

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Elchahid Cheikh Larbi Tébessi- Tébessa

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la vie

Département : Biologie Appliquée



MEMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences Biologique

Spécialité : Pharmacotoxicologie

Intitulé : Étude de la toxicité d'une nanoparticule métallique (le trichlorure d'antimoine) chez un escargot terrestre « *Helix aspersa* »

Présenté et soutenu par :

-BOUALI Djouda

-BOUCETTA Soumia

- ACHOURI Nour Elhouda

Devant le jury :

HAMEL Mahdia	M.A.A	U.L.T. Tébessa	Président
ROUACHDIA Roukaya	M.A.A	U.L.T. Tébessa	Rapporteur
BENAMMARA Amel	M.A.A	U.L.T. Tébessa	Examineur

Date de soutenance : Le 07 Juin 2023

Année universitaire :2022 / 2023

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Résumé

Ce travail a fourni une étude de la toxicité du trichlorure d'antimoine $SbCl_3$, qui est une nanoparticule cristalline incolore qui a plusieurs applications particulières dans le domaine industriel sur un indicateur biologique de contamination « *Helix aspersa* », après exposition à des concentrations différentes ($500\mu g/g$, $1000\mu g/g$, $2500\mu g/g$, $5000\mu g/g$) pendant 15 et 21 jours par le biais du système digestif, en mesurant les indicateurs métriques : le diamètre de la coquille, le RHS % et le RRS %, ainsi que son effet sur le contenu hépatopancréatique et rénal en protéines, glucides et lipides. Les résultats ont montré que le traitement des escargots par le $SbCl_3$ provoque une diminution du RHS % après 15 et 21 jours de traitement, et qu'il n'y a pas de différence significative du RRS % entre les lots traités et le lot témoin. Les escargots ont une tendance à être moins mobiles après 15 jours d'exposition avec une diminution du diamètre de la coquille à partir de la troisième semaine. Une augmentation du taux moyen des paramètres biochimiques (protéines et lipides) et une diminution des (glucides) ont été observés chez les lots traités par rapport au lot témoin.

Mots-clés : *Helix aspersa*, Trichlorure d'antimoine, RHS, RRS, Taux des protéines, lipides, glucides.

Abstract

This work provided a study of the toxicity of antimony trichloride SbCl_3 , which is a colorless crystalline nanoparticle which has several particular applications in the industrial field on a biological indicator of contamination "*Helix aspersa*", after exposure to different concentrations ($500\mu\text{g/g}$, $1000\mu\text{g/g}$, $2500\mu\text{g/g}$, $5000\mu\text{g/g}$) for 15 and 21 days through the digestive system, measuring the metric indicators: shell diameter, RHS % and RRS %, as well as its effect on the hepatopancreatic and renal protein, carbohydrate and lipid content. The results showed that the treatment of the snails with SbCl_3 causes a reduction in the RHS % after 15 and 21 days of treatment, and that there is no significant difference in the RRS % between the treated batches and the control batch. Snails tend to be less mobile after 15 days of exposure with a decrease in shell diameter from the third week. An increase in the mean level of biochemical parameters (proteins and lipids) and a decrease in (carbohydrates) were observed in the treated batches compared to the control batch.

Keywords: *Helix aspersa*, Antimony trichloride, RHS, RRS, Rate of proteins, lipids, carbohydrates

المخلص

قدم هذا العمل دراسة عن سمية ثلاثي كلوريد الأنثيمون $SbCl_3$ ، وهو جسيم نانوي بلوري عديم اللون وله عدة تطبيقات خاصة في المجال الصناعي على مؤشر بيولوجي للتلوث "*Helix aspersa*" ، بعد التعرض لتركيزات مختلفة (500µg/g, 1000µg/g, 2500µg/g et 5000µg/g) لمدة 15 و 21 يومًا من خلال الجهاز الهضمي ، وقياس المؤشرات المترية: قطر القشرة ، %RHS و %RRS ، بالإضافة إلى تأثيرها على البروتينات الكبدية والبنكرياس الكلوية والكربوهيدرات والدهون. أظهرت النتائج أن علاج القواقع باستخدام $SbCl_3$ يسبب انخفاض في % RHS بعد 15 و 21 يومًا من العلاج، وأنه لا يوجد فرق كبير في %RRS بين الدُفعات المعاملة ومجموعة التحكم. تميل الحلزونات إلى أن تكون أقل حركة بعد 15 يومًا من التعرض مع انخفاض في قطر القشرة من الأسبوع الثالث. لوحظ زيادة في متوسط مستوى المؤشرات البيوكيميائية (البروتينات والدهون) وانخفاض في (الكربوهيدرات) في الدُفعات المعاملة مقارنة بدفعة التحكم.

الكلمات المفتاحية: *Helix aspersa*، ثلاثي كلوريد الأنثيمون، RHS، RRS، معدل البروتينات، الليبيدات و الكربوهيدرات

Remerciement

Remerciement

O ALLAH, louanges et remerciements à Toi, si Tu as corrigé notre erreur et éclairé pour nous le chemin de la connaissance et de la connaissance, et nous a aidé à accomplir ce travail.

Nous adressons nos sincères remerciements et nos félicitations au Mme Rouachdia Roukaya pour son acceptation de la supervision de ce travail, ainsi que pour les conseils et les orientations qu'elle nous a fournis et pour son aide dans la réalisation de cette recherche ,

Que Dieu la récompense de toute sa bonté.

Nous remercions également Mme Hamel Mahdia ; de l'avoir acceptée comme présidente du comité de discussion de cette recherche.

Nous remercions Mme Benammara d'avoir accepté la discussion de cette recherche en sa qualité d'examineur.

Nous remercions également tous les enseignants et laborantins et tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail et tous ceux qui nous ont encouragés, soutenus et aidés tout au long de notre parcours académique.

Merci beaucoup à tous.

Dédicace



Dédicace

A l'abondance d'amour, et à l'abondance de donner sans attendre ni en retour, à celle qui m'a soutenu dans l'accomplissement de ce travail, à ma mère (Nadjette) bien-aimée, je vous souhaite bonne santé et bien-être.

A celui qui était une bougie éclairant mon chemin et à celui qui m'a enseigné la diligence et l'amour de la connaissance, à mon père (Abdelhakim) aimant, que Dieu prolonge ta vie.

A ceux qui m'ont soutenu, en paroles ou en actes, à tous mes frères (Sara, Ismail, Azzouz, Ibrahim), ma famille surtout (Hadil, Phatima, Khaoula, Nadjila), mes collègues Kounouz, Hour, Soumia, et Hour elhouda et Radhia Merci pour votre soutien.

Quissiez-vous toujours être avec moi.

Djouha

Dédicace



Dédicace

Je dédie ce travail

A ma famille, elle qui m'a doté d'une éducation digne, son amour a fait de moi ce que je suis aujourd'hui :

Particulièrement à mon père, pour son soutien, son affection, tendresse, noblesse et la confiance qu'il m'accorde.

A ma chère mère, pour son amour, ses encouragements et ses sacrifices et l'inspiration qu'elle m'a donnée.

A mes frères (Hakou, Badri) et mes belles sœurs (Rayan) et (Donia et son mari) en signe d'amour, de reconnaissance gratitude pour le dévouement dont vous avez fait toujours preuve à mon égard, avec mes souhaits de bonheur, de santé et de succès sans un morceau de mon oublier mon neveu Laki (Lali) qu'il cœur.

A ma défunte Tante Naïma, aie pitié d'elle, et si Dieu le veut, elle sera parmi les gens du paradis.

Et finalement à mes belles aïmes HourAchouri, Bouati Djouda, Hour Houmana, qui n'ont jamais cessée de me soutenir, je te souhaite bonne chance et réussite.

Soumia

Dédicace



Dédicace

Je remercie en premier lieu « ALLAH » le Miséricordieux de m'avoir donné la force, volonté, et la patience durant toutes mes années d'étude.

Je dédie ce travail :

*A mon père **Boubaker**, pour son soutien, sa gentillesse, son aide et sa confiance et surtout pour sa noblesse infinie.*

*A mon chère mère **Hadjira** pour sa tendresse, son amour, son affection, sa patience, et ses valeureux conseils durant mes années d'études.*

*A mes très chers frères **Thab**, **Anfal** et **Maria** que j'aime très fort et pour toujours je leurs souhaite beaucoup de succès et d réussite.*

*A toute la famille **Achouri** et **Kerkar***

A mes amies et à tous ceux qui me sont chers.

*A mes meilleures binômes **Boucetta Soumia** et **Bouali Djouda** au travail.*

Nour el houda

Liste des tableaux

N ° Tableau	Titre	Page
01	Les différents domaines d'application des nanoparticules	13
02	Formule et synonymes de Trichlorure d'antimoine	19
03	Les principaux propriétés physiques et chimiques de SbCl ₃	19
04	Dosage des protéines : réalisation de la gamme d'étalonnage	39
05	Dosage des glucides : réalisation de la gamme d'étalonnage	41
06	Dosage des lipides : réalisation de la gamme d'étalonnage	42
07	Effet de trichlorure d'antimoine (SbCl ₃) (500µg/g, 1000µg/g, 2500µg/g et 5000µg/g) sur l'évolution du diamètre de la coquille d' <i>Helix aspersa</i>	45
08	Effet de trichlorure d'antimoine (SbCl ₃) (500µg/g, 1000µg/g, 2500µg/g et 5000µg/g) sur l'évolution du rapport hépato-somatique (R.H.S) (%) chez les escargots <i>Helix aspersa</i>	46
09	Effet de quatre doses de SbCl ₃ (500µg/g, 1000µg/g, 2500µg/g et 5000µg/g) sur l'évolution du rapport réno-somatique (R.R.S) (%) chez des escargots terrestres <i>Helix aspersa</i>	47
10	Effet de quatre doses de SbCl ₃ (500µg/g, 1000µg/g, 2500µg/g et 5000µg/g) sur le taux de protéine chez des escargots terrestres <i>Helix aspersa</i> (l'hépatopancréas)	48
11	Effet de quatre doses de SbCl ₃	49

Liste des tableaux

	(500µg/g,1000µg/g,2500µg/g,5000µg/g) sur le taux des glucides chez des escargots terrestre <i>Helix aspersa</i> (l'hépatopancréas)	
12	Effet de quatre doses de SbCl ₃ (500µg/g, 1000µg/g, : 2500µg/g et 5000µg/g) sur le taux de lipide chez des escargots <i>Helix aspersa</i> (hepatopancreas)	50
13	Effet de quatre doses de SbCl ₃ (500µg/g, 1000µg/g, 2500µg/g et 5000µg/g) sur le taux de protéine chez des escargots terrestres <i>Helix aspersa</i> (le rein)	51
14	Effet de quatre doses de SbCl ₃ (500µg/g, 1000µg/g, 2500µg/g et 5000µg/g) sur le taux de glucide chez des escargots terrestres <i>Helix aspersa</i> (le rein)	52
15	Effet de quatre doses de SbCl ₃ (500µg/g, 1000µg/g, 2500µg/g et 5000µg/g) sur le taux de lipide chez des escargots terrestres <i>Helix aspersa</i> (le rein)	54

Liste des figures

Liste des figures

N ° figure	Titre	Page
01	Les limites du nanomonde	04
02	Particules fines et Ultrafines	06
03	Représentation schématique des différentes méthodes de synthèse des NPs	08
04	Photo en microscopie de la forme (sphérique (40nm) de nanoparticules d'argent	09
05	Nanoparticules à base de carbone	11
06	Les nanotechnologies au service du traitement de l'eau	14
07	Certaines maladies associées à l'exposition à des nanoparticules	17
08	Poudre de SbCl ₃	18
09	Structure de Lewis	18
10	Schéma de la toxicocinétique dans le cas de l'inhalation	21
11	Les escargots <i>d'Helix aspersa</i>	25
12	Morphologie <i>d'Helix aspersa</i>	26
13	Anatomie <i>d'Helix aspersa</i>	29
14	Accouplement des Petit-gris	31
15	Ponte chez <i>Helix aspersa</i>	32
16	Elevage <i>d'Helix aspersa</i>	33
17	Mode de traitement des escargots	34
18	Sacrifice d'escargot et prélèvement des organes (l'hépatopancréas et le rein)	35
19	Mensure du diamètre de la coquille	36
20	Principales étapes d'extraction des métabolites	38

Liste des figures

	protéines, glucides et lipides	
21	Droite de régression exprimant l'absorbance en fonction de la quantité d'albumine (μg) (R^2 : coefficient de détermination)	40
22	Droite de régression exprimant l'absorbance en fonction de la quantité en glucose (μg) (R^2 : coefficient de détermination)	41
23	Droite de régression exprimant l'absorbance en fonction de quantité des lipides standard (μg) (R^2 : coefficient de détermination)	43
24	Effet du SbCl_3 sur l'évolution du diamètre de la coquille des escargots <i>Helix aspersa</i> en fonction du temps	45
25	Effet de trichlorure d'antimoine (SbCl_3) sur l'évolution du rapport hépato- somatique (R.H.S) (%) chez les escargots <i>Helix aspersa</i> en fonction du temps	46
26	Effet du SbCl_3 sur l'évolution du rapport réno- somatique (R.R.S.) (%) chez les escargots <i>Helix aspersa</i> en fonction du temps	47
27	Variation du taux des protéines ($\mu\text{g}/\text{mg}$) dans l'hépatopancréas d' <i>Helix aspersa</i> aux nanoparticules (SbCl_3) en fonction du temps	48
28	Variation du taux des glucides ($\mu\text{g}/\text{mg}$) dans l'hépatopancréas d' <i>Helix aspersa</i> aux nanoparticules (SbCl_3) en fonction du temps	49
29	Variation du taux des lipides ($\mu\text{g}/\text{mg}$) dans l'hépatopancréas d' <i>Helix aspersa</i> aux nanoparticules (SbCl_3) en fonction du temps	50
30	Variation du taux des protéines ($\mu\text{g}/\text{mg}$) dans le rein d' <i>Helix aspersa</i> aux nanoparticules (SbCl_3)	51
31	Variation du taux des glucides ($\mu\text{g}/\text{mg}$) dans le	53

Liste des figures

rein *d'Helix aspersa* aux nanoparticules (SbCl₃)
en fonction du temps

32

Variation du taux des lipides (µg/mg) dans le rein

54

d'Helix aspersa aux nanoparticules (SbCl₃) en
fonction du temps

Liste des abréviations

Liste des abréviations

ADN	Acide désoxyribonucléique
Ag	L'argenté
Al₂O₃	Oxyde d'aluminium
Au	L'or
B.B.C	Bleu Brillantde Connmassie
B.S.A	Bovin Sérum Albumine
C °	Degré Celsius
Cd	Cadmiume
cm	Centimètre
Cu	Cuivre
ETM	Élément-trace métallique
Fe₂O₃	L'oxyde de fer
g	Gramme
g/ml	Gramme par millilitre
g/mol	Gramme par mol
h	Heurs
H₂O	Eau
Kg	Kilogramme
mg	Milligramme
m/h	Mètre par heurs
min	Minute
ml	Millilitre
mm	Millimètre
mm/s	Millimètre par second
MT	Métallothionéines
N° CAS	Numéro qui référence à la numérotation des substances chimiques
N° EINECS	Numéro CE qui référence les substances chimiques
NaOH	Oxyde de sodium
nm	Nanomètre
NPs	Les nanoparticules
NS	Non significatif
OP	Organophosphoré
p	Seuil de signification
Pa	Pascal
Pb	Plomb
PH	Potentiel Celsius
PNP	Les nanoparticules polymères

Liste des abréviations

ppm	Part par million
PUF	Les particules ultrafines
RHS	Le rapport hépato-somatique
RRS	Le rapport réno-somatique
ROS	Les espèces réactives de l'oxygène
R.S	Rapport Somatique
SbCl3	Trichlorure d'antimoine
µg/g	Microgramme par gramme
µl	Microlitre
UV	Les Ultra-Violets
ZnO	Oxyde de zinc
%	Pourcentage

Sommaire

Résumé

Remerciement

Dédicace

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Partie théorique

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I. Introduction générale	01
I.1- Définition des nanoparticules	04
I.2- Terminologie	05
I.2-1-Les nanotechnologie	05
I.2-2-Le nanomonde	05
I.2-3-Les nanomatériaux	05
I.3-L'origine des nanoparticules	05
I.4-Les propriétés des nanoparticules	06
I.5-Les méthodes de synthèse des nanoparticules	07
I.5-1-L'approche ascendante	07
I.5-2-L'approche descendante	07
I.6-Characterisation des nanoparticules	09
I.6-1-La forme	09
I.6-2-La taille	09
I.6-3-La surface spécifique	09
I.7-Classification des nanoparticules	10
I.7-1-Classification de nanomatériaux selon leurs formes d'utilisation	10
I.7-1-1-Matériaux de dimension 0	10
I.7-1-2-Matériaux de dimension 1	10
I.7-1-3-Matériaux de dimension2	10
I.7-1-4-Matériaux de dimension3	10
I.7-2-Classification des nanoparticules en fonction de leur composition chimique	10
I.7-2-1-Nanoparticules à base de carbone	10
I.7-2-2-Les nanoparticules métalliques	11
I.7-2-3-Les nanoparticules céramiques	12
I.7-2-4-Les nanoparticules semi-conducteurs	12
I.7-2-5-Les nanoparticules polymères	12

Sommaire

I.7-2-6-Les nanoparticules à base de lipide	12
I.8-Domains d'applications des nanoparticules	12
I.9-Les effets des nanoparticules	14
I.9-1-Sur l'environnement	14
I.9-2-Sur l'homme	15
II. Trichlorure d'antimoine	18
II.1-Définition	18
II.2-Structure chimique de SbCl ₃	18
II.3-Identification et caractérisation	19
II.4-Propriétés physico-chimiques de SbCl ₃	19
II.5-L'utilisation de SbCl ₃	20
II.6-Principaux sources d'exposition de SbCl ₃	20
II.7-Toxicité de SbCl ₃	21
II.7-1-Toxico-cinétique	21
II.7-2-Toxico-dynamique	22
III. Induction d'un stress oxydant	23

Chapitre II : Etude expérimental « Matériel et Méthodes »

I. Matériel et Méthodes	24
I.1-Matériel	24
I.1-1-Matériel biologique	24
I.1-1-1-La position systématique	24
I.1-1-2-Morphologie	25
I.1-1-3-Anatomie	26
I.1-1-4-Déplacement	29
I.1-1-5-Rythme d'activité	30
I.1-1-6-Reproduction et accouplement	30
I.1-1-7-La ponte	31
I.1-1-8-Croissance	32
I.1-2-Matériel chimique	33
I.2-Méthodes	33
I.2-1-Conditions d'élevage	33
I.2-2-Traitement des escargots	33
I.2-2-1-Préparation des doses de traitement	33
I.2-2-2-Traitement	34
I.2-3-Préparation	35
I.2-4-Effets comportementaux	36
I.2-5-Paramètres étudiés	36
I.2-5-1- Paramètres physiologiques	36
I.2-5-1-1-Diamètre de la coquille	36
I.2-5-1-2-Mesure du rapport hépato-somatique (RHS)% et du rapport réno-somatique (RRS)%	37
I.2-5-2-Paramètres biochimiques	37

Sommaire

I.2-5-2-1-Dosage des métabolites	37
I.2-5-2-1-1-Dosage des protéines	39
I.2-5-2-1-2-Dosage des glucides	40
I.2-5-2-1-3-Dosage des lipides	41
I.2-6-Analyse statistique	43

Chapitre III : Résultats et Discussion

I.Effet du SbCl ₃ sur les paramètres physiologiques	45
I.1-Effet du chlorure d'antimoine (SbCl ₃) sur l'évolution du diamètre de la coquille	45
I.2-Effet de SbCl ₃ sur le rapport hépato-somatique	46
I.3-Effet de trichlorure d'antimoine (SbCl ₃) sur le rapport réno-somatique	46
II. Effets de SbCl ₃ sur la composition biochimique	47
II.1-Dosage des métabolites au niveau de l'hépatopancréas chez <i>Helix aspersa</i>	47
II.1-1-Effet du SbCl ₃ sur le taux des protéines totales	47
II.1-2- Effet du SbCl ₃ sur le taux des glucides totaux	48
II.1-3- Effet du SbCl ₃ sur le taux des lipides totaux	49
II.2- Dosage des métabolites au niveau de rein chez <i>Helix aspersa</i>	50
II.2-1 Effet de SbCl ₃ sur le taux des protéines totales	50
II.2-2- Effet de SbCl ₃ sur le taux des glucides totaux	52
II.2-3- Effet de SbCl ₃ sur le taux des lipides totaux	53
Discussion	56
Conclusion et Perspectives	62
Références bibliographiques	64

INTROUCTION GENERALE

Avec la Révolution Industrielle au XIXe siècle, la société subit un tournant dans les domaines de la politique, de l'économie et de l'environnement grâce à des innovations concernant notamment les textiles, la métallurgie et les transports. A la fin du XXIe siècle, on assiste dans les pays industrialisés à l'essor des nanosciences et nanotechnologies, lesquelles procurent à l'homme de nombreuses innovations à l'instar de l'utilisation des nanoparticules, si bien que les spécialistes parlent de « Révolution nanotechnologique » (**Matthieu H,2014**).

