



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 de Biologie Appliquée

MEMOIRE DE MASTER

Domaine : Science de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Toxicologie

## Thème :

*Etude de certaines variations enzymatiques chez un invertébré terrestre exposé à un pyréthrinocide largement utilisé en Algérie*

Présenté par :

**GASMI Marwa**

**GUEBLA Imene**

**Devant le jury :**

M <sup>me</sup> . ROUACHDIA R.	M.A.A.	Université de TEBESSA	Président
Dr. AMAMRA R.	M.C.B	Université de TEBESSA	Rapporteur
M <sup>me</sup> . BOUADILA S.	M.A.A	Université de TEBESSA	Examineur

**Date de soutenance : 18/06/2019**

**Note :**

**Mention :**

## ***Remerciement***

*On tient tout d'abord à remercier vivement le bon dieu, de nous avoir donné la force de dépasser toutes les difficultés et de réaliser ce modeste travail.*

*On tient aussi à remercier Madame **ROUACHDIA R.** pour l'honneur qu'elle nous fait en acceptant de présider ce jury.*

*On présente, également, nos remerciements à notre promoteur Dr. **AMAMRA R.**, pour sa disponibilité, sa gentillesse et les grandes qualités humaine dont elle fait preuve.*

*La pertinence de ses remarques a contribué à l'amélioration de la qualité de notre travail.*

*On exprime nos vifs remerciements à Madame **BOUADILA S.** d'avoir accepté d'examiner ce travail. Ses remarques nous seront d'un grand apport.*

*On remercie vivement tous nos enseignants de master.*

*Merci, également, à toute personne qui a partagé ses connaissances avec nous et à tous ceux qui ont publié leur résultats de recherche pour que tout le monde puisse les consulter.*

## ***Dédicace***

*Je dédie ce travail à la mémoire de mon Père  
~GUEBLA Hocine~*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que  
j'ai toujours eu et que j'aurais toujours pour vous.*

*Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien  
être.*

*Ce travail est le fruit des sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma  
formation.*

*A ma très chère mère Affable, honorable et aimable :*

*Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse  
et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.*

*A mes très chers frères et sœurs*

***Redouene , Ramzi , Merieme , Ghania, Naima et Selma***

*A mon très cher cousin **Yacine***

*Merci de m'avoir encouragés et soutenu pour réaliser ce mémoire*

*A toute ma famille **GUEBLA***

*A mes amis et surtout ma très chère Marwa et à ceux qui m'aiment et qui attendent  
avec impatience ma réussite.*

*En espèrent être toujours à la hauteur de leurs attentes et leurs espérances.*

**IMENE**

## *Dédicace*

*Louange à Dieu, qui ma donné la force pour accomplir ce modeste travail que je dédie à:*

*Ma mère : aucune dédicace ne saurait exprimer l'affection et l'amour que j'éprouve envers toi. Puisse ce travail être la récompense de tes soutiens moraux et sacrifices, que dieu te garde et t'accorde santé et bonheur pour que tu reste la splendeur de ma vie.*

*Mon père : puisse ce modeste travail constituer une légère compensation pour tous les nobles sacrifices que tu t'es imposé pour assurer mon bien être et mon éducation. Qu'il soit l'expression de ma profonde gratitude et ma grande considération pour le dévoué père que tu es. Puisse dieu te prêter longue vie, santé et bonheur.*

*A mes frères.*

*A toute ma famille.*

*A mes amis les plus proche.*

*A tous mes collègues de la promotion de Master Toxicologie et à tous mes enseignants qui m'ont appris avec cœur tout ce que je sais.*

Sans oublier ma chère amie et sœur: Imene

*Marwa Gasmí*



## Résumé

---

Notre étude vise à évaluer la toxicité potentielle de la Cyperméthrine, un pyréthrianoïde de type II, largement utilisé en Algérie, sur un organisme bio-accumulateur et bio-indicateur de pollution : l'escargot *Helix aspersa*, en s'intéressant aux variations enzymatiques engendrées.

Après deux semaines d'exposition à des concentrations croissantes de Cyperméthrine, à savoir, 5; 10; 20 et 40 µg/l, les principaux résultats obtenus mettent en évidence, d'une part, une perturbation du poids moyen de l'hépatopancréas et une diminution non significative du poids moyen du rein.

D'autre part, le suivi des variations enzymatiques illustre une intensification dose dépendante et hautement significative des activités catalase (CAT) et glutathion peroxydase (GPx). En revanche, nos résultats montrent une inhibition significative de l'activité glutathion-S-transférase (GST), particulièrement, à la plus forte concentration (40 µg/l).

**Mots clés:** Cyperméthrine, *Helix aspersa*, Stress Oxydant, Bio-marqueurs, Variations Enzymatiques, Hépatopancréas.

## Abstract

---

Our study aims to evaluate the potential toxicity of Cypermethrin, a pyrethroid type II, widely used in Algeria, on a bio-accumulator / bio-indicator organism of pollution: *Helix aspersa*, by being interested to enzymatic variations engendered.

After two weeks of exposure to increasing concentrations of Cypermethrin, 5; 10; 20 and 40  $\mu\text{g} / \text{l}$ , the main results show, on the one hand, a disruption of the average weight of the hepatopancreas and a non significant decrease in the average weight of the kidney.

On the other hand, the monitoring of enzymatic variations illustrates a dose-dependent and highly significant intensification of catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPx) activities. Concerning glutathion- S- transférase (GST) activity, our results show a significant inhibition, particularly at the highest concentration (40  $\mu\text{g} / \text{l}$ ).

**Keywords:** Cypermethrin, *Helix aspersa*, Oxidative Stress, Bio-markers, Enzymatic Variations, Hepatopancreas.

تهدف دراستنا إلى تقييم السمية المحتملة لـ Cypermethrin وهو النوع الثاني من الغدة الدرقية ، الذي يستخدم على نطاق واسع في الجزائر ، والكائن الحي المتراكم الحيوي ومؤشر التلوث الحيوي: الحلزون *Helix aspersa* ، من خلال الاهتمام بالتغيرات الأنزيمية الناتجة.

بعد أسبوعين من التعرض لتركيزات متزايدة من سايبيرمثرين ، 5 ؛ 10 ؛ 20 و 40 ميكروغرام / لتر ، أظهرت النتائج الرئيسية ، من ناحية ، اختلال متوسط وزن البنكرياس وانخفاضاً غير مهم في متوسط وزن الكلى.

من ناحية أخرى ، يوضح رصد الاختلافات الأنزيمية تكثيفاً كبيراً لأنشطة الكاتالاز (CAT) وأنزيم الجلوكاثيونبيروكسيداز (GPx) الذي يعتمد على الجرعة. من ناحية أخرى ، تظهر نتائجنا تثبيطاً كبيراً لنشاط الجلوتاثيون (GST) S-transferase ، خاصة في أعلى تركيز (40 ميكروغرام / لتر).

**الكلمات المفتاحية:** سايبيرمثرين ، *Helix aspersa* ، الإجهاد التأكسدي ، العلامات الحيوية ، الاختلافات الأنزيمية ، البنكرياس الكبدي.

## Table des matières

- Remerciements
- Dédicace
- Résumé
- Abstract
- ملخص
- Table des matières
- Liste des tableaux
- Liste des figures
- Liste des abréviations

### CHAPITRE I Introduction Générale

1.	Pyréthroïdes	03
1.1.	Définition et origine	03
1.2.	Mécanisme d'action	03
1.3.	Sources d'exposition pour la population générale	04
1.4.	Présence et persistance dans l'environnement	06
2.	Cyperméthrine	06
3.	Stress oxydatif, système antioxydant et antioxydant	07
4.	Biomarqueurs et bioindicateurs	10

### CHAPITRE II - MATÉRIEL ET MÉTHODE

1.	Matériel biologique	12
1.1.	Anatomie d' <i>Helixaspersa</i>	13
1.2.	Rythme d'activité	14
1.3.	Estivation et hibernation	14
1.4.	Déplacement	15
1.5.	Croissance	15
1.6.	Reproduction	15
2.	Matériel chimique	16
3.	Méthodes	16
3.1.	Conditions d'élevage	17
3.2.	Mode de traitement	17
3.3.	Dissection et prélèvement de l'hépatopancréas	17
4.	Paramètres étudiés	18
4.1.	Paramètres physiologiques	19
4.1.1.	Poids de l'hépatopancréas et du rein	19
4.2.		19



4.2.1.	Paramètres biochimique et enzymatique	19
4.2.2.	Mesure de l'activité Catalase (CAT)	19
4.2.3.	Mesure de l'activité glutathion peroxydase (GPx)	20
5.	Mesure de l'activité glutathion-S-transférase (GST)	21
	Analyses statistiques	21

### CHAPITRE III – RÉSULTATS

1.	Effet du traitement par des concentrations croissantes de Cyperméthrine sur certains paramètres physiologiques chez <i>Helixaspersa</i>	22
1.1.	Effet des concentrations croissantes de la Cyperméthrine sur l'évolution du poids moyen des hépatopancréas des escargots <i>Helixaspersa</i> après deux semaines de traitement	22
1.2.	Effet des concentrations croissantes de la Cyperméthrine sur l'évolution du poids moyen des reins des escargots <i>Helixaspersa</i> après deux semaines de traitement	23
2.	Effet du traitement par des concentrations croissantes de Cyperméthrine sur certaines variations enzymatiques chez <i>Helixaspersa</i>	24
2.1.	Effet des concentrations croissantes de la Cyperméthrine sur la variation de l'activité catalase (CAT) au niveau de l'hépatopancréas des escargots <i>Helixaspersa</i> après deux semaines de traitement	24
2.2.	Effet des concentrations croissantes de la Cyperméthrine sur la variation de l'activité glutathion peroxydase (GPx) au niveau de l'hépatopancréas des escargots <i>Helixaspersa</i> après deux semaines de traitement	25
2.3.	Effet des concentrations croissantes de la Cyperméthrine sur la variation de l'activité glutathion-S-transférase (GST) au niveau de l'hépatopancréas des escargots <i>Helixaspersa</i> après deux semaines de traitement	26

### CHAPITRE IV – DISCUSSION 28

### CONCLUSION ET PERSPECTIVE 30

### CHAPITRE V – REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES 32

## Liste des figures

N°	Titre	Page
01	Les différentes sources et voies d'exposition à la famille des pyréthriinoïdes	04
02	Stress oxydant	08
03	Conséquences des ERO	08
04	Les antioxydants	09
05	L'escargot <i>Helix aspersa</i>	11
06	Anatomie de l'escargot	12
07	Escargot en hibernation avec son épiphragme	13
08	Exposition des escargots à la nourriture contaminée	17
09	Dissection et prélèvement de l'hépatopancréas	17
10	Evolution du poids moyen des hépatopancréas chez <i>Helix aspersa</i> exposés aux concentrations croissantes de cyperméthrine	21
11	Evolution du poids moyennes reins chez <i>Helix aspersa</i> exposés aux concentrations croissantes de cyperméthrine	22
12	Variation de l'activité CAT chez <i>Helix aspersa</i> exposés aux concentrations croissantes de cyperméthrine	23
13	Variation de l'activité GPx chez <i>Helix aspersa</i> exposés aux concentrations croissantes de cyperméthrine	24

14	Variation de l'activité GST chez <i>Helix aspersa</i> exposés aux concentrations croissantes de cyperméthrine	25
----	---	----

## Liste des tableaux

N°	Titre	Page
01	Utilisations des pyréthrinoides	05
02	Caractéristiques physico-chimiques et structure moléculaire de la Cyperméthrine	15
03	Répartition des concentrations croissantes de Cyperméthrine	16

