK, CABI Publishing, p. 644.

Références bibliographique

- Beaumont A., Cassier P., 1998. Travaux pratiques de biologie animale. Zoologie Embryologie Histologie, Dunod, Paris. 502p.
- Belmonte V., A. Garrido F., Marting V.J.L. 2005. Monitoring of pesticides in agricultural water and soil samples from Andalusia by liquid chromatography coupled to mass spectrometry, *analytica chimica, ACTA*, Vol 538: 117-127.p
- BENZIANE A.D., 2014. Effet d'un régime enrichi en chlorpyrifos chez le rat wistar: étude de l'activité enzymatique des cholinestérasés comme indicateur biologique. Thèse de master, université Telemansane. 51p.
- Blanchoud H., Garban B., Ollivon D., Chevreuil M., 2002. Herbicides and nitrogen in precipitation : progression from west to east and contribution to the Marne river (France). *Chemosphere*. 47(9): 1025-1031.
- BLANCHOUD H., GARBAN B., Ollivon d., Chevreuil M., 2002. Herbicides and nitrogen in precipitation : progression from west to east and contribution to the Marne river (France). *Chemosphere*. 47(9): 1025-1031.
- Bonmatin, J.-M., Giorio, C., Girolami, V. et al. (2015) Environmental fate and exposure; neonicotinoids and fipronil. *Environmental Science and Pollution Research*. Vol. 22, n° 1, pp. 35-67. DOI 10.1007/s11356-014-3332-7.
- Bourbia Aithamlet smina 2012 2013 Évaluation de la toxicité de mélanges de pesticides sur un bioindicateur de la pollution des sols *Helix aspersa*
- Bourbia S. 2013. Évaluation de la toxicité de mélanges de pesticides sur un bioindicateur de la pollution des sols *Helix aspersa*. Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar. Annaba. 58 pages
- Bouvier G., Blanchard O., Momas I., SETA N., 2006. Environmental and biological monitoring of exposure to organophosphorus pesticides: application to occupationally and non- occupationally exposed adult populations. *Journal of Exposure Science & Environmental Epidemiology*. 16(5): 417-426.
- BOUZIANI M., 2007. L'usage immodéré des pesticides. de graves conséquences sanitaires. Le guide de médecin et de la santé. Santémaghreb. (Consulte, 11/12/2011).
- Brown AWA, Insecticide resistance in mosquitoes: a pragmatic review; *Journal of the American Mosquito Control Association*, 1986 P.

C

- Cai J, Liu B, Zhu X et Su Q (2002). Determination of pyrethroid residues in tobacco and cigarette smoke by capillary gas chromatography. *J. chromatogr A* 964 (1-2) : 205-11.
- Cairns et Shermaj.1996. Emerging strategies for pesticides analysis. CRC press, Boca Raton. Florida-USA. Vol 754: 125-135.
- Chaignon, V., Sanchez-neira, I, Herrmann, P., Jaillard, B., and Hinsinger, P., 2003. Copper bioavailability and extractability as related to chemical properties of contaminated soils from a vine-growing area. *Environ Pollut.* 123(2); 229-238.
- Chevalier L., Desbuquois C., Le Lannic J., Charrier M., 2001. Poaceae in the natural diet of the snail *Helix aspersa* Müller (Gastropoda, Pulmonata). *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences - Series III - Sciences de la Vie.* 324(11): 979-987.
- Clavet r., Barriusoe., Bedos C., Benoit P., Charnay m.-P., Coquet Y., 2005. Les pesticides dans le sol consequences agronomiques et environnementales. France Agricole, Paris. 625 p.
- Coeurdassier M., Saint-Denis M., Gomot de Vaufleury A., Ribera D. and Badot P.M., 2001. The garden snail (*Helix aspersa*) as a bioindicator of organophosphorus exposure: Effects of dimethoate on survival, growth, and acetylcholinesterase activity. *Environmental Toxicology and Chemistry.* 20 (9): 1951-1957.
- Coeurdassier, M., Gomot-De Vaufleury, A., Saint-Denis, M., Ribera, D., Narbonne, J.F., Badot, P.-M., 2002b. Effects of dimethoate on snail B-esterase and growth as a function of dose, time and exposure route in a laboratory bioassay. *Biomark. Biochem. Indic. Expo. Response Susceptibility Chem.* 7, 138–150.
- Cornejo Juan, Jamet Paul et Coord, pesticide/ soil interactions. Some cuurent research methods, institus national de la recherche agronomique, Paris, Cedex 07, 2007
- Cornejo Juan, Jamet Paul et Coord, pesticide/ soil interactions. Some cuurent research methods, institus national de la recherche agronomique, Paris, Cedex 07, 2007
- Cory-Slechta DA, Thiruchelvam M, Richfield EK, et al. Developmental pesticide exposures and the Parkinson's disease phenotype. *Birth Defects Res Clin Mol Teratol.* 2005;73:136-9.

