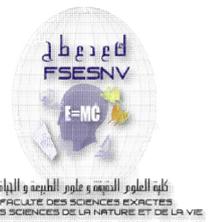




République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université de Larbi Tébessi –Tébessa-

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

Département : de Biologie Appliquée

N° :

MEMOIRE DE MASTER

REF/BIBLIO :

Domaine : Science de la nature et de la vie

Filière: Sciences biologiques

Option: pharmaco- toxicologie

## Thème:

*L'Embryotoxicité induite par deux molécules nanométriques chez Helix aspersa (l'oxyde de fer et l'oxyde de silice).*

Présenté par:

**ABDELMALEK Saida**

**ABDESSELAM Bouthaina**

**Devant le jury:**

HAMEL Mahdia	M.A.A	Université de TEBESSA	Président
ROUACHDIA Roukaia	M.A.A	Université de TEBESSA	Examinatrice
BENAMMARA AMEL	M.A.A	Université de TEBESSA	Rapporteur

**Date de soutenance: 26/05/2018**

**Note :**

**Mention :**



Université Larbi Tébessi - Tébessa



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Larbi Tébessi - Tébessa  
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie



**Déclaration sur l'honneur de non-plagiat**  
(à joindre obligatoirement au mémoire, remplie et signée)

Je soussigné(e),

Nom, Prénom : **ABDELMALEK Saïda**

Régulièrement inscrit(e) en Master au département : **Biologie Appliquée**

N° de carte d'étudiant : **2012/4019627**

Année universitaire : **2017/2018**

Domaine : **Science de la nature et de la vie**

Filière : **sciences biologiques**

Spécialité : **pharmaco-toxicologie**

Intitulé du mémoire : **L'embryotoxicité induite par deux molécules**

**nanométriques chez Helicoverpa (l'oxyde de fer et l'oxyde**

**de zinc)**

Atteste que mon mémoire est un travail original et que toutes les sources utilisées ont été indiquées dans leur totalité. Je certifie également que je n'ai ni recopié ni utilisé des idées ou des formulations tirées d'un ouvrage, article ou mémoire, en version imprimée ou électronique, sans mentionner précisément leur origine et que les citations intégrales sont signalées entre guillemets.

**Sanctions en cas de plagiat prouvé :**

L'étudiant sera convoqué devant le conseil de discipline, les sanctions prévues selon la gravité du plagiat sont :

- L'annulation du mémoire avec possibilité de le refaire sur un sujet différent ;
- L'exclusion d'une année du master ;
- L'exclusion définitive.



21 ماي 2018

Fait à Tébessa, le :


ي ت و 391168  
ص 0917-0009  
دارة العلة



Signature de l'étudiant(e) :

*(Handwritten signature)*

من رئيس المجلس الشعبي البلدي  
و بتفويض منه  
السيد : سعيدان عمارة  
مدير الإدارة الإقليمية





Université Larbi Tébessi - Tébessa



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Larbi Tébessi - Tébessa  
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie



**Déclaration sur l'honneur de non-plagiat**  
(à joindre obligatoirement au mémoire, remplie et signée)

Je soussigné(e),

Nom, Prénom : *Abdesselam Beuthaina*

Régulièrement inscrit(e) en Master au département : *Biologie appliquée*

N° de carte d'étudiant : *4021847/2017*

Année universitaire : *2018/2017*

Domaine : *Science de la nature et de la vie*

Filière : *Science Biologique*

Spécialité : *pharmaco Toxicologie*

Intitulé du mémoire : *L'embryotoxicité induite par deux molécules nanométriques chez Helicoverpa (l'oxyde de Fer et l'oxyde de zince).*

Atteste que mon mémoire est un travail original et que toutes les sources utilisées ont été indiquées dans leur totalité. Je certifie également que je n'ai ni recopié ni utilisé des idées ou des formulations tirées d'un ouvrage, article ou mémoire, en version imprimée ou électronique, sans mentionner précisément leur origine et que les citations intégrales sont signalées entre guillemets.

**Sanctions en cas de plagiat prouvé :**

L'étudiant sera convoqué devant le conseil de discipline, les sanctions prévues selon la gravité du plagiat sont :

- L'annulation du mémoire avec possibilité de le refaire sur un sujet différent ;
- L'exclusion d'une année du master ;
- L'exclusion définitive.

Fait à Tébessa, le : *22/05/2018*

Signature de l'étudiant(e) :

*فاتي ربيع الميسري*  
*و متفوض عنها*  
*فاتي فاطمة*

نظراً لتوقيع التوقيع  
22/05/2018

### Résumé

Dans le but d'étudier les effets toxiques de deux molécules nanométriques à base d'oxyde de fer ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ), de dioxyde de silice ( $\text{SiO}_2$ ) et de leurs mixture ( $\text{Fe}_2\text{O}_3+\text{SiO}_2$ ) sur des organismes bio accumulateurs et bio indicateurs de pollution de l'environnement terrestre l'escargot *Helix aspersa*, pendant une phase complète de leur cycle de vie c'est la phase embryonnaire, nous avons effectué un travail de recherche au sein du laboratoire de toxicologie par le suivie de développement des œufs des témoins et des traités avec des concentrations croissantes de ces deux molécules nanométriques et leurs mixture (0.5mg/ml, 1mg/ml, 5mg/ml, 10mg/ml, 15mg/ml) dès le premier jour de la ponte jusqu'à l'éclosion. Dans ce cadre nos observations sont basées sur la forme des œufs, la couleur de la coquille et les retards d'éclosion.

Les résultats obtenus mettent en évidence une sensibilité de la phase embryonnaire vis-à-vis les nanoparticules d'oxydes métalliques ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ,  $\text{SiO}_2$  et leurs mixture), cette sensibilité se manifeste d'un côté chez les traités avec les différentes concentrations des molécules nanométriques par des déformations de la membrane de l'œuf et une accumulation des molécules à l'arrière de la coquille et d'un autre coté par un retard d'éclosion observé chez les œufs traités avec les concentrations les plus élevé des nanoparticules de  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  et  $\text{SiO}_2$ , mais chez les œufs traités avec les différentes concentrations de la mixture est bien marqué.

**Mots clés :** Nanoparticules, Oxyde de fer, Dioxyde de silice, *Helix Aspersa*, Bioaccumulation, embryotoxicité, éclosion.

## **Abstract**

With the aim of studying the toxic effects of two nanometric molecules based on iron oxide ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ), silica dioxide ( $\text{SiO}_2$ ) and their mixture ( $\text{Fe}_2\text{O}_3 + \text{SiO}_2$ ) on bio accumulators and bioindicators of pollution terrestrial environment snail *Helix aspersa*, during a complete phase of their life cycle it is the embryonic phase, we carried out a research work in the laboratory of toxicology by the follow-up development of the eggs of the witnesses and treated with increasing concentrations of these two nanoscale molecules and their mixture (0.5mg / ml, 1mg / ml, 5mg / ml, 10mg / ml, 150mg / ml) from the first day of egg-laying to hatching. In this frame our observations are based on the shape of the eggs, the color of the shell and the delays of hatching.

The results show a sensitivity of the embryonic phase vis-à-vis the nanoparticles of metal oxides ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ,  $\text{SiO}_2$  and their mixture), this sensitivity is manifested on the one hand in the treated with the different concentrations of the nanometric molecules by deformations of the egg membrane and accumulation of molecules at the back of the shell and, on the other hand, by a delayed hatching observed in eggs treated with the highest concentrations of  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  and  $\text{SiO}_2$  nanoparticles , but in eggs treated with different concentrations of the mixture is well marked.

**Key words:** Nanoparticles, Iron Oxide, Silicon Dioxide, *Helix Aspersa*, Bioaccumulation, Embryotoxicity, Outbreak.

## ملخص

بهدف دراسة التأثيرات السامة لجزيئين نانومتريين لأكسيد الحديد ( $Fe_2O_3$ ) ، وثاني أكسيد السليكون ( $SiO_2$ ) وخليطها ( $Fe_2O_3 + SiO_2$ ) على المتراكبات البيولوجية ومؤشرات حيوية لتلوث البيئة البرية الحلزون *Helix Aspersa*، خلال مرحلة كاملة من دورة حياتها هي المرحلة الجنينية ، أجرينا بحثًا في مختبر علم السموم من خلال متابعة تطور بيض الشهود ومعالجين بتركيزات متزايدة من هذين الجزيئين النانويين وخليطهما (0.5 ملغ / مل ، 1 ملغ / مل ، 5 ملغ / مل ، 10 ملغ / مل ، 150 ملغ / مل) من اليوم الأول من وضع البيض إلى الفقس. في هذا الإطار ، تستند ملاحظتنا على شكل البيض ، لون القشرة وتأخير الفقس.

أظهرت النتائج حساسية المرحلة الجنينية في مقابل الجسيمات النانوية من أكاسيد المعادن ( $SiO_2$  ،  $Fe_2O_3$  وخليطها) ، وتتجلى هذه الحساسية من جهة عند المعالين بتركيزات مختلفة من جزيئات نانوية من خلال تشوهات غشاء البيض وتراكم الجزيئات في الجزء الخلفي من القشرة ، ومن ناحية أخرى ، عن طريق تأخر الفقس الذي لوحظ في البيض المعالج بأعلى تركيزات جزيئات  $SiO_2$  و  $Fe_2O_3$  ، لكن في البيض المعالج بتركيزات مختلفة من المزيج تظهر جيدا .

**الكلمات المفتاحية:** الجزيئات النانوية ، أكسيد الحديد ، ثاني أكسيد السليكون ، *Helix Aspersa* ، التراكم الحيوي ، الأجنة ، الفقس.

## *Remerciement*

*Nous exprimons nos remerciements et notre profonde gratitude :*

*Avant tout à dieux » الله « le tout puissant qui nous a donné le courage et la force pour ; mener ce travail jusqu'au bout.*

*Nous tenons, en premier lieu, à remercier chaleureusement l'enseignante : **Mlle BENAMARA Amel***

*Maitre de assistant à l'université de Tébessa, pour nous avoir proposé ce sujet de recherche, pour sa compréhension, son aide et ces conseils, présence, pour sa patience, le suivi et l'orientation et le plus important pour sa confiance, ...*

*Nos remercions vont également aux membres du jury*

*Un très grand merci à **Mme HAMEL Mahdia**, maitre-assistant à l'université de Tébessa, pour de présider le jury,*

*Et à remercier chaleureusement pour son aide et ces conseils et sa compréhension, ...*

*Nous tenons, merci à **Mme ROUACHDIA Roukaia**, maitre- assistant à l'université de Tébessa d'avoir accepté d'examiner ce mémoire et de faire partie du Jury de cette soutenance*

*Nous remercions tous les enseignants du département de biologie qui ont contribué à notre formation pendant les 05 années d'études passées.*

*Ainsi tous les travailleurs au niveau de la bibliothèque enfin nous tenons à remercier très sincèrement tous ceux qui nous ont donnés leur soutien et courage, de proche ou de loin.*





***Dédicace***

*Je dédie ce mémoire à...  
à mon père et ma mère qui donné  
toujours le courage, les conseils,...,  
pour continuer à l'avant,  
et qui ont été toujours présents  
à mes cotés.*

*Je dédie ce travail*

*A mes très soeurs, et frères*

*A mon binôme ABDESSELAM Bouthaina*

*Je dédie aussi tous mes amies.*

*SAIDA*



***Dédicace***

*Je dédie ce mémoire à...  
a mon père et ma mère qui donné  
toujours le courage, les conseils,...,  
pour continuer à l'avant,  
et qui ont été toujours présents  
à mes cotés.*

*Je dédie ce travail*

*A mes très soeurs, et frères  
A mon binôme ABDELMALEK Saida  
Je dédie aussi tous mes amies.*

**BOUTHAINA**

## **Table de matière**

**Résumé**

**Abstract**

**ملخص**

**Remerciement**

**Dédicace**

**Table de matière**

**Liste des tableaux**

**Liste des figures**

**Liste des abréviations**

**Introduction**

### **Chapitre I : Synthèse Bibliographique**

*Page*

<b>1. Définitions</b> .....	p 02
1.1. Nanosciences.....	p 02
1.2. Nanotechnologie.....	p 02
1.3. Nanoparticule.....	p 02
<b>2. Sources des nanoparticules</b> .....	p 03
2.1. Source naturelle.....	p 03
2.2. Source anthropique.....	p 03
2.3. Source anthropogénique.....	p 03
<b>3. Procédés d'élaboration des nanomatériaux</b> .....	p 03
3.1. La voie ascendante.....	p 03

3.2. La voie descendante .....	p 03
<b>4. Types des nanoparticules</b> .....	p 04
4.1. Nanoparticules organiques .....	p 04
4.1.1. Les polymères organiques.....	p 04
4.1.2. Nanoparticules d'inspiration biologique.....	p 05
4.2. Nanoparticules inorganiques.....	p 05
2.2.1. Les points quantiques.....	p 05
4.2.2. Les métaux.....	p 05
2.2.3. Les oxydes métalliques.....	p 06
<b>5. Domaines d'utilisation des nanoparticules</b> .....	p 06
5.1. Dans les cosmétiques.....	p 07
5.2. Dans l'alimentation.....	p 07
5.3. Dans les vêtements.....	p 07
5.4. Dans le domaine médical.....	p 08
5.5. Dans le domaine environnemental.....	p 08
5.6. Dans d'autres domaines d'applications.....	p 08
<b>6. Les Effets des nanoparticules</b> .....	p 09
6.1. Effets sur l'Homme.....	p 09
6.1.1. Voies d'entrée dans l'organisme.....	p 09
6.1.2. Effets sur la santé humaine.....	p 10
6.1.2.1. Effet direct des nanoparticules.....	p 10
6.1.2.2. Effet indirect des nanoparticules.....	p 10
6.2. Effets sur l'environnement.....	p 11
<b>7. Les Nanoparticules d'oxydes métalliques</b> .....	p 11
7.1. Les Nanoparticule d'oxyde de fer.....	p 12
7.1.1. Généralités.....	p 12
7.1.2. Les Propriétés.....	p 12
7.1.2.1. Propriétés physico-chimiques.....	p 12
7.1.2.2. Propriétés structurales.....	p 12
7.1.3. Domaine d'utilisation.....	p 13
7.1.3.1. Applications biomédicales.....	p 13
7.1.3.2. Applications catalytiques.....	p 14
7.1.3.3. Applications décoratives et cosmétiques.....	p 14
7.1.3.4. Applications environnementales.....	p 14
7.1.4. Les effets toxiques.....	p 15

7.2 Les nanoparticules de silice.....	p 15
7.2.1. Généralité.....	p 15
7.2.2. Les domaines d'utilisation.....	p 16
7.2.2.1. Application médicale.....	p 16
7.2.2.2. Application alimentaire.....	p 16
7.2.2.3. Autre application.....	p 16
7.2.3. Les effets toxiques.....	p 16

## **CHAPITRE II : Matériel & Méthodes**

<b>1..Matériel.....</b>	<b>p 18</b>
1.1. Matériel biologique.....	p 18
1.1.1. Intérêts de l'utilisation de l'escargot en écotoxicologie.....	p 18
1.1.2. Ecologie de l'escargot.....	p 18
1.1.3. Régime alimentaire.....	p 18
1.1.4. Morphologie d' <i>Helix aspersa</i> .....	p 19
1.1.5. Anatomie de l'escargot.....	p 19
1.1.6. Rythme d'activité.....	p 20
1.1.7. Estivation et hibernation.....	p 20
1.1.8. Croissance.....	p 21
1.1.9. Longévité.....	p 21
1.1.10. Reproduction et ponte.....	p 21
1.1.11. Développement embryonnaire.....	p 22
1.2 Matériel chimique.....	p 23
<b>2. Méthodes.....</b>	<b>p 23</b>
2.1. Condition d'élevage.....	p 23
2.2. Mode de traitement.....	p 24
2.3. Mode d'incubation des œufs de la ponte avant éclosion.....	p 25

**CHAPITRE III : Résultats & discussion**

**1. Résultats**

1.1. Effet des nanoparticules de Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> Pendant la phase embryonnaire .....p 29  
1.2. Effets des nanoparticules de SiO<sub>2</sub> Pendant la phase embryonnaire.....p 34  
1.3. Effets des nanoparticules de mixture Pendant la phase embryonnaire.....p 39  
**2. discussion**.....p 44

*Conclusion*

*Références bibliographiques*

## Liste des tableaux

<b>N° de Tableau</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>01</b>	Propriétés physico-chimiques des oxydes de fer	<b>12</b>
<b>02</b>	Répartition des groupes selon les lots et le type de traitement	<b>24</b>

## Liste des figures

N° de Figure	Titre	Page
01	Gamme de tailles des nanoparticules comparées à celles des principales structures Chimiques et Biologiques.	02
02	Approche ascendante et approche descendante.	03
03	Représentation schématique et visuelle d'un point quantique.	05
04	Quelques applications des nanoparticules.	06
05	Différentes voies d'entrée des nanoparticules dans l'organisme.	09
06	Principaux effets des nanoparticules sur la santé humaine décrivent dans la littérature.	10
07	Structure cristalline de l'hématite.	12
08	Schéma illustrant la fonctionnalisation des nano-oxydes de fer et leur reconnaissance par des cellules cibles.	13
09	Différentes utilisations des nanoparticules manufacturées dans les applications environnementales	14
10	Les différentes interactions d'oxyde de fer.	15
11	Le petit gris ( <i>Helix aspersa</i> ).	19
12	Anatomie de l'escargot.	20
13	l'accouplement des escargots.	22
14	Les œufs d' <i>Helix aspersa</i> dans le sol.	22
15	Les nanoparticules d'oxyde de fer en poudre.	22
16	Les nanoparticules dioxyde de silice en poudre.	22
17	L'élevage des escargots.	23

18	Escargot <i>Helix aspersa</i> en cours de ponte.	23
19	Lot témoin.	25
20	Lot traité par C1 des NPs de Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> .	25
21	Lot traité par C2 des NPs de Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> .	25
22	Lot traité par C3 des NPs de Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> .	25
23	Lot traité par C4 des NPs de Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> .	25
24	Lot traité par C5 des NPs de Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> .	25
25	Lot témoin.	26
26	Lot traité par C1 des NPs de SiO <sub>2</sub> .	26
27	Lot traité par C2 des NPs de SiO <sub>2</sub> .	26
28	Lot traité par C3 des NPs de SiO <sub>2</sub> .	26
29	Lot traité par C4 des NPs de SiO <sub>2</sub> .	26
30	Lot traité par C5 des NPs SiO <sub>2</sub>	26
31	Lot témoin.	27
32	Lot traité par C1 des NPs de mixture	27
33	Lot traité par C2 des NPs de mixture	27
34	Lot traité par C3 des NPs de mixture	27
35	Lot traité par C4 des NPs de mixture	27
36	Lot traité par C5 des NPs de mixture	27
37	Œuf témoin observé au 5 <sup>ème</sup> jour.	29
38	Œuf du lot traité par C1 des NPs de Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> observé au 5 <sup>ème</sup> jour	29
39	Œuf du lot traité par C2 des NPs de Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> observé au 5 <sup>ème</sup> jour.	29
40	Œuf du lot traité par C3 des NPs de Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> observé au 5 <sup>ème</sup> jour.	29
41	Œuf du lot traité par C4 des NPs de Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> observé au 5 <sup>ème</sup> jour	29
42	Œuf du lot traité par C5 des NPs de Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> observé au 5 <sup>ème</sup> jour	29
43	Œuf témoin observé au 10 <sup>ème</sup> jour.	30

44	. Œuf du lot traité par C1 des NPs de $\text{Fe}_2\text{O}_3$ observé au 10 <sup>ème</sup> jour	30
45	. Œuf du lot traité par C2 des NPs de $\text{Fe}_2\text{O}_3$ observé au 10 <sup>ème</sup> jour	30
46	. Œuf du lot traité par C3 des NPs de $\text{Fe}_2\text{O}_3$ observé au 10 <sup>ème</sup> jour	30
47	. Œuf du lot traité par C4 des NPs de $\text{Fe}_2\text{O}_3$ observé au 10 <sup>ème</sup> jour	30
48	. Œuf du lot traité par C5 des NPs de $\text{Fe}_2\text{O}_3$ observé au 10 <sup>ème</sup> jour	30
49	Œuf témoin observé au 14 <sup>ème</sup> jour.	31
50	Œuf du lot traité par C1 des NPs de $\text{Fe}_2\text{O}_3$ observé au 14 <sup>ème</sup> jour	31
51	Œuf du lot traité par C2 des NPs de $\text{Fe}_2\text{O}_3$ observé au 14 <sup>ème</sup> jour	31
52	Œuf du lot traité par C3 des NPs de $\text{Fe}_2\text{O}_3$ observé au 14 <sup>ème</sup> jour	31
53	Œuf du lot traité par C4 des NPs de $\text{Fe}_2\text{O}_3$ observé au 14 <sup>ème</sup> jour	31
54	Œuf du lot traité par C5 des NPs de $\text{Fe}_2\text{O}_3$ observé au 14 <sup>ème</sup> jour	31
55	Œuf témoin observé au 20 <sup>ème</sup> jour.	32
56	Œuf du lot traité par C1 des NPs de $\text{Fe}_2\text{O}_3$ observé au 20 <sup>ème</sup> jour	32
57	Œuf du lot traité par C2 des NPs de $\text{Fe}_2\text{O}_3$ observé au 20 <sup>ème</sup> jour	32
58	Œuf du lot traité par C3 des NPs de $\text{Fe}_2\text{O}_3$ observé au 20 <sup>ème</sup> jour	32
59	Œuf du lot traité par C4 des NPs de $\text{Fe}_2\text{O}_3$ observé au 20 <sup>ème</sup> jour	32
60	Œuf du lot traité par C5 des NPs de $\text{Fe}_2\text{O}_3$ observé au 20 <sup>ème</sup> jour	32
61	Œuf témoin observé au 22 <sup>ème</sup> jour.	33
62	Œuf du lot traité par C1 des NPs de $\text{Fe}_2\text{O}_3$ observé au 22 <sup>ème</sup> jour	33
63	Œuf du lot traité par C2 des NPs de $\text{Fe}_2\text{O}_3$ observé au 22 <sup>ème</sup> jour	33
64	Œuf du lot traité par C3 des NPs de $\text{Fe}_2\text{O}_3$ observé au 22 <sup>ème</sup> jour	33
65	Œuf du lot traité par C4 des NPs de $\text{Fe}_2\text{O}_3$ observé au 22 <sup>ème</sup> jour	33
66	Œuf du lot traité par C5 des NPs de $\text{Fe}_2\text{O}_3$ observé au 22 <sup>ème</sup> jour	33
67	Œuf témoin observé au 5 <sup>ème</sup> jour.	34
68	Œuf du lot traité par C1 des NPs de $\text{SiO}_2$ observé au 5 <sup>ème</sup> jour	34
69	Œuf du lot traité par C2 des NPs de $\text{SiO}_2$ observé au 5 <sup>ème</sup> jour	34
70	Œuf du lot traité par C3 des NPs de $\text{SiO}_2$ observé au 5 <sup>ème</sup> jour	34

