



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Larbi Tebessi –Tebessa-
Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Appliquée
Domaine des Sciences de la Nature et de la Vie



Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master
En : Science biologique
Option : Toxicologie

Intitulée :

**Contribution à l'étude de l'impact des molécules
nanométriques (Fe_2O_3 et SiO_2) chez un
bioindicateur de pollution de l'environnement
l'escargot *Helix aspersa*.**

Présenté Par :

M^{lle}. BOUNEZRA Oum-keltoum & M^{lle}. SENOUCI Abir.

Devant le jury :

Mme. HAMEL. M	MAA	Université de Tébéssa	Président
Mme. BENAMARA. A	MAA	Université de Tébéssa	Rapporteur
Mme. ROUACHDIA. R	MAA	Université de Tébéssa	Examineur

Date de soutenance : 17 / 06 / 2020

Un grand Merci à (aux)...

Dieu pour tous les bienfaits qu'Il nous accordé et pour le courage qu'il nous a attribué afin de compléter ce travail.

On remercie aussi nous parents pour leur soutien morale et matériel pendant toute notre vie et surtout durant nos études.

De simples remerciements ne sont pas suffisants pour exprimer toute notre reconnaissance envers nos directeurs de mémoire : M^{me}. BENAMARA, Amel une maitresse assistante a l'université de Tébessa. A la fierté et à la chance d'avoir été votre encadrement.

Merci.

A M^{me} HAMEL, Mahdia et M^{me} ROUACHDIA, Roukia merci pour avoir pris sur son temps et accepter d'examiner ce travail et participer à ce jury.

Notre respect, notre reconnaissance ainsi que nos vifs remerciements vont à tous nos profs de notre spécialité et spécialement Dr. GESMI, Salim. Dr. TAIB, Chahinez. Mm BOUADILA, Soulef. Dr. TOUALBIA, Nadjiba. Pour leurs disponibilités et leur aide.

Le présent travail a été réalisé au Laboratoire de toxicologie de l'Université de Tébessa. Pour cela nous tenons à remercier la technicienne de laboratoire Mm BENZAIM. K pour sa bonne humeur, son aide précieuse, sa disponibilité, sa gentillesse, nous lui souhaite bonne chance pour sa carrière professionnelle.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail A tous ceux qui m'ont aidé lors de ce travail surtout :

Mes parents qui sont la lumière redoré mon chemin par leur sacrifier pour se réussisse dans ma vie, et de m'avoir élevé dans des bonnes conditions et qui aide moi à toutes les années pour ses riches conseils, pour son encouragement.

L'encre est exécutée mais les mots ne sont pas exécutés :

A mes chères sœurs : Sara et Zineb

A mon frère : Ibrahim

A ma meilleure famille.

*A mes Amis : Hajer, Abir, Ahlem, Amal, Aya et Khawla et et j'oublié pas
Radhia et Manara*

*Mes sincères remerciements s'adressent à mon frère et mon ami Abd-El Moumen
pour leur aide et leur soutien moral.*

*A tous les enseignants et enseignantes, dont je voue (plus grand respect, avec une
dédicace spéciale à mon encadreur.)*

A mes collègues de promotion de la classe de 2ème année Master

Xénobiotiques et risque toxicologique

Je souhaite pour vous la santé et le succès.

Par : Cum-Keltoum.

Dédicace

Je dédie ce travail :

A mes très chers parents, en témoignage, de mon profond respect et de l'amour que j'éprouve à leurs egars. Je vous exprime toute ma gratitude pour les sacrifices que vous avez consentis. Vous m'avez donné toute l'attention et tout l'amour qu'un être puisse espérer

A ma chères sœur Mariem et sa petite fille Kods le symbole de la patience et de la tendresse.

A mes frères ; Ibrahim et Bilal.

A la plus belle personne de ma vie ma fiancé BOUKHALFA, Adel merci pour ton soutien moral.

A toute la famille SENOUCI et la famille RAJS.

Je n'oublie bien évidemment pas mes amis, Joujou, Radhia et Manara pour les bonheurs qui j'ai passée avec elles.

Je les remercie chaleureusement pour tous les agréables moments passés ensemble avec ma promotion de la classe 2^{ème} année master xénobiotiques et risques toxicologique Je souhaite pour vous la santé et le succès.

Par : Abir.

المخلص

لقد ركزنا من خلال عملنا على تأثيرات الجسيمات النانوية المعدنية أكسيد الحديد وثاني أكسيد السيليس ومزيجهما عند مؤشر حيوي للتلوث وهو الحلزون *Helix aspersa* ، من اجل ذلك قمنا بتتبع تطور المؤشر الحيوي الفسيولوجي وهو الوزن المتوسط للحلزونات الصغيرة التي تعرضت لجرعات متزايدة من الجسيمات النانوية المعدنية أكسيد الحديد وثاني أكسيد السيليس ومزيجهما (500ميكروغرام /غ، 1000 ميكروغرام /غ، 5000 ميكروغرام /غ، 10000 ميكروغرام /غ، 15000ميكروغرام /غ) ضمن نظامهم الغذائي المتمثل في دقيق القمح اللين لمدة 28 يوما.

أظهرت النتائج المتحصل عليها اضطرابات في تطور وزن متوسط الحلزونات المتعرضة لجرعات مرتفعة (5000 ميكروغرام /غ، 10000 ميكروغرام /غ، 15000ميكروغرام /غ)، ولوحظ هذا الاختلال بانخفاض واضح عند المعالين بأكسيد الحديد بداية من الأسبوع الثالث. وأيضا في الأسبوع الثاني والرابع بالنسبة للحلزونات التي تعرضت للمزيج مقارنة بالشاهد. لكن هذا تأثير في الأسبوع الثالث أصبح مرتبا حسب الجرعات الثلاثة (5000 ميكروغرام/غ، 10000 ميكروغرام /غ، 15000 ميكروغرام /غ) كبيرا جدا، ثم شديد الأهمية في النهاية تراجع هذا التأثير، بينما خلال فترة العلاج بأكملها لم يلاحظ أي تأثير في الحلزون المعالج بثان أكسيد السيليس.

الكلمات المفتاحية:

النانوية المعدنية؛ أكسيد الحديد وثاني أكسيد السيليس؛ *Helix aspersa*

Abstract :

Our work focuses on the effects of metallic nanoparticles of iron oxide, silica dioxide and their mixtures in a pollution bioindicator, the snail *Helix aspersa*. For this, we followed the evolution of a physiological biomarker such as the average weight of juvenile snails exposed by ingestion and by contact with wheat flour contaminated with increasing concentrations (500µg / g, 1000µg / g, 5000µg / g, 10,000 µg / g and 15,000 µg / g) of metal oxide nanoparticles and their mixtures for 28 days.

The results obtained showed a disturbance in the evolution of the average weight of snails treated with the highest doses (5000µg / g, 10000µg / g and 15000µg / g), this disturbance is marked in those treated with iron oxide nanoparticles. from the third week by a significant decrease as well as in those treated with mixtures at the second and at the fourth week of treatment and this compared to the witnesses but at the third week the effect is highly significant, then very highly significant and finally significant for the three doses of the mixtures (5000 µg / g, 10000 µg / g and 15000 µg / g) respectively. While no significant effect observed in the treated with silica dioxide during the entire treatment period.

- **Keywords:** *Helix aspersa, metallic NPs, Iron oxide, Silica dioxide, toxicity*

Résumé

Notre travail porte essentiellement sur les effets des nanoparticules métalliques d'oxyde de fer, de dioxyde de silice et leurs mixtures chez un bioindicateur de pollution, l'escargot *Helix aspersa*. Pour cela nous avons suivi l'évolution d'un biomarqueur physiologique tel que le poids moyen des escargots juvéniles exposés par ingestion et par contact à la farine de blé contaminé par des concentrations croissantes (500µg/g, 1000µg/g, 5000µg/g, 10000µg/g et 15000µg/g) des nanoparticules d'oxyde métalliques et de leurs mixtures pendant 28 jours.

Les résultats obtenus montrent une perturbation dans l'évolution du poids moyen des escargots traités par les plus fortes doses (5000µg/g, 10000µg/g et 15000µg/g), cette perturbation est marquée chez les traitées par les nanoparticules d'oxyde de fer à partir de la troisième semaine par une diminution significative ainsi que chez les traitées par les mixtures à la deuxième et à la quatrième semaine de traitement et ce par rapport aux témoins mais à la troisième semaine l'effet est hautement significative, en suite très hautement significative et enfin significative pour les trois doses des mixtures(5000µg/g, 10000µg/g et 15000µg/g) respectivement. Alors qu'aucun effet significatif constaté chez les traités par le dioxyde de silice durant toute la période de traitement.

Mots clés : *Helix aspersa*, NPs métalliques, Oxyde fer, Dioxyde de silice, toxicité

SOMMAIRE

Remerciement

Dédicace

المخلص

Abstract

Résumé

Liste des tableaux

Liste des figures

Tableau des abréviations

Introduction

Recherche bibliographiques

1. Nanoparticules	2
2. Classification des nanoparticules	3
3. Applications des nanoparticules	4
4. Cycle de vie des nanoparticules et rejet dans l'environnement	5
5. Risque des NPs sur l'environnement	7
6. Devenir des nanoparticules dans l'organisme	8
6.1. Absorption.....	8
6.1.1. Voie respiratoire.....	8
6.1.2. Voie cutanée.....	9
6.1.3. Voie digestive	9
6.2. Distribution	10
6.3. Métabolisme et biotransformation.....	10
6.4. Elimination	10
7. Risque pour la santé humaine	11
8. Facteurs de détermination de toxicité des nanoparticules :	12
9. Toxicité des nanoparticules	13

10. Nanoparticules métalliques étudiées.....	15
10.1. Oxyde de fer	15
10.2. Effets d'oxyde de fer	17
10.3. Oxyde silice.....	18
10.4. Effets de silice.....	19

Partie expérimentale

1. Matériel et méthodes	20
1.1. Matériel.....	20
1.1.1. Matériel biologique	20
1.1.2. Matériel chimique	28
2. Méthodes	29
2.1. Conditions d'élevage et application de traitement	29
2.2. Mesures des paramètres physiologiques.....	31
2.3. Prélèvement de l'hémolymphe	32
2.4. Analyse statistique	33

Résultats et discussion

1. Résultats	34
1.1. Effets des nanoparticules (Fe₂O₃, SiO₂, et leurs mixtures) sur l'évolution du poids moyen.....	34
1.1.1. Effet des nanoparticules de dioxyde de silice sur l'évolution du poids moyen des escargots <i>Helix aspersa</i> en fonction du temps	34
1.1.2. Effet des nanoparticules d'oxyde de fer sur l'évolution du poids moyen des escargots <i>Helix aspersa</i> en fonction du temps.....	36
1.1.3. Effet des mixtures nanométriques sur l'évolution du poids moyen des escargots <i>Helix aspersa</i> en fonction du temps.....	38
2. Discussion	40

Conclusion et perspective

Conclusion

Perspective

Références bibliographiques

Liste des tableaux

Tableau 1: Différents domaines d'application des NPs	5
Tableau 2: Principales caractéristiques physico-chimiques des nanomatériaux,.....	12
Tableau 3: Synthèse et utilisation des différents types de NPs Fe ₂ O ₃	16
Tableau 4: Mode de traitement et doses utilisées	31
Tableau 5: Analyse de la variance à deux critères de classification (temps, dose) du poids moyen des escargots juvéniles d' <i>Helix aspersa</i> traités par les NPs de dioxyde de silice pendant une période de quatre semaine (m ± s, n=3).....	35
Tableau 6: Analyse de la variance à deux critères de classification (temps, dose) du poids moyen des escargots juvéniles d' <i>Helix-aspersa</i> traités par les NPs d'oxyde de fer pendant une période de quatre semaine (m ± s, n=3).	37
Tableau 7: Analyse de la variance à deux critères de classification (temps, dose) du poids moyen des escargots juvéniles d' <i>Helix aspersa</i> exposés aux mixtures nanométrique (dioxyde de silice et oxyde de fer) pendant une période de quatre semaine (m ± s, n=3).	39

LISTE DES FIGURES

Figure 1: L'échelle nanométrique.....	2
Figure 2: Les différentes classes des nanoparticules.....	3
Figure 3: Cycle de vie des nanomatériaux manufacturés dans l'environnement, (ENM : Engineered Nanomaterial).....	6
Figure 4: Schéma de synthèse représentant les transformations (a) physiques, (b) biologiques, (c) chimiques et (d) les interactions avec les macromolécules que les nanomatériaux subissent dans l'environnement, (NOM : Natural Organic Matter, ROS : Reactive Oxygen.....	7
Figure 5: Pénétration des nanoparticules par voie respiratoire	9
Figure 6: pénétration des NPs par voie digestive.....	10
Figure 7: Cinétique des nanoparticules. Le processus ADME (Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion) est représenté.	11
Figure 8: Flux de travail impliqué dans l'évaluation de la nanotoxicité et de la nanoécotoxicité.....	13
Figure 9: Principales espèces réactives d'oxygène (ROS) et espèces réactives d'azote (RNS) dans la voie de stress oxydatif.....	14
Figure 10: Voies de pénétration et principales maladies associées à l'exposition aux nanoparticules, selon les résultats d'études épidémiologiques et cliniques	15
Figure 11: Schéma illustrant les différentes voies de diffusion des NPs-Fe dans l'environnement	18
Figure 12: Analogie entre la structure et les fonctionnalités communes de la Terre et d'une nanoparticule de silice fonctionnelle.....	19
Figure 13: escargot Petit-Gris (<i>Helix aspersa</i>).....	20
Figure 14: la coquille de petit-gris <i>Helix aspersa</i>	21
Figure 15: Forme dextre de la coquille de l' <i>Helix aspersa</i>	21
Figure 16: Morphologie de l' <i>Helix aspersa</i>	22
Figure 17: Appareil génitale de l' <i>Helix aspersa</i>	24
Figure 18: Schéma en coupe de l'anatomie d'un escargot.....	25
Figure 19: Escargot en hibernation avec son épiphragme (a droite) <i>Helix aspersa</i> avec son épiphragme calcifié (a gauche).....	27
Figure 20: Accouplement de l'escargot <i>Helix aspersa</i>	27
Figure 21: Oxyde fer.	29
Figure 22: Oxyde de silice.	29

Figure 23: Exposition des escargots Petit-Gris à l'alimentation contaminée.....	30
Figure 24: mesure du poids de l'escargot <i>Helix aspersa</i>	32
Figure 25: Prise d'hémolymphe dans l'artère antérieure d'un escargot petit-gris.	33
Figure 26: Evolution du poids moyen des escargots juvéniles d' <i>Helix aspersa</i> traités par différentes concentrations des NPs du SiO ₂ en fonction du temps ($m \pm s$, n=3).	34
Figure 27: Evolution du poids moyen des escargots juvéniles (<i>Helix aspersa</i>) traités par différentes concentrations de NPs de Fe ₂ O ₃ en fonction du temps ($m \pm s$, n=3).	36
Figure 28: Evolution du poids moyen des escargots juvéniles d' <i>Helix aspersa</i> traités par différentes concentrations de mixtures nanométrique en fonction du temps ($m \pm s$, n=3).	38

Tableau d'abréviations

ADME	Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion.
As	Arsenic.
CNT	Carbon Nanotube (Nanotubes de Carbone).
Cr	Chrome.
ENM	Engineered Nanomaterial (Nanomatérial Manufacturée).
ERO	Espèce Réactif Oxygéné.
Fe₂O₃	Oxyde de Fer.
Fe₃O₄	Magnétite.
γ-Fe₂O₃	Maghémite.
α-Fe₂O₃	Hématite.
IRSST	Institut de Recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail.
MC-LR	Microcystine-LR.
MNP	Nanoparticules Magnétique.
MPOC	Maladie Pulmonaire Obstructive Chronique.
NPs	Nanoparticules.
NPs-Fe	Nanoparticules de Fer Manufacturées.
NOM	Natural Organi Matter (Matières Organiques Naturelles).
NMs	Nanoparticules Manufacturées.
OCDE	Organisation de Coopération et de Développement Economiques.
ROS	Reactive Oxygen Species (Espèces Réactives de l'Oxygène).
ROS	Oxygène Réactif.
RNS	Azote Réactif.
SiO₂	Oxyde de Silicium.
SNC	Système Nerveux Central.
SPION	Super Paramagnetic Iron Oxides Nanoparticls.
TiO₂	Oxyde de Titane.
ZnO	Oxyde de Zinc.
ZVI	Zéro Valent Iron.