D

- Dallinger R., Berger B., Triebkorn-Köhler R., Köhler H., 2001. Soil biology and ecotoxicology. *The biology of terrestrial molluscs*. Barker G.M. Oxon, CABI: 489-525.
- Dalling R. & Wieser W., 1984. Patterns of accumulation, distribution and liberation of Zn, Cu, Cd and Pb in different organs of the land snail *Helix pomatia* L. *Comparative biochemistry and physiology*, 79: 117-124.
- Daumer M.L, Beline F, Guiziou F, Sperandio M. Influence of pH and Biological Metabolism on Dissolved Phosphorus during Biological Treatment of Piggery Wastewater. *Biosystems Engineering.*, 96:3 (2007) 379–386.
- disease. *Neurotoxicology* 23: 487-502 Di Monte D and Lavasani M (2002) Manning-Bog Ab. Environmental factors in Parkinson
- **Djeffal A., 2014.** Evaluation de la toxicité d'un insecticide carbamate « méthomyl » chez le rat Wistar : Stress oxydant et exploration des effets protecteurs de la supplémentation en sélénium et/ou en vitamine C. Thèse de Doctorat. Université Badji Mokhtar-Annaba. p132.

• E

- Ensibil, C., Hernández Moreno, C., Soler Rodríguez, D., Migue/ Santiyán, F., Daly Yahya, P., & Pérez-López, M.N. (2010). Modulatory effects of carbofuran on antioxidant defense mechanisms and lipid peroxidation in *Cyprinus carpio* liver. Congrès Franco-Maghrébin de Zoologie et 4^{èmes} Journées Franco-Tunisiennes de Zoologie.
- extraits du journal Officiel 230 du 19.08.1991

F

- Fanny Louat. Etude des effets liés à l'exposition aux insecticides chez un insecte modèle, *Drosophila melanogaster*. Sciences agricoles. Université d'Orléans, 2013. Français [〈NNT : 2013ORLE2062〉](#) jeudi 28 août 2014 - 10:33:32
- Faurie c., ERRA C., Médorie p., Devane j., Remptime J.L. 2003. *Ecologie, Scientifique*. 5^{ème} Forbes V.E., Forbes T.L., 1994. *Ecotoxicology in Theory and Practice*. Chapman & Hall, London. 242 p. édition LAVOISIER. 823P.

Références bibliographique

- Fossen, M. (2006) *Environmental fate of imidacloprid* [en ligne]. Environmental monitoring department of pesticide regulation. Disponible sur : <http://www.cdpr.ca.gov/docs/emon/pubs/fatememo/Imidclprdfate2.pdf> [Consulté le 15 juin 2016].
- Fournier j., 1988. Chimie des pesticides. technique et documentation-lavoisier. Paris. 344p
- Fränzle O., 2006. Complex bioindication and environmental stress assessment. *Ecological Indicators*. 6(1): 114-136.
- Fritsch, C., Coeurdassier, M., Gimbert, F., Crini, N., Scheifler, R., de Vaufleury, A., 2011. Investigations of responses to metal pollution in land snail populations (*Cantareus aspersus* and *Cepaea nemoralis*) from a smelter-impacted area. *Ecotoxicol. Lond. Engl.* 20, 739–759.