71	Œuf du lot traité par C4 des NPs de SiO <sub>2</sub> observé au 5 <sup>ème</sup> jour	34
72	Œuf du lot traité par C5 des NPs de SiO <sub>2</sub> observé au 5 <sup>ème</sup> jour	34
73	Œuf témoin observé au 10 <sup>ème</sup> jour.	35
74	Œuf du lot traité par C1 des NPs de SiO <sub>2</sub> observé au 10 <sup>ème</sup> jour	35
75	Œuf du lot traité par C2 des NPs de SiO <sub>2</sub> observé au 10 <sup>ème</sup> jour	35
76	Œuf du lot traité par C3 des NPs de SiO <sub>2</sub> observé au 10 <sup>ème</sup> jour	35
77	Œuf du lot traité par C4 des NPs de SiO <sub>2</sub> observé au 10 <sup>ème</sup> jour	35
78	Œuf du lot traité par C5 des NPs de SiO <sub>2</sub> observé au 10 <sup>ème</sup> jour	35
79	Œuf témoin observé au 14 <sup>ème</sup> jour.	36
80	Œuf du lot traité par C1 des NPs de SiO <sub>2</sub> observé au 14 <sup>ème</sup> jour	36
81	Œuf du lot traité par C2 des NPs de SiO <sub>2</sub> observé au 14 <sup>ème</sup> jour	36
82	Œuf du lot traité par C3 des NPs de SiO <sub>2</sub> observé au 14 <sup>ème</sup> jour	36
83	Œuf du lot traité par C4 des NPs de SiO <sub>2</sub> observé au 14 <sup>ème</sup> jour	36
84	Œuf du lot traité par C5 des NPs de SiO <sub>2</sub> observé au 14 <sup>ème</sup> jour	36
85	Œuf témoin observé au 20 <sup>ème</sup> jour	37
86	Œuf du lot traité par C1 des NPs de SiO <sub>2</sub> observé au 20 <sup>ème</sup> jour	37
87	Œuf du lot traité par C2 des NPs de SiO <sub>2</sub> observé au 20 <sup>ème</sup> jour	37
88	Œuf du lot traité par C3 des NPs de SiO <sub>2</sub> observé au 20 <sup>ème</sup> jour	37
89	Œuf du lot traité par C4 des NPs de SiO <sub>2</sub> observé au 20 <sup>ème</sup> jour	37
90	Œuf du lot traité par C5 des NPs de SiO <sub>2</sub> observé au 20 <sup>ème</sup> jour	37
91	Œuf témoin observé au 22 <sup>ème</sup> jour	38
92	Œuf du lot traité par C1 des NPs de SiO <sub>2</sub> observé au 22 <sup>ème</sup> jour	38
93	Œuf du lot traité par C2 des NPs de SiO <sub>2</sub> observé au 22 <sup>ème</sup> jour	38
94	Œuf du lot traité par C3 des NPs de SiO <sub>2</sub> observé au 22 <sup>ème</sup> jour	38
95	Œuf du lot traité par C4 des NPs de SiO <sub>2</sub> observé au 22 <sup>ème</sup> jour	38
96	Œuf du lot traité par C5 des NPs de SiO <sub>2</sub> observé au 22 <sup>ème</sup> jour	38
97	Œuf témoin observé au 5 <sup>ème</sup> jour	39

<b>98</b>	Œuf du lot traité par C1 des NPs de mixture observé au 5 <sup>ème</sup> jour	<b>39</b>
<b>99</b>	Œuf du lot traité par C2 des NPs de mixture observé au 5 <sup>ème</sup> jour	<b>39</b>
<b>100</b>	Œuf du lot traité par C3 des NPs de mixture observé au 5 <sup>ème</sup> jour	<b>39</b>
<b>101</b>	Œuf du lot traité par C4 des NPs de mixture observé au 5 <sup>ème</sup> jour	<b>39</b>
<b>102</b>	Œuf du lot traité par C5 des NPs de mixture observé au 5 <sup>ème</sup> jour	<b>39</b>
<b>103</b>	Œuf témoin observé au 10 <sup>ème</sup> jour	<b>40</b>
<b>104</b>	Œuf du lot traité par C1 des NPs de mixture observé au 10 <sup>ème</sup> jour	<b>40</b>
<b>105</b>	Œuf du lot traité par C2 des NPs de mixture observé au 10 <sup>ème</sup> jour	<b>40</b>
<b>106</b>	Œuf du lot traité par C3 des NPs de mixture observé au 10 <sup>ème</sup> jour	<b>40</b>
<b>107</b>	Œuf du lot traité par C4 des NPs de mixture observé au 10 <sup>ème</sup> jour	<b>40</b>
<b>108</b>	Œuf du lot traité par C5 des NPs de mixture observé au 10 <sup>ème</sup> jour	<b>40</b>
<b>109</b>	Œuf témoin observé au 14 <sup>ème</sup> jour	<b>41</b>
<b>110</b>	Œuf du lot traité par C1 des NPs de mixture observé au 14 <sup>ème</sup> jour	<b>41</b>
<b>111</b>	Œuf du lot traité par C2 des NPs de mixture observé au 14 <sup>ème</sup> jour	<b>41</b>
<b>112</b>	Œuf du lot traité par C3 des NPs de mixture observé au 14 <sup>ème</sup> jour	<b>41</b>
<b>113</b>	Œuf du lot traité par C4 des NPs de mixture observé au 14 <sup>ème</sup> jour	<b>41</b>
<b>114</b>	Œuf du lot traité par C5 des NPs de mixture observé au 14 <sup>ème</sup> jour	<b>41</b>
<b>115</b>	Œuf témoin observé au 20 <sup>ème</sup> jour	<b>42</b>
<b>116</b>	Œuf du lot traité par C1 des NPs de mixture observé au 20 <sup>ème</sup> jour	<b>42</b>
<b>117</b>	Œuf du lot traité par C2 des NPs de mixture observé au 20 <sup>ème</sup> jour	<b>42</b>
<b>118</b>	Œuf du lot traité par C3 des NPs de mixture observé au 20 <sup>ème</sup> jour	<b>42</b>
<b>119</b>	Œuf du lot traité par C4 des NPs de mixture observé au 20 <sup>ème</sup> jour	<b>42</b>
<b>120</b>	Œuf du lot traité par C5 des NPs de mixture observé au 20 <sup>ème</sup> jour	<b>42</b>
<b>121</b>	Œuf témoin observé au 22 <sup>ème</sup> jour	<b>43</b>
<b>122</b>	Œuf du lot traité par C1 des NPs de mixture observé au 22 <sup>ème</sup> jour	<b>43</b>
<b>123</b>	Œuf du lot traité par C2 des NPs de mixture observé au 22 <sup>ème</sup> jour	<b>43</b>
<b>124</b>	Œuf du lot traité par C3 des NPs de mixture observé au 22 <sup>ème</sup> jour	<b>43</b>

## *Liste des figures*

---

<b>125</b>	Œuf du lot traité par C4 des NPs de mixture observé au 22 <sup>ème</sup> jour	<b>43</b>
<b>126</b>	Œuf du lot traité par C5 des NPs de mixture observé au 22 <sup>ème</sup> jour	<b>43</b>

**Liste des abréviations**

<b>%</b>	Pourcentage
<b>°C</b>	Degré <i>Celsius</i>
<b>Å</b>	Ångström
<b>ADN</b>	Acide Désoxy Ribonucléique
<b>Ag</b>	Argent
<b>C</b>	Concentration
<b>Cd</b>	Cadmium
<b>cm</b>	centimètre
<b>CO</b>	Monoxyde de carbone
<b>DVD</b>	Digital Versatile Disc
<b>ED</b>	Eau Distillée
<b>ETM</b>	Elément Trace Métallique
<b>Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub></b>	Oxyde de fer
<b>Fe<sup>3+</sup></b>	Fer ferrique
<b>g</b>	gramme
<b>H</b>	<i>Helix</i>
<b>h</b>	heure
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Peroxyde d'hydrogène
<b>kg</b>	kilogramme
<b>L</b>	Litre
<b>m</b>	mètre
<b>mg</b>	milli-gramme.
<b>ml</b>	milli-litre
<b>nm</b>	Nanomètre
<b>NPs</b>	Nanoparticules

## *Liste des abréviations*

<b>O<sub>2</sub></b>	Oxygène moléculaire
<b>O<sub>2</sub><sup>·-</sup></b>	Anion superoxyde
<b>OH<sup>·</sup></b>	Radical hydroxyle
<b>ROS</b>	Espèce Réactive Oxygénées
<b>SiO<sub>2</sub></b>	Dioxyde de silice
<b>TiO<sub>2</sub></b>	Oxyde de titane
<b>Tm</b>	Témoin
<b>UV</b>	Ultra violet
<b>VIH</b>	Human Immuno Deficiency Virus
<b>ZnO</b>	Oxyde de zinc

# *Introduction*

### **Introduction**

Le développement des nanomatériaux et leur emploi à l'échelle industrielle sont en plein essor depuis une dizaine d'années. En effet, les propriétés physico-chimiques de ces matériaux permettent leur utilisation pour des applications variées, allant de la fabrication de produits alimentaires ou cosmétiques, au développement d'outils pour l'électronique ou encore les sciences biomédicales. Parmi ces matériaux, les nanoparticules de métaux et d'oxydes métalliques suscitent de plus en plus d'intérêt (**Sarah, 2013**). De plus, l'utilisation industrielle de nanoparticules entraîne également la production de déchets dont la libération dans l'environnement pourrait s'avérer difficile à contrôler, et dont les conséquences sont pour l'instant mal connues (**Sarah, 2013**). Dans le domaine environnemental, les nanoparticules sont des objets prometteurs capables d'apporter des solutions à un grand nombre de problèmes comme la dépollution des eaux profondes (**Lowry et Johnson, 2004**) et des sols (**Wei-xian et al., 2003**).

En raison de leur introduction potentielle dans le sol, ainsi que le milieu aquatique, l'inclusion d'un ensemble de tests d'écotoxicité dans la caractérisation des risques des NPs est nécessaire. Récemment, plusieurs chercheurs ont mis l'accent sur l'étude de leurs impacts sur les organismes terrestres (**Scott-Fordsmand et al., 2008; Hu et al., 2010; Unrine et al., 2010 a; b; Lapied et al., 2010**) particulièrement les mollusques gastéropodes terrestres sont très souvent utilisés comme organismes révélant la contamination des milieux (**Vaufleury et al., 2013**). Ainsi que la position des escargots dans les réseaux trophiques favorise leur rôle potentiel de vecteur de contaminants biologiques et chimiques et ils sont considérés comme bioaccumulateurs et bioindicateurs de pollution (**Grara et al., 2012**).

L'objectif de ce travail vise à évaluer l'embryotoxicité des nanoparticules d'oxydes métalliques ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ,  $\text{SiO}_2$  et de leurs mixture) chez un bioindicateur de pollution, l'escargot *Helix aspersa* par le suivi de l'aspect des œufs.

*Chapitre I :*  
*Synthèse Bibliographique*

## 1. Définitions

### 1.1. Nanosciences

Les nanosciences étudient les propriétés des objets de taille inférieure à quelques centaines de nanomètres (nm). Elles s'intéressent à l'étude des phénomènes et manipulation de matériaux à l'échelle atomique, moléculaire et macromoléculaire, où les propriétés (physico-chimiques) diffèrent sensiblement de celles qui prévalent à une plus grande échelle (Desforges, 2004).

### 1.2. Nanotechnologie

Les nanotechnologies constituent un champ de recherche et de développement multidisciplinaire qui repose sur la connaissance et la maîtrise de l'infiniment petit. Elles regroupent, plus précisément, l'ensemble des techniques qui permettent de fabriquer, de manipuler et de caractériser la matière à l'échelle nanométrique (Monfort et Lecomte, 2008).

### 1.3. Nanoparticule

Une nanoparticule est un assemblage de quelques centaines à quelques milliers d'atomes, formant un objet de taille nanométrique (1 à 100 nm). Cette définition exclut donc les objets dont la plus petite dimension est comprise entre 100 et 1000 nm. Ces nanoparticules, bien que de taille nanométrique, sont désignées comme submicrométriques. A titre de comparaison avec les structures organiques naturelles, les nanoparticules se situent principalement dans la gamme de taille correspondant aux protéines (Ungeller, 2005).

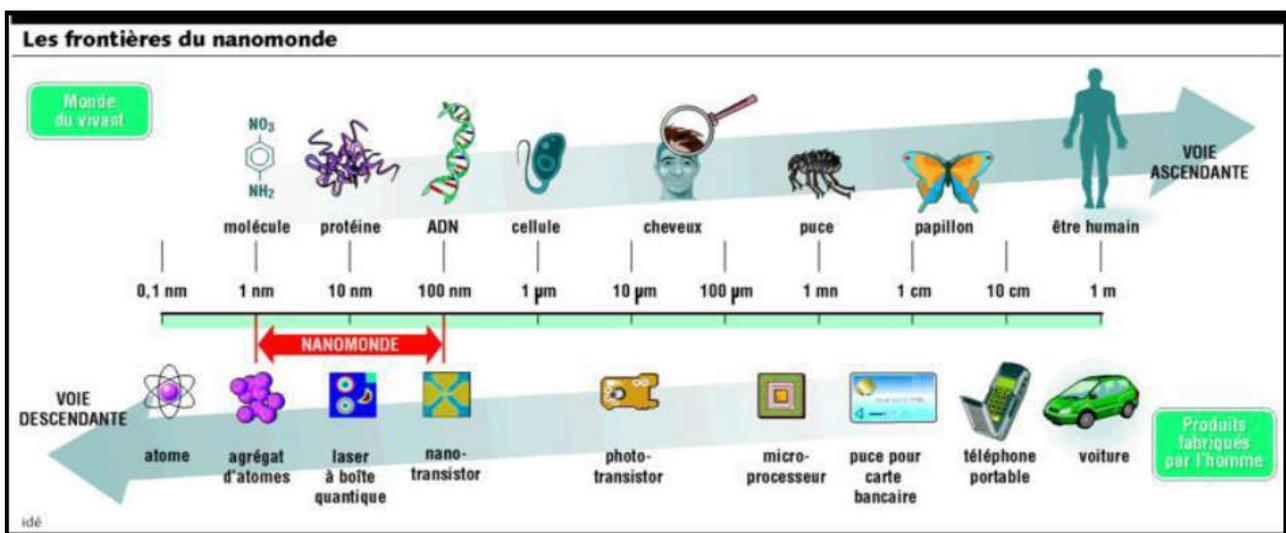


Figure 01: Gamme de tailles des nanoparticules comparées à celles des principales structures chimiques et biologiques (Ungeller, 2005).

### **2. Sources des nanoparticules**

On distingue trois :

#### **2.1. Source naturelle**

Les nanoparticules d'origine naturelle résultant essentiellement de phénomènes de nucléation et de condensation des gaz et de vapeurs dans l'atmosphère (des éruptions volcaniques, des aérosols marins, de l'érosion des sols et des feux de forêts) (**Jankowsda et Lukaszewsda, 2013**).

#### **2.2. Source anthropique**

Les nanoparticules d'origine anthropogénique non-intentionnelle issues des procédés chauds tels que le soudage ou encore de la combustion des moteurs (**Jankowsda et Lukaszewsda, 2013**).

#### **2.3. Source anthropogénique**

Les nanoparticules d'origine anthropogénique intentionnelle ou nanoparticules manufacturées (**Jankowsda et Lukaszewsda, 2013**).

### **3. Procédés d'élaboration des nanomatériaux**

On distingue deux voies de production des nano-objets :

**3.1. La voie ascendante** « bottom-up » permet d'assembler la matière atome par atome, pour construire des molécules (**Ayed, 2007**).

**3.2. La voie descendante** « top-down » consiste à fractionner un matériau classique jusqu'à obtenir la dimension voulue. Ainsi dans le secteur de l'électronique, se sont développés, par miniaturisation, d'abord des composants micrométriques, puis des composants nanométriques (**Ayed, 2007**).

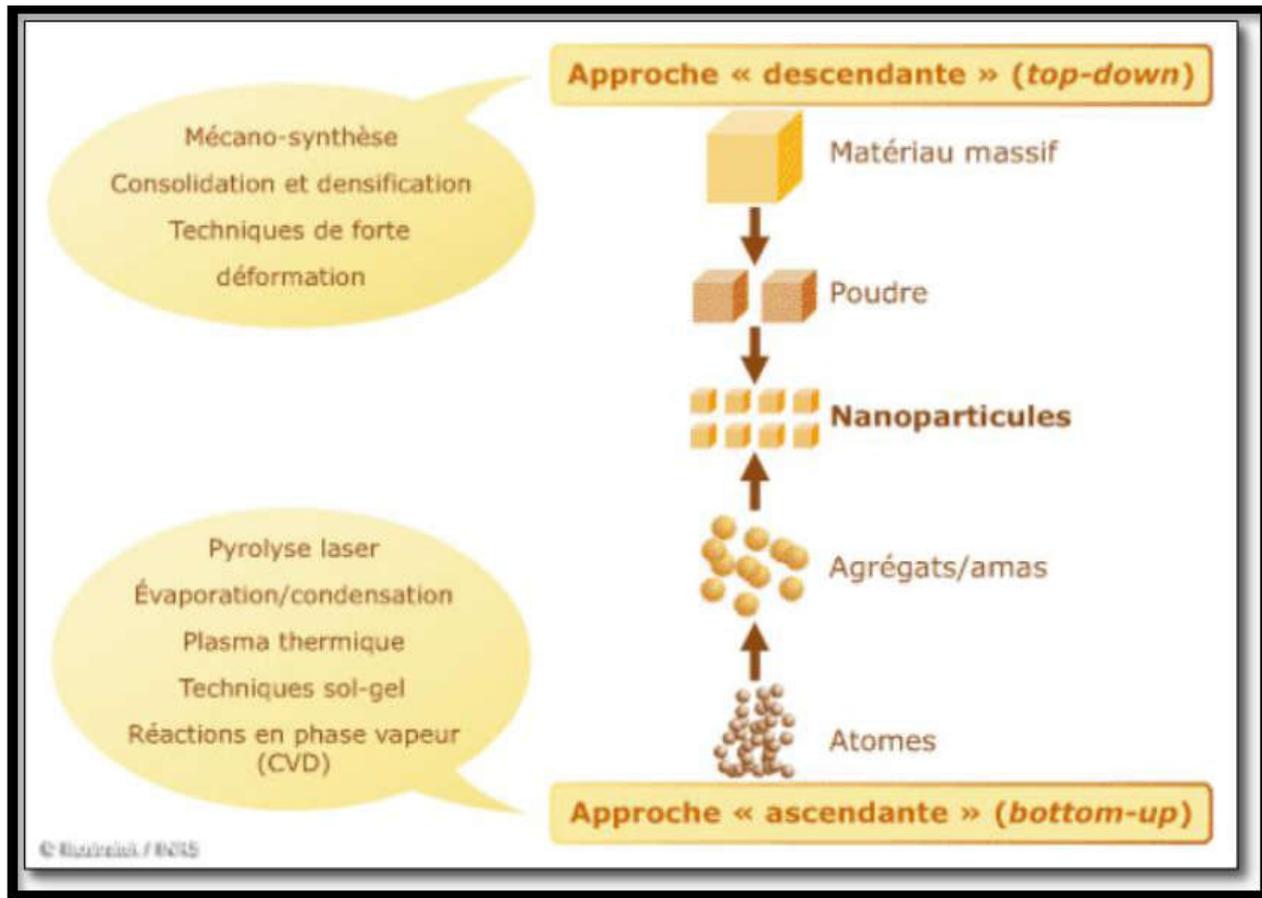


Figure 02: Approche ascendante et approche descendante (Ayed, 2007).