Introduction

Introduction

Les nanotechnologies sont définies comme l'ensemble des techniques visant à concevoir, caractériser et produire des matériaux à l'échelle du nanomètre dans au moins une de leurs dimensions. Ces nanomatériaux sont eux-mêmes constitués de nano-objets (nanoparticules, nanotubes...). Leur dimension nanométrique leur confère, du fait des lois de la physique quantique, de nouvelles propriétés physicochimiques et des comportements inédits (**Andujar et al, 2009**).

Le développement des nanotechnologies est en plein essor depuis une dizaine d'années (**Grara et al, 2017**). En effet, Les applications technologiques sont nombreuses notamment dans les secteurs industriels innovants, tels que l'industrie cosmétique (écrans solaires, rouges à lèvres, pâtes dentifrices...), l'industrie automobile (peintures, pneumatiques, lubrifiants, pare-brise...), le secteur de la santé (pharmacocinétique et biodisponibilité des médicaments, matériels prothétiques, imagerie moléculaire...) (**Andujar et al, 2009**).

L'utilisation grandissante de produits contenant des nanoparticules peut entraîner une exposition des différents compartiments environnementaux. Par conséquent, l'évaluation de leurs effets sur l'environnement apparaît indispensable (**Manier, 2014**).

La toxicité des nanoparticules sur les organismes est principalement due à leur composition chimique et à leur réactivité de surface (**Grara et al, 2017**). Elle est constatée se traduit notamment par une induction de stress oxydatif, une génotoxicité et une réponse inflammatoire (**Galey, 2019**).

Cette toxicité est généralement déterminée par des expériences sur des animaux conformément aux lignes directrices du OCDE (Organisation de coopération et de développement économiques) (**Besnaci et al, 2016**). De nombreux groupes d'invertébrés sont reconnus pour leurs intérêts en écotoxicologie, Parmi les plus couramment cités, les mollusques gastéropodes terrestres et aquatiques présentent la plupart des critères définis par Edwards et al. (1996) guidant le choix des taxons à retenir pour l'évaluation écotoxicologique (**Grara et al, 2017**).

L'escargot de genre Petit-Gris « *Helix aspersa* » est une espèce bioindicateur de toxicité, tandis que le choix préféré de cette espèce est principalement dû à sa capacité de bioaccumulation pour de nombreux polluants métalliques (**Besnaci et al, 2016**).

Notre recherche scientifique a pour objectif d'étudier une voie d'absorption (voie digestive) des nanoparticules d'oxyde métalliques (à base d'oxyde de fer et de dioxyde de silice) et leurs effets toxiques (physiologiques) chez une espèce de gastéropode pulmoné terrestre (*Helix aspersa*).

Recherche bibliographiques

1. Nanoparticules

Les nanomatériaux sont des structures classées selon le nombre de dimension à l'échelle nanométrique :

- ✓ **Matériaux de dimension 1** : Les nanotubes, dendrimères, nanofils, fibres et fibrilles ont une seule de leur dimension à l'échelle nanométrique (caractérisés par une structure linéaire).
- ✓ **Matériaux de dimension 2** : les films minces et revêtements de surface ont deux dimensions à l'échelle nanométrique (caractérisés par une structure plane).
- ✓ **Matériaux de dimension 3** : les fullerènes, nanoparticules...etc. ont leurs trois dimensions dans le domaine nanométrique, sous forme compacte (caractérisés par une structure polyédrique ou sphéroïde) (**Pujalté, 2011**).

Les nanoparticules (NPs) sont souvent de forme sphérique (**Pujalté, 2011**). Ce sont des structures composées de quelques centaines à quelques milliers d'atomes. Du fait de leur taille (1 à 100 nanomètres) (**Chuto, 2010**). Par conséquent, 1 nm correspond donc à 1 milliardième de mètre et il y a le même rapport de taille entre la planète terre et une orange qu'entre une orange et une NP (**Galey, 2019**).

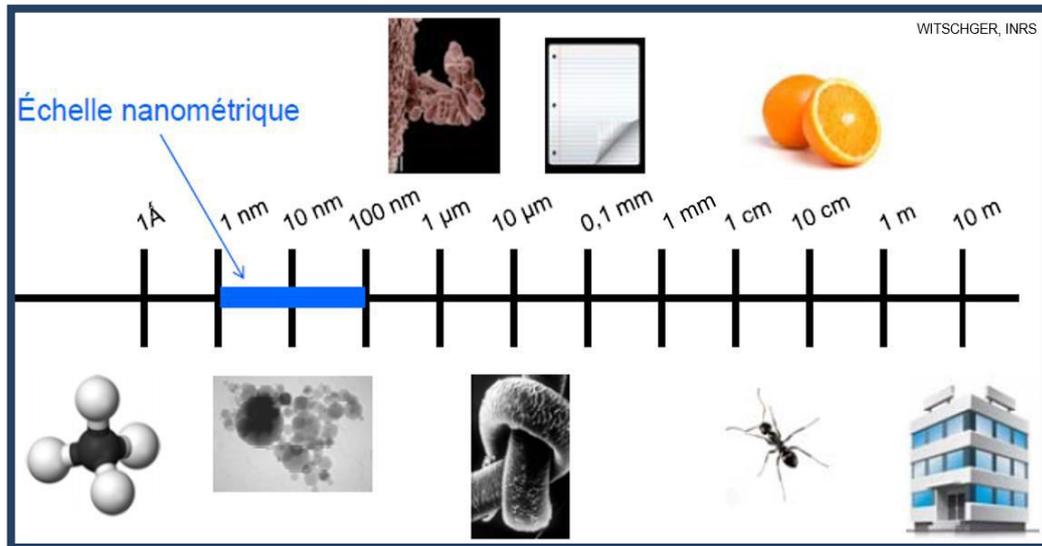


Figure 1: L'échelle nanométrique (**Galey, 2019**).

2. Classification des nanoparticules

Les nanoparticules sont une classe très hétérogène. Il existe donc plusieurs façons de les classer (Prosie, 2008). La classification de ces produits dépend à leurs différentes origines (Pailleux, 2012). L'exemple proposée ici n'est pas unique et ne s'applique pas à toutes les situations (Prosie, 2008).

- ✓ **Origine naturelle** : provenant principalement des phénomènes de nucléation, des condensations de vapeurs dans l'atmosphère, des volcans (cendres) et des combustions de forêts.
- ✓ **Origine anthropogéniques non-intentionnelle** : ou accidentelles issues des procédés chauds tels que le soudage des métaux ou encore la combustion des moteurs.
- ✓ **Origine anthropogéniques intentionnelles** : qui sont directement manufacturés par l'homme sous forme de nanomatériaux (Pailleux, 2012).

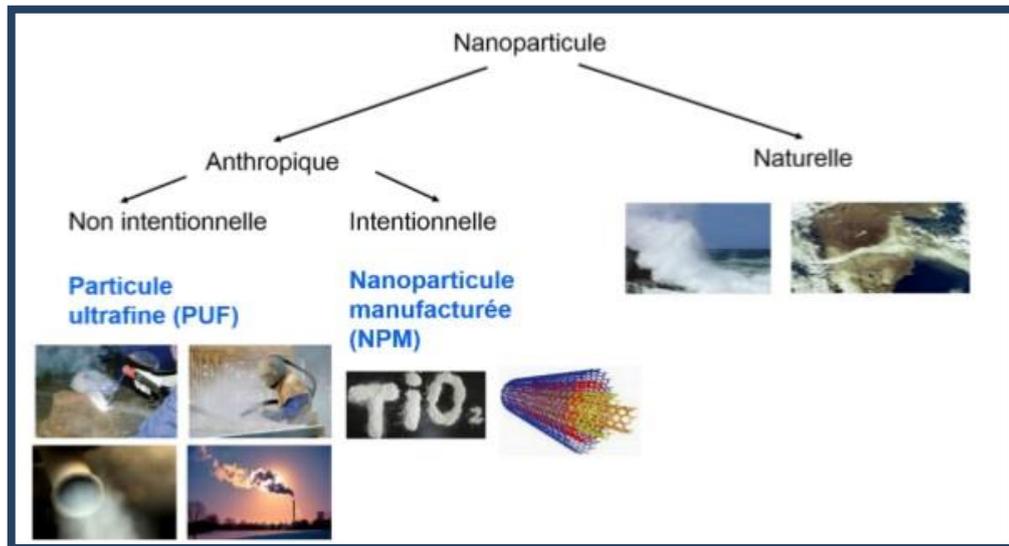


Figure 2: Les différentes classes des nanoparticules (Galey, 2019).

Les nanomatériaux peuvent donc se présenter sous un grand nombre de formes différentes, mais ils sont également caractérisés par une grande variété de propriétés chimiques (Simonin, 2015). On peut les classer selon la nature en NPs organiques et inorganiques (Chuto, 2010)

- ✓ **Les nanomatériaux organiques** : sont majoritairement commercialisés sous forme de nanotubes de carbone ou de fullerènes.
- ✓ **Les nanomatériaux inorganiques** : sont divisés en 3 classes « les quantum-dots (séléniure de cadmium) », « les nanomatériaux métalliques (argent, or...) » et « les oxydes métalliques (titane, fer, cérium, cuivre...) » (Simonin, 2015).

✓ Nanoparticules d'oxyde métalliques

Il existe Plusieurs types d'oxydes métalliques de dimensions nanométriques, particulièrement la silice, l'oxyde de titane et l'oxyde de zinc (**Ostiguy, 2010**). Et aussi le fer (NPs-Fe) (**Demangeat, 2018**). Qui sont produits à un grand échelle, Ils sont utilisés tels quels ou enrobés, principalement dans le domaine de la rhéologie, des plastiques et du caoutchouc en tant qu'agents actifs et d'additifs (SiO₂), des crèmes solaires (TiO₂, ZnO) et de pigments pour la peinture (TiO₂). En outre, certaines structures démontrent des propriétés intéressantes pour des applications virtuelles dans des domaines comme les senseurs, l'optoélectronique, les transducteurs, la médecine (**Ostiguy, 2010**).

3. Applications des nanoparticules

Depuis près d'une trentaine d'années, les techniques et les connaissances acquises dans le nanomonde ont initié une véritable révolution technologique (**Demangeat, 2018**).

Le programmes de recherche et de développement, en matière de nanotechnologie, visent à résoudre des problèmes qui touchent la société et la qualité de vie, en améliorant les produits existants mais aussi en donnant naissance à des techniques complètement nouvelles, pour trouver des réponses à certains des défis pressants auxquels l'humanité est confrontée (**Pujalté, 2011**).

Les nanoparticules font désormais partie de notre environnement quotidien avec des utilisations en constante expansion. Une liste non exhaustive des usages peut se concevoir sur la base de leur composition chimique ou bien des domaines d'application. Les principaux domaines sont les suivants : (Tableau 01)

Tableau 1: Différents domaines d’application des NPs (**Rapport de comité de la prévention et de la précaution, 2020**).

Domaines	Exemples
Médical	imagerie, vectorisation de médicaments, dispositifs médicaux...
Cosmétiques	Ecran soleil
Transport et espace	(peinture, pneumatiques, revêtements...)
Bâtiment	(nouveaux matériaux...)
Agriculture	(nanopesticides, nanocapteurs...)
Electronique	électroménager
Textiles	(antibactérien...)
Environnement	(stockage pour batteries, traitement eaux...)
Alimentation	additifs, emballage, nanocapteurs...)
Loisir et sport	(amélioration des équipements...)
Défense nationale	(nanorobots, exosquelettes...)

4. Cycle de vie des nanoparticules et rejet dans l’environnement

La production en milliers de tonnes de certaines NPs et leur incorporation dans des produits d’utilisation courante participent à leur dissémination dans l’environnement (**Pujalté, 2011**). Ainsi que, l’utilisation croissante de ses derniers soulève des interrogations quant à leur rejet dans l’environnement au cours des différentes étapes de leur cycle de vie, depuis la production jusqu’au retraitement (**Simonin, 2015**).

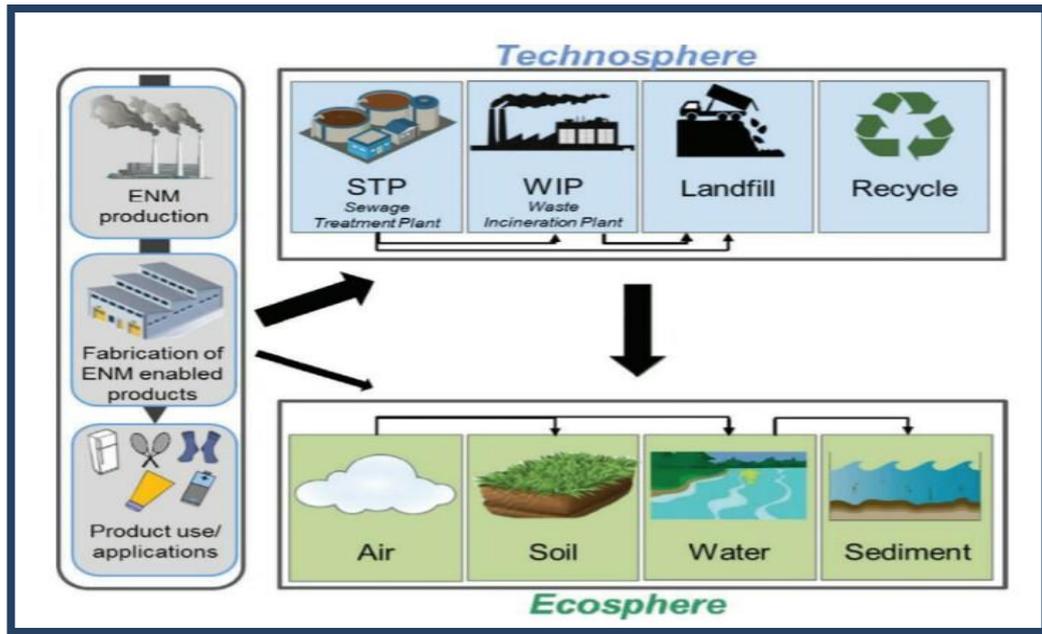


Figure 3: Cycle de vie des nanomatériaux manufacturés dans l’environnement, (ENM : Engineered Nanomaterial) (Simonin, 2015).

Au cours de leur cycle les NPs subir 4 grands types de transformations : chimiques, physiques, biologiques, et des interactions avec des macromolécules. Ces différents processus peuvent conduire à des modifications d’agrégation (homo et hétéro-agrégation), à la dissolution de certains nanomatériaux et au vieillissement des enrobages (coating) qui peuvent leur être associés (Simonin, 2015).