G

- Gerecke A.C., Scharer M., Singer H. P., Muller S.R., Schwarzenbach R.P., Sagesser M., Ochsenbein U., Popow G., 2002. Sources of pesticides in surface waters in Switzerland: pesticide load through waste water treatment plants-current situation and reduction potential. *Chemosphere*. 48(3): 307-315.
- Gervais, j. a., Luukinen, b., Buhl, k. (2010) Imidacloprid technical fact sheet. National Pesticide Information Center, Oregon State University.
- Gimbert, F., de Vaufleury, A., Douay, F., Coeurdassier, M., Scheifler, R., Badot, P.-M., 2008. Longterm responses of snails exposed to cadmium-contaminated soils in a partial life-cycle experiment. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 70, 138–146.
- Gimbert, F., de Vaufleury, A., Douay, F., Scheifler, R., Coeurdassier, M., Badot, P.-M., 2006. Modelling chronic exposure to contaminated soil: A toxicokinetic approach with the terrestrial snail *Helix aspersa*. *Environ. Int.* 32, 866–875.
- Gomot A., Gomot L., Boukraa S., Bruckert S., 1989. Influence of soil on the growth of the land snail *Helix aspersa* - an experimental study of the absorption route for the stimulating factors. *Journal of Molluscan Studies*. 55: 1-7.
- Gomot A., 1997a. Dose-dependent effects of cadmium on the growth of snails in toxicity bioassays. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 33:

Références bibliographique

209-216.

- Gomot-De Vaufleury, A., Pihan, F., 2000. Standardized growth toxicity testing (Cu, Zn, Pb, and pentachlorophenol) with *Helix aspersa*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 46, 41–50.
- **Grara N., Boucenna M., Atailia A., Berrebbah H. and Djebar M.R., 2012.** Stress oxydatif des poussières métalliques du complexe sidérurgique d'Annaba (Nord-Est algérien) chez l'escargot *Helix aspersa*. *Environnement, Risques & Santé.* 11(3): 221-229.
- Guelorget O. and Perthuisot J.P., 1984. Indicateurs biologiques et diagnose écologique dans le domaine paralytique. *Bulletin d'Ecologie*, 15(1), 67-76.
- **Guler G.O., Cakmak Y.S., Dagli Z., Aktumsek A., Ozparlak H., 2010.** Organochlorine pesticide residues in wheat from Konya region, Turkey. *Food and Chemical Toxicology.* 48: 1218-1221.

•

H

- Hispard, F., de Vaufleury, A., Martin, H., Devaux, S., Cosson, R.P., Scheifler, R., Richert, L., Berthelot, A., Badot, P.-M., 2008b. Effects of subchronic digestive exposure to organic or inorganic cadmium on biomarkers in rat tissues. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 70, 490–498.

I

- INERIS, 2005. Détermination des pesticides à surveiller dans le compartiment aérien : approche par hiérarchisation. *Institut national de l'environnement industriel et des risques*. Ismail, I.K, Kalithasan, K., 2003, Dissipation and mobility of permethrin in the field with repeated applications under tropical conditions. *J. Environ. Sci. Health B.* 38, 133-146.
- IPPOLITO A., CAROLLI M., VAROLO E., VILLA S., VIGHI M., 2012. Evaluating pesticide effects on freshwater invertebrate communities in alpine environment: a model ecosystem experiment. *Ecotoxicology.* 21: 2051-2067.
- IWASA, T., MOTOYAMA, N., AMBROSE, J. T. et al. (2004) Mechanism for the differential toxicity of neonicotinoid insecticides in the honey bee, *Apis mellifera*. *Crop*

Références bibliographique

Protection. Vol. 23, n° 5, pp. 371-378. DOI 10.1016/j.cropro.2003.08.018.

J

- Jeschke P., Nauen R., Schindler M., Elbert A., 2011. Overview of the status and global strategy for neonicotinoids. *Journal of Agric Food Chem*. 59(2): 897-908.