#### 4. Types des nanoparticules

Il existe deux types des nanoparticules :

##### 4.1. Nanoparticules organiques

##### 4.1.1. Les polymères organiques

De nombreux polymères organiques courants peuvent être produits dans des dimensions nanométriques. Le chlorure de polyvinyle ou le latex ainsi produits, par exemple, peuvent être, dans certaines conditions, solubilisés ou modifiés chimiquement. Compte tenu qu'ils peuvent être conçus hydrophiles ou hydrophobes, leur utilisation peut être très diversifiée. Avec différents groupements réactifs de surface, on peut utiliser abondamment dans le domaine médical et biomédical comme moyen d'acheminer les médicaments, dans les thérapies, pour des bio-essais ou encore comme agent de contraste en imagerie (Tomalia, 2004; Icon, 2008). Dans le passé, ils sont utilisés comme encre, comme agent de chélation métallique dans les résines échangeuses d'ions, dans les recouvrements, les cosmétiques ou encore comme modificateur de viscosité ou comme agent de réhabilitation environnementale (Icon, 2008).

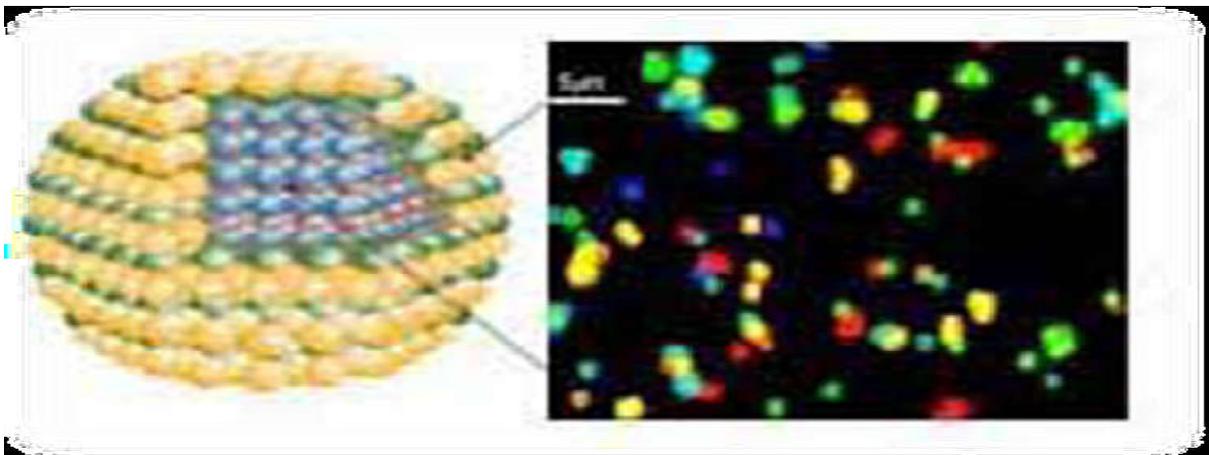
### 4.1.2. Nanoparticules d'inspiration biologique

Les NPs d'inspiration biologique sont très diversifiées mais regroupent normalement des structures dans lesquelles une substance biologique est encapsulée, emprisonnée ou absorbée à la surface. Ces structures, largement étudiées dans le domaine médical et pharmacologique (Icon, 2008; Hansen, 2009).

### 4.2. Nanoparticules inorganiques

#### 4.2.1. Les points quantiques

Les points quantiques sont typiquement composés de combinaisons d'éléments des groupes II et IV ou des groupes III et V du tableau périodique. Ils ont été élaborés sous forme de semi-conducteurs, d'isolants, de métaux, de matériaux magnétiques ou d'oxydes métalliques. Le nombre d'atomes des points quantiques peuvent varier de 1000 à 100 000 atomes (Aitken *et al.*, 2004). La flexibilité des points quantiques et les propriétés optiques associées permettent d'envisager des applications dans des domaines tel le codage optique multi-couleurs dans l'étude d'expression génétique, dans des écrans à haute résolution et à haute vitesse et en imagerie médicale. Plusieurs points quantiques sont modifiés afin d'en produire des vecteurs de médicaments, des outils diagnostics ou des piles solaires non-organiques (Akerman *et al.*, 2002; Michalet *et al.*, 2005).



**Figure 03:** Représentation schématique et visuelle d'un point quantique (Aitken *et al.*, 2004).

#### 4.2.2. Les métaux

La majorité des métaux ont été ou peuvent être produits dans des dimensions nanométriques. Parmi ceux-ci, les NPs d'or sont particulièrement étudiées et démontrent un spectre de résonance optique dans le visible qui est sensible aux conditions environnementales, à la taille et à la forme des NPs. Leurs propriétés uniques permettent d'envisager une série d'applications, notamment comme marqueur optique pour le diagnostic médical ou comme agent de traitement

contre le cancer. L'argent nanométrique est aussi produit en bonne quantité et il est utilisé surtout pour ses propriétés antimicrobiennes (**Icon, 2008; Hansen, 2009**). Le platine, le palladium et le rhodium nanométriques sont utilisés dans les convertisseurs catalytiques. Le fer, le nickel et le cobalt comme catalyseurs notamment pour la synthèse de nanomatériaux carbonés, l'aluminium comme combustible, le fer comme métal dopant et le cuivre en électronique. Des nanofils métalliques d'or, de cuivre, de silicium, de cobalt, capables d'être conducteurs ou semi-conducteurs électriques, ont également été mis au point et pourraient être utilisés pour le transport des électrons en nanoélectronique. Enfin, d'autres nanofils ont été élaborés à base de différents métaux, oxydes, sulfures et nitrures. La composition du cœur des nanoparticules est très variée : il peut s'agir d'assemblages organiques ou inorganiques (**C. Kumar, 2006**).

### **4.2.3. Les oxydes métalliques**

Plusieurs oxydes métalliques de dimensions nanométriques ont été créés mais les plus courants, car produits à grande échelle, sont probablement la silice, l'oxyde de titane et l'oxyde de zinc. Ils sont utilisés tels quels ou enrobés, principalement dans le domaine de la rhéologie, des plastiques et du caoutchouc en tant qu'agents actifs et d'additifs ( $\text{SiO}_2$ ), des crèmes solaires ( $\text{TiO}_2$ ,  $\text{ZnO}$ ) et de pigments pour la peinture ( $\text{TiO}_2$ ). D'autres oxydes métalliques sont également produits dont les oxydes de cérium, de fer, de cuivre, de zirconium, d'aluminium, de nickel, d'antimoine, de baryum, de manganèse de même que des nano-argiles (**Icon, 2008**).

### **5. Domaines d'utilisation des nanoparticules**

Les nanotechnologies trouvent de nombreux domaines d'application, depuis les années 90, les nanoparticules sont utilisées dans très nombreux domaines : électronique, revêtement, textiles, article de sport, cosmétique, pharmaceutiques, agroalimentaire, automobiles, chimie, optique, etc. Aujourd'hui elles sont présentes dans plus d'un millier de produits (**Monfort, 2008**).



Figure 04 : Quelques applications des nanoparticules (Monfort, 2008).

### 5.1. Dans les cosmétiques

Les nanoparticules sont utilisées dans les produits cosmétiques : dans les rouge à lèvres pour améliorer leur tenue, dans les parfums pour intensifier leur arôme, dans les crèmes hydratantes pour qu'elles soient fluides, dans les dentifrices pour les rendre plus épais, etc.

Avant, les industriels de cosmétique utilisaient des microparticules de poudre de silice ou de fer dans les crèmes solaire pour réfléchir les UV. L'inconvénient, c'est que ces crèmes solaire étaient difficiles à étaler et laissaient des traces blanches sur la peau. Pour pallier à ce problème, certaines marques utilisent le dioxyde de fer et l'oxyde de silice sous forme de nanoparticules. Grâce à leur petite taille, ils confèrent la fluidité et la bonne tenue aux crèmes solaires, et ne laissent plus de traces blanches sur la peau (Ostiguy et al., 2008).

### 5.2. Dans l'alimentation

Les nanoparticules sont également présentes dans notre alimentation. Elles peuvent modifier la couleur, l'odeur, le goût, la fluidité, la texture, la conservation, leur traçabilité et leur recyclage. Par exemple, les nanoparticules d'oxyde de silice (E5551) améliorent les émulsions. Elles sont ajoutées dans le sel, les soupes, les laits, le chocolat, les crèmes en poudre. Quant au dioxyde de titane sous forme nano il est utilisée comme agent blanchissant, pour le glaçage, mais aussi pour l'emballage de bonbon afin d'empêcher l'oxygène et l'humidité d'altérer le produit et ainsi accroître sa durée de conservation (Bazzi, 2002).

### 5.3. Dans les vêtements

L'industrie textile recourt parfois aux nanotechnologies pour améliorer ses produits (propriétés thermiques, anti-plis) et leur résistance à l'eau, au feu ou à l'abrasion. C'est le cas de

certains vêtements de sport et de certaines chaussettes dont des nanoparticules métalliques, l'argent notamment, sont intégrées aux fibres afin de donner des propriétés bactéricides au tissu et de lutter contre les mauvaises odeurs (**Deckers, 2008**).

### **5.4. Dans le domaine médical**

Dans ce domaine, les nanotechnologies ont permis de grandes innovations telles que l'élaboration de nouveaux types de prothèses plus résistantes mais aussi biocompatibles. La médecine actuelle fonde donc d'immenses espoirs dans les applications des nanotechnologies, notamment pour le traitement du cancer, en permettant de trouver une alternative à la chimiothérapie, lourde et éprouvante (**Johnston et al., 2009**).

En 2012, des chercheurs britanniques ont mis au point un test à base des nanoparticules d'or qui permet de dépistée à l'œil nu les premières stades d'une maladie ou d'une infection, comme le cancer de la prostate ou le VIH (**Johnston et al., 2009**).

### **5.5. Dans le domaine environnemental**

Dans le domaine environnemental, les nanoparticules manufacturées sont des objets prometteurs capables d'apporter des solutions à un grand nombre de problèmes comme la dépollution des eaux profondes (**Lowry et al., 2004**) et des sols (**Wei-xian et al., 2003**), le traitement des eaux de consommation (**Ngomsik et al., 2005**), le contrôle de la pollution (**Racuciu et al., 2009**) ou encore le recyclage des déchets. Dans ces applications, les nanoparticules sont utilisées en tant que membranes nanostructurées et sous forme de suspensions liquides pour la dépollution des eaux profondes (**Wei-Xian et al., 2003; Lowry et al., 2004**).

### **5.6. Dans d'autres domaines d'applications**

Les nanoparticules sont également utilisées pour booster les performances des lecteurs de DVD, des pneus de voitures, des raquettes des tennis, des machines à laver,... etc. Les industriels pharmaceutiques les exploitent aussi comme vecteurs pour transporter les principes actifs des médicaments vers les cellules cibles (**Vetrone et al., 2009**).

Depuis le 1er janvier 2013, les fabricant sont obligées de déclarer l'identité, les quantités, et les usages des substances à l'état nano-particulaire produites, distribuées ou importées en France. Cela permettra de mieux connaître les substances mises sur le marché (**Vetrone et al., 2009**).

### 6. Les Effets des nanoparticules

#### 6.1. Effets sur l'Homme

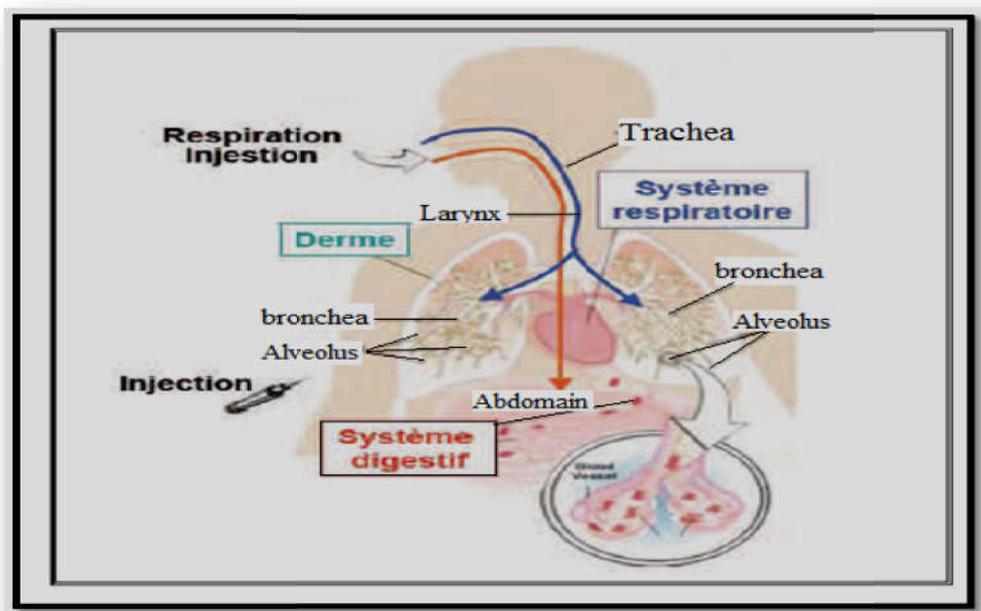
##### 6.1.1. Voies d'entrée dans l'organisme

L'Homme peut entrer en contact avec les nanoparticules de trois façons : en les touchant (voie cutanée), en les ingérant (voie digestive) ou en les respirant (voie respiratoire). Cette dernière est probablement la plus conséquente et donc la plus étudiée (**Hillyer et Albrecht, 2001; Win and Feng, 2005**).

Les nanomatériaux peuvent franchir des barrières cellulaires telles que la peau, c'est le cas de ceux que l'on peut trouver dans les crèmes solaires. Les barrières cellulaires seront plus ou moins faciles à franchir en fonction de l'environnement dans lequel la personne se trouve (taux d'humidité, température, pression, etc.) ainsi que l'état dans lequel se trouve sa peau (**Ostiguy et al., 2006**).

La voie respiratoire est la voie privilégiée en exposition directe, certains nanomatériaux par leurs propriétés physiques (nanotubes de carbone) peuvent, s'ils sont inhalés, pénétrer en profondeur dans les poumons (**Hillyer et Albrecht, 2001**).

La voie indirecte d'exposition aux nanomatériaux est la voie digestive. Il est possible d'être confronté aux nanomatériaux lorsque l'on mange ou l'on boit des aliments contaminés (**Ostiguy et al., 2006**).



**Figure 05** : Différentes voies d'entrée des nanoparticules dans l'organisme (**Ostiguy et al., 2006**).

### 6.1.2. Effets sur la santé humaine

#### 6.1.2.1. Effet direct des nanoparticules

Les recherches restent des études sur des modèles biologiques alternatives et ne représentent pas forcément la réalité des effets sur l'homme. Elles montrent que les nanoparticules peuvent être responsables de pathologies, principalement au niveau des organes directement exposés mais aussi dans tous les autres organes. Cependant, il faut noter que la nature et l'intensité des effets dépendent des caractéristiques des nanoparticules. De plus les études sont la plupart du temps réalisées avec de fortes concentrations en nanoparticules (Ostiguy et al., 2008). Enfin à l'heure actuelle, il manque beaucoup d'informations pour pouvoir établir une liste exhaustive des effets des nanoparticules manufacturées sur la santé humaine en fonction de leur nature et/ou de leurs caractéristiques (Ostiguy et al., 2006).

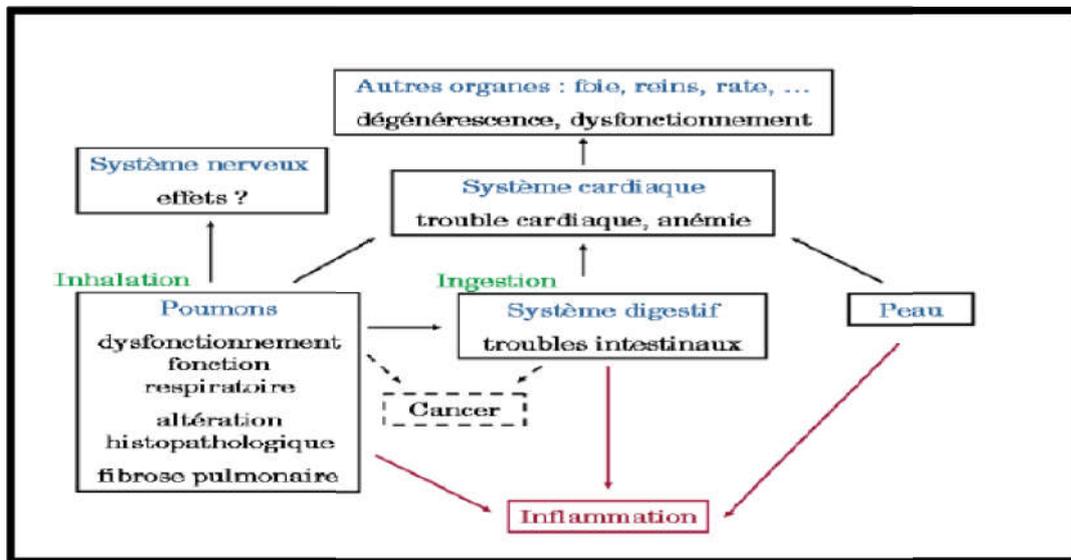


Figure 06 : Principaux effets des nanoparticules sur la santé humaine décrits dans la littérature (Ostiguy et al., 2008).

#### 6.1.2.2. Effet indirect des nanoparticules

##### ➤ Induction du stress oxydant

Les molécules nanométriques peuvent également avoir des effets moléculaires indirects dus à la production importante de formes réactives de l'oxygène (ROS) qui sont potentiellement préjudiciables pour l'intégrité de certains compartiments cellulaires. Le stress oxydant correspond à l'ensemble des effets néfastes liés aux formes réactives de l'oxygène (ROS). Les ROS dérivent de l'oxygène moléculaire ( $O_2$ ) par réduction électronique univalente (radical

superoxyde  $O_2^{\bullet-}$ ), divalente (peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$ ) ou trivalente (radical hydroxyde  $OH^{\bullet}$ ) (Aust et Thomas, 1985).

### 6.2. Effets sur l'environnement

L'intensification des activités humaines, notamment industrielles et agricoles et la consommation croissante de l'énergie fossile ont contribué au cours de ces dernières décennies à la contamination des agro-écosystèmes par les nanoparticules métalliques (Chabicovsky et al., 2014). Ces derniers représentent un groupe hétérogène d'éléments chimiques. Certains d'entre eux, comme le fer et le cuivre, sont considérés comme essentiels pour la nutrition et les activités métaboliques de l'organisme vivant, tandis que d'autres, tels que le silicium, ne sont jusqu'à présent pas reconnus comme remplissant une fonction chez les êtres vivants (Yang et al., 2005; Zhang et al., 2010).

#### ➤ Voies de contamination de l'environnement

Peu d'étude ont été publiées sur la contamination, le devenir et la stabilité des nanoparticules manufacturées dans l'environnement. Récemment une modélisation du devenir des nanoparticules dans l'environnement a été réalisée (Notten et al., 2006).

La contamination des milieux solide et aquatique par les métaux provoque l'accumulation de ces derniers dans les plantes, via un transfert sol-plante et chez les humains et les animaux, à travers la chaîne alimentaire (Khan et al., 2005; Khan et al., 2008). L'accumulation des métaux sous forme nanométrique chez les humains et les animaux induit des mutations au niveau de l'ADN, en donnant naissance à différents types de cancers (Yang et al., 2005), ainsi qu'un retard dans la croissance et une inhibition des métabolismes cellulaires. Par exemple, l'arsenate dissodium (l'analogue chimique du phosphate) inhibe la phosphorylation oxydative alors que le plomb se lie aux groupements prosthétiques et inhibe la formation du complexe de l'hème (Schröder et al., 2009).

Le risque majeur des nanoparticules métalliques est leurs persistances pour une longue durée. Par exemple, la silice est retenue dans le sol de 150 à 5000 ans et garde une concentration élevée pour plus de 150 ans dans le sol après contamination (Yang et al., 2005). L'effet commun de tous les nanoparticules métalliques est la production des espèces réactives d'oxygène (Zhang et al., 2010).

### 7. Les Nanoparticules d'oxydes métalliques

Plusieurs oxydes métalliques de dimensions nanométriques ont été créés mais les plus courants, car produits à grande échelle, sont probablement la silice, l'oxyde de titane et l'oxyde de zinc. Ils sont utilisés tels quels ou enrobés, principalement dans le domaine de la rhéologie, des

plastiques et du caoutchouc en tant qu'agents actifs et d'additifs (SiO<sub>2</sub>), des crèmes solaires (TiO<sub>2</sub>, ZnO) et de pigments pour la peinture (TiO<sub>2</sub>).

D'autres oxydes métalliques sont également produits dont les oxydes de cérium, de fer, de cuivre, de zirconium, d'aluminium, de nickel, d'antimoine, d'yttrium, de baryum, de manganèse de même que des nano-argiles (Ung, 2005).

### 7.1. Les Nanoparticule d'oxyde de fer

#### 7.1.1. Généralités

Les oxydes de fer sont très répandus dans la nature. On les trouve dans la croûte terrestre (roche, minéral), dans l'eau (érosion par l'eau, rivières ...) et dans les organismes biologiques (corps humain, animaux, plantes). Ils ont été utilisés très tôt par l'homme : déjà, au temps de la préhistoire, les peintures rupestres contenaient des pigments d'oxydes de fer (Wei et al., 2009).

Ensuite, ils ont été utilisés dans d'autres domaines (physique-chimie-biologie). Les composés du fer ont beaucoup d'applications. Les pigments contenant de l'oxyde de fer sont employés dans les enduits et comme colorants dans la céramique, le verre, les plastiques, le caoutchouc etc. Il existe 16 oxydes de fer que l'on peut classer en deux catégories : les hydroxydes et les oxydes (Bulpitt et Aeschlimann, 1999).

