



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la
Recherche Scientifique



Université Larbi Tbéssi –Tébessa-

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

Département de Biologie Appliqué
MEMOIRE DE MASTER

Domaine :Sciences de la nature et de la vie (SNV)

Filière:Sciences Biologiques

Spécialité :Pharmacotoxicologie

Intitulé : l'Effet d'une Nanoparticule
Sur des paramètres de toxicité
Chez un indicateur de pollution
" *Helix aspersa* "

Préparé par :

Rahal Hanine

Messoud Sarah

Devant le jury

- M^{me} OURNA Souad MCB Université de Tébessa Président
- M^{me} ROUACHDIA Roukaya MAA Université de Tébessa Rapporteur
- M^{me} BENAMARA Amel MAA Université de Tébessa Examinatrice

Date de soutenance 17/06/2020

Note :

/20

Résumé

Notre étude expérimentale, s'est intéressé au trichlorure d'antimoine $SbCl_3$, une nanoparticule métallique trivalent fréquemment rencontré dans les zones industrialisées, et vise à évaluer l'impact de cette molécule sur des escargots terrestres *Helix aspersa*.

Ce travail s'est basé sur l'étude de la toxicité de trichlorure d'antimoine après deux périodes de traitement (14j et 28j) par voie digestive. Suite à une exposition à deux concentrations sublétales (1g/l et 5g/L), par la mesure des indicateurs métriques (RHS et RRS) et le taux de mortalité ainsi que l'effet de cette nanoparticule sur le comportement des escargots.

Les résultats ont montré que le traitement des escargots par les nanoparticules métalliques $SbCl_3$ provoque une réduction significative du RHS après 14 jours de traitement avec la faible dose, et qu'il n'y avait pas de différence significative du RRS entre les lots traités et le lot témoin.

Les escargots traités ont tendance à être moins actifs, dès la troisième semaine de traitement et sont préférentiellement en position haute sur le couvercle comparés aux escargots témoins.

Mots-clés : *Helix aspersa*, trichlorure d'antimoine, RHS, RRS.

ملخص

ركز تدر استنا التجريبية على ثلاثي كلوريد الأنتيمون $SbCl_3$ ، وهو جسيمات نانوية معدنية ثلاثية التكافؤ كثير اما يصادف في المناطق
الصناعية، ويهدف إلى تقييم تأثير هذا الجزيء على القواقع الأرضية *Elica aspersa*.

اعتمد هذا العمل على دراسة سمية ثلاثي كلوريد الأنتيمون بعد فترة تين من العلاج (14 يوماً و 28 يوماً) بواسطة الجهاز الهضمي. بعد التعرض لثلاثين من تركيزات شبيهة (1 جم / لتر و 5 جم / لتر) ، عن طريق قياس المؤشر التمثلية (RHS و RRS) ومعدلات لوفيات وكذلك تأثير هذه الجسيمات النانوية على سلوك القواقع.

أظهرت النتائج أن علاج القواقع بالجسيمات النانوية المعدنية $SbCl_3$ يتسبب في انخفاض كبير في RHS بعد 14 يوماً من العلاج بالجرعة المنخفضة، وأنه لا يوجد فرق كبير في RRS بين الدفعتين المعالجتين والدفعة الشاهدة.

تميل القواقع المعالجة إلى أن تكون أقل نشاطاً، من الأسبوع الثالث من العلاج وفضلًا تكون في موضع تفرع عند الغطاء مقارنتاً بال
قواقع الشاهدة.

الكلمات المفتاحية : *elica aspersa*، ثلاثي كلوريد الأنتيمون، RHS، RRS.

Abstract

Our experimental study focused on antimony trichloride $SbCl_3$, a trivalent metallic nanoparticle frequently encountered in industrialized areas, and aims to assess the impact of this molecule on land snails *Helix aspersa*.

This work was based on the study of the toxicity of antimony trichloride after two periods of treatment (14 days and 28 days) by the digestive tract. Following exposure to two sublethal concentrations (1g / l and 5g / L), by measuring metric indicators (RHS and RRS) and the mortality rate as well as the effect of this nanoparticle on the behavior of snails.

The results showed that the treatment of snails with metallic nanoparticles $SbCl_3$ causes a significant reduction in RHS after 14 days of treatment with the low dose, and that there was no significant difference in RRS between the treated batches and the control batch.

The treated snails tend to be less active from the third week of treatment and are preferably in the high position on the lid compared to the control snails.

Keywords: *Helix aspersa*, antimony trichloride, RHS, RRS.

Remerciements

Tout d'abord, je rends grâce à Dieu pour sa miséricorde et ses bénédictions. Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance et mon respect à l'égard de mon promoteur Mm. Rouachdia Roukaia maitre de conférences à l'université l'arbi Tébessi Tébessa, pour avoir accepté de m'encadrer ainsi que pour ses précieux conseils et orientations, sa disponibilité, sa gentillesse, sa patience, sa modestie tout comme l'intérêt bienveillant qu'elle a manifesté envers moi qu'elle trouve ici

Dédicaces

l'égue et partenaire pour présenter le mémo, Sarah, que Dieu la
ur la mort de son père, que Dieu lui donne patience et réconfort, et je lui
mpt rétablissement et toute Ma famille ; J'espère la rémunérer d'une
end fière.