K

- Kappus H., 1987. Oxidative stress in chemical toxicity. *Archives of Toxicology*. 60:144-149.
- Kerney M., Cameron R., Bertrand A., 2006. A field guide to the land snails of Britain and north-west Europe, French ed. Paris, Delachaux et Niestlé SA. 97 p

L

- Laskowski R. & Hopkin S.P., 1996. Effect of Zn, Cu, Pb, and Cd on Fitness in Snails (*Helix aspersa*). *Ecotoxicology & Environmental Safety*, 34: 59-69.
- Le Guhenec M.F., 1985. Etude de l'influence de la lumière sur la croissance et la reproduction de l'escargot « petits-gris » *Helix aspersa* Müller (Gastéropode, Pulmoné, Stylommatophore). Doctorat de l'Université de Rennes I, 309 p.
- Lauvverys R, Vincent H, Dominique L (2007) Toxicologie industrielle et intoxication professionnelles. Masson 31-288pp
- Lazartigues, A., 2010. Pesticides et polyculture d'étang : de l'épandage sur le bassin versant aux résidus dans la chair de poisson. Thèse de Doctorat .Université de Nancy, France, pp : 191.
- Lecalve, D., 1989. Influence of incubations conditions of eggs on the 1st 6 weeks of the growth of snails *Helix aspersa* Muller (gastropoda, Pulmonata, Stylommatophora). *Bull. Soc. Zool. Fr. Evol. Zool.* 114, 101–110.
- LOPEZ B. C., GOMEZ A.S., REY G.M., CANCHO GB., SIMAL GJ.2005. Détermination of carbonates and organophosphorus pesticides by SDME-GC in natural water, analytical and bioanalytical chemistry. Vol 383. (4): 557-561.
- Lukaszewicz-Hussain A (2008) Subchronic intoxication with chlorfenvinphos, an organophosphate insecticide, affects rat brain antioxidative enzymes and glutathione level. *Food Chem Toxicol* 46(1): 82-96

M

Références bibliographique

- Mallem L., Keck G., Franck M. and Boulakoud M., 2007. Effets du manèbe sur la thyroïde et la fertilité du lapin .Revue Méd. Vét., 158, p 8-9, 452-457 . MENACEUR Nadia 2015
- Mallem L., Keck G., Franck M. and Boulakoud M., 2007. Effets du manèbe sur la thyroïde et la fertilité du lapin .Revue Méd. Vét., 158, p 8-9, 452-457.
- Marcheterre, L., Choudhry, G., And webster, G., 1988. Environmental Photochemistry of Herbicides. *Reviews of Environmental Contaminations and Toxicology*. 103(61-126).
- Martinez-alvarez R.M., Morales A.E. & Sanz A., 2005. Antioxidant defenses in fish: biotic and abiotic factors. *Reviews in Fish biology and Fisheries.*, **15**: 75-88.
- McLoughlin N., Yin D., Maltby L., Wood R.M. & Yu H., 2000. Evaluation of sensitivity and specificity of two crustacean biochemical biomarkers. *Environ. Toxicol. Chem.*, **19**: 2085-2092.
- MENACEUR Nadia 2015 Effet du carbofuran sur quelques paramètres biologiques chez un gastéropode « Helix aspersa
- Michel X., 1993. Contribution à l'étude des interactions entre les contaminants chimiques organiques et les organismes marins : bases moléculaires et applications à la biosurveillance de l'environnement côtier. Thèse de l'Université de Bordeaux I, n° d'ordre993. MENACEUR Nadia 2015
- **Mohajeri S.A., 2011.** Toxic influence of organophosphate, carbamate, and organochlorine pesticides on cellular metabolism of lipids, proteins, and carbohydrates: A systematic review. *Hum Exp Toxicol*. 30(9): 1119-1140.
-

N

- nders M., Lash L., Dekant W., Elfarra A. and Dohn D, 1988. Biosynthesis and biotransformation of glutathione- S- conjugates to toxic metabolites. *Crit. Rev. Toxicol.*; 18:311-341
- Neumann M., Liess M., Schulz R., 2003. A qualitative sampling method for monitoring water quality in temporary channels or point sources and its application to

Références bibliographique

pesticide contamination. *Chemosphere*. 51(6): 509-513.

- Nowakowska A., Laciak T. & Caputa M., 2012. Organ profiles of the antioxidants system and the accumulation of metals in *Helix aspersa* snails. *Pol. Jour. Environ. Stud.*, 21 (5): 1369-1375.