#### 7.1.2. Les Propriétés

##### 7.1.2.1. Propriétés physico-chimiques

Les propriétés physico-chimiques des oxydes de fer (hématite, magnétite et maghémite) à l'état massif sont rassemblées dans le (Tableau 01).

**Tableau 01** : Propriétés physico-chimiques des oxydes de fer (Cornell et Schwertmann, 2003).

Oxyde de fer	Couleur	Masse molaire (g.mol <sup>-1</sup> )	Température de fusion (°C)	Masse volumique (kg.m <sup>-3</sup> )
Hématite	Rouge à noir	160	1350	5260
Magnétite	noir	232	1583-1597	5180
Maghémite	marron	160	-	4870

##### 7.1.2.2. Propriétés structurales

La structure cristalline de l'hématite est de type rhomboédrique. Elle est constituée par des ions oxygène occupant un arrangement hexagonal (ABAB) avec des ions Fe<sup>3+</sup> occupant des sites octaédriques (Figure 07). Les paramètres de maille de l'hématite sont a = 5,034 Å et c = 13,75 Å (Teja et Koh, 2009).

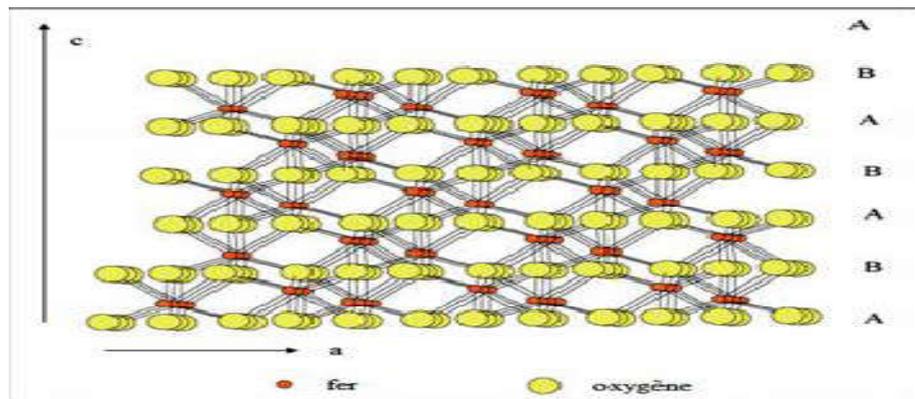


Figure 07 : Structure cristalline de l'hématite (Cudennec et Lecerf, 2005).

### 7.1.3. Domaine d'utilisation

#### 7.1.3.1. Applications biomédicales

Dans les applications biomédicales, la taille et les propriétés physico-chimiques des nano-oxydes de fer sont importantes car cela peut fortement affecter le temps de résidences des nanoparticules dans le sang et leur biodisponibilité (Zheng *et al.*, 2008).

Généralement, afin de limiter l'adsorption de protéines et de prolonger le temps de résidence des particules dans les organismes, les nano-oxydes de fer sont enrobées de molécules organiques. Cet enrobage a pour but de fonctionnaliser les nano-oxydes afin de les rendre reconnaissables par les cellules cibles uniquement. Ainsi, il a été démontré sur des rat (Cimato *et al.*, 2004), que des nanoparticules magnétiques étaient capables de délivrer des substances médicamenteuses directement dans des tumeurs cérébrales (Cimato *et al.*, 2004).

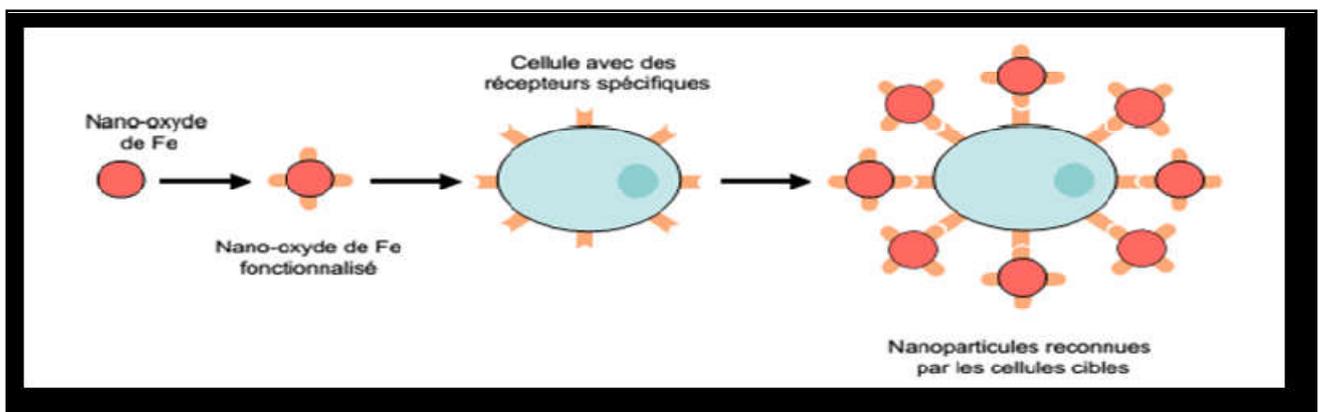


Figure 08 : Schéma illustrant la fonctionnalisation des nano-oxydes de fer et leur reconnaissance par des cellules cibles (Cimato *et al.*, 2004)

### 7.1.3.2. Applications catalytiques

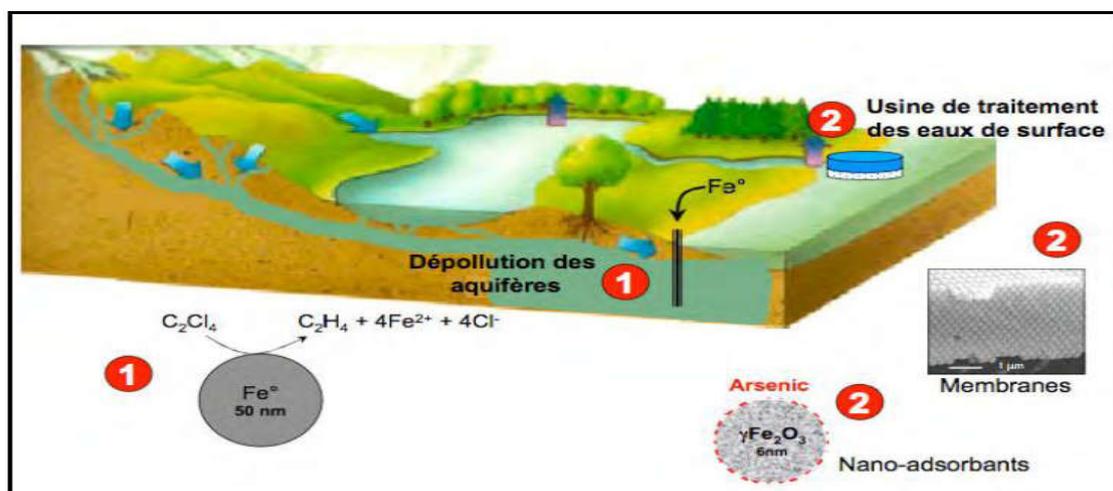
De nombreuses recherches portent sur l'utilisation de nanoparticules d'oxyde de fer (magnétite, maghémite et hématite) comme catalyseur dans plusieurs réactions chimiques en raison de leur grande réactivité de surface. Ces nanoparticules sont utilisées dans le procédé Fischer Tropsch et les procédés d'oxydation des alcools, du formaldéhyde, du CO et des particules de suie produites par les véhicules à moteur diesel (Mahajan *et al.*, 2003 ; Khedr *et al.*, 2006 ; Li *et al.*, 2008 ; Xue *et al.*, 2009 ; Zhang *et al.*, 2009 ; Wagloehner *et al.*, 2014, Shaikh *et al.*, 2014, Tu *et al.*, 2015).

### 7.1.3.3. Applications décoratives et cosmétiques

Les nanoparticules d'oxyde de fer (magnétite et hématite) offrent un pouvoir de coloration élevé. Elles sont donc souvent utilisées dans la synthèse de pigments pour la peinture de céramique (Sreeram *et al.*, 2006 ; Dengxin *et al.*, 2008 ; Pailhé *et al.*, 2008 ; Fouda *et al.*, 2012 ; Shen *et al.*, 2013 ; Mufti *et al.*, 2014). Les nanoparticules d'hématite ont également montré une efficacité dans les produits cosmétiques comme dans les crèmes solaires (Truffault *et al.*, 2010, Piccirillo *et al.*, 2014).

### 7.1.3.4. Applications environnementales

Les nanoparticules sont également utilisées sous forme de suspensions liquides pour la dépollution des eaux profondes. C'est le cas des nanoparticules de fer métal qui sont injectées dans des aquifères situés en sous-sols de sites pollués américains. Grâce à leurs propriétés catalytiques, elles convertissent certains contaminants organiques en composés non toxiques. Les suspensions de nano-oxydes de fer sont également étudiées pour le traitement des eaux de surface et des effluents (Auffan *et al.*, 2007).



**Figure 09:** Différentes utilisations des nanoparticules manufacturées dans les applications environnementales (Lowry *et al.*, 2004).

### 7.1.4. Les effets toxiques

Bien que le fer soit un élément essentiel à la vie, une augmentation de sa concentration en milieu cellulaire peut générer la formation de ROS (Grazyna *et al.*, 2009). Dans la plupart de leurs applications, les nanoparticules d'oxyde de fer sont en contact avec les cellules voire le milieu intracellulaire. C'est notamment le cas des nanoparticules de magnétite dont la toxicité vis-à-vis des cellules humaines a été démontré (Anonyme, 2010). Les nanoparticules d'oxyde de fer utilisées à des fins biomédicales (Elsaesser et Howard, 2011) sont généralement fonctionnalisées en surface via (<http://www.sciencedirect.com>; Jean *et al.*, 2005; Parak *et al.*, 2003). Le greffage de composés organiques (<http://www.sciencedirect.com>; Jean *et al.*, 2005; Parak *et al.*, 2003). Cette couche organique limite les contacts directs entre le fer des nanoparticules et les composants cellulaires. les nanoparticules peuvent être internalisées ou adsorbées en surface des cellules et induire des effets toxiques (Helix *et al.*, 1998).

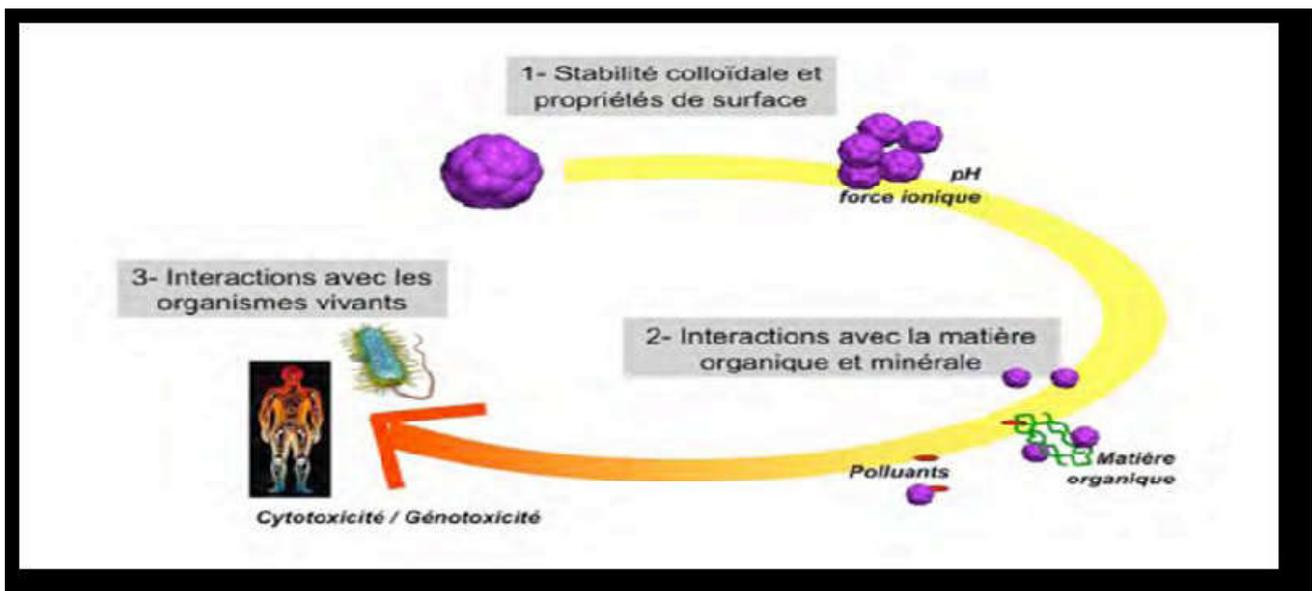


Figure 10 : Les différentes interactions d'oxyde de fer (Grazyna *et al.*, 2009).

## 7.2. Les nanoparticules de silice

### 7.2.1. Généralité

La silice est la forme naturelle de dioxyde de silicium ( $\text{SiO}_2$ ), elle entre dans la composition de nombreux minéraux et représente de ce fait 75% de l'écorce terrestre. Elle existe sous deux formes cristallines et amorphes. Les silices amorphes peuvent être divisées en 2 catégories, les silices naturelles (terre de diatomée) et les silices fabriquées intentionnellement (les

silices amorphes synthétiques). Les silices amorphes synthétiques ont de nombreuses applications industrielles. Ils peuvent être utilisés comme agents de renforcement ou épaississants dans divers systèmes (élastomères, résines, peintures et encres) ou dans la clarification de la bière et du vin, ils entrent dans la composition de nombreux produits de consommation tels que les produits cosmétiques, pharmaceutiques et les pâtes dentifrices (**Barbé et al., 2004**).

### **7.2.2. Les domaines d'utilisation**

#### **7.2.2.1. Application médicale**

Concernant les applications médicales, les nanoparticules de silice sont actuellement étudiées pour leurs applications en imagerie mais aussi en thérapie en les utilisant comme agent de vectorisation (**Watson et al., 2014; Amoudru, 1991; Nelson et al., 2010**).

#### **7.2.2.2. Application alimentaire**

La silice est utilisée en alimentaire pour différentes propriétés. Elle peut être employée par exemple comme antiagglomérant ou modificateur de viscosité pour la sauce tomate, mais aussi les sauces vinaigrées. Cet additif est autorisé et employé depuis plusieurs dizaines d'années. Il existe plus d'une quarantaine de produits nanosilice commerciaux ayant la fonction d'agent antiagglomérant ou encore d'agent fluidisant dans différentes applications alimentaire (**Xie et al., 2010**).

#### **7.2.2.3. Autre application**

Les applications de la silice sont nombreuses, on la retrouve par exemple dans les semelles de chaussures, les pneumatiques et le papier (**Lahmani et al., 2009**).

### **7.2.3. Les effets toxiques**

Les nanoparticules de silice peuvent induire une toxicité au niveau cellulaire suite à une exposition par différentes voies. Elles peuvent entraîner des dommages membranaires (**Borm et al., 2006**) qui se traduit par des modifications morphologiques (<http://www.sciencedirect.com>) et ultra-structurales (**Barnes et al., 2008**).

De nombreuses études indiquent qu'une exposition à des particules de silice provoque un stress oxydant dans les cellules, résultat de la surproduction d'espèces réactives de l'oxygène et de la peroxydation des lipides de la membrane cellulaire (**Liu et al., 2001 ; Cho et al., 2009 ; Christen et Fent, 2012; Napierska et al., 2010**). Ils peuvent avoir un effet néfaste sur le système antioxydant présent dans les cellules, en diminuant par exemple le niveau intracellulaire de glutathion, qui joue un rôle essentiel dans les mécanismes redox impliqués dans les mécanismes de défense contre le stress oxydatif (**Simon-Deckers, 2008**).

Les nanoparticules de silice, dont la taille varie de 20 à 400 nm, n'induisaient pas de génotoxicité significative (**Barillet et al., 2010**) mais pouvaient entraîner une inhibition de la réplication, de la transcription, et de la prolifération cellulaire (**Simon et al., 2007**).

La forme cristalline de silice a fait l'objet de nombreuses études puisque ce type de particules est à l'origine de la silicose, une affection pulmonaire causée par l'exposition chronique par inhalation à des particules de silice cristalline. La silice cristalline a été classée comme cancérigène par l'agence internationale de recherche sur le cancer en 1997 (<http://www.dowagro.com>).

Enfin, les nanoparticules de silice peuvent avoir un effet néfaste sur le développement embryonnaire (**Jugan et al., sd**).

***Chapitre II :***  
***Matériel & Méthodes***

### Matériel & Méthodes

Tous les bio essais de cette étude ont été réalisés au Laboratoire de Toxicologie, du département de Biologie, Université Larbi Tébessi, Tébessa.

#### 1. Matériel

##### 1.1. Matériel biologique

Le matériel biologique utilisé dans notre travail est l'escargot petit gris : *Helix aspersa*. L'escargot *Helix aspersa* communément appelé Petit-Gris, est un mollusque gastéropode pulmoné appartenant à l'ordre des stylommatophores, famille des helicidae, sous-famille des helicinae (Beaumont et Cassier, 1998).

##### 1.1.1. Intérêts de l'utilisation de l'escargot en écotoxicologie

Les escargots juvéniles et adultes d'*H. aspersa* sont utilisés dans de nombreuses études écotoxicologiques. En effet, de par leur place au sein de l'écosystème terrestre, les escargots sont capables d'intégrer des sources multiples de contamination (sol, atmosphère, végétaux) par diverses voies : digestive, respiratoire et/ou cutanée. Les capacités de résistance et d'accumulation des métaux ont été démontrées chez ces escargots (Scheifler et al., 2002a,b).

Les petit-gris sont des bioindicateurs d'exposition et d'effets de polluants métalliques (Gomot, 1997 ; Coeurdassier et al., 2000, 2002a ; Scheifler et al., 2002a,b ; Fritsch et al., 2011) ou organiques (Coeurdassier et al., 2002b, 2001 ; de Vaufleury et al., 2006 ; Regoli et al., 2006). *H. aspersa* a également permis de suivre les transferts des divers polluants (organiques, métalliques, radionucléides) dans des chaînes trophiques (Gomot-de Vaufleury et Pihan, 2000 ; Scheifler et al., 2002b, 2003, 2006 ; Scheifler, 2002 ; Hispard et al., 2008b), ou encore d'évaluer les cinétiques de transfert milieu-escargot (Gimbert et al., 2006, 2008).

##### 1.1.2. Ecologie de l'escargot

L'escargot Petit-Gris est très répandu en Europe, en particulier dans les régions méditerranéennes et océaniques. Il colonise les milieux anthropisés et peut être considéré comme une peste dans les jardins. On le retrouve également dans les dunes, les bois, les rochers, les haies mais également dans les zones cultivées (Kerney et al., 2006).

##### 1.1.3. Régime alimentaire

Il a un régime alimentaire non spécialisé composé de plantes (herbacées, graminées, légumes de culture, lichens, certaines céréales, champignons) (Barker, 2001 ; Chevalier et al., 2001). L'escargot mastique ses aliments à l'aide d'une langue râpeuse appelée radula. Le sol fait

également partie de son alimentation, et constitue un apport en calcium indispensable à la formation de sa coquille et influençant sa croissance (Gomot et al., 1989 ; Dallinger et al., 2001).

### 1.1.4. Morphologie d'*Helix aspersa*

L'escargot *Helix aspersa* possède une coquille spiralée pouvant contenir tout son corps. Lorsqu'il est en extension, seul le pied apparaît, la masse viscérale étant retenue dans la coquille par le muscle columellaire (Daguzan, 1981).

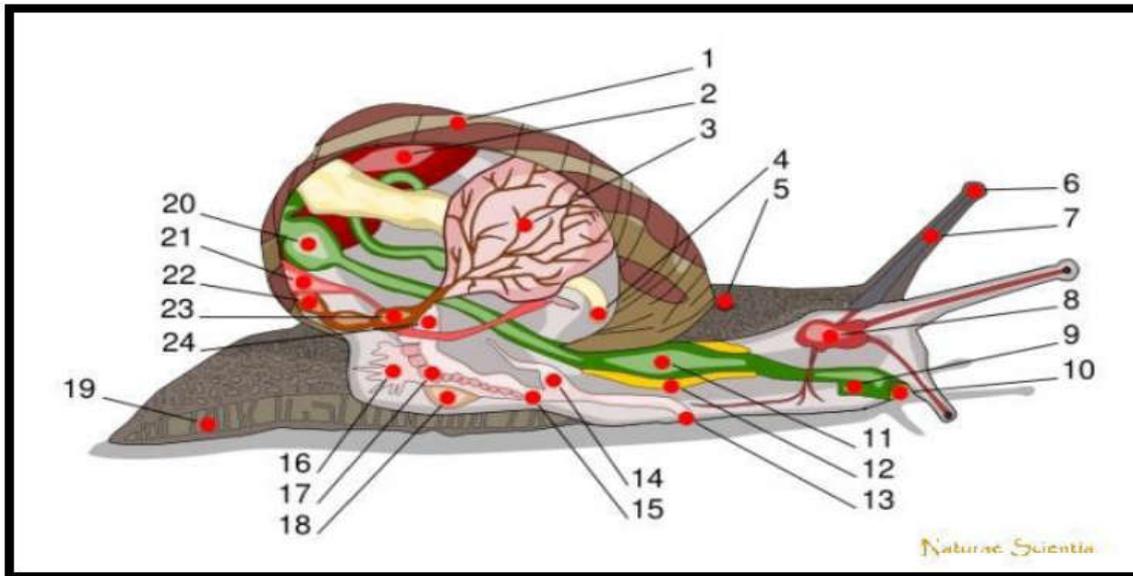


**Figure 11:** Le petit gris (*Helix aspersa*).

### 1.1.5. Anatomie de l'escargot

Le corps d'un escargot consiste en un pied unique, une tête et une masse viscérale enroulée placée dans la coquille.

