

République Algérienne Démocratique 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
Département de Biologie Appliquée

MÉMOIRE

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de MASTER

En : Sciences Biologiques

Spécialité : Toxicologie

Etude du métabolisme biochimique chez un
invertébré terrestre exposé à un pyréthrianoïde
largement utilisé en Algérie

Présente par:

CHABBI Ouarda

LEMOUCHEI Zaineb

Devant le jury

Dr. BOUZARAA Hayette	M.C.B.	Université de Tébessa	Président
Dr. AMAMRA Rima	M.C.B.	Université de Tébessa	Rapporteur
M ^{elle} . BEN-AMARA Amel	M.A.A.	Université de Tébessa	Examineur

Date de soutenance : 19/06/2019

Remerciement

Nous remercions tout d'abord Allah le tout puissant, pour nous avoir donnée la force et la patience, la santé et la volonté pour réaliser ce modeste travail. Car l'homme propose mais Dieu dispose. Seigneur, veille toujours diriger nos pas.

Toute notre reconnaissance pour le Dr. Bouzeraa H. d'avoir accepté de présider le jury.

Nous avons la reconnaissance et la gratitude à remercier DR :AMAMRA RYMA. notre encadreur, qu'elle trouve ici l'expression de notre profonde reconnaissance pour nous avoir guidées dans notre travail, et pour sa confiance, son soutien, et surtout Pour ces grandes qualités humaines

J'adresse mes sincères remerciements à Mme BEN AMARA AMEL ; d'avoir accepté d'examiner ce mémoire et sa gentillesse.

Nous remercions également M.Hassan pour son aide

Oaurda et Zainbe

dédicace

Prière et bénédiction d'Allah sur le prophète Mohamed, paix et salut sur lui, le seau des prophètes, ainsi que ses compagnons, pour nous avoir apporté une religion comme l'Islam.

J dédie ce modeste travail :

A mes parents, pour leur aide moral et affectif durant toutes les années de mes études. Que dieu les préserve et leur accorde santé et bonheur. Qu'ils trouvent dans ce mémoire le fruit de mes années d'études et le témoignage de mes reconnaissances.

A toute la famille Chabbi ,Saadoud. ,Azizi et CHamek.

A ma chère amie kenza latreche.

A tous mes amis(es) sans exception.

OUARDA



Dédicace

Je remercie Dieu pour sa générosité qui m'a permis d'accomplir ce travail grâce à lui, et il le loue avant tout.

À l'esprit de la grand-mère décédée Moussaoui Khadija

Je dédie chère grand-mère et à son esprit pur et perdu, qui a joué un rôle important dans le soutien de ses petits-enfants et de ses enfants, grâce à son jugement avisé et à ses conseils, qui ont été un moyen efficace d'atteindre ce que je suis maintenant, Que Dieu ait pitié de toi.

A ma cher famille

Je dédie les facteurs les plus importants Mes chers parents , de mon père et de mon professeur lemouchi Mohamed , de ma mère et de mon professeur, yalouli Taika , d'être restés à mes côtés tout au long de mes études et de me fournir tout l'appui et les encouragements nécessaires pour mener à bien mon parcours d'excellence et de réussite, malgré les circonstances et les défis auxquels j'ai été confronté.

Je remercie tous les membres de ma petite et chère famille, ma sœur Roukaya et mes frères Jamel El Din et Abdel Ghafour pour leurs encouragements constants.

A mon docteur de mémoire

Amamra Rima qui m'a beaucoup appris sur les défis à relever dans le monde des affaires. Elle a partagé ses connaissances et expériences dans ce milieu, tout en m'accordant sa confiance et une large indépendance dans

l'exécution de missions valorisantes , je remercie pour sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter ma réflexion.

A toutes les personnes qui ont contribué au succès de mon mémoire et qui m'ont aidée lors de la rédaction de ce mémoire.

Je remercie mon amie Chabbi Ouarda d'être restée à mes côtés ces cinq dernières années et de me soutenir, ainsi que sa participation à cette réalisation, et j'ai tout mon amour et mon respect, À tous ces intervenants, je présente mes remerciements, mon respect et ma gratitude.

Lemouchi Zaineb

Résumé

La présente étude porte sur l'évaluation des effets toxiques potentiels de la Cyperméthrine, un pyréthrianoïde de type II, largement utilisé en Algérie, sur un organisme bio-accumulateur /bio-indicateur de pollution: *Helix aspersa*.

L'exposition aux concentrations croissantes de Cyperméthrine, à savoir, 5; 10; 20 et 40 µg/l a mis en évidence des perturbations physiologiques et biochimiques illustrées par une diminution non significative du poids moyen de l'hépatopancréas et de celui du rein ainsi qu'une augmentation dose dépendante et significative de la teneur en protéines totales.

Le suivi des bio-marqueurs montre une déplétion dose dépendante et hautement significative du taux de glutathion (GSH) parallèlement à une augmentation du taux de malondialdéhyde (MDA), indice de peroxydation lipidique.

L'ensemble des résultats obtenus indique le déclenchement du système de détoxification afin de faire face au stress oxydatif occasionné.

Mots clés: Cyperméthrine, *Helix aspersa*, Stress Oxydant, Bio-marqueurs, Métabolisme Biochimique, Hépatopancréas.

abstract

The present study focuses on the assessment of the toxicity of insecticide (cypérmétherine) on a bio-accumulator / bio-indicator of pollution: *Helix aspersa*.

Exposure to increasing concentrations of cypermethrin, 5; 10; 20 and 40 µg / l demonstrated physiological and biochemical disturbances illustrated by a non-significant decrease in the mean weight of hepatopancreas and kidney as well as a dose-dependent and significant increase in the total protein content.

Biomarker monitoring showed a highly dependent depletion of glutathione (GSH), associated with an increase in malondialdehyde (MDA), a lipid peroxidation index.

All the results obtained indicate the triggering of the detoxification system in order to cope with the oxidative stress caused.

Keywords: cypérmétherine , *Helix aspersa*, Oxidative Stress, Biomarkers, , Biochemical Metabolism, Hepatopancreas,

ملخص

تركز هذه الدراسة على تقييم لتأثيرات السمية المحتملة لمبيد الحشرات cypérmetherine على الكائنات العضوية المخزنة والدا لة على تلوث المحيط *Helix aspersa*:

التعرض لتركيزات متزايدة من cypérméthrine ، 5 ؛ 10 ؛ 20 و 40 ميكروغرام / لتر اضهر اضطرابات فسيولوجية كيميوية و التي تتضح في انخفاض غير مهم في متوسط الوزن من البنكرياس الكبدي والكلية وكذلك زيادة تعتمد على الجرعة وزيادة كبيرة في محتوى البروتين الكلي.

أظهرت مراقبة العلامات الحيوية تناقصا شديداً و بدرجة كبيرة لمستويات (GSH)glutathion بالتزامن مع زيادة في (malondialdehyde (MDA ، وهو مؤشر بيروكسيد الدهون

تشير جميع النتائج التي تم الحصول عليها على تفعيل النظام المضاد للاكسدة

الكلمات المفتاحية . *Helix aspersa*، cypérméthrine ، الاجهاد التاكسدي ، المؤشرات الحيوية، الأيض الكيميائي الحيوي، البنكرياس الكبدية

Table des matières

Table des matières

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

CHAPITRE 01 : INTRODUCTION GENERAL

	Introduction	01
1	Généralité sur les pesticides	03
1.1	Historique	03
1.2	Classification des pesticides	03
1.2.1	Classification selon la nature de la cible visée	03
1.2.2.1	Les pesticides organiques	03
1.2.2.2	Les pesticides inorganiques	04
1.2.2.3	Les Biopesticides	05
1.3	Toxicologie et Ecotoxicologie des pesticides	05
1.3.1	Impacts sur la santé humaine	05
1.3.2	Impact sur la biodiversité	05
2	Généralité sur les pyréthrinoides	06
2.1	Caractéristiques structurelles et physico-chimiques	07
2.2	Mode d'action	08
3	Bioindication et biomarqueurs	09
3.1	Bioindication	09
3.2	Biomarqueurs	09
3.3	Les gastéropodes terrestres <i>Helix aspersa</i> comme bioindicateur	10

Table des matières

CHAPITRE 02 :MATERIEL ET METHODES

1	Matériel biologique	12
1.1	Anatomie d' <i>Helix aspersa</i>	12
1.2	Rythme d'activité	13
1.3	Estivation et hibernation	13
1.4	Croissance	14
1.5	Reproduction	14
2	Matériel chimique	15
3	Méthodes	15
3.1	Conditions d'élevage	15
3.2	Mode de traitement	15
3.3	Dissection et prélèvement de l'hépatopancréas	15
3.4	Paramètres étudiés	17
3.4.1	Paramètres physiologiques	17
3.4.	Évolution du poids moyen des organes: hépatopancréas et rein	17
3.4.2	Paramètres biochimiques	17
3.4.2.1	Détermination du taux des protéines totales	18
3.4.2.2	Détermination du taux de glutathion (GSH)	18
3.4.2.3	Quantification du taux de malondialdéhyde (MDA)	18
		19

CHAPITR 03 : RESULTATS

1	Effet du traitement par des concentrations croissantes de Cyperméthrine sur certains paramètres physiologiques chez <i>Helix aspersa</i>	20
1.1	Effet des concentrations croissantes de la Cyperméthrine sur l'évolution du poids moyen de l'hépatopancréas des escargots <i>Helix aspersa</i> après deux semaines de traitement	20
1.2	Effet des concentrations croissantes de la Cyperméthrine sur l'évolution du poids moyen du rein des escargots <i>Helix aspersa</i> après deux semaines de traitement	21
2	Effet du traitement par des concentrations croissantes de Cyperméthrine sur certains paramètres biochimiques chez <i>Helix aspersa</i>	22
2.1	Effet des concentrations croissantes de la Cyperméthrine sur l'évolution du taux	22

Table des matières

	des protéines totales au niveau de l'hépatopancréas des escargots <i>Helix aspersa</i> après deux semaines de traitement	
2.2	.Effet des concentrations croissantes de Cyperméthrine sur l'évolution du taux de glutathion (GSH) au niveau de l'hépatopancréas des escargots <i>Helix aspersa</i> après deux semaines de traitement.	23
2.3	Effet des concentrations croissantes de Cyperméthrine sur l'évolution du taux de malondialdéhyde (MDA) au niveau de l'hépatopancréas des escargots <i>Helix aspersa</i> après deux semaines de traitement	24

CHAPITR 04 :DISCUSSION

	Conclusion et perspective	28
--	---------------------------	----

	CHAPITR 05 : REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	30
--	-------------------------------------------------	----

Liste des tableaux

liste des tableaux

N°	Titre	page
01	classification des pesticides selon la cible visée	04
02	Caractéristiques physicochimiques et structure moléculaire de la Cyperméthrine	16
03	Répartition des concentrations de cyperméthrine	16

Liste des figures

liste des figures

N°	Titre	page
01	Structures chimiques de quelques pesticides:	03
02	Devenir des pesticides dans l'environnement	06
03	Structures de quatorze pyréthrinoïdes	07
04	Mode d'Action des pyréthrinoïdes sur les neurones	08
05	<i>Helix aspersa</i>	12
06	Anatomie de l'escargot	13
07	Dissection et prélèvement de l'hépatopancréas	17
08	Evolution du poids moyen des hépatopancréas d' <i>Helix aspersa</i> exposés aux concentrations croissantes de Cyperméthrine	20
09	Evolution du poids moyen des reins d' <i>Helix aspersa</i> exposés aux concentrations croissantes de Cyperméthrine	21
10	Evolution du taux des protéines totales au niveau de l'hépatopancréas d' <i>Helix aspersa</i> exposé aux concentrations croissantes de Cyperméthrine	22
11	Evolution du taux du GSH au niveau de l'hépatopancréas d' <i>Helix aspersa</i> exposé aux concentrations croissantes de Cyperméthrine	23
12	Evolution du taux de MDA au niveau de l'hépatopancréas d' <i>Helix aspersa</i> exposé aux concentrations croissantes de Cyperméthrine	24

liste des abréviations

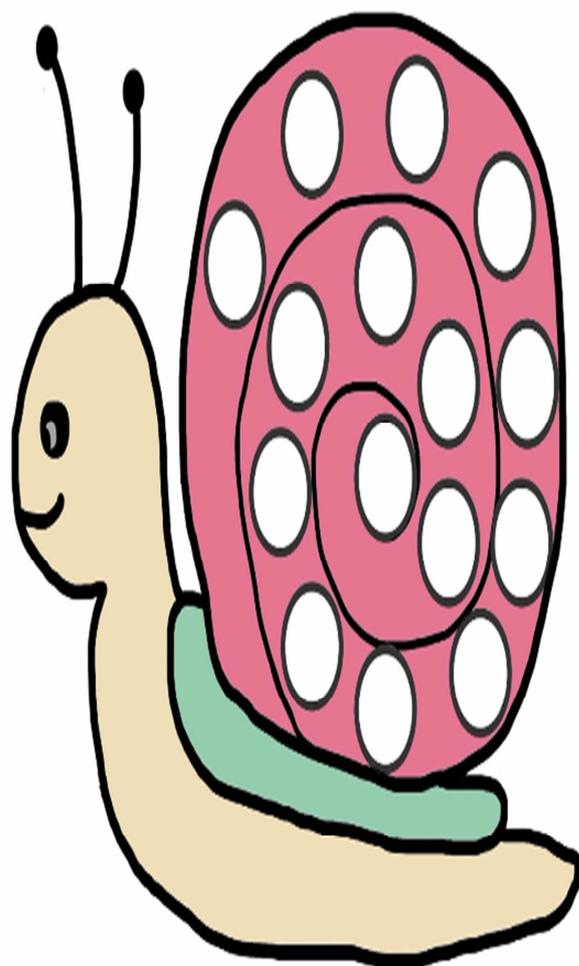
liste des abreviations

N	TITRE
4-HNE	4- hydroxynonéal
ARN	l'acide ribonucléique
ADN	l'acide désoxyribonucléique
GPx	la glutathion peroxydase
GST	la glutathion s-transférase
GSSG	La disulfure de glutathion (la forme oxydé du glutathion)
ROS	Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant
ERO	Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant
TBA	acide thiobarbiturique
-SH	groupements thiol
DTNB	acide 5-5'-dithio-bis-2-nitrobénzoïque
BSA	l'Albumine Sérum de Bœuf
BBC	bleu brillant de commassie
MDA	Malondialdéhyde
GSH	Glutathion
HAPs	Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques
GABA	acide gamma-aminobutyrique
AFPDB	Association française des produits d'investissement de détail et de bourse
ARLA	Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire.
INSERM	Institut national de la santé et de la recherche médicale .
OMS	Organisation Mondiale de la Santé