## Liste des abréviations

<b>CAT</b>	Catalase
<b>CDNB</b>	1-chloro 2, 4 dinitrobenzène
<b>° C</b>	Degré Celsius
<b>DDT</b>	Dichloro-diphényl-trichloroéthane
<b>ERO</b>	Espèces réactives de l'oxygène
<b>GPx</b>	Glutathion peroxydase
<b>GSH</b>	Glutathion réduit
<b>GSSG</b>	Glutathion oxydé
<b>GST</b>	Glutathion-S-transférase
<b>H</b>	Heure
<b>H2O2</b>	Peroxyde d'hydrogène
<b>g</b>	Gramme
<b>L</b>	Litre
<b>m</b>	Mètre
<b>min</b>	Minute
<b>mm</b>	Millimètre
<b>O2</b>	Dioxygène
<b>O<sub>2</sub><sup>•-</sup></b>	Anion superoxyde
<b>S</b>	Seconde
<b>SOD</b>	Superoxyde dismutase
<b>WHO</b>	World health organization
<b>µg</b>	Microgramme
<b>µmol</b>	Micromole

# Chapitre I : Introduction Générale

---

Dans les années 1950, de nombreux produits sont créés pour répondre aux nouvelles habitudes de consommation de la population. Très rapidement entrés dans la vie quotidienne, ces différents produits transformés sont souvent composés des mêmes molécules chimiques. Après quelques décennies, une augmentation des perturbations de l'écosystème et de la santé humaine est observée. L'implication des nouvelles molécules chimiques dans ces effets néfastes est alors été suspectée. La réglementation concernant la mise sur le marché de nouvelles substances était en effet moins stricte qu'actuellement, en particulier en terme de toxicité sur la santé humaine et l'environnement (**Willemin, 2014**)

Le terme "pesticide" est une appellation générique couvrant toutes substances ou produits utilisés dans l'agriculture et dans d'autres secteurs pour combattre les prédateurs des cultures, des produits agricoles ou encore pour protéger les espaces publics contre les insectes, les végétaux, les animaux ou les microorganismes nuisibles (**Stachowski-Haberkorn, 2008 ; ACTA, 2005**). La diffusion de ces composés chimiques dans l'environnement par contamination de l'air, du sol, de l'eau et des produits alimentaires provoque l'exposition continue des organismes vivants d'une manière tant aigue que chronique à des risques de toxicité susceptible d'engendrer des diverses pathologies (**Pandey & Mohanty, 2015**).

Le premier système de classification repose sur le type de parasites à contrôler. Il existe principalement trois grandes familles de produits phytosanitaires selon la nature des cibles visées: les herbicides, les fongicides et les insecticides. À celles-ci s'ajoutent des produits divers tels que les acaricides (contre les acariens), les nématicides (contre les nématodes), les rodenticides (contre les rongeurs), les taupicides (contre les taupes), les molluscicides (contre les limaces et les escargots essentiellement), les corvicides et les corvifuges (contre les oiseaux ravageurs de culture et surtout les corbeaux) et enfin les répulsifs (**Merhi, 2008**).

L'histoire montre qu'aucun de ces composés, et en particuliers les insecticides, n'est inoffensif. Le bannissement du DDT a ouvert la porte à l'utilisation d'une foule d'autres insecticides dont la toxicité varie grandement. Les organophosphorés font partie de ces insecticides de substitution, mais cette classe est actuellement remplacée par d'autres types d'insecticides parce que la mise à jour des protocoles d'évaluations réglementaires a révélé chez celle-ci un potentiel de toxicité jusqu'à y a peu méconnu. La tendance courante

## Chapitre I : Introduction Générale

---

consistant à remplacer les organophosphorés par les pyréthrinoïdes, une classe prétendument plus sûre, mais qui n'est toutefois pas exempte de risques (**Hénault-Ethier, 2016**).

L'étude du stress oxydatif induit par les insecticides et de leurs influences sur divers antioxydants pourrait fournir des informations utiles sur les conséquences écotoxicologiques de l'utilisation de ces molécules. Plusieurs études ont montré que les variations dans les antioxydants enzymatiques pourraient être utilisées comme biomarqueurs d'exposition aux insecticides.

L'objectif général de cette étude est d'évaluer la toxicité d'un pyréthrinoïde de type II, la Cyperméthrine, via l'étude de quelques biomarqueurs du stress oxydatif chez un gastéropode bioindicateur / bioaccumulateur : *Helix aspersa*.

## 1. Les pyréthrinoïdes

### 1.1. Définition et origine

Les pyréthrines sont des insecticides d'origine végétale extraient des fleurs appartenant à la famille des marguerites (Asteraceae, genre *Chrysanthemum* ) alors que les pyréthrinoïdes sont des insecticides synthétiques dont la structure moléculaire comprend certaines des caractéristiques des pyréthrines naturelles (**Fortin, 2009**).

La première utilisation des pyréthrines est difficile à dater mais remonterait à plusieurs milliers d'années. Les pyréthrines sont aujourd'hui principalement dérivées de la plante *Chrysanthemum cinerariaefolium* qui est abondamment cultivée en Afrique. Le terme « pyréthrines » est employé au pluriel parce qu'il désigne le mélange des six molécules formant l'extrait naturel (**Fortin, 2009**).

Les pyréthrinoïdes, sont des insecticides de synthèse ayant un noyau structural similaire à celui des pyréthrines mais qui, en général, se dégradent moins rapidement dans l'environnement. Le premier pyréthrinoïde à avoir été commercialisé à titre d'insecticide fut l'alléthrine( synthétisée en 1949). Au cours des années 1960-1970, d'autres pyréthrinoïdes sont développés dont la perméthrine, la cyperméthrine, la dècaméthrine et le fenvalérate. Ces quatre pyréthrinoïdes étaient les premiers à pouvoir être utilisés en agriculture et en santé publique parce qu'ils étaient plus résistants à la photodégradation. Depuis, de nombreuses autres molécules sont synthétisées et l'utilisation des pyréthrinoïdes n'a fait que s'accroître – ainsi que le potentiel d'exposition humaine (**Emilie, 2014**).

Les pyréthrinoïdes sont classés en deux catégories en fonction de la présence ou non d'un radical cyanide (-CN). Ainsi les pyréthrinoïdes de type I (par exemple perméthrine, tétraméthrine, alléthrine) sont dépourvus du radical cyanide alors que les pyréthrinoïdes de type II (par exemple cyperméthrine, esfenvalérate, deltaméthrine) portent le radical cyanide. (**Kadala, 2011**).

### 1.2. Mécanisme d'action

Les pyréthrinoïdes sont dits neurotoxiques parce qu'ils interfèrent avec la propagation des signaux neuronaux. Plus précisément, ils agissent sur les canaux sodiques situés le long de la membrane cellulaire de la queue des neurones (axones). En maintenant ces canaux ouverts,



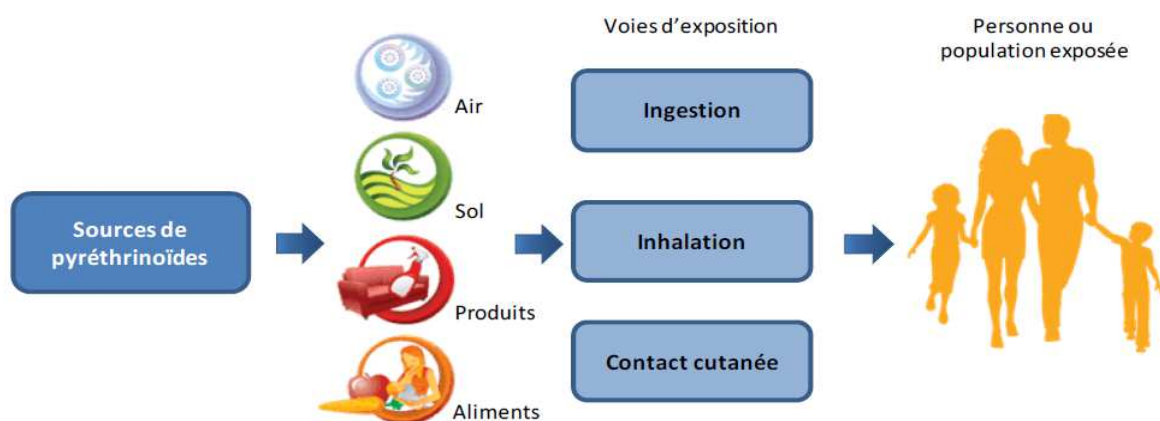
les pyréthriinoïdes déclenchent une série d'influx électriques chez les neurones qui cause leur dépolarisation, ce qui engendre différents symptômes comme des tremblements, des mouvements involontaires et la salivation (**Hénault-Ethier, 2016**). Outre les canaux sodiques activés par le potentiel, les pyréthriinoïdes agissent directement ou indirectement sur d'autres cibles au niveau des neurones: Les pyréthriinoïdes de type II sont capables d'inhiber la fixation du GABA sur ses récepteurs ionotropiques. En conséquence, le flux d'ions chlore est fortement diminué (**Kadala, 2011**).

Les recherches scientifiques ont, également, démontré que les pyréthriinoïdes de type II bloquent d'autre canaux ioniques comme ceux à chlore ou à calcium et affectent donc plus gravement le système nerveux (**Palmquist *et al.*, 2012**).

Par ailleurs, il a été prouvé que ces insecticides et/ ou leurs métabolites interagissaient avec le système immunitaire, hormonal et reproducteur (**Fortin, 2009**).

### 1.3. Sources d'exposition pour la population générale

Tout comme la plupart des pesticides, il y a trois principales voies par lesquelles les pyréthrines et les pyréthriinoïdes peuvent pénétrer dans le corps humain c'est-à-dire : par ingestion (directe ou indirecte), par contact cutané (direct ou avec des surfaces contaminées) et par inhalation de gouttelettes, de vapeurs ou de fumée (**Figure 1**).



**Figure 01.** Les différentes sources et voies d'exposition à la famille des pyréthriinoïdes (**Fortin, 2009**).

## Chapitre I : Introduction Générale

---

Étant donné l'importance de leur utilisation en agriculture, une des principales sources d'exposition pour la population demeurant en milieu urbain serait la contamination des aliments. Par ailleurs, ces composés sont utilisés pour le contrôle de nombreux insectes nuisibles (fourmis, blattes, etc.) dans les lieux de travail, dans la maison et dans le jardin. (Fortin,2009).

**Tableau 01.**Utilisations des pyréthriinoïdes (Damien *et al.*, 2010)

Hygiène publique	Toutes les activités de lutte pratiquées dans le respect des règles en matière d'hygiène et de santé publique et dans un cadre professionnel contre les organismes nuisibles telles que la dératisation, la désinsectisation, la désinfection, capture de pigeons, etc.
Hygiène domestique	Toutes les activités de lutte contre les parasites (insectes) pratiquées par des particuliers dans leur périmètre résidentiel intra et péri-domiciliaire pour l'hygiène de leur cadre de vie et de leur environnement et leur hygiène corporelle (shampooing, anti-poux, crèmes répulsives, etc ...)
Pharmacie et para vétérinaire	Toutes les activités relatives à l'utilisation ou à la fabrication de produits antiparasitaires à usage humain (shampooing /lotion anti-poux, crèmes /lotions répulsives, etc..) et de produits antiparasitaires pour animaux (antipuces, anti-tiques) et leur environnement (couverture pour corbeille de chats et niches de chiens, etc...)
Préservation des matériaux	Toutes les activités relatives à l'utilisation ou à la fabrication de produits de préservation des matériaux (bois, laine, etc..) et d'imprégnation des textiles en vue de leur conférer une activité biologique répulsive anti-moustique ou anti-acariens...