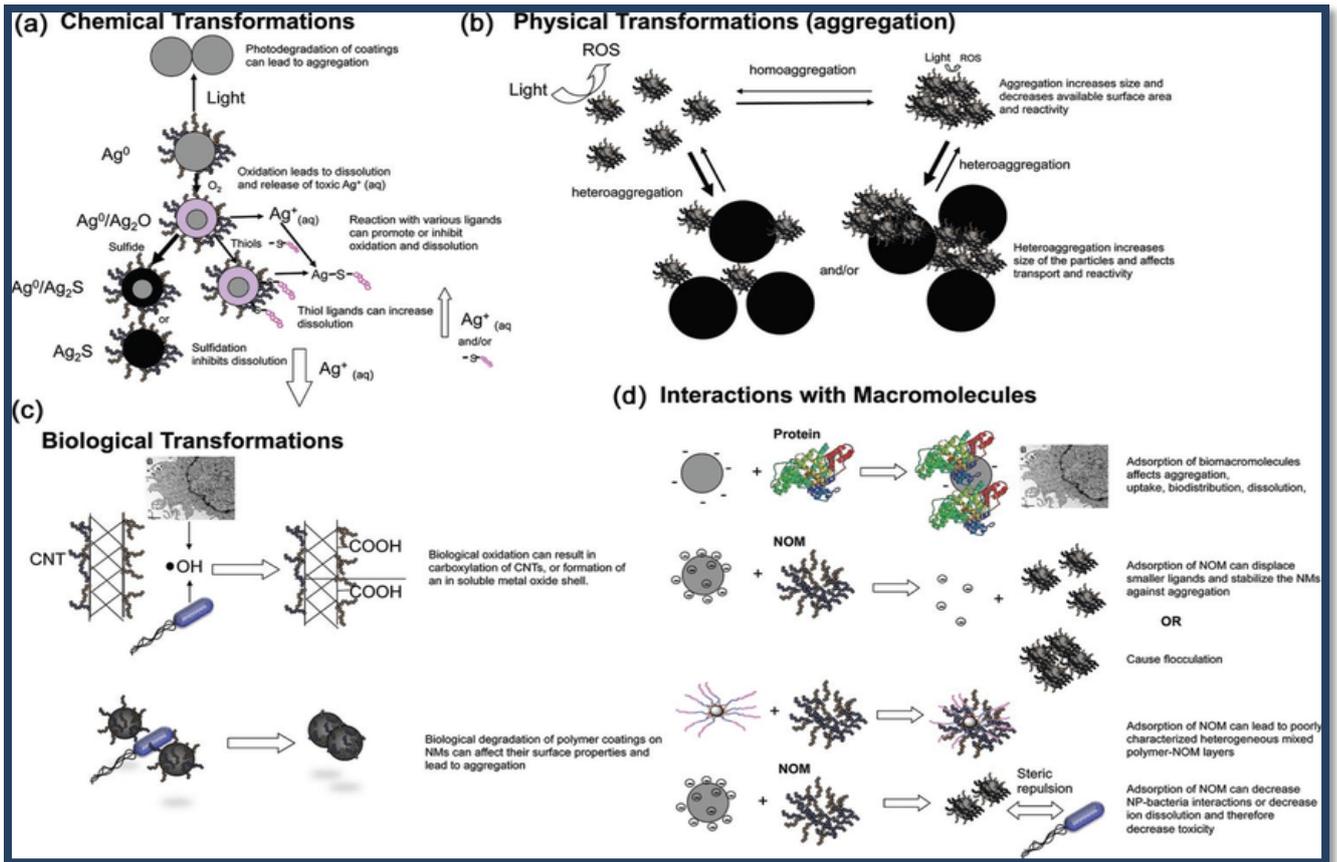


Figure 4: Schéma de synthèse représentant les transformations (a) physiques, (b) biologiques, (c) chimiques et (d) les interactions avec les macromolécules que les nanomatériaux subissent dans l'environnement, (NOM : Natural Organic Matter, ROS : Reactive Oxygen (Simonin, 2015)).

Enfin, les NPs entrent en contact avec de multiples espèces naturelles minérales et substances humiques insolubles, éléments traces métalliques ou organiques dissous, micro débris d'animaux ou végétaux et bactéries...etc. Dont l'interdépendance a un impact majeur sur la dynamique terrestre et sur la vie (Demangeat, 2018).

5. Risque des NPs sur l'environnement

Des nombreuses études commencent à montrer l'impact qui pourrait avoir les NPs dans l'environnement, mais actuellement il est difficile de savoir si les NPs vont poser un problème pour l'environnement à court ou à long terme (Baratli, 2015).

Pour beaucoup de NMs, les informations sont partielles voire manquantes sur leur devenir dans l'environnement (photo-dégradation, stabilité en solution aqueuse, transport entre compartiments, biodégradation) qu'il soit aquatique, terrestre ou aérien. L'évaluation des conséquences environnementales futures doit prendre en considération, la nature et

l'importance des sources, les mécanismes et les voies de transfert (atmosphère, eaux de ruissellement, rejet direct), les compartiments de stockage (eau, sols, sédiments), les espèces cibles et leurs interrelations (proie-prédateur) (**Rapport de comité de la prévention et de la précaution, 2020**).

6. Devenir des nanoparticules dans l'organisme

Afin de mettre en évidence une éventuelle toxicité des nanoparticules, il est nécessaire de déterminer le devenir de ces éléments dans l'organisme, c'est-à-dire leur cinétique qui regroupe l'ensemble du processus ADME (Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion) (**Guitou, 2014**).

Grace à leur petite taille, les nanoparticules sont capables de passer les barrières biologiques et physiques et ainsi diffuser ou se distribuer dans tout l'organisme (**Pailleux, 2012**). Dans un premier temps ces substances (médicament ou toxique) sont absorbées. Cela correspond à son passage dans la circulation sanguine. Elle est ensuite distribuée aux différents organes et peut subir un métabolisme (ou biotransformation) au niveau du foie. Enfin elle peut être éliminée par voie rénale, biliaire ou fécale (**Guitou, 2014**).

En peut détaillais ces processus comme suit :

6.1. Absorption

Il est considéré classiquement que les nanoparticules peuvent rentrer au contact direct avec l'organisme par trois voies essentielles : respiratoire, cutanée, et digestive (**Boczkowski et Lanone, 2010**).

6.1.1. Voie respiratoire

C'est la voie de pénétration la plus fréquente en milieu de travail (**Prosie et al, 2008**). Elles se déposent en fonction de leur granulométrie à des niveaux différents des voies respiratoires (**Rapport du Comité de la Prévention et de la Précaution, 2020**). Lorsqu'elles arrivent dans le système respiratoire, elles ne sont pas arrêtées comme d'autres particules plus fines au niveau des bronches ; au contraire, du fait de leur taille, elles peuvent pénétrer profondément dans les alvéoles pulmonaires pour y provoquer des inflammations. Elles peuvent également franchir la barrière pulmonaire et atteindre le système circulatoire (**Association santé environnement France, 2017**).

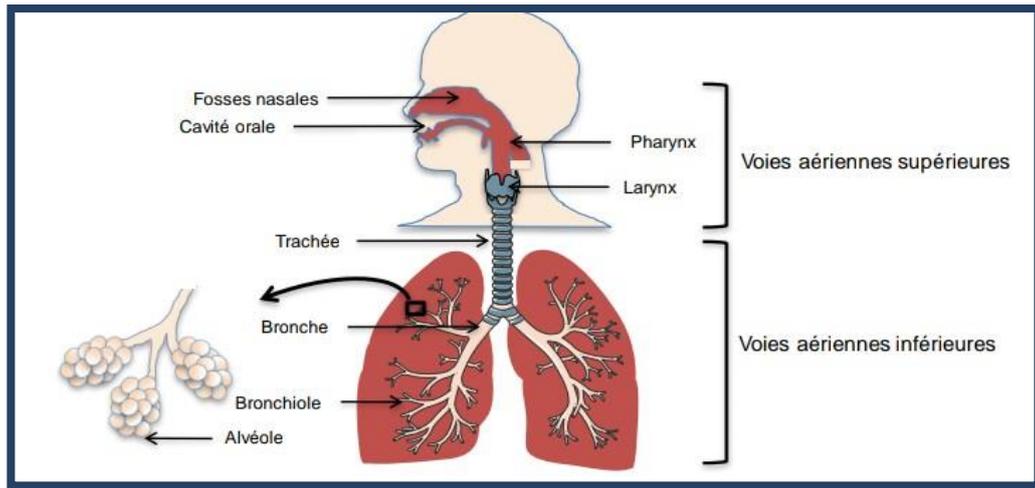


Figure 5: Pénétration des nanoparticules par voie respiratoire (Andujar, 2016).

6.1.2. Voie cutanée

Le nombre de produits contenant des NPs pouvant entrer en contact avec la peau est en augmentation (crèmes solaires, produits cosmétiques, textiles, etc.). La peau est constituée d'une barrière importante dans la protection de l'organisme. Elle se compose de trois épaisseurs : l'épiderme, le derme et l'hypoderme (Pujalté, 2011).

L'exposition aux nanoparticules par voie cutanée est probablement faible en raison du temps long de dépôt sur les surfaces. Les principales nanoparticules susceptibles de pénétrer par voie cutanée sont l'argent utilisé pour le textile, le dioxyde de titane pour les crèmes solaires et l'aluminium dans les déodorants (Pailleux, 2012).

6.1.3. Voie digestive

La voie digestive représente une importante voie d'entrée des NPs dans l'organisme via l'ingestion de produits alimentaires, l'eau et de médicaments contenant éventuellement des NPs (Pujalté, 2011).

Les nanoparticules peuvent pénétrer de deux façons différentes à l'intérieur du tube digestif soit par :

- ✓ **Ingestion involontaire :** qui peut avoir lieu lorsque le mucus du système respiratoire contient des NPs (Pailleux, 2012).
- ✓ **Lors de l'inhalation :** une partie des NPs remontant vers le carrefour aérodigestif, par un mouvement micellaire, peut être ingérée.

A ce jour pourtant, peu d'études se sont intéressées à cette voie et les quantités de NPs retrouvées dans l'organisme après ingestion portent à débat (Pujalté, 2011).

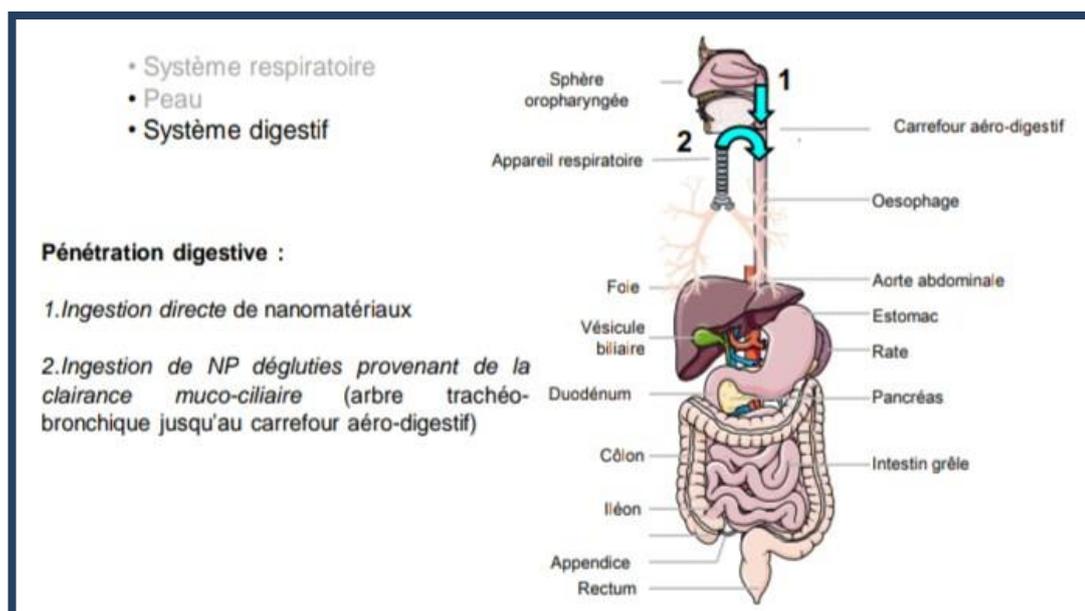


Figure 6: pénétration des NPs par voie digestive (Andujar, 2016).

6.2. Distribution

La deuxième étape de la cinétique est la distribution de ces nanoparticules aux différents tissus ou organes (foie, rate, cœur, cerveau). A travers le phénomène de la translocation les particules insolubles ou peu solubles, déposées dans la circulation générale, elles peuvent interagir avec les protéines plasmatiques, les facteurs de coagulation, les globules blancs ou les globules rouges (Guitou, 2014).

6.3. Métabolisme et biotransformation

Peu de résultats sont disponibles à ce jour sur le métabolisme concernant les nanoparticules absorbées au niveau du système gastro-intestinal qui rejoignent le foie (organe de métabolisation) par la veine porte (Guitou, 2014).

Selon les recherches institutionnelles de l'IRSST il n'existe pas des données sur la biotransformation des NPs « organiques, inorganiques et à base de carbone » mais les NPs sphériques telle que les fullerènes peut diminuer l'activité enzymatique hépatique du glutathion (glutathion -S-transférase, glutathion peroxydase et glutathion réductase) *in-vitro* chez l'humain (foie provenant d'une autopsie), les souris et les rats (Ostiguy et al, 2006).

6.4. Elimination

L'élimination des NPs n'est pas comme les composés xénobiotiques (étrangers à l'organisme) traditionnels. On peut néanmoins distinguer deux voies d'élimination :

- **L'élimination chimique :** c'est-à-dire la dissolution des nanoparticules dans des fluides biologiques (Association santé environnement France, 2017). Cependant, soit par voie

rénale ou biliaire pour les nanoparticules ayant gagné la circulation générale (Guitou, 2014).

- **L'élimination physique** : qui consiste au transport des nanoparticules vers d'autres sites de l'organisme (Association santé environnement France, 2017). Notamment, par leur « porte d'entrée » si celles-ci ne sont pas absorbées (escalator mucociliaire pour la voie pulmonaire) (Guitou, 2014).

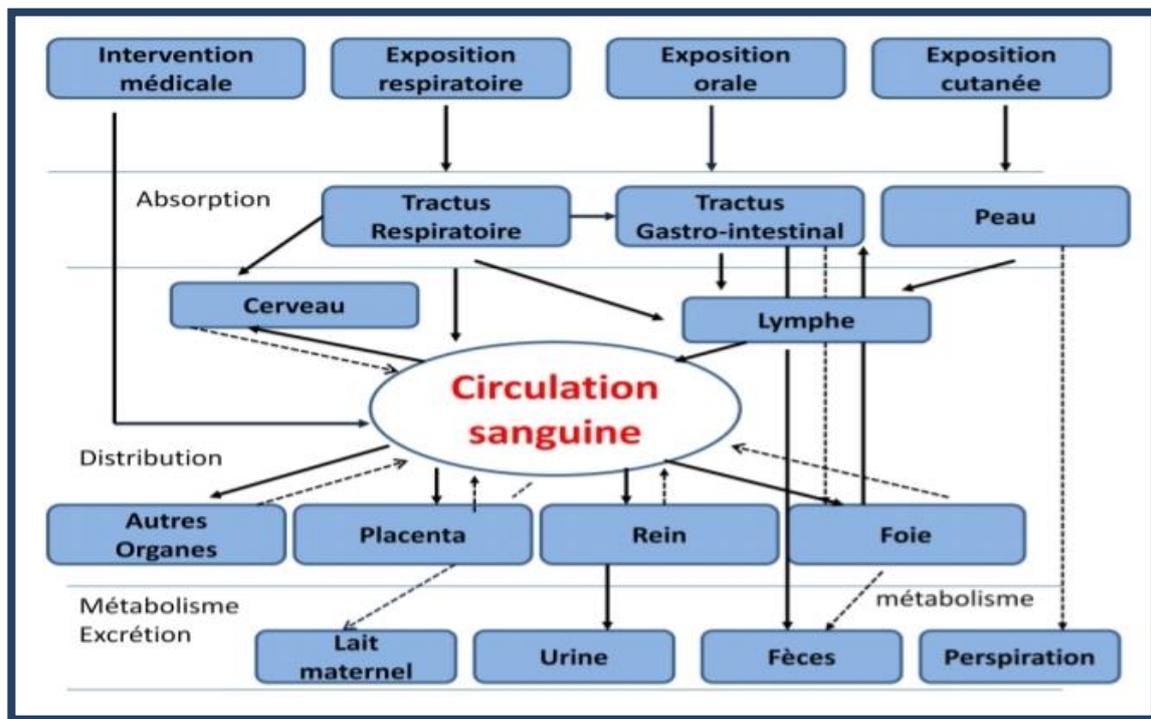


Figure 7: Cinétique des nanoparticules. Le processus ADME (Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion) est représenté. (Guitou, 2014).

7. Risque pour la santé humaine

Un certain nombre de questions demeurent quant aux effets toxiques des NPs sur la santé. Ces questions sont motivées par l'augmentation du risque d'exposition de la population générale aux NPs, exposition qui va s'amplifier au cours des prochaines années (Pujalté, 2011).

Actuellement, on connaît encore peu de choses sur l'éventuelle interaction non maîtrisées entre des NPs manufacturées et les organismes vivants. Pourtant, certaines de leurs caractéristiques les distinguent fortement des matériaux macroscopiques et rendent leur comportement unique vis-à-vis du vivant (Auffan, 2007).

8. Facteurs de détermination de toxicité des nanoparticules :

En peut résumer les facteurs de toxicité dans le tableau suivant :

Tableau 2: Principales caractéristiques physico-chimiques des nanomatériaux (Larue, 2011).