Le mouvement a lieu grâce à l'expansion et l'extraction de muscles dans le pied, des glandes de mucus sur le reste du corps protégeant l'escargot contre la perte d'eau. Deux paires de tentacules placées sur la tête. La paire supérieure porte les yeux. La coquille est sécrétée par un épais pli de peau, appelé le manteau, cette dernière est reliée au corps par un puissant muscle qui est attaché au columella, la contraction de ce muscle permet à l'escargot de se retirer dans sa coquille. À l'intérieur de la coquille, se trouve la cavité du manteau, qui contient le cœur, le rein et le poumon, la **Figure (12)** montre l'anatomie d'*Helix aspersa*.



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

**Figure 12 :** Anatomie de l'escargot (**Daguzan, 1981**).

### 1.1.6. Rythme d'activité

L'activité des escargots petit-gris est préférentiellement nocturne. Elle se synchronise avec la photopériode naturelle et débute au coucher du soleil avec un maximum six heures après celui-ci (**Chevallier, 1992**). Les trois facteurs qui influencent cette activité sont l'hygrométrie du milieu (air et sol), la température et l'intensité lumineuse (**Chevallier, 1982**). Les escargots sont actifs si l'humidité relative de l'air est supérieure à 80% et si la température minimale nocturne n'est pas inférieure à 9° C (**Chevallier, 1982**).

### 1.1.7. Estivation et hibernation

Le Petit-Gris est surtout actif la nuit et en période humide. Le jour ou lorsqu'il fait trop sec, il entre en estivation en se fixant contre une paroi et en obturant sa coquille d'un voile blanchâtre, l'épiphragme. A partir du mois d'octobre en Europe, l'escargot hiberne en s'enfouissant dans le sol. Sa coquille est alors obturée par un épiphragme épais. Il reprend généralement son activité au printemps quand les températures avoisinent les 12-14°C (**Marasco et Murciano, 2003; Kerney et al., 2006**).

### 1.1.8. Croissance

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

\* Phase infantile durant laquelle le tractus génital est non-différencié chez des animaux de 0,02 à 0,6 g.

\* Phase juvénile relative à un tractus génital qui s'organise et à une gamétogenèse active. La masse est comprise entre 0,6 et 6,0 g.

\* Phase de maturation sexuelle ou phase préadulte durant laquelle les glandes annexes femelles se développent. Elle concerne des escargots non bordés (absence d'épaississement du péristome) de plus de 6 g.

\* La phase adulte à croissance nulle durant laquelle les animaux sont aptes à se reproduire. Ils sont alors bordés et pèsent entre 6 et 14 g (**Gomot, 1997**).

### 1.1.9. Longévité

*Helix aspersa aspersa* est un adulte à deux (02) ans mais peut vivre plus de cinq (05) ans. Dans la nature, il dépasse rarement l'âge de trois (03) ans. Sa mort est souvent due à des prédateurs ou à des parasites. En captivité, sa longévité est bien plus longue et va de 10 à 15 ans. Certains individus ont vécu plus de trente (30) ans (**Taylor et al., 1991**).

### 1.1.10. Reproduction et ponte

La période de reproduction commence au début du mois de mai et dure jusqu'à la mi-septembre. L'accouplement implique une fécondation réciproque par échange de spermatophores entre les deux partenaires. Cette règle n'est cependant pas absolue et certains individus se comportent soit comme mâle soit comme femelle. L'autofécondation n'a été que très rarement constatée chez les escargots du genre *Helix* et jamais pour *H. aspersa aspersa*. La durée entre l'accouplement et la ponte varie en fonction des conditions du milieu. En conditions optimales, elle est d'une dizaine de jours mais ce délai peut atteindre un voire deux mois suivant les conditions d'environnement. (**Daguzan, 1981; Chevallier, 1982**).

Le temps d'accouplement est variable et peut durer plus de 12 heures. La fécondation a lieu au niveau de la chambre de fertilisation, une quinzaine de jours après l'accouplement. Les ovocytes fécondés sont entourés d'albumen (secrété par la glande à albumen), qui constitue les réserves nutritives pour le développement embryonnaire, puis d'une coque calcaire. Pour pondre, l'escargot creuse avec sa tête une cavité de 2-4 cm de profondeur dans le sol, et y dépose une ponte constituée en moyenne d'une centaine d'œufs. La ponte peut durer jusqu'à 36 heures. A une température de 18-20°C, les œufs vont se développer en 12 à 15 jours avant d'éclore. Ensuite les jeunes éclos

remontent ensuite en surface, ce qui prend 4 à 5 jours supplémentaires avant de pouvoir les apercevoir (Baurand, 2014).



**Figure 13 :** l'accouplement des escargots



**Figure 14 :** Les œufs d'*Helix aspersa* dans le sol

### 1.1.11. Développement embryonnaire

Peu de données sont disponibles sur le développement embryonnaire d'*H. aspersa*, mis à part une étude sur la différenciation du système nerveux au cours de l'embryogenèse du jour 8 à l'éclosion (Jerusalimsky et Balaban, 2001). L'embryon passe du stade une cellule lors de la ponte au stade morula après 2 à 3 jours de développement par une segmentation totale (stades 2, 4, 8, 16, 32 cellules...). A la fin du stade morula, l'embryon a l'aspect d'une mûre, une cavité appelée blastocœle apparaît. Après 4 jours de développement, deux pôles se distinguent avec apparition de l'ébauche de l'orifice buccal appelé blastopore. Après 6 à 7 jours de développement, l'embryon atteint le stade larvaire qui est caractérisé par le début de l'organogenèse. A ce stade, on distingue les ébauches du pied, de la bouche, du cœur et de l'anus. Après 12 jours, l'embryon ressemble à un petit escargot adulte avec la présence d'une coquille, du manteau, des 4 tentacules dont 2 portent les yeux, d'un pied bien individualisé. Les derniers jours de développement permettent à l'embryon de terminer la différenciation de ses organes et le développement de sa coquille. La phase embryonnaire s'achève après une quinzaine de jours (suivant la température d'incubation) lorsque l'éclosion produit un jeune escargot présentant un reste de substances de réserves dans le tube digestif qui seront résorbées dans les jours qui suivent l'éclosion (Baurand, 2014).

### 1.2. Matériel chimique

Le matériel chimique utilisé dans cette expérimentation est une préparation commerciale de nanoparticules à base d'oxyde de fer ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ :Hématite), de dioxyde de silice ( $\text{SiO}_2$ ) et de leurs mixture.



**Figure 15** : Les nanoparticules d'oxyde de fer en poudre.



**Figure 16** : Les nanoparticules de dioxyde de silice en poudre

### 2. Méthodes

#### 2.1. Condition d'élevage

Un élevage a été mis en place suivant les recommandations de **Gomot-DeVaufleury (2000)** dans des conditions contrôlées de température ( $20 \pm 2^\circ\text{C}$ ) et de lumière (photopériode de 16h).

Les adultes reproducteurs sont placés dans des boîtes en plastiques transparents à couvercle perforé pour la pénétration de l'air pour maintenir l'oxygénation, et chaque boîte contient une éponge mouillée pour maintenir d'humidité, l'alimentation (farine de blé) est fournie dans des boîtes de Pétri (**Figure 17**). Le nettoyage des boîtes et le changement de nourriture se fait un jour sur deux. Dans ces mêmes boîtes nous avons placé des pots remplis de terreau pour que les escargots après accouplement puissent pondre leurs œufs à l'intérieur du terreau (**Figure 18**).



**Figure 17** : L'élevage des escargots



**Figure 18** : Escargot *Helix aspersa* en cours de ponte

**2.2. Mode de traitement**

Le traitement est réalisé pendant la phase embryonnaire, dès le 1<sup>er</sup> jour de la ponte nous avons partagé les œufs en 3 groupes de 6 lots:

-lots Témoins dont le papier n'est imbibé qu'avec de l'eau distillé (ED).

-5lots traités (C1,C2,C3,C4,C5)par 5 concentrations différentes respectivement (0.5mg/ml, 1mg/ml, 5mg/ml, 10mg/ml, 15mg/ml) des nanoparticules (Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, SiO<sub>2</sub> et de leurs mixture). Le **tableau 02** résume la distribution des groupes.

**Tableau 02:** Répartition des groupes selon les lots et le type de traitement (Grara et al., 2015).

Les types de traitement de NP exposé	Les Lots	Nombre Des œufs	NP en mg/ml
Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	Témoin	13	ED
	C1	13	0.5
	C2	13	1
	C3	13	5
	C4	13	10
	C5	13	15
SiO <sub>2</sub>	Témoin	13	ED
	C1	13	0.5
	C2	13	1
	C3	13	5
	C4	13	10
	C5	13	15
Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> +SiO <sub>2</sub>	Témoin	13	ED
	C1	13	0.5
	C2	13	1
	C3	13	5
	C4	13	10
	C5	13	15

Des boîtes de Pétri ont été préparées pour l'incubation des œufs comme suit : On met dans chaque boîte 3 couches de papier absorbant (Whatman) et on les imprègne par des solutions sus citées, les tubes sont bien agités pour obtenir des solutions homogènes surtout avant chaque utilisation. La ponte a été partagée en 3 groupes de 6 lots et chaque lot renferme 13 œufs, qui ont été placés dans chaque boîte et on les incube dans des conditions favorables pour l'éclosion comme dans les figures ci-dessous.

2.3. Mode d'incubation des œufs de la ponte avant éclosion

\* le groupe 01 traité par des NPs de  $\text{Fe}_2\text{O}_3$

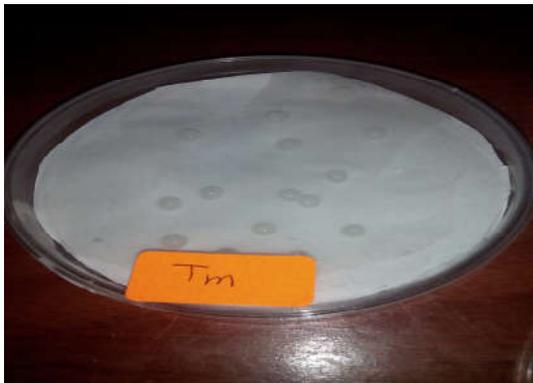


Figure 19: Lot témoin

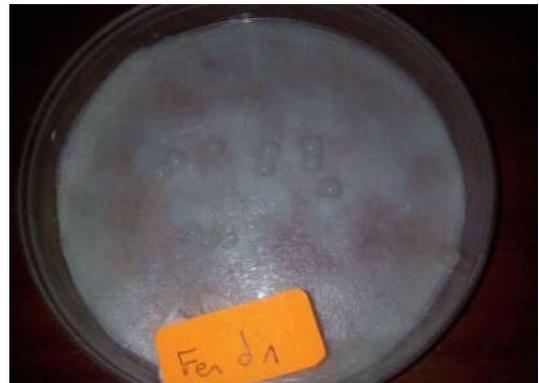


Figure 20: Lot traité par C1 des NPs de  $\text{Fe}_2\text{O}_3$



Figure 21: Lot traité par C2 des NPs de  $\text{Fe}_2\text{O}_3$

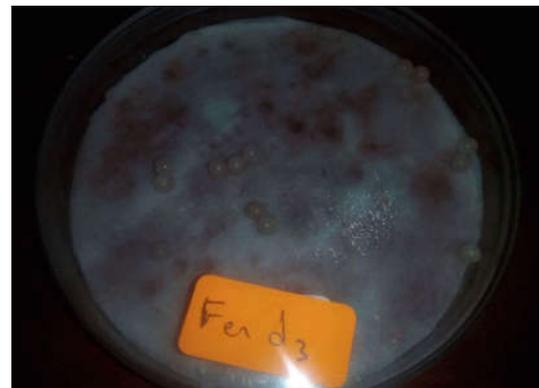


Figure 22: Lot traité par C3 des NPs de  $\text{Fe}_2\text{O}_3$



Figure 23: Lot traité par C4 des NPs de  $\text{Fe}_2\text{O}_3$

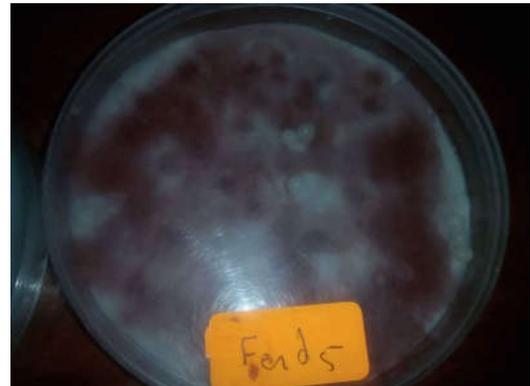
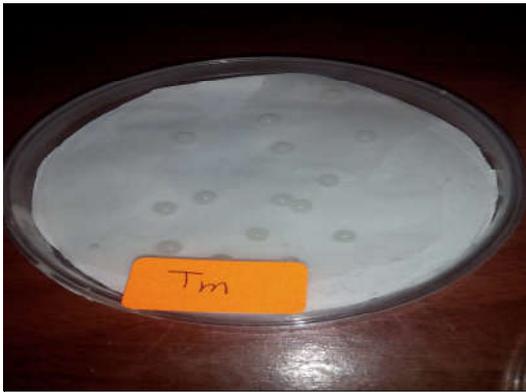


Figure 24: Lot traité par C5 des NPs de  $\text{Fe}_2\text{O}_3$

\* pour le groupe 02 traité par des NPs de SiO<sub>2</sub> :



**Figure 25:** Lot témoin



**Figure 26:** Lot traité par C1 des NPs de SiO<sub>2</sub>



**Figure 27:** Lot traité par C2 des NPs de SiO<sub>2</sub>



**Figure 28:** Lot traité par C3 des NPs de SiO<sub>2</sub>



**Figure 29:** Lot traité par C4 des NPs de SiO<sub>2</sub>



**Figure 30:** Lot traité par C5 des NPs de SiO<sub>2</sub>

\* le groupe 03 traité par la mixture nanométrique ( $\text{Fe}_2\text{O}_3+\text{SiO}_2$ )

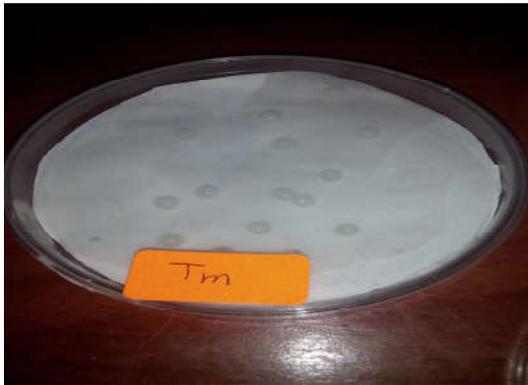


Figure 31: Lot témoin



Figure 32 : Lot traité par C1 des NPs de mixture

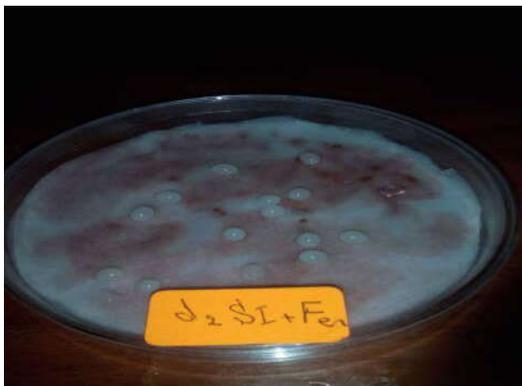


Figure 33: Lot traité par C2 des NPs de mixture



Figure 34: Lot traité par C3 des NPs de mixture



Figure 35: Lot traité par C4 des NPs de mixture



Figure 36: Lot traité par C5 des NPs de mixture

Nous avons suivi les œufs pendant la phase embryonnaire, les photos ont été prises à partir de 5<sup>ème</sup>, 10<sup>ème</sup>, 14<sup>ème</sup>, 20<sup>ème</sup> et 22<sup>ème</sup> jour d'incubation et comme les œufs sont opaques, les observations sont beaucoup plus sur la forme des œufs et la couleur de la coque pour les traitées par les nanoparticules d'oxyde de fer et de la mixture car ont une couleur vif (couleur rouille), et leur accumulation est facilement observée. Mais chez les traitées par de dioxyde de silice nos observations basés beaucoup plus sur la forme des œufs. Les embryons ont été observés avec une loupe binoculaire (optika) nous avons utilisé un appareil photo de condor plume p6 pour prendre des photographies en même temps.

***Chapitre III :***  
***Résultats & Discussion***

# *Résultats*

### 1. Résultats

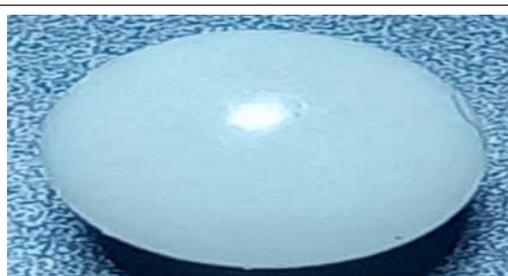
#### 1.1. Effet des nanoparticules de $\text{Fe}_2\text{O}_3$ Pendant la phase embryonnaire

Nous avons observé quelques modifications à partir du 5<sup>ème</sup> jour, et à cet effet nous avons pris des photos le 5<sup>ème</sup>, le 10<sup>ème</sup>, le 14<sup>ème</sup>, le 20<sup>ème</sup> jour, ainsi qu'au 22<sup>ème</sup> jour.

##### ➤ Au 5<sup>ème</sup> jour d'incubation

Au 5<sup>ème</sup> jour d'incubation des œufs : Nous constatons:

- Chez le lot témoin un œuf blanc et brillant de forme régulière (**Figure 37**).
- Des traces de la molécule sont observées chez les traités par les concentrations C1 et C2 (**Figure 38 et 39**).
- Aux concentrations C3, C4 et C5 : Des déformations de la membrane et des traces de la molécule avec une couleur rouille sont observées et qui devient plus remarquable pour les traités par les concentrations C4 et C5 (**Figure 40, 41 et 42**).



**Figure 37** : Œuf témoin observé au 5<sup>ème</sup> jour



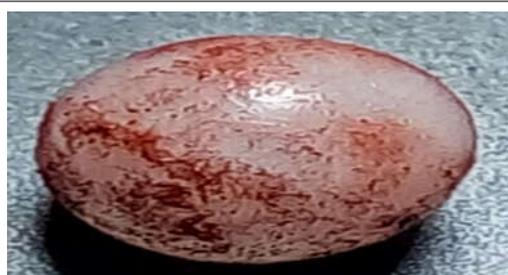
**Figure 38**: Œuf du lot traité par C1 des NPs de  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  observé au 5<sup>ème</sup> jour



**Figure 39**: Œuf du lot traité par C2 des NPs de  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  observé au 5<sup>ème</sup> jour



**Figure 40**: Œuf du lot traité par C3 des NPs de  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  observé au 5<sup>ème</sup> jour



**Figure 41**: Œuf du lot traité par C4 des NPs de  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  observé au 5<sup>ème</sup> jour

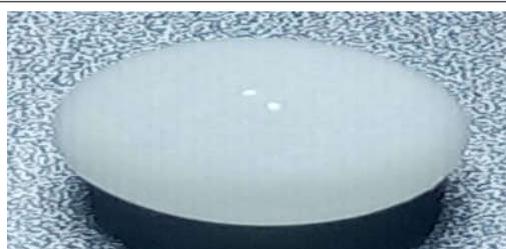


**Figure 42**: Œuf du lot traité par C5 des NPs de  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  observé au 5<sup>ème</sup> jour.

### ➤ Au 10<sup>ème</sup> jour d'incubation

Au 10<sup>ème</sup> jour d'incubation: Nous constatons :

- Chez le lot témoin les mêmes observations du 5<sup>ème</sup> jour (**Figure 43**).
- Des traces de la molécule sont observées aux concentrations C1 et C2 (**Figure 44 et 45**).
- Déformations de la forme de l'œuf (membrane irrégulière), avec accumulation de la molécule sur toute la surface des œufs (couleur rouille) chez les lots traités par les concentrations C3, C4 et C5 (**Figure 46, 47 et 48**).



**Figure 43:** Œuf témoin observé au 10<sup>ème</sup> jour



**Figure 44:** Œuf du lot traité par C1 des NPs Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> observé au 10<sup>ème</sup> jour



**Figure 45:** Œuf du lot traité par C2 des NPs de Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> observé au 10<sup>ème</sup> jour



**Figure 46:** Œuf du lot traité par C3 des NPs de Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> observé au 10<sup>ème</sup> jour



**Figure 47:** Œuf du lot traité par C4 des NPs de Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> observé au 10<sup>ème</sup> jour

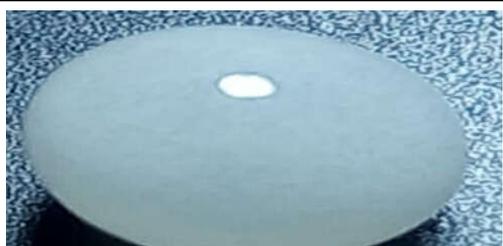


**Figure 48:** Œuf du lot traité par C5 des NPs de Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> observé au 10<sup>ème</sup> jour

### ➤ Au 14<sup>ème</sup> jour d'incubation

Au 14<sup>ème</sup> jour d'incubation : Nous constatons :

- Chez le témoin toujours les mêmes observations œufs blancs et brillants (**Figure 49**).
- Aux concentrations C1 et C2 : Des traces de la molécule sont observées (**Figure 50 et 51**).
- Aux concentrations C3, C4 et C5 : des déformations sous forme de gonflement qui correspondent à une accumulation de la molécule avec une coloration rouille intense est très remarquée chez les traités par C5 (**Figure 52, 53 et 54**).