## 1.4. Présence et persistance dans l'environnement

Lorsque les pyréthriinoïdes sont employés, leurs aérosols peuvent être dispersés par le vent. La pluie peut les faire ruisseler vers les plans d'eau, et ils peuvent, en outre, être disséminés par les eaux souterraines ou les réseaux d'égouts. En raison de leur forte affinité pour les particules, les pyréthriinoïdes tendent à s'accumuler dans les sédiments plutôt qu'à se disperser dans la colonne d'eau, leur redissolution (désorption) restant toutefois possible. Même si seulement 1 % des quantités appliquées atteignent les plans d'eau, cette quantité peut être suffisante pour porter préjudice aux organismes aquatiques (**Hénault-Ethier, 2016**).

Dans l'environnement, les pyréthriinoïdes sont éventuellement dégradés par la lumière du soleil (photolyse), les réactions chimiques en présence d'eau (hydrolyse) et l'action des microorganismes (biodégradation). Certains facteurs tels que la température, le pH, la présence d'oxygène et l'adsorption aux particules de sol ou de sédiments influencent le temps nécessaire à leur dégradation complète. Par exemple, les températures froides ralentissent la dégradation des pyréthriinoïdes, en plus d'accroître leur toxicité chez l'animal (**Hénault-Ethier, 2016**).

## 2. La cypérméthrine

La cypérméthrine est un insecticide de la famille des pyréthroïdes synthétiques. Il a été commercialisé pour la première fois en 1977. La plupart des pyréthroïdes synthétiques sont des molécules complexes et la cypérméthrine ne fait pas exception (**WHO, 1989**).

En raison de sa complexité, les atomes constituant la molécule de cypérméthrine peuvent s'organiser en trois dimensions de huit manières différentes (Cypérméthrine est un mélange des huit isomères) (**WHO, 1989**).

Plus de 90% de la cypérméthrine utilisée dans le monde entier est utilisée pour tuer les insectes sur le coton. D'autres utilisations agricoles comprenaient le traitement du houblon, des légumes et du maïs. Elle est également utilisée pour lutter contre les insectes vétérinaires et de santé publique, tels que les mouches, les poux et les acariens. (**WHO, 1989**).

Le système cible primaire de la cypérméthrine (et des pyréthroïdes en général) dans le système nerveux des vertébrés est le canal sodium. Les pyréthroïdes  $\alpha$ -cyano, tels que la cypérméthrine, prolongent durablement l'augmentation normalement transitoire de la

perméabilité au sodium de la membrane nerveuse pendant l'excitation, ce qui entraîne des trains d'impulsions répétitives et de longue durée dans les organes des sens. (Who, 1989).

En ce qui concerne ses effets délétères, la Cypérméthrine est signalé, comme agent hautement toxique pour les poissons et les invertébrés aquatiques en raison de sa lipoaffinité élevée et de sa faible solubilité. elle a également été classé, comme cancérogène possible pour l'homme par l'agence américaine de protection de l'environnement (EPA). De plus, elle est classée comme neurotoxique et perturbateur endocrinien (Kumari, 2012; Fulekar, 2012).

### 3. Stress oxydatif, système antioxydant et antioxydant

L'oxygène (ou dioxygène, O<sub>2</sub>) est un gaz indispensable à la vie, A l'exception de certains organismes anaérobies et aérotolérants, l'oxygène est nécessaire à tous les animaux, plantes et bactéries pour produire de l'énergie par l'intermédiaire de chaînes de transport d'électrons telles que celle existant dans les mitochondries des cellules eucaryotes. Au cours de l'évolution, l'adaptation des espèces vivantes à l'oxygène s'est traduite par l'apparition d'enzymes facilitant non seulement sa consommation, mais également la détoxification de ses métabolites réduits qui sont le radical superoxyde O<sub>2</sub><sup>-</sup> et le peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Ces espèces sont appelées espèces réactives de l'oxygène (ERO) car elles sont beaucoup plus toxiques que ne l'est l'oxygène lui-même. Le dysfonctionnement des systèmes de régulation de l'oxygène et de ses métabolites est à l'origine des phénomènes de stress oxydant dont l'importance dans de nombreuses pathologies est maintenant largement démontrée (Gardès, 2003).

Le stress oxydatif se définit comme étant un déséquilibre entre la production et l'élimination des radicaux libres (Lü et al., 2010 ; Uno et al., 2010), ces derniers sont des molécules ou des atomes qui possèdent un ou plusieurs électrons non appariés sur leur couche externe (Gardès-Albert et al., 2006), formés par la perte ou le gain d'électrons à partir d'un composé non radicalaire (Berger, 2006).

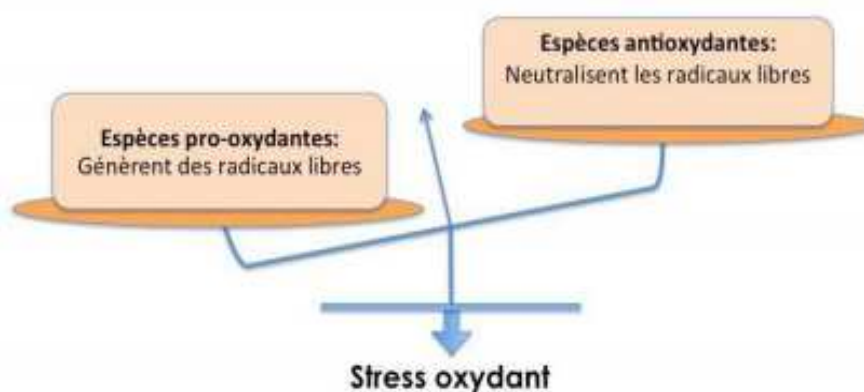
Pour se protéger des effets délétères des radicaux libres et des ERO, l'organisme dispose d'un ensemble complexe de défenses antioxydantes. On distingue deux sources d'antioxydants : l'une est apportée par l'alimentation sous forme de fruits et légumes riches

## Chapitre I : Introduction Générale

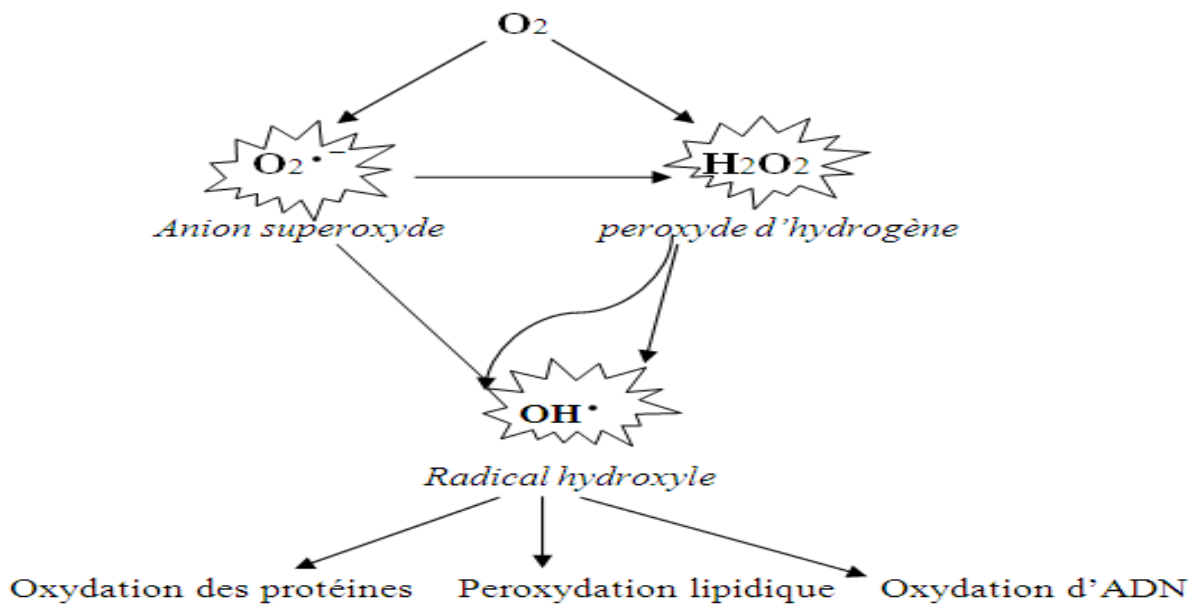
---

en vitamines C, E, caroténoïdes, ubiquinone, flavonoïdes, glutathion ou acide lipoïque, l'autre est endogène et se compose d'enzymes (superoxydedismutase, glutathion peroxydase, catalase), de protéines (ferritine, transferrine, céruléoplasmine, albumine) et de systèmes de réparation des dommages oxydatifs comme les endonucléases. A cela, s'ajoutent quelques oligoéléments comme le sélénium, le cuivre et le zinc qui sont des cofacteurs d'enzymes antioxydantes (Djeffal, 2014).

Les antioxydants quant à eux sont des molécules naturelles ou synthétiques qui sont capables d'inhiber l'oxydation d'autres molécules en intervenant à différents stades du processus d'oxydation (Maurent, 2017).

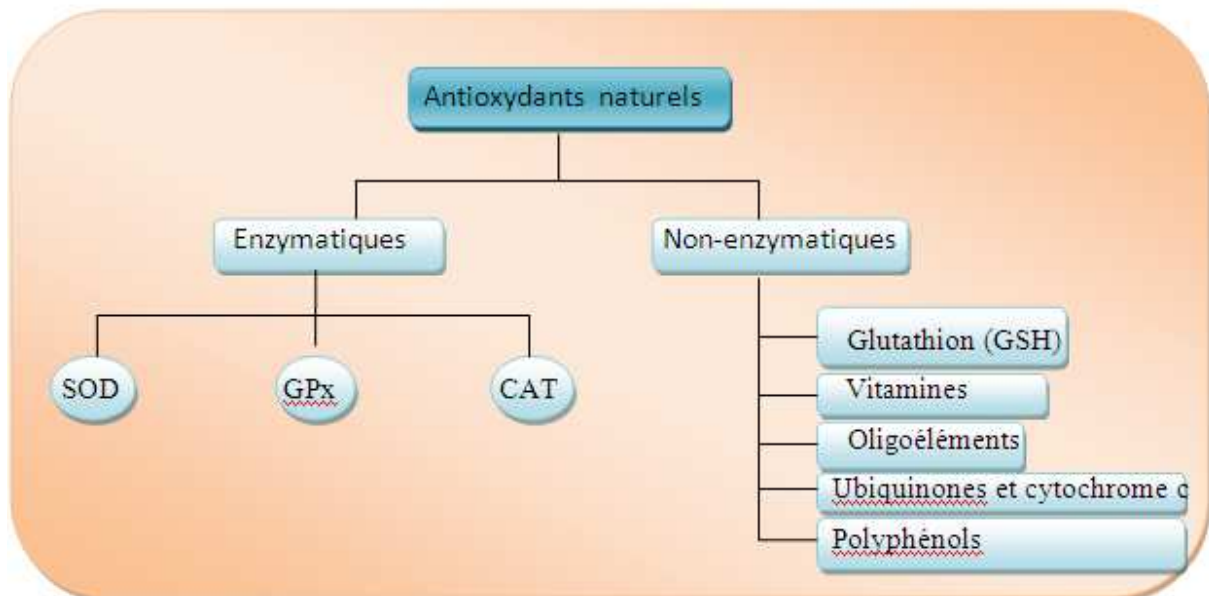


**Figure 02.** Stress oxydant  
(Baraka-Vidot, 2014)



**Figure 03.** Conséquences des ERO

(Garait, 2006)



**Figure 04.** Les antioxydants

### 4. Biomarqueurs et bioindicateurs

Un biomarqueur est un changement observable et/ou mesurable au niveau moléculaire, biochimique, cellulaire, physiologique ou comportemental qui révèle l' 'exposition présente ou passée d'un individu à au moins une substance chimique à caractère polluant". Le principal intérêt des biomarqueurs est qu'ils permettent une évaluation intégrée dans le temps des polluants biodisponibles, tant en terme de présence qu'en terme des effets qu'ils sont susceptibles d'exercer sur les êtres vivants. Selon les organismes explorés, les biomarqueurs peuvent aussi rendre compte de la distribution des contaminants dans le milieu (Amiard *et al.*, 1997). Les biomarqueurs peuvent être classés en trois catégories :

- **Les biomarqueurs d'exposition**, qui sont généralement caractérisés par leur réponse précoce et leur spécificité de réaction. Ils sont induits par un type spécifique de polluants et, de ce fait, leurs variations sont indicatrices d'une exposition de l'organisme à cette classe de polluants (Harrath, 2018; Bouaziz, 2018 ; Amiard *et al.*, 1997).
- **Les biomarqueurs d'effet** correspondent à une altération biologique qui, en fonction de l'intensité de la réponse, peut être associée à une altération possible de l'état physiologique de l'individu, comme des effets sur la croissance ou sur le succès reproducteur (Harrath, 2018; Bouaziz, 2018 ; Amiard *et al.*, 1997).
- **Les biomarqueurs de sensibilité/susceptibilité** utilisent la mise en évidence de caractères de résistance d'origine génétique des organismes à certains contaminants, comme la synthèse d'enzymes moins sensibles ou une augmentation du pouvoir de détoxification (résistance des insectes aux pesticides) (Harrath, 2018; Bouaziz, 2018 ; Amiard *et al.*, 1997).