Le concept de nanotechnologies fut introduit par le physicien **Richard Feynman** en **1959** à l'Institut Américain des Technologies durant son discours intitulé "There's plenty of Room at the Bottom". Il y évoquait la possibilité de développement de technologies à l'échelle moléculaire, en argumentant que les connaissances de l'époque permettraient en théorie de manipuler des éléments au niveau de l'atome. A la fin du XXe siècle **Miheil Roco**, conseillé en nanotechnologies à la Fondation Scientifique Nationale, projetait en **2005** que les innovations nanotechnologiques dépasseraient de loin l'impact provoqué par la Révolution Industrielle, avec un marché atteignant un milliard de dollars en **2015** et la création de deux millions d'emplois (**Matthieu H,2014**).

L'utilisation de nanoparticules n'est cependant pas récente. En effet, les romains en utilisent pour donner un aspect esthétique à leur verre des nanoparticules d'or et d'argent, lesquelles donnaient alors à l'objet des propriétés optiques faisant varier sa couleur selon la luminosité. Au VIIe siècle, en Mésopotamie, les artisans qui utilise également des particules d'or et d'argent pour donner de la brillance à leurs vernis. Cette technique fut conservée au Moyen-âge par les maîtres verriers qui utilisation ces particules pour colorer les vitraux des cathédrales (**Matthieu H,2014**).

En **1985**, **Robert F. Harold W** et **Richard E** observent que des particules comportant 60 et 70 atomes sont extrêmement stables. Suite à une étude, ils estiment que ces particules ont une structure en cage constituée de pentagones et d'hexagones. Cette structure fut appelée C60 buckminsterfullerène, puis rebaptisé fullerène. La synthèse de ces fullerènes a valu à **Robert F** et **Harold W** et **Richard E** le prix Nobel de chimie en **1996**. Grâce à la géométrie presque sphérique de ces molécules, placées

Introduction générale

entre deux surfaces elles jouent un rôle de roulement à billes et servent donc de lubrifiant très efficace (**Mathieu H,2014**).

Ainsi la synthèse de ces molécules a permis de définir le concept de nanosciences, bien que les nanoparticules aient été utilisées depuis des temps beaucoup plus anciens. Cependant, avec l'apparition de ces sciences de l'infiniment petit, le nouveau concept relève de l'étude des nanoparticules. Outre leur aspect technologique, l'usage de ces dernières est vivement critiqué du fait de leur toxicité sur les organismes à leur contact (**Mathieu H, 2014**).

Notre travail vise à évaluer les effets d'une nanoparticule métallique ($SbCl_3$) sur le gastéropode terrestre *Helix aspersa*, en étudiant les critères physiologiques (Diamètre de la coquille, RHS et RRS) et les paramètres chimiques (protéines, glucides, lipides). Ce mémoire est organisé en 4 parties :

-La première partie : est une étude bibliographique sur les nanoparticules, fonctions de leur origine, ses différents types et applications ...

-La deuxième partie : traite les méthodes utilisées pour déterminer les effets du trichlorure d'antimoine « $SbCl_3$ » sur *Helix aspersa* en étudiant les critères physiologique (Diamètre de la coquille, RHS, RRS) et les paramètres chimiques (protéines, glucides, lipides).

-La troisième partie : présente des résultats obtenus et la discussion.

-Conclusion : contient des abats généraux.

Chapitre I :
Synthèse bibliographique

I.1-Définition des nanoparticules

Les nanoparticules sont des structures composées de quelques centaines à quelques milliers d'atomes, du fait de leur taille (1 à 100 nanomètres) (Chuto G et Chaumet P.,2010). Cette caractéristique des nanoparticules est liée au fait que la majorité de son atome se trouve à sa surface (Lanone S et Boczkowski J.,2010). Nanoparticule est une particule avec une ou plusieurs dimensions à l'échelle nanométrique, l'échelle nanométrique a une ou plusieurs dimensions de l'ordre de 100 nm ou moins. Le nanotube est une structure cristalline particulière, de forme tubulaire, creuse et close, composée d'atomes disposés régulièrement en pentagones, hexagones et/ou heptagones. Les nanomatériaux ne sont pas un groupe homogène de substances, leur présentation peut différer selon la taille, la forme, la surface. (Florin T et al., 2008).

La figure (01) montre l'échelle nanométrique (nanoparticules de taille nanométrique) par rapport à des objets et des matériaux ; tels que : le corps humain, la voiture...

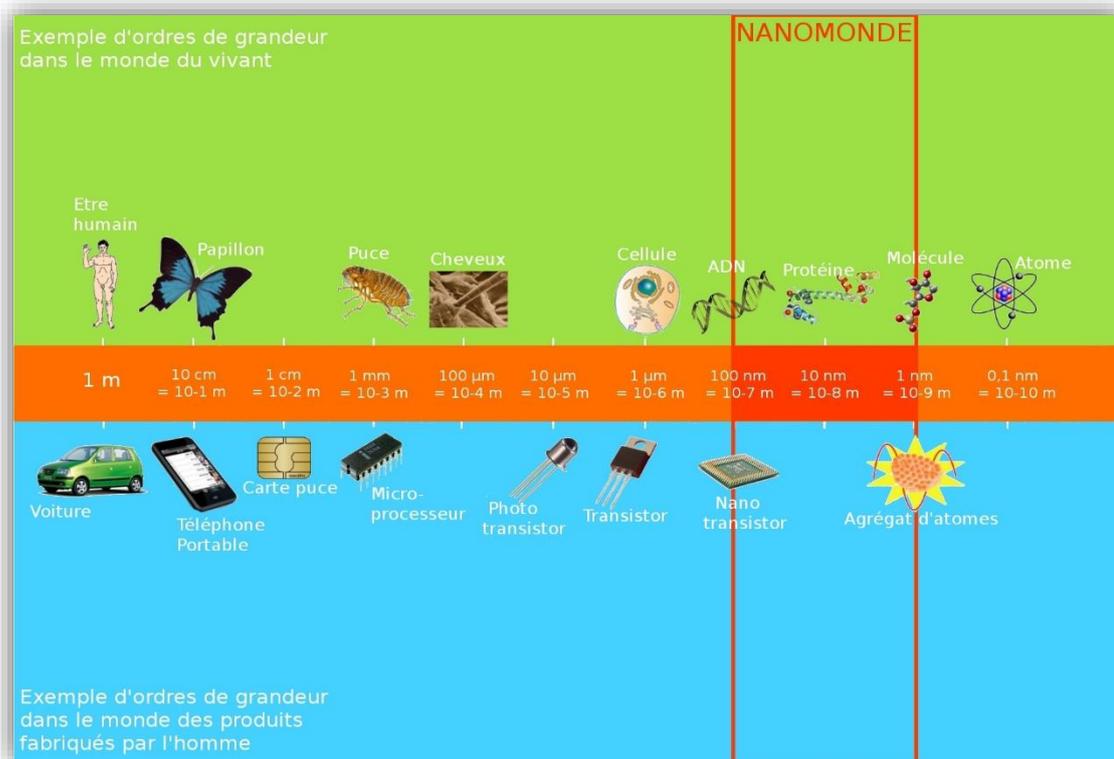


Figure 01 : les limites du nanomonde (www.nanotechnologie-medicine.webnode)

I.2-Terminologie

I.2-1-Les nanotechnologies

Ces sont les techniques qui elles s'intéressent à la fabrication, la manipulation et la caractérisation des molécules nanométriques.

C'est le domaine appliqué de la nanoscience qu'il s'intéresse à la partie théorique pour faire des études sur les molécules et les atomes (Myriam R et Olivier W., 2012)

I.2-2-Le nanomonde

L'origine du préfixe nano est « nanos » qui est un préfixe grec. Un nanomètre équivalent à $1/10^9$ de l'unité. Exemple : on écrit : $1\text{nm}=10^{-9}\text{ m} = 0,000000001\text{m}$ (Myriam R et Olivier W.,2012) .

I.2-3-Les nanomatériaux

Le nanomatériau a la taille suivante : $1\text{nm} < \text{taille} < 100\text{nm}$ (Myriam R et Olivier W., 2012).

I.3-L'origine des nanoparticules

Les sources de nanoparticules sont diverses, mais il existe trois grandes sources d'émission (Canivet L, 2016) :

- Les nanoparticules d'origine naturelle : qui sont émises par la nature lors des accidents et catastrophes naturels, tels que les fumées des volcans, ou les poussières émises lors de l'érosion des sols par le vent ou l'eau ...
- Il existe un deuxième type de nanoparticules, issues des activités humaines, mais pas de façon intentionnelle, c'est ce qu'on appelle « des nanoparticules d'origine anthropogénique non-intentionnelle », telles que les particules émises des gaz d'échappement des transports et des industries, la fumée des cigarettes...
- Un troisième type de nanoparticules existe : Ce sont des particules fabriquées par l'homme d'une façon intentionnelle appelées aussi « les nanoparticules d'origine anthropogénique intentionnelle ou manufacturées », elles sont

présentes dans les carbones (noir de carbone, fullerène, nanoparticules de carbone), les oxydes, les céramiques et les polymères.

La diversité des sources des nanoparticules et la particularité de leurs propriétés ont rendu leur usage de plus en plus considérable dans plusieurs domaines.

I.4-Les propriétés des nanoparticules

Les nanoparticules ont des particularités structurales très spécifiques. En effets, contrairement aux matériaux classiques, les nanoparticules voient leurs propriétés changer en fonction de leur taille. On a deux catégories :

-Les particules fines : qui ont un diamètre compris entre 100 et 2500 nm.

-Les particules ultrafines (PUF) : dont le diamètre est compris entre 1 et 100 nm.

(Daragnes L, 2018).

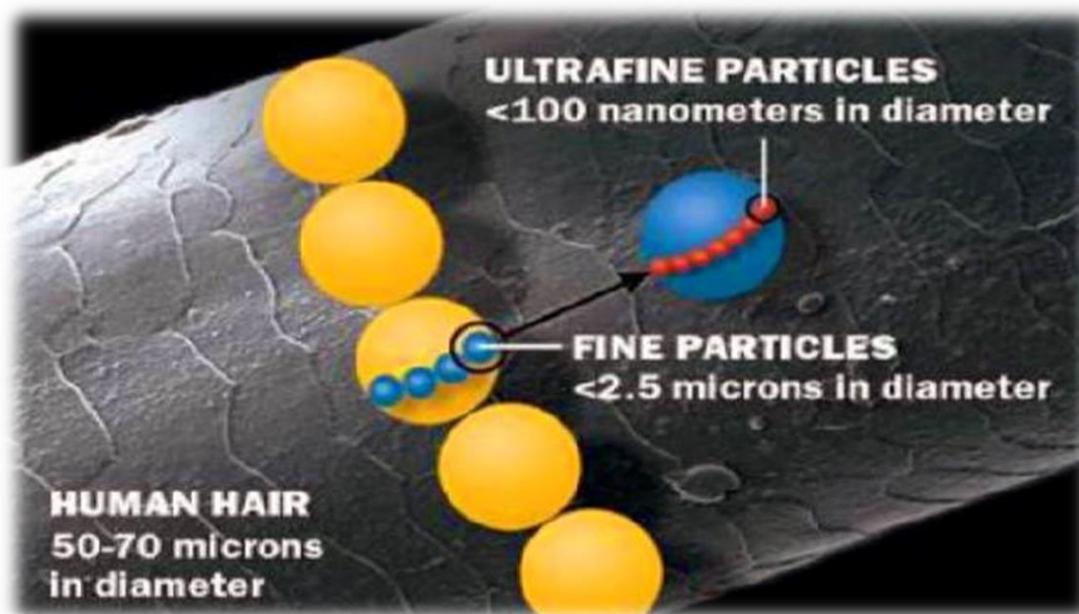


Figure 02 : Particules fines et Ultrafines (Levin, 2012)

Les principales propriétés des nanoparticules sont :

Optique, électriques, catalytique, thermiques, magnétiques, mécaniques ou encore biologiques. Certaines nanoparticules d'oxydes métalliques ont également la particularité d'absorber Les Ultras Violets (UV) (Zeyons O, 2008) .

I.5-Les méthodes de synthèse des nanoparticules

Les NPs peuvent être synthétisées selon différentes approches par la méthode ascendante ou la méthode descendante.

I.5-1-L'approche ascendante

- Les NPs sont construites atome par atome ou molécule par molécule.

I.5-2-L'approche descendante

- Une grande structure est graduellement sous-dimensionnée, jusqu'à atteindre des dimensions nanométriques après application de sollicitations mécaniques sévères, de chocs violents et de fortes déformations (**Claude O et al., 2010**).

Les deux approches ascendante et descendante ; tendent à converger en termes de dimension des particules synthétisées. L'approche ascendante paraît plus riche en ce sens qu'elle permet la production d'une plus grande diversité d'architectures et, souvent, un meilleur contrôle de l'état nanométrique (tailles et distribution granulométrique relativement mono dispersé, positionnement des molécules, homogénéité des produits). De son côté, bien que capable de productions plus volumineuses, l'approche descendante rend en général le contrôle de l'état nanométrique plus délicat (**Claude O et al., 2010**)

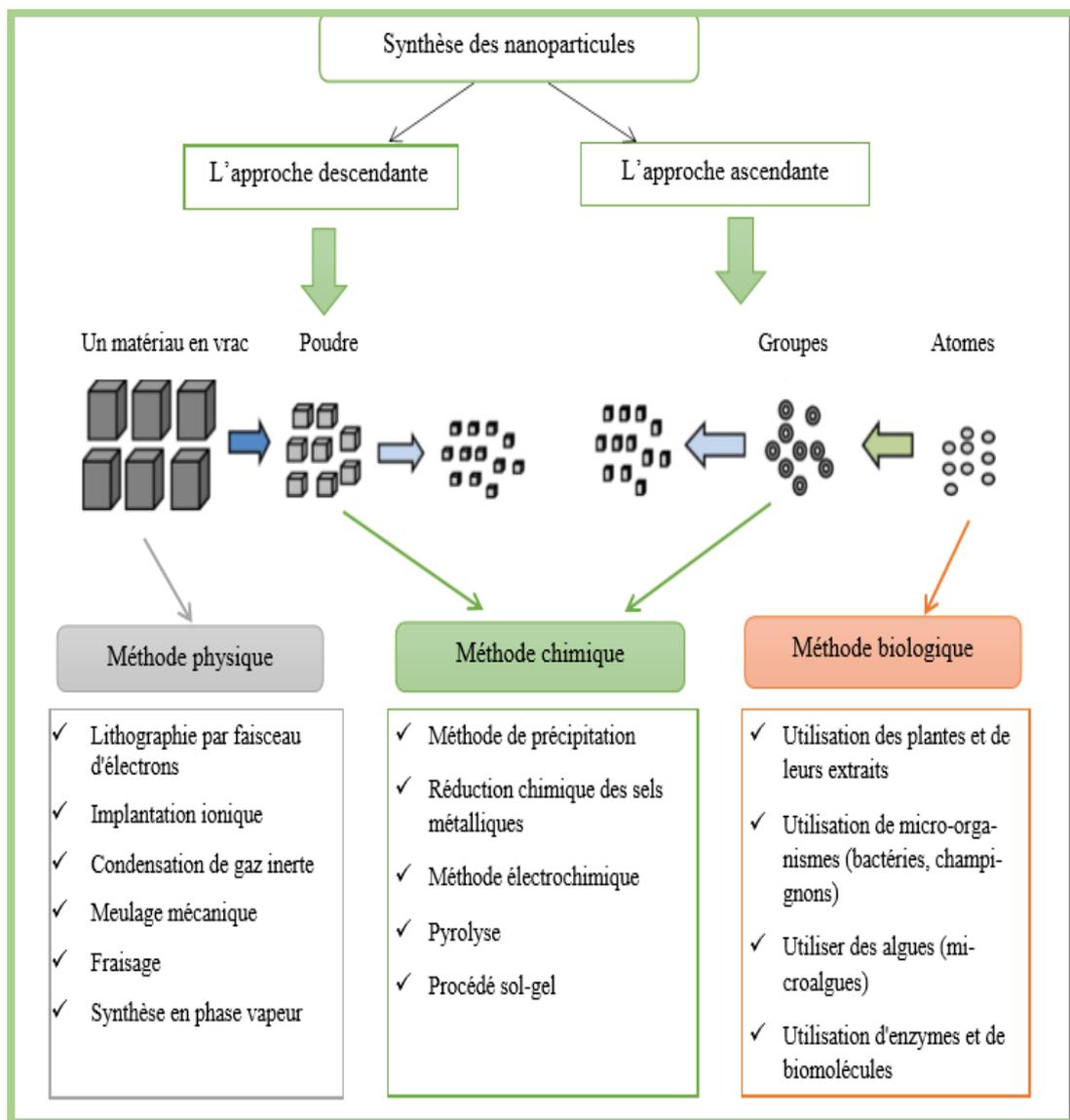


Figure 03 : Représentation schématique des différentes méthodes de synthèse des NPs (Patra K et al., 2014) .

I.6- Caractérisation des nanoparticules

Les principales caractéristiques des nanoparticules sont :

I.6-1-La forme

Les nanoparticules sont caractérisées par leurs diverses formes (sphériques, tubes, plaques...), tellement nombreuses qu'il est difficile de toutes les classer.

I.6-2-La taille

Grâce à leur petite taille nanométrique, les nanoparticules ont la particularité d'avoir deux types de dispersion :

-Monodispersion : une seule et même taille.

-Polydispersion : une gamme de plusieurs tailles plus ou moins importantes.

La taille joue un rôle très important dans la réactivité des particules.

Par exemple : pour les atomes d'Arsenic avec les particules d'oxyde de fer ; plus le diamètre des particules est petit, plus leur capacité dans la rétention des atomes d'Arsenic sera forte.

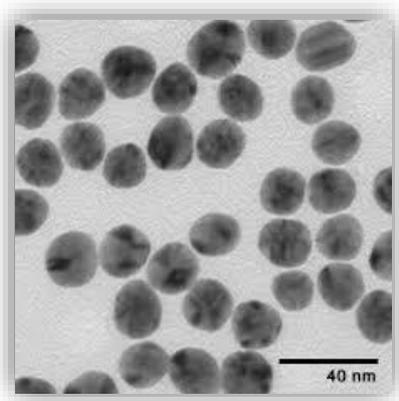


Figure 04 : Photo en microscopie de la forme (sphérique) et la taille (40nm) de nanoparticules d'argent (**Matthieu H, 2014**)

I.6-3-La surface spécifique

On entend par « surface spécifique » la surface réelle totale d'une particule par unité de masse de produit par rapport à sa taille apparente. La particularité de la surface d'une nanoparticule réside dans le fait que la plupart de ces atomes se trouvent

sur la surface ce qui va conférer à la nanoparticule sa propriété de réactivité avec le milieu où elle se présente. Grâce à cette caractéristique, plus la surface spécifique augmente, plus la taille des particules va diminuer, plus leur réactivité chimique et biologique augmente.

I.7-Classification des nanoparticules

I.7-1-Classification de nanomatériaux selon leurs formes d'utilisation (Eric G, 2006)

I.7-1-1-Matériaux de dimension 0

Matériaux sous forme dispersée, aléatoire ou organisée, comme dans les cristaux colloïdaux pour l'optique ou les fluides magnétiques.

I.7-1-2-Matériaux de dimension 1

Matériaux sous forme de nanofils ou de nanotubes.

I.7-1-3-Matériaux de dimension 2

Matériaux sous forme de couche mince, comme dans les dépôts d'agrégats ou de revêtements épais obtenus par projection plasma ou voie électrochimique.

I.7-1-4-Matériaux de dimension 3

Matériaux sous forme compacte comme dans les céramiques et les métaux nanostructures.

I.7-2-Classification des nanoparticules en fonction de leur composition chimique

I.7-2-1-Nanoparticules à base de carbone

Matériaux à base de carbone qui ont soit une forme sphérique ou tubulaire (Tedjani M et al., 2018).

Exemples parmi les plus connus :

-**Les fullerènes** : ce sont des cages constituées d'atomes de carbone liés à trois autres atomes.

- **Les nano-feuillets de graphène** : c'est une série de couches superposées d'un réseau hexagonal d'atomes de carbone, chacun étant lié à 3 carbones voisins.

-**Les nanotubes de carbone** : ces cylindres creux constitués de nano-feuillets de graphène peuvent atteindre plusieurs millimètres de longueur tout en ayant un diamètre aussi petit que 0.7 nm.