O

- Odendaal et Reinecke, 2003; Hamed et al., 2007; Radwan et al., 2008; Zaldibar et al., 2008 ZIELINSKI, S. & PÖRTNER, H.O. (2000).- Oxidative stress and antioxidative defense in cephalopods: a function of metabolic rate or age? *Comp. Biochem. Physiol.*, 125B, 147-160.
- OMS, AWA Brown & Al. Insecticide resistance in arthropods; 1971 OMS.

influence de la photopériode : orn de sites tunisiens en conditions contrôlées Comptes Rendus de Biologie 80-795 :332 ,

P

- Peter Jeschke, Ralf Nauen, Michael Schindler, Alfred Elbert: *Overview of the Status and Global Strategy for Neonicotinoids*. In: *Journals of Agricultural and Food Chemistry*. Bd. 59, 2011, S. 2897–2908
- PIMENTEL D., 1995. Amount of pesticides reaching target pests: environmental impacts and ethics. In: Clavet R., Barriuso E., Bedos C., Benoit P., Charnay M.P., Cquet Y. (Eds). *Les pesticides dans le sol conséquences agronomiques et environnementales*. France Agricole. Paris. Oktey, M., Culcin, I., Kufrevioglu, O.I. (2003). Determination of in vitro antioxidant activity of fennel (*Foeniculum vulgare*) seed extracts. *Lensmittel-Wissenschaft und- Technologie*, 36, 263-271.
- Prévention des risques pour la santé liés à l'utilisation des pesticides dans l'agriculture, OMS, 2004

R

- Radwan M.A. & Mohamed M.S., 2013. Imidacloprid induced alterations in enzyme activities and energy reserves of the land snail, *Helix aspersa*. *Ecotoxicol. Environm. Saf.*, **95**: 91-97.

Références bibliographique

- Radwan, M.A., Essawy, A.E., Abdelmeguid, N.E., Hamed, S.S., Ahmed, A.E., 2008. Biochemical and histochemical studies on the digestive gland of *Eobania vermiculata* snails treated with carbamate pesticides. *Pestic. Biochem. Physiol* 90, 154–167.
- Régnier C., Fontaine B. & Bouchet P., 2009. Not knowing, not recording, not listing: numerous unnoticed mollusk extinctions. *Conserv. Biol.*, 23: 1214-1221.
- REVITT D., ELLIS J., LEWELLYN N., 2002. Seasonal removal of herbicides in urban runoff. *Urban Water*. 4: 13-19. ROUVILLOIS - BRIGOLE M., S.B Powles, Jam Holtum, Herbicide resistance in plants: biology and biochemistry. ISBN: 0- 87-371-713-9, 353pp. 1994.
- Rouabhi R, Gasmi S, Boussekine S, Kebieche M (2015) Hepatic oxidative stress induced by zinc and opposite effect of selenium in *oryctolagus cuniculus*. *Journal Environ Anal Toxicol* 5: 289-298

S

- Sakata S., Mikami N., Matsuda, T., Myamoto, J., 1986, Degradation and leaching behavior of the pyrethroid insecticide cypermethrin in soils. *J. Pestic. Sci.* 11, 71-79.
- Samira Kilani Morakchi et Nadia Aribi January 2011 Activité d'un biopesticide le spinosad chez *Blattella germanica*, effets sur divers biomarqueurs LDH, GSH et MDA
- Sarkar A., Ray D., Shrivastava A.N. and Sarker S., 2006. Molecular biomarkers: their significance and application in marine pollution monitoring. *Ecotoxicology*, 15, 333-340.
- Sauer E (2014) Liver delta aminolevulinatase activity is inhibited by neonicotinoids and restored by antioxidants agents *Int J Environ Res Public Health* 11(11): 11676-11690
- Sauer E (2014) Liver delta aminolevulinatase activity is inhibited by neonicotinoids and restored by antioxidants agents *Int J Environ Res Public Health* 11(11): 11676-11690
- Scheifler, R., 2002. Evaluation de la biodisponibilité et des transferts de polluants métalliques et organiques dans des réseaux trophiques "sols - plantes - invertébrés". Thèse de l'Université de Franche-Comté, n°916.
- Schiff, K., Bay, S., and Stransky, C., 2002. Characterization of stormwater toxicants from an urban watershed to freshwater and marine organisms. *Urban Water*. 4: 215-227.