La bioindication désigne l'évaluation de la qualité des milieux à l'aide de bioindicateurs c'est-à-dire d'organismes vivants connus pour leurs capacités à refléter l'état des écosystèmes.

Dans ce sens, un bioindicateur peut être défini comme une espèce qui, par son absence, sa présence, son abondance ou sa distribution, nous donne des informations de nature qualitative sur l'état d'un environnement ou d'une partie de celui-ci (Harrath, 2018; Bouaziz, 2018).

## Chapitre I : Introduction Générale

---

Les escargots comptent parmi les nombreux outils biologiques utilisés par les chercheurs afin de caractériser les pollutions du sol, d'identifier ou de prévoir les atteintes aux écosystèmes et de suivre leur évolution dans le temps et l'espace. Ils ont particularité de concentrer dans leurs tissus des substances polluantes (**Coeurdassieret *al.*, 2001**).



## Chapitre II – Matériel et Méthodes

---

Notre étude est réalisée au niveau du Laboratoire de Toxicologie Appliquée du Département de Biologie, Université Larbi Tébessi – Tébessa-.

### 1. Matériel biologique

Les mollusques gastéropodes sont largement utilisés comme espèce sentinelle pour étudier la qualité de l'écosystème. Toutes les études sur les bio-indicateurs convergent vers l'idée que *Helix aspersa* sont d'excellents modèles biologiques pour vue leur grande capacité d'accumulation des xénobiotiques. De plus, ils se prêtent facilement aux études sur les mécanismes cellulaires mis en jeu par une pollution mixte.

*Helix aspersa* connu sous le nom d'escargot Petis-Gris, est utilisé dans notre expérimentation en raison de son abondance et surtout en tant que bioindicateur et bioaccumulateur de polluants (Zaafour, 2014).

Selon Bonnet et Vrillo, (1990) l'escargot *Helix aspersa* est classé comme suit :

- Règne : Animal
- Embranchement : Mollusques
- Classe : Gastropodes
- Sous-classe : Euthyneurs
- Super-ordre : pulmonés
- Ordre : Stylommatophores
- Famille : Helicidae
- Genre : *Helix*
- Espèce : *aspersa*

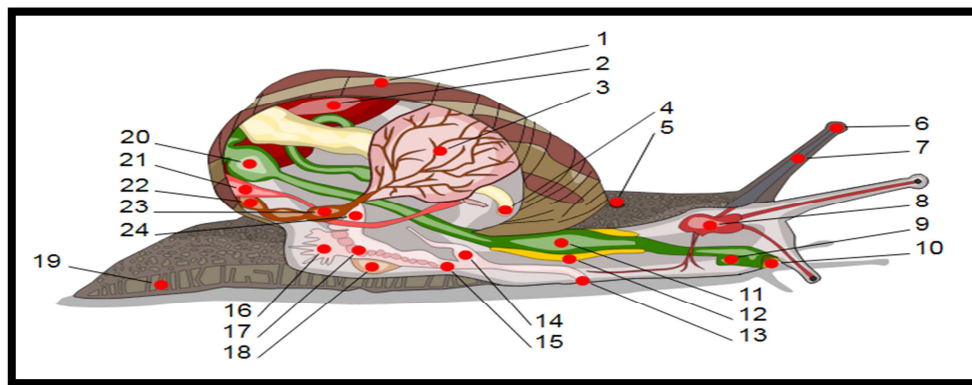


**Figure 05.** L'escargot *Helix aspersa* (Zaafour, 2014)

### 1.1. Anatomie d'*Helixaspersa*

Le corps d'un escargot consiste en un pied unique, une tête et une masse viscérale enroulée qui est placée dans la coquille. Le mouvement a lieu grâce à l'expansion et l'extraction de muscles dans le pied. Des glandes placées dans la partie antérieure du pied sécrètent le mucus. Il y a aussi des glandes de mucus sur le reste du corps protégeant l'escargot contre la perte d'eau.

Deux paires de tentacules sont placées sur la tête. La paire supérieure porte les yeux. La coquille est sécrétée par un épais pli de peau, appelé le manteau. Elle est reliée au corps par un puissant muscle qui est attaché à la columelle (ou axe d'enroulement des coquilles de mollusques gastéropodes). Il y a des "ramifications" à la tête et aux tentacules. La contraction de ce muscle permet à l'escargot de se retirer dans sa coquille. A l'intérieur de la coquille, se trouve la cavité du manteau, qui contient le cœur, le rein et le poumon. (Zaafour, 2014)



**Figure 06.** Anatomie de l'escargot

(Kafi et Maoui, 2017)

1 : coquille ; 2 : foie ; 3 : poumon ; 4 : anus ; 5 : pore respiratoire ; 6 : œil ; 7 : tentacule ; 8 : cerveau ; 9 : conduit salivaire ; 10 : bouche ; 11 : panse ; 12 : glande salivaire ; 13 : orifice génital ; 14 : pénis ; 15 : vagin ; 16 : glande muqueuse ; 17 : oviducte ; 18 : sac de dards ; 19 : pied ; 20 : estomac ; 21 : rein ; 22 : manteau ; 23 : cœur ; 24 : canal déférent.

### 1.2. Rythme d'activité

L'activité des escargots *Helix aspersa* est préférentiellement nocturne. Elle se synchronise avec la photopériode naturelle et débute au coucher du soleil avec un maximum de six heures après celui-ci. Les trois facteurs qui influencent cette activité sont l'hygrométrie du milieu (air et sol), la température et l'intensité lumineuse. Les escargots sont actifs si l'humidité relative de l'air est supérieure à 80% et si la température minimale nocturne n'est pas inférieure à 9°C (Larba, 2014).

### 1.3. Estivation et hibernation

Une absence prolongée d'humidité provoque l'estivation d'*Helix aspersa*. L'animal se fixe alors sur un support en fermant l'ouverture de sa coquille par un voile de mucus solidifié : l'épiphragme. Il reprend son activité lorsque les conditions environnementales sont plus favorables. Lorsque la température moyenne devient inférieure à 15°C, les escargots se mettent en hibernation en se "collant" sur un support ou en s'enfouissant dans le sol ou la litière et secrètent un épiphragme d'hiver. Dans une atmosphère humide, le processus d'hibernation s'effectue en-dessous de 5°C. Le raccourcissement de la durée de jour semble avoir également une action sur la mise en hibernation (Larba, 2014).



**Figure 07.** Escargot en hibernation avec son épiphragme  
(Kafi et Maoui, 2017)

### 1.4. Déplacement

*Helix aspersa* déplace, seulement vers l'avant, grâce à son pied, qui est en fait un gigantesque muscle qui se contracte et s'allonge alternativement. La vitesse moyenne pour un adulte est d'un 1 mm/s soit 3,6 m/h (Zaafour, 2014).

### 1.5. Croissance

Quatre phases de croissance sont définies en fonction de la taille et de la masse des animaux mais aussi de leur différenciation sexuelle :

- ✓ Phase infantile durant laquelle le tractus génital est non-différencié chez des animaux de 0,02 à 0,6g;
- ✓ Phase juvénile relative à un tractus génital qui s'organise et à une gamétogenèse active. La masse est comprise entre 0,6 et 6,0g;
- ✓ Phase de maturation sexuelle ou phase pré adulte durant laquelle les glandes annexes femelles se développent. Elle concerne des escargots non bordés (absence d'épaississement du péristome) de plus de 6g.
- ✓ La phase adulte à croissance nulle durant laquelle les animaux sont aptes à se reproduire. Ils sont alors bordés et pèsent entre 6 et 14g.

En général, la croissance naturelle jusqu'au stade adulte s'étale sur deux ans si bien que les individus sont le plus souvent considérés comme sexuellement matures à partir du deuxième ou troisième été suivant leur naissance. Cette croissance se fait par pallier, au rythme des estivations et hibernations. Les facteurs qui influencent la croissance sont la température, l'humidité ambiante, l'éclairement (longueur d'onde, intensité et photopériode) ainsi que la nature du sol et de la nourriture. La durée de vie moyenne d'un escargot en milieu naturel est de 6 à 7 ans (Lalmi et Lazreg, 2016).

### 1.6. Reproduction

La période de reproduction commence au début du mois de mai jusqu'au mois de septembre. L'accouplement implique une fécondation réciproque par échange de spermatophores entre les deux partenaires. L'autofécondation n'a été que très rarement constatée chez les escargots du genre *Helix aspersa*. La durée entre l'accouplement et la ponte varie en fonction des conditions du milieu: En condition optimale, elle est d'une dizaine de jours. Le nombre moyen d'œufs

## Chapitre II – Matériel et Méthodes

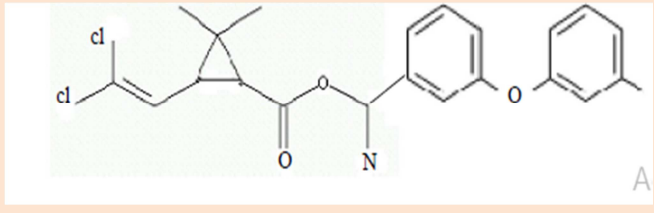
par ponte varie de 80 à 130 pour des individus de différentes origines(Bouguetof et Djaballah, 2017).

### 2. Matériel chimique

Dans notre expérimentation, les escargots sont traités par une formulation chimique dont la molécule active est unpyréthriinoïde de type II : La Cyperméthrine

Les caractéristiques physicochimiques de la Cyperméthrine ainsi que sa structure sont représentées dans le tableau suivant :

**Tableau 02.**Caractéristiques physico-chimiques et structure moléculaire de la Cyperméthrine (Source : fiche technique)

<b>Nom chimique</b>	(RS)-ot-cyano-3-phenoxybenzyl(IRS) cistrans-3-(2,2di chlorovinyl )-2,2dimeth y lcyclopropanecarboxylate
<b>Formule chimique</b>	$C_{22}H_{19}Cl_2NO_3$
<b>Poids moléculaire</b>	416,3
<b>Aspect</b>	Visqueux, couleur jaune ambré à brun
<b>Densité</b>	1,23-20 °C
<b>Solubilité</b>	Peu soluble dans l'eau (0,004mg/l mais Soluble dans la majorité des solvants organiques
<b>Log K<sub>ow</sub></b>	6,6
<b>Stabilité</b>	Relativement stable à la lumière dans les eaux peu acides et instable dans les milieux alcalins
<b>Structure moléculaire</b>	

### 3. Méthodes

#### 3.1. Conditions d'élevage

Les escargots utilisés dans notre expérimentation sont des adultes d'un poids moyen de  $10 \text{ g} \pm 1$ , collectés dans la région de Bekkaria -Tébessa.