Facteurs liés aux NPs qui déterminent leur toxicité	
Composition chimique	La nature des NPs (notamment métallique), ainsi que la présence de composés chimique (les hydrocarbures aromatique polycyclique et les métaux de transition : fer, nickel, ect.) adsorbée sur leur surface, sont susceptibles d'influer sur leur toxicité.
Taille	Une diminution de la taille des particules ou des fibres favorise leur pénétration dans les cellules et leur migration dans l'organisme.
Surface	La surface spécifique d'une particule est inversement proportionnelle à sa taille. De plus la surface des NPs joue un rôle fondamental dans les contacts et les interactions avec les différents tissus et cellules.
Nombre	L'augmentation du nombre favorise la pénétration des nanoparticules dans l'organisme.
Forme	La toxicité semble être aggravée par la forme fibreuse ou filamenteuse des NPs. Les particules longues comme les nanotubes ou les nanofilaments seraient plus toxiques que les particules sphériques de composition chimique identique.
Structure	La cristallinité, pour les composée minéraux (comme la silice ou le titane) peut contribuer à moduler les propriétés toxicologique de NPs.
Solubilité	La dissolution constitue une étape critique dans la détermination du devenir des NPs dans l'organisme.
Degrés d'agrégation et d'agglomération	Les NPs individuelles existent rarement. Elles ont une tendance naturelle à s'unir de façon irréversible pour donner naissance à des structures secondaires nommées agrégats. Sous certaines conditions, les agrégats peuvent à leur tour se lier pour former des structures tertiaires réversibles nommée agglomérats dont la taille peut atteindre plusieurs dizaines de micromètres.

9. Toxicité des nanoparticules

Des recherches approfondies sont en cours pour évaluer la nanotoxicité de différents nanomatériaux dans diverses expositions et de définir les facteurs de risque (**Bettazzi et Palchetti, 2019**). Pour ce là, les nanoparticules constituent un problème toxicologique émergent indiscutable (**Massea et Boudéne, 2008**).

Les études de nanotoxicité sont disponibles à ce jour, on utilise des modèles cellulaires in vitro, qui sont constitués par une grande variété de lignées continues diploïdes ou de cellules primaires, parmi lesquelles des cellules nerveuses, pulmonaires, hépatiques, sanguines, épithéliales ou endothéliales, phagocytaires, ou encore cancéreuses. Certaines études sont aussi menées sur des microorganismes (E.coli...), ou des levures (S.cerevisiae) (**Triboulet, 2013**).

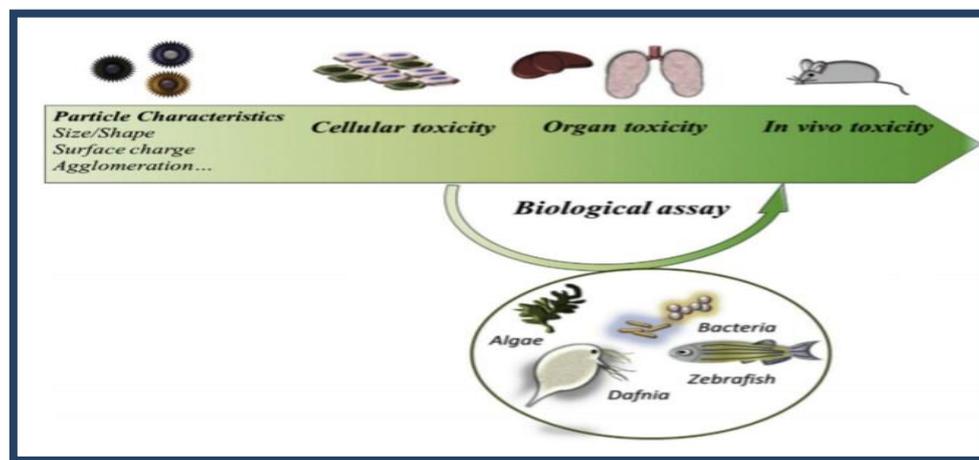


Figure 8: Flux de travail impliqué dans l'évaluation de la nanotoxicité et de la nanoécotoxicité (**Bettazzi, Palchetti, 2019**).

Tout d'abord, la plupart de ces études mettent en évidence l'association entre l'exposition aux nanomatériaux et la production de ROS, en particulier dans le cas des NPs métalliques (**Triboulet, 2013**). Cette association dépend de la taille, la concentration (**Verry, 2019**) et de la réactivité biologique des NPs (**Galey, 2019**). La formation d'ERO et l'induction d'un stress oxydant ont été mises en évidence dans de très nombreuses études utilisant des NPs très différentes les unes des autres (**Pujalté, 2011**).

De manière générale, le stress oxydatif est défini comme un déséquilibre entre la production d'oxygène réactif (ROS) et d'azote réactif(RNS) et la capacité de la cellule à détoxifier les réactifs intermédiaires ou réparer les dommages qui en résultent (**Bettazzi et Palchetti, 2019**). Les concentrations fortes en radicaux libres au niveau de la cellule peuvent conduire à des

modifications irréversibles des protéines et des acides aminés cellulaires (Atailia, 2017). Ces dommages oxydatifs conduisent à la mort cellulaire (Bettazzi et Palchetti, 2019).

Un radical libre est une espèce chimique, atome ou molécule contenant un ou plusieurs électrons (Pujalté, 2011). Non apparié, extrêmement instable (Atailia, 2017).

Comme on a mentionné au-dessus, la formation d'ERO est souvent la résultante d'une interaction entre NPs et environnement cellulaire. Les mécanismes de production des ERO sont bien décrits et peuvent être classés en trois groupes :

- **Production intrinsèque** : due à la réactivité de surface des particules, leur composition chimique et la présence d'impuretés à sa surface.
- **Production par interaction avec les organites intracellulaires** : (mitochondries, lysosomes ou peroxysomes).
- **Production sous la médiation de la réponse inflammatoire en réponse à des cytokines** : faisant intervenir des cascades de signalisation dans lesquelles l'homéostasie intracellulaire des ERO peut être déséquilibrée (Pujalté, 2011).

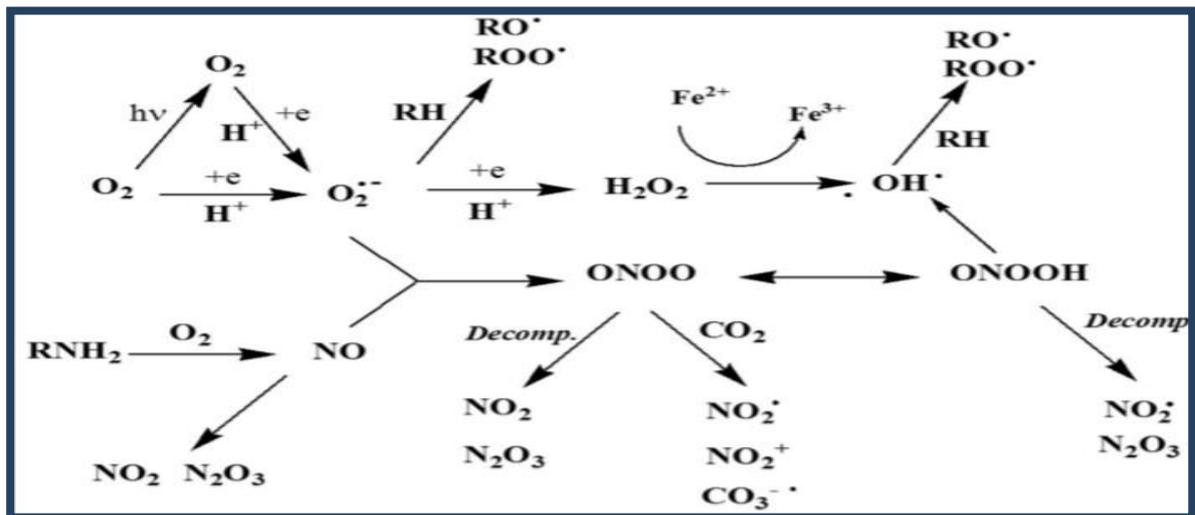


Figure 9: Principales espèces réactives d'oxygène (ROS) et espèces réactives d'azote (RNS) dans la voie de stress oxydatif (Amatore et al, 2008).

Ensuite, les études *in vitro* et *in vivo* démontrent donc que les effets cellulaires des NPs provoque un stress oxydatif, une génotoxicité, une activation des voies de signalisation pro-inflammatoires, ver des atteintes tissulaire « réaction inflammatoire, fibrose voire des cancers » (Galey, 2019). De plus les NPs peuvent touchées le système pulmonaire, immunitaire,

cardiovasculaire et nerveux (Sarah et al, 2016), essentiellement le SNC et les appareils reproducteurs (Galey, 2019).

Enfin, on présume que les nanoparticules ont les mêmes propriétés toxiques que les particules plus volumineuses des mêmes matériaux (p.ex. les effets cancérigènes et les effets de sensibilisation). Et en peut prendre comme exemple, la dissoudre dans la membrane externe ethumide des yeux, la cornée et causer une inflammation locale (une kératite) (Sarah et al, 2016).

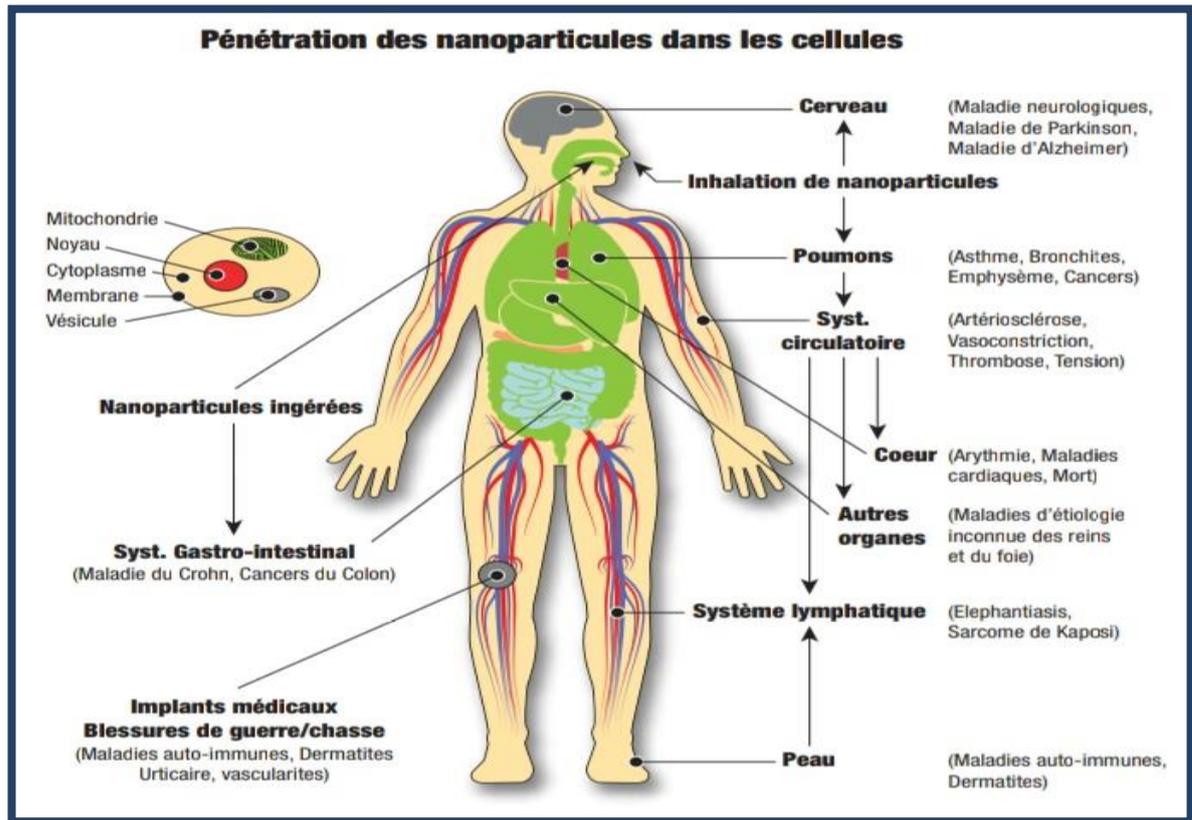


Figure 10: Voies de pénétration et principales maladies associées à l'exposition aux nanoparticules, selon les résultats d'études épidémiologiques et cliniques (Sarah et al, 2016).

10. Nanoparticules métalliques étudiées

10.1. Oxyde de fer

Les NPs de fer sont souvent utilisées dans différents domaines de recherches : cosmétologie, électronique, nanomédecine, remédiation environnementale.

Il existe plusieurs types de NPs de fer en fonction de l'oxyde qui les compose, la présence de fer métallique ou encore des adjuvants ou autres métaux qui lui sont associés (Besnaci,2016).

Les oxydes de fer sont les matériaux magnétiques les plus connus et les plus étudiés, car ils sont omniprésents dans la nature, ils sont faciles à synthétiser et ont de faibles coûts. À ce jour, il existe 16 différents types d'oxydes/hydroxydes de fer. Les trois polymorphes les plus étudiés (Tabaja, 2015) sont la magnétite (Fe_3O_4), la maghémite ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) et l'hématite ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$) (Lakhal, 2016). Parallèlement, à ces NPs manufacturées, des NPs de fer peuvent être retrouvées dans l'environnement suite à des rejets industriels d'industries métallurgiques par exemple (Besnaci, 2016).

Tableau 3: Synthèse et utilisation des différents types de NPs Fe_2O_3 (Besnaci, 2016).

Type de NPs de fer	Utilisation
Nano-maghémities - Fe_2O_3	<ul style="list-style-type: none"> - Dépollution des eaux par adsorption de microcystine-LR (MC-LR) dans les eaux - Dépollution de l'arsenic (III, V) dans les eaux - Dépollution de l'As(V) dans les eaux de boisson
Nano-magnétites- Fe_3O_4	<ul style="list-style-type: none"> - Application dans l'imagerie de diagnostic et de thérapie du cancer - Utilisation de nanoparticules magnétique (MNP) à base d'oxyde de fer comme sonde sensibles pour l'imagerie par résonance magnétique et les applications thérapeutique
Nanoparticules zéro valent iron-nZVI	<ul style="list-style-type: none"> - Dépollution du chrome dans les eaux usées - Dépollution d'ibuprofène présent dans les sols - Dépollution du Cr(VI) dans les eaux - Dépollution des eaux par dégradation du lindane en solution aqueuse
Super paramagnet iciron oxideNPs-SPION	<ul style="list-style-type: none"> - Utilisation pour de l'imagerie par résonance magnétique - Utilisation comme vecteurs de médicaments - Utilisation comme agent de contraste pour le diagnostic de tumeurs - Nanomédecine : utilisation de propriétés magnétique unique, grâce à laquelle elles présentent une excellente efficacité de criblage tumoral, ce qui ouvre la chance à un traitement personnalisé du cancer efficace.

Bien que le fer soit un élément essentiel à la vie, une augmentation de sa concentration en milieu cellulaire peut générer la formation de ROS. Or, dans la plupart de leurs applications, les NPs d'oxyde de fer sont en contact avec les cellules voire le milieu intracellulaire. Il est donc probable que les interactions NPs d'oxyde de fer/cellules ne soient pas anodines.

Les NPs d'oxyde de fer utilisées à des fins biomédicales sont généralement fonctionnalisées en surface via le greffage de composés organiques Cette couche organique limite les contacts directs entre le fer des NPs et les composants cellulaires (**Besnaci, 2016**).

10.2. Effets d'oxyde de fer

La multiplicité des applications ainsi que l'utilisation grandissante des NPs-Fe conduisent à leur libération et à leur dissémination dans les différents compartiments de l'environnement. Cette dernière peut intervenir au moment de leur fabrication, au cours de leur utilisation ou lors de leur gestion de fin de vie et entrent alors en interaction avec de multiples composants (microorganismes, constituants organiques et inorganiques dissous et/ou particuliers). Ces derniers modifient les propriétés des NPs-Fe en réagissant avec leur surface, ce qui peut conduire à différents phénomènes (agrégation, dissolution, adsorption). Enfin, les propriétés intrinsèques des NPs-Fe (taille, surface spécifique, composition chimique, cristallinité) sont directement impliquées dans les interactions entre les NPs-Fe et leur environnement (**Demangeat, 2018**).