Références bibliographique

- SCHULZ, R., 2001. Rainfall-induced sediment and pesticide input from orchards into the Lourens River, Western Cape, South Africa: importance of a single event. *Water Res.* 35(8); 1869-1876.
- SCHULZ, R., 2004. Field studies on exposure, effects, and risk mitigation of aquatic nonpointsource insecticide pollution: a review. *J Environ Qual.* 33(2); 419-448.
- Sheets L P., 2010. Imidacloprid: a neonicotinoid insecticide. In: Hayes handbook of pesticide toxicology. Paris: Elsevier. 20: 55-64.
- Shukla H (2016) Evaluation and physiological correlation of plasma proteomic fingerprints for Deltamethrin induced hepatotoxicity in Wistar rats. *LFS 14866*: 04 025
- Sies H. & Akerboom T.P.M., 1984. Glutathione disulfide (GSSG) efflux, from cells and tissues. *Methods in Enzymology.*, 105: 445-451.
- Siest G, Batt AM. Fournel-Gigleux S, Galteau MM, Wellman-Bednawska M, Minn {Amar Costesec A., (1988) Induction of plasma and tissue enzymes by drugs: significance in toxicological Studies. *Xenobiotica* 18:21-34.
- **Sifi, K.** (2009). Biosurveillance de la qualité des eaux du Golf d'Annaha : croissance, composition biochimique et dosage des biomarqueurs du stress environnementale chez *Donax trunculus* (Mollusque : Bivalve). Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat Université de Annaba., 229 p.
- SIMON-DELISO, N., AMARAL-ROGERS, V., BELZUNCES, L. P. et al. (2015) Systemic insecticides (neonicotinoids and fipronil) : trends, uses, mode of action and metabolites. *Environmental Science and Pollution Research*. Vol. 22, n° 1, pp. 5-34. DOI 10.1007/s11356-014-3470-y.
- Seifert J (2005) Neonicotinoids. In: WexlerP,editor.Encyclopedia of toxicology .E LSEVIER-200

T

- Testud F., 2014. Insecticides néonicotinoïdes. EMC-Pathologie professionnelle et de l'environnement. EMC-Toxicologie-Pathologie. Doi:10.1016/S1877-7856(13)627865.
- Tomalik-Scharte D, Lazar A, Meins J, Bastian B, Ihrig M, Wachall B, Jetter A, Tanchera- Poor I, Mahrle G et Fuhr U (2005). Dermal absorption of permethrin

Références bibliographique

following topical administration. *Eur J. Clin Pharmacol* 61 (5-6) : 399-404.

- Triebkorn R., Künast C., 1990. Ultrastructural changes in the digestive system of *Deroceras reticulatum* (Mollusca: Gastropoda) induced by lethal and sublethal concentrations of the carbamate molluscicide Cloethocarb. *Malacologia*. 32: 89-106.

V

- Viarengo A., Canesi L., Pertica M., Poli M., Moore M.N. and Orunesu M., 1990. Heavy metal effects on lipid peroxidation in the tissues of *Mytilus galloprovincialis*. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 79, 37- 42
- **Viarengo, A., Lowe, D., Bolognesi, C., Fabbri, E. & Koehler, A.** (1990). The use of biomarkers in biomonitoring: a 2-tier approach assessing the level of pollutant-induced stress syndrome in sentinel organisms. *Comp. Biochem. Physiol.*, 146 C: 281-300.

W

- Wayland J. and Edward R., 1991. Hand book of pesticide Toxicology. Vol III, Classes of pesticide. Academic Press, Inc., San Diego, California, USA., biological fluids. *Free Radicals Biology and Medicine* 24, 480-493

Z

- **Zeilinski, S. & Pdrtner, H. O.** (2000). Oxidative stress and antioxidative defense in cephalopods: a function of metabolic rate or age. *Comp. Biochem. Physiol* 125:147-160.

➤ sitesWeb

[<http://www.bioactualites.ch/>].

[<http://meddic.jp/acetamipride>].