-**Les nano-fibres de carbone** : elles sont elles aussi constituées de nano-feuillets de graphène mais sous forme de cônes ou de tasses.

-**Le noir de carbone** : des nanoparticules en grande partie sphérique sont liées en agrégats qui interagissent entre eux pour former des agglomérats pouvant atteindre 500 nm.

-Les nano-mousses de carbone (Laura D, 2018).

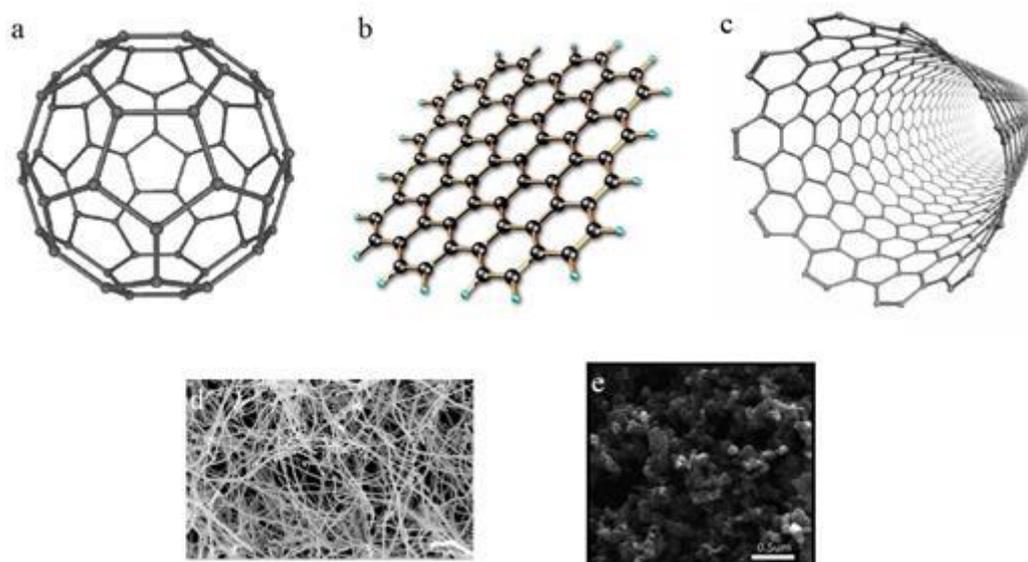


Figure 05 : Nanoparticules à base de carbone, **a**-les fullerènes, **b**-graphène, **c**-les nanotubes, **d**-les nanofibres, **e**-le noir de carbone (IOP, 2017)

I.7-2-2-Les nanoparticules métalliques

Sont purement constituées de précurseurs de métaux. En raison des caractéristiques bien connues de la résonance plasmonique de surface localisée, ces NP possèdent des propriétés opto-électriques uniques. Les NP des métaux alcalins et nobles, c'est-à-dire Cu, Ag et Au, ont une large bande d'absorption dans la zone visible du spectre électromagnétique solaire. La synthèse contrôlée des facettes, de la taille et de la forme des NP métalliques est importante dans les matériaux de pointe actuelles (Ibrahim K *et al.*, 2019).

I.7-2-3-Les nanoparticules céramique

Sont des solides inorganiques non métalliques, synthétisés par la chaleur et des refroidissements successifs. On les trouve sous des formes amorphes, polycristallines, denses, poreuses ou creuses. Par conséquent, ces NP attire l'attention des chercheurs en raison de leur utilisation dans des applications telles que la catalyse, la photocatalyse, la photo dégradation des colorants et les applications d'imagerie (Ibrahim K et al., 2019).

I.7-2-4-Les nanoparticules semi-conducteurs

Possèdent des propriétés entre les métaux et les non-métaux et ont donc trouvé diverses applications dans la littérature en raison de cette propriété

(Ibrahim K et al.,2019)

I.7-2-5-Les nanoparticules polymère

Ce sont normalement des NP à base organique et dans la littérature, un terme spécial de nanoparticules de polymère (PNP) est utilisé pour cela

(Ibrahim K et al., 2019) .

I.7-2-6-Les nanoparticules à base de lipide

Ces NP contiennent des fractions lipidiques et sont utilisées efficacement dans de nombreuses applications biomédicales. Généralement, une NP lipidique est typiquement sphérique avec un diamètre allant de 10 à 1000 nm. Comme les NP polymères, les NP lipidiques possèdent un noyau solide constitué de lipides et une matrice contenant des molécules lipophiles solubles (Ibrahim K et al.,2019).

I.8-Domains d'applications des nanoparticules

Aujourd'hui, les domaines d'utilisation des nanoparticules sont nombreux et extrêmement divers, grâce à leurs propriétés particulières. On a classé les plus grands domaines dans le tableau suivant (Eric G, 2006) :

Tableau 01 : Les différents domaines d'application des nanoparticules (Eric G, 2006).

Domaines	Applications
Pharmacie et secteur biomédical	<ul style="list-style-type: none"> -Transport des médicaments et des agents actifs l'organisme. -La biodétection des pathogènes. -L'analyse d'ADN. -Traitement des tumeurs cérébrales. -Traitement efficace contre les affections bactériennes chroniques.
Environnement	<ul style="list-style-type: none"> -Filtration de l'eau de mer. -Pesticides et fertilisants plus efficace.
Cosmétologie	<ul style="list-style-type: none"> -Les crèmes antisolaires minéraux qui limitent l'aspect blanchâtre de la peau. -Le maquillage comme dans les rouges à lèvres pour un effet « longue durée ». -Également dans certains dentifrices.
Textile	<ul style="list-style-type: none"> -Des nanoparticules intégrés aux textiles qui leurs donnent des propriétés antimicrobiennes. -Le textile résistant aux flammes : une bonne protection contre la flamme et les incendies pour les travailleurs industriels et les pompiers.
Automobile et aéronautique	<ul style="list-style-type: none"> -Matériaux plus légers et plus résistants. -Peintures anti-rayures et anticorrosion.
Autres secteurs d'application	<ul style="list-style-type: none"> -Hygiène des personnes : Spray pour chaussures, Sièges des toilettes publiques. -Technologie : Ordinateurs, Calculatrice, Clavier d'ordinateurs... -Fabrication des matelas, des chaussettes, tenue de sport, baskets, sac de couchage, serviettes de toilette...

Exemple : de filtration de l'eau de mer.



Figure 06 : Les nanotechnologies au service du traitement de l'eau.

(www.nanosmile.org/index.php/fr/)

I.9-Les effets des nanoparticules

I.9-1-Sur l'environnement

Outre de nombreuses applications industrielles et médicales, il existe certaines toxicités associées aux NPs et à d'autres nanomatériaux (**Bahadar H et al., 2016**) et des connaissances de base sont requises pour ces effets toxiques pour les rencontrer correctement. Les NPs pénètrent subrepticement dans l'environnement par l'eau, le sol et l'air lors de diverses activités humaines. Cependant, l'application des NP pour traitement environnemental injecte ou décharge délibérément NPs modifiés dans le sol ou les systèmes aquatiques. Cela a par conséquent attiré de plus en plus de préoccupations de toutes les parties prenantes (**Navarro E et al., 2008**).

Les NP ont tendance à s'agréger dans l'eau dure et l'eau de mer et sont fortement influencés par le type spécifique de matière organique ou autre particules naturelles (colloïdes) présentes dans l'eau douce. L'état de dispersion modifiera l'écotoxicité, mais de nombreux facteurs qui influencent cela, tels que le pH, la salinité et la présence de matières organiques restent à étudier systématiquement dans le cadre des études écotoxicologiques (**HandyR D et al., 2008**).

La plupart des nanoparticules manufacturées sont enrobées de substances diverses qui en modifient la réactivité de surface et leur confèrent des propriétés de durabilité et d'affinité pour diverses structures biologiques membranaires. Le problème émergent de leur bio persistance et de leur accumulation dans le milieu en résulte notamment dans les boues résiduaires et les sédiments des estuaires. Le lessivage murs enduits aboutit à l'accumulation de nanoparticules de titane, également d'argent dont les sources sont multiples en raison de sa labilité très élevée dans les textiles ; l'usure des pneumatiques entraîne des nanoparticules de noir de carbone dans les eaux de pluie ; finalement ces éléments vont se retrouver dans la biosphère et provoquer chez certaines espèces des phénomènes de bioaccumulation et de toxicité dépendant de leur concentration de leur flocculation et de leur état de surface. Des modifications significatives de la biodiversité peuvent en résulter. . (Navarro E *et al.*, 2008). En 2010 le nano argent a été classé parmi les quinze substances les plus préoccupantes du point de vue de la biodiversité dans les eaux, altérant la photosynthèse chez les algues et perturbant la dénitrification des nappes (Throback I N *et al.*, 2007) ; il est également à l'origine des résistances multiples chez diverses bactéries pathogènes (Faunce T *et al.*, 2010). Par ailleurs la dispersion des nanoparticules dans le milieu aboutira à une contamination de la chaîne.

I.9-2-Sur l'homme

Les propriétés toxicologiques des nanoparticules font l'objet de nombreux travaux. La plupart des études *in vivo* ont été réalisées en utilisant différentes espèces animales (principalement les rongeurs), plus rarement l'homme (Florin P *et al.*, 2008) .

Les hommes ont toujours été exposés à des particules fines et ultrafines, parfois à des concentrations importantes. Les particules peuvent pénétrer dans l'organisme à travers les poumons, la peau ou la paroi intestinale, chacun présentant une barrière à néanmoins, ces barrières peuvent se révéler insuffisantes et certaines .cette pénétration de particules avoir des effets toxiques sur l'organisme (Eric G,2006).

Particules ultrafines dans l'air ambiant :

Des études épidémiologiques ont montré que la présence de particules ultrafines dans l'air ambiant pouvait conduire à des impacts respiratoires et cardiovasculaires pour une partie significative de la population.

Particules ultrafines fabriquées en laboratoire :

L'étude de la déposition et des effets des particules ultrafines fabriquées en laboratoire a permis de constater :

- Une forte déposition sur l'ensemble du système respiratoire chez des sujets sains.
- Une déposition encore plus élevée des particules ultrafines chez des sujets asthmatiques ou présentant une affection pulmonaire chronique.
- des effets sur le système cardiovasculaire (notamment des marqueurs sanguins de coagulation et d'inflammation systémique et sur la capacité de diffusion pulmonaire) suite à des expositions à des particules ultrafin carbonées (**Eric G, 2006**).

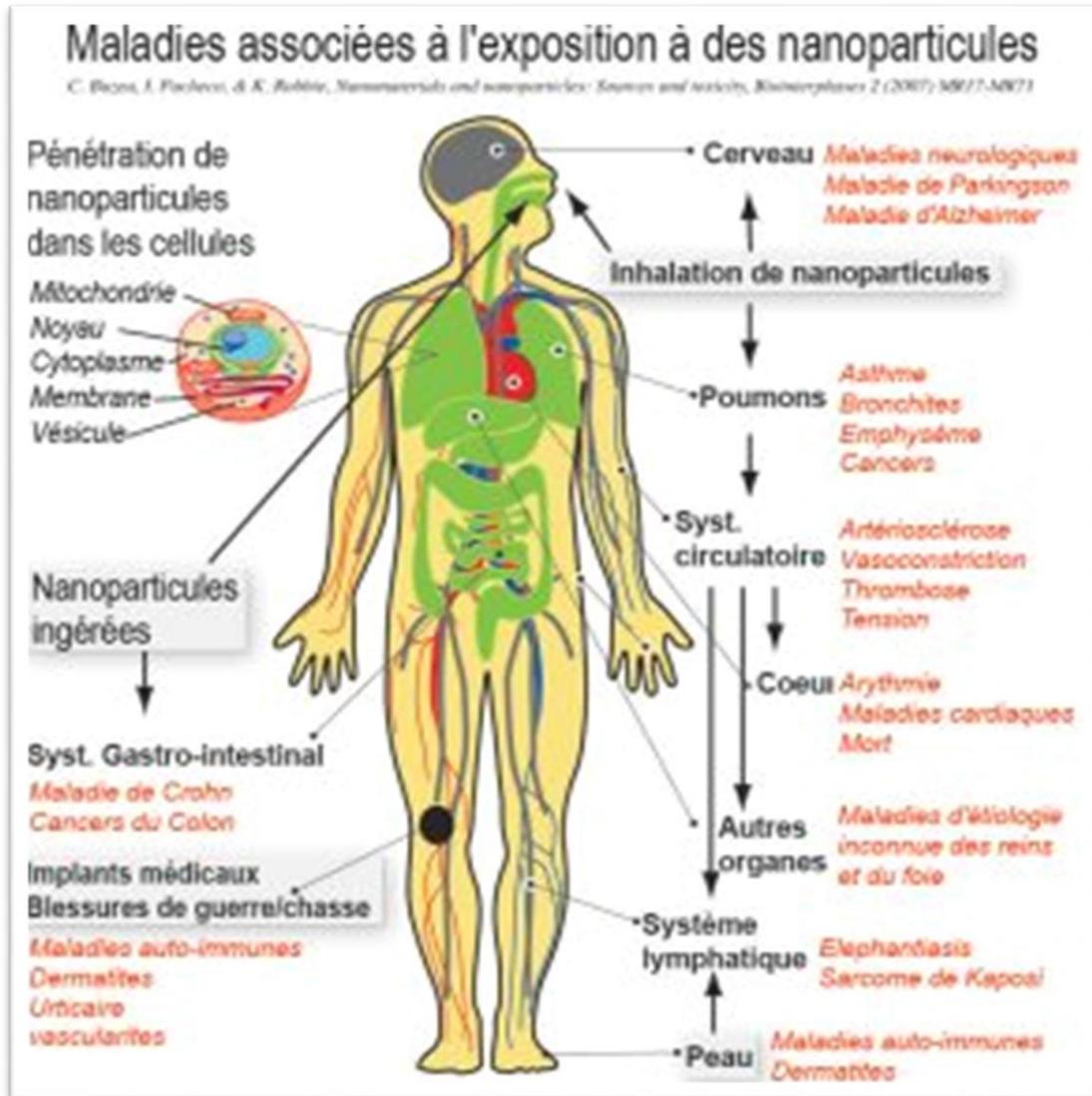


Figure 07 : Certaines maladies associées à l'exposition à des nanoparticules (www.cmi-ipa.univ-avignon.fr)

II. Trichlorure d'antimoine SbCl₃

II .1-Définition

Le trichlorure d'antimoine est un solide cristallin incolore. Il est expédié sous forme de solution solide ou liquide. Il se décompose lentement par l'eau en acide chlorhydrique et en oxychlorure d'antimoine. L'oxychlorure d'antimoine est soluble dans l'acide chlorhydrique mais insoluble dans l'eau. Il est corrosif pour les métaux et les tissus (PubChem, 2005).



Figure 08 : Poudre de SbCl₃ (www.nihonseiko.co.jp)

II .2-Structure chimique de SbCl₃

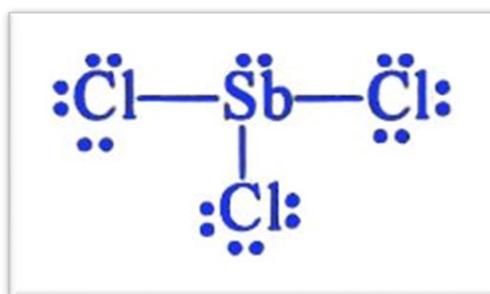


Figure 09 : Structure de Lewis (Electron-Dot, 2023)

II .3-Identification et caractérisation

Tableau 02 : Formule et synonymes de Trichlorure d'antimoine (INERIS, 2007)

Formule moléculaire	SbCl ₃
Les synonymes	Trichlorostibine
	Chlorure d'antimoine (III)
	Antimonouschloride
	Antimony butter
	Antimonytrichloride
N ° CAS	10025-91-9
N ° EINECS	233-047-2

II .4-Propriétés physico-chimiques de SbCl₃

Tableau 03 : Les principaux propriétés physiques et chimiques de SbCl₃
(INERIS, 2007)

Paramètre	Valeur
Etat physique	Solide
Densité	3,14 g/ml à 20 °C Vapeur : 7,87 (Par rapport à l'air)
Facteur de conversion (dans l'air à 20 °C)	1ppm = 9,48 mg/m ³ 1mg/m ³ = 0,11 ppm
Masse molaire (g/mol)	223,5
Point d'ébullition (°C) (à pression normale)	223,5
Solubilité (mg/L) dans l'eau	9,9 × 10 ⁴ à 25 °C
Pression de vapeur (Pa)	133 à 49,2 °C

II .5-L'utilisation de SbCl₃

Le trichlorure d'antimoine est un chlorure inorganique de formule SbCl₃. Il est utilisé comme réactif de détection de la vitamine A et des caroténoïdes apparentés, réagissant avec le caroténoïde pour former un complexe bleu mesurable par colorimétrie (test de Carr-Price). Les solutions de trichlorure d'antimoine étaient autrefois utilisées pour dissoudre et enlever les bouts de corne des veaux et des chèvres. Il a un rôle d'acide de Lewis, d'inducteur d'apoptose et de réactif colorimétrique. C'est une entité moléculaire d'antimoine et un chlorure inorganique. Il dérive d'un hydruure d'une stibine.

Le trichlorure d'antimoine est employé comme catalyseur en synthèse organique, pour la fabrication d'autres sels d'antimoine, comme mordant pour les textiles et le cuir, et comme réactif de laboratoire. Il est également utilisé comme lubrifiant pour les matières plastiques.

En solution, il permet le bronzage de l'acier, le mordantage du cuir, le noircissement du zinc. Il entre dans la fabrication des laques pour bois (INERIS, 2007).

II .6-Principaux sources d'exposition de SbCl₃

L'antimoine est présent naturellement dans la croûte terrestre et les rejets dans l'atmosphère proviennent aussi bien des sources naturelles que des sources anthropiques.

41% des émissions dans l'air proviennent de sources naturelles : particules de sol transportées par le vent, volcans, aérosols marins, feux de forêts, sources biogéniques.

Les sources anthropiques de rejet dans l'atmosphère incluent l'industrie des métaux non ferreux (extraction minière, fusion, raffinage) et la combustion du charbon et des ordures.

Les rejets dans l'eau proviennent d'industries liées à la production et à l'utilisation de l'antimoine et de ses composés (INERIS, 2007).

II.7-Toxicité de SbCl₃

II.7-1-Toxico-cinétique

Que devient le Trichlorure d'antimoine SbCl₃ une fois intégrées dans l'organisme ?

Le devenir des nanoparticules dans l'organisme peut être schématisé en quatre étapes (Toxicocinétique) :

-**Absorption** : être par inhalation (principale voie d'exposition en milieu professionnel), voie cutanée ou ingestion.

-**Distribution** : dissémination vers les organes sensibles par voies épithéliale, sanguine ou nerveuse. Les sites majeurs d'accumulation de l'antimoine en dehors du tractus, gastro-intestinal sont le foie, les reins, les os, les poumons, la rate et la thyroïde (Guillard D, 2007).

-**Biotransformation** : L'antimoine ne subit pas de métabolisation. Il peut interagir de façon covalente avec des groupes sulfhydriles, phosphates, et former des interactions réversibles avec des ligands endogènes comme les protéines (Guillard D, 2007).

-**Élimination** : élimination totale ou partielle par différents mécanismes. L'antimoine est éliminé par l'urine et les fèces, dans des proportions variables en fonction de la forme chimique (Guillard D, 2007).

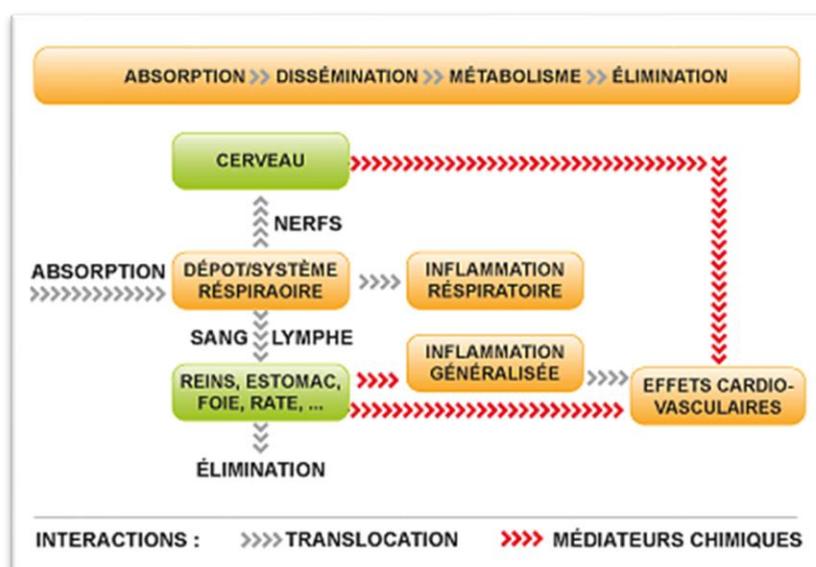


Figure 10 : Schéma de la toxicocinétique dans le cas de l'inhalation (www.nanosmile.org/index-php/fr/)

II.7-2-Toxico-dynamique

La toxicité dynamique des nanoparticules au niveau cellulaire est principalement représentée par un taux élevé de mort cellulaire et des dommages aux membranes et aux organites (mitochondries et ADN notamment) (**Sarah T, 2006**).