Chapitre 01 :

Introduction

Générale



Introduction

Depuis plusieurs décennies, la communauté scientifique a pris conscience des dangers de l'emploi massif des pesticides, tant pour la santé humaine que pour l'environnement. La caractérisation des risques engendrés par ces polluants est donc devenue un « Enjeu écotoxicologique » majeur (**Frenske et al., 2002**).

L'évaluation éco-toxicologique porte sur le fonctionnement de l'écosystème tel que déterminé par la survie et le bien-être de toutes les espèces dans un écosystème spécifique. Il est supposé que la protection des espèces protège la structure des écosystèmes et donc leur fonctionnement (**Frenske et al., 2002**).

Selon des travaux de recherche ultérieurs, la contamination par les pesticides, même à petites doses, induit notamment avec le temps, des effets néfastes sur la santé des populations, soit par une exposition directe à ces polluants (toxicologie expérimentale, suicide), soit indirectement (exposition accidentelle) via les matrices alimentaires par exemple (**Mnif et al., 2011; Bonvallot, 2014**),

Il y a également une inquiétude grandissante concernant l'utilisation des pesticides pyréthrinoïdes en santé mondiale. C'est un problème d'envergure dans les pays en voie de développement où l'encadrement législatif est moindre. Ces pesticides étant efficaces et peu coûteux, ils sont universellement employés comme insecticides pour la lutte contre la malaria (**Alonso et Tanner, 2013**).

Au temps des guerres napoléoniennes, on connaissait déjà les propriétés insecticides d'extraits de fleurs de chrysanthèmes — les pyréthrine — qui servaient à soulager les soldats de leurs poux. Toutefois, comme l'effet de ces extraits était de courte durée, les chimistes ont modifié les pyréthrine naturelles pour les rendre plus puissantes et persistantes. C'est ainsi que sont nés les pyréthrinoïdes de synthèse. Aujourd'hui, des centaines de pesticides contenant des pyréthrinoïdes sont homologués dans le monde (**Khatre, 2012**).

L'utilisation des pyréthrinoïdes en agriculture, en élevage ainsi que dans les habitats entraîne une exposition environnementale plus importante. De plus, l'augmentation de l'utilisation des pyréthrinoïdes consécutive à l'élimination graduelle de nombreux

CHAPITRE 01 : INTRODUCTION GENERALE

organophosphorés et organochlorés contribue à l'augmentation de l'exposition à ces composés (**Belleville *et al.*, 1997**).

L'analyse de risque toxicologique est donc un outil utilisé en santé publique. En fait, cette expertise est nécessaire pour la gestion du risque par les décideurs qui devront élaborer des politiques pour assurer la protection de la santé de la population. L'exposition est l'un des deux aspects à estimer pour caractériser le risque. L'exposition à plusieurs contaminants environnementaux, dont les pesticides, présente des risques pour la santé et requiert une analyse rigoureuse afin d'encadrer leur utilisation (**OMS, 2014**).

Partant de l'idée que toute modification métabolique est un signal annonciateur d'un déséquilibre homéostatique. l'objectif de notre investigation est d'étudier les changements métaboliques induits par un pyréthrianoïde de type II, la Cyperméthrine, largement utilisé en Algérie, sur un organisme bio indicateur/bio-accumulateur : *Helix aspersa*.

CHAPITRE 01 : INTRODUCTION GENERALE

1. Généralité sur les pesticides

1.1 . Définition

Le terme pesticide couvre un champ plus vaste et général que les expressions « produit phytosanitaires » ou « produits phytopharmaceutiques » car il englobe toute substance, naturelle ou de synthèse, capable de contrôler, de repousser ou de détruire des organismes dits nuisibles, ou indésirables ou les médicaments destinés à protéger les cultures (**Bonnefoy, 2012**).

1.2. Classification des pesticides

Selon **Calvet (2005)**, les substances actives sont classées en fonction de :

- La nature de la cible visée.
- La nature chimique de la principale substance active.

1.2.1. Classification selon la nature de la cible visée

Il existe plusieurs catégories de pesticides selon les organismes vivants visés, dont les principales sont consignées dans le tableau01

1.2.2. Classification selon la famille chimique

Les pesticides peuvent également être classés en fonction de la famille chimique à laquelle appartiennent les substances actives. On peut rencontrer:

1.2.2.1. Les pesticides organiques

Comme les organochlorés, les organophosphorés, les carbamates, les triazines, les urées substituées et les pyréthrénoïdes. Les structures chimiques de certaines familles sont présentées dans la figure 01.

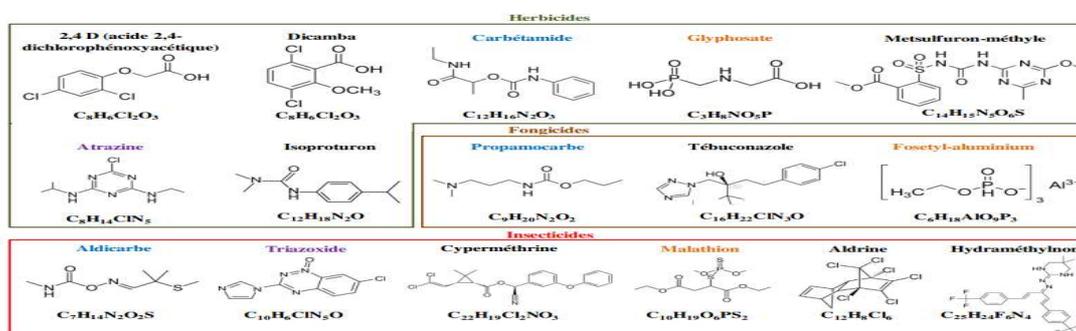


Figure 01 : Structures chimiques de quelques pesticides:

Les pesticides de même couleur font partie de la même famille chimique

(**Royal Society of Chemistry, 2014**)

CHAPITRE 01 : INTRODUCTION GENERALE

Tableau 01 : classification des pesticides selon le cible visée (INSERM, 2013)

Pesticide	Utilisation	Exemple
Les insecticides	Utilisés contre les insectes nuisibles	Dichlorodiphényltrichloroéthane, Deltaméthrine.
Les fongicides	Utilisés contre les champignons phytopathogènes ou vecteurs de mycoses animales ou humaines	Moncozèbe, Hexaconazol, Chlorothalonil
Les herbicides	Qui détruisent les plantes adventices des cultures et, de façon plus générale, toute végétation jugée indésirable	2-4D, Glyphosate
Les acaricides	qui détruisent les acariens	Abamectine, Nicotine
Les nématicides	employés contre les nématodes phytoparasites.	Bromomethane, Chloropicrine
Les molluscicides	ou hélicides qui détruisent les gastéropodes.	Methiocarbe, Mercaptodiméthur
Les rodenticides	qui tuent les rongeurs comme les rats	Warfarine, Phosphure de zinc
Les avicides	destinés à éliminer les oiseaux ravageurs.	Strychnine

1.2.2.2. Les pesticides inorganiques

Boland *et al.*, (2004), ont mis en évidence que les pesticides inorganiques sont des éléments chimiques qui ne se dégradent pas. Leur utilisation entraîne souvent de graves effets toxicologiques sur l'environnement par accumulation dans le sol [Le plomb, l'arsenic et le mercure sont fort toxiques].

1.2.2.3. Les Biopesticides

Ce sont des substances dérivées de plantes et d'animaux. Elles peuvent être constituées d'organismes tels que les moisissures, les bactéries, les virus, les nématodes et les composés chimiques dérivés de plantes et phéromones d'insectes (**Boland *et al.*, 2004**).

1.3. Toxicologie et Ecotoxicologie des pesticides

L'utilisation des pesticides, en zones agricoles et en zones urbanisées, engendrent des conséquences sur la santé humaine et selon la biodiversité.

13.1. Impacts sur la santé humaine

L'exposition de l'Homme aux pesticides s'effectue par le sol, l'eau, l'air ainsi que les aliments. Les risques sanitaires liés à l'exposition des personnes aux pesticides peuvent être liés à des intoxications aiguës (absorption accidentelle, contact cutané, inhalation lors de la manipulation ou lors de l'application des produits). Les principaux organes cibles sont le système nerveux central, le foie et les glandes surrénales, de même que le système respiratoire. Les produits les plus souvent incriminés sont : les insecticides, les fongicides, puis les herbicides. De fortes suspicions subsistent sur le rôle des pesticides dans le développement de pathologies chroniques (cancers (de cerveau, de la prostate), troubles neurologiques, troubles de la reproduction). Des présomptions ont été portées sur le rôle des pesticides dans le développement d'autres pathologies, tels que les troubles neuro-dégénératifs (Parkinson) et de la reproduction, des problèmes de fertilité, des effets hématologiques (leucémies, lymphomes...) (**Kheddam-Benadjal, 2012**).

1.3.2. Impact sur la biodiversité

Les pesticides se retrouvent dans les différents maillons de la chaîne alimentaire. Ils agissent sur tous les êtres vivants des bactéries aux mammifères par ingestion ou inhalation et s'accumulent tout au long des chaînes alimentaires : Pour 187 espèces d'oiseaux menacées dans le monde, la première source de pression est la pollution chimique, comprenant les engrais, les pesticides et les métaux lourds pénétrant les eaux de surface et l'environnement terrestre (**Kheddam-Benadjal, 2012**). Par ailleurs, de nombreux cas mortels d'oiseaux ont été recensés en raison de l'ingestion directe de granulés ou d'insectes ayant ingéré des toxiques. Les insecticides à large spectre comme les carbamates, les organophosphorés et les

CHAPITRE 01 : INTRODUCTION GENERALE

pyréthrinoides peuvent provoquer le déclin de population d'insectes bénéfiques tels que les abeilles, les araignées et les coléoptères. Les mammifères peuvent aussi être touchés par la nourriture contaminée (perturbation de la différenciation sexuelle) lors d'une exposition péri ou néonatale à certains produits comme l'aldrine, l'atrazine, le chlordane ou la dieldrine (Afpdb, 2007). Par ailleurs, l'Agence canadienne ARLA considère trois néonicotinoïdes la clothiadinine, l'acétamipride, le thiaméthoxame comme des perturbateurs endocriniens, pour les mammifères et les oiseaux (Michel Nicolle, 2015). Les herbicides sulfonylurées metsulfuron et dans une moindre mesure le chlorsulfuron sont à l'origine d'une réduction de la croissance des bactéries du sol *Pseudomonas*. Le captane (un fongicide) et l'herbicide (glyphosate) et les insecticides organophosphorés ont également causé un changement parmi les espèces des communautés bactériennes du sol (Afpdb, 2007).