Annexes

Annexes

Annexe 1 Tableau de réalisation de la gamme d'étalonnage pour le dosage des protéines hépatopancréatiques

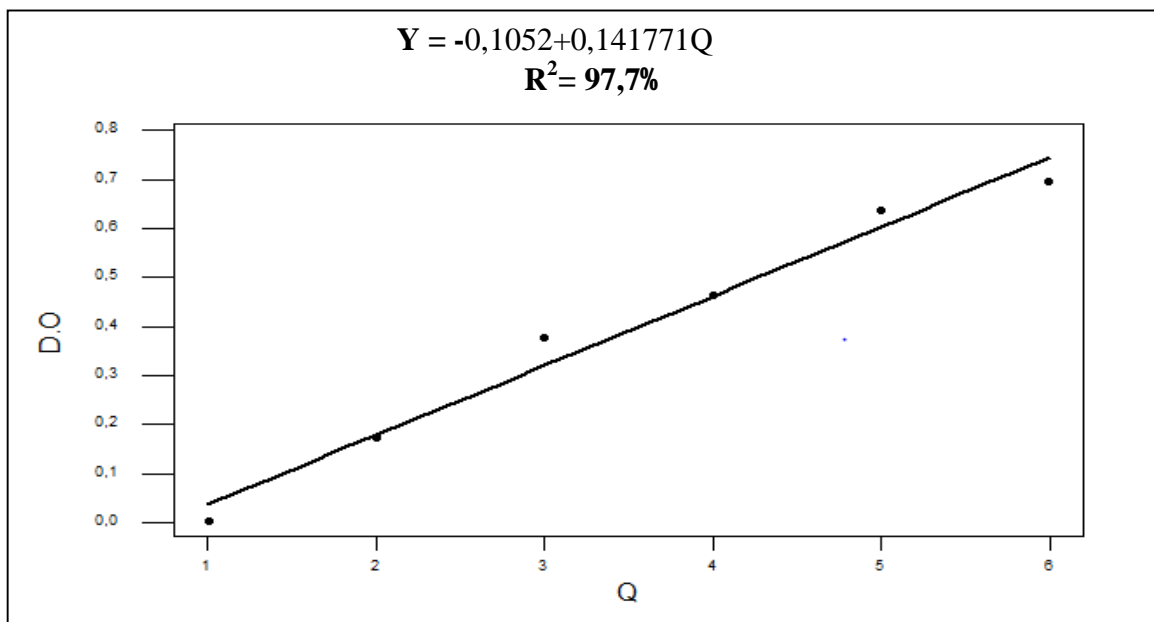
<i>Tubes</i>	0	1	2	3	4	5
<i>Quantité d'albumine Solution mère de BSA (μl)</i>	0	20	40	60	80	100
<i>Eau distillée (μl)</i>	100	80	60	40	20	0
<i>BBC (ml)</i>	4					

Annexe 2. Tableau de réalisation de la gamme d'étalonnage pour le dosage des lipides hépatopancréatiques

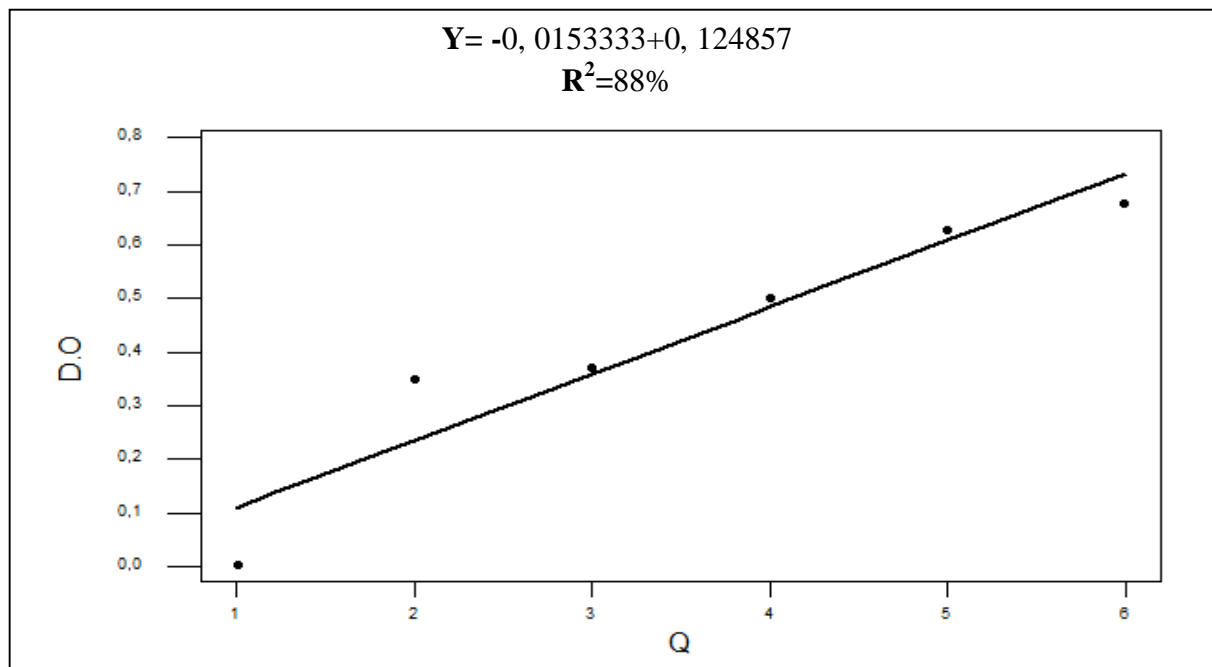
<i>Tubes</i>	1	2	3	4	5	6
<i>Solution mère de lipide (μl)</i>	0	20	40	60	80	100
<i>Solvant éther/chloroforme (μl)</i>	100	80	60	40	20	0
<i>Réactif sulphosphovanillinique (ml)</i>	2.5					
<i>Quantité de lipides (μg)</i>	0	50	100	150	200	250