**Figure 49:** Œuf témoin observé au 14<sup>ème</sup> jour



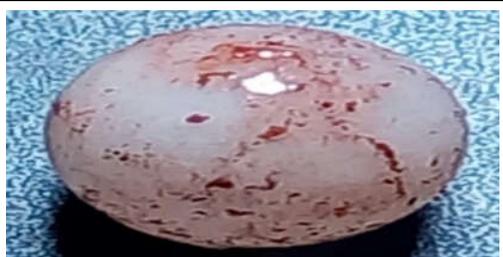
**Figure 50:** Œuf du lot traité par C1 des NPs de Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> observé au 14<sup>ème</sup> jour



**Figure 51:** Œuf du lot traité par C2 des NPs de Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> observé au 14<sup>ème</sup> jour



**Figure 52:** Œuf du lot traité par C3 des NPs de Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> observé au 14<sup>ème</sup> jour



**Figure 53:** Œuf du lot traité par C4 des NPs de Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> observé au 14<sup>ème</sup> jour

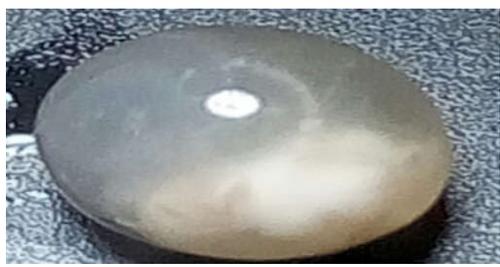


**Figure 54:** Œuf du lot traité par C5 des NPs de Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> observé au 14<sup>ème</sup> jour

➤ **Au 20<sup>ème</sup> jour d'incubation**

Au 14<sup>ème</sup> jour d'incubation : Nous constatons :

- Chez les témoins et les traités par les concentrations C1 et C2, les œufs sont sur le point d'éclore (**Figure 55, 56 et 57**).
- Chez les lots traités par C3, C4 et C5 : les œufs non éclos (**Figure 58, 59 et 60**).



**Figure 55:** Œuf témoin observé au 20<sup>ème</sup> jour



**Figure 56:** Œuf du lot traité par C1 des NPs de Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> observé au 20<sup>ème</sup> jour



**Figure 57:** Œuf du lot traité par C2 des NPs de Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> observé au 20<sup>ème</sup> jour



**Figure 58:** Œuf du lot traité par C3 des NPs de Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> observé au 20<sup>ème</sup> jour



**Figure 59:** Œuf du lot traité par C4 des NPs de Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> observé au 20<sup>ème</sup> jour



**Figure 60:** Œuf du lot traité par C5 des NPs de Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> observé au 20<sup>ème</sup>

### ➤ Au 22<sup>ème</sup> jour d'incubation

Au 22<sup>ème</sup> jour d'incubation : Nous constatons :

- Une coquille transparente pour l'escargot jeune éclos du lot témoin avec l'apparition des yeux (**Figure 61**).
- Chez les traités par C1 et C2 : Une couleur rouille concentré un peu en arrière de la coquille de l'escargot jeune éclos (**Figure 62 et 63**).
- Aux concentrations C3, C4 et C5 : les œufs restent non éclos avec une déformation de la membrane est notée chez les lots traités par C4 et C5 (**Figure 64, 65 et 66**) .



**Figure 61:** Œuf témoin observé au 22<sup>ème</sup> jour



**Figure 62:** Œuf du lot traité par C1 des NPs de Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> observé au 22<sup>ème</sup> jour



**Figure 63:** Œuf du lot traité par C2 des NPs de Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> observé au 22<sup>ème</sup> jour



**Figure 64:** Œuf du lot traité par C3 des NPs de Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> observé au 22<sup>ème</sup> jour



**Figure 65:** Œuf du lot traité par C4 des NPs de Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> observé au 22<sup>ème</sup> jour



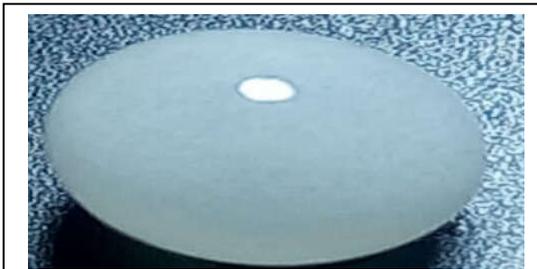
**Figure 66:** Œuf du lot traité par C5 des NPs de Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> observé au 22<sup>ème</sup> jour

**1.2. Effets des nanoparticules de SiO<sub>2</sub> Pendant la phase embryonnaire**

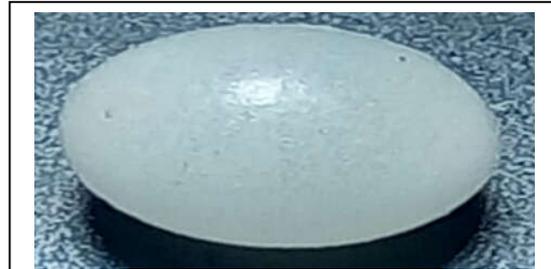
➤ **Au 5<sup>ème</sup> jour d'incubation**

Au 5<sup>ème</sup> jour d'incubation : Nous constatons :

- Chez le témoin : œuf blanc et brillant avec une forme régulière (**Figure 67**)
- Des traces de la molécule ont été observées sur toute la surface des œufs traités par C1 et C2 (**Figure 68 et 69**).
- Des déformations de la membrane des œufs ont été remarquées chez les traités par les concentrations C3, C4 et C5 (**Figure 70, 71 et 72**).



**Figure 67:** Œuf témoin observé au 5<sup>ème</sup> jour



**Figure 68:** Œuf du lot traité par C1 des NPs de SiO<sub>2</sub> observé au 5<sup>ème</sup> jour



**Figure 69:** Œuf du lot traité par C2 des NPs de SiO<sub>2</sub> observé au 5<sup>ème</sup> jour



**Figure 70:** Œuf du lot traité par C3 des NPs de SiO<sub>2</sub> observé au 5<sup>ème</sup> jour



**Figure 71:** Œuf du lot traité par C4 des NPs de SiO<sub>2</sub> observé au 5<sup>ème</sup> jour



**Figure 72:** Œuf du lot traité par C5 des NPs de SiO<sub>2</sub> observé au 5<sup>ème</sup> jour

➤ **Au 10<sup>ème</sup> jour d'incubation**

Au 10<sup>ème</sup> jour d'incubation : Nous constatons :

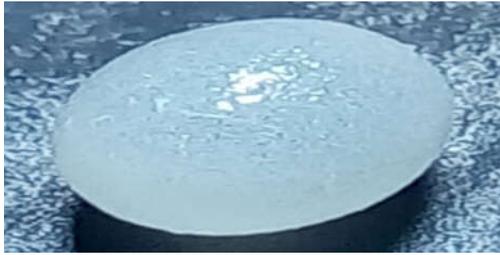
- Les mêmes observations de l'œuf du 5<sup>ème</sup> jour chez le témoin (**Figure 73**).
- Des traces de la molécule sont observées chez les traités par C1 et C2 (**Figure 74 et 75**)
- Des gonflements au niveau de la membrane des œufs chez les lots traités par C3, C4 et C5 (**Figure 76, 77 et 78**).



**Figure 73:** Œuf témoin observé au 10<sup>ème</sup> jour



**Figure 74:** Œuf du lot traité par C1 des NPs SiO<sub>2</sub> observé au 10<sup>ème</sup> jour



**Figure 75:** Œuf du lot traité par C2 des NPs de SiO<sub>2</sub> observé au 10<sup>ème</sup> jour



**Figure 76:** Œuf du lot traité par C3 des de NPs SiO<sub>2</sub> observé au 10<sup>ème</sup> jour



**Figure 77:** Œuf du lot traité par C4 des NPs de SiO<sub>2</sub> observé au 10<sup>ème</sup> jour

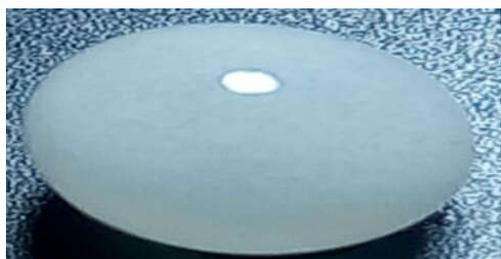


**Figure 78:** Œuf du lot traité par C5 des NPs SiO<sub>2</sub> observé au 10<sup>ème</sup> jour

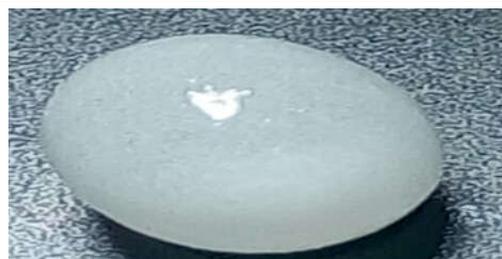
### ➤ Au 14<sup>ème</sup> jour d'incubation

Au 14<sup>ème</sup> jour d'incubation : Nous constatons :

- Chez le lot témoin : un œuf de forme régulière (**Figure 79**).
- Une légère déformation de la forme des œufs chez les traités par C1 et C2 (**Figure 80 et 81**).
- Aux concentrations C3, C4 et C5 : L'augmentation de l'accumulent in-situ des nanoparticules SiO<sub>2</sub> est plus marquée (**Figure 82 , 83 et 84**).



**Figure 79:** Œuf témoin observé au 14<sup>ème</sup> jour



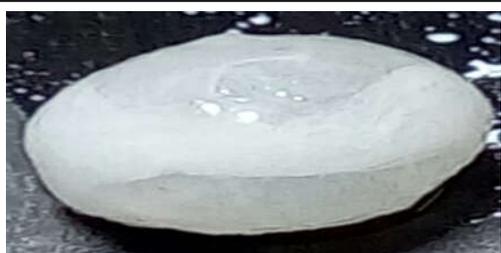
**Figure 80:** Œuf du lot traité par C1 des NPs de SiO<sub>2</sub> observé au 14<sup>ème</sup> jour



**Figure 81:** Œuf du lot traité par C2 des NPs de SiO<sub>2</sub> observé au 14<sup>ème</sup> jour



**Figure 82:** Œuf du lot traité par C3 des NPs de SiO<sub>2</sub> observé au 14<sup>ème</sup> jour



**Figure 83:** Œuf du lot traité par C4 des NPs de SiO<sub>2</sub> observé au 14<sup>ème</sup> jour



**Figure 84:** Œuf du lot traité par C5 des NPs de SiO<sub>2</sub> observé au 14<sup>ème</sup> jour

➤ **Au 20<sup>ème</sup> jour d'incubation**

Au 20<sup>ème</sup> jour d'incubation : Nous constatons :

- Chez le témoin et les traités par les concentrations C1, C2 et C3 : Les œufs sont sur le point d'éclore (**Figure 85, 86, 87 et 88**).
- Aux concentrations C4 et C5 : Les œufs non éclos (**Figure 89 et 90**).



**Figure 85:** Œuf témoin observé au 20<sup>ème</sup> jour



**Figure 86:** Œuf du lot traité par C1 des NPs de SiO<sub>2</sub> observé au 20<sup>ème</sup> jour



**Figure 87:** Œuf du lot traité par C2 des NPs de SiO<sub>2</sub> observé au 20<sup>ème</sup> jour



**Figure 88:** Œuf du lot traité par C3 des NPs de SiO<sub>2</sub> observé au 20<sup>ème</sup> jour



**Figure 89:** Œuf du lot traité par C4 des NPs de SiO<sub>2</sub> observé au 20<sup>ème</sup> jour



**Figure 90:** Œuf du lot traité par C5 des NPs de SiO<sub>2</sub> observé au 20<sup>ème</sup> jour

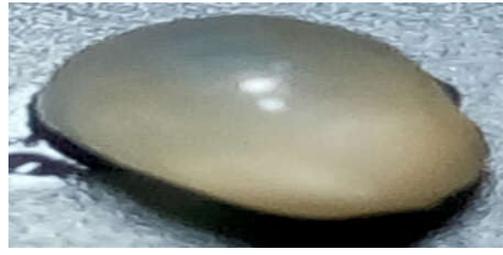
➤ **Au 22<sup>ème</sup> jour d'incubation**

Au 22<sup>ème</sup> jour d'incubation : Nous constatons :

- L'apparition des yeux chez les naissins du lot témoin avec une coquille transparente (**Figure 91**).
- Aux concentrations C1, C2 et C3 : l'accumulation des nanoparticules de SiO<sub>2</sub> se localise en arrière de la coquille des jeunes éclos (**Figure 92, 93 et 94**).
- Chez les traités par C4 et C5 : les œufs sont sur le point d'éclore (**Figure 95 et 96**).



**Figure 91:** Œuf témoin observé au 22<sup>ème</sup> jour



**Figure 92:** Œuf du lot traité par C1 des NPs de SiO<sub>2</sub> observé au 22<sup>ème</sup> jour



**Figure 93:** Œuf du lot traité par C2 des NPs de SiO<sub>2</sub> observé au 22<sup>ème</sup> jour



**Figure 94:** Œuf du lot traité par C3 des NPs de SiO<sub>2</sub> observé au 22<sup>ème</sup> jour



**Figure 95:** Œuf du lot traité par C4 des NPs de SiO<sub>2</sub> observé au 22<sup>ème</sup> jour



**Figure 96:** Œuf du lot traité par C5 des NPs de SiO<sub>2</sub> observé au 22<sup>ème</sup> jour

### 1.3. Effets des nanoparticules de mixture Pendant la phase embryonnaire

#### ➤ Au 5<sup>ème</sup> jour d'incubation

Au 22<sup>ème</sup> jour d'incubation : Nous constatons :

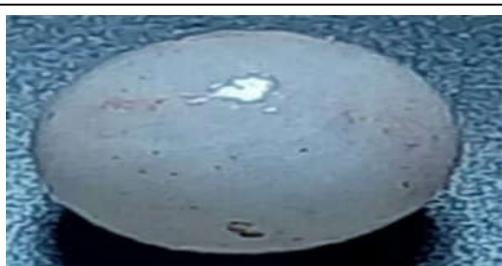
- Chez le témoin: œuf blanc et brillant avec une forme régulière (**Figure 97**).
- Des traces des molécules sont marquées sur les membranes des œufs chez les lots traités par C1 et C2 (**Figure 98 et 99**).
- Chez les traités par C3, C4 et C5 : Des déformations de la membrane des œufs suite à l'accumulation des nanoparticules  $Fe_2O_3$  et  $SiO_2$  sous forme de gonflement (**Figure 100,101 et 102**).



**Figure 97:** Œuf témoin observé au 5<sup>ème</sup> jour



**Figure 98:** Œuf traité par C1 des NPs de mixture observé au 5<sup>ème</sup> jour



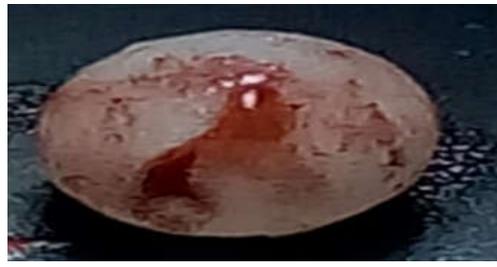
**Figure 99:** Œuf traité par C2 des NPs de mixture observé au 5<sup>ème</sup> jour



**Figure 100:** Œuf traité par C3 des NPs de mixture observé au 5<sup>ème</sup> jour



**Figure 101:** Œuf traité par C4 des NPs de mixture observé au 5<sup>ème</sup> jour



**Figure 102:** Œuf traité par C5 des NPs de mixture observé au 5<sup>ème</sup> jour

### ➤ Au 10<sup>ème</sup> jour d'incubation

Au 10<sup>ème</sup> jour d'incubation : Nous constatons :

- Chez le témoin : l'œuf est de forme régulière (**Figure 103**).
- Chez les traités par les différentes concentrations : des traces des molécules sont observées, des déformations sous forme de gonflement qui correspondent à une accumulation des molécules in situ qui deviennent plus remarquable chez les traités par les concentrations les plus élevées (**Figure 104, 105, 106, 107 et 108**).



**Figure 103:** Œuf témoin observé au 10<sup>ème</sup> jour



**Figure 104:** Œuf traité par C1 des NPs de mixture observé au 10<sup>ème</sup> jour



**Figure 105:** Œuf traité par C2 des NPs de mixture observé au 10<sup>ème</sup> jour



**Figure 106:** Œuf traité par C3 des NPs de mixture observé au 10<sup>ème</sup> jour



**Figure 107:** Œuf traité par C4 des NPs de mixture observé au 10<sup>ème</sup> jour



**Figure 108:** Œuf traité par C5 des NPs de mixture observé au 10<sup>ème</sup> jour

➤ **Au 14<sup>ème</sup> jour d'incubation**

Au 10<sup>ème</sup> jour d'incubation : Nous constatons:

- Les mêmes observations du 10<sup>ème</sup> chez l'œuf témoin (**Figure109**).
- Aux concentrations C1, C2, C3, C4 et C5 : Les œufs accumulent les nanoparticules  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  et  $\text{SiO}_2$  sous forme de gonflements avec une déchirure au niveau de la membrane de l'œuf est noté chez le lot traité par C5 (**Figure 110, 111, 112, 113 et 114**).



**Figure 109** : Œuf témoin observé au 14<sup>ème</sup> jour



**Figure 110**: Œuf traité par C1 des NPs de mixture observé au 14<sup>ème</sup> jour



**Figure 111**: Œuf traité par C2 des NPs de mixture observé au 14<sup>ème</sup> jour



**Figure 112**: Œuf traité par C3 des NPs de mixture observé au 14<sup>ème</sup> jour



**Figure 113**: Œuf traité par C4 des NPs de mixture observé au 14<sup>ème</sup> jour



**Figure 114**: Œuf traité par C5 des NPs de mixture observé au 14<sup>ème</sup> jour

### ➤ Au 20<sup>ème</sup> jour d'incubation

Au 10<sup>ème</sup> jour d'incubation : Nous constatons:

- Chez le témoin : un œuf sur le point d'éclore (**Figure 115**)
- Chez les traités par C1, C2 et C3: les œufs non éclos (**Figure 116, 117 et 118**).
- Aux concentrations C4, C5 : les œufs sont sur le point d'éclore avec élimination complète de la membrane de l'œuf (**Figure 119 et 120**).



**Figure 115** : Œuf témoin observé au 20<sup>ème</sup> jour



**Figure 116**: Œuf traité par C1 des NPs de mixture observé au 20<sup>ème</sup> jour



**Figure 117**: Œuf traité par C2 des NPs de mixture observé au 20<sup>ème</sup> jour



**Figure 118**: Œuf traité par C3 des NPs de mixture observé au 20<sup>ème</sup> jour



**Figure 119**: Œuf traité par C4 des NPs de mixture observé au 20<sup>ème</sup> jour



**Figure 120**: Œuf traité par C5 des NPs de mixture observé au 20<sup>ème</sup> jour

➤ **Au 22<sup>ème</sup> jour d'incubation**

Au 10<sup>ème</sup> jour d'incubation : Nous constatons:

- L'apparition des yeux chez les jeunes eclos du lot témoin avec une coquille transparente (**Figure 121**)
- Chez les traités par C1, C2, C3, C4 et C5: Les œufs sont encore sur le point d'éclore et ils ont une couleur rouille dû à l'accumulation des nanoparticules de Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (**Figure 122, 123, 124, 125 et 126**).



**Figure 121:** Œuf témoin observé au 22<sup>ème</sup> jour



**Figure 122:** Œuf traité par C1 des NPs de mixture observé au 22<sup>ème</sup> jour



**Figure 123:** Œuf traité par C2 des NPs de mixture observé au 22<sup>ème</sup> jour



**Figure 124:** Œuf traité par C3 des NPs de mixture observé au 22<sup>ème</sup> jour



**Figure 125:** Œuf traité par C4 des NPs de mixture observé au 22<sup>ème</sup> jour



**Figure 126:** Œuf traité par C5 des NPs de mixture observé au 22<sup>ème</sup> jour

# *Discussion*

### 2. Discussion

Les nanoparticules sont produites dans le cadre des nanotechnologies, qui ont des champs d'application multiples et en plein essor (**Boczkowski et Lanone, 2010**), elles peuvent se retrouver dans tous les compartiments environnementaux (eau, sol, air) ce qui peut toucher l'ensemble des espèces de la chaîne alimentaire (**Angélique, 2008**) et malgré les bénéfices potentiels conséquents dans de nombreux domaines, des inquiétudes sont émises quant à l'éventuelle toxicité humaine et environnementale des nanoparticules (**Boczkowski et Lanone, 2010**).

L'évaluation du risque environnemental et écotoxicologique des NPs font intervenir l'utilisation des bioindicateurs de pollution environnementale, dont les gastéropodes terrestres, particulièrement l'escargot *Helix aspersa*, font l'objet de ces travaux de recherche, car ces espèces sont sensibles aux variations physicochimiques de leur milieu, notamment la température, (**Bride et Gomot, 1991**), les fréquences électromagnétiques (**Regoli et al., 2005**) et à toute forme de pollution urbaine (**Russell et al., 1981**), mais ils sont également sensibles vis-à-vis des xénobiotiques variés tels que les hydrocarbures (**Ismert et al., 2002**), les éléments traces métalliques (**Manzl et al., 2004**). Ou encore les NPs manufacturées de ZnO (**Grara N et al., 2015**).