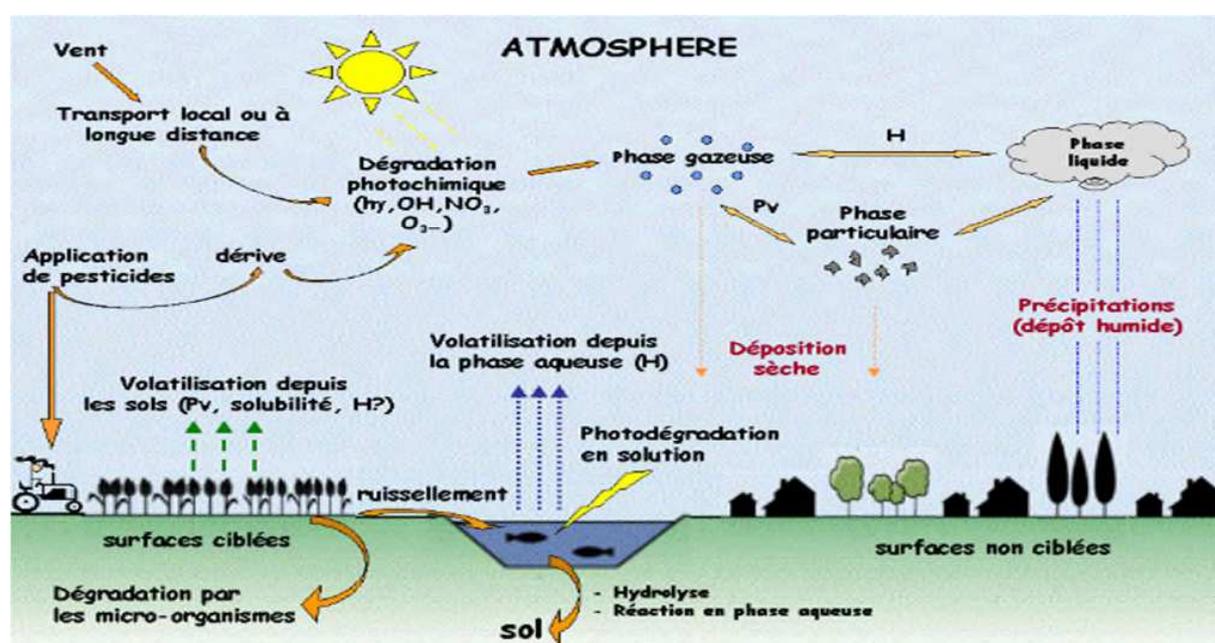


Figure 02 : Devenir des pesticides dans l'environnement (Berrah, 2011)

2. Généralité sur les pyréthrinoides

Les pyréthrines sont des composés issus de fleurs de Chrysanthèmes. Ils furent utilisés dans l'antiquité comme pesticide puis redécouvertes au début du 20e siècle. Le problème qui restreignait leur popularité reposait sur le fait qu'ils étaient dégradés rapidement suite à l'exposition solaire. Leur activité diminuait donc en conséquence. Durant la Deuxième Guerre mondiale, les recherches sur les structures de ces molécules ont permis de synthétiser des

CHAPITRE 01 : INTRODUCTION GENERALE

composés analogues. Les pyréthrinoïdes furent parmi les premières molécules synthétiques analogues aux pyréthrines naturelles, mais dont la structure chimique a été modifiée afin d'augmenter leur activité. En 1972, trois composés furent produits, plus résistants à la dégradation solaire (avec une durée de vie sur le sol avant sa dégradation passant de quelques heures à quelques jours afin de prolonger son activité insecticide). Ces nouveaux produits prometteurs étaient la perméthrine, la cyperméthrine et la deltaméthrine. Elles révolutionnèrent le domaine des pesticides de par leur efficacité, leur faible toxicité chez l'humain comparativement aux insecticides organosphosphatés, ainsi que leur vitesse d'action insecticide de quelques minutes. Dans les années 1990, le retrait des organophosphorés dû à leur toxicité a conduit à une augmentation de l'utilisation des pyréthrinoïdes. Aujourd'hui, ces derniers représentent près de 25% de tous les insecticides vendus (Housset et Dickmann, 2009). Cette classe de pesticides comprend actuellement plus d'une dizaine de composés actifs (figure 03).

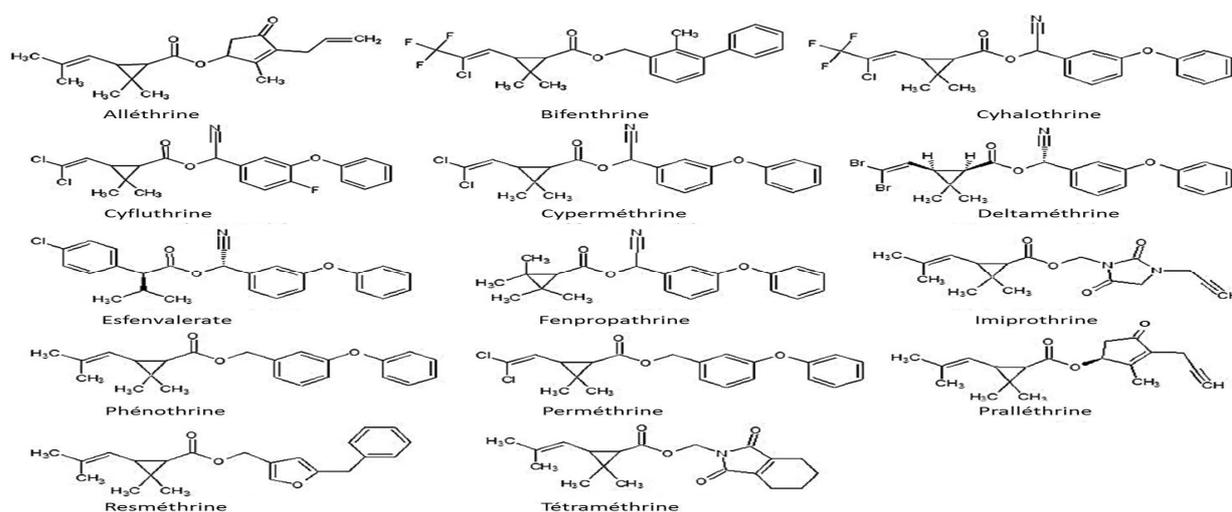


Figure 03 : Structures de quatorze pyréthrinoïdes (Morgan, 2012)

2.1. Caractéristiques structurales et physico-chimiques

Les pyréthrinoïdes sont des composés synthétiques organiques ayant un degré élevé de solubilité dans les lipides (lipophilie). Ces molécules sont classées comme étant de type I ou de type II, selon le substituant de la moitié alcool ou acide de la molécule similaire à la pyréthrine. Cette substitution va également influencer l'effet toxique. Le groupe I est défini de manière assez large et comprend l'alléthrine, la perméthrine et la resméthrine (Matsuo et Mori, 2012; Soderlund *et al.*, 2002).

CHAPITRE 01 : INTRODUCTION GENERALE

Les pyréthrinoïdes de type II sont plus étroitement définis en fonction de leur structure chimique et contiennent en particulier un groupement alcool α -cyano 3-phénoxybenzyl. Aussi, certains pyréthrinoïdes de type II possèdent une modification de la portion acide de la molécule afin d'inclure un cycle phényle (Bloomquist, 2013). La bifenthrine, la cyfluthrine, la cyhalothrine, la cyperméthrine, la fenpropathrine, le fenvalerate et la téfruthrine ont été classés comme pyréthrinoïdes de type II (Matsuo et Mori, 2012; Soderlund *et al.*, 2002).

2.2. Mode d'action

Les pyréthrinoïdes ont longtemps été considérés comme peu toxiques, cependant, des études *in vitro* attestent le contraire. En effet, la majorité des études soutenant l'innocuité des pyréthrinoïdes datent des premières périodes de leur homologation (Slaninova *et al.*, 2009; Zhang *et al.*, 2009; Ronco *et al.*, 2008; Saha *et al.*, 2008; Crossland, 1982). Cette controverse soulève de nombreuses interrogations quant à la réelle toxicité de ces substances chez les différents organismes vivants (Amamra, 2015).

Les pyréthrinoïdes sont neurotoxiques: En effet, ils interfèrent, principalement, avec la propagation des signaux neuronaux. Plus précisément, ils agissent sur les canaux sodiques voltage dépendants : En les maintenant ouverts, ils déclenchent une série d'influx électriques causant une dépolarisation. Ceci engendre différents symptômes comme des tremblements des mouvements involontaires et la salivation (Hénault-Ethier, 2015).

Ces composés sont connus pour leur action, également, sur d'autres canaux et récepteurs, comme, les canaux calciques, les canaux chlorures et les récepteurs GABA. Par ailleurs, certaines études suggèrent que les pyréthrinoïdes ou leurs métabolites pourraient agir en tant que génotoxiques ou perturbateurs endocriniens (Amamra, 2015).

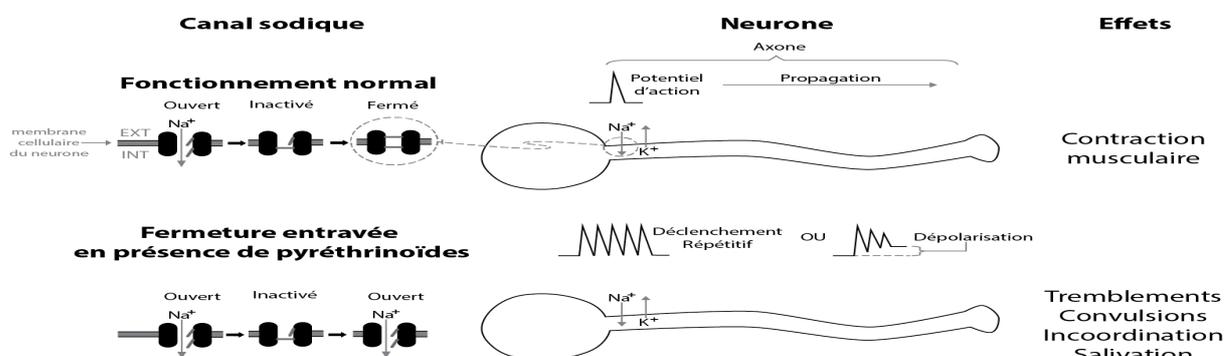


Figure 04 : Mode d'Action des pyréthrinoïdes sur les neurones (Louise, 2016)

3. Bioindication et biomarqueurs

3.1. Bioindication

La bioindication désigne l'évaluation de la qualité des milieux à l'aide de bioindicateurs c'est-à-dire d'organismes vivants connus pour leurs capacités à refléter l'état des écosystèmes. Dans ce sens, un bioindicateur peut être défini comme une espèce qui, par son absence, sa présence, son abondance ou sa distribution, nous donne des informations de nature qualitative sur l'état d'un environnement ou d'une partie de celui-ci (**Markert et al., 2003**). Le principal avantage des bioindicateurs réside dans le fait qu'ils permettent d'évaluer les impacts des différentes perturbations sur les écosystèmes, contrairement aux indicateurs physico-chimiques qui permettent seulement de faire un diagnostic de ces perturbations (**Fränzle, 2003**).

Ces espèces bioindicatrices sont généralement divisées en 3 catégories :

- ☑ **Les indicateurs biologiques** qui renseignent sur la composition et la structure des écosystèmes en observant la simple présence ou absence d'espèces. (**Champeau, 2005**).
- ☑ **Les organismes tests**, utilisés dans des procédures standardisées dans les laboratoires de recherche en Ecotoxicologie. (**Champeau, 2005**).
- ☑ **Les organismes de surveillance** qui permettent de mesurer la qualité et la quantité de substances toxiques dans l'environnement et dans certains cas d'en détecter les effets. Ces indicateurs peuvent déjà exister dans l'écosystème (surveillance passive) ou y être introduits de façon standardisée (surveillance active) (**Champeau, 2005**).

3.2. Biomarqueurs

Un biomarqueur se définit comme un changement observable et/ou mesurable au niveau moléculaire, biochimique, cellulaire, physiologique ou comportemental, qui révèle l'exposition présente ou passée d'un individu à au moins une substance chimique à caractère polluant (**Key et al., 2006; Stagg, 1998; Lagadic et al., 1997**).

Les biomarqueurs permettent de détecter les pressions environnementales dans un milieu donné avant même que les effets néfastes se fassent sentir au niveau des organismes.

On peut ainsi prédire les dommages potentiels pouvant menacer un écosystème et prendre des mesures nécessaires pour remédier à la situation avant que celle-ci ne devienne trop critique (**Den Besten et al., 2001**).

Les biomarqueurs peuvent être classés en trois catégories :

- **Les biomarqueurs d'exposition**, qui sont généralement caractérisés par leur réponse précoce et leur spécificité de réaction. Ils sont induits par un type spécifique de polluants et, de ce fait, leurs variations sont indicatrices d'une exposition de l'organisme à cette classe de polluants. (**Champeau, 2005**).
- **Les biomarqueurs d'effet** correspondent à une altération biologique qui, en fonction de l'intensité de la réponse, peut être associée à une altération possible de l'état physiologique de l'individu, comme des effets sur la croissance ou sur le succès reproducteur. (**Champeau, 2005**).
- **Les biomarqueurs de sensibilité/susceptibilité** utilisent la mise en évidence de caractères de résistance d'origine génétique des organismes à certains contaminants, comme la synthèse d'enzymes moins sensibles ou une augmentation du pouvoir de détoxification (résistance des insectes aux pesticides) (**Champeau, 2005**).