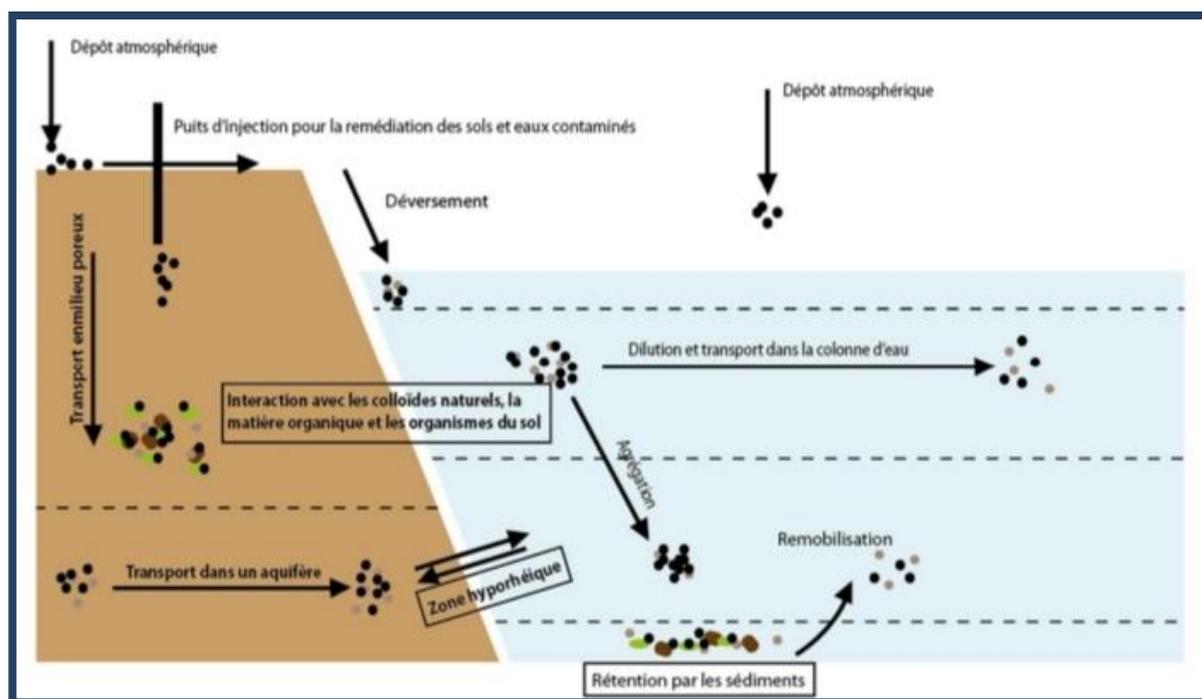


Figure 11: Schéma illustrant les différentes voies de diffusion des NPs-Fe dans l'environnement (Demangeat, 2018).

10.3. Oxyde silice

Parmi les nano-objets les plus étudiés, on trouve des nanoparticules de nombreux matériaux comme l'or et la silice (Quignard, 2012).

La silice est un matériau peu onéreux dont les voies de synthèse sont globalement connues et maîtrisées (Aubert, 2011). Elle est largement envisagée dans diverses applications puisqu'elle est biocompatible, du moins en formulation macroscopique, et inerte (Quignard, 2012).

Dans une très élégante analogie, le parallèle entre les nanoparticules de silice fonctionnelles et la planète Terre explique que tous les deux sont constitués d'un cœur fonctionnel (magnétique), situé au centre d'une écorce de silice.

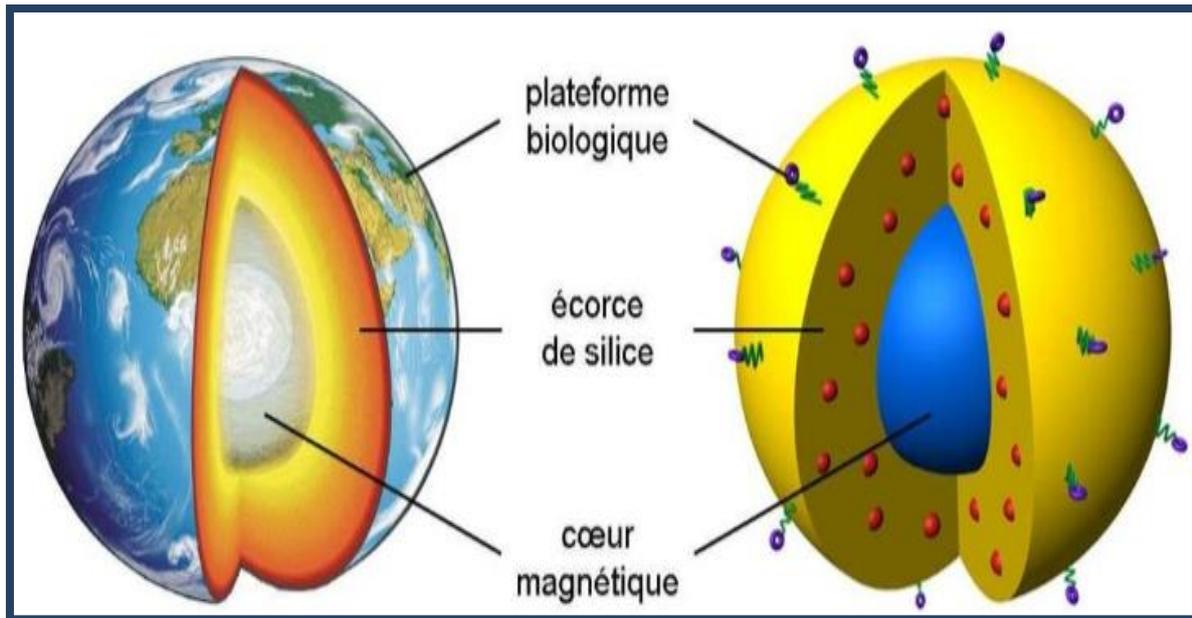


Figure 12: Analogie entre la structure et les fonctionnalités communes de la Terre et d'une nanoparticule de silice fonctionnelle (Aubert, 2011).

Cette analogie peut même s'étendre à leur formation. Il s'agit d'une approche ascendante dite « bottom-up » qui consiste à assembler des fragments de matière jusqu'à obtenir l'objet final (Aubert, 2011).

Les particules de silice peuvent être entourées d'une couche d'oxyde (Quignard, 2012). Telle que l'oxyde de silicium SiO_2 (Oudot, 2018).

Les nanoparticules de silice sont utilisées dans de nombreuses applications : agent épaississant (ajouté dans les résines, les encres, les élastomères,), additif alimentaire, produits cosmétiques ou pharmacologiques, électronique et textile... (Quignard, 2012).

10.4. Effets de silice

– Effets sur l'environnement

Lors de la production et l'utilisation de ces particules, une partie peut être émise dans l'environnement. Sa présence dans l'environnement et la quantité produite impliquent de connaître les risques associés à une exposition accidentelle (Quignard, 2012).

– Effets sur la santé

La plupart des études épidémiologiques qui portent sur les risques à la santé associés à l'exposition à la silice résultent que ce dernier subir des diverses pathologies essentiellement par voies respiratoire : la silicose, les infections pulmonaires à

mycobactéries, la MPOC, le cancer pulmonaire et les maladies auto-immunes et rénales. Enfin, l'exposition des muqueuses des yeux et des voies respiratoires à la silice peut aussi entraîner une irritation mécanique localisée (**Comité médical provincial en santé au travail du Québec. 2013**).

Partie expérimentale

1. Matériel et méthodes

Notre travail recherche a été effectué au niveau du laboratoire de toxicologie de département de biologie « Université de Tébessa sur 160 escargots *Helix aspersa* ».

1.1. Matériel

1.1.1. Matériel biologique

1.1.1.1. Petit-gris *Helix aspersa*

On à prendre comme modèle dans notre étude l'escargot *Helix aspersa* communément appelé Petit-Gris (**Pierre-Emmanuel, 2014**). S'appartient à l'embranchement des Mollusques, animaux à corps mou et dépourvus de squelette. Sa masse viscérale présente une torsion de 180° par rapport au pied d'où une asymétrie de certains de ses organes : il fait partie de la classe des Gastéropodes. Il possède un poumon (ou cavité palléale) ce qui le situe dans la sous classe des Pulmonés. Il appartient au sous-ordre des *Stylommatophores* caractérisés par le port des yeux à l'extrémité des tentacules oculaires. La forme de sa coquille enroulée caractérise la super famille des Helicacea. Il appartient à la famille des Hélicidés (**Pirame, 2003**).



Figure 13: escargot Petit-Gris (*Helix aspersa*).

1.1.1.2 Biologie de l'*Helix aspersa*

1.1.1.2.1. Morphologie d'escargot *Helix aspersa*

- la coquille

Helix aspersa est un animal à corps mou dépourvu de squelette, possède une coquille spiralée pouvant contenir tout son corps, dextre, de couleur brun-jaunâtre et avec des dessins foncés dont la forme varie avec l'origine (Bonnet et al, 1990). Elle est composée de protéines (2 %) et de minéraux (calcite et aragonite) (Mebirouk, 2017).

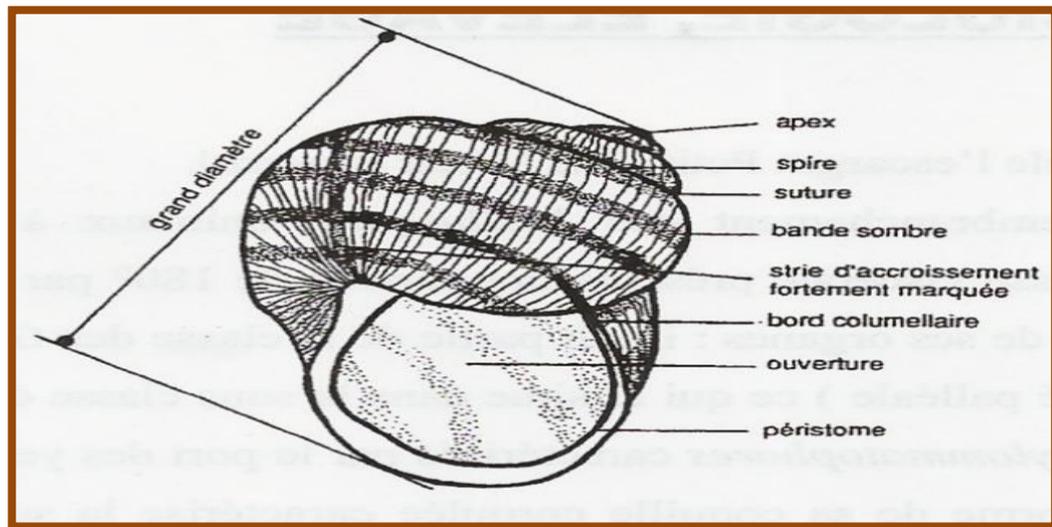


Figure 14: la coquille de petit-gris *Helix aspersa* (Pirame, 2003).



Figure 15: Forme dextre de la coquille de l'*Helix aspersa* (Zaafour, 2014).

- le corps

Le corps de l'escargot est constitué de :

- Le pied :

Il comprend deux parties l'une renfermée dans la coquille et l'autre visible chez l'animal en extension. Cette dernière est une masse musculaire dont la fonction est essentiellement locomotrice.

– **La tête :**

Correspondant à la partie antérieure du pied, elle comprend une bouche (entourée de quatre lèvres et pourvue d'une mâchoire supérieure cornée). Deux tentacules oculaires (postérieures, les plus grandes). Deux tentacules tactiles (antérieures, les plus petites) et un orifice génital sur le côté droit.

– **Le tortillon :**

C'est la partie contenue dans la coquille. Il s'agit d'une masse viscérale. Antérieurement se trouve le manteau, fin et transparent, il constitue la cavité palléale, dont le plafond richement vascularisé correspond au poumon.

– **Le manteau :**

Est en contact avec le péristome forme un renflement « le bourrelet palléal ». Sur le bord inférieur droit de ce bourrelet, s'ouvrent l'anus, l'orifice excréteur et le pneumostome (orifice respiratoire). En arrière se trouve un rein jaunâtre (organe de Bojanus) et un cœur. Sur la partie postérieure du tortillon se trouve un organe plus sombre brun verdâtre ayant un rôle comparable à celui du foie des Vertébrés « l'hépatopancréas ». Sur ce dernier, se trouve une zone blanchâtre « la glande d'albumen » (Pirame, 2003).

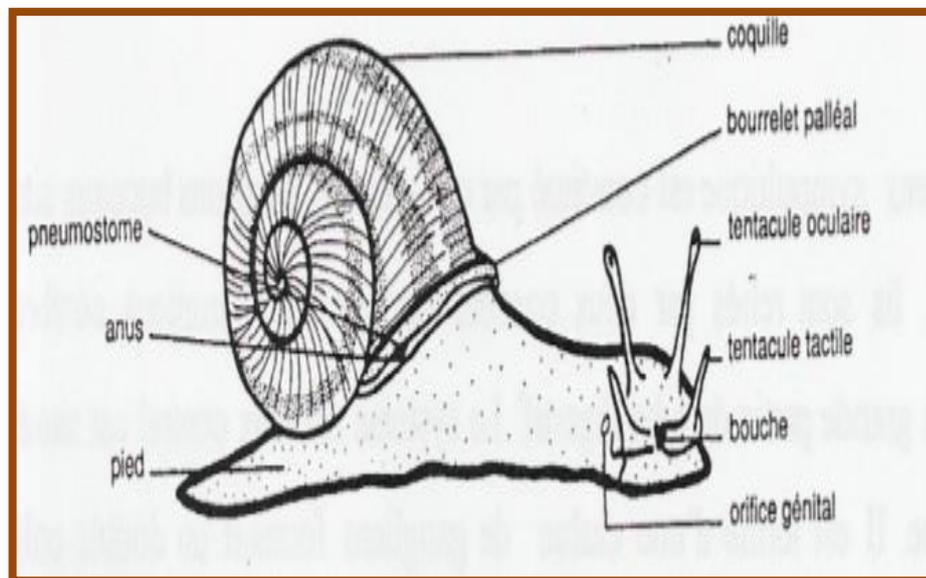


Figure 16: Morphologie de l'*Helix aspersa* (Pirame, 2003).

1.1.1.2.2. Anatomie

– Appareil digestif

Le tube digestif de l'escargot forme une boucle ramenant l'anus vers l'avant (grâce à une torsion à 180° du corps). La bouche se prolonge par un bulbe buccal à l'intérieur duquel se trouve une langue musculaire recouverte d'une lame cornée : la radula, son rôle est de broyer les aliments. Dans la partie postérieure du bulbe buccal on trouve deux glandes salivaires. Ce bulbe se prolonge par un œsophage qui se renfle en un estomac, lui-même prolongé par un intestin formant une double circonvolution autour de l'hépatopancréas et aboutissant à l'anus (**Pirame, 2003**).

– Système nerveux

Le système nerveux de l'*Helix aspersa* comprend essentiellement :

- **Un Système nerveux sympathique** : constitué d'une paire de ganglions buccaux qui se trouve sous le bulbe buccal et une paire de ganglions cérébroïdes qui sont reliés entre eux par deux cordons nerveux.
- **Un Système nerveux central** : il se localise dans la région céphalique est constitué d'une chaîne de ganglions (**Mebirouk, 2017**).

– Appareil circulatoire et respiratoire

- ✓ **Le cœur** : est constitué d'une oreillette antérieure et d'un ventricule postérieur (**Belhaouchet, 2014**).
- ✓ **Le sang ou hémolymphe** : c'est le liquide physiologique d'*Helix aspersa* ainsi que d'autres mollusques terrestres et marins. L'hémolymphe circule dans un système veineux et un autre artériel. Il est propulsé dans le réseau artériel via deux aortes. Contient un pigment, l'hémocyanine (molécule de nature protéique de la famille des métalloprotéines dont le rôle est de transporter l'oxygène) (**Mebirouk, 2017**). Il est incolore sous sa forme désoxydée et bleu sous sa forme oxydée. Le sang est propulsé dans le réseau artériel via deux aortes. L'aorte antérieure irrigue le pied et la postérieure le tortillon. Le sang revient au cœur par un système de veines et de sinus veineux.
- ✓ **Le poumon** : est une poche formée de l'épithélium palléal, irrigué par les vaisseaux pulmonaires, l'air y circule au travers du pneumostome par des mouvements de contraction de son ouverture (**Belhaouchet, 2014**).