Les essais sont réalisés dans les conditions suivantes: Photopériodes 18h de lumière / 24h, température  $20 \pm 2 \text{ }^\circ \text{C}$ .

Les escargots sont répartis dans des boîtes en plastiques transparentes avec couvercle perforés (pour assurer l'oxygénation). Chaque boîte contient une éponge mouillée pour maintenir l'humidité. Les lots sont nettoyées régulièrement (1 jour sur 2).

#### 3.2. Mode de traitement

Le traitement des animaux est effectué par addition de concentrations croissantes de Cyperméthrine dans l'alimentation (la laitue). Nous avons retenu 4 concentrations et un milieu témoin. Les escargots sont répartis en 5 lots, à raison de 11 escargots / lot (Tableau 03).

**Tableau 03.** Répartition des concentrations croissantes de Cyperméthrine

Lots	Concentration en $\mu\text{g/l}$
T	0
1	5
2	10
3	20
4	40



**Figure 08.** Exposition des escargots à la nourriture contaminée

### 3.3. Dissection et prélèvement de l'hépatopancréas et du rein

Après deux semaines de traitement (14 jours), les escargots sont mis à jeun pendant 48 heures afin de vider leur tube digestif, puis disséqués.

Après la dissection, le rein et l'hépatopancréas sont prélevés et pesés.

Les dosages enzymatiques sont réalisés sur l'hépatopancréas. ce dernier est divisé en 3 fragments :

- 1- Un fragment pour le suivi de l'activité catalase (CAT).
- 2- Un fragment pour la mesure de l'activité glutathion peroxydase (GPx).
- 3- Un fragment pour le suivi de l'activité glutathion-S-transférase (GST).



**Figure 09.** Dissection et prélèvement de l'hépatopancréas

### 4. Paramètres étudiés

#### 4.1. Paramètres physiologiques

##### 4.1.1. Poids de l'hépatopancréas et du rein

Une fois les escargots disséqués, les hépatopancréas et les reins sont prélevés et pesés individuellement à l'aide d'une balance de précision. A la fin du traitement, le poids moyen de chaque lot est calculé et comparé à celui du témoin (pour chaque organe).

#### 4.2. Paramètres biochimique et enzymatiques

##### 4.2.1. Mesure de l'activité Catalase (CAT)

L'activité CAT est mesurée selon la méthode décrite par **Clairborne (1985)**. Elle repose sur la variation de la densité optique consécutive à la dismutation du  $H_2O_2$  à une longueur d'onde de 240 nm pendant 30 secondes (lecture toute les 15 s). Les résultats sont exprimés en  $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$  de protéines.

L'activité CAT est calculée selon la formule suivante :

$$\text{CAT } (\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg de protéines}) = \frac{\Delta\text{DO}}{0.040 \times \text{mg de protéines}}$$

Où :

✚  $\Delta\text{DO}$  : Densité Optique.

✚ 0,040 : Coefficient d'extinction de l'eau oxygénée.



## Chapitre II – Matériel et Méthodes

---

### 4.2.2. Mesure de l'activité glutathion peroxydase (GPx)

L'activité GPx est déterminée selon la méthode décrite par **Flohé et Gunzler (1984)**. Cette méthode est basée sur la réduction de  $H_2O_2$  en présence de GSH. Ce dernier est transformé en (GSSG) sous l'influence de la GPx selon la réaction suivante :



Les densités optiques sont mesurées à une longueur d'onde de 412 nm pendant 5 min (1 lecture / mn).

La détermination de l'activité enzymatique de la GPx se fait suivant la réaction ci-après :

$$GPx (\mu\text{mol GSH}/\text{min}/\text{mg de protéines}) = \frac{Q}{\text{mg de protéines}}$$

Où :

- ✚ Q : Quantité de GSH oxydé  $Q = ((DO \text{ échantillon} - DO \text{ étalon}) \times 0.04) / DO \text{ étalon}$
- ✚ DO échantillon : Densité Optique de l'échantillon.
- ✚ DO étalon : Densité Optique de l'étalon.
- ✚ 0.04 : Concentration du substrat (GSH).

## Chapitre II – Matériel et Méthodes

---

### 4.2.3. Mesure de l'activité glutathion-S-transférase (GST)

La mesure de l'activité glutathion-S-transférase (GST) est déterminée selon la méthode de **Habiget *al.*, (1974)**. Elle est basée sur la réaction de conjugaison entre la GST et un substrat, le CDNB (1-chloro 2, 4 dinitrobenzène) en présence d'un cofacteur le glutathion (GSH). La lecture d'absorbance est faite à une longueur d'onde égale à 340 nm.

L'activité GST est déterminée d'après la formule suivante :

$$\text{GST } (\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg de protéines}) = \frac{\Delta \text{DO} \times V}{9.6\mu\text{l}^{-1} \times d \times v \times \text{mg de protéines}}$$

Où :

- ✚ DO : Densité Optique.
- ✚ V : Volume totale de la cuve (1400  $\mu\text{l}$ ).
- ✚  $9.6\mu\text{l}^{-1}$  : Coefficient d'extinction
- ✚ d : Epaisseur de la cuve.
- ✚ v : Volume du surnageant.

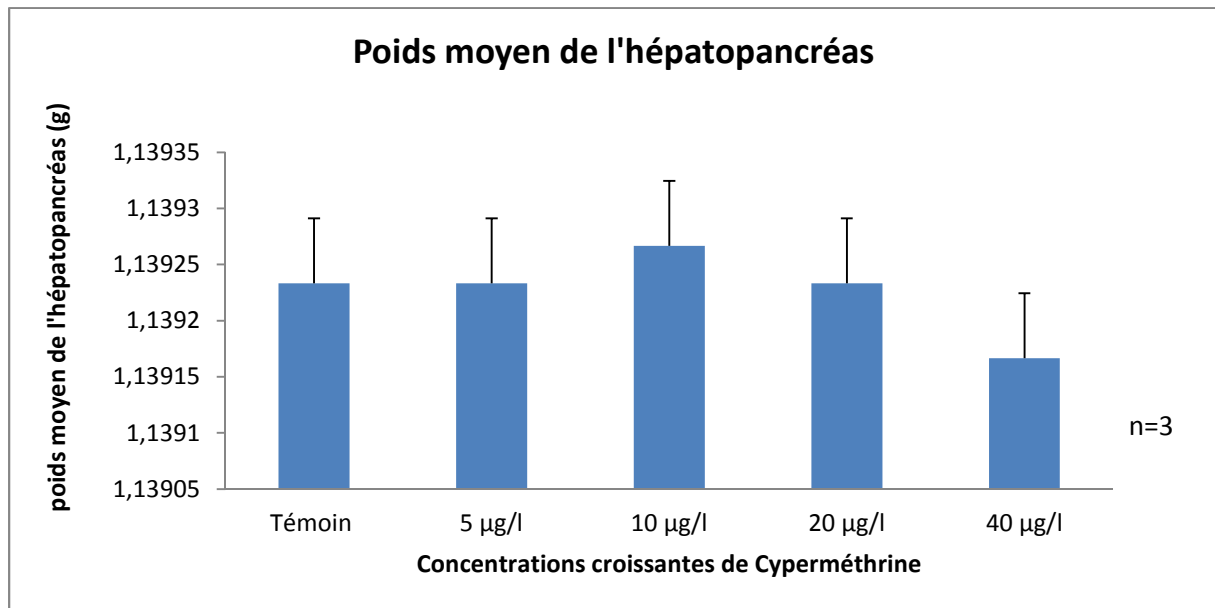
### 5. Analyses statistiques

L'analyse statistique des données est effectuée par le test T de Student. Ce test est réalisé à l'aide d'un logiciel d'analyse des données: Minitab (Version 14.0)

### 01. Effet du traitement par des concentrations croissantes de Cyperméthrine sur certains paramètres physiologiques chez *Helix aspersa*

#### 1.1. Effet des concentrations croissantes de la Cyperméthrine sur l'évolution du poids moyen des hépatopancréas des escargots *Helix aspersa* après deux semaines de traitement

La Figure (10) illustre les variations du poids moyen des hépatopancréas des escargots traités par les concentrations croissantes de Cyperméthrine après deux semaines de traitement.



**Figure 10.** Evolution du poids moyen des hépatopancréas chez *Helix aspersa* exposés aux concentrations croissantes de Cyperméthrine

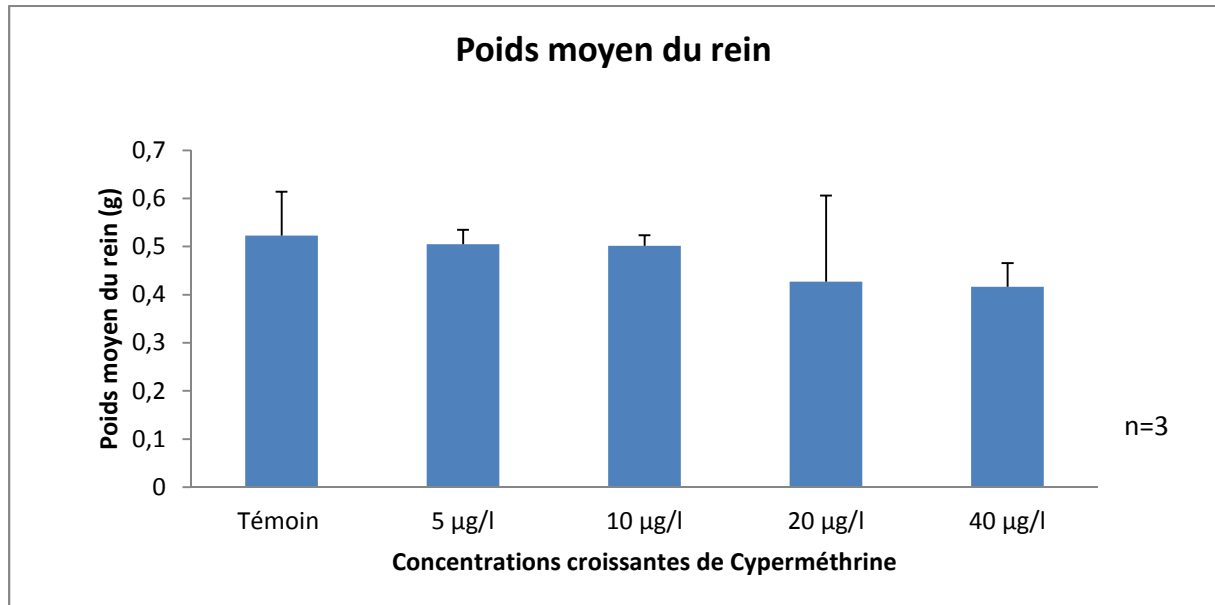
Nos résultats mettent en évidence une augmentation du poids moyen de l'hépatopancréas chez les escargots traités par la concentration de 10 µg/l par rapport aux escargots témoins. Cette augmentation est d'environ 0,003 %. En revanche, chez les escargots traités par la plus forte concentration, c'est à dire, 40 µg/l, le poids moyen de l'organe tend à diminuer comparé à celui témoin. En effet, cette diminution est d'environ 0,006 %.