3.3. Les gastéropodes terrestres *Helix aspersa* comme bioindicateur

Au sens écologique général, on définit le concept de bioindicateur comme étant : « espèces ou groupes d'espèces qui, par leur présence et/ou leur abondance, sont significatifs d'une ou de plusieurs propriétés de l'écosystème dont ils font partie » (**Guelorget et Perthuisot, 1984**). Les organismes bioindicateurs d'effets doivent être sensibles à de faibles perturbations de l'environnement tandis que les organismes indicateurs de bioaccumulation doivent tolérer les contaminants à de fortes concentrations et présenter des propriétés bioaccumulatrices.

De nombreuses études ont démontré que les mollusques gastéropodes comme les escargots terrestres *Helix aspersa* sont des bioindicateurs de pollution notamment des métaux et des HAPs (**Barker, 2004 ; Elia et al., 2003 ; Grara et al., 2012**). Ces consommateurs primaires occupent une place particulière dans l'écosystème à l'interface sol-air-végétation. De ce fait, ils intègrent plusieurs sources de contamination (sol, atmosphère, végétaux) par

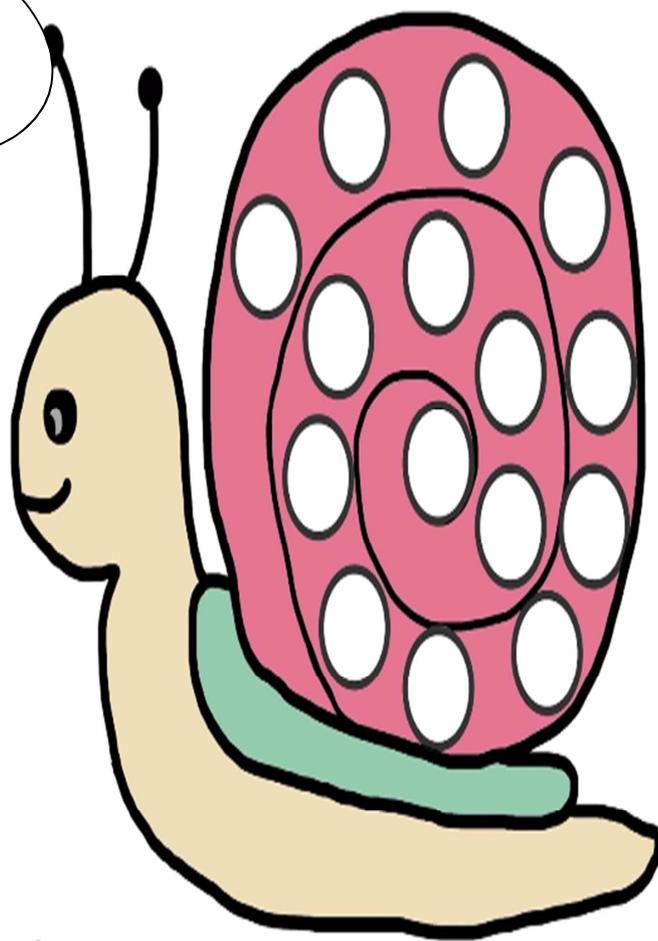
CHAPITRE 01 : INTRODUCTION GENERALE

voies digestive, respiratoire et/ou cutanée. Ils participent à la décomposition et à la fragmentation de la matière organique et sont impliqués dans de nombreuses chaînes alimentaires, y compris celle menant à l'homme (**Barker, 2004**).

Pour cela, ces espèces sont utilisées dans les programmes de bio-surveillance en tant que bio-indicateurs pour révéler précocement la présence et la toxicité d'un ou plusieurs polluants dans le milieu.

Chapitre 02 :

*Matériel et
méthodes*



CHAPITRE 02 MATERIEL ET METHODES

Notre travail a été effectué au niveau du Laboratoire Pédagogique de Toxicologie du Département de Biologie, Université Cheikh Larbi Tebessi – Tébessa-

1 . Matériel biologique

Helix aspersa est un escargot très répandu sur la façade méditerranéenne algérienne, son aire de répartition écobiogéographique s'étend à toute l'Afrique du nord et en Europe ; l'espèce a été décrite par (le zoologue Danois Otto Friedrich Müller en 1774).

Helix aspersa aussi nommé *Cantareus aspersus* ou *Cornu aspersum* dans la nomenclature récente est un escargot très répandu sur la façade atlantique française et dans les pays méditerranéens (Barker, 2001).

Sa position systématique selon Bonnet et Vrillon (1990) est la suivante :

Règne :	Animalia
Embranchement :	Molluca
Classe :	Gastropoda
Ordre :	stylommatophora
Famille :	Helicidae
Genre :	<i>Helix</i>
Espèce :	<i>aspersa</i>
Sous-espèce :	<i>aspersa</i>

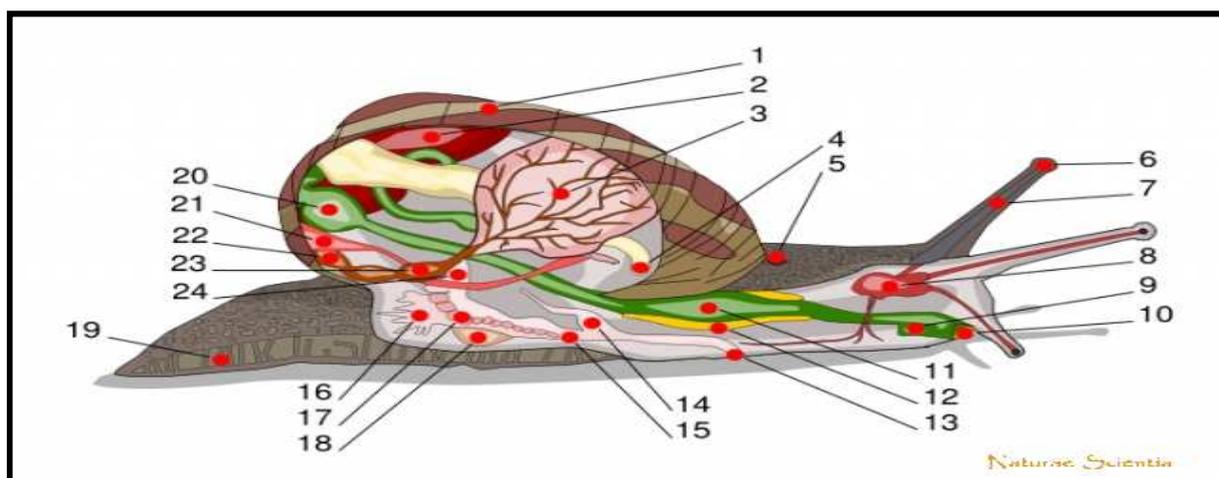


Figure 05: *Helix aspersa*
(Gbaiocco, 2009)

Les escargots utilisés dans notre expérimentation sont des escargots jeunes, leurs poids moyen est de (11 g).

1.1. Anatomie d'*Helix aspersa*

Le corps d'un escargot consiste en un pied unique, une tête et une masse viscérale enroulée placée dans la coquille, **Figure (05)** 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 06 : Anatomie de l'escargot

(www.naturae-scientia.com)

1.2. 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.

1.3. Estivation et hibernation

Une absence prolongée d'humidité provoque l'estivation de l'escargot (**Chevallier, 1992**). L'animal se fixe alors sur un support en fermant l'ouverture de sa coquille par un voile de mucus solidifié : l'épiphragme. Il reprend son activité lorsque les conditions environnementales sont plus favorables. Lorsque la température moyenne devient inférieure à 15° C, les escargots se mettent en hibernation en se "collant" sur un support ou en

s'enfouissant dans le sol ou la litière et secrètent un épiphragme d'hiver. Dans une atmosphère humide, le processus d'hibernation s'effectue en-dessous de 5° C. Le raccourcissement de la durée de jour semble avoir également une action sur la mise en hibernation (**Bailey, 1981**).

1.4. 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 (**Gomot, 1997 b**) :

1. Phase infantile durant laquelle le tractus génital est non-différencié chez des animaux de 0,02 à 0,6g.
2. 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.
3. 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.
4. 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.

En général, la croissance naturelle jusqu'au stade adulte s'étale sur deux ans si bien que les individus sont le plus souvent considérés comme sexuellement matures à partir du deuxième ou troisième été suivant leur naissance (**Chevallier,1992**). Cette croissance se fait par pallier, au rythme des estivations et hibernations. Les facteurs qui influencent la croissance sont la température, l'humidité ambiante, l'éclairement (longueur d'onde, intensité et photopériode) ainsi que la nature du sol et de la nourriture (**Gomot ,1997**).La durée de vie moyenne d'un escargot en milieu naturel est de 6 à 7 ans (**Gomot et Gomot, 1995**).

1.5. Reproduction

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 *Helix 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 deux mois suivant les conditions d'environnement (**Daguzan, 1981; Chevallier, 1982**). Pour pondre, l'escargot creuse une cavité de quelques centimètres de profondeur dans le sol, y dépose ses œufs puis rebouche le "nid de ponte". Le nombre moyen d'œufs par ponte varie de 80 à 130 pour des individus de différentes origines (**Madec 1983**).

2. Matériel chimique

Dans notre expérimentation, les escargots ont été traités par un insecticide dont la molécule active est la Cyperméthrine: Un pyréthrianoïde photo-stable à large spectre, présentant une action prolongée et des propriétés de biodégradabilité.

3. Méthodes

3.1. Conditions d'élevage

Les escargots sont élevés dans les conditions d'environnement optimales suivantes : Photopériodes 18h de lumière / 24h, température 20 ± 2 ° C.

Les escargots sont répartis dans des boites en plastiques transparentes, avec couvercle perforé, chaque boite contient une éponge mouillée pour maintenir l'humidité. L'alimentation fournie est les feuilles de laitue.

Les boites sont nettoyées régulièrement (1 jour sur 2).

3.2. Mode de traitement

Le traitement des escargots est effectué par addition de concentrations croissantes de Cyperméthrine dans les feuilles de la laitue (l'alimentation). Nous avons retenu 4 concentrations et un milieu témoin. Les escargots sont répartis en 5 lots à raison de 6 escargots / lot **Tableau 02**. La durée du traitement est de 14 jours pour les 5 lots.

CHAPITRE 02 MATERIEL ET METHODES

Tableau 02 :Caractéristiques physicochimiques et structure moléculaire de la Cyperméthrine

(Source : fiche technique)

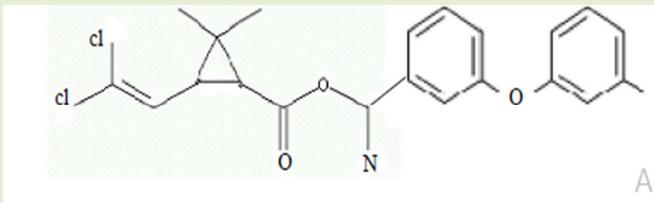
Nom chimique	(RS)-ot-cyano-3-phenoxybenzyl(IRS)cistrans-3-(2,2di chlorovinyl)-2,2dimeth y lcylopropanecarboxylate
Formule chimique	C ₂₂ H ₁₉ Cl ₂ NO ₃
Poids moléculaire	416,3
Aspect	Visqueux, couleur jaune ambré à brun
Densité	1,23-20 °C
Solubilité	Peu soluble dans l'eau (0,004mg/l mais Soluble dans la majorité des solvants organiques
Log K _{ow}	6,6
Stabilité	Relativement stable à la lumière dans les eaux peu acides et instable dans les milieux alcalins
Structure moléculaire	

Tableau 03: Répartition des concentrations de cyperméthrine

Lots	Concentration en µg/l de Cyperméthrine
T	00
1	05
2	10
3	20
4	40

3.3. Dissection et prélèvement de l'hépatopancréas

Après 14 jours d'exposition à l'insecticide, les escargots sont prélevés et placés pendant 48 h dans des boîtes en plastique humides et sans nourriture, cette période de jeûne permet aux escargots d'excréter le contenu de leurs tubes digestifs. Avant congélation et sacrifice de l'animal.

Après la dissection, l'hépatopancréas et le rein sont prélevés et pesés. Les dosages sont réalisés au niveau de l'hépatopancréas. Ce dernier est divisé en 3 fragments :

- Un échantillon pour le dosage des métabolites (protéines totales).
- Un échantillon pour le dosage du glutathion (GSH).
- Un échantillon pour le dosage du malondialdéhyde (MDA).



Figure 07 :Dissection et prélèvement de l'hépatopancréas

3.4. Paramètres étudiés

3.4.1. Paramètres physiologiques

3.4.1.évolution du poids des organes: hépatopancréas et rein

Une fois les escargots disséqués, les hépatopancréas et les reins sont prélevés et pesés individuellement .Le poids moyen de chaque lot est calculé et comparé à celui du témoin, et ce, pour les deux organes.