– **Appareil génital**

Les escargots terrestres sont hermaphrodites. Cette particularité explique la complexité de l'appareil, formé à la fois par des organes mâles et femelles ou bien d'organes uniquement mâles ou femelles (Belhaouchet, 2014). Il comprend :

- **Une gonade (ovotestis) :** un lieu de formation des cellules sexuelles mâles et femelles (ovule et spermatozoïde).
- **Un canal hermaphrodite :** dont le rôle est l'évacuation des gamètes.
- **L'albumine :** une glande blanchâtre dont le rôle est l'élaboration des réserves vitelline.
- Un ovospermiducte (Mebirouk, 2017).

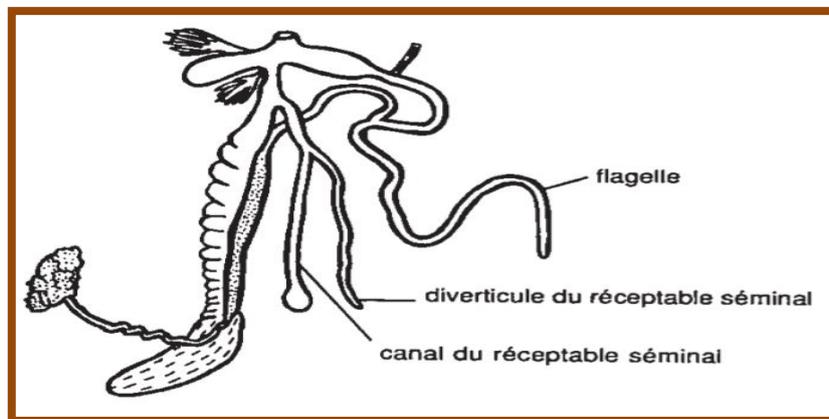


Figure 17: Appareil génitale de l'*Helix aspersa* (Bonnet et al, 1990).

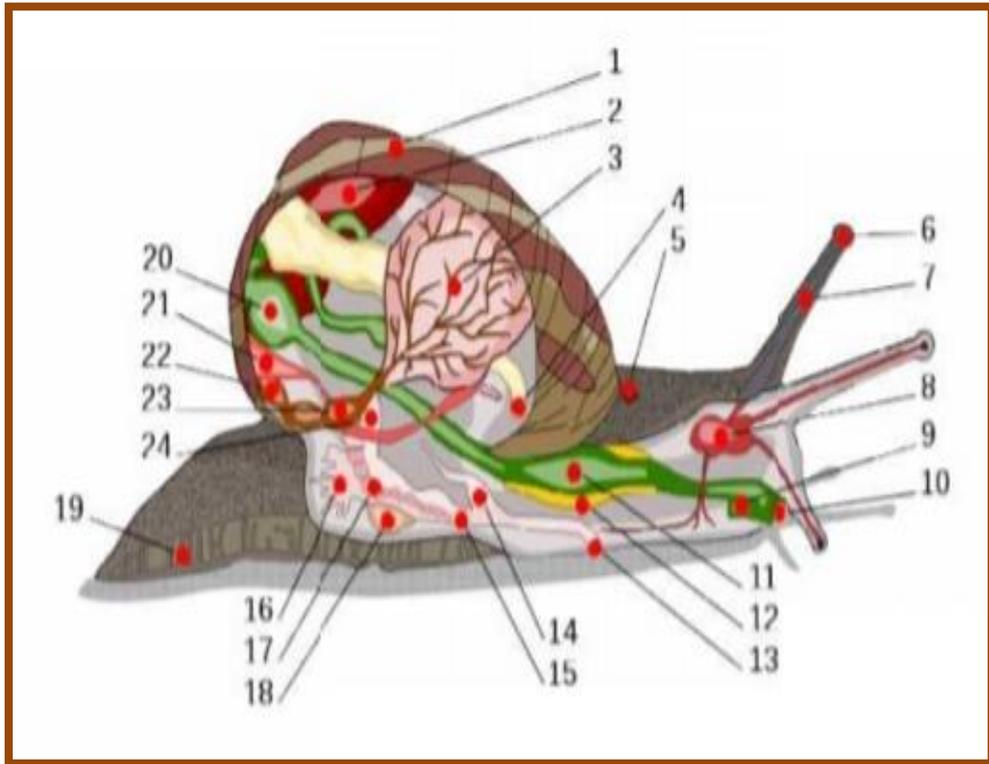


Figure 18: Schéma en coupe de l'anatomie d'un escargot (Zaafour, 2014).

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 :** Rien. **22 :** Manteau. **23 :** Cœur. **24 :** Canal déférent.

1.1.1.3. Physiologie d'*Helix aspersa*

1.1.1.3.1. Activité saisonnière

L'escargot est un poïkilotherme : il ne peut réguler sa température corporelle. Il s'est donc adapté, en climat tempéré aux variations thermiques saisonnières selon trois rythmes d'activités annuels marqués par trois états physiologiques :

L'un se caractérise par un ralentissement du métabolisme et intervient lors des basses températures hivernales : l'hibernation. L'autre s'étend entre le printemps et l'automne. Il se caractérise par une reprise de l'activité locomotrice, le déclenchement de la croissance des jeunes et la reproduction des adultes.

Durant les périodes sèches et chaudes, l'escargot présentera également une période de vie ralentie, appelée estivation. Contrairement à l'hibernation, l'estivation est un état de résistance ponctuel qui disparaît lorsque les conditions climatiques redeviennent favorables.

Il a été montré que l'hibernation est constante en durée et en période dans une région donnée indépendamment des variations thermohydrométriques, ce qui laisse supposer que la photopériode règle l'activité saisonnière de l'escargot.

1.1.1.3.2. Activité journalière

Il a été établi un modèle théorique du rythme d'activité nyctéméral de l'escargot en condition de photopériode « jour long » :

- **Phase d'activité** : c'est la première phase, elle débute à la tombée de la nuit et a une durée supérieure à 6 heures.
- **Phase d'inactivité** : relative à une durée inférieure à 18 heures.
- **Autre phase d'activité** : ne concernant pas tous les individus, se produit avant le lever du jour.

L'activité des escargots est étroitement liée à l'hygrométrie ; un taux de 100% d'actifs est rare et ne s'observe que pendant des nyctémères pluvieux (**Belhaouchet, 2014**).

1.1.1.4. Hibernation et estivation

Une absence prolongée d'humidité provoque l'estivation d'*Helix aspersa* (**Besnaci, 2016**), (L'état de vie ralentie durant lequel le métabolisme de l'animal est diminué) (**Belhaouchet, 2014**). 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 (**Besnaci, 2016**).



Figure 19: Escargot en hibernation avec son épiphragme (a droite) *Helix aspersa* avec son épiphragme calcifié (a gauche) (Zaafour, 2014).

1.1.1.5. Reproduction

Les escargots terrestres sont hermaphrodites protandres (d'abord mâles puis femelles), leur reproduction a lieu au printemps et en été, ils s'accouplent une ou plusieurs fois avant la ponte. En ce qui concerne l'*Helix aspersa*, les deux escargots se positionnent tête-bêche pour que leurs orifices génitaux soient en vis-à-vis et permettent l'introduction réciproque des pénis. L'accouplement peut durer plus de 12h (Druart, 2011).



Figure 20: Accouplement de l'escargot *Helix aspersa* (Pierre-Emmanuel, 2014).

La fécondation a lieu au niveau de la chambre de fertilisation, une quinzaine de jours après l'accouplement. Les ovocytes fécondés sont alors entourés d'albumen sécrété 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 2-3 cm

de profondeur dans le sol, et y dépose une ponte constituée en moyenne d'une centaine d'œufs. La durée du ponte est d'environ 36h. A une température de 18-20°C, les œufs vont se développer pendant 12 à 15 jours avant d'éclore. Ensuite les jeunes éclos remontent ensuite en surface, ce qui prend 4 à 5 jours supplémentaires avant de pouvoir les apercevoir (Salmi, 2018).

1.1.1.6. Croissance

La croissance de l'escargot correspond à une prise de poids pouvant atteindre jusqu'à 14 g en conditions contrôlées favorables (photopériode 18 h de lumière par 24 h, 20°C et 80-90% d'humidité) et à un accroissement de la coquille en longueur, mais également en épaisseur. La croissance des escargots est caractérisée par 4 phases (Druart, 2011) :

- **Phase infantile « jeunes éclos »** : durant laquelle le tractus génital est non-différencié chez des animaux de 0,02 à 0,6 g.
- **Phase juvénile** : relative à un tractus génital qui s'organise et à une gamétogenèse active. La masse est comprise entre 0,6 et 6,0 g.
- **Phase de maturation sexuelle** : ou phase subadulte durant laquelle les glandes annexes femelles se développent. Elle concerne des escargots non bordés (absence d'épaississement du péristome) de plus de 6 g.
- **La phase adulte à croissance nulle** : durant laquelle les animaux sont aptes à se reproduire. Ils sont alors bordés et pèsent entre 6 et 14 g (Besnaci, 2016).

En milieu naturel, la croissance est beaucoup plus longue et dure de 1 à 2 ans selon les conditions climatiques. La durée de vie en milieu naturel est en moyenne de 3-4 ans (Druart, 2011).

1.1.2. Matériel chimique

Notre matériel chimique correspond à une préparation commerciale des nanoparticules métalliques à base d'oxyde de fer (Fe_2O_3) (figure 08) et de silice (SiO_2) (figure 09)



Figure 21: Oxyde fer.



Figure 22: Oxyde de silice.

2. Méthodes

2.1. Conditions d'élevage et application de traitement

Les escargots utilisés dans ce travail sont des juvéniles de poids moyen de $(0.84 \pm 0.50\text{g})$, collecté dans la région de Guelma (Nord-Est Algérien). Les conditions d'élevage des escargots sont les suivantes :

- Photopériode de 18h de lumière/24 avec une température $(20 \pm 2^{\circ}\text{C})$.
- Les escargots sont répartis dans des boites en plastique transparentes avec un couvercle perforé et chaque boite contient une éponge mouillée pour maintenir de l'humidité.

- Une boîte de pétrie contenant de la nourriture (farine de blé) est placée au fond de la boîte.
- Les boîtes sont nettoyées régulièrement chaque trois jour (Coeurdassier et al, 2001 ; Gomot, 1997).



Figure 23 : Mode d'élevage

Après 15 jours d'adaptation aux conditions de laboratoire, Les animaux sont traités par addition de concentrations croissantes de NPs d'oxyde métalliques dans l'alimentation (500,1000, 5000,10000, 15000 μ g/g de farine). Nous avons retenu un lot témoin et 15 lots traitées par l'oxyde de fer, le dioxyde de silice et leur mixture à raison de 10 escargots par lot (cinq lots pour chaque traitement). Pendant les quatres semaines de traitement, le nettoyage et le changement de nourriture est effectué chaque trois jours, Tableau (03).



Figure 23: Exposition des escargots Petit-Gris à l'alimentation contaminée.

Tableau 4: Mode de traitement et doses utilisées

Type de traitement	Concentration en $\mu\text{g/g}$ d'aliment sec	Numéro de lot	Nombre des escargots traités
Témoin	0	1 (Témoin)	10
Traités par l'oxyde de fer	500 (Grara et al, 2015)	1	10
	1000	2	10
	5000	3	10
	10000	4	10
	15000	5	10
Traités par le dioxyde de silice	500	1	10
	1000	2	10
	5000	3	10
	10000	4	10
	15000	5	10
Traités par le l'oxyde de fer et dioxyde de silice	500	1	10
	1000	2	10
	5000	3	10
	10000	4	10
	15000	5	10

2.2. Mesures des paramètres physiologiques

Le paramètre étudié est :

Le poids frais de l'escargot (coquille + tissus mous)

Est mesuré à l'aide d'une balance de précision. Cet essai est recommandé pour évaluer les effets des NPs métalliques (Fe_2O_3 , SiO_2 , et leurs mixtures) de façon hebdomadaire sur les escargots juvéniles *Helix aspersa*, avant et pendant la durée du traitement. Les pesées sont toujours effectuées avant le nettoyage de l'enceinte d'essai (Grara et al, 2012 a).



Figure 24: mesure du poids de l'escargot *Helix aspersa*.

2.3. Prélèvement de l'hémolymphe

Pour étudier les paramètres biochimiques

L'escargot possède un appareil circulatoire ouvert avec lacunes (hemocœle), formé du cœur d'où partent une artère antérieure qui va irriguer la cavité palléale et une artère postérieure médiane qui se dirige vers les viscères. Le vaisseau antérieur est atteint après avoir pratiqué une fenêtre dans la coquille, préalablement nettoyée à l'eau distillée, au niveau de l'emplacement du cœur (**Letellier, 2010**). L'hémolymphe est ensuite prélevée à l'aide d'une pipete pasteur. Ainsi environ 300 μ l d'hémolymphe est obtenu à partir de chaque escargot (**Ataillia, 2017**).

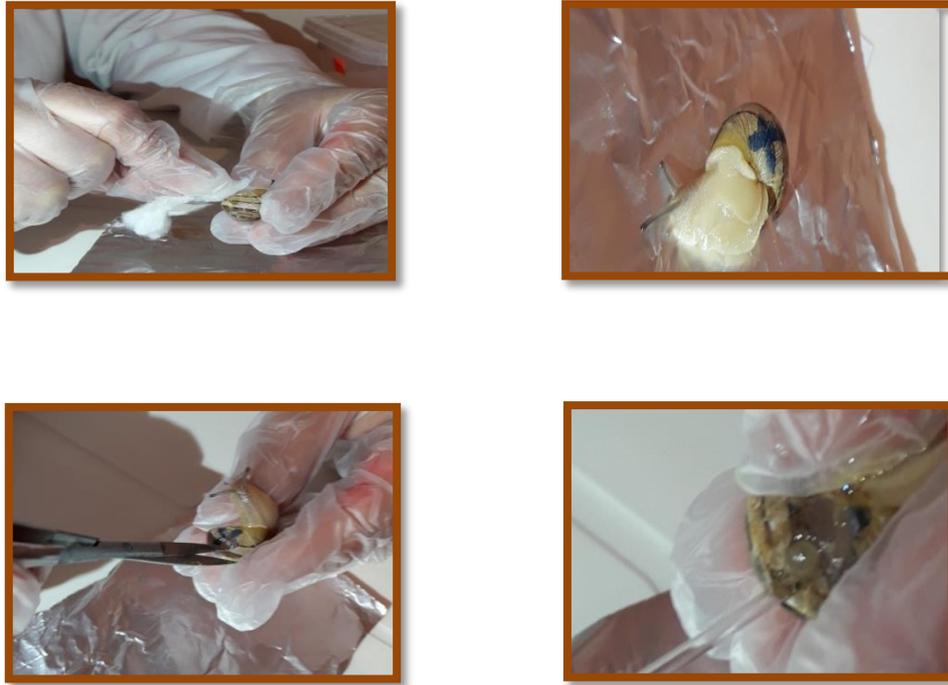


Figure 25: Prise d'hémolymphe dans l'artère antérieure d'un escargot petit-gris.

2.4. Analyse statistique

Les moyennes \pm l'écart type ($m \pm s$), avec un niveau significatif de $p \leq 0.05$, sont calculées pour chaque groupe d'expérience. Le test 't' de Student et l'analyse de la variance à deux critères de classification ont permis de mettre en évidence les différences entre les groupes étudiés au cours des tests effectués sur le poids frais des escargots. Tous les calculs ont été effectués à l'aide du logiciel MINITAB d'analyse et de traitement des données version 13.31.

Résultats et discussion

1. Résultats

1.1. Effets des nanoparticules (Fe₂O₃, SiO₂, et leurs mixtures) sur l'évolution du poids moyen

1.1.1. Effet des nanoparticules de dioxyde de silice sur l'évolution du poids moyen des escargots *Helix aspersa* en fonction du temps

La figure (25) relative à l'évolution du poids moyen des escargots *Helix aspersa* traités par les NPs d'oxyde de silice ne montre pas une différence significative ($P > 0,05$) chez les traités par les différentes concentrations par rapport aux témoins pendant les 04 semaines de traitement.

D'après le tableau de l'analyse de la variance à deux critères de classification (temps, dose), il ressort un effet temps hautement significatif ($p < 0,01$) alors qu'aucun effet dose et interaction temps/dose n'a été observé ($p > 0,05$).