Annexes

Annexe 03. Droite de régression exprimant les absorbances à 595 nm en fonction de la quantité des protéines (μg) (R^2 : coefficient de détermination)



Annexe 04. Droite de régression exprimant les absorbances à 530 nm en fonction de la quantité des lipides (μg) (R^2 : coefficient de détermination)



Annexes

Annexe 5. Analyse de la variance à deux critères de classification (dose, temps) de poids de l'hépatopancréas (g) chez *Helix aspersa*

Source	DL	SC	CM	F	P
période	2	14,095	7,048	2,64	0,085
dose	2	8,188	4,094	1,53	0,230
période*dose	4	2,048	0,512	0,19	0,941
Erreur	36	96,278	2,674		
Total	44	120,610			

Annexe 06. Analyse de la variance à deux critères de classification (dose, temps) du taux des protéines ($\mu\text{g}/\text{mg}$ du l'hépatopancréas) chez *Helix aspersa* ($m \pm s$, $n=5$)

Source	DL	SC	CM	F	P
Période	2	3,1823	1,5911	2,32	0,113
dose	2	70,5908	35,2954	51,38	0,000***
Période*dose	4	1,6096	0,4024	0,59	0,675
Erreur	36	24,7292	0,6869		
Total	44	100,1119			

Annexes

Annexe 7. Analyse de la variance à deux critères de classification (dose, temps) du taux des lipides ($\mu\text{g}/\text{mg}$ du l'hépatopancréas) chez *Helix aspersa* ($m \pm s$, $n=5$)

Source	DL	SC	CM	F	P
période	2	0,2869	0,1435	1,33	0,277
dose	2	1,9652	0,9826	9,11	0,001**
période*dose	4	0,6010	0,1502	1,39	0,256
Erreur	36	3,8840	0,1079		
Total	44	6,7371			

Annexe 08. Analyse de la variance à deux critères de classification (dose, temps) du taux de GSH ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéine) chez *Helix aspersa* ($m \pm s$, $n=5$)

Source	DL	SC	CM	F	P
période	2	3,823	1,912	3,31	0,048*
dose	2	114,240	57,120	99,00	0,000***
période*dose	4	3,095	0,774	1,34	0,274
Erreur	36	20,771	0,577		
Total	44	141,929			

Annexes

Annexe 09. Analyse de la variance à deux critères de classification (dose, temps) du taux de MDA ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéine) chez *Helix aspersa* ($m \pm s$, $n=5$)

Source	DL	SC séq	CM ajust	F	P
période	2	1,7995	0,8997	3,80	0,0329
dose	2	1,6302	0,8151	3,44	0,043*
période*dose	4	0,1609	0,0402	0,17	0,952
Erreur	36	8,5234	0,2368		
Total	44	12,1140			