3.4.2. Paramètres biochimiques

3.4.2.1. Détermination du taux des protéines totales

Les protéines sont quantifiées selon la méthode de **Bradford (1976)**, qui consiste à additionner une fraction aliquote de 100 μ l du surnageant ou de la gamme étalon à 4 ml du réactif colorant bleu brillant de commassie (BBC). La lecture des absorbances s'effectue à une longueur d'onde de 595 nm au spectrophotomètre visible (**JENWAY 6300**).

La gamme d'étalonnage est réalisée à partir d'une protéine standard, l'Albumine Sérum de Bœuf (BSA).

3.4.2.2. Détermination du taux de glutathion (GSH)

Le taux du glutathion (GSH) est quantifié selon la méthode de **Weckberker et Cory (1988)**, dont le principe repose sur la mesure colorimétrique de l'acide 2-nitro 5-mercaptopurique, résultant de la réduction de l'acide 5-5'-dithio-bis-2-nitrobénzoïque (DTNB) par les groupements thiol (-SH) du glutathion mesuré à une longueur d'onde de 412 nm.

La lecture des absorbances est effectuée à une longueur d'onde de 412 nm. Le taux du glutathion est quantifié selon la formule suivante :

$$\text{Taux du GSH} \quad = \quad \frac{\text{DO} \times 1 \times 1,525}{13,1 \times 0,8 \times 0,5 \times \text{mg de protéine}}$$

(μ M/mg de protéines)

DO : Densité Optique

1 : Volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation (0,2 ml ASS + 0,8 ml homogénat).

1,525 : Volume total des solutions utilisées dans le GSH (0,025 ml DTNB + 0,5 ml surnageant + 1 ml Tris-EDTA).

13,1 : Coefficient d'absorbance (concernant le groupement -SH à 412 nm).

0,8 : Volume de l'homogénat utilisé en ml.

0,5 : Volume de surnageant utilisé en ml.

Mg de protéine :Quantité de protéines exprimée en mg

3.4.2.3. Quantification du taux de malondialdéhyde (MDA)

Le taux de malondialdéhyde est quantifié selon la méthode de **Esterbauer, (1992)**. Le MDA un métabolite qui peut être détecté par une réaction colorimétrique après liaison avec l'acide thiobarbiturique (TBA): La formation d'un pigment rose après la condensation du MDA en milieu acide et à chaud avec l'acide thiobarbiturique peut être mesuré par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 530 nm.

La concentration en MDA est calculée selon la loi de Beer-Lambert ($DO = \epsilon \cdot C \cdot L$):

$$\text{MDA } (\mu\text{mol/ mg de protéines}) = \frac{\text{DO} \times 106}{\epsilon \times L \times X \times Fd}$$

DO: Densité optique.

ϵ : Coefficient d'extinction molaire du MDA.

L:Longueur du trajet optique: 1 cm.

X: Concentration de l'extrait en protéines (mg/ml).

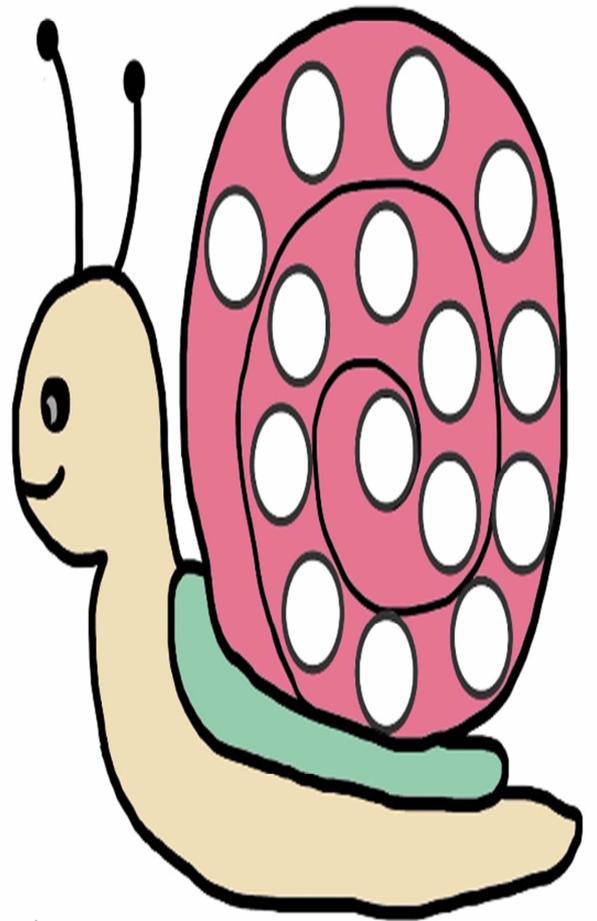
Fd:Facteur de dilution (0,2083).

5. Etude statistique

L'analyse statistique des données est effectuée par le test de student qui sert à comparer entre deux échantillons (témoin et traité). Ce test est réalisé à l'aide d'un logiciel d'analyse des données : Minitab (Version 14.0) (Dagnelie, 1999).

CHAPITRE 03:

Résultats



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

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

La Figure (08) illustre les variations du poids moyen de l'hépatopancréas des escargots traités par les concentrations croissantes de Cyperméthrine après deux semaines de traitement.

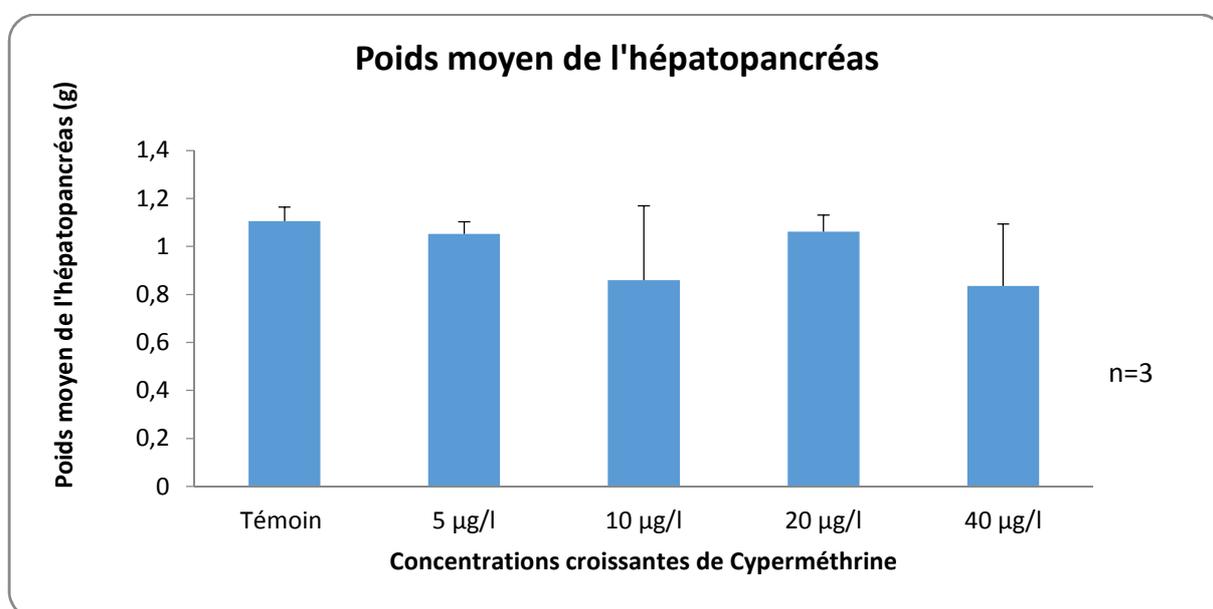


Figure 08 : Evolution du poids moyen des hépatopancréas d'*Helix aspersa* exposés aux concentrations croissantes de Cyperméthrine

Nos résultats montrent qu'il n'y a pas une différence significative entre le poids moyen des hépatopancréas des escargots témoins et de celui des escargots traités pour les différentes concentrations, à savoir, 5; 10; 20 et 40 µg/l.

Néanmoins, on remarque une diminution chez les escargots traités par la plus forte concentration (comparativement aux témoins). Cette diminution est de 0,3g.

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

La Figure (09) illustre les variations du poids moyen du rein des escargots traités par des concentrations croissantes de Cyperméthrine après deux semaines de traitements.

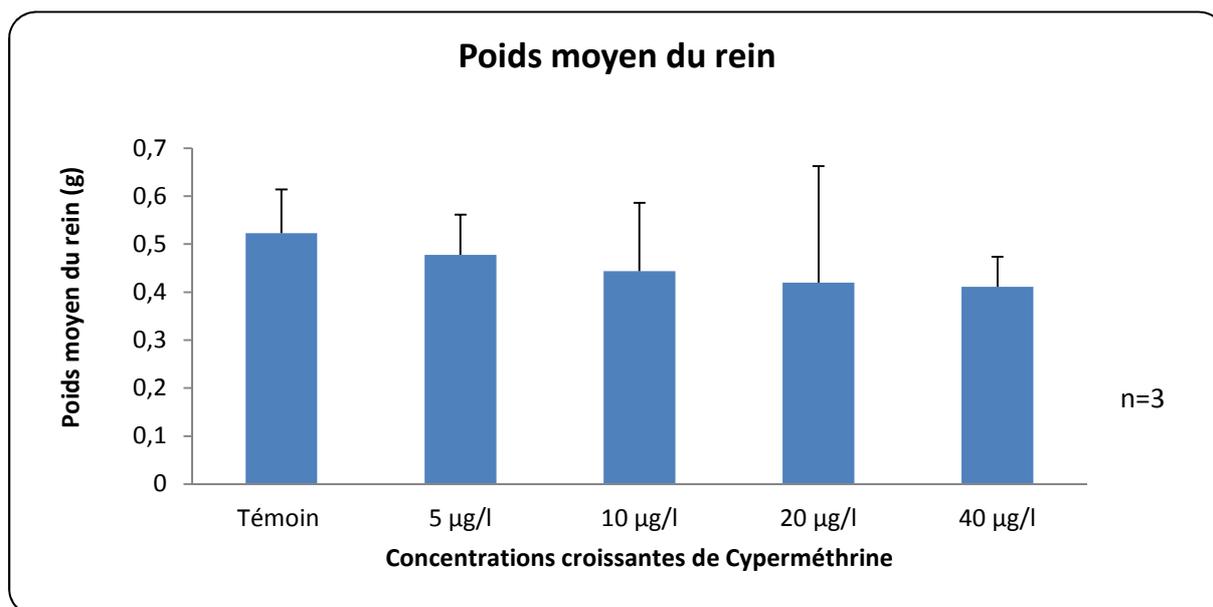


Figure 09 : Evolution du poids moyen des reins d'*Helix aspersa* exposés aux concentrations croissantes de Cyperméthrine

Nos résultats montrent qu'il y a une légère diminution entre le poids moyen des reins des escargots témoins et de celui des escargots traités pour les trois plus fortes concentrations: 10; 20 et 40 µg/g. Ainsi, nous notons que le poids moyen des reins des escargots témoins est de 0,52 g alors qu'il n'est que de 0,44g pour ceux traités par la plus forte concentration (40 µg/l).

L'étude statistique révèle que les différences enregistrées entre les lots témoins et ceux traités par les différentes concentrations du xénobiotique ne sont pas significatives.

2. Effet du traitement par des concentrations croissantes de Cyperméthrine sur certains paramètres biochimiques chez *Helix aspersa*

2.1. Effet des concentrations croissantes de la Cyperméthrine sur l'évolution du taux des protéines totales au niveau de l'hépatopancréas des escargots *Helix aspersa* après deux semaines de traitement

La figure (10) montre l'évolution du taux des protéines totales en présence des concentrations croissantes de Cyperméthrine au niveau de l'hépatopancréas des escargots après deux semaines de traitement

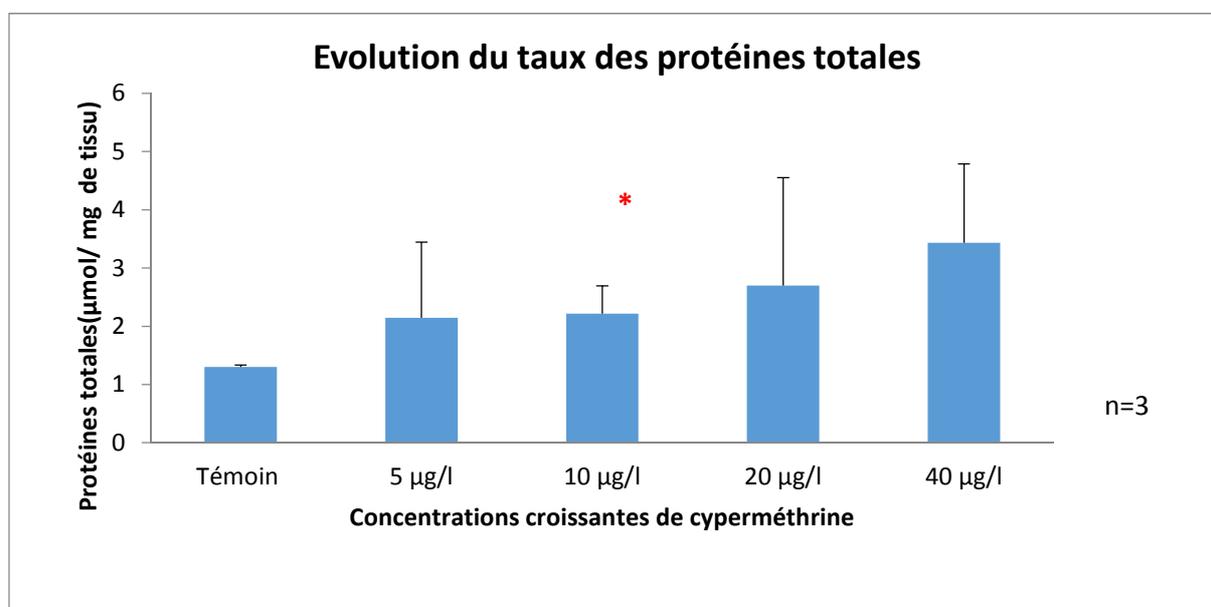


Figure 10 : Evolution du taux des protéines totales au niveau de l'hépatopancréas d'*Helix aspersa* exposé aux concentrations croissantes de Cyperméthrine

Nos résultats mettent en évidence une augmentation dose dépendante du taux des protéines totales chez les escargots traités par les concentrations croissantes de Cyperméthrine par rapport aux témoins. Cette augmentation est significative ($P \leq 0.05$) chez les escargots traités par la concentration 10µg/l comparé aux témoins. En effet, cette différence est d'environ 0,85 µmol/mg de tissu.