III-Induction d'un stress oxydant

Le stress oxydant est un concept relativement récent. Il a été introduit au début des années 1990, et est défini comme un ensemble de perturbations de l'équilibre naturel existant entre les espèces pro- et antioxydantes, le déséquilibre se faisant en faveur des composés pro-oxydants, et pouvant conduire à des dommages cellulaires (**Frank J, 2003**) . Le stress oxydant est le plus souvent évalué par la mesure des espèces réactives de l'oxygène (ROS) produit dans des conditions données (**Sarrah T, 2006**).

Le stress oxydant peut être dû à des facteurs exogènes, tels que l'exposition à des radiations ou des agents cancérogènes, le tabagisme, la prise de certains médicaments ou d'alcool, la présence d'agents infectieux mais aussi de polluants atmosphériques, ou de particules (**Forman et Martine., 2002**) .En effet, la plupart des études de toxicité des NPs mettent en évidence l'association entre l'exposition aux nanomatériaux et la production de ROS, en particulier dans le cas des NPs métalliques, notamment du fait de leur nature chimique(**Ya-Kan Cet al., 2012**).

Les métaux qui les composent peuvent en effet interférer avec les métaux intracellulaires et perturber leur homéostasie. Certaines études suggèrent de plus que ces perturbations seraient en partie causées par la dissolution partielle des NPs en ions métalliques ...

Cependant, si les ions présentent une toxicité qui leur est propre et sont en effet capables de générer des ROS au niveau cellulaire, ils n'expliquent par toujours la toxicité des NPs (**Sarrah T, 2006**) .

Chapitre II :
Etude Expérimental
« *Matériel et Méthodes* »

I. Matériel et méthodes

Notre travail a été réalisé sur 54 escargots au niveau du Laboratoire de Pharmacologie et Toxicologie du département des Sciences appliquées de l'Université El-Arabi El-Tébessi de Tébessa.

I.1- Matériel

I.1-1- Matériel Biologique

Le matériel biologique utilisé dans notre travail est l'escargot petit gris : *Helix aspersa*

- Le petit-gris est un mollusque mesurant entre 28 et 35 mm pour un poids adulte de 7 à 15 g. Il porte une coquille calcaire à motifs variables mais le plus souvent brune rayée de noir. Sa spirale (*Helix* en latin) tourne généralement dans le sens des aiguilles d'une montre. (Chase R, 1986)

I.1-1-1- La position systématique

Selon Bonnet J et Vrillons J., (1990), sa position systématique est la suivante :

- ✓ Règne : Animal.
- ✓ Embranchement : Mollusques.
- ✓ Classe : Gastéropodes.
- ✓ Sous-classe : Euthyneurs.
- ✓ Super ordre : Pulmonés.
- ✓ Ordre : Stylommatophores.
- ✓ Famille : Helicidae.
- ✓ Genre : *Helix*
- ✓ Espèce : *aspersa*
- ✓ Sous-espèce : *aspersa* (Barker G, 2001)



Figure 11 : Les escargots *Helix aspersa*

I.1-1-2- Morphologie

➤ **Tentacule tactile**

Petit appendice musculaire rétractile de forme allongée, ayant un rôle tactile.

➤ **Pied**

Organe musculueux formant la partie inférieure de l'escargot, large et allongé, comprenant la tête ; il permet à l'escargot de ramper.

➤ **Ligne de croissance**

Fine saillie irrégulière du tour de coquille correspondant à ses développements successifs.

➤ **Tête**

Partie antérieure du pied de l'escargot portant les principaux organes sensoriels ; la bouche, tentacule oculaire et l'œil.

➤ **Coquille**

Enveloppe calcaire spiralée formée de trois couches successives, protégeant les organes et dans laquelle l'escargot peut se rétracter.

➤ **Tour de coquille**

Chacun des enroulements autour de l'apex dont le diamètre est croissant et dont l'ensemble forme la coquille.

➤ **Apex**

Sommet à partir duquel croît la coquille. (Michel R, 1979)

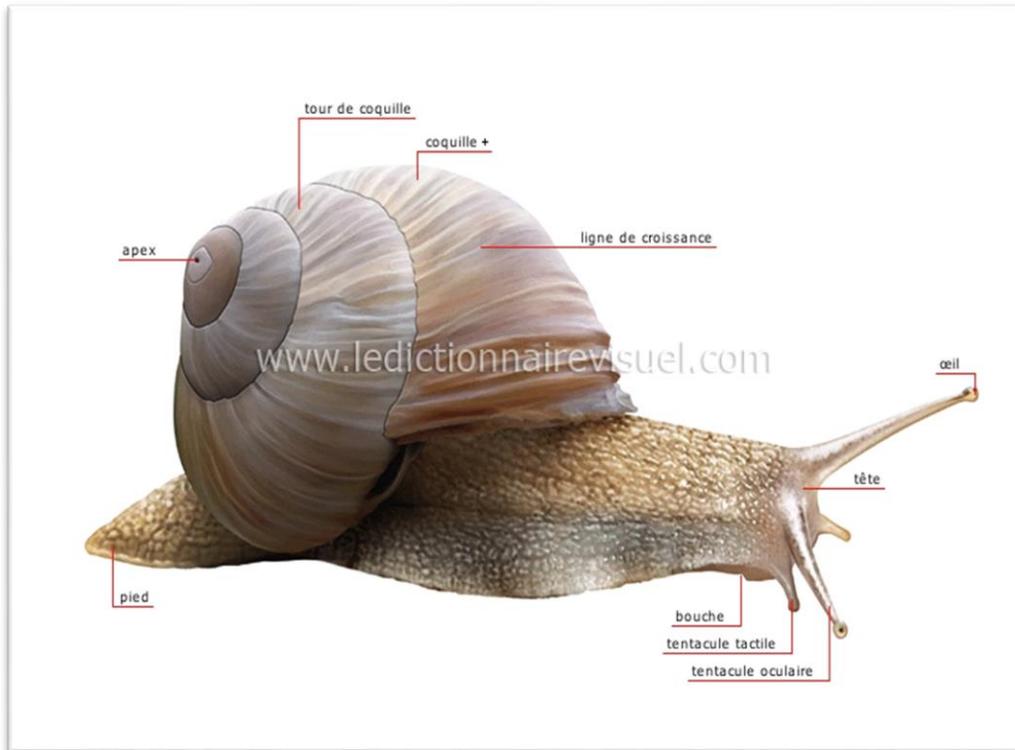


Figure 12 : Morphologie d'*Helix aspersa*(www.ledictionnairevisuel.com)

I.1-1-3- Anatomie

➤ **Appareil respiratoire :**

Le poumon est situé en position dorsale et antérieure par rapport à la masse viscérale dont le plafond est constitué d'un repli de l'épiderme et le plancher par l'enveloppe de la masse viscérale. La cavité pulmonaire ainsi délimitée communique avec le milieu extérieur par un orifice antérieur, le pneumo tome (**Heusser S et Dupuy H G., 2011**)

➤ **Système nerveux**

Le système nerveux de l'escargot est composé de deux parties :

- **Système stomo-gastrique ou sympathique :** Il innerve la plus grande partie du tube digestif et comprend une paire de petits ganglions dits ganglions buccaux, placés sous le bulbe buccal et reliés par deux petits cordons nerveux.
- **Système nerveux central :** Il comprend les ganglions cérébroïdes, les Ganglions pédieux et le système viscéral (**Rousselet M, 1979**)

➤ **Organes de sens**

En dehors de cellules neurales épithéliales, on trouve :

- Deux tentacules antérieurs tactiles et gustatifs.
- Deux tentacules postérieurs présentant, du côté interne, un organe olfactif et, à l'extérieur un œil formé par une cupule de cellules pigmentées abritant des cellules sensorielles.
- Deux otocystes, logés chacun dans une cavité close près du ganglion pédieux, mais innervent par les ganglions cérébrosides. **(Boue H et Chanton R., 1978)**

➤ **Appareil circulatoire**

L'appareil circulatoire comprend fondamentalement les parties suivantes :

Le cœur, emballé dans le péricarde et constitué d'une oreillette antérieure et d'un ventricule postérieur, deux aortes issues du ventricule : une aorte antérieure irrigant le pied et la région céphalique et une aorte postérieure allant au tortillon, envoyant ainsi toutes deux des artères aux différents organes, enfin un système de veines et de sinus veineux ramenant le sang au cœur **(Rousselet M, 1979)**

➤ **Appareil excréteur**

Suite à la torsion de la masse viscérale ; il n'en subsiste qu'un seul rein, le gauche **(Boue H et Chanton R., 1978)**.

Le rein unique, appelé aussi organe de Bojanus, de couleur gris-jaunâtre est situé entre le cœur et le rectum, de forme triangulaire, il est formé de deux parties, l'une proprement excrétrice, l'autre étant une vessie d'accumulation d'où part un fin canal urinaire aboutissant à l'orifice excréteur situé entre l'anus et le pneumostome **(Popple I et Tribune M G., 2002)**.

➤ **Appareil digestif**

L'ensemble de l'appareil digestif offre à considérer, de la bouche à l'anus : la cavité buccale à laquelle se rattache la mâchoire, le pharynx, où fait saillie l'odontophore où débouchent les conduits salivaires, l'œsophage, l'estomac qui reçoit par les conduits les sécrétions de la glande digestive, l'intestin et le rectum **(Grasse P P, 1968)**

- **Complexe buccal** : bouche, mâchoire et radula

Dans la région antérieure de l'animal, la bouche est ouverte sur une cavité buccale constituée de trois structures principales :

- 1- une mâchoire dorsale, enchâssée sur un repli de l'épithélium qui sécrétait scléroprotéines. Localisée à l'avant de la cavité buccale, elle est impliquée dans le déchiquetage des aliments dont se nourrit l'animal.
- 2- une radula ventrale, supportée par une expansion du plancher buccal, l'odontophore ; elle se présente quant à elle comme un ruban hérissé de dents, disposées en rangées successives. La contraction de muscles protracteurs et rétracteurs provoque des mouvements de va-et-vient de cette structure, permettant aux dents les plus antérieures de râper les aliments au contact desquels elles se trouvent.
- 3- Le stomodéum de l'escargot est ainsi organisé en un complexe buccal musculéux, de même que chez la plupart des Mollusques.
- 4- un équipement sensoriel chimiosensible. (**Heusser S et Dupuy H G., 2011**)

- **Complexe radulaire (*Helix aspersa*)**

- 1- Tube digestif :

Intestin Estomac et intestin forment le mésentéron, région moyenne du tube digestif. Elle est caractérisée par la différenciation d'une volumineuse « glande digestive », l'hépatopancréas, à laquelle elle est connectée par des canaux.

- 2- Hépatopancréas :

L'hépatopancréas occupe un volume important de la masse viscérale. Il est formé de deux lobes, chacun étant relié au mésentéron par un canal hépatopancréatique. Les lobes de l'hépatopancréas apparaissent formés par la juxtaposition de nombreux tubules. La paroi des tubules hépatopancréatiques est constituée d'un épithélium simple et haut. Les cellules qui le composent présentent des morphologies diverses mais relèvent de trois catégories principales :

- Des cellules sécrétrices, produisant des enzymes digestives déversées dans la lumière des tubules et responsables de la digestion extra-cellulaire des substances nutritives ;
- Des cellules absorbantes, réalisant la phagocytose des particules alimentaires de la lumière des tubules et responsables de la digestion intracellulaire ;

Chapitre II : Etude Expérimental

- Des cellules indifférenciées, basales, permettant le renouvellement des autres types cellulaires. Les particules alimentaires sont acheminées du tube digestif vers les tubules grâce aux mouvements de la ciliature apicale des cellules épithéliales, les résidus de la digestion empruntant la même voie en sens inverse. Les tubules sont le siège d'une digestion extracellulaire et intracellulaire des particules alimentaires. (Heusser S et Dupuy H G.,2010)

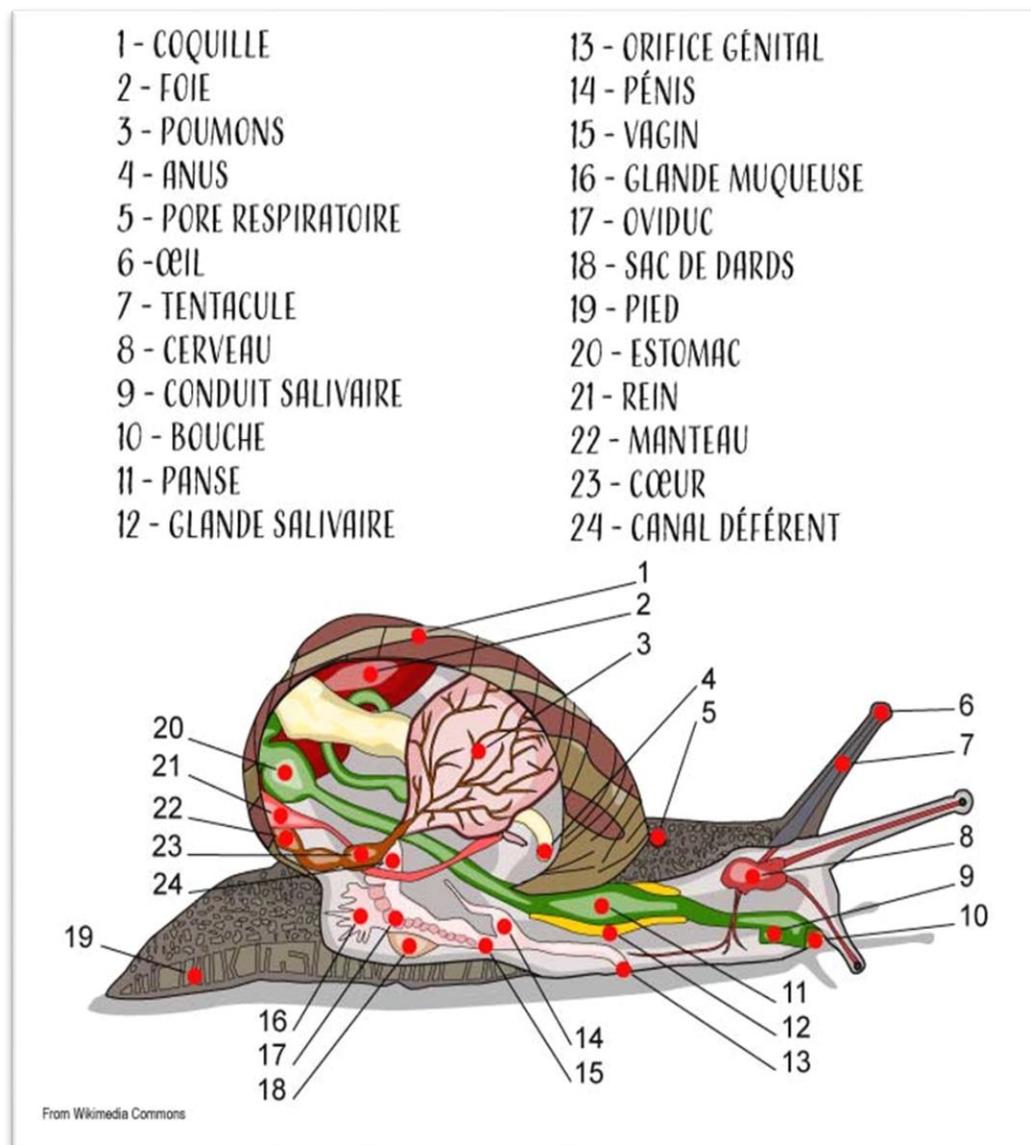


Figure 13 : Anatomie d'*Helix aspersa*.

I.1-1-4- Déplacement

Helix aspersa se déplace, seulement vers l'avant, grâce à son pied, qui est en fait un gigantesque muscle qui se contracte et s'allonge alternativement. Sa vitesse moyenne pour un adulte est d'un 1 mm/s soit 3,6 m/h. L'escargot arrive à déplacer 170 fois son poids, autrement dit un escargot qui pèse 10 g par exemple peut déplacer un poids d'environ 1,5 kg. Ses glandes sécrètent différents types de mucus (la « bave ») contenant de nombreux composés (allantoïne, collagène, élastine) qui lui permettent à la fois d'avancer plus facilement en glissant sur les obstacles et de se fixer même verticalement sur certaines parois. Le mucus sert aussi à se débarrasser de certaines substances, comme les métaux lourds, et entre aussi dans la composition de la coquille. (Zaafour M, 2014).

I.1-1-5- Rythme d'activité

L'escargot est un animal nocturne. Il se synchronise avec la photopériode naturelle et débute son activité au coucher du soleil avec un maximum 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 (Bailey S E, 1981).

Lorsque les conditions de l'environnement sont défavorables ils restent à l'intérieur de leurs coquilles. Leur cycle de vie est marqué par deux phénomènes :

Estivation : est activée lorsque les conditions sont défavorables à la vie active, c'est-à-dire que le climat est trop chaud ou trop sec.

Hibernation : les escargots se mettent en hibernation en se "collant" sur un support ou en s'enfouissant dans le sol ou la litière et sécrètent un épiphragme d'hiver. Lorsque la température moyenne devient inférieure à 15°C.

I.1-1-6-Reproduction et accouplement

Un escargot peut s'accoupler avec plusieurs partenaires. Une fois fécondée, la glande hermaphrodite se modifie et la partie femelle se développe, les mâles déposent les spermatophores qui sont emmagasinés dans le réceptacle séminal, jusqu'à la maturation des ovules. (Boue H et Chaton R.,1971).

Lors de l'accouplement les deux escargots hermaphrodites effectuent une parade complexe qui prépare chaque escargot à introduire son pénis dans son partenaire (Gamlin et Vines., 1996)



Figure 14 : Accouplement des Petit-gris (Buron-Mousseau F, 2014).

I.1-1-7-La ponte

L'intervalle entre l'accouplement et la ponte est variable en conditions constantes de Température et d'hygrométrie (20°C et 85%), les durées moyennes sont de 10 à 15 jours. Pour pondre l'escargot creuse un nid dans la terre de 4 à 5 cm de profondeur. La durée de la ponte est comprise entre 12 à 48 heures (Cobbinah J C et al. 2008).

Le sperme peut être conservé plus d'un an, mais la ponte des œufs, intervient habituellement une quinzaine de jour après l'accouplement (Kerney M P et Cameron R., 2006).



Figure 15 : Ponte chez *Helix aspersa* (Rastignac,2015)

I.1-1-8- Croissance

En milieu naturel, la durée de vie de l'escargot est environ un à quatre ans et sa croissance dure d'un à deux ans. Cette dernière correspond à une prise de poids qui peut atteindre quatorze (14) grammes dans des conditions favorables et contrôlées (20 C°, 80 à 90 % de l'humidité, et photopériode jusqu'à 18 h de lumière par 24 h) et la coquille croit en longueur et en épaisseur (**Gomot de vaufleury et bispo., 2000**).

Selon la même source la croissance de l'escargot repose sur quatre phases :

- **La 1ère phase** correspond aux jeunes dont l'âge est d'un mois et un poids d'un gramme.
- **La 2ème phase** lorsqu'il est juvénile et pèse environ de 5 grammes.
- **La 3ème phase** quand il a un poids de 8 à 9 grammes, il est, ainsi, qualifié de su-adulte.
- **La 4ème phase** lorsqu'après environ quatre mois de croissance en conditions favorables et contrôlés, il atteint la taille adulte on dit alors qu'il se borde (ce phénomène est caractérisé par la formation de bords de la coquille et par l'épaississement du bord du manteau, à ce moment il termine sa maturation sexuelle et devient capable à se reproduire).

I.1-2-Matériel chimique

Le Trichlorure d'antimoine $SbCl_3$

- Est un composé chimique moléculaire de formule brute $SbCl_3$. C'est un solide mou sans couleur qui était connu comme beurre d'antimoine par les alchimistes. Il a une odeur forte.

Le $SbCl_3$ a été utilisé sous forme de préparation commerciale. Nous avons choisi quatre doses (500 μ g, 1000 μ g, 2500 μ g, 5000 μ g).

II.2- Méthodes

II.2-1- Conditions d'élevage

Dans notre expérience, les escargots adultes *Helix aspersa* ont été collectés de la région de Guelma (est de l'Algérie) et maintenus en laboratoire de l'université de Tébessa.