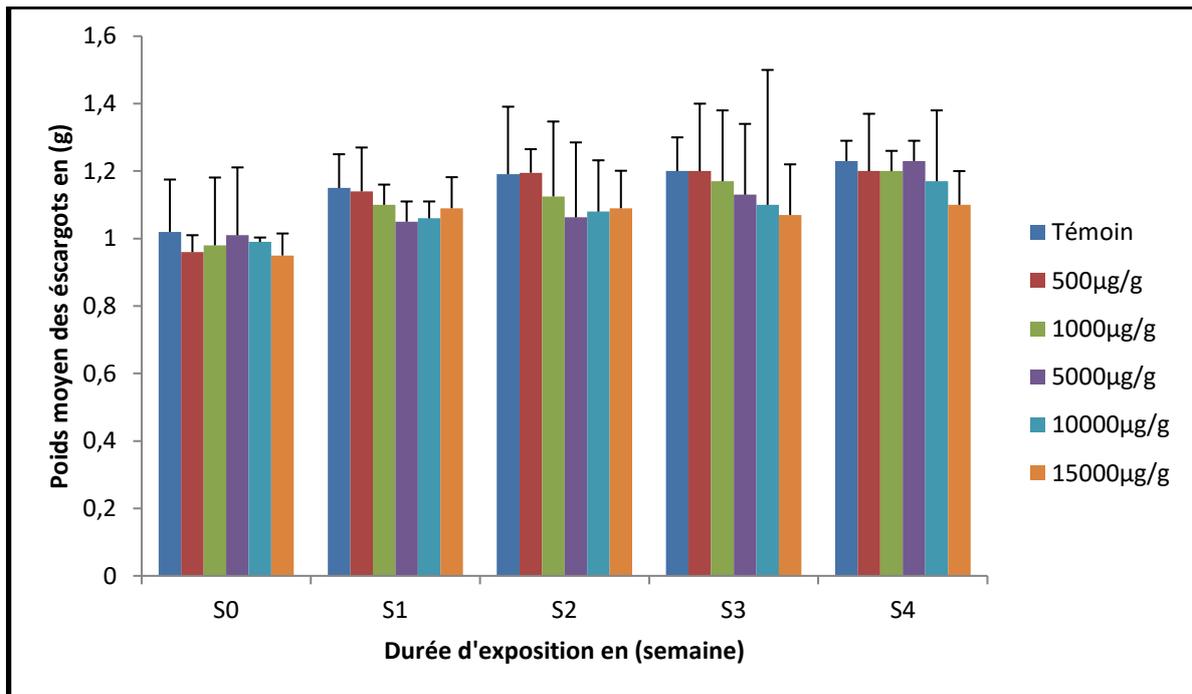


Figure 26: Evolution du poids moyen des escargots juvéniles d'*Helix aspersa* traités par différentes concentrations des NPs du SiO₂ en fonction du temps ($m \pm s$, $n=3$).

Tableau 5: Analyse de la variance à deux critères de classification (temps, dose) du poids moyen des escargots juvéniles d'*Helix aspersa* traités par les NPs de dioxyde de silice pendant une période de quatre semaine ($m \pm s$, $n=3$).

Sources de variation	Ddl	SCE	CM	F Abs	P
Temps	4	0.42090	0.10523	4.50	0.003**
Dose	5	0.10090	0.02018	0.86	0.511NS
Interaction Temps / Dose	20	0.06635	0.00332	0.14	1.000 NS
Erreur résiduelle	60	1.40283	0.02338	-	-
Totale	89	1.99098	-	-	-

Ddl : Degré de Liberté ; **SCE** : Somme des Carrées des Ecart ; **CM** : Carré Moyen ; **F_{obs}** : Test de Fisher ; **P** : Seuil de Signification (NS $p > 0,05$ non significative ; * $p \leq 0,05$ significative, ** $p \leq 0,01$ hautement significative, *** $p \leq 0,001$ très hautement significative).

1.1.2. Effet des nanoparticules d'oxyde de fer sur l'évolution du poids moyen des escargots *Helix aspersa* en fonction du temps

La figure (26) représente les variations du poids moyen des escargots juvéniles d'*Helix aspersa* traités par les NPs d'oxyde de fer, l'analyse statistique montre une diminution significative du poids moyen chez les escargots traités par les concentrations 10000µg/g avec (p=0.039) et 15000 µg/g avec (p=0.015) à la troisième semaine, ainsi que chez les traités par la concentration 5000µg/g avec (p=0,039) à la quatrième semaine et ce toujours par rapport aux témoins.

L'analyse de la variance à deux critères de classification (temps, dose) montre un effet temps très hautement significative (p=0,000) et un effet dose significative (p=0,015), alors qu'aucune interaction temps/dose n'a été observé (p=0,777) (tableau 6).

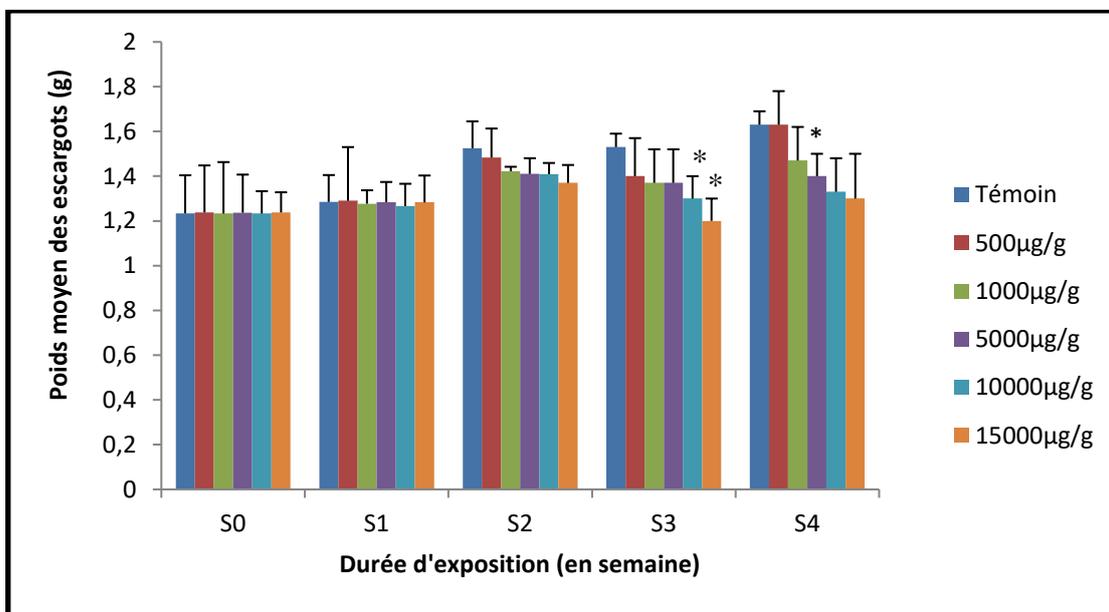


Figure 27: Evolution du poids moyen des escargots juvéniles (*Helix aspersa*) traités par différentes concentrations de NPs de Fe₂O₃ en fonction du temps (m ± s, n=3).

* significative (p≤0,05), **hautement significative (p ≤ 0,01), *** très hautement significative (p ≤ 0,001)

Tableau 6: Analyse de la variance à deux critères de classification (temps, dose) du poids moyen des escargots juvéniles d'*Helix aspersa* traités par les NPs d'oxyde de fer pendant une période de quatre semaine ($m \pm s$, $n=3$).

Sources de variation	Ddl	SCE	CM	F Abs	P
Temps	4	0.67807	0.16952	9.33	0.000 ***
dose	5	0.28196	0.05639	3.10	0.015 *
Interaction temps/dose	20	0.26617	0.01331	0.73	0.777 NS
Erreur résiduelle	60	1.09013	0.01817	-	-
Totale	89	2.31633	-	-	-

Ddl : Degré De Liberté ; **SCE** : Somme des Carrées des Ecarts ; **CM** : Carré Moyen ; **F_{obs}** : Test de Fisher ; **P** : Seuil de Signification (NS $p > 0,05$ non significative ; * $p \leq 0,05$ significative, ** $p \leq 0,01$ hautement significative, *** $p \leq 0,001$ très hautement significative).

1.1.3. Effet des mixtures nanométriques sur l'évolution du poids moyen des escargots *Helix aspersa* en fonction du temps

Concernant, l'évolution du poids moyen des escargots exposés aux mixtures **Figure (27)** nous constatons une diminution significative chez les escargots exposés aux concentrations 5000µg/g, 10000µg/g et 15000µg/g à la deuxième et à la quatrième semaine par rapport aux escargots témoins. Cependant à la troisième semaine de traitement cette diminution est hautement significative à la concentration 5000µg/g, très hautement significative à la concentration 10000µg/g et enfin devient significative à la concentration 15000µg/g et ce par rapport aux escargots témoins.

L'analyse de la variance à deux critères de classification (temps, dose) montre un effet temps, dose et une interaction temps/dose très hautement significative ($p \leq 0,001$) (**tableau 7**).

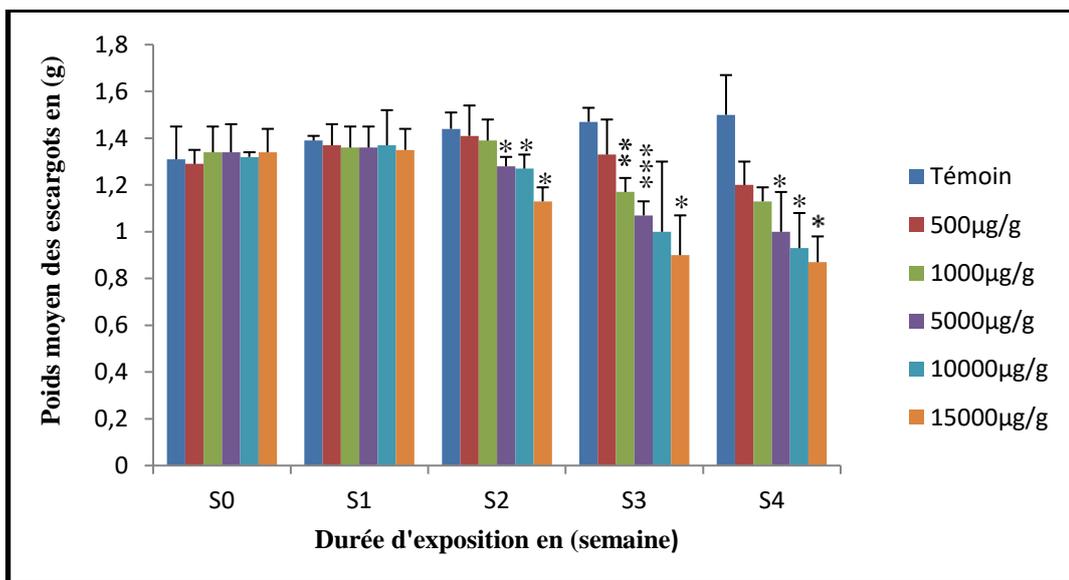


Figure 28: Evolution du poids moyen des escargots juvéniles d'*Helix aspersa* traités par différentes concentrations de mixtures nanométrique en fonction du temps ($m \pm s$, $n=3$).

* significative ($p \leq 0,05$) ; **hautement significative ($p \leq 0,01$) ; ***très hautement significative ($p \leq 0,001$)

Tableau 7: Analyse de la variance à deux critères de classification (temps, dose) du poids moyen des escargots juvéniles d'*Helix aspersa* exposés aux mixtures nanométrique (dioxyde de silice et oxyde de fer) pendant une période de quatre semaine ($m \pm s$, $n=3$).

Sources de variation	Ddl	SCE	CM	F _{abs}	P
temps	4	0.96070	0.24017	18.04	0.000 ***
dose	5	0.89487	0.17897	13.44	0.000***
Interaction temps/dose	20	0.78494	0.03925	2.95	0.001***
Erreur résiduelle	60	0.79870	0.01331	-	-
Totale	89	3.43920	-	-	-

Ddl : Degré De Liberté ; **SCE** : Somme des Carrées des Ecart ; **CM** : Carré Moyen ; **F_{obs}** : Test de Fisher ; **P**: Seuil de Signification (NS $p > 0,05$ non significative ; * $p \leq 0,05$ significative, ** $p \leq 0,01$ hautement significative, *** $p \leq 0,001$ très hautement significative).

2. Discussion

La santé environnementale a toujours été menacée par la bioaccumulation des polluants dans l'écosystème terrestre, affectant sa qualité et sa sécurité (**Carbone et Faggio, 2019**). La majorité de ces polluants sont toxique et difficilement biodégradables. Leur utilisation excessive peut entraîner des risques et quelques fois des conséquences néfastes pour l'environnement (**Ait-Hamlet et al, 2019**).

L'étude de la réponse biologique des organismes vivants aux divers polluants, présente dans l'environnement, constitue un outil de diagnostic qui peut jouer de système d'alarme d'une contamination (**Chabanchaouche, 2017**). Plusieurs expériences à été réaliser sur des animaux pour déterminer la toxicité des polluants, cette raison tous les études sur les bioindicateurs convergent vers l'idée que les gastéropodes dont les escargots sont des excellents modèle biologique pour toutes les études toxicologique d'un milieu (**Boucenna, 2010**). Dans notre étude, nous avons choisi un matériel biologique l'escargot petit-gris *Helix aspersa* connu comme un bioindicateur efficace et susceptible de fournir une réponse précoce sur la toxicité et/ou à l'adaptation des escargots après une exposition à des conditions contrôlées.

Notre travail de recherche s'intéresse à l'effet des nanoparticules métalliques Fe_2O_3 , SiO_2 et de leurs mixtures sur l'évolution du poids moyen des escargots juvéniles *Helix aspersa*, exposés à des concentrations croissantes de ces molécules nanométrique (500, 1000, 5000, 10000 et 15000 $\mu g/g$) par voie digestive pendant une durée de quatre semaines. D'après les résultats obtenus, le poids moyen des escargots *Helix aspersa* ne semble pas affecté par les NPs de dioxyde de silice durant les quatre semaines de traitement. Alors qu'une diminution du poids moyen est notée dès la troisième semaine chez les traités par les NPs d'oxyde de fer et à partir de la deuxième semaine chez les escargots exposés aux mixtures particulièrement aux plus fortes concentrations pour les deux types de traitement par rapport aux témoins.

Cette perte de poids peut être due à la réduction de la consommation alimentaire que nous avons constatée particulièrement chez les animaux exposés aux fortes concentrations d'oxyde de fer et des mixtures par rapport aux témoins. **Bendokhane et al, (2013)** donnent les mêmes explications sur la diminution de la masse corporelle chez les animaux traités par les différentes concentrations des nanoparticules métallique (ZnO , Fe_2O_3 et Al_2O_3). Mais selon les études de **Besnaci, 2016** la diminution de la consommation alimentaire chez les

traitées par des concentrations croissantes de nano-oxyde de fer, pourrait s'expliquer par le fait que ces animaux sont capables de réguler la quantité de métaux dans leur masse corporelle par conséquent à une diminution de la consommation alimentaire aux fortes doses des nanoparticules. En outre les travaux de **Salmi, 2018** montrent que la diminution de la masse corporelle chez les animaux traités par les différentes concentrations de CdSe, de Novaluron et de leur mixture constitue un premier indice de toxicité. **Djatita en 2019** explique aussi la diminution de poids moyen des escargots traités par l'herbicide Cossack P^(OD) surtout aux plus fortes concentrations par rapport aux témoins par la répulsion de la nourriture et l'inhibition de la synthèse de l'hormone de croissance.

Les résultats de notre étude sont similaires à celle trouvés par **Grara et al, (2015)** qui ont révélé une diminution de la masse corporelle chez les animaux traités par les différentes concentrations de NPs de ZnO. Ainsi que les travaux de **Chabanechaouche, (2017)**. Ont observé après la période de traitement, une perte de poids chez les escargots sous l'effet des pesticides Methonate, Aceplan, Glyphosate par rapport aux escargots témoins.

De même, **Ait-Hamlet et al (2019)**. a détecté un changement physiologique chez les escargots : *Helix aspersa* traités par ingestion de thiaméthoxame, detéfluthrine et de leurs mixtures. Les travaux de **Belhaouchet (2012)**. Sur la toxicité de Spinosad chez les escargots *Helix aspersa* ont dans le même sens de nos résultats.

Conclusion et perspective

Conclusion

Les nanoparticules d'oxyde métalliques ont attiré beaucoup d'attention en raison de leur grand potentiel dans plusieurs applications cliniques biomédicales et *in vivo*. Malgré la large gamme d'applications, il y a un grave manque d'informations sur l'impact toxique de ces nanoparticules sur les humains et l'environnement.