2.2. Effet des concentrations croissantes de Cyperméthrine sur l'évolution du taux de glutathion (GSH) au niveau de l'hépatopancréas des escargots *Helix aspersa* après deux semaines de traitement

La figure (11) met en évidence l'évolution du taux de GSH en présence des différentes concentrations de Cyperméthrine au niveau de l'hépatopancréas des escargots après deux semaines de traitement.

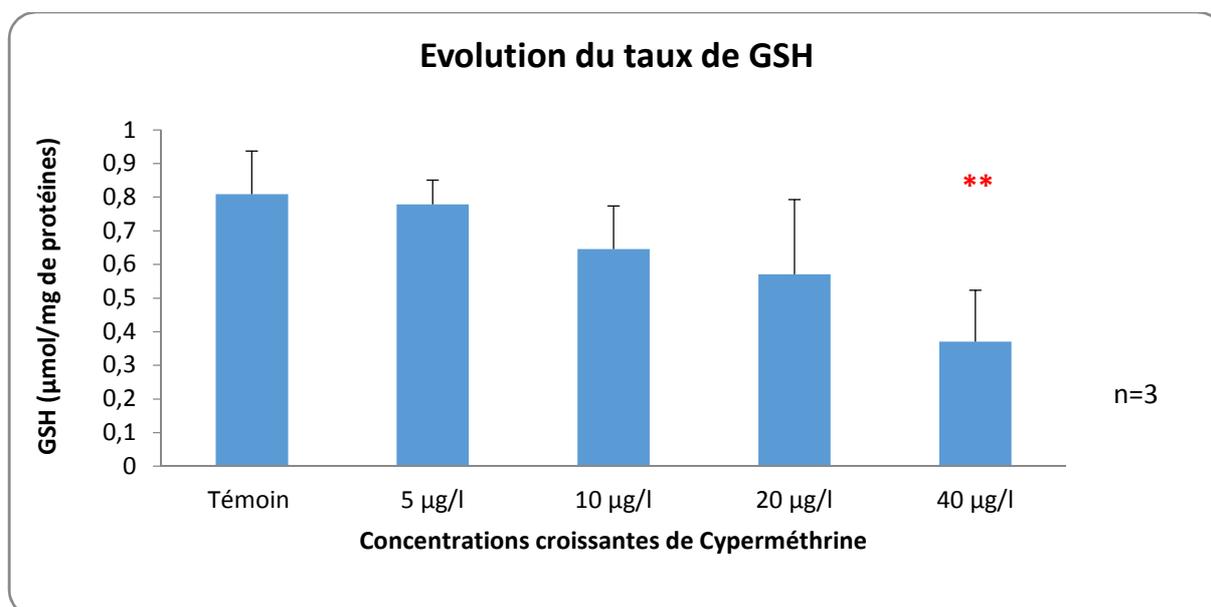


Figure 11 : Evolution du taux de GSH au niveau de l'hépatopancréas d'*Helix aspersa* exposé aux concentrations croissantes de Cyperméthrine

Nous notons exposé une diminution dose dépendante et hautement significative ($p \leq 0,01$) du taux de GSH chez les escargots traités, spécialement, par la plus forte concentration (40 µg/l) comparé aux témoins. Ainsi, ce taux passe de 0,81 µmol/mg de protéines chez les escargots témoins à seulement 0,37 µmol/mg de protéines chez ceux traités par 40 µg/l.

2.3. Effet des concentrations croissantes de Cyperméthrine sur l'évolution du taux de malondialdéhyde (MDA) au niveau de l'hépatopancréas des escargots *Helix aspersa* après deux semaines de traitement

L'évolution du taux de MDA chez les escargots exposés aux concentrations croissantes de Cyperméthrine est indiquée dans la Figure (12).

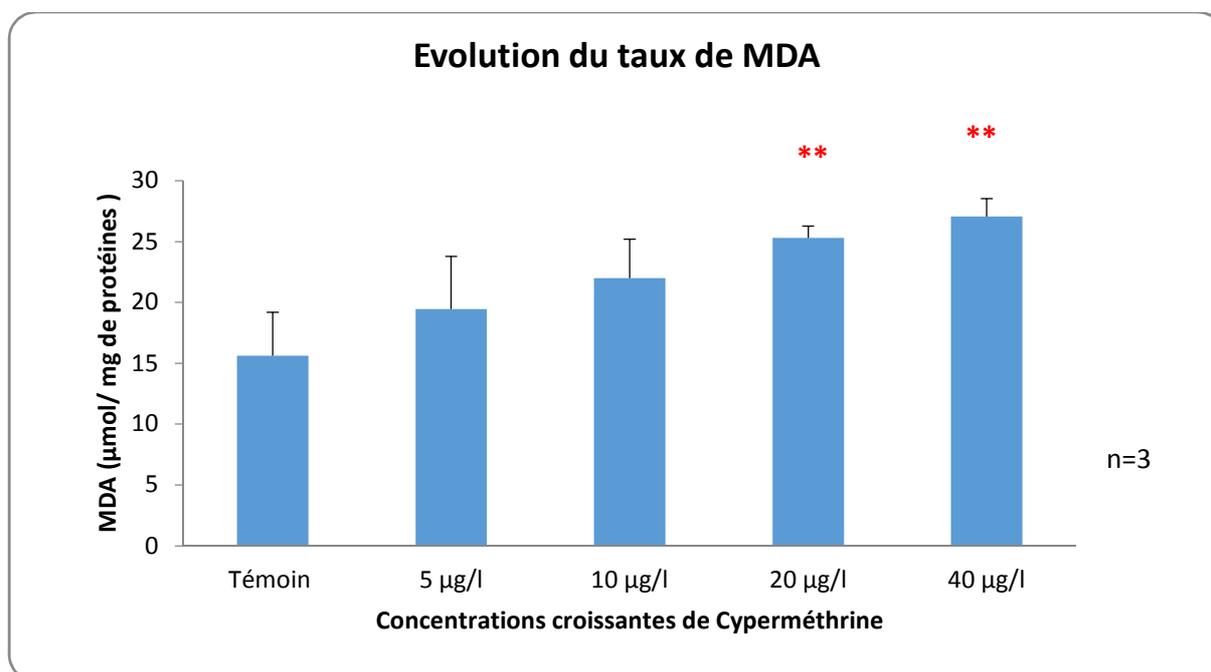
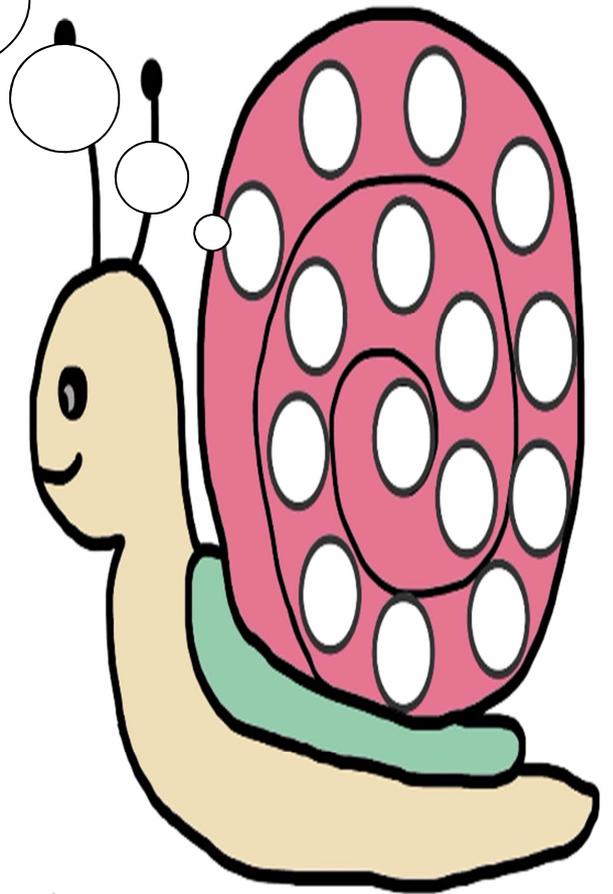


Figure (12) : Evolution du taux de MDA au niveau de l'hépatopancréas d'*Helix aspersa* exposé aux concentrations croissantes de Cyperméthrine

Nous constatons une augmentation dose dépendante et hautement significative ($p \leq 0.05$) chez les escargots traités par les deux plus fortes concentrations 20 et 40 µg/l comparés à ceux témoins. Ainsi, le taux de MDA est de 25,31 µmol/ mg de protéines chez les escargots traités par la concentration 20 µg/l et environ 27,07 µmol/ mg de protéines chez ceux traités par la concentration 40 µg/l alors qu'il n'est que de 15,61 µmol/ mg de protéines chez les escargots témoins.

Chapitre 04
: Discussion



CHAPITRE 04 DISCUSSION

En raison de l'utilisation fréquente et intensive des pyréthrinoïdes, leurs résidus sont, souvent, détectés dans les écosystèmes (Ye Yang, 2014; Xing, 2012). Leur toxicité croissante pour les organismes et leurs effets écologiques délétères sont devenus un enjeu important (Toumi, 2014). En fait, l'exposition de ces organismes à des niveaux très faibles ou à des concentrations sublétales de pesticides présents dans leur environnement peut entraîner divers changements métaboliques au niveau cellulaire (Amamra, 2015; Velmurugan *et al.*, 2007).

Le stress oxydant se définit comme un déséquilibre de la balance entre les systèmes de défenses anti-oxydants et la production de ROS, en faveur de ces dernières. Ce déséquilibre peut avoir diverses origines, telles que la surproduction endogène d'agents prooxydants, un déficit en antioxydants ou même une exposition environnementale à des facteurs prooxydants. Il entraîne des lésions biochimiques au niveau des cellules de l'organisme telles que les altérations au niveau des protéines, l'apparition de cassures au niveau de l'ADN, ou des atteintes de l'intégrité de la membrane cellulaire par l'induction d'une peroxydation lipidique (Gueye, 2007).

L'objectif de notre étude est l'évaluation de la toxicité d'un composé pyréthrinoïde II largement utilisé en Algérie, en l'occurrence, la cyperméthrine sur un organisme bioaccumulateur/ bioindicateur de pollution, le gastéropode terrestre: *Helix aspersa*, à travers le suivi de certains biomarqueurs du stress oxydatif notamment les changements métaboliques .

Dans un premier temps, nous nous sommes intéressés à l'effet des concentrations croissantes de cyperméthrine sur l'évolution du poids moyen des organes comme l'hépatopancréas: siège principal de la métabolisation et de la biotransformation des xénobiotiques, notamment, les pesticides et le rein, organe principal de l'élimination des toxiques et/ou de leurs métabolites. Nos résultats concernant le poids moyen de l'hépatopancréas montrent une perturbation chez les escargots traités par les trois premières concentrations, à noter, 5; 10 et 20 µg/l et une diminution chez les escargots traités par la plus forte concentration, à noter, 40 µg/l. En ce qui est du poids moyen du rein, nos résultats indiquent une diminution significative chez les escargots traités par le xénobiotique par rapport aux escargots témoins. Ces résultats pourraient être dû à la répulsion de la nourriture, et donc au jeûne prolongé des escargots. De plus, de nombreuses recherches ont mis en évidence le fait que dans un environnement pollué, l'animal se met dans un état de jeûne prolongé pour éviter la nourriture contaminée (Belgacem et Charef, 2018; Bourbia- Ait

CHAPITRE 04 DISCUSSION

Hamlet, 2013; Grara et al., 2012; Gimbert et al., 2008). Par ailleurs, **Gomot (1997)**, explique que le mécanisme impliqué dans l'inhibition de croissance des escargots nourris avec de la nourriture contaminée est difficile à identifier. Il pourrait s'agir d'une inhibition dans la synthèse d'une hormone de croissance essentielle au développement des escargots et/ou de leurs organes.