Ils sont répartis dans des cristallisoirs, chaque un contient une éponge mouillée pour maintenir l'humidité, les escargots sont alimentés par 20 g de farine fournit dans des boîtes de pétrie. Les boîtes et les escargots sont nettoyés régulièrement tous les deux jours.



Figure 16 : Elevage d'*Helix aspersa*.

II.2-2- Traitement des escargots

II.2-2-1- Préparation des doses de traitement

On a préparé 4 doses de $SbCl_3$ ($500\mu g$, $1000\mu g$, $2500\mu g$, $5000\mu g$) selon la méthode suivante :

- $500\mu g/ g$ farine : mélanger 125 mg de $SbCl_3$ dans 250mg de farine.

- $1000\mu g/ g$ farine : mélanger 250 mg de $SbCl_3$ dans 250mg de farine.

- $2500\mu g/ g$ farine : mélanger 625 mg de $SbCl_3$ dans 250mg de farine.

- $5000\mu g/ g$ farine : mélanger 1250 mg de $SbCl_3$ dans 250mg de farine.

II.2-2-2- Traitement

Les escargots ont été divisés en 05 lots : 01 lot témoin contient 06 escargots et 04 lots qui sont destinées aux traitements par les 4 doses ($500\mu g/ g$ farine , $1000\mu g/ g$ farine , $2500\mu g/ g$ farine et $5000\mu g/ g$ farine).

Les escargots sont traités durant 15 et 21 jours par le trichlorure d'antimoine ($SbCl_3$). Chaque deux jour la nourriture (avec et sans traitement) est renouvelée, au moment du nettoyage des boites.



Figure 17 : Mode de traitement des escargots

II.2-3- Préparation et sacrifice d'escargot

Après la durée du traitement qui est de 15 jours, les escargots sont mis à jeun pendant 48 heures afin que le contenu de leur tube digestif soit vide, et d'éviter d'éventuelles interférences entre les contaminants présents dans l'aliment ingéré et les quantités de contaminants réellement accumulées dans les tissus. Les boîtes sont lavées après 24 heures pour éviter la rein gestion des fèces. Les animaux sont ensuite sacrifiés par congélation à -20°C puis disséqués à l'aide de ciseaux et de pinces. Le rein et l'hépatopancréas sont excisés, et lavés à l'eau physiologique (0.9%) (Coeurdassier M *et al.*, 2001).



Figure 18 : Sacrifice d'escargot et prélèvement des organes (l'hépatopancréas et le rein)

II.2-4-Effets comportementaux

L'observation des effets comportementaux est faite lors du changement de la nourriture, ainsi, l'activité des escargots est mentionnée comme suit : enlevez la couverture du cristalliseur, et après quelques minutes ; les mouvements des escargots sont enregistrés : les escargots mobiles sont actifs, alors que ceux qui restent immobiles sont inactifs. À cet effet, l'activité, ainsi observée représente donc plutôt un état de réceptivité et une capacité à réagir à une stimulation mécanique (déplacement et ouverture de la boîte). Il faut noter que les résultats sont exprimés sous forme d'observation hebdomadaire (15 et 21 jours) de chaque comportement vis-à-vis des concentrations de $SbCl_3$ testé par apport au témoin.

II.2-5- Paramètres étudiés

II.2-5-1- Paramètre physiologique

II.2-5-1-1- Diamètre de la coquille

Il est mesuré avec un pied à coulisse numérique et ces mesures permettent d'évaluer les perturbations qui sont provoquées après le traitement par $SbCl_3$ pendant 15 jours et 21 jours



Figure 19 : Mesure du diamètre de la coquille

II.2-5-1-2-Mesure du rapport hépato-somatique (R.H.S) % et du rapport réno-somatique (R.R.S)%

Le rapport hépato-somatique et réno-somatique représentent un moyen simple et rapide de mesure des interactions des individus avec leur environnement, Selon (Bougis P,1952), le RS est égal à cent fois le poids de l'organe sur le poids total de l'escargot.

$\text{RHS} = \text{poids de l'hépatopancréas} \times 100 / \text{poids total}$
$\text{RRS} = \text{poids du rein} \times 100 / \text{poids total}$

II.2-5-2-Paramètres Biochimiques

II.2-5-2-1-Dosage des métabolites

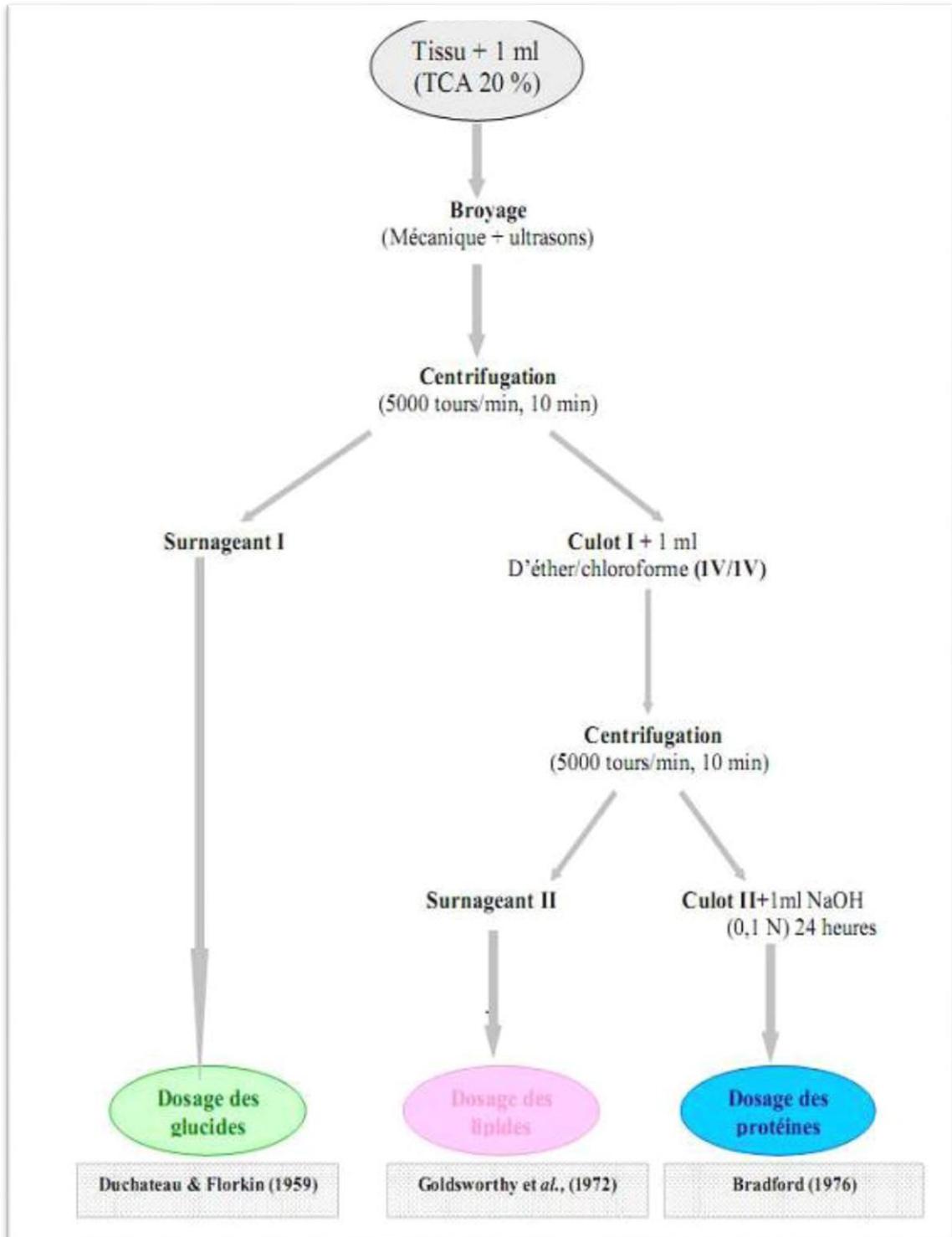


Figure 20 : Principales étapes d'extraction des métabolites : protéines, glucides et lipides (Shibko et al., 1966)

II.2-5-2-1-1-Dosage des protéines

Les protéines contenues dans les gonades ont été quantifiées selon la méthode de **Bradford M M, (1976)** qui utilise le bleu brillant de coomassie G 250 (BBC) comme réactif (100mg de BBC+50ml d'éthanol. Agitation pendant deux heures + 100ml d'acide ortho phosphorique + H₂O distillée q.s.p. 1000ml) et l'albumine de sérum de bœuf (BSA) comme standard.

Le dosage des protéines a été effectué dans une fraction aliquote (100µl). Les absorbances ont été obtenues grâce à un spectrophotomètre et la lecture a été réalisée à une longueur d'onde de 595nm contre un blanc de gamme.

Tableau 04 : Dosage des protéines : réalisation de la gamme d'étalonnage.

Tubes	1	2	3	4	5	6
B.S.A (µl)	0	20	40	60	80	100
Eau distillée (µl)	100	80	60	40	20	0
BBC (ml)	4	4	4	4	4	4
Absorbance (DO)	0	0.176	0.245	0.276	0.310	0.506

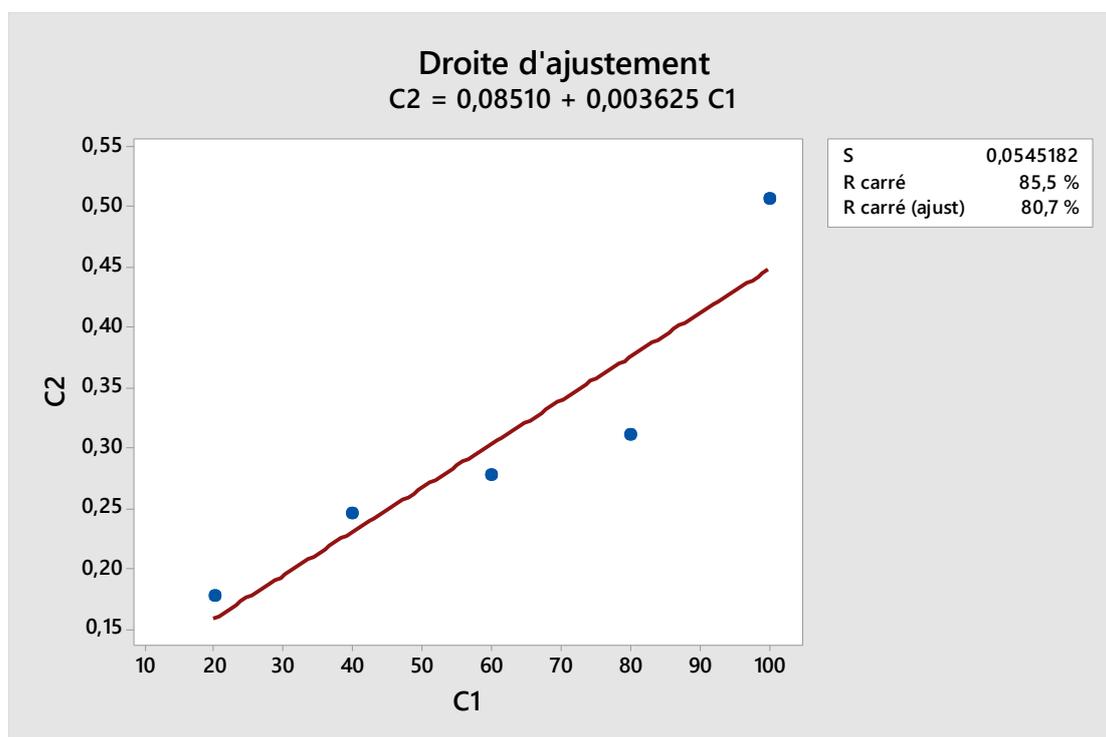


Figure 21 : Droite de régression exprimant l'absorbance en fonction de la quantité d'albumine (μg) (R^2 : coefficient de détermination).

II.2-5-2-1-2- Dosage des glucides

Le dosage des glucides a été réalisé selon **Duchateau G et Florkin., (1959)**. Cette méthode utilise l'antrone comme réactif (150mg d'antrone, 75ml d'acide sulfurique et 25ml d'eau distillée) et le glucose comme standard. La gamme d'étalonnage a été réalisée à partir d'une solution mère de glucose (1g/l).

Après l'addition du réactif, un chauffage au bain marie à 80°C pendant 10 mn permet l'obtention d'une coloration verte. Le dosage des glucides a été effectué dans une fraction aliquote (100 μl).

Les absorbances ont été obtenues grâce à un spectrophotomètre et la lecture a été réalisée à une longueur d'onde de 620 nm contre un blanc de gamme.

Tableau 05 : Dosage des glucides : réalisation de la gamme d'étalonnage.

Tubes	1	2	3	4	5	6
Glucose (µl)	0	20	40	60	80	100
Eau distillée (µl)	100	80	60	40	20	0
Anthrone (ml)	4	4	4	4	4	4
Absorbance (DO)	0	0.164	0.170	0.172	0.189	0.299

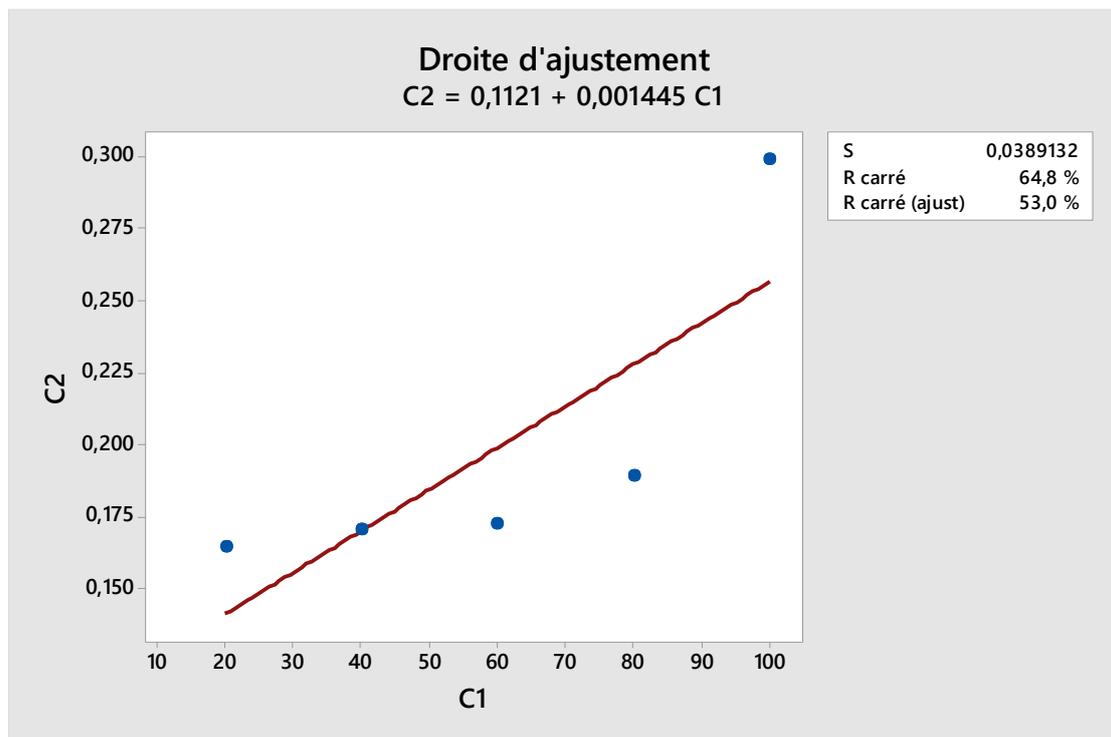


Figure 22 : Droite de régression exprimant l'absorbance en fonction de la quantité en glucose (µg) (R^2 : coefficient de détermination).

II.2-5-2-1-3-Dosage des lipides

Les lipides totaux sont déterminés selon la méthode de **Goldsworthy A et al. (1972)** en utilisant le réactif sulfo-phospho-vanillinique composé de 0,38 g de vanilline, 55 ml d'eau distillée et 195 ml d'acide Orthophosphorique à 85%. Ce réactif peut se conserver à l'obscurité pendant trois semaines à une température de 4°C. La solution mère de lipides composée de 2.5 mg d'huile de table à 99% de triglycérides et un millilitre de volumes égaux d'éther et chloroforme, est utilisée comme standard.

Après évaporation des prises aliquotes de 100 µl du surnagent n° II dans un bain à sec à une température 40°C pendant une durée d'environ 20 minutes, on additionne un millilitre d'acide sulfurique concentré (96%). Les tubes fermés sont agités puis chauffés dans un bain de sable à une température 100°C pendant une durée de 10 minutes. Après refroidissement, on prélève 200 µl de chaque tube eppendorf qu'on met dans des tubes à essai auxquels on ajoute 2,5 ml de réactif sulfo-phospho-vanillinique. Après 30 minutes à l'obscurité, le complexe se colore en rose. La densité optique est lue dans un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 530 nm. La quantité de lipides est estimée à partir de la droite de régression obtenue après une gamme d'étalonnage.

Tableau 06 : Dosage des lipides : réalisation de la gamme d'étalonnage.

Tubes	1	2	3	4	5	6
Solution mère de lipides (µl)	0	20	40	60	80	100
Solvant Ether/Chloroforme (µl)	100	80	60	40	20	0
Vanilline (ml)	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Absorbance (DO)	0	0.02	0.03	0.034	0.043	0.052

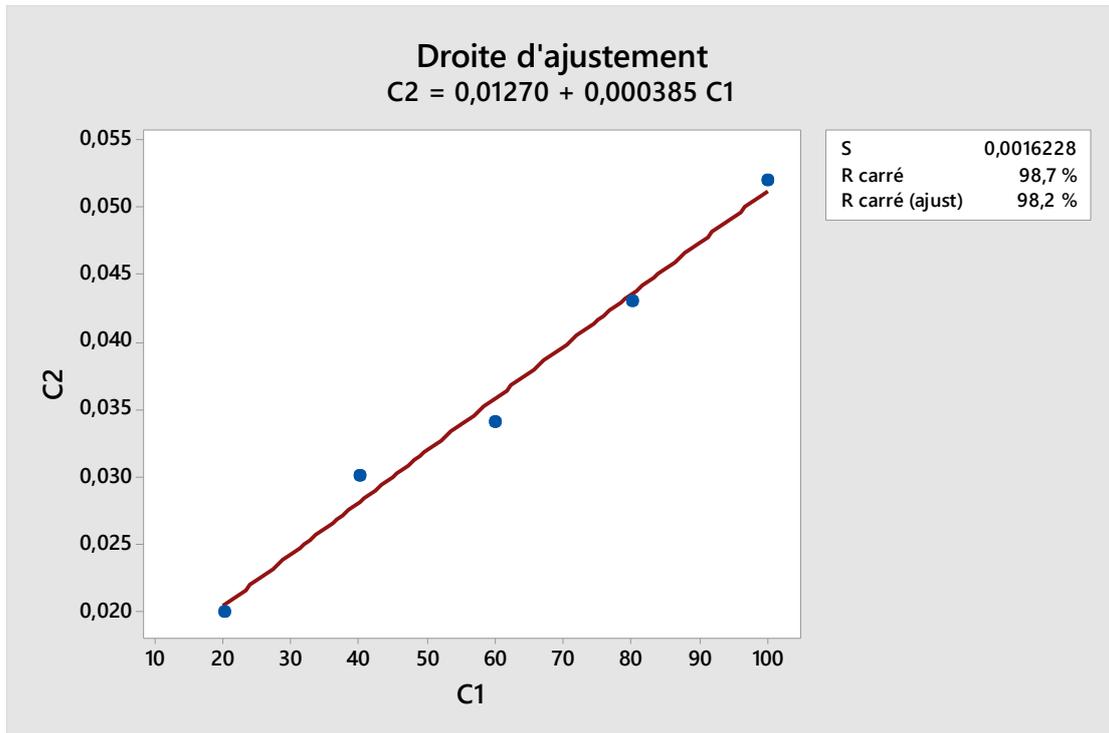


Figure 23 : Droite de régression exprimant l'absorbance en fonction de quantité des lipides standard (μg) (R^2 : coefficient de détermination).

II.2-6-Analyse statistique

Les résultats obtenus sont exprimés par la moyenne plus ou moins l'écart-type ($m \pm s$). Différents tests sont réalisés à l'aide du logiciel (Minitab 18).

Chapitre III :
Résultats et Discussion

I. Effet du SbCl₃ sur les paramètres physiologiques

I.1-Effet du chlorure d'antimoine (SbCl₃) sur l'évolution du diamètre de la coquille

La figure (24) et le tableau (07) mettent en évidence l'évolution du diamètre de la coquille des escargots *Helix aspersa* en fonction du temps. Ils montrent une diminution significative ($p < 0.05$) et très significative ($p < 0.01$) respectivement chez les lots traités par la dose 2 (1000 μ g/g) et la dose 3 (2500 μ g/g) après 21 jours par rapport aux témoins.