Aux cours des dernières années plusieurs auteurs ont examiné, s'il existe une différence de sensibilisé entre les stades de vies embryonnaire et adulte (**Sobral et al., 2001**). En général et surtout chez certaines espèces aquatiques (escargots, poissons), les stades précoces (larves, embryons) sont plus sensibles que les stades juvéniles ou adultes (**Gomot, 1998 ; Pietrock et al., 2008**). Cependant, les mécanismes impliqués dans la mise en place des effets toxiques à différents niveaux d'organisation biologique chez l'embryon ne sont pas connus. En effet la mesure des effets embryotoxiques classiquement réalisée est le succès d'éclosion après 15 à 20 jours d'exposition (**Druart et al., 2012**). A cette fin nous avons utilisé les œufs d'escargot terrestre *Helix aspersa* pour évaluer la toxicité des nanoparticules d'oxyde métallique ( $Fe_2O_3$ ,  $SiO_2$  et de leur mixture) sur l'avancement d'une étape complète de cycle de vie de l'escargot, c'est la phase de développement embryonnaire (de la ponte jusqu'à l'éclosion). Très peu de travaux ont été trouvés concernant la toxicité des nanoparticules  $Fe_2O_3$  et  $SiO_2$  c'est ce qui nous a laissé prudent quant à l'explication de nos résultats.

Les résultats des observations des œufs traitées du 5<sup>ème</sup> jour jusqu'au 22<sup>ème</sup> jour montrent, une déformation et un gonflement de la membrane des œufs traités avec différentes concentrations des nanoparticules d'oxyde de fer, de dioxyde de silice et de leurs mixture ; ceci peut être expliqué par la pénétration de ces molécules à travers la membrane, ce qui leurs permet de s'accumuler dans les cellules, nos résultats sont confirmés par l'étude de Gimbert qui a montré que, souvent les

xénobiotiques de nature métallique pénètrent facilement à l'intérieur de la cellule, ils peuvent s'accumuler et générer des processus cytotoxiques, ainsi que les travaux réalisés par **besnaci et al. (2016)** sur le développement embryonnaire des œufs d'*Helix aspersa* traités par les nanoparticules d'oxyde de fer.

Selon **Marigomez et al. (2002)** le transfert des éléments métalliques, à travers les membranes plasmiques cellulaires, s'effectue principalement par diffusion passive ou par des mécanismes nécessitant une énergie telle que le transport par des protéines membranaires, spécifiques ou non, ou par endocytose des molécules. Ils peuvent s'agglomérer et résider dans le cytoplasme ou atteindre le noyau à travers des pores nucléaires (**Asharani et al., 2009**). Ils peuvent également être déposés dans divers organites, tels que le lysosome, la matrice mitochondriale et le réticulum endoplasmique (**Geiser et al., 2005 ; Greulich et al., 2011 ; AshaRani et al., 2009 ; Vanwinkle et al., 2009**). De nombreux rapports ont montré leur existence dans le compartiment endolysosomal (**AshaRani et al., 2009**).

Concernant l'accumulation des nanoparticules à l'arrière de la coquille n'est pas un hasard, car cette partie c'est le site d'emplacement de l'hépatopancréas, les travaux de **Oberdorster et al. (2005)** montrent que les nanoparticules pouvaient franchir ces barrières de protection, se distribuer dans l'organisme et s'accumuler dans certains organes, principalement lors des expositions respiratoires ou digestives. Ainsi, chez *Helix pomatia*, suite à une exposition au Cd (**Berger et al., 1995**), 85% à 95% de cet ETM est retrouvé dans l'hépatopancréas (**Dallinger et Rainbow, 1993**). Une étude récente a démontré que l'exposition in vivo d'oxyde métallique provoque une inhibition des activités des nucléotidases dans l'hépatopancréas d'*H. aspersa* (**Gimbert et al., 2006**).

Alors que les résultats de suivi des retards d'éclosion chez *H. aspersa* apporte des informations supplémentaires sur la perturbation du processus de développement et/ou de l'éclosion comme cela a déjà été évoqué chez *Danio rerio* ou *M. cornuarietis* (**Hallare et al., 2005 ; Schirling et al., 2006**). les résultats de **Shih et al. (2016)** ont montré clairement que les agrégats de TiO<sub>2</sub> pourrait avoir un impact sur l'efficacité d'éclosion des embryons de poisson zèbre traités avec différentes concentrations de ces NPs (10, 20, 60, 120 mg/L) dans un mode d'essai par lots, l'éclosion a été inhibée à la capacité d'adsorption de TiO<sub>2</sub> la plus élevée.

Nos résultats sont en accord avec les travaux de (**Barjhoux et al., 2012**) réalisées sur des pontes d'escargots exposées à des concentrations de 2 à 6 mg/L de Cd pendant 20 jours et qui induit des retards d'éclosion jusqu'à 4 jours, une réduction du poids frais chez des jeunes éclos et une diminution significative du taux d'éclosion ont été également rapportés chez les embryons exposés à cette même concentration. D'autres espèces de limnées sont également utilisées en embryotoxicité comme chez *L. palustris* qui des expositions au Cd engendrent des retards

d'éclosion (**Coeurdassier et al., 2003**). Alors que **Yoo et al. (2016)** ont exposé des embryons de poisson zèbre à différentes concentrations de NPs d'Ag (30, 60, 120 et 240 nM) à 72 h, le taux d'éclosion n'a pas été significativement différent entre les groupes (témoin: 90%; NPs d'Ag 240 nm: 89%). **Iglesias et al. (2002)** ont montré des effets toxiques d'herbicides, de fongicides et de molluscicides sur les embryons de limaces grises (*Derocerasreticulatum*) en mesurant les retards d'éclosion et le taux de mortalité.

**Druart et al. (2010 ,2012)** ont montré que : Un transfert important du Cd du milieu d'exposition aux œufs a été souligné, affectant particulièrement l'albumine et les anomalies de l'embryogenèse dépendaient de la substance et de la concentration pris en considération chez les embryons non éclos.

## *Conclusion & perspectives*

### Conclusion & Perspectives

#### Conclusion

La production de nanoparticules (NPs) est réalisée à une échelle industrielle et elle connaît une croissance exponentielle depuis quelques années. La production et l'utilisation des nanomatériaux est en plein essor, ce qui entraîne leur déversement dans l'environnement.

Les gastéropodes terrestres *Helix aspersa* sont été utilisés car ce sont des indicateurs de la qualité des écosystèmes terrestres, ils sont connus par leur pouvoir accumulateurs et peuvent répondre à la pollution d'une manière sensible et mesurable. Ils sont donc employés comme des sentinelles de la pollution environnementale dans les sols contaminés par des polluants métalliques et organiques. Nous avons choisi d'évaluer la toxicité potentielle des nanoparticules (d'oxyde de fer, dioxyde de silice et de leur mixture) pendant la phase embryonnaire chez *H. aspersa*. En effet, cette phase est une excellente phase pour évaluer la toxicité de nos molécules, plusieurs paramètres peuvent être mesurés : Les déformations des membranes et l'accumulation des molécules ainsi que le succès d'éclosion.

Concernant les résultats trouvés dans ce travail, nous avons mis en évidence que les NPs métalliques (d'oxyde de fer, dioxyde de silice et de leur mixture) a des effets embryotoxiques sur le modèle biologique choisi (*H. aspersa*). Ses effets se manifeste avec des différentes formes pendant la phase embryonnaire, d'une part sur les œufs avant éclosion par déformation de la membrane et accumulation des molécules chez les traitées par les nanoparticules d'oxyde de fer et de la mixture. D'un autre part chez les traitées par les NPs de dioxyde de silice on peut observer seulement la déformation des œufs car. Alors que les retards d'éclosion sont marqués chez tous les groupes des traités.

### **Perspectives**

En perspectives, il sera souhaitable de développer cette recherche par :

- Réaliser une étude histologique des œufs.
- Observation des embryons par le microscope électronique.
- La mesure des concentrations en  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  et  $\text{SiO}_2$  dans les différents compartiments de l'œuf (albumen, coque).

# *Références Bibliographiques*

### A

- **Aitken RJ., Creely KS., Tran CL. 2004.** Nanoparticles: An Occupational Hygiene Review. Institute of Occupational Medicine. Health and Safety Executive (HSE). UK. Research Report 274. 113 p.
- **Akerman ME., Chan WCW., Laakkonen P., Bhatia SN., Ruoslahti K. 2002.** Nanocrystal targeting in vivo. *Proc Natl Acad Sci* 99 (20): 12617-21. Page d'accueil visionnée le 9/06/2005.
- **Amoudru C. 1991.** *Sclérodémie généralisée et inhalation de poussières mixtes contenant de la silice libre.* Documents pour le Médecin du Travail. 46. p 101-106.
- **Angélique S.D. 2008.** Effets biologiques des nanoparticules manufacturée influence de leur caractéristique. 5-18.
- **Anonyme. 2010.** Évaluation des risques liés aux nanomatériaux pour la population générale et pour l'environnement. Rapport d'expertise collective. Saisine no 005.
- **Asharani PV., Hande MP., Valiyaveettil S. 2009.** Anti-proliferative activity of silver nanoparticles. *BMC Cell Biol.* 10:65.
- **AshaRani PV., Mun LKG., Hande MP., Valiyaveettil S. 2009.** Cytotoxicity and genotoxicity of silver nanoparticles in human cells. *ACS Nano.* 3:279.
- **Auffan M., Shipley HJ., Yean S., Kan AT., et al. 2007.** Nanomaterials as Adsorbents. In: Wiesner. M. R. and Bottero. J. Y. Eds. *Environmental Nanotechnology.* Mc Graw Hill.
- **Aust SD et Thomas RL. 1985.** Role of metals in oxygen radical reactions. *Free. Rad. Biol. Med.* 1, 3-25.
- **Ayed M., 2007.** Elaboration des nanoparticules métalliques - le procédé polyol. Projet de Fin d'Etude Master 2. Université Paris Nord.

### B

- **Barbé C., Bartlett J., Kong L., Finnie K., Lin HQ., Larkin M., et al., 2004.** *Silica particles: A novel drug-delivery system.* *Adv. Mater.* 16.p 1-8.
- **Barillet S., et al., 2010.** *In vitro evaluation of SiC nanoparticles impact on A549 pulmonary cells: cyto-, genotoxicity and oxidative stress.* *Toxicol Lett.* 198 (3). 324-30.
- **Barjhoux I., Baudrimont M., Morin B., Landi L., Gonzalez P., Cachot J. 2012.** Effects of copper and cadmium spiked-sediments on embryonic development of Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 79, 272–282.

## Références Bibliographiques

---

- **Barker GM., 2001.** The Biology of terrestrial molluscs. Wallingford U.K, C.A.B. International. 558 p.
- **Barnes CA., Elsaesser A., Arkusz J., Smok A., Palus J., Lesniak A., et al ., 2008.** *Reproducible Comet assay of amorphous silica nanoparticles detects no genotoxicity.* Nano Letters.8. p 3069-3074.
- **Baurand PE. 2014.** Embryotoxicité de contaminants métalliques et organiques chez l'escargot *Helix aspersa*. Thèse de Doctorat en études de l'environnement. Université de Franche-Comté. France. 228p.
- **Bazzi R., 2002.** Nanoparticules luminescentes d'oxydes de terres rares, Synthèse et caractérisation de colloïdes ultrafins de sesquioxides d'yttrium et de gadolinium dopés (Eu,Tb, Nd).Thèse de doctorat. Université Claude Bernard - Lyon1.
- **Beaumont A., Cassier P., 1998.** Travaux pratiques de biologie animale. Zoologie Embryologie Histologie, Dunod, Paris. 502p.
- **Berger B., Dallinger R., Felder E., Moser J. 1995.**Budgeting the flow of cadmium and zinc through the terrestrial gastropod *Helix pomatia* L., In Ecotoxicology of metals in invertebrates. Ed Dallinger R. and Rainbow P.S. 291-313.
- **Berger B., Hunziker P., Hauer C., Birchler N., Dallinger R., 1995.** Mass-spectrometry and aminoacid sequencing of 2 cadmium-binding metallothioneine isoforms from the terrestrial gastropod *Arianta arbustorum*. Biochem. J. 311, 951–957.
- **Besnaci S., Bensoltane S., Zerari L., Chrairia S., Ait hamlet S., Berrebbah H. 2016.** Impact of Nanometric Iron Oxide in the Hepatopancreas of Terrestrial Gastropod *Helix Aspersa*: Histological Changes and Biochemical Parameters. Int J Pharm Sci Rev Res. 36(2):234-241.
- **Bich RC., Santos FCF., Gonçalves MFM., Soares AMVM., Amorim MJB. 2015.** Enchytraeid reproduction TestPLUS – hatching, growth and full life cycle test - an optional multi-end point test with *Enchytraeus crypticus*. Ecotoxicology 24,1053–1063.
- **Boczkowski J., Lanone S. 2010.** Nanoparticules :une prévention est-elle possible ?. Équipe 4, Inserm U955, faculté de médecine de Créteil, université Paris-Est, 8, rue du Général-Sarrail, 94000 Créteil, France.214-216.
- **Borm P., Klaessig FC., et al ., 2006.** Research strategies for safety evaluation of nanomaterials, Part V: Role of dissolution in biological fate and effects of nanoscale particles.Toxicol. Sci. 90.p 23-32.

- **Bride J., Gomot L. 1991.** Asynchronous development of the genital-tract during growth and reproduction in the snail, *Helix aspersa*. *Reproduction Nutrition Development*. 31(1): 81-96.
- **Bulpitt P., Aeschlimann D. 1999.** *Journal of Biomedical Materials Research* 47 p 152-169.

### C

- **C Kumar. 2006.** Biological and Pharmaceutical Nanomaterials. Nanotechnologies for life science. Ed. C. Kumar. Vol 2. Wiley-VCH Verlag. Weinheim.
- **Chabicoovsky M., Niederstatter H., thaler R Hodl E., Parson w., Rossmanith W., Dallinger R. 2014.** Mechanisms of cadmium Toxicity in terrestrial pulmonate programmed cell death and metallothioneins overload. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 23,648-655.
- **Chevalier L., Desbuquois C., Le Lannic J., Charrier M., 2001.** Poaceae in the natural diet of the snail *Helix aspersa* Müller (Gastropoda, Pulmonata). *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences - Series III - Sciences de la Vie*. 324(11): 979-987.
- **Chevallier H. 1982.** Facteurs de croissance chez des gasteropodes pulmones terrestres palearctiques en élevage. *Haliotis* 12, 29-46.
- **Chevallier H. 1992.** L'élevage des Escargots. Production et Préparation du Petit-Gris. 2ème édition. Edition du point vétérinaire. Maison-Alfort.
- **Cho M., Cho M., Choi S., Kim J., Han S., Kim H., et al. 2009.** The impact of size on tissue distribution and elimination by single intravenous injection of silica nanoparticles *Toxicol. Lett.* 189. P 177–183.
- **Christen V., Fent K., 2012.** Silica nanoparticles and silver-doped silica nanoparticles induce endoplasmic reticulum stress response and alter cytochrome P4501A activity *Chemosphere*. 87. P 423–434.
- **Cimato A., Piehl L., Facorro GB., Torti GB., Hager A. 2004.** *Free Radical Biology & Medicine* 37. 2042-2051.
- **Coeurdassier M., Gomot-De Vaufleury A., Badot PM. 2000.** Dose-dependent growth inhibition and bioaccumulation of hexavalent chromium in land snail *Helix aspersa aspersa*. *Environ. Toxicol. Chem.* 19, 2571–2578.
- **Coeurdassier M., Gomot-De Vaufleury A., Badot PM. 2003.** Bioconcentration of cadmium and toxic effects on life-history traits of pond snails (*Lymnaea palustris* and *Lymnaea stagnalis*) in laboratory bioassays. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 45, 102–109.

- **Coeurdassier M., Gomot-De Vaufleury A., Lovy C., Badot PM. 2002a.** Is the cadmium uptake from soil important in bioaccumulation and toxic effects for snails? *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 53,425–431.
- **Coeurdassier M., Gomot-De Vaufleury A., Saint-Denis M., Ribera D., Narbonne JF., Badot PM. 2002b.** Effects of dimethoate on snail B-esterase and growth as a function of dose, time and exposure route in a laboratory bioassay. *Biomark. Biochem. Indic. Expo. Response Susceptibility Chem.* 7, 138–150.
- **Coeurdassier M., Saint-Denis M., Gomot-De Vaufleury A., Ribera D., Badot PM. 2001.** The garden snail (*Helix aspersa*) as a bioindicator of organophosphorus exposure: effects of dimethoate on survival, growth, and acetylcholinesterase activity. *Environ. Toxicol. Chem. SETAC* 20, 1951–1957.
- **Cornell RM., Schwertmann U. 2003.** The iron oxides: structure, properties, reactions, occurrences and uses, Second Edition, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim.
- **Cudennec Y., Lecerf A. 2005.** Topotactic transformations of goethite and lepidocrocite into hematite and maghemite, *Solid State Sciences*, 7(5): 520-529.

### D

- **Daguzan J. 1981.** Contribution à l'élevage de l'escargot petit-gris : *Helix aspersa* Müller (mollusque gastéropode pulmoné stylommatophore). I. Reproduction et éclosion des jeunes en bâtiment et en conditions thermohygrométriques contrôlées. *Ann. Zootechn.*30. p.249-272.
- **Dallinger R., Berger B., Triebkorn-Köhler R., Köhler H. 2001.** Soil biology and ecotoxicology. *The biology of terrestrial molluscs*. Barker G.M. Oxon, CABI: 489- 525.
- **Dallinger R., Rainbow PS., 1993.** Ecotoxicology of metals in invertebrates.
- **De Vaufleury A., Coeurdassier M., Pandard P., Scheifler R., Lovy C., Crini N., Badot, PM. 2006.** How terrestrial snails can be used in risk assessment of soils. *Environ. Toxicol. Chem.* 25, 797–806.
- **Deckers. 2008.** Effets biologiques de nanoparticules manufactures: influence de leurs caractéristiques. Thèse de doctorat. Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement.
- **Dengxin L., Guolong G., Fanling M., Chong J. 2008.** Preparation of nano-iron oxide red pigment powders by use of cyanided tailings, *Journal of Hazardous Materials*, 155(1-2): 369-377.

- **Desforges A. 2004.** Nucléation et croissance de nanoparticules métalliques dans une matrice organique poreuse, application à la catalyse. Thèse de doctorat. Université Bordeaux I. p253.
- **Druart C., Scheifler R., de Vaufleury A. 2010.** Towards the development of an embryotoxicity bioassay with terrestrial snails: Screening approach for cadmium and pesticides. *J. Hazard. Mater.* 184, 26–33.
- **Druart C., Scheifler R., Millet M., de Vaufleury A. 2012.** Land snail eggs bioassays: A new tool to assess embryotoxicity of contaminants in the solid, liquid or gaseous phase of soil. *Appl. Soil Ecol.* 53, 56–64.

### E

- **Elsaesser A., Howard CV. 2011Sep8.** Toxicology of nanoparticles *Adv Drug Deliv Rev.*

### F

- **Fouda MFR., El-Kholy MB., Moustafa SA., Hussien AI., Wahba MA., El-Shahat MF. 2012.** Synthesis and characterization of nanosized Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> pigments, *International Journal of Inorganic Chemistry*, ID989281 (9p).
- **Fritsch C., Coeurdassier M., Gimbert F., Crini N., Scheifler R., de Vaufleury A. 2011.** Investigations of responses to metal pollution in land snail populations (*Cantareus aspersus* and *Cepaea nemoralis*) from a smelter-impacted area. *Ecotoxicol. Lond. Engl.* 20, 739–759.

### G

- **Gimbert F. 2000.** Modelling chronic exposure to contaminated soil: A toxicokinetic approach with the terrestrial snail *Helix aspersa*. *Environ. Int.* 32, 866–875.
- **Gimbert F., de Vaufleury A., Douay F., Coeurdassier M., Scheifler R., Badot PM., 2008.** Longterm responses of snails exposed to cadmium-contaminated soils in a partial life-cycle experiment. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 70, 138–146.
- **Gimbert F., de Vaufleury A., Douay F., Scheifler R., Coeurdassier M., Badot PM., 2006.** Modelling chronic exposure to contaminated soil: A toxicokinetic approach with the terrestrial snail *Helix aspersa*. *Environ. Int.* 32, 866–875.
- **Gomot A. 1997.** Effets des métaux lourds sur le développement des escargots. Utilisation des escargots comme bio-indicateurs de pollution par les métaux lourds pour la préservation de la santé de l'homme. *Bull. Acad. Natle.Méd.* 181. p.59-75.