La présence d'un xénobiotique à des concentrations toxiques, induit l'activation des systèmes de protection cellulaires qui auront pour tâche le piégeage et /ou l'élimination des métabolites toxiques. Les enzymes du stress oxydatif interviennent par des réactions en chaîne afin d'empêcher les lésions cellulaires résultantes de l'attaque des radicaux libres et des hydroperoxydes (**Benbouzid, 2012**). En effet, Les ROS peuvent endommager la structure des macromolécules (acides nucléiques, protéines, lipides, hydrates de carbone), générer de nouveaux produits oxydants, provoquer une toxicité cellulaire et des mutations génétiques (**Massart, 2011**).

Dans notre étude, nous avons évalué dans un second temps, le taux des protéines totales. Nos résultats ont mis en évidence une augmentation dose dépendante et significative chez les escargots traités par les différentes concentrations de cyperméthrine comparé aux escargots témoins. Ces résultats vont dans le même sens que ceux de **Bourbia-Ait Hamlet (2013)** qui a conduit une étude portant sur l'effet du téfluthrine, un pyréthrianoïde, sur *Helix aspersa*, de ceux de **Bougrouz et Boualague (2018)** et **Radwan et Mohamed (2013)**, qui ont montré une augmentation significative du taux de protéines totales en présence d'acétamipride et d'imidaclopride chez la même espèce.

Notre hypothèse est que cette augmentation pourrait être liée à l'induction du processus de détoxification mis en œuvre par le système antioxydant composé d'enzymes et de molécules antioxydantes de natures protéiques (**Ojha et al., 2011**). En effet, La présence d'un xénobiotique à des concentrations toxiques, induit l'activation des systèmes de protection cellulaires qui auront pour tâche le piégeage et /ou l'élimination des métabolites toxiques. Les enzymes du stress oxydatif interviennent par des réactions en chaîne afin d'empêcher les lésions cellulaires résultantes de l'attaque des radicaux libres et des hydroperoxydes (**Benbouzid, 2012**).

CHAPITRE 04 DISCUSSION

Il est établi que les structures et fonctions des composants cellulaires peuvent être altérées par les ROS produits soit via le métabolisme cellulaire soit par des xénobiotiques, il en résulte une désorganisation du métabolisme basal pouvant conduire en cas d'exposition importante et prolongée à une toxicité cellulaire et une désintégration membranaire. Pour pallier à ces dommages, la cellule met en place toute une série de mécanismes contribuant au maintien de son intégrité ou à son adaptation et acclimatation (**Amamra, 2015**).

Nous nous sommes intéressés, ensuite, à l'évolution du taux de GSH, le thiol non protéique le plus abondant et principal piègeur non enzymatique de radicaux dans les organismes vivants et plus particulièrement chez les cellules animales (**Meister et Anderson, 1983**). Dans ce travail, nous avons constaté une diminution significative et de manière dose-dépendante chez tous les escargots traités par rapport aux témoins. Cette diminution est probablement due à sa liaison aux radicaux libres produits par l'insecticide dans le but de les neutraliser. Ces résultats sont en accord avec ceux de **Ferfar (2012)**, (**El-Gendy et al ;2009**) et (**Salama et al ;2005**) qui ont rapporté la déplétion du glutathion chez *Helix aspersa* exposé à différents pesticides comme le méthomyl et le chlorpyrifos. La réduction de la teneur en GSH au niveau de la glande digestive est, également, signalée par Douafer (2015) dans son étude exposant des escargots au thiaméthoxame à des doses de 200 et 400 mg/l pendant 96.

Le GSH a pour rôle l'inactivation des espèces radicalaires par des réactions rapides et non enzymatique grâce à son groupement thiol (-SH) (**Kalyanaraman et al., 1996**; **Luperchio et al., 1996**). Cette détoxification se fait par simple transfert d'électrons, rendant ainsi les ROS moins toxiques pour l'organisme (**De Leve et Kaplowitz, 1991**). En outre, il participe à la détoxification des xénobiotiques comme étant un substrat pour les enzymes GST et GPx, ce qui rend son rôle encore plus crucial dans la défense cellulaire contre la toxicité des pesticides (**Quiniou et al., 2007**). Il convient de souligner, enfin, que l'effet toxique des xénobiotiques, et notamment, des pesticides dépend du taux de GSH : les études ont montré la capacité des pesticides à induire un appauvrissement du taux GSH ce qui est susceptible d'induire une lipoperoxydation (**Itziou et al. 2011**).

En raison des travaux suscités, nous avons jugé important de nous intéresser à l'étude de la peroxydation lipidique en estimant le taux de malondialdéhyde.

Nos résultats ont mis en évidence une augmentation dose dépendante et hautement significative au niveau de l'hépatopancréas, particulièrement, chez les escargots traités par les

CHAPITRE 04 DISCUSSION

deux plus fortes concentrations comparativement aux témoins. Ces résultats vont dans le même sens que ceux de **Hajer et abla (2018)** ; **Kamal et Hashem,(2012)**. Aussi l'étude de **(CHIALI et al ;2013)** montre une augmentation de la concentration de MDA tissulaire chez des rats exposées à de faibles dose de la métribuzine.

Le MDA résulte de l'oxydation des acides gras polyinsaturés membranaires et rend compte d'une lyse ou une dégradation de la membrane suite aux attaques radicalaires dans certaines conditions de stress, en particulier avec des contaminants organiques (pesticides) et inorganiques (métaux). En effet, les radicaux libres sont susceptibles d'interagir au niveau des doubles liaisons C=C avec les chaînes d'acides gras polyinsaturés qui constituent le double feuillet phospholipidiques des membranes. Ils entraînent alors la peroxydation des acides gras polyinsaturés (**Guetteridge et Halliwell, 1990**) provoquant une désorientation membranaire (perturbation des propriétés physicochimiques des membranes, des communications intercellulaires et du fonctionnement des enzymes membranaires) pouvant aboutir à la lyse cellulaire. Les hydroperoxydes lipidiques formés sont aussi dégradés principalement en malondialdéhyde (MDA), un aldéhyde très réactif vis-à-vis des macromolécules telles que les protéines, l'ARN ou l'ADN. Il peut former des adduits à l'ADN pouvant induire un effet mutagène pour l'organisme, ou se complexer aux acides aminés ou encore au glutathion et. Ces composés réagissent de manière covalente avec les protéines et les inactives. C'est pourquoi, ces atteintes membranaires altèrent les systèmes de transfert d'ions comme Ca^{++} ainsi que le fonctionnement de nombreux transporteurs, récepteurs et affectent les voies de transduction des signaux (**Gismondi, 2012**). Le caractère lipophile de l'insecticide utilisé dans notre étude a certainement contribuer à sa pénétration dans les cellules perturbant, ainsi, l'orientation des phospholipides et provoquant des changements dans la fluidité membranaire. Par ailleurs, l'augmentation du taux de MDA et la diminution du niveau de GSH observées dans l'hépatopancréas suggèrent que l'augmentation de la peroxydation lipidique peut être une conséquence de l'épuisement de GSH (**Birsen Aydin, 2011**).

Pour conclure, l'exposition des escargots *Helix aspersa* aux concentrations croissantes de Cyperméthrine a induit une hépatotoxicité qui s'est traduite par des perturbations physiologique et métabolique. En effet, nos résultats illustrent une augmentation significative de la teneur en protéines totales et une diminution dose dépendante et significative du taux de GSH traduisant le déclenchement du système de détoxification. Par ailleurs, l'augmentation significative du taux de MDA indique la survenue d'une peroxydation lipidique due, certainement, à un stress oxydatif.

CHAPITRE 04 DISCUSSION

Ces résultats laissent un grand point d'interrogation quant à l'effet indésirable de la Cyperméthrine même à de faibles concentrations. De temps plus, qu'elle est largement utilisée.

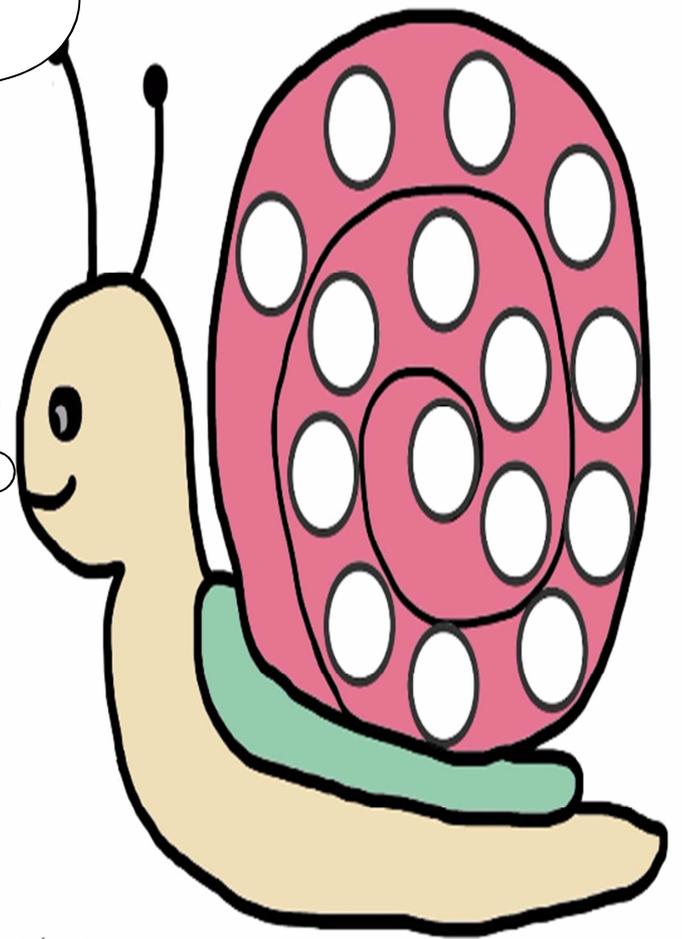
Au terme de ce travail, il serait intéressant de :

- élargir cette investigation en incluant d'autres molécules du métabolisme basal et d'autres espèces.
- confirmer ces résultats par des études histopathologiques des différents organes.
- étudier la toxicité de ce pesticide sur les œufs des escargots et des juvéniles.
- étudier le devenir et la toxicité des pesticides et de leurs métabolites dans des microcosmes obéissant aux conditions naturelles d'expositions.

Chapitre 05:

références

biobibliographiques



A

- Ait Haml et Bourbia Y. 2013.** Évaluation de la toxicité de mixtures de pesticides sur un bio-indicateurs de la pollution des sols *Helixaspersa*. Mémoire de doctorat, Université Badji Mokhtar. Annaba. 177 pages.
- Alonso, P.L., Tanner, M. (2013).** Public health challenges and prospects for malaria control and elimination. *Nature Medicine*, 19:150–155.
- Amamra R., 2015.** Etude de la toxicité de composés Pyréthrinoides utilisés en Algérie sur un modèle : *Parameciumtetraurelia*. Thèse doctoral. Université d'Annaba. P 14-15
- Amamra R. , 2015.** Etude de la toxicité de composés pyréthrinoides utilisés en Algérie sur un modèle alternatif : *Parameciumtetraurelia*. Thèse de Doctorat. Université d'Annaba. Pages 134.
- Atilia A, Berrebbah H, Boucenna M, Alayat A, Amamra R, Grara N, Djebbar M R., 2016.** BiomarkersResponses of Land Snails*Helixaspersa*Exposed to ChronicMetal Pollution under Field and Laboratory Conditions. *Nature Environment and Pollution Technology ; 15(4) :(1209-115.)*

B

- Baker, G.M., 2001.** The Biology of Terrestrial Mollusks. CAB International, Oxon. Wallingford, UK, 567p.
- Bailey S.E.R., 1981.** Circannual and circadian rhythms in the snail *Helix aspersa* Miiller and the photoperiodic control of annual activity and reproduction. *Jorn. Comp. Physiol*, 142, 89-94.
- Bradford M.M., 1976.** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding, *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254.