Tableau 07 : Effet de trichlorure d'antimoine (SbCl₃) (500 μ g/g, 1000 μ g/g, 2500 μ g/g et 5000 μ g/g) sur l'évolution du diamètre de la coquille d'*Helix aspersa* ($m \pm s$)

	Témoin	Dose 1	Dose 2	Dose 3	Dose 4
15 Jours	27,06 \pm 2,91	24,88 \pm 2,73 ^{NS}	26,72 \pm 4,74 ^{NS}	26,72 \pm 3,46 ^{NS}	23,88 \pm 2,41 ^{NS}
21 Jours	27,06 \pm 2,91	23,21 \pm 2,49 ^{NS}	20,70 \pm 2,96 [*]	22,20 \pm 0,99 ^{**}	23,37 \pm 2,59 ^{NS}

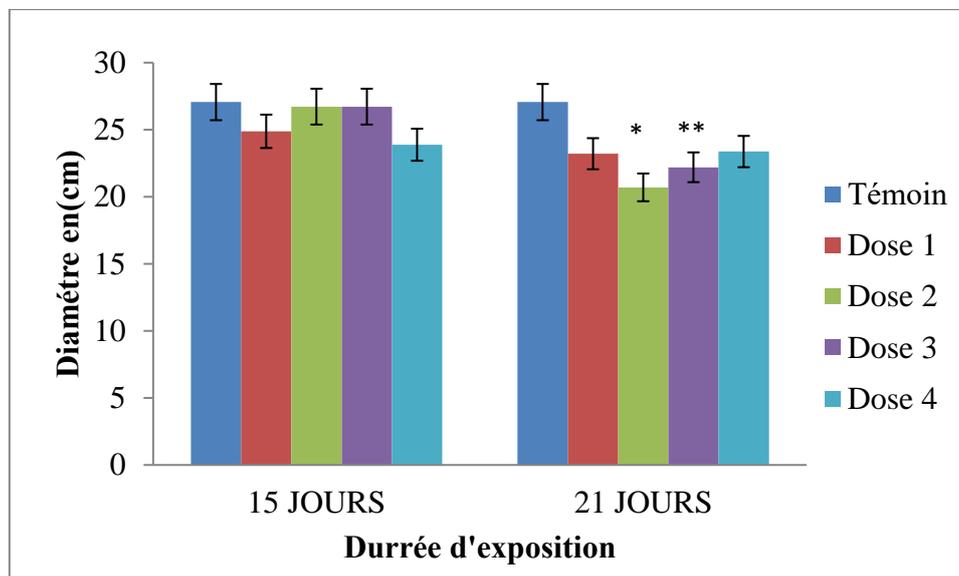


Figure 24 : Effet du SbCl₃ sur l'évolution du diamètre de la coquille des escargots *Helix aspersa* en fonction du temps. ($m \pm s$, $n=6$) (* Différence significative comparant au témoin ($p < 0,05$), NS : Différence non significative ($p > 0,05$), (** très significative ($p < 0,01$), (p : Seuil de signification)

I.2-Effet de SbCl₃ sur le rapport hépato-somatique

Le tableau (08) et la figure (25) de la variation du RHS% montrent une diminution significative chez les lots traités par les deux doses moyennes (1000µg/g et 2500µg/g) par rapport au témoin après 21 jours de traitement.

Tableau 08 : Effet de trichlorure d'antimoine (SbCl₃) (500µg/g, 1000µg/g, 2500µg/g et 5000µg/g) sur l'évolution du rapport hépato-somatique (R.H.S) (%) chez les escargots *Helix aspersa* (m ± s)

	Témoin	Dose 1	Dose 2	Dose 3	Dose 4
15 Jours	10,700±3,180NS	7,810±3,010NS	7,190±4,350NS	10,890±3,150NS	7,250±2,040NS
21 Jours	10,700±3,180NS	7,460±3,610NS	5,140±1,980*	6,870±3,760 *	5,300±3,860NS

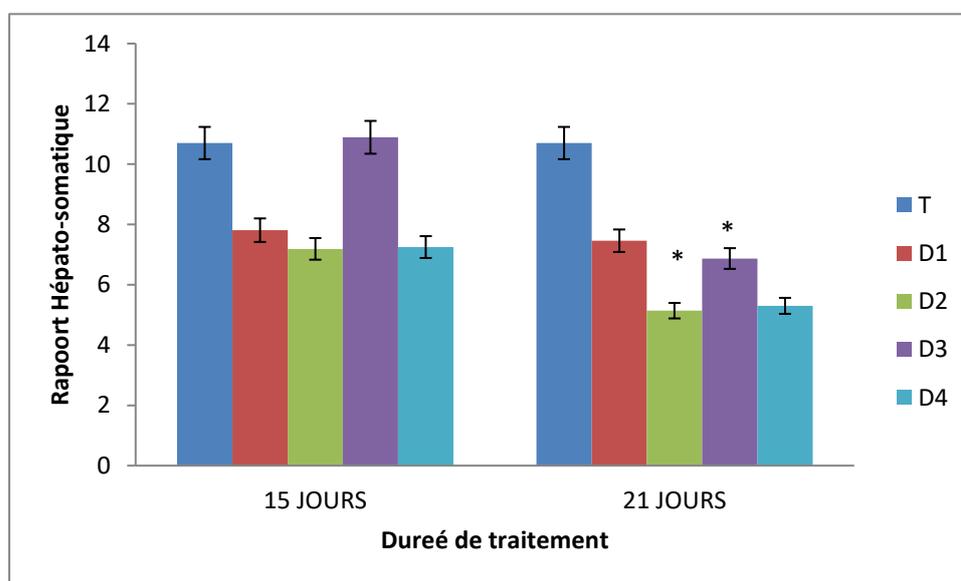


Figure 25 : effet de trichlorure d'antimoine (SbCl₃) sur l'évolution du rapport hépato- somatique (RHS) %chez les escargots *Helix aspersa* en fonction du temps (m ± s, n=6) (* Différence significative comparant au témoin (p<0,05), NS : différence non significative (p>0.05), (p: Seuil de signification).

I.3-Effet de trichlorure d'antimoine (SbCl₃) sur le rapport réno-somatique

Les effets de trichlorure d'antimoine (SbCl₃) (500µg/g, 1000µg/g, 2500µg/g et 5000µg/g) sur le rapport réno-somatique chez *Helix aspersa* durant le traitement (15 et 21 jours) sont présentés par la figure (26) et le tableau (09). La comparaison des

moyennes du (RRS)% entre le lot témoin et les lots traités par les 4 doses montre qu'il n'existe pas une différence significative ($p < 0.05$).

Tableau 09 : Effet de quatre doses de $SbCl_3$ ($500\mu g/g$, $1000\mu g/g$, $2500\mu g/g$ et $5000\mu g/g$) sur l'évolution du rapport réno-somatique (R.R.S) (%) chez des escargots terrestres *Helix aspersa* ($m \pm s$)

	Témoin	Dose 1	Dose 2	Dose 3	Dose 4
15 Jours	2,598 \pm 1,024NS	2,029 \pm 0,951NS	2,363 \pm 0,508NS	2,315 \pm 0,704NS	2,357 \pm 0,557NS
21 Jours	2,598 \pm 1,024NS	1,954 \pm 0,602NS	1,946 \pm 0,337NS	2,431 \pm 0,441NS	1,657 \pm 0,501NS

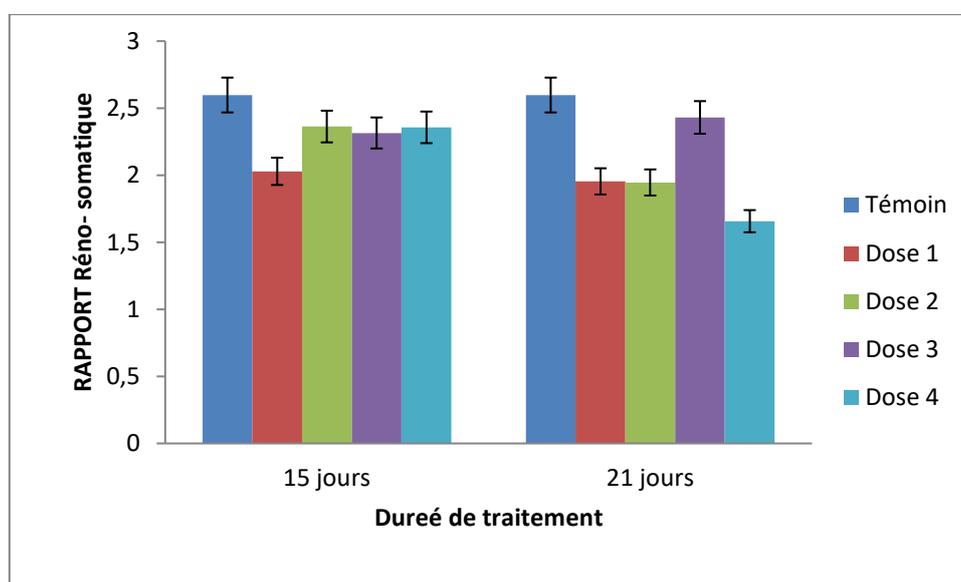


Figure 26 : Effet du $SbCl_3$ sur l'évolution du rapport réno-somatique (RRS) %chez les escargots *Helix aspersa* en fonction du temps ($m \pm s$, $n=6$) (NS : Différence non significative ($p > 0.05$)). (p : Seuil de signification)

II. Effets de $SbCl_3$ sur la composition biochimique

II.1-Dosage des métabolites au niveau de l'hépatopancréas chez *Helix aspersa*

II.1-1-Effet du $SbCl_3$ sur le taux des protéines totales

La comparaison des valeurs moyennes entre les séries témoin et les séries traités montre que le $SbCl_3$ affecte le contenu en protéine de l'hépatopancréas et provoque une augmentation significative ($p < 0.05$) après 21 jours chez les escargots traités par la

dose 2 (1000 μ g/g) et la dose 3 (2500 μ g/g) ; cette augmentation devient très significative ($p < 0.01$) chez les séries traitées par la forte dose (5000 μ g/g)

Tableau 10 : Effet de quatre doses de SbCl₃ (500 μ g/g, 1000 μ g/g, 2500 μ g/g et 5000 μ g/g) sur le taux de protéine chez des escargots terrestres *Helix aspersa* ($m \pm s$).

	Témoin	Dose 1	Dose 2	Dose 3	Dose 4
15 Jours	85,73 \pm 16,74	74,09 \pm 15,99 ^{NS}	80,99 \pm 15,92 ^{NS}	88,11 \pm 16,74 ^{NS}	89,90 \pm 9,21 ^{NS}
21 Jours	85,73 \pm 16,74	97,2 \pm 27,6 ^{NS}	101,4 \pm 31,6 [*]	102,1 \pm 27,9 [*]	120,3 \pm 25,7 ^{**}

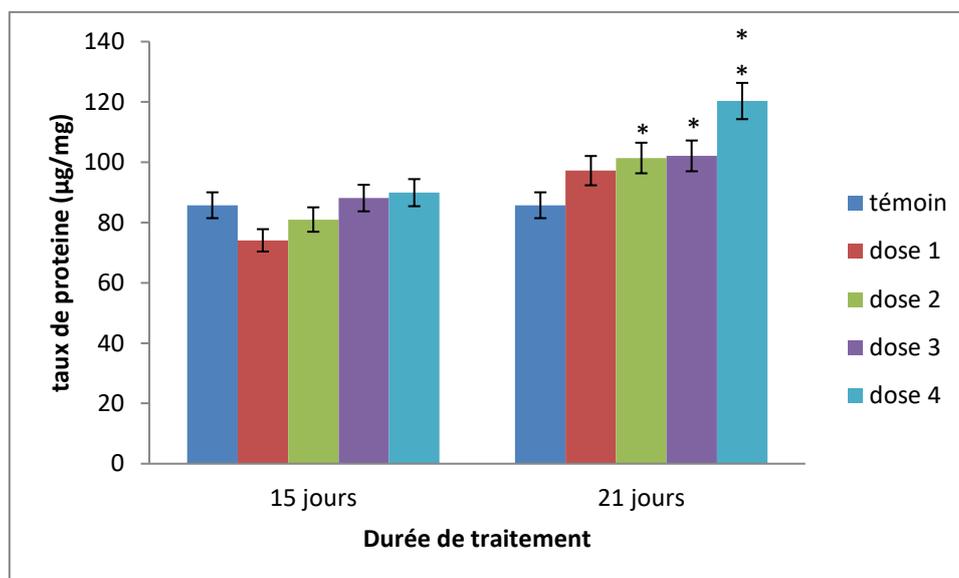


Figure 27 : Variation du taux des protéines (μ g/mg) dans l'hépatopancréas d'*Helix aspersa* aux nanoparticules (SbCl₃) en fonction du temps ($m \pm s, n=6$) (NS :Différence non significative, * Différence significative ($p < 0.05$), **Différence très significative ($p < 0.01$) entre les séries témoins et traité. (p : Seuil de signification)

II.1-2- Effet du SbCl₃ sur le taux des glucides totaux

La comparaison des valeurs moyennes entre les séries témoin et les traitées montre que le SbCl₃ affecte le contenu en glucides hépatopancréatique et provoque une diminution significative ($p < 0.05$) après 15 jours de traitement chez les escargots traités par les différentes concentrations.

Tableau 11 : Effet de quatre doses de SbCl₃ (500µg/g,1000µg/g,2500µg/g,5000µg/g) sur le taux de glucide chez des escargots terrestre *Helix aspersa* (m ± s)

	Témoin	Dose 1	Dose 2	Dose 3	Dose 4
15Jours	10,58±6,49	1,80±0,89*	5,59±2,81NS	4,39±2,61*	3,82±0,74*
21 Jours	10,58±6,49	13,01±8,02NS	11,00±5,19NS	4,22±3,78*	9,97±2,25NS

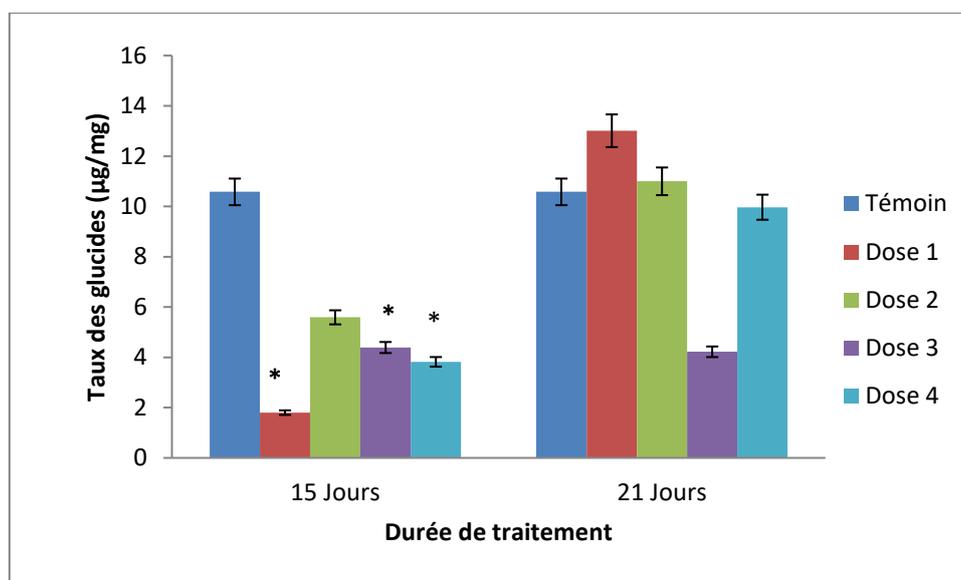


Figure 28 : Variation du taux des glucides (µg/mg) dans l'hépatopancreas d'*Helix aspersa* aux nanoparticules (SbCl₃) en fonction du temps (m ± s, n=6). (NS : Différence non significative, (* Différence significative (p<0.05) entre les séries témoins et traité). (p: Seuil de signification)

II.1-3- Effet du SbCl₃ sur le taux des lipides totaux

La comparaison des moyennes du taux des lipides entre les escargots témoins et les escargots traités révèle l'existence d'une différence très hautement significative (p<0.001) chez les lots traités par les quatre doses (500µg/g ; 1000µg/g ; 2500µg/g ; 5000µg/g) après 15 et 21 jours et provoque une augmentation très significative (p<0.01) chez le lot traité par la dose 4 (5000µg/g) après 21 jours.

Tableau 12 : Effet de quatre doses de SbCl₃ (500µg/g, 1000µg/g, 2500µg/g et 5000µg/g) sur le taux de lipide chez des escargots terrestres *Helix aspersa* (m±s)

	Témoin	Dose 1	Dose 2	Dose 3	Dose 4
15 Jours	0,680±0,410	15,328±1,505***	2,870±0,497***	2,144±0,273***	1,461±0,261***
21 Jours	0,680±0,410	13,356±1,748***	8,348±1,328***	4,719±0,854***	2,274±0,948**

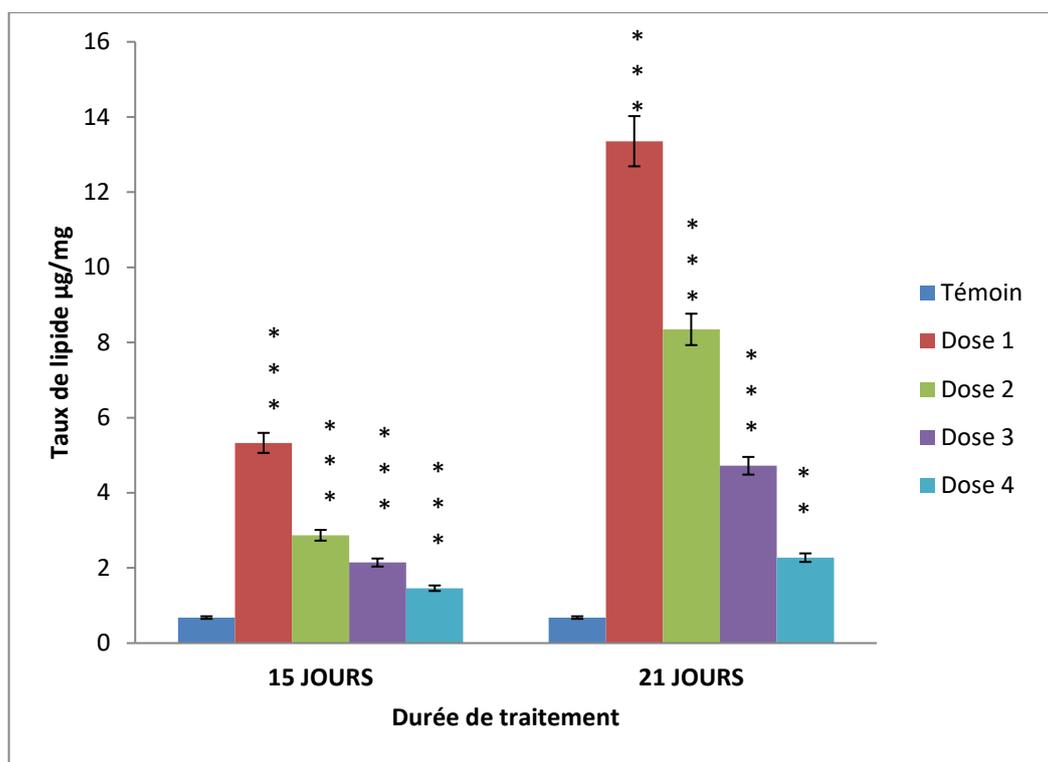


Figure 29 : Variation du taux des lipides ($\mu\text{g}/\text{mg}$) dans l'hépatopancreas d'*Helix aspersa* aux nanoparticules (SbCl_3) en fonction du temps ($m \pm s$, $n=6$), (** Différence très significative ($p < 0.01$) entre les séries témoins et traité, *** Différence très hautement significative ($p < 0.001$) entre les séries témoins et traité). (p : Seuil de signification)

II.2- Dosage des métabolites au niveau de rein chez *Helix aspersa*

II.2-1 Effet de SbCl_3 sur le taux des protéines totales

Les résultats portés par la figure (30) et le tableau (12) révèlent que le traitement des escargots par le chlorure d'antimoine induit une augmentation des protéines rénales.

Cette augmentation est significative ($p < 0.05$) chez les lots traités par la dose 2 ($1000\mu\text{g}/\text{g}$) et la dose 3 ($2500\mu\text{g}/\text{g}$) et elle devient très significative ($p < 0.01$) chez les escargots traités par la dose 4 ($5000\mu\text{g}/\text{g}$) après 15 jours de traitement comparant au témoin.

Après 21 jours de traitement l'augmentation est très significative chez les séries traitées par la dose 3 ($2500\mu\text{g}/\text{g}$) et la dose 4 ($5000\mu\text{g}/\text{g}$) par rapport au témoin.