L'étude statistique n'a cependant pas révélé de différences significatives entre les escargots témoins et ceux traités par les différentes concentrations.

## Chapitre III - Résultats

### 1.2. Effet des concentrations croissantes de la Cyperméthrine sur l'évolution du poids moyen des reins des escargots *Helix aspersa* après deux semaines de traitement

La Figure (11) met en évidence l'évolution du poids moyen des reins des escargots traités par les concentrations croissantes de Cyperméthrine.



**Figure 11.** Evolution du poids moyen des reins chez *Helix aspersa* exposés aux concentrations croissantes de Cyperméthrine

Les résultats obtenus ne montrent pas de différences entre les escargots traités par les deux plus faibles concentrations, c'est à dire, 5 et 10 µg/l et ceux témoins. Par contre, une légère diminution est observée chez les escargots traités par les deux plus fortes concentrations, à noter, 20 et 40 µg/l, comparé aux témoins. En effet, la diminution enregistrée entre le poids moyen de l'organe chez le lot témoin et celui traité par la plus forte concentration est d'environ 0,1065 g.

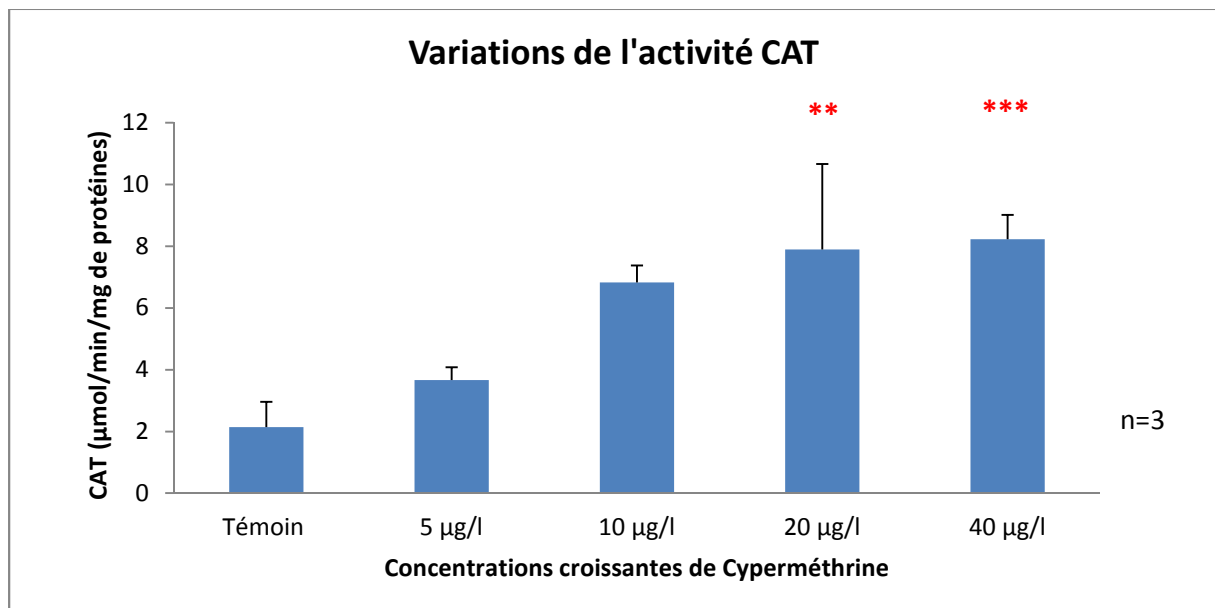
L'étude statistique n'a cependant pas révélé de différences significatives entre les escargots témoins et ceux traités par les différentes concentrations.

## Chapitre III - Résultats

### 2. Effet du traitement par des concentrations croissantes de Cyperméthrine sur certaines variations enzymatiques chez *Helix aspersa*

#### 2.1. Effet des concentrations croissantes de la Cyperméthrine sur la variation de l'activité catalase (CAT) au niveau de l'hépatopancréas des escargots *Helix aspersa* après deux semaines de traitement

La figure (12) illustre les variations de l'activité catalase en présence de la Cyperméthrine après 14 jours de traitement.

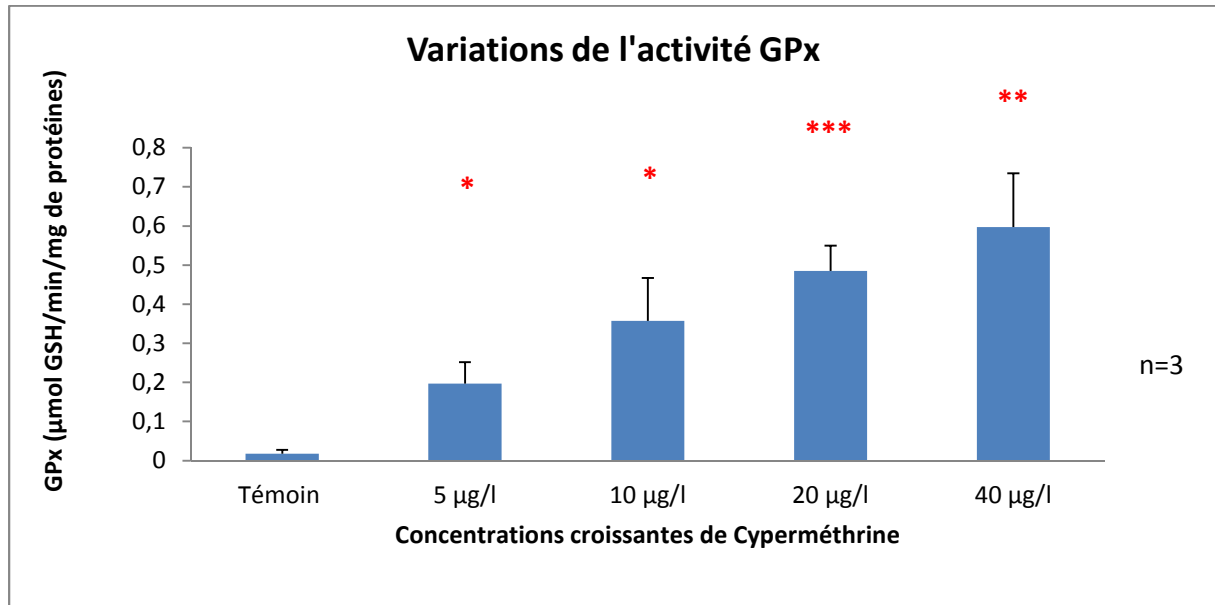


**Figure 12.** Variation de l'activité CAT chez *Helix aspersa* exposés aux concentrations croissantes de Cyperméthrine

Nous constatons une augmentation dose dépendante et significative chez les escargots exposés au xénobiotique et ceux témoins. En effet, cette augmentation est hautement significative ( $p \leq 0.01$ ) et très hautement significative ( $p \leq 0.001$ ) chez les lots traités par les concentrations 20 et 40 µg/l, respectivement et comparativement au lot témoin. A titre d'exemple, l'induction de l'activité enzymatique enregistrée chez les escargots traités par la plus forte concentration est quatre fois plus que chez celle enregistrée pour les escargots témoins.

### 2.2. Effet des concentrations croissantes de la Cyperméthrine sur la variation de l'activité glutathion peroxydase (GPx) au niveau de l'hépatopancréas des escargots *Helix aspersa* après deux semaines de traitement

La variation de l'activité GPx chez *Helix aspersa* en présence de la Cyperméthrine est représentée dans la figure (13).

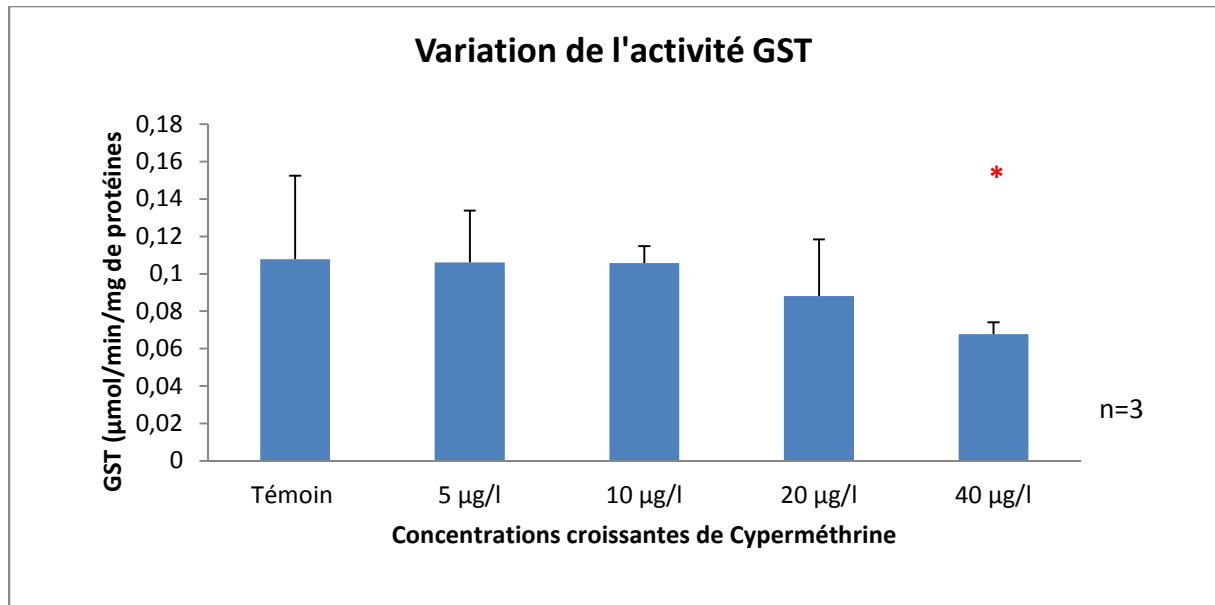


**Figure 13.** Variation de l'activité GPx chez *Helix aspersa* exposés aux concentrations croissantes de Cyperméthrine

Nos résultats mettent en évidence une augmentation dose dépendante et significative chez les escargots traités par les différentes concentrations de la Cyperméthrine. En effet, nous notons une augmentation très hautement significative ( $p \leq 0.001$ ) et hautement significative ( $p \leq 0.01$ ) chez les lots traités par les deux plus fortes concentrations par rapport à celui témoin. Ainsi, l'activité GPx passe de 0,02  $\mu\text{mol GSH/ min/ mg}$  de protéines chez les escargots témoins à 0,6  $\mu\text{mol GSH/ min/ mg}$  de protéines, environ, chez les escargots traités par la concentration de 40  $\mu\text{g/l}$ .

### 2.3. Effet des concentrations croissantes de la Cyperméthrine sur la variation de l'activité glutathion-S-transférase (GST) au niveau de l'hépatopancreas des escargots *Helix aspersa* après deux semaines de traitement

La variation de l'activité GST chez *Helix aspersa* exposé aux concentrations croissantes de Cyperméthrine après deux semaines de traitement es représentée dans la figure (14).



**Figure 14.** Variation de l'activité GST chez *Helix aspersa* exposés aux concentrations croissantes de Cyperméthrine

Nous constatons une diminution dose dépendante et significative ( $P \leq 0.05$ ) de l'activité GST chez les escargots traitées, spécialement, par la plus forte concentration (40 µg/l) comparé aux témoins. Ainsi, l'activité GST passe de 0,10 µmol/min/mg de protéines chez les escargots témoins à 0,06 µmol/min/mg de protéines chez ceux traités par la plus forte concentration.