- **Gomot A. 1998.** Toxic effects of cadmium on reproduction, development, and hatching in the freshwater snail *Lymnaea stagnalis* for water quality monitoring. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 41(3):288-297.
- **Gomot A., Gomot L., Boukraa S., Bruckert S. 1989.** Influence of soil on the growth of the land snail *Helix aspersa* - an experimental study of the absorption route for the stimulating factors. *Journal of Molluscan Studies*. 55: 1-7.
- **Gomot-de Vaufleury A. 2000.** Regulation of growth and reproduction. *The biology of terrestrial molluscs*. Barker GM. Oxon, CABI: 331-355.
- **Gomot-De Vaufleury A., Pihan F., 2000.** Standardized growth toxicity testing (Cu, Zn, Pb, and pentachlorophenol) with *Helix aspersa*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 46, 41–50.
- **Grara N., Boucenna M., Atailia A., Berrebbah H. & Djebbar M.R, 2012.** Stress oxydatif des poussières métalliques du Complexe Sidérurgique d'Annaba (Nord-Est algérien) chez l'escargot *Helix aspersa*. *Environnement, Risques & Santé*, 11(3): 221-229
- **Grara Nedjoud., Bouloudenine Manel., Khaldi Fadila., Zenir Zineb., Abdemadjid Selma. 2015.** Caractérisation Morphophysiological de la Toxicité du ZnO (Nanoparticule manufacturée) sur l'escargot l' *Helix aspersa* bio indicateur de pollution de l'environnement.
- **Grazyna Bystrzejewska-Piotrowska., Jerzy Golimowski., Pawel L. September 2009.** Urban, *Nanoparticles: Their potential toxicity, waste and environmental management* .Review Article.Waste Management. Volume 29. Issue 9. Pages 2587-2595. doi:10.1016j.wasman.04.001.

## H

- **Hallare AV., Schirling M., Luckenbach T., Köhler HR., Triebkorn R., 2005.** Combined effects of temperature and cadmium on developmental parameters and biomarker responses in zebrafish (*Danio rerio*) embryos. *J. Therm. Biol.* 30, 7–17.
- **Hansen SF., Larsen BH., Olsen SI., Baun A. 2009.** Categorization framework to aid hazard identification of nanomaterials. *Nanotoxicology* 1, 243-250.
- **Helix., Beaumont., Cassier. 1998.** Travaux Pratique de Biologie Animale. Zoologie. Embryologie. Histologie. 3ème édition DUNOD.
- **Hillyer JF., and Albrecht RM. 2001.** Gastrointestinal persorption and tissue distribution of differently sized colloidal gold nanoparticles. *J Pharm Sci*, 90, 1927-1936.

- **Hispard F., de Vaufleury A., Martin H., Devaux S., Cosson RP., Scheifler R., Richert L., Berthelot A., Badot PM. 2008b.** Effects of subchronic digestive exposure to organic or inorganic cadmium on biomarkers in rat tissues. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 70, 490–498.
- **Hu C.W., Li M., Cui Y.B., Li D.S., Chen J., Yang L.Y. 2010.** Toxicological effects of TiO<sub>2</sub> and ZnO nanoparticles in soil on earth worm *Eisenia fetida*. *Soil Biol Biochem.* 42: 586-91.

### I

- **Icon. 2008.** Towards Predicting Nano-Biointeractions: An International Assessment of Nanotechnology Environment. Health and Safety Research Needs. *International Council on Nanotechnology*. Number 4. May 1. 2008. 80 p.
- **Ierusalimsky VN., Balaban PM. 2001.** Ontogenesis of the snail, *Helix aspersa*: Embryogenesis timetable and ontogenesis of GABA-like immunoreactive neurons in the central nervous system. *J. Neurocytol.* 30, 73–91.
- **Iglesias J., Castillejo J., Ester A., Castro R., Lombardia MJ. 2002.** Susceptibility of the eggs of the field slug *Deroceras reticulatum* to contact with pesticides and substances of biological origin on artificial soil. *Ann. Appl. Biol.* 140, 53–59.
- **Ismert M., Oster T., Bagrel D. 2002.** Effects of atmospheric exposure to naphthalene.

### J

- **Jankowsda E., Lukaszewsda J. 2013.** Potential exposure to silver nanoparticles. During. Spaying. Preparation for air-conditioning. Clearing.
- **Jean Petit., Jacques Roire., Henri Valot. 2005.** *Encyclopédie de la peinture : formuler, fabriquer, appliquer*. 3. Puteaux EREC. 133sq. Oxydes de fer naturels. Oxyde de fer synthétiques.
- **Johnston HJ., Hutchison GR., Christensen FM., Peters S., Hankin S., Stone V. 2009.** Identification of the mechanisms that drive the toxicity of TiO<sub>2</sub> particulates, the contribution of physicochemical characteristics. *Part Fibre Toxicol.* 6:33-60.
- **Jugan M.L., Barillet S., Simon-Deckers A., Herlin N., Sauvaigo S., Douki T.Sd.** Titanium dioxide nanoparticles induce genotoxic effects and impair DNA repair activity in vitro. *Nanotoxicology sous presse*.

### K

- **Kerney M., Cameron R., Bertrand A. 2006.** A field guide to the land snails of Britain and north-west Europe, French ed. Paris, Delachaux et Niestlé SA. 97 p.

- **Khan M., Sarwar M., A., Nisa M. 2005.** Chemical composition and feeding value of urea-treated corncobs ensiled with additives for sheep. *Aust. J. Agric. Res.* 56 (7): 685-690.
- **Khan MJ., Drochner W., Steingass H., Islam KMS. 2008.** Nutritive evaluation of some tree leaves from Bangladesh for feeding ruminant animals. *Indian J. Anim. Sci.* 78 (11): 1273-1277.
- **Khedr MH., Abdel Halim KS., Nasr MI., El-Mansy AM. 2006.** Effect of temperature on the catalytic oxidation of CO over nano-sized iron oxide, *Materials Science and Engineering: A*, 430(1-2): 40-45.

### L

- **Lahmani M., Marano F., P Houdy. 2009.** Les nanosciences for Nanotoxicologie et nanoéthique. Beltin à paraître.
- **Lapied E., Moudilou E., Exbrayat J.M., Oughton H., Joner E.J. 2010.** Silver nanoparticle exposure causes apoptotic response in the earthworm *Lumbricus terrestris* (Oligochaeta). *Nanomedicine.* 5:975-84.
- **Li C., Shen Y., Jia M., Sheng S., Adebajo MO., Zhu H. 2008.** Catalytic combustion of formaldehyde on gold/iron-oxide catalysts, *Catalysis Communications*, 9(3): 355-361.
- **Lowry GV and Johnson KM. 2004.** Congener-Specific Dechlorination of Dissolved PCBs by Microscale and Nanoscale Zerovalent Iron in a Water/Methanol Solution. *Environmental Science & Technologie.* 38(19): 5208-5216.

### M

- **Mahajan D., Gütlich P., Stumm U. 2003.** The role of nano-sized iron particles in slurry phase Fischer–Tropsch synthesis, *Catalysis Communications*, 4(3): 101-107.
- **Manzl C., Krumschnabel G., Schwarzbaum PJ., Dallinger R. 2004.** Acute toxicity of cadmium and copper in hepatopancreas cells from the Roman snail. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol.* 138(1):45-52. IF: 2.6.
- **Marasco F., Murciano C. 2003.** Les escargots. *Elevage.* Paris, Editions de Vecchi. 103 p.
- **Marigomez I., Soto M., Cajaraville MP., Angulo E et Giamberini L. 2002.** Cellular and subcellular distribution of metals in molluscs. *Microscopy Research and Technique*, 56(5) :358-392
- **Michalet X., Pinaud FF., Bentolila LA., Tsay JM., Doose S., Li JJ., Sundaresan G., Wu AM., Gambhir SS., Weiss S. 2005.** Quantum Dots for Live Cells. in Vivo Imaging. and Diagnostics. *Science.* 307 (5709): 538 – 544.

- **Monfort F., Lecomte J. Janvier 2008.** Les applications des nanotechnologies. Revue Sirris driving industry by technology 2 Bruxelles. p 185-189-190.
- **Mufti N., Atma T., Fuad A., Sutadji E. 2014.** Synthesis and characterization of black, red and yellow nanoparticles pigments from the iron sand, AIP Conferences Proceedings, 1617: 165-169.

### N

- **Napierska D., Thomassen LC., Lison D., Martens JA., P H. 2010.** The nanosilica hazard: an-other variable entity. Part. Fibre Toxicol.7. p 39.
- **Nelson SM., Mahmoud T., Beaux M., Shapiro P., McIlroy DN., Stenkamp DL. 2010.** *Toxic and teratogenic silica nanowires in developing vertebrate embryos*, Nanomedicine-Nanotechnology Biology and Medicine. 6. p 93-102.
- **Ngomsik AF., Bee A., Draye M., Cote G and Cabuil V. 2005.** Magnetic nano- and microparticles for metal removal and environmental applications: a review. Comptes Rendus Chimie. 8(6-7): 963.
- **Notten M., Oosthoek A., Rozema J., Aerts R., 2006.** Heavy metal pollution affects consumption and reproduction of the land snail *Cepaea nemoralis* fed on naturally polluted *Urtica dioica* leaves. Ecotoxicology 15. 295- 304.

### O

- **Oberdorster G., Oberdorster E and Oberdorster j. 2005.** Nanotoxicology. An Emerging Discipline Evolving from Studies of Ultrafine Particles. Environmental Health Perspectives, 113(7).
- **Ostiguy C., Lapointe G., Ménard L., Cloutier Y., Trottier M., Boutin M., Antoun M., and NormandC. 2006.** Les nanoparticules. connaissances actuelles sur les risques et les mesures de prévention en santé et en sécurité du travail. Technical report, IRSST – Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail.
- **Ostiguy C., Soucy B., Lapointe G., Woods C., and Ménard L. 2008.** Les effets sur la santé reliés aux nanoparticules. Technical report, IRSST – Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail.

### P

- **Pailhé N., Wattiaux A., Gaudon M., Demourgues A. 2008.** Impact of structural features on pigment properties of  $\alpha$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> haematite, *Journal of Solid State Chemistry*, 181(10): 2697-2704.
- **Park EJ., J Yi., KH Chung., DY Ryu., J Choi and K Park. 2003.** "Oxidative stress and apoptosis induced by titanium dioxide nanoparticles in cultured BEAS-2B cells." *Toxicol Lett* 180(3): 222-229.
- **Piccirillo C., Rocha C., Tobaldi DM., Pullar RC., Labrincha JA., Ferreira MO., Castro PML., Pintado MME. 2014.** A hydroxyapatite–Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> based material of natural origin as an active sunscreen filter, *Journal of Materials Chemistry B*, 2(36): 5999-6009.
- **Pietroock M., Meinelt T., Marcogliese DJ. 2008.** Effects of cadmium exposure on embryogenesis of *Stagnicola elodes* (Mollusca, Gastropoda): Potential consequences for parasite transmission. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 55(1):43-48.

### R

- **Racuciu M., & Creanga D., & Olteanu Z. 2009.** Water Based Magnetic Fluid Impact on Young Plants Growing. *Romain Reports in Physics*. 61(2). 259-268.
- **Ramesh R., Kavitha P., Kanipandian N., Arun S., Thirumurugan R., Subramanian P. 2013.** Alteration of antioxidant enzymes and impairment of DNA in the SiO<sub>2</sub> nanoparticles exposed zebra fish (*Danio rerio*). *Environ. Monit. Assess.* 185 (7), 5873–5881. <http://dx.doi.org/10.1007/s10661-012-2991-4>.
- **Regoli F., Gorbi S., Fattorini D., Tedesco S., Notti A., Machella N., Bocchetti R., Benedetti M., Piva F. 2006.** Use of the land snail *Helix aspersa* as sentinel organism for monitoring ecotoxicologic effects of urban pollution: An integrated approach. *Environ. Health Perspect.* 114,63–69.
- **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: 1620–1628.
- **Russell LK., DeHaven JI., Botts RP. 1981.** Toxic effects of cadmium on the Garden snail (*Helix aspersa*). *Bull. Environm. Contam. Toxicol.* 26, p.634-640.

### S

- **Sarah TRIBOULET.2013.** Etude des effets de deux types de nanoparticules métalliques sur des macrophages murins par une approche protéomique, l'université de Grenoble. 341p
- **Scheifler R. 2002.** Evaluation de la biodisponibilité et des transferts de polluants métalliques et organiques dans des réseaux trophiques "sols - plantes - invertébrés". Thèse de l'Université de Franche-Comté, n°916.
- **Scheifler R., Ben Brahim M., Gomot-de Vaufleury A., Carnus JM., Badot PM. 2003.** A field method using microcosms to evaluate transfer of Cd, Cu, Ni, Pb and Zn from sewage sludge amended forest soils to *Helix aspersa* snails. Environ. Pollut. 122, 343–350.
- **Scheifler R., de Vaufleury A., Coeurdassier M., Crini N., Badot PM. 2006.** Transfer of Cd, Cu, Ni, Pb, and Zn in a soil-plant-invertebrate food chain: a microcosm study. Environ. Toxicol. Chem. 25, 815–822.
- **Scheifler R., Gomot-de Vaufleury A., Badot PM. 2002a.** Transfer of cadmium from plant leaves and vegetable flour to the snail *Helix aspersa*: Bioaccumulation and effects. Ecotoxicol. Environ. Saf. 53, 148–153.
- **Scheifler R., Gomot-de Vaufleury A., Toussaint ML., Badot PM. 2002b.** Transfer and effects of cadmium in an experimental food chain involving the snail *Helix aspersa* and the predatory carabid beetle *Chrysocarabus splendens*. Chemosphere 48, 571–579.
- **Schirling M., Bohlen A., Triebkorn R., Köhler HR. 2006.** An invertebrate embryo test with the apple snail *Marisa cornuarietis* to assess effects of potential developmental and endocrine disruptors. Chemosphere 64, 1730–1738.
- **Schroeder ID., WJ Sydeman, N Sarkar., SA. Thompson SJ., Bograd and FB Schwing. 2009.** Winter pre-conditioning of seabird phenology in the California Current, Mar. Eco.l Prog. 2009, Ser., 393, 211–223.
- **Scott-Fordsmand J., Krogh P., Schaefer M., Johansen A. 2008.** The toxicity testing of double walled nanotubes-contaminated food to Eisenia veneta earthworms. Ecotoxicol Environ Saf. 71:616-9.
- **Shaikh, M., Satanami, M., Ranganath, K. V. S., 2014,** Efficient aerobic oxidation of alcohols using magnetically recoverable catalysts, Catalysis Communications, 54: 91-93.
- **Shen L., Qiao Y., Guo Y., Tan J. 2013.** Preparation and formation mechanism of nano-iron oxide black pigment from blast furnace flue dust, Ceramics International, 39(1): 737-744.
- **Shih et al. 2016.** The effect of nano-scale Zn-doped TiO<sub>2</sub> and pure TiO<sub>2</sub> particles on *Hydra magnipapillata*. Molecular & Cellular Toxicology. 2010; 6(1):9-17.

- **Simon A., Reynaud C., Mayne M., Herlin N., Desqueyroux H., Gouget B., et al., 2007.** In vitro investigation of SiO<sub>2</sub>, Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> Au nanoparticles and multi-walled carbon nanotubes cyto and genotoxicity on lung kidney cells and hepatocytes. *Toxicology Letters* 172: S36.
- **Simon-Deckers A., le 5 décembre 2008.** Effets biologiques de nanoparticules manufacturées: influence de leurs caractéristiques. *Thèse de doctorat*.
- **Sobral O., Chastinet C., Nogueira A., Soares AMVM., Gonçalves F et Ribeiro R. 2001.** In vitro development of parthenogenetic eggs: A fast ecotoxicity test with *Daphnia magna*? *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 50 (3) 174-179.
- **Sreeram KJ., Indumathy R., Rajaram A., Nair BU., Ramasami T. 2006.** Template synthesis of highly crystalline and monodisperse iron oxide pigments of nanosize, *Materials Research Bulletin*, 41(10): 1875-1881.

### T

- **Taylor EJ., Maund SJ., Pascoe D. 1991.** Toxicity of four common pollutants to the freshwater macroinvertebrates *Chironomus riparius* Meigen (Insecta: Diptera) and *Gammarus pulex* (L.) (Crustacea: Amphipoda). *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 21. P 371–76.
- **Teja AS., Koh PY. 2009.** Synthesis, properties, and applications of magnetic iron oxide nanoparticles, *Progress in Crystal Growth and Characterization of Materials*, 55(1-2): 22-45.
- **Tomalia DA. 2004.** Birth of a new macromolecular architecture: dendrimers as quantized building blocks for nanoscale synthetic organic chemistry. *Aldrichimica Acta* 37 (2): 39-57. Page d'accueil visionnée le 8/06/2005.
- **Truffault L., Choquenot B., Konstantinov K., Devers T., Couteau C., Coiffard LJM. 2010.** Synthesis of nano-hematite for possible use in sunscreens, *Nanoscience and Nanotechnology*, 10: 1-8.
- **Tu J., Ding M., Zhang Y., Li Y., Wang T., Ma L., Wang C., Li X. 2015.** Synthesis of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>-nanocatalysts with different morphologies and its promotion on shifting C<sub>5</sub>+ hydrocarbons for Fischer–Tropsch synthesis, *Catalysis Communications*, 59: 211-215.

### U

- **Ung D. 2005.** Nanoparticules métalliques anisotropes synthétisées par voie chimique, fils, plaquettes et particules hybrides de cobalt-nickel, propriétés structurales et magnétiques ; fils d'argent auto-organisés. *Thèse de doctorat*. Université Paris p 7.

- **Ungeller D. 2005.** Nanoparticules métalliques anisotropes synthétisées par voie chimique : fils, plaquettes et particules hybrides de cobalt-nickel, propriétés structurales et magnétiques ; fils d'argent auto-organisés. Thèse de doctorat. Université Paris 7.p356.
- **Unrine J.M., Hunyadi S.E., Tsyusko O.V., Rao W., Shoults-Wilson W.A., Bertsch P.M. 2010a.** Evidence for bioavailability of Au nanoparticles from soil and biodistribution within earth worms *Eisenia fetida*. *Environ Sci Technol.* 44:8308-13.

### V

- **Vanwinkle BA., Mesy Bentley KL., Malecki JM., Gunter KK., Evans IM., Elder A et al. 2009.** Nanoparticle (NP) uptake by type I alveolar epithelial cells and their oxidant stress response. *Nanotoxicology.* 3:307.
- **Vetrone F., Variola F., Tambasco de Oliveira P., Zalzal SF., Yi JH., Sam J., et al. 2009.** Nanoscale oxidative patterning of metallic surfaces to modulate cell activity and fate. *Nano Lett.* 9:659-665.

### W

- **Wagloehner S., Baer JN., Kureti S. 2014.** Structure–activity relation of iron oxide catalysts in soot oxidation. *Applied Catalysis B: Environmental,* 147: 1000-1008.
- **Watson C., Ge J., Cohen J., Pyrgiotakis G., Engleward B., Demokritou P. 2014.** High-Throughput Screening Platform for Engineered Nanoparticle-Mediated Genotoxicity Using Comet Chip Technology. *ACS Nano* in press DOI: 10.1021/nn404871.p123.
- **Wei Zheng., Zhenyu Li., Hongnan Zhang., Wei Wang., Yu Wang., Ce Wang . 2009.** Electrospinning route for  $\alpha$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> ceramic nanofibers and their gas sensing properties. *Materials Research Bulletin* 44.
- **Wei-xian Z., Cohen J., Pyrgiotakis G. 2003.** Nanoscale Iron Particles for Environmental Remediation: An Overview. *J. Nanoparticle Research.* V5 (3): 323.
- **Win KY., Feng SS. 2005.** Effects of particle size and surface coating on cellular uptake of polymeric nanoparticles for oral delivery of anticancer drugs. *Biomaterials.*

### X

- **Xie G., Sun J., Zhong G., Shi L., Zhang D. 2010.** Biodistribution and toxicity of intravenously administered silica nanoparticles in mice. : 183-90. doi: 10.1007/s00204-009-0488-x.

- **Xue X., Hanna K., Abdelmoula M., Deng N. 2009.** Adsorption and oxidation of PCP on the surface of magnetite: kinetic experiments and spectroscopic investigations, *Applied Catalysis B: Environmental*. 89(3-4): 432-440.

### Y

- **Yang Y., Gehrke S., Haque ME., Imai Y., Kosek J., Yang L., Beal MF., Nishimura I., Wakamatsu K., Ito S., Takahashi R., Lu B. 2005.** Inactivation of Drosophila DJ-1 leads to impairments of oxidative stress response and phosphatidylinositol 3-kinase/Akt signalling.
- **Yeo MK., Kang M. 2010.** The effect of nano-scale Zn-doped TiO<sub>2</sub> and pure TiO<sub>2</sub> particles on *Hydra magnipapillata*. *Molecular & Cellular Toxicology*. 6(1):9-17.
- **Yoo M.H., Rah Y.C., Choi J., Park S., Park H.C., Oh K.H. et al. 2016.** Embryotoxicity and hair cell toxicity of silver nanoparticles in zebrafish embryos. *International journal of pediatric otorhinolaryngology*. 83:168-174.

### Z

- **Zhang W., Chen J., Wang X., Qi H., Peng K. 2009.** Self assembled threedimensional flowerlike  $\alpha$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanostructures and their application in catalysis, *Applied Organometallic Chemistry*, 23(5): 200-203.
- **Zhang Y., Moqtaderi Z., Rattner BP., Euskirchen G., Snyder M., Kadonaga JT., Liu XS., Struhl K. 2010 .** Intrinsic histone-DNA interactions are not the major determinant of nucleosome positions in vivo. *Nat Struct Mol Biol*.
- **Zheng W., Zhenyu Li., Hongnan Zhang., Wei Wang., Yu Wang., Ce Wang. 2008.** Electrospinning route for  $\alpha$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> ceramic nanofibers and their gas sensing properties, *Materials Research Bulletin* 44.

### Références webgraphiques

<http://www.dowagro.com/turf/prod/spinb.htm>

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003450908000989>

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0985056214706351>