Tableau 13 : Effet de quatre doses de SbCl₃ (500µg/g, 1000µg/g, 2500µg/g et 5000µg/g) sur le taux de protéine chez des escargots terrestres *Helix aspersa*(m±s)

	Témoin	Dose 1	Dose 2	Dose 3	Dose 4
15 Jours	47,3±27,3	50,5±21,2 ^{NS}	52,2±26,3 [*]	53,5±27,6 [*]	59,3±27,2 ^{**}
21 Jours	47,3±27,3	53,0±27,1 ^{NS}	57,5±25,7 ^{NS}	66,3±26,1 ^{**}	90,4±50,8 ^{**}

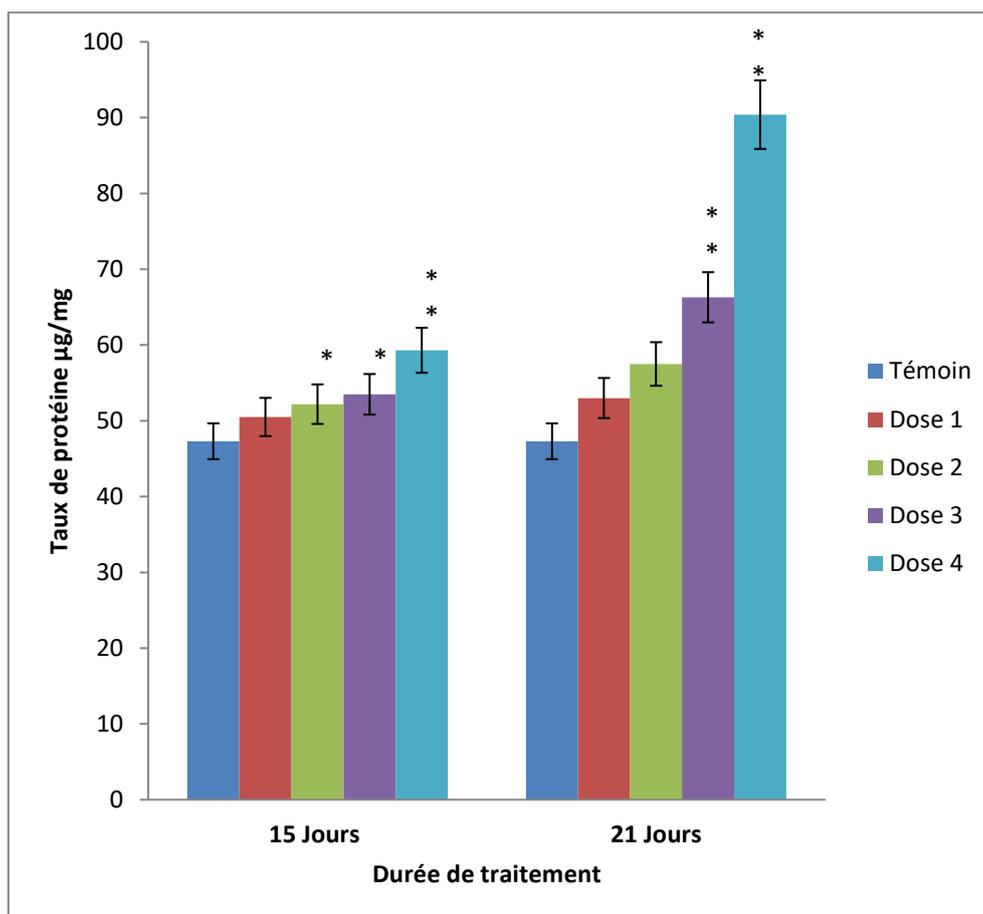


Figure 30 : Variation du taux des protéines (µg/mg) dans le rein d'*Helix aspersa* aux nanoparticules (SbCl₃). (NS : Différence non significative (p>0.05) ; * Différence significative (p<0.05) entre les séries témoins et traité, (** Différence très significative (p<0.01) entre les séries témoins et traité). (p : Seuil de signification)

II.2-2- Effet de SbCl₃ sur le taux des glucides totaux

La comparaison des valeurs moyennes entre la série témoin et la série traitée montre que SbCl₃ affecte la teneur en glucides dans le rein et provoque une diminution très hautement significative (p<0,001) après 15 jours de traitement chez les lots traités par

la dose 1 (500 μ g/g) et dose 2 (1000 μ g/g) et dose 3 (2500 μ g/g) , et elle devient une diminution très significative ($p < 0,01$) chez les escargots traités par la dose 4 (5000 μ g/g) après 15 jours de traitement comparant au témoin.

Après 21 jours de traitement l'augmentation est très hautement significative ($p < 0,001$) chez les séries traitées par la dose 1(500 μ g/g) et significative ($p < 0,05$) par la dose 2 (1000 μ g /g), et devient une diminution très significative ($p < 0,01$) après 21 jours par la dose 4 (5000 μ g /g) chez les séries traitées par rapport au témoin.

Tableau 14 : Effet de quatre doses de SbCl₃ (500 μ g/g, 1000 μ g/g, 2500 μ g/g et 5000 μ g/g) sur le taux de glucide chez des escargots terrestres *Helix aspersa* (m \pm s)

	Témoin	Dose 1	Dose 2	Dose 3	Dose 4
15 Jours	3,11 \pm 0,83	0,642 \pm 0,577***	1,142 \pm 0,602***	0,978 \pm 0,299***	1,327 \pm 1,071**
21 Jours	3,11 \pm 0,83	13,22 \pm 6,17***	11,32 \pm 11,32*	3,41 \pm 3,54NS	1,019 \pm 1,002**

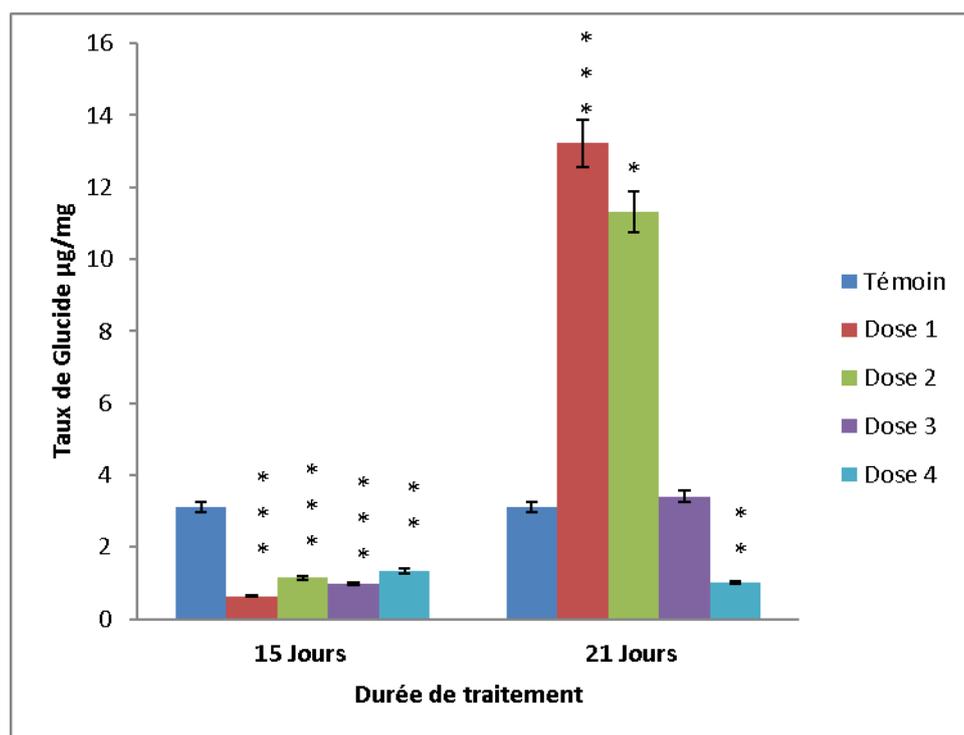


Figure 31 : Variation du taux des glucides (μ g/mg) dans le rein d'*Helix aspersa* aux nanoparticules (SbCl₃) en fonction du temps (m \pm s,n=6), (NS : Différence non significative) ,(* Différence significative($p < 0,05$) entre les séries témoins et traité), (** Différence très significative($p < 0,01$) entre les séries témoins et traité), (***) Différence très hautement significative ($p < 0,001$) entre les séries témoin et traité).(p : Seuil de signification)

II.2-3- Effet de SbCl₃ sur le taux des lipides totaux

La comparaison des valeurs moyennes entre les séries témoin et les séries traités montre que le SbCl₃ affecte le contenu en lipides dans les reins et provoque une diminution très hautement significative ($p < 0.001$) après 15 jours de traitement chez les escargots traités par les doses (500 $\mu\text{g/g}$; 1000 $\mu\text{g/g}$; 2500 $\mu\text{g/g}$)

Après 21 jours de traitement le SbCl₃ augmente de façon très hautement significative ($p < 0.001$) le taux des lipides chez les escargots traités par la dose 1 (500 $\mu\text{g/g}$) et 2 (1000 $\mu\text{g/g}$) et de façon très significative ($p < 0.001$) chez les lots traités par la dose 3 (2500 $\mu\text{g/g}$) et 4 (5000 $\mu\text{g/g}$) .

Tableau 15 : Effet de quatre doses de SbCl₃ (500 $\mu\text{g/g}$, 1000 $\mu\text{g/g}$, 2500 $\mu\text{g/g}$ et 5000 $\mu\text{g/g}$) sur le taux de lipide chez des escargots terrestres *Helix aspersa* ($m \pm s$)

	Témoin	Dose 1	Dose 2	Dose 3	Dose 4
15 Jours	0,816 \pm 0,507	2,691 \pm 0,806***	2,045 \pm 0,611***	1,635 \pm 0,361***	0,804 \pm 0,568NS
21 Jours	0,816 \pm 0,507	4,433 \pm 1,165***	3,728 \pm 1,574***	3,297 \pm 1,648**	3,082 \pm 1,772**

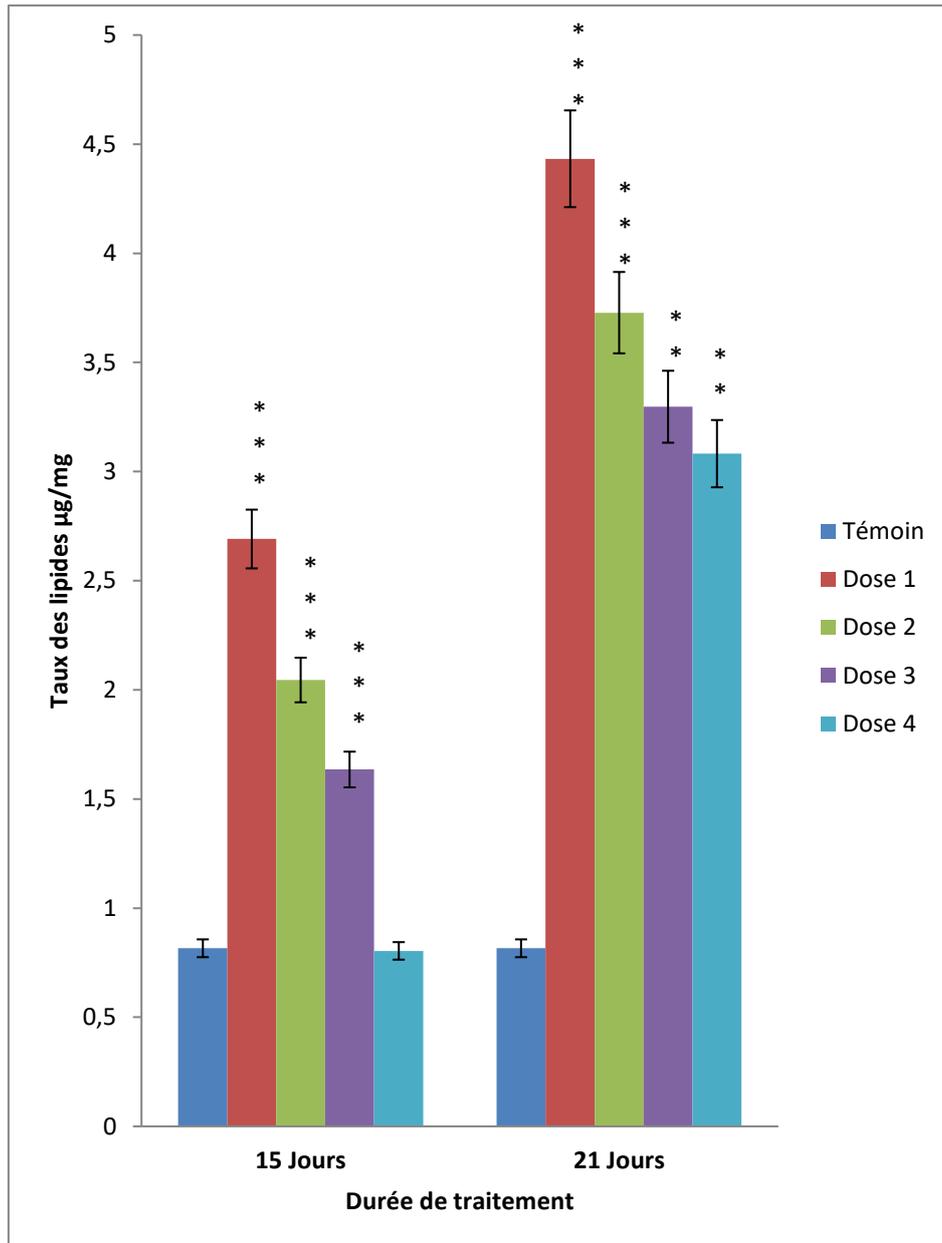


Figure 32 : Variation du taux des lipides ($\mu\text{g}/\text{mg}$) dans le rein *d'Helix aspersa* aux nanoparticules (SbCl_3) en fonction du temps ($m \pm s$, $n=6$), (NS :Différence non significative), ** Différence très significative ($p<0.01$) entre les séries témoins et traité, ***Différence très hautement significative ($p<0.001$) entre les séries témoins et traité). (p : Seuil de signification)

Discussion

Discussion

Les bio-indicateurs de pollution environnementale, ont fait l'objet de nombreux travaux chez les gastéropodes particulièrement. Ainsi ces espèces sont sensibles aux variations physicochimiques de leur milieu, notamment les fréquences électromagnétiques (Regoli et al., 2005), mais ils sont également sensibles vis-à-vis des xénobiotiques variés tels que les hydrocarbures (Ismart et al., 2002) ou encore les éléments traces métalliques (Manzl et al., 2004).

Toutes les études sur les biomarqueurs indiquent que les espèces *Helix* sont le meilleur modèle pour toutes les études toxicologiques et la compréhension des mécanismes d'action des organismes exotiques in situ.

L'abondance de la population d'*Helix aspersa* est bien nette entre les deux sites Guelma et Tébessa en faveur de ce dernier où la densité de population, nettement supérieure, caractérise une très faible incidence de la pollution sidérurgique sur la présence et la croissance de ce gastéropode.

Dans notre travail nous avons testé la toxicité de 4 doses (500µg/g ; 1000µg/g ; 2500µg/g ; 5000µg/g) de SbCl₃ durant 15 et 21 jours.

Il n'y a pas d'informations et d'expériences confirmant l'exposition humaine aux nanoparticules. Cependant, des expériences et des données menées sur les escargots *Helix aspersa* indiquent un risque pour la santé humaine.

I. Effet de nanoparticule (SbCl₃) sur les paramètres physiologiques

I.1- Sur le diamètre de la coquille des escargots

Nos résultats reflètent une diminution de diamètre de la coquille des escargots traités.

Nos résultats sont en accord avec les travaux de Coeurdassier et al., (2001) qui ont constaté un déclin de la croissance et du diamètre de la coquille chez *Helix aspersa* exposés à un pesticide organophosphoré. La variation du poids et de diamètre de la

coquille est un paramètre physiologique indiquant la toxicité des xénobiotiques sur la croissance d'*Helix aspersa*.

Nos résultats sont conformes avec ceux de **Grara et al., (2015)** qui ont rapporté une diminution de la masse corporelle chez les escargots traités par les différentes concentrations d'une nanoparticule métallique (ZnO) ce qui constitue un premier indice de toxicité.

De même **Laskowski et Hopki., (1995)** ont expliqué cette perte par la diminution de la consommation alimentaire chez les escargots nourris sur des régimes contaminés avec les métaux Zn, Cu, Pb et Cd.

I.2-Sur le rapport hépato-somatique

Les résultats de cette étude indiquent une diminution significative du rapport hépato-somatique chez les séries traitées par les différentes doses de SbCl₃ après 15 et 21 jours ; ceci peut être due à la sensibilité de l'espèce *Helix aspersa* à la présence de nanoparticules. Cette sensibilité se manifeste par : Augmentation de la force cumulative des individus exposés, un trouble du développement des escargots Exposé par une diminution de la masse corporelle, du poids des tissus mous. (**Grara et al., 2015**).

Et dans des études similaires, (Bendahmane et al.,2013) ont mis en évidence une diminution dose-dépendante du poids d'hépatopancréas chez les escargots *Helix aspersa* traités par les nanoparticules : ZnO, Fe₂O₃, d'Al₂O₃ (**Grara et al., 2015**). Par contre, pour une exposition supérieure à 30 jours, une augmentation du poids du foie et une dégénérescence albumineuse et graisseuse du foie (chez 73 % des animaux) (**Guillard D,2007**).

I.3- Sur le rapport réno-somatique

Les résultats de cette étude indiquent q' il n'existe pas une différence significative du rapport réno-somatique chez les séries traitées par le Sbcl₃, qui peut être due au fait que la concentration utilisée est faible par rapport à la concentration efficace et pourrait être due à l'accumulation de métabolites toxiques (néphrotoxicité).

Et dans des études similaires les résultats obtenus montrent que le traitement des escargots par deux doses de chlorure d'antimoine n'a aucun effet sur le rapport réno-somatique durant 28 jours d'exposition (**Hanine R et Sarah M., 2020**) ,

Par contre, l'étude de (**Bendokhane R et al.,2013**) a montré que le poids de rein tend à diminuer d'une manière dose-dépendante chez les escargots *Helix aspersa* traités par l'oxyde de Zinc, Al₂O₃.

II. Effet de nanoparticule (SbCl₃) sur les paramètres biochimiques

II.1-Effet du trichlorure d'antimoine (SbCl₃) sur le taux des protéines totales chez *Helix aspersa*

Les protéines remplissent diverses fonctions dans les organismes, notamment la catalyse des réactions métaboliques, la réplication de l'ADN, la réponse aux stimuli, le transport des molécules d'un endroit à un autre (**Desai et Bhilave.,2019**), l'antioxydation, la réparation des plaies, la minéralisation de la coquille (**Itoh et al.,2011; Koutsogiannaki & Kaloyianni.,2010**) et l'amélioration de l'intégrité des membranes (**Yusseppone et al.,2020**). Les altérations des composants biochimiques comme les protéines sont utiles pour étudier les différents mécanismes de défense d'organismes exposés à des substances toxiques comme les métaux ou les pesticides (**Shaikh ,2020**).

L'augmentation significative du taux des protéines d'une manière dose-dépendante peut être s'expliquer par une forte induction de protéines et de la synthèse d'enzymes de détoxification et de métabolisation sous l'effet du stress oxydatif, et aussi dans des conditions de stress, les escargots ont besoin de plus d'énergie pour détoxifier la substance toxique. Lorsque les escargots ont une quantité limitée de glucides et de lipides, la source d'énergie alternative pour répondre à la demande accrue d'énergie est les protéines (**Moussard, 1999**)

Des résultats similaires mettent en évidence une augmentation du taux de protéines totales au niveau de l'hépatopancréas et du rein des escargots traités par des métaux lourds (**Grara , 2011**).

Par contre, les résultats de (**Sunagawa, 1981**) ;(**Hiraoka, 1986**) ont rapporté que le traitement des rats par 500 ou 1 000 mg d'antimoine métallique pendant 12 ou 24 semaines a induit une diminution des taux d'hématocrite, d'hémoglobine et de protéines plasmatiques. (**Merad et Soltani.,2017**) ont expliqué la diminution du taux

de protéines pendant l'exposition aux polluants par l'augmentation du catabolisme et la diminution de l'anabolisme des protéines.

II.2-Effet du trichlorure d'antimoine (SbCl₃) sur le taux des glucides

Les glucides sont appelés sucre ou hydrates de carbone de nature organique, ils comprennent les glucides simples qui sont représentés essentiellement par le glucose et d'autres glucide complexe. L'organisme stocke les glucides nécessaires à son métabolisme dans le foie sous forme de glycogène, le reste dans les muscles. Ils sont la source d'énergie essentielle pour les réactions cellulaires et entrent aussi dans la composition de grand nombre de molécules importantes (**Brooker, 2000 ; Gillian et Christopher., 2004**)

Dans notre étude, le taux de glucides a diminué chez les escargots traités par le SbCl₃ au niveau des deux organes ciblés (Hépatopancréas et rein), cette diminution peut être due à l'utilisation des glucides pour générer l'énergie nécessaire pour répondre au stress provoqué par cette nanoparticule.