## Chapitre IV : Discussion

---

Au cours des trois dernières décennies, les répercussions sur la santé publique attribuées à la pollution de l'environnement ont suscité de plus en plus d'inquiétudes. C'est la révolution industrielle qui a engendré la pollution de l'environnement telle que nous la connaissons aujourd'hui. Les populations des pays en développement sont particulièrement vulnérables à la pollution toxique résultant des processus industriels (**Djeffal, 2014**).

En effet, les gens sont exposés à plusieurs types de substances à large spectre en raison de l'évolution rapide de la technologie : La technologie nous a apporté des avantages évidents, et des milliers de produits chimiques fabriqués dans différentes régions sont mis sur le marché chaque année. Un de ces groupes de substances chimiques est les pesticides (**Djeffal, 2014**).

Grâce à leur capacité d'accumulation, les mollusques ont été les premiers organismes sentinelles utilisés dans les programmes de surveillance de la contamination chimique dans les écosystèmes (**Goldberg et al., 1978**) : L'un des premiers dispositifs utilisé, est l'escargot étant donné sa grande capacité d'accumulation des polluants les plus fréquents, à savoir les pesticides, cette propriété a été mise à profit pour son utilisation comme bio indicateur de pollution (**Ozkara et al., 2016**).

C'est pourquoi notre choix s'est porté sur ce modèle biologique et plus précisément sa glande digestive ou hépatopancréas connue pour être le siège principal de la métabolisation des xénobiotiques.

Notre étude vise à évaluer certaines variations enzymatiques chez *Helix aspersa* exposé à un pyréthrinoides de type II largement utilisé en Algérie.

Nous nous sommes intéressés, d'abord, à l'effet des concentrations choisies de l'insecticide sur l'évolution de certains paramètres physiologiques, à savoir, le poids moyen de l'hépatopancréas et celui du rein.

Nos résultats montrent une diminution non significative chez les escargots traités par la plus forte concentration (40 µg/l) dans les deux organes, comparativement aux témoins. En revanche, une perturbation est relevée dans le poids moyen de l'hépatopancréas chez les lots traités par les concentrations 5, 10 et 20 µg/l. Ces résultats sont en accord avec ceux de (**Belgacem et Charef, 2018; Atilia, 2016 ; Ferfar, 2012**). Par ailleurs, **Bibic et al., (1997)** et **Hopkin et al., (1995)** et stipulent que dans un environnement pollué, l'animal se met



## Chapitre IV : Discussion

---

dans un état de jeûne prolongé pour éviter la nourriture souillée. De plus, il est admis que certains composés chimiques provoquent une inhibition du développement des organes mous, particulièrement, en interférant avec certaines hormones de croissance ou les ions calciques (**Tadjine, 2007**).

Les systèmes de défense anti-oxydants sont présents dans toutes les cellules aérobies et neutralisent les réactions chimiques intermédiaires produites de façon endogène et / ou dues au métabolisme des xénobiotiques. L'activité du système anti-oxydant peut subir une induction et/ou une inhibition sous l'effet d'une contrainte chimique (**Leve et Kaplowitz, 1991**). C'est pourquoi les organismes sont munis d'arsenal antioxydant à la fois enzymatique et non enzymatique leur permettant de contrecarrer et lutter contre les dommages oxydatifs, qui peuvent être liés soit à une production accrue de radicaux libres, soit à une altération de la défense antioxydante ou bien les deux à la fois. Le rôle majeur, donc, du système antioxydant est la protection de la cellule et de son intégrité ainsi que le maintien de l'homéostasie (**Amamra, 2015**).

Les catalases sont des enzymes principalement péroxysomales dont le rôle est de prévenir les peroxydations des molécules biologiques induites par le peroxyde d'hydrogène en catalysant la réaction de sa dismutation en eau et en oxygène moléculaire. Elles constituent avec les SOD la première ligne de défense contre les attaques radicalaires (**Moumeni, 2017; SapanaDevi et Gupta, 2014; Amin et Hashem, 2012**). En effet, la catalase est considérée comme l'un des biomarqueurs les plus sensibles au stress oxydatif particulièrement vis à vis des pollutions chimiques. L'induction de l'activité CAT observée dans notre étude pourrait être due à une intensification de l'activité antioxydante en vue de la dégradation des radicaux oxygénés et la conversion du peroxyde d'hydrogène en oxygène gazeux et en eau. L'induction de l'activité CAT est en accord avec les résultats rapportés par **Braham et Mansour (2017)** dans leur étude exposant des verres de terre à un insecticide à base de Deltaméthrine, ou encore, ceux rapporté par **Radwan et al., (2010)**, qui ont enregistré une augmentation de cette activité enzymatique chez *Helix aspersa* traités par un insecticides de la famille des Neonicotinoids (l'imidaclopride). D'autres travaux, à l'instar de ceux de **Bakry et al., (2016)** suggèrent que des pesticides comme le diazinon et le profenfos pourraient inhiber l'activité CAT chez les escargots *Biomphalaria alexandrina*.

## Chapitre IV : Discussion

---

Les GPx servent d'appoint aux CAT et aux SOD pour l'élimination de l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Elles constituent, sans doute, des enzymes antioxydantes très importantes car en plus de la détoxification de l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, elles interviennent, aussi, dans la neutralisation des peroxydes (**Zhu et al., 2010; Maiorino et al., 1991**). Toutes les glutathion peroxydases contiennent dans leurs sous-unités un à quatre atomes de sélénium selon l'isoenzyme. Ainsi, Elles ont besoin de la présence de glutathion réduit et de sélénium pour fonctionner normalement. Nos résultats mettent en évidence une augmentation dose dépendante et hautement significatives, particulièrement, chez *Helix aspersa* exposés aux fortes concentrations de l'insecticide. Ces résultats sont en parfait accord avec ceux de **Abdel-Daim (2015)** qui stipule que les pyréthroïdes ont le potentiel d'induire des enzymes antioxydantes telles que la GPx. Des résultats similaires sont rapportés par d'autres travaux comme ceux de **Gueddouche (2017)** exposant le gastéropode *Helix vermiculata* à deux types d'engrais : le NPK (Azote, phosphate, potassium) et l'Urée.

En ce qui est de la variation de l'activité GST, nos résultats illustrent une inhibition dose dépendante et significative chez les individus traités par la plus forte concentration par rapport à ceux témoins. Cela va dans le même sens que les travaux de **Graraet al., (2012)**, qui ont mis en évidence une diminution de l'activité GST au niveau de l'hépatopancréas de la même espèce soumise à une exposition à des poussières métalliques. Cette diminution peut être une réponse au stress oxydatif provoqué par la présence de la cyperméthrine dans l'organe.

De nombreuses études ont montré qu'après une exposition de diverses espèces aux polluants, la GST pourrait s'exprimer par une induction et/ou une inhibition. Ainsi, les travaux **d'Ait Hamlet et al., (2016) et (2013)** ont montré une induction de cette enzyme chez *Helix aspersa* exposés au thiaméthoxamet au téfluthrine, respectivement.

Il est à noter que la GST intervient au niveau de la phase II du processus de détoxification cellulaire en catalysant la conjugaison entre le glutathion réduit, et les composés électrophiles (**Charlenet al., 2010**). Cette conjugaison du GSH avec certains substrats permet la formation de composés plus hydrosolubles, et donc, moins toxiques. La GST joue également un rôle dans la destruction des peroxydes et des époxydes provenant de l'oxydation non enzymatique des acides gras (**Valko et al., 2006**). L'inhibition observée dans notre étude

## Chapitre IV : Discussion

---

pourrait rendre compte du stress subit par notre modèle d'étude et/ou de l'épuisement du GSH, substrat de l'enzyme en question. Par ailleurs, Il convient de souligner qu'au cours des réactions enzymatiques catalysées par les GPx et les GST, le GSH est régénéré au moyen de la GSH réductase, une action nécessitant la présence d'équivalents réduits (NADPH).

Pour conclure, l'exposition d'*Helix aspersa* aux concentrations croissantes de Cyperméthrine, un insecticide largement utilisé en Algérie, a occasionné de fortes variations dans les activités enzymatiques étudiées.

En effet, les résultats obtenus mettent en évidence des perturbations physiologiques dans le poids moyen de l'hépatopancréas et du rein. En outre, les activités CAT et GPx ont été fortement induites ce qui pourrait renseigner sur leur implication dans la détoxification des ROS générées. L'activité GST, par contre, a été inhibée ce qui nous laisse supposer que cette molécule et/ ou ses métabolites pourraient supprimer l'activité de la dite enzyme.

Nos résultats, bien que préliminaires, vont dans le même sens que beaucoup d'études qui se sont penchées sur le potentiel toxique des pyréthrinoides, insecticides supposés être inoffensifs et utilisés comme répulsifs et anti-moustiques dans nos habitations et dans des environnements, généralement, clos !

En définitif et afin de mieux étayer nos résultats, il serait intéressant:

- ✓ de mesurer d'autres activités enzymatiques comme l'acétylcholine estérase, la lactate déshydrogénase (LDH) et la cytochrome P450.
- ✓ d'effectuer une étude sur les œufs et les juvéniles car les résultats seront plus concluants.
- ✓ de mener une étude histologique, qui illustrerait mieux les éventuels changements occasionnés.
- ✓ d'étudier l'association de ces insecticides avec des antioxydants.

A

- **Aouacheri W., Saka S., Djafer R., 2009.** L'effet toxique d'un insecticide (alphaméthrine) sur l'activité du système enzymatique de détoxification du glutathion. *Annales de Toxicologie Analytique* ; 21(3): 125-129.
- **ACTA, 2005** Index Phytosanitaire. 41ème éd. Paris. France. 820p. Pandey SP and Mohanty B (2015) The neonicotinoid pesticide IMD and the DTC fungicide mancozeb disrupt the pituitary-thyroid axis of a wildlife bird *Chemosphere*. MAR 122(2): 27-34
- **Ait Hamlet S., Bensoltane S., Djekoun M., Berrebbah H., 2016.** Evaluation of acetylcholinesterase, glutathione S-transferase and catalase activities in the land snail *Helix aspersa* exposed to thiamethoxam ; 4(5): 369-374.
- **Ait Hamlet Bourbia Y. 2013.** Évaluation de la toxicité de mélanges de pesticides sur un bio-indicateurs de la pollution des sols *Helix aspersa*. Mémoire de doctorat, Université Badji Mokhtar. Annaba. 177 pages
- **Aligon D., Bonneau J., Garcia J., Gomez D., Le Goff., D., (2010).** Estimation des expositions de la population générale aux insecticides : les organochlorés, les organophosphorés et les pyréthrinoides. Projet d'estimation des risques sanitaires. Ecole des hautes études en santé publique. P57.
- **Amamra Rima, Mohamed Réda Djebbar, Ouissem Moumeni, Zoubi Azzouz, Ibtissem Zeriri, Amira Atailia, Sana Benosmane, Houria Berrebbah. 2015.** Lipid peroxidation, oxidative stress and respiratory metabolism alteration in the freshwater ciliate *Paramecium tetraurelia* exposed to cypermethrin, a pyrethroid insecticide. *J. Bio. & Env. Sci.*. Vol. 6, No. 4, p. 115-123.
- **Amiard J.C., Caquet T., Lagadic L., (1997).** Les biomarqueurs parmi les méthodes d'évaluation de la qualité de l'environnement, In : Utilisation de biomarqueurs pour la surveillance de la qualité de l'environnement. Lagadic L, Caquet T, Amiard JC, Ramdade F (eds.) Lavoisier Tec&Doc, Paris, Londres, New York).
- **Amin, K.S. Hashem, 2012.** Deltamethrin-induced oxidative stress and biochemical changes in tissues and blood of catfish (*Clarias gariepinus*): antioxidant defense and role of alpha-tocopherol, *BMC Vet. Res.* 8. article 45.
- **Atailia A., 2016.** Impact de la pollution industrielle (métaux lourds) sur le développement et la reproduction de l'escargot *Helix aspersa*: Effets sur les biomarqueurs. PhD Thesis. Badji Mokhtar University., pp: 124.