CHAPITRE 05 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Barker G.M., 2004.**Natural enemies of terrestrial mollusks.Wallingford, UK, CABI Publishing. p644
- Belgacem O. et Charef M., 2018.** Evaluation du stress oxydatif généré par les nanoparticules chez *Helixaspersa*: Cas du dioxyde de titane. Mémoire de master. Université de Tebessa. page 41
- Benbouzid H., Berrebbah H., Berredjem M. Djebar M.R., 2012.** Toxic effects of phosphoramidate on *Paramecium* sp. with special emphasis on respiratory metabolism, growth, and generation time. Toxicol. Environ. Chem. 94(3) : (557-565.)
- Berrah A (2011).** Etude sur les pesticides. Mémoire de Master Université de Tébessa Algérie.
- Bloomquist, J.R. (2013).** Insecticides: Chemistries and Characteristics. In: E. B. Radcliffe, W. D. Hutchison & R. E. Cancelado [eds.], Radcliffe's IPM World Textbook, URL: <http://ipmworld.umn.edu>, University of Minnesota, St. Paul, MN.
- Boland J, Koomzn I, Van Lidth J, Jeude DE, Oudejans J (2004)** .les pesticides compositions, utilisation et risques.Edition Agrosdok.
- Bonnet, J.C. and Vrillon, J.L., 1990.** L'escargot *Helix aspersa* biologie-élevage. Edition INRA, 14-15.
- Bonvallet N., 2014.** application de la métabolomique à l'étude du lien entre les expositions environnementales aux pesticides pendant la grossesse et le développement de l'enfant. Thèse de Doctorat. SEVAB. INRA. p256.
- Bougrouz et Boualague 2018** Intitulé : Effet d'un insecticide néonicotinoïde sur quelques paramètres biochimiques chez « *Helixaspersa* » Université Larbi Tébessi –Tébessa P44

C

- Calvet R (2005)** .les pesticides dans le sols. Edition France Agricole.
- Champeau Olivier., 2005.** Biomarqueurs d'effets chez *C. fluminea* : du développement en

CHAPITRE 05 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

laboratoire à l'application en mesocosme. Thèse de doctorat. Université de Bordeaux 1. P281.

-Chevalier H., 1992. L'élevage des escargots : production et préparation du « Petit-gris ». Ed. Du point vétérinaire. 144 p.

-Chevallier H., 1982. Facteurs de croissance chez des gastéropodes pulmonés terrestres paléarctiques en élevage. *Haliotis*, 12, 29-46.

-Crossland N.O., 1982. Aquatic toxicology of cypermethrin. II. Fate and biological effects in pond experiments. *Aquatic Toxicology* 1982; (2) 205-222.

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, 249-272

-DeLeve, L.D. et Kaplowitz, N. 1991. Glutathione metabolism and its role in hepatotoxicity. *Pharmacology & Therapeutics*, 52, 287-305.

-Den Besten P.J., Postma J.F., de Valk S., Dubbeldam M., Everaarts J.M., 2001. Environmental monitoring in the North Sea by combining biomarkers studies in the sea stars *Asterias rubens* with sediment quality assessment based on sea urchin bioassays. *Biomarkers in Marine Organisms: A Practical Approach*, Garrigues Ph., Barth H., Walker CH, Narbonne F., editors (Amsterdam; New York: Elsevier Science), 279–330.

-Douafer L., 2015. Réponses *in situ* et en laboratoire de deux espèces communes de gastéropodes (*Helix aspersa* et *Helix aperta*) à une contamination des agrosystèmes par un

CHAPITRE 05 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

insecticide néonicotinoïde (Actara): activité de l'AChE et stress oxydatif. Thèse de doctorat. Université Annaba. p99.

E

-Elia A.C., Galarini R., Taticchi M.I., Dörr A.J.M., Mantilacci L., 2003. Antioxidant responses and bioaccumulation in *Ictalurus melas* under mercury exposure. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 55, 162-167.

-Esterbauer H, Gebicki J, Puhl H, Jürgens G.1991. The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Radic Biol Med* ;(4) :341-90

F

-Fränze O., 2003. Bioindicators and environmental stress assessment. *Bioindicators and biomonitors: principles, concepts and applications*, B.A. Market, A.M. Breure, H.G. Zechmeister, editors (Amsterdam: Elsevier Science Ltd.), 41–84.

-Fensk R A, Kedan G, Lu C Fisker-Andersen J A, Curl C I(2002). Assessment of organophosphorus pesticide exposure in the diets of preschool children in Washington State. *J. Exposure Analysis Environ. Epidemiol.* pp.21-28

-Ferfar K., 2012. Évaluation de la toxicité d'un fongicide nouvellement introduit à base d'oxychlorure de cuivre sur un animal bio-accumulateur /bio-indicateur : *Helix aspersa*. Mémoire de Master. Pages 36.

G

- Gimbert F., Annette de Vaufleury., Douady. F., Coeurdassier.M., Scheifler. R., Badot.P.M., 2008.** Long-term responses of snails exposed to cadmium-contaminated soils in a partial life-cycle experiment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 70 138-146.
- Gismondi E., 2012.** Étude des systèmes de défenses antitoxiques chez l'amphipode *Gammarus roeseli* : effets du parasitisme et d'une exposition au cadmium. Thèse de Doctorat. Université de Lorraine.
- 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. Natl. Méd*, 181, 59-75.
- Gomot A., & Gomot L., 1995.** Neurohormonal control of body and shell growth of the snail *Helix*. *Bull. Inst. Océa. Monaco*, 14, 141-149.
- 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 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
- Guelorget O., Perthuisot J.P., 1984.** Indicateurs biologiques et diagnose écologique dans le domaine paralytique. *Bulletin d'Ecologie*. 15(1), 67-76
- Gutteridge et Halliwell, 1990.** Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods Enzymol*. 1990;186:1-85.

CHAPITRE 05 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

-Gueye Papa Madièye, 2007, Phénotypes majeurs de l'haptoglobine humaine et stress oxydant induit par l'hémoglobine extra-érythrocytaire sur le globule rouge, Doctorat de l'Université Louis Pasteur, STRASBOURG I. P252

H

-Hénault-Ethier L., 2015. Health and environmental impacts of pyrethroid insecticides: What we know, what we don't know and what we should do about it. Executive summary and literature review. Équiterre. Montréal, Canada. PP 06-10

-Housset, P., Dickmann, R. (2009). A promise fulfilled – pyrethroid development and the benefits for agriculture and human health. Bayer Crop Science Journal, 62(2):135-143

I

-Inserm (2013). (Institut National de la Santé Et de la Recherche Médicale) Expertise collective. Pesticides, effets sur la santé, 2013. Disponible sur <http://editions.inserm.fr/zh5/109743>.

-Itziou A., Kaloyianni M., Dimitriadis V.K., 2011. Effects of organic contaminants in reactive oxygen species, protein carbonylation and DNA damage on digestive gland and haemolymph of land snails. Chemosphere 85. 1101-1107. Doi:10.1016/j.chemosphere.07.043

K

-khater, H.F., 2012 Ecosmart biorational insecticides: alternative insect control strategies, insecticides in integrated pest management perveen, D.F., Ed .

-Kalyanaraman, B., Karoui, H., Singh, R.J. et Felix, C.C. 1996. Detection of thiyl radical adducts formed during hydroxyl radical- and peroxynitrite-mediated oxidation of Thiols - A high resolution ESR spin-trapping study at q-band (35 GHz). *Analytical Biochemistry*, 241, 75-81.

-Key P.B., Wirth E.F., Fulton M.H., 2006. A review of grasshopper, *Palaemonetes* spp., as a bioindicator of anthropogenic impacts. Environ. Bioindic, 1, 115–128. »7

CHAPITRE 05 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

-Kheddam-Benadjal N., 2012. Enquête sur la gestion des pesticides en Algérie et recherche d'une méthode de lutte alternative contre *Meloidgyneincognita*(*Nematoda* : *Meloidgynidae*) .Mémoire de magister. Université EL Harrach Alger. p 15-17.

L

-Lagadic L., &Amiard J.-C., 1997. Biomarqueurs en écotoxicologie : principes et définitions. in"*Biomarqueurs en Ecotoxicologie. Aspects Fondamentaux*". Lagadic, L., Caquet, T., Amiard, J.-C.Ramade, F. (Eds.). Paris, Masson: 1-9

-Luperchio, S., Tamir, S. et Tannenbaum, S.R. 1996. No-induced oxidative stress and glutathione metabolism in rodent and human cells.*Free Radical Biology and Medicine*, 21, 513-519.

M

-louise H..2016. les pyréthrinoides utilises à la maison mais non sans danger.P9

-Madec L., 1983. Importance des conditions climatiques et de l'origine des individus pour la reproduction de l'escargot petit-gris en élevage sous bâtiment contrôlé. Session ITAVI, Rennes.M

-Markert B.A., Breure A.M., Zechmeister H.G., 2003. Definitions, strategies and principles forbioindication/biomonitoring of the environment. Bioindicators and biomonitors: principles, concepts and applications, Markert B.A., Breure A.M., Zechmeister H.G., editors. (Oxford : Elsevier Science Limited), 3–39.

-Matsuo, N., Mori, T. (2012).Pyrethroids-fromchrysanthemum to modern industrial insecticide, In: Topics in currentchemistry, Springer. NY, USA, 224 p.

-Meister A, Anderson M E.1983.Glutathione.Annual Review of Biochemistry. 1983; (52): 711-760.

CHAPITRE 05 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

-**Michel Nicolle, 2015.**Néonicotinoides et santé humaine. Journal of Toxicol Environ Health.12:1-2

-**Mnif W., Hassine A.I., Bouaziz A., Bartegi A., Thomas O., Roig B., 2011.** Effect of endocrine disruptor pesticides: a review. Int Journal Environ Res Public Health. 2265-2303.

-**Morgan, M.K. (2012).**Children's exposures to pyrethroid insecticides at home: a review of data collected in published exposure measurement studies conducted in the United States. International Journal of Environmental Research and Public Health, 9(8):2964-2985.

Müller, O.F. (1774). Vermium terrestrium et fluviatilium, seu animalium infusoriorum, helminthicorum, et testaceorum, non marinorum, succinct historia. Volumen alterum. - pp. I-XXXVI [= 1-36], 1-214, [1-10]. Havniæ&Lipsiæ. Heineck et Faber, p. 59.

O

-**Ojha A, Yaduvanshi S K, Sivastava.**2011. Effect of combined exposure of commonly used organophosphate pesticide on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in rat tissues; Pesticide Biochemistry and Physiology. (99). 148-156.

-**OMS (2014).** Santé publique et environnement. Site consulté en ligne le 2014-06-18, au : http://www.who.int/phe/about_us/fr/

Q

-**Quiniou.** 2007. Marine water quality assessment using transplanted oyster larvae. Environmental International. 2007; (33): 27-33.

R

- Royal Society of Chemistry**., 2014. ChemSpider. [En ligne] <http://www.chemspider.com/>
- Ronco E A., Carriquiriborde P., Natale G S., Martin M L., Mugni H., Bonetto C.**, 2008. Integrated approach for the assessment of biotech soybean pesticides impact on low order stream ecosystems of the Pampasic Region, In: J.Chen. C. Guo(Eds). Ecosystem Ecology Research Trends. Nova Science. Hauppauge: 209-239.
- Radwan M.A., Mohamed M.S.**, 2013. Imidacloprid induced alterations in enzyme activities and energy reserves of the land snail, *Helix aspersa*. Ecotoxicol. Environm. Saf. 95:91-97. [consulté le 10 juin 2014].

S

- Saha S., Kaviraj A.**, 2008. Acute toxicity of synthetic pyrethroid cypermethrin to some freshwater organisms. Bull. Environmental Contaminant Toxicology; (80): 49-52.
- Slaninova A., Smutna M., Modra H., Svobodova Z.**, 2009. A review; oxidative stress in fish induced by pesticides. Neuro Endocrinol. Lett. (30):2-12.
- Soderlund, D.M., Clark, J.M., Sheets, L.P., Mullin, L.S., Piccirillo, V.J., Sargent, D., et al.** (2002). Mechanisms of pyrethroid neurotoxicity: implications for cumulative risk assessment. Toxicology, 171(1):3-59.
- Stagg R.M.**, 1998. The development of an international programme for monitoring the biological effects of contaminants in the OSPAR convention area. Mar. Environ. Res, 46, 307-313.

T

-**Toumi. H, M. Boumaiza, F. Immel, B. Sohm, V. Felten and J. F. Férard, 2014.** Aquatic Toxicology.184, 40-47. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquatox.2013.12.022>.

V

-**Velmurugan B., Mariadoss S., Elif C., Erhan U., 2007.** The effects of fenvalerate on different tissues of freshwaterfish *Cirrhinusmrigal*. Journal of Environmental Sciences, Part B.(42)

W

-**Weckberker, G., Cory, G., 1988.**Ribonucléotidereductaseactivityabdgrowth of glutathionedepleted mouse leukemial 1210 cells in vitro. Cacerletters ,40 ,257-264.

X

-**Xing L, Hoshijima K, Grunwald DJ, Fujimoto E, Quist TS, Sneddon J, et al. (2012)**Zebrafish *foxP2* Zinc FingerNuclease Mutant Has Normal AxonPathfinding. PLoS ONE 7(8): e43968. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0043968>

Y

-YeYang , Ma H, Zhou J, Lin J, lui W. 2014. Joint toxicity of permethrin and cypermethrin at sublethal concentrations of the embryo-larval Zebrafish. *Chemosphere* 96, 146-154.

Z

-Zhang., 2009. Time-dependent oxidative stress responses of crucian carp (*Carassius auratus*) to intermediate injection of extracted microcystins. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. (82): 574-578.