Ces résultats vont dans le même sens que ceux de **Zouaghi et al., (2015)** qui ont signalé une diminution du taux de glucide chez l'escargot *Helix aspersa* exposé aux hydrocarbures. **Sonawane S.M. & Sonawane M., (2018)** ont rapporté une diminution des taux glucides chez le mollusque bivalve *Lamellidens marginalis* suite à une exposition chronique et aigue au sulfate de cuivre.

Ces mêmes observations ont été décrites par différentes études suite à une exposition des escargots *Helix aspersa* et *Helix pomatia* aux métaux lourds (**Bislimi et al., 2013 ; Grara et al., 2012**).

Par contre dans l'étude de **Barky et al., (2012)** l'effet toxique de l'atrazine a provoqué une augmentation de la concentration de glucose chez les escargots *Biomphalaria alexandrina*.

II.3-Effet du trichlorure d'antimoine (SbCl₃) sur le taux des lipides

Les lipides ont une influence marquée sur la reproduction des mollusques et jouent un rôle important durant le développement larvaire et embryonnaire (**Signa et al., 2015**). Ils sont généralement utilisés comme source d'énergie pendant la gamétogenèse et constituent la principale réserve nutritionnelle des œufs et des larves

d'invertébrés marins (**Helm et al., 1973 ; Nie et al., 2016**). Ceci permet de considérer la composition lipidique comme un biomarqueur précieux pour évaluer les niveaux de contamination (**Filimonova et al., 2016**).

L'augmentation des lipides chez les séries traitées par le SbCl₃ peut être due à une perturbation du métabolisme des lipides.

Des résultats similaires sont observés chez des rats exposés aux nanoparticules d'argent (**Ben Noui A, 2020**). En parallèle l'exposition de *D. trunculus* aux polluants environnementaux provoque une augmentation du taux de lipides (**Bensouda et al., 2014**).

Par contre, **Aurousseau, (2002)**, montre que les radicaux libres oxygénés sont à l'origine d'une dégradation des lipides, à travers la β oxydation. De plus les ETM comme le Cuivre et le Fer ont été largement utilisés comme des agents initiateurs de l'oxydation des lipides (**Nzengue, 2008**).

Ainsi, (**Boucenna M, 2010**), signale que les poussières métalliques provoquent une diminution du taux de lipides totaux d'une manière dose dépendante chez les escargots *Helix aspersa* comparativement aux séries témoins.

De nombreuses espèces de bivalves ont, également, montré une réduction des lipides pour surmonter le stress induit par des métaux lourds chez *Anodonta anatine* (**Ngo et al., 2012**) ou *Mytilusedulis* (**Geret et al., 2002**). D'autres travaux concernant l'effet subléthal des métaux ont abouti à des résultats similaires sur les larves de la moule *Mytilus galloprovincialis* (**Wu et al., 2016**) et sur la moule *Perna viridis* (**Yeung et al., 2016**).

Conclusion et Perspectives

La prise de conscience moderne a montré la nécessité de mener des études approfondies sur les propriétés des nanoparticules après que le monde ait assisté à leur large diffusion, notamment au niveau du domaine industriel (par exemple : dans les cosmétiques, les médicaments...). Ces substances ne touchent pas seulement les êtres humains mais aussi tous les organismes vivants, l'escargot terrestre *Helix aspersa* (Mollusques gastéropodes pulmonés terrestres) est parmi les animaux utilisables comme bioindicateurs pour révéler et évaluer la contamination des sols.

L'objectif de ce travail est d'étudier chez un escargot terrestre *Helix aspersa* l'effet d'une nanoparticule métallique, le trichlorure d'antimoine ($SbCl_3$), administré par voie orale, sur certains paramètres morphométriques (le diamètre de la coquille, le rapport hépato-somatique et le rapport réno-somatique) ; sur le contenu hépatopancréatique et rénal en protéines, glucides et lipides

Les résultats obtenus ont montré que l'exposition des escargots à quatre doses de $SbCl_3$ ($500\mu g/g$, $1000\mu g/g$, $2500\mu g/g$, $5000\mu g/g$) aux différents temps testés (15 et 21 jours) entraîne l'apparition d'un stress oxydatif qui se manifeste par :

- Augmentation du taux des protéines totales.
- Diminution des glucides totaux.
- Augmentation des lipides totaux.
- Diminution du rapport hépato-somatique.

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

- La toxicité chronique des NPs depuis le stade juvénile jusqu'au stade adulte
- Dosage biochimique et enzymatique au niveau de l'hépatopancréas et

L'hémolymphe.

- Effets subcellulaire par le suivi des mitochondries.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

(A)

-Aurousseau B, 2002. Les radicaux libres dans l'organisme des animaux
.Conséquence sur la reproduction, la physiologie et la qualité de leurs produits
.INRA Prod.Anim.pages 15(1) ,pages 67-82

(B)

-Bahadar H., Maqbool F., Niaz K., Abdollahi M., 2016. Toxicity of nanoparticles and an overview of current experimental models., pages 20,1, 11

-Bailey S E, 1981. Circannual and circadian rhythms in the snail *Helix aspersa* Müller and the photoperiodic control of annual activity and reproduction. Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology, vol: 142(1): pages 89-94

-Barker G M ,2001. The biology of terrestrial Molluscs CAB International. Oxon Wallingford. UK. Page 567

-Barkey F A., Abdelsalam H A., Mahmoud M B., Hamdi S A.,2012. Influence of Atrazine and Roudup pesticides on biochemical and molecular aspects of biomphalaria alexandrina snails.Pestic.Biochem.physiol, pages 104, 9-18

-Bislimi K A ., Behluli J., Halili I., Mazreku F., Osmani F., Halili., 2013. Comparative analysis of some biochemical parameters in hemolymph of garden snail (*Helix pomatia L*) of the Kastriot and Ferizaj regions, Kosovo. International journal of Engineering and Applied Sciences. Dec 2013.Vol4, No 6., pages 11-18

-Ben Noui A, 2020. Toxicité chronique des nanoparticules d'argent in-vivo pages .39-40

Références bibliographiques

- Bendokhane 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*), pages 68,71
- Bensouda-Talbi L. & Soltani-Mazouni N., 2014.** Measure of Oxidative Stress and Neurotoxicity Biomarkers in *Donax trunculus* from the Gulf of Annaba (Algeria): Case of the Year 2012. Annual Research & Review in Biology, pages 4(12): .1902-1914
- Bonnet J C., Vrillon J L., 1990.**L'escargot *Helix aspersa* biologie-élevage- Edition INRA.,pages 14-15
- Boue H. et Chanton R. 1978.** Zoologie, Tome I : invertébrés. Édition Dion (Paris), pages 82-92
- Boué H., chaton R., 1971.** B.A. Zoologie I. Invertébré. Ed. Dion, Paris., page 376
- Bougis P, 1952.** Recherche biométrique sur les rougets (*Mullus barbatus*, *Mullus surmelutus*) Arch. Zool. Crén ; pages 89 ,57-174
- 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*, pages 35-36
- Bralford M M ,1976.**Alrapid and sensitine method for the quantification of .microgram quantities of protein utilizing the principe of protein- dye binding Anal Biochem.,pages 72,278-254
- Brooker C, 2000.**Le corps humain : Etude, structure et fonction, De boeck Supérieur, Bruxelles, page 562
- Buron-Mousseau F, 2014.** Accouplement de Petit-Gris. Dans Zoologie. (Consulté- Le 01 juin 2014)

Références bibliographiques

(C)

- Canivet L, 2016.** Les nanoparticules et les nanotechnologies (cours)
- Chase R, 1986.** Les sons from Snail Tentacles, chemical Senses.,pages pages 411-42 ,. :(4)11
- Chuto G., Chaument-Riffaud P., 2010 .** Médecine Nucléaire
- Claude O., Brigitte R., Catherine W., Brigitte S., 2010.** Les nanoparticules de synthèse, Etude et recherches, page 25,370-376
- Cobbinah J C., Vink A., et Onwuka B., 2008.**L'élevage d'escargots (Production Transformation et commercialisation). Ed. Fond. Agromisa, Wageningen.,page 84
- Coeurdassier M., Saint-Denis M., Gomot de Vaufleury A., Ribera D., Bodat P M., 2001.**Is the cadmium uptake from soil important in bioaccumulation and toxic effects forsnails? Ecotoxicologie and environmental Safety ., pages 53, 425-431,1951-1957

(D)

- Djaafar T., Zineb Z., 2020.** Effet de certains paramètres toxiques chez un escargot terrestre (*Helix aspersa*) exposé a une nanoparticule SbCl₃., page 52
- Daragnes L, 2018.** Les nanoparticules de dioxyde de titane leur place dans l'industrie cosmétique et ses dangers., page 107
- Duchateau G., Florkin., 1959.**Fortreahalosemie of insects and its signification. Arch. Insectphysiol. Biochem., pages 67, 306-314

(E)

- EricG , 2006.** Afsset-Nanomateriaux, Effets sur la santé de l'homme et sur l'environnement., pages 14,17, 18,133,188

(F)

- Faunce T., Wata A., 2010.** Nanosilver and global public health: international regulatory issues Nanomedicine...,pages 5,617-632

Références bibliographiques

- Filimonova V., Gonçalves F., Marques J.C., De Troch M., Gonçalves A.M.M.,2016.**, Fatty acid profiling as bioindicator of chemical stress in marine organisms. A review., pages 67:657-672
- Florine P., François X., Frédéric D ., 2008.** La presse médicale., pages 1431-1437
- Frank J., 2003. Oxidative stress :its role in air pollution and adverse health effects., page 1

(G)

- Gamlin et Vines., 1996.** L'évolution de la vie. Artes Graficas, S. A. Ed. Viciria Espagne, page 24
- Geret F., Serafim A., Barreira L., & Bebianno M.J., 2002.** Effect of cadmium on antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in the gills of the clam *Ruditapes decussatus*, pages 7(3): 242-256
- Gillian P.,Christopher D R., 2004.**Physiologie humaine: les fondements de la médecine, Elsevier Masson, Paris, page 638
- Guillard D, 2007.** Antimoine et ses dérivés. INERS-fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques., pages 9-12-18-19-22
- Goldsworthy A C., Mordue W .,Cruthkelch J., 1972.** Studies on insect adipokinetic hormone. General and comparative endocrinology., pages 18,306-314
- Gomot de Vaufleury et bispo., 2000.** Standar disedgrowth toxicity testing (Cu, Zn, Pb and pentachlorophenol) on *Helix aspersa*
- Grara N.,Atailia A., Boucenna M., Berrebbah H., Djebbar M R., khaldi F., 2012.** Effects of Heavy Metals on the Snails *Helix aspersa* Bioindicators of the Environment Pollution for Human Health, International Conference on Applied Life Sciences, pages 241-254.
- Grara N., Atailia A., Boucenna M., Berrebbah H., Djebbar M R., 2016.** Etude biochimique et histopathologique de la toxicité des poussières métalliques du complexe sidérurgique d'Annaba (Nord-Est Algérien) chez *Helix aspersa*

Références bibliographiques

(Biochemical and Histopathology study of the toxicity of metal dust emitted by the Annaba steel complex in Northeastern Algeria in the snail *Helix aspersa*).

J.Mater.Environ. Sci.Vol7(12), pages 4733-4741.

-Grara N., Bouloudenine M., Kladi F., Zenir Z., Abdemadjid S.,

2015.Caractérisation Morphophysiological de la Toxicité du ZnO (Nanoparticule manufacturée) sur l'escargot l'*Helix aspersa* bio indicateur de pollution de l'environnement, J. Mater.Environ. Sci, Vol6(9), pages 2596-2603 ;4733-4741 ;241-254

-Grara N., Atilia A., Boucenna M., Berrebbah H., Djebbar M R., 2016. Etude biochimique et histopathologique de la toxicité des poussières métalliques du complexe sidérurgique d'Annaba (Nord-Est Algérien) chez *Helix aspersa* (Biochemical and Histopathology study of the toxicity of metal dust emitted by the Annaba steel complex in Northeastern Algeria in the snail *Helix aspersa*).

J.Mater.Environ. Sci.Vol7(12), pages 4733-4741.

-Grasse P P , 1968. Traite de Zoologie, anatomie, systématique, biologie. tome

Fascicule 3- mollusques gastéropodes et scaphopodes, éd .Masson & Cie (paris)

pages 362-370

(H)

-Handy R D., Von des kammer F., Lead J R., et al., 2008.The ecotoxicology and chemistry of manufactured nanoparticles. Ecotoxicology., pages 17, 287-314

-Hanine R., Sarah M., 2020. L'Effet d'une Nanoparticule sur des paramètres de toxicité chez un indicateur de pollution « *Helix aspersa* », page 51

-Helm M.M., Holland D L & Stephenson R R., 1973. The Effect of

Supplementary Algal Feeding of a Hatchery Breeding Stock of *Ostrea Edulis* L

.On Larval Vigour , 53(3):pages 673-684

-Heusser S et Dupuy H G., 2011.Synthèse de la structure tissulaire à la réalisation des fonctions chez les gastéropodes pulmonés (I), éléments d'histologie et de

Références bibliographiques

physiologie des espèces *Helix aspersa* et *Helix pomatia*-*Foliaconchyliologica*

N°10.,page 26

(I)

-**Ibrahim K., Khalid S., Idrees K., 2019.** Nanoparticules : propriétés, application et toxicités., pages 908-911 IOP., 2017. Areview on the classification characterization, synthesis, of nanoparticules and their application “conference series”., page 3

-**Ismert M., Oster T., Bagrel D., 2002.** Effects of atmospheric exposure to naphthalene on xenobiotic-metabolising enzymes in the snail *Helix aspersa*
Chemosphere 46, pages 273-280

(K)

-**Kerney M P., Cameron R A D., 2006.**Guide des escargots et limaces d'Europe
Identification et biologie de plus de 300 espèces, Delachaux et Niestle, Lausanne
Paris., page 386

(L)

-**Lanone S, Boczkowski J., 2010.**Revue français d'allergologie., pages 2011-2013

-**Laskowski R., Hopkin P., 1995.** Accumulation of Zn, Cu, Pb, and Cd in the garden snail (*Helix aspersa*): Implication for Predators. Environmental Pollution, Vol91(3),
pages 289-297

-**Laura D,2018.** Les nanoparticules de dioxyde de Titan, leur place dans l'industrie cosmétique et ses dangers., page 20

(M)

-**Manzl C., Krumschnabel G., Schwarzbaum P.J., Dallinger R., 2004.** Acute toxicity of cadmium and copper in hepatopancreas cells from the Roman snail (*Helix pomatia*),pages 138 , 45-52

Références bibliographiques

-**Matthieu H, 2014.** Toxicité de deux types de nanoparticules d'argent sur la cyanobactérie modèle : *Synchococcus elongatus* pcc 7942., pages 1-2-7

-**Michel R, 1979.** L'élevage des escargots. Deuxième édition 1979-

Entièrement revue, complétée et actualisée., pages 11, 13-29

-**Myriam R., Olivier W., 2012.** INRS : les nanomatériaux ; définitions ; risques toxicologiques ; caractérisation de l'exposition professionnelle et mesures de prévention., pages 3-4

(N)

-**Navarro E., Piccapietra F., Wagner B et al ., 2008.** Experimental behavior and ecotoxicity of engineered nanoparticles in algae plants and fungi, *Ecotoxicology*., pages 42,8959-8954

-**Ngo H.T.T., Gerstmann S.; Frank H., 2012.** Sub chronic effects of environment like cadmium levels on the bivalve *Anodonta anatina* (Linnaeus) : II. Effects on energy reserves in relation to calcium metabolism, page 1758

-**Nie H., Lu Y., Liu H., Yan H., Zhao L., Yang F. & Yan, X., 2016.** Seasonal-Variations in Biochemical Composition of the Clam *Dosinia corrugate* in Relation to the Reproductive Cycle and Environmental Conditions, 35(2):pages 369-377

-**Nzengue Y, 2008.** Comparaison des mécanismes de toxicité redox du cadmium ,du cuivre et du zinc : place des métallothionéines et de P53. Thèse de doctorat Université JOSEPH FOURIER – GRENOBLE 1, France., page 299

Références bibliographiques

(P)

-**Patra K , 2014.** Baek-Green nano-biotechnology: factors affecting synthesis and -
characterization technique

-**Popple I et Tribune M G., 2002.** Are snails love Darts source of Cupid lore
National Geographies News.,pages 63,211-243

(R)

-**Regoli, F., Gorbi, S., Machella, N., Tedesco, S., Benedetti, M., Bocchetti, R., et al., 2005.** Prooxidant effects of extremely low frequency electromagnetic fields
:(ELF-EM) in the land snail *Helix aspersa*. Free Radic Biol & Med 39.pages
.1628–1620

-**Rousselet M, 1979.** L'élevage des escargots. Édition du point vétérinaire, Maisons
Al fort., page 122

(S)

-**Sarah T, 2006.** Etude des effets de deux types de nanoparticules métalliques sur des -
macrophages murins par une approche protéomique, pages 83-84

-**Shibko S., Koivistoinen P., Tratyneck C., New hall A., and Freindman L., -
1966.** A method for the sequential quantitative separation and glycogen from a single
rat liver homogenate or from a sub cellular fraction .AnalytBiochem.,pages 19.415-
428

-**Sonawane S M., Sonawane M., 2018.** Effect of heavy metal copper sulphate on -
glycogen activity of bivale *Lamellidens marginalis*. IOSR Journal of Pharmacy, pages
8;21-27

-**Signa G., Di Leonardo R., Vaccaro A., Tramati C D., Mazzola A., & Vizzini
S., 2015.** Lipid and fatty acid biomarkers as proxies for environmental
.contamination in caged mussels *Mytilus galloprovincialis*, pages 57: 384–394

Références bibliographiques

-Sunagawa, 1981. Tioxyde de diantimoine., page 23

(T)

-Tedjani M., Tedjani M L., Touati B O., 2018.Synthèse de nanoparticules de ZnO - par l'extrait des feuilles de *Phoenix Dactylifera*., page 6

-Throback I N., Johansson M., Rosenquist M., 2007. Silver reduces denitrification - and induces enrichment of novel nirk genotypes in soil.,pages 189-194,270

(W)

-Wu H., Xu L., Ji C. & Yu D., 2016. Proteomic and metabolomic responses in D - shape larval mussels *Mytilus galloprovincialis* exposed to cadmium and arsenic. page 58

(Y)

-Ya-Kan C., Mingyi Z., Lin X., 2012. The toxic effects and mechanisms of CuO and - .ZnO nanoparticules

-Yeung J.W.Y., Zhou G.J & Leung K.M., 2016. Sub-lethal effects of cadmium- and copper on RNA/DNA ratio and energy reserves in the green-lipped mussel *Perna viridis*,pages 59-67

(Z)

-Zaafour M ,2014.biblio-univ-Annaba-dz/wp-content /uploadas /2014/11/ these-- Zaafour Moncef-pdf

-Zeyons O, 2008. Etudes des interactions physicochimiques et biologiques entre des - nanoparticules manufacturées et des bactéries de l'environnement., page 331

-Zouaghi M F., Berrebbah H., RédaDjrbar M., Amamra R.,2015. Study of the - behavior/adaptation of non-target biological models exposed to multiple pollution,J.Bio and Env.Sci,Vol.7(2), pages 207-215

Références bibliographiques

Des sites internet

- <http://www.nanotechnologie-medecine.webnode.fr/Les-nanotechnologie-une-technologie-de-pointe-definition>
- <http://www.nanosmile.org/index.php/fr/1/environnement/devenir-des-particules/Les-eaux-de-surface/169-Les-nanotechnologies-au-service-du-traitement-de-l'eau-«Loi»>
- <http://www.clicours.com>. Etude sur les nanoparticules-Apprendre en ligne
- <http://www.nihonseiko.co.jp>
- <http://www.pubchem.ncbi.nlm.nih.gov.com>
- www.rastignac.eklablog.com
- <http://now.tufts.edu/articles/big-road-bleus-pollution-highways-Levin.D,2012>
- <http://cmi-ipa-univ-avignon.fr/2018/01/09/Les-nanoparticules>
- <http://www.Electron-Dot.Structure&Resonance>
- www.ledictionnairevuel.com
- Magazine.Hortus-focus.fr/blog/2020/04/21/un-escargots-avec-sa-maison-sur-son-dos
- <http://www.nanosmile.org/index.php/fr/sante/devenir-des-nano-particules/toxicocinetique-«Loi»>
- www.wikiwand.com/Fr/SbCl3 -