B

- Bakry F . A., Karem El-Hommosany, Mahmoud Abd El-Atti. 2016.** Alterations in the fatty acid profile, antioxidant enzymes and protein pattern of *Biomphalaria alexandrina* snails exposed to the pesticides diazinon and profenfos. Toxicology and and Industriel Health. Volume: 32 issue: 4, page(s): 666-676
- Berger M, 2006** Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances. Nutrition clinique et métabolisme 20: 48-53
- Baraka-Vidot J., 2014.** Stress oxydant et pathologie diabétique à l'île de La Réunion – Identification et caractérisation des propriétés structurales et fonctionnelles de l'albumine glyquée , Thèse de doctorat. Université de la REUNION. p 196.
- Belgacem O., Charef M., 2018.** Evaluation du stress oxydatif généré par les nanoparticules chez *Helix aspersa* : Cas du dioxyde de titane. Mémoire de master. Université de Tebessa. p41.
- Berger M, 2006** Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances. Nutrition clinique et métabolisme 20: 48-53
- Bibic, A., Drobne, D., Strus, J. and Byrne, A. R., 1997.** Assimilation of zinc by Porcellio scaber (Isopoda, Crustacea) exposed to zinc, Bull. Environ. Contam. Toxicol. 58, 814-821.
- Bonnet J.C., Vrillo J.L., 1990.** L'escargot *Helix aspersa* biologie-élevage. Institut National de l'Agronomi- paris. P124.
- Bouguetof A., Djaballah S., 2017.** Evaluation de la toxicité potentielle d'une mixture de pesticides (Oxychlorure de cuivre et Thiaméthoxam) sur l'escargot *Helix aspersa*. *Mémoire de Master*. Université Larbi Tébessi- Tébessa. P52.
- Braham A., Mansour L., 2017.** Etude de l'impact d'un pesticide, le Décis sur une espèce bioindicatrice de la pollution, vers de terre : Biochimie et biomarqueurs du stress environnemental. Mémoire de master. Université de Larbi Tébessi –Tébessa. p 41.

C

**-Charlene C M.** 2010. Roundup effects on oxidative stress parameters and recovery pattern of *Rhamdia quelen*. archives environmental contamination and toxicology. Available: <http://dx.doi.org/10.1007/s00244-010-9574-6>.

**-Cœurdassier, M., Saint-denis, M., gomot-de vaufléury, A., Ribera, D., Badot, P. M., 2001.** The garden snail (*Helix aspersa*) as a bioindicator of Références bibliographiques 47 organophosphorus exposure: effects of dimethoate on survival, growth and acetylcholinesterase activity. Environmental Toxicology and Chemistry ; 20 : 1951-1957.

D

**-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. p 148.

F

**-Ferfar K., 2012.** Évaluation de la toxicité d'un fongicide nouvellement introduit à base d'oxychlorure de cuivre sur un animal bio-accumulateur /bio-indicateur : *Helix aspersa*. Mémoire de Master. P36.

**-Fortin M., 2009.** Développement, application et validation d'une nouvelle stratégie de mesure des indicateurs biologiques de l'exposition aux pyréthrinoïdes et aux pyréthrinés chez l'humain. Thèse de doctorat. Université de Montréal. p192.

G

**-Gardès-Albert M, 2006** Stress oxydant: Aspects physico-chimiques des espèces réactives de l'oxygène. Ann Pharm Fr 64: 365-372

**-Gardès-Albert M., Bonnefont-Rousselot D., Abedinzadeh Z et Jore D., 2003.** Espèces réactives de l'oxygène Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ? .91-96

**-Garait B., 2006.** Le stress oxydant induit par voie métabolique (régimes alimentaires) ou par voie gazeuse (hyperoxie) et effet de la GliSODin® .Thèse de doctorat. Université Joseph Fourier - Grenoble. p 194.

**-Goldberg E.D., Bowen V.T., Farrington W., Harvey G., Matin J.H., Parker PL., Risebrough R.W., Robertson W., Schneider E., Gamble E., 1978.** The mussel warch. Environ conservation ,5:101-125.

**-Gueddouche M., 2017.** Effet de certains engrais sur une espèce de gastéropode, *Helix vermiculata* : Biochimie et biomarqueurs. Mémoire de master. Université de Larbi Tébessi – Tébessa. p 69.

**-Grara N., Boucenna M., Atailia A., Berrebbah H., Djebbar M.R., 2012.** Stress oxydatif des poussières métalliques du complexe sidérurgique d'Annaba (Nord-Est algérien) chez l'escargot *Helix aspersa*. Environ Risque Sante ; 11 : 221-9.

### H

**-Harrath K., Bouaziz S., 2018.** Etude du comportement et des atteintes structurelles et membranaires chez *paramecium sp.* Exposé à un pesticide. Mémoire de master Université Larbi Tébessi –Tébessa.p34.

**-Hénault-Ethier L., 2015.** Health and environmental impacts of pyrethroid insecticides: What we know, what we don't know and what we should do about it. Executive summary and literature review. Équiterre. Montréal, Canada. p68.

**-Hopkin, S.P., 1995.** Deficiency and excess of essential and non-essential metals in terrestrial insects, In: Harrington, R., Stork, N.E., (Eds.), Insect in a Changing Environment, Academic Press, London 251-270

### I

**-Ismert M., 2000.** Les enzymes de biotransformation des xénobiotiques chez *Helix spersa* (escargot) et *Pleurozium schreberi* (mousse), Biomarqueurs potentiels de la pollution atmosphérique par les hydrocarbures aromatiques polycycliques. thèse de doctorat . Université Paul Verlaine – Metz. p 153.

### K

**-kadala P., 2011.** Action des pyréthrinoïdes sur le canal sodique activé par le potentiel des neurones du système olfactif de l'abeille domestique *Apis mellifera*. Thèse doctorat. Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse- France. P107.

**-Kafi M., Maoui O., 2017.** Contribution à l'étude de la variation morphométrique chez des individus adultes appartenant à l'espèce *Helix aspersa* (Gasteropoda : Helicidae) échantillonnés dans des sites à différents degrés de pollution (Région de Bejaia). Mémoire de Master. Université Abderrahmane MIR-Bejaia. P29.

-**Kumary K., Fulekar M., 2012.** Investigation of potential rhizospheric isolate for cypermethrin degradation. *Biotech*; 3:33–43.

### L

- **Lalmi S., Lazreg A., 2016.** Effet de deux molécules nanométriques sur les paramètres physiologiques des escargots « *Helix aspersa* ». Mémoire de Master. Université Larbi Tébessi-Tébessa. P44.

- **Larba R., 2014.** Biosurveillance de l'environnement dans la région Est : mesure de biomarqueurs chez *Helix aspersa* et corrélation avec les caractéristiques physico-chimiques des sols. Thèse doctorat. Université badji mokhtar – Annaba. P100.

-**Leve De L., Kaplowitz N., 1991.** Glutathione metabolism and its role in hepatotoxicity. *Pharmacology Therapeutics* . 1991. (52): 287-305.

-**Lü J, Lin PH, Yao Q, Chen C, 2010** Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: Experimental approaches and model systems. *Journal Cell Mod Med* 14: 840-860

### M

-**Maiorino M., Chu F.F., Ursini F., Davies K.J.A., Doroshov J.H., Esworthy R.S ., 1991.** Phospholipidhydroperoxide glutathione peroxidase is the 18-kDa selenoprotein expressed in human tumor cell lines. *J BiolChem* ; 266:7728-7760.

-**Maurent K., 2017.** Synthèse de composés phénoliques de type diarylheptanoïde. Evaluation de leurs propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires. thèse de doctorat. Université Paul Sabatier – Toulouse III. p 220.

-**Merhi M., 2008.** Etude de l'impact de l'exposition à des mélanges de pesticides à faibles doses: caractérisation des effets sur des lignées cellulaires humaines et sur le système hématopoïétique murin. Thèse de doctorat. Université de Toulouse. p140.

-**Mohamed M, Abdel-Daim, Nevien K H, Abdelkhalek ahmed M Hassan. 2015.** Antagonistic activity of dietary allicin against deltamethrin-induced oxidative damage in freshwater Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Ecotoxicology and Environmental Safty* 111, 146-152. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.10.019>

-**Moumeni O., 2017.** Etude de la toxicité d'un Cyclohexanedione (herbicide) sur deux modèles biologiques d'eau douce : *Paramecium tetraurelia* et *Daphnia magna*. Thèse de Doctorat. Université d'Annaba; pages 171.



O

**-Özkara A., Akyl D., Konuk M., 2016.** Pesticides, Environmental Pollution, and Health, Environmental Health Risk - Hazardous Factors to Living Species, Marcelo L. Larramendy and Sonia Soloneski, National University of La Plata .ISBN: 978-953-51-2402-3. IntechOpen, 4-15.

P

**-Palmquist K., Salatas J., Fairbrother A., 2012.** Pyrethroid Insecticides: Use, Environmental Fate, and Ecotoxicology In: Insecticides - Advances in Integrated Pest Management. Ed by: Farzana Perveen, ISBN: 978-953-307-780-2. p708. Publisher InTechopen .

R

**-Radwan M.A., El-Gendy K.S., Gad A.F., 2010.** Biomarkers of oxidative stress in the land snail, *Theba pisana* for assessing ecotoxicological effects of urban metal pollution. *Chemosphere*. 79 (1): 40-46

S

**-Sapana Devi M., Gupta A., 2014.** Sublethal toxicity of commercial formulations of deltamethrin and permethrin on selected biochemical constituents and enzyme activities in liver and muscle tissues of *Anabas testudineus*. *Pestic. Biochem. Physiol*, 115, 48–52.

**-Stachowski-Haberkorn S, 2008** Méthodes d'évaluation de l'impact de pesticides sur le phytoplancton marin et le naissain d'huître creuse Université de Bretagne Occidentale. 187pp

T

**-Tadjine A., 2007.** Impact de la pollution atmosphérique d'origine particulaire sur deux modèles (le rat et le lapin). Approche histologique, biochimique, hématologique et toxicologique. Thèse de doctorat. *Université de Annaba*. P.104.

### U

**-Uno K and Nicholls SJ, 2010** Biomarkers of inflammation and oxidative stress in atherosclerosis. *Biomark Med* 4: 361-373.

### V

**-Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., Izakovic, M., Mazur, M., 2006.** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions* 160, 1-40.

### W

**-WHO, 1989.** Cypermethrin. Environmental Health Criteria 82. United Nations Environment Programme, International Labor Organization. Geneva, Switzerland.

**-Willemin M., 2014.** Modélisation de la toxicocinétique des isomères cis et trans de la perméthrine et de ses métabolites chez le rat et de leur métabolisme sur hépatocytes humains. Thèse de doctorat. Université de technologie Compiègne. p237.

**-Woollen B. H., Marsh J. R., Laird W. J. D., Lesser J. E., 1992** The metabolism of cypermethrin in man: differences in urinary metabolite profiles following oral and dermal Administration. *Xenobiotica*; 22(8):983-991.

### Z

**- Zaafour M., 2014.** Étude écophysiologique de la reproduction de l'escargot terrestre Petit-Gris (*Helix aspersa aspersa*, Gastropoda: Stylommatophora; Helicidea) dans la région Nord-Est d'Annaba – Algérie. Thèse doctorat. Université badji mokhtar – Annaba. P106.

**-Zhu., Chang Y., Chen Y.S., 2010.** Toxicity and bioaccumulation of Ti O<sub>2</sub>• nanoparticle aggregates in *Daphnia magna*;88-91.