Aujourd'hui, de nombreuses études de ces particules sont mise en évidence sur des animaux pour la connaissance réelle de la toxicité des nanoparticules métalliques, parmi ces derniers les gastéropodes terrestres, sont connus par leur pouvoir accumulateur et peuvent répondre à la pollution d'une manière sensible et mesurable, ils sont donc employés comme des sentinelles de la pollution environnementale dans les sols.

Cette étude montre l'intérêt de l'*Helix aspersa* comme espèce modèle de gastéropodes pulmoné terrestre pour l'évaluation de la toxicité des nanoparticules d'oxyde métalliques à travers des biotests au laboratoire.

On peut conclure, que l'espèce *Helix aspersa* est sensible à la présence des nanoparticules métalliques d'oxyde de fer, de dioxyde de silice et de leurs mixtures et cette sensibilité se manifeste par une perturbation de l'évolution du poids moyen chez les escargots exposés aux plus fortes doses de NPs d'oxyde de fer et les mixtures.

Perspective

En vue de compléter notre travail il serait important d'étudiées :

- ❖ Toxicité chronique des NPs de puits le stade juvénile jusqu'au stade adulte.
- ❖ Dosage biochimique et enzymatique au niveau de l'hémolymphe.
- ❖ Effets subcellulaire par le suivi des mitochondries.
- ❖ La charge électrique au niveau du cœur.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- **Amatore, C, Arbault, S, Guille M Lemaître, F.2008**, Electrochemical monitoring of single cell secretion: vesicular exocytosis and oxidative stress, Chem. Rev. 108.
- **Ait-Hamlet, S. Djekou, M. Bensoltane, S. Berrebbah, H. 2019**. Effets du thiamethoxame et de la tefluthrine sur les biomarqueurs physiologiques de l'escargot terrestre *Helix aspersa*. Revue Agrobiologia. (2) : 1491-1498.
- **Andujar, P. 2016**. Nanoparticules : Nature, utilisations, effets sur la santé. Université Paris-Est Créteil Faculté de Médecine Inserm U955 8 rue du Général Sarrail 94000 Créteil, Centre hospitalier Intercommunal de Créteil Service de Pneumologie et de Pathologie Professionnelle 40 avenue de Verdun 94000 Créteil – France. P 10-11.
- **Andujar, P. Lanone, S. Brochard, P. Boczkowski, J. 2009**. Effets respiratoires des nanoparticules manufacturées. Rev Mal Respir 2009 ; 26 : 625-37.
- **Association santé environnement France, 2017**. Les nanoparticules-la-synthèse de ASEF. www.asef-asso.fr
- **Ataillia, A. 2017**. Impact de la pollution industrielle (métaux lourds) sur le développement et la reproduction de l'escargot *Helix aspersa* : Effets sur les biomarqueurs. Mémoire de doctorat, Université Bdji-Mokhtar. Annaba. P 27.
- **Aubert, T. 2011**. Nanoparticules de silice fonctionnelles à base de cluster d'éléments de transition. Matériaux. Université Rennes 1. Français. P 09.
- **Auffan, M.2007**. Nanoparticules d'oxydes métalliques : relation entre la réactivité de surface et des réponses biologiques. Université Paul Cézanne - Aix-Marseille III. Français. P 14.
- **Baratli, Y. 2015**. Etude de la toxicité des nanoparticules d'oxyde de fer (Fe_3O_4) chez le rat : analyses mitochondriales et du stress oxydant. Organisation et fonctions cellulaires [q-bio.SC]. Université de Strasbourg. Français. P14.
- **Belhaouchet, N. 2014**. Evaluation de la toxicité du Spinosad « insecticide nouvellement introduit en Algérie » sur un modèle expérimental bioindicateur de la pollution « *Helix aspersa* ». Mémoire de doctorat, Université Bdji Mokhtar. Annaba. P 13-14.
- **Belhaouchet, N. Djebbar, M. Meksem, L. Grara, N. Zeriri, I. Berrebbah, H. 2012**. Evaluation of the biomarkers of the oxidative stress induced by a biopesticide: The Spinosad on an alternat model: *Helix aspersa*. Journal of Applied Sciences

- **Bendoukhane, W. Gounache, S. Mezriche, S. 2013.** Evaluation de la toxicité de certaines nanoparticules métalliques (ZnO, Fe₂O₃ et Al₂O₃) sur un animal bioindicateur de pollution (*Helix aspersa*). Mémoire de Master. Université 8 mai 1945. Guelma. P 25.
- **Besnaci, S. 2016.** Evaluation de la toxicité des nanoparticules d'oxyde de fer « Fe₂O₃ » sur un bioindicateur de pollution terrestre : *Helix aspersa*. Mémoire de doctorat, Université Bdji Mokhtar. Annaba. P 24-56.
- **Besnaci, S. Bensoltane, S. Djekoun, M, 2019.** Oxydative stress and histological changes induced by the nano-Fe₂O₃ in *Helix aspersa*. Scientific Study and Research Chemistry and Chemical Engineering, Biotechnology, Food Industry. 20 (2), pp. 119 – 133.
- **Besnaci, S. Bensoltane, S. Fatma Moulka Hadjira Braia, Zerari, L. Khadri, S. Loucif, H. 2016.** Embryotoxicity evaluation of iron oxide Fe₂O₃ on land snails: *Helix aspersa*. Journal of Entomology and Zoology Studies. 4(4): 317-323.
- **Bettazzi, F. Palchetti, I. 2019.** Nanotoxicity assessment: A challenging application for cutting edge electroanalytical tools. Université degli Studi di Firenze, Dipartimento di Chimica Ugo Schiff, Via dellaLastruccia, Sesto Fiorentino, Fi, Italy. Analyticachimica 1072: P 61-74.
- **Boczkowski, J. Lanone, S. 2010.** Nanoparticules : une prévention est-elle possible. Université Paris-Est. Revue française d'allergologie 50 : P 214-216.
- **Bonnet, J.C. Aupinel, P. Vrillon, J.L. 1990.** L'escargot *Helix aspersa* biologie – élevage. Édition INRA, Domaine pluridisciplinaire du Magneraud 17700 Surgères. P 15-16.
- **Boucenna, M. 2010.** Evaluation de la toxicité des poussières métalliques rejetées par les aciéries 1et 2 du complexe sidérurgique d'EL-Hadjar sur un modèle bioaccumulateur *Helix aspersa*. Mémoire de magister. Université Badji-Mokhtar. Annaba. P10-51
- **Boucenna, M. 2016.** Etude de la toxicité des particules métalliques d'origine industrielle chez *Helix aspersa*. Evaluation nanotoxicologique du Fe₂O₃ et Al₂O₃. Thèse de Doctorat. Université Badji-Mokhtar. Annaba. P37
- **Cabanchaouche, H. S. 2017.** Etude de l'effet de pesticides et le pouvoir de bioaccumulation chez les escargots dans la région de Bouira. Mémoire de master. Université Akli Mohand Oulhadj. Bouira. P 35.

- **Carbone D, Faggio F, 2019.** *Helix aspersa* as sentinel of development damage for biomonitoring purpose: A validation study Department of Chemical, Biological, Pharmaceutical and Environmental Sciences-University of Messina Vaile Ferdinando Stagno d'Alcontres, Sant'Agata, Messina, Italy.
- **Chevallier, H. 1977.** La variabilité de l'Escargot Petit-Gris *Helix aspersa* Miiller. Bulletin du muséum national d'histoire naturelle 3e série, n° 448, Zoologie 311. P 448(02).
- **Chuto, G. Chaumet-Riffaud, P. le groupe Oncologie de la société française de médecine nucléaire et imagerie moléculaire (SFMN). 2010.** Les nanoparticules. Médecine nucléaire 34 : p 370-376.
- **Comité médical provincial en santé au travail du Québec. 2013.** Guide de la pratique professionnelle. Guide de surveillance médicale des travailleurs exposés à la silice et recommandation sur les seuils d'intervention préventives (SIP). P 27.
- **Demangeat, E. 2018.** Devenir des nanoparticules dans l'environnement : stabilité colloïdale, réactivité chimique et impacts sur le végétal. Sciences de la Terre. Université Rennes 1. Français. P 19-27.
- **Djatita, O. 2019.** Évaluation des effets de l'herbicide Cossack^(od) sur les paramètres physiologiques de l'escargot « *Helix aspersa* ». Mémoire de Master. Université Mohamed El -Bachir El-Ibrahimi. Bourdj Bouariridj. P35.
- **Druart, C. 2011.** Effets des pesticides de la vigne sur le cycle biologique de l'escargot dans divers contextes d'exposition. Sciences de l'environnement. Université de Franche-Comté, Français. P 87-91.
- **Galey, L. 2019.** Comprendre les situations d'exposition aux nanoparticules par l'intégration de l'activité de travail à la mesure : vers une construction de la prévention. Toxicologie. Université de Bordeaux, Français. NNT. P 19.24
- **Grara, N. Khaldi, F. Benamara, A. Zenir, Z. Abdemadjid, S. Bouloudenine, M. 2017.** Toxicité subChronique des Nanoparticule de ZnO chez *Helix aspersa* : Etude physiologique et Comportementale. Algerian Journal of Environmental Science and Technology December edition. Vol.3. N°3-A. (2017). ISSN : 2437-1114. P 509-510.
- **Grara, N. Atilia, A. Boucenna, M. Berrebbah, H. Reda Djebbar, M. 2012.a.** Toxicity of metal dust from Annaba steel complex (Eastern Algeria) on the morpho physiological parameters of the snail *Helix aspersa*. Advances in Environmental Biology, 6(2): 605-611.

- **Grara, N. Atailia, A. Boucenna, M. Khaldi, F. Berrebbah, H. Reda Djebar, M. 2012.** Effects of Heavy Metals on the Snails *Helix-aspersa* Bioindicators of the Environment Pollution for Human Health. International Conference on Applied Life Sciences (ICALS). P 242.
- **Grara, N. Bouloudenine, M. Khaldi, F. Zenir, Z. Abdemadjid, S. 2015.** Caractérisation morpho-physiologique de la toxicité du ZnO (nanoparticule manufacturée) sur l'escargot l'*Helix aspersa* bio indicateur de pollution de l'environnement. J. Mater. Environ. Sci. 6 (9). ISSN : 2028-2508.
- **Guitou, M. 2014.** Nanoparticules et santé : des applications aux risques potentiels. L'exemple du TiO₂. Sciences pharmaceutiques. P 80-82.
- **Lakhal, R. 2016.** Nouveau procede de l'elaboration de micro et nanoparticules d'oxydes de fer en voie seche : caractérisation, etude du procede et proposition d'un mécanisme réactionnel. Mémoire doctorat. Université de Toulouse. Délivré par : Institut National Polytechnique de Toulouse (INP Toulouse). P23.
- **Larue, C. 2011.** Impact de nanoparticules de TiO₂ et de nanotubes de carbone sur les végétaux. Sciences agricoles. Agro Paris Tech. Français. P 20.
- **Letellier, C. 2010.** Capacité antioxydante chez les hélicidés : variation intra spécifiques et interspécifiques. Master 2 EFCE. UMR 6553, équipe S.C.A. P 07.
- **Manier, N. 2014.** Prise en compte de l'évolution de l'état d'agglomération dans l'étude de l'écotoxicité des nanoparticules. Rapport Scientifique INERIS, PP 16-17.
- **Massea, R. Boudéne, C. 2008.** Les nanoparticules constituent-elles une nouvelle classe de toxiques environnementaux ? Académie nationale de médecine. Paris (France). Mésson Elsevier. P 319.
- **Mebirouk, R. 2017.** Recherche et évaluation des activités biologiques de trois extraits d'*Helix aspersa* (aqueux, hydro alcoolique et organique) : Activités anti-inflammatoire, anti tumorale et anti-antigénique. Mémoire de doctorat, Université des Frères Mentouri. Constantine. P 5-7.
- **Ostiguy, C. Lapointe, C. Trottier, M. Ménard, L. Clautier, Y. Boutin, M. Antoun, M. Normand, C. 2006.** Les effets à la santé reliés aux nanoparticules. IRSST 505. Monriél (Québec). Rapport R-451. P 07.
- **Ostiguy, C. Roberge, B. Woods, C. Soucy, B. 2010.** Les nanoparticules de synthèse Connaissances actuelles sur les risques et les mesures de prévention en SST. 2^oé

édition. IRSST 505, boul. De Maisonneuve Ouest Montréal (Québec). Rapport R-646. P 06-10.

- **Oudot, E. 2018.** Oxydes métalliques pour la passivation de l'interface Si / SiO₂ des capteurs d'images CMOS. Micro et nanotechnologies/Microélectronique. Université Grenoble Alpes. Français. P 29.
- **Pailleux, P. 2012.** Etude *in vitro* de la toxicité des nanoparticules de boehmite. Autre. Ecole Nationale Supérieure des Mines de Saint-Etienne, 2012. Français. P 31-48.
- **Pierre-Emmanuel, B. 2014.** Embryotoxicité de contaminants métalliques et organiques chez l'escargot *Helix aspersa*. Sciences agricoles. Université de Franche-Comté, Français. P 39-40.
- **Pirame, S, S, L. 2003.** Contribution a l'étude de la pathologie estivale de l'escargot petit-gris (*Helix aspersa*) : reproduction expérimentale. Mémoire de doctorat, Université Paul-Sabatier. Toulouse. P 15-19.
- **Prosie, F.** Lesage, F. Deschamps, F. 2008. Nanoparticules : Structures, utilisations et effets sur la santé. Presse Med 37 : P 1431-1437.
- **Pujlaté, I. 2011.** Étude *in vitro* de la toxicité de nanoparticules métalliques (TiO₂, ZnO, CdS) sur la cible rénale. Mémoire doctorat. Université Bordeaux Segalen. Thèse n° 1849. P 02-24.
- **Quignard, S. 2012.** Comportement des nanoparticules de silice en milieu biologique : des cellules aux biomatériaux. Matériaux. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI. Français. P 13-17.
- **Rapport du Comité de la Prévention et de la Précaution (CPP).** 2020. Nanotechnologie – Nanoparticules : Quels dangers, quels risques ? P 23-29.
- Research, 8(8): 4199-4206.
- **Salmi, A. 2018.** Étude de la toxicité d'une pollution mixte de séléniure de Cadmium et de Novaluron sur *Helix aspersa*. Mémoire doctorat. Université Laarbi Tebessi. Tébessa. P 27-37.
- **Sarah, Z. Wang, B.Sc. Eva, A. Karpinski, M. Sc. Eng, P. 2016.** Nanoparticules fabriquées : Aspects liés à la santé et à la sécurité. Programme du travail : des milieux de travail équitables, sécuritaires et productifs. Emploi et Développement social Canada. P 05.

Références bibliographiques

- **Simonin, M. 2015.** Dynamique, réactivité et écotoxicité des nanoparticules d'oxydes métalliques dans les sols : impact sur les fonctions et la diversité des communautés microbiennes. Ecotoxicologie. Université Claude Bernard - Lyon I. Français. P 16-31.
- **Tabaja, N. 2015.** Nanoparticules d'oxydes de fer et de ferrites obtenues par nano-réplication : réactivité chimique et application en dépollution des eaux. Chimie analytique. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI. Français. P 75.
- **Triboulet, S. 2013.** Etude des effets de deux types de nanoparticules métalliques sur des macrophages murins par une approche protéomique. Sciences agricoles. Université de Grenoble, 2013. Français. P82-84.
- **Verry, C. Porcel, E. Chargari, C. Rodriguez-Lafrasse, C. Balosso, J. 2019.** Utilisation de nanoparticules comme agent radio sensibilisant en radiothérapie : où en est-on ? Société française de radiothérapie oncologique (SFRO). Publié par Elsevier Masson SAS 1278-3218. P03.
- **Zaafour, M. 2014.** Etude écophysiological de la reproduction de l'escargot terrestre Petit-Gris (*Helix aspersa*, Gastropoda : Stylommatophora, Helicidae) dans la région Nord-Est d'Annaba-Algérie. Université Bdji Mokhtar. Annaba. P 08-19.
- **Zaafour, M. Meddour, A. Boulakoud, M. 2014.** Biométrie et dosage du glutathion chez *Helix aspersa* Müller (Gastropoda ; Helicidae) en zones agricole et urbaine polluée dans la région d'El-Hadjar (Annaba, Algérie). UBMA. Rev. Sci. Technol., Synthèse 28 : 96-105.