énorme plaisir, un cœur ouvert et une immense joie, je dédie mon travail à
spectueux et magnifique père Chaffaiqui m'a soutenu toute au long de
entement et à la lumière, au court chemin du paradis pour ma chère mère,
à Dieu que toi et mon père vous maintiendrez en bonne santé

œurs Takoua , nada et mon frère Fares et Abd rahmen , à qui je souhaite
x plein de réussite

ès chères tantes Zina et Arbia et Samra ; Warda ; Sara Et leurs enfants .
cher Rebai ; À toutes mes tantes et leurs enfants en particulier, Youssef
nmed et Abou baker . Aux filles de mon oncle Nour Al-Hoda et à aya et
tante Dhekra et Safa aux filles de ma cousine aînée Naima Asma et à la
oncle Khawla Aux filles de ma tante Fatima .Rabab, Soulef et Basma
oujours été là pour me soutenir et m'encourager.

nt tenus avec moi dans les circonstances les plus difficiles et m'ont motivé
à continuer et à ne pas désespérer mon ami Iman de la ville de Palestine
ncle et mon compagnon, à ma façon, Abir, je vous offre les plus belles
remerciements et de gratitude d'un cœur rempli de respect et
our vous.

chères amies, Bouthaina ,Imen , Amal, et Amira,Assma . Je vous dédie ce
gnage de ma grande affection et en souvenir des agréables moments
e vous êtes les meilleures.

promotrice de Pharmacotoxicologie 2019/2020 .À ma famille : *RAHAL*

Hanine



01	Principales sources de nanoparticules	04
03	Grandes classes de propriétés des NP, domaines et exemples d'applications.	07
05	Tableau Trichlorure d'antimoine	17
07	Identification et caractérisation de trichlorure d'antimoine	18
09	Systematique d'escargot <i>Helix aspersa</i>	23
11	les classes d'escargots <i>Helix aspersa</i>	34
13	effet de deux doses de trichlorure d'antimoine sur l'évolution du rapport hépatosomatique	47

Liste des figures

N°	Titre	Page
01	Exemples d'objets présents dans la nature dans une échelle de taille en nanomètres	04
02	Schéma représentant les différents types de nanoparticules	05
03	Répartition en pourcent de l'impact économique global des nanotechnologies en 2010	08
04	Schéma du corps humain avec les voies d'exposition aux nanoparticules et les organes touchés	12
05	Effets potentiels des particules ultrafines inhalées	13
06	différentes utilisations des nanoparticules manufacturées dans les applications environnementales	14
07	Photos d'un escargot prise pendant le ramassage	22
08	Escargot <i>Helix aspersa</i>	23
09	morphologie externe de l'escargot	24
10	L'accouplement de deux partenaires d'escargots	26
11	Escargot en position de ponte	27
12	Transferts des polluants dans un écosystème terrestre.	28
13	Mécanisme de production des ROS et des RNS	29
14	Escargot <i>Helix aspersa</i>	35
15	Anatomie de l'escargot	36
16	Ondes de contraction sur la face ventrale des pieds d'escargots	37
17	Elevage d' <i>Helix aspersa</i> dans laboratoire	39
18	peser des nanoparticules	39
19	Les deux échantillons des nanoparticules	40
20	La préparation de solution	40
21	Mode de traitement et exposition d' <i>Helix aspersa</i> à la nourriture	41
22	Schéma représentatif du protocole expérimental.	42
23	Sacrifices des escargots et prélèvement des hépatopancréas et les reins	43
24	Effet de trichlorure d'antimoine (SbCl ₃) sur le rapport hépato-somatique	47
25	Effet de trichlorure d'antimoine (SbCl ₃) sur le rapport réno-somatique	48

Liste des abréviations

ADN	Acide désoxyribonucléique
APT	Antimoine pentavalent
ATP	Antimoine trivalent
BHA	Butylhydroxyanisole
BHT	Butylhydroxytoluène
CAT	Catalase
Cd	Cadmium
CeO₂	Nanoparticules d'oxyde de cérium
CFC	Chlorofluorocarbones
CNPI	Code national de prévention des incendies
°C	Degré Celsius.
ERO	Espèces réactives de l'oxygène
GPX	Glutathion peroxydase
GSH	Glutathion réduit
GSSG	Glutathion oxydée
GST	Glutathion S-transférase
h:	Heur
H₂O₂	Peroxyde d'hydrogène
HClO	Acide hypochloreux
IRM	Imagerie par résonance magnétique
g/ml	Gramme par millilitre
g/l	Gramme par litre
g/mol	Gramme par mol
LDH	Lactate déshydrogénase
MDA	Malondialdéhyde
mg/L	Milligramme sur litre
mg/ m³	Milligramme/cubique mètre
Nm	Nanomètre
NO•	Monoxyde d'azote
NPs	Nanoparticules

NTC	Nanotube de Carbone
nC60	Agrégat de nanoparticules de carbone
O₂^{•-}	Anion superoxyde
OH[•]	Radical hydroxyle
ONOO⁻	Peroxynitrite
Ppm	Part per million
Ppm->mg/m³	Part per million-> Milligramme/cubique mètre
RHS	Rapport hépato-somatique
RNS	Réactive Nitrogène Species
ROOH	Hydro peroxyde organique
ROH	Alcool
ROS	Réactive Oxygène Species
RSST	Règlement sur la santé et la sécurité du travail
RRS	Rapport réno-somatique
SbCl₃	Trichlorure d'antimoine
SOD	Superoxyde dismutase
T°	Température
1t/an	Temps par ans
TiO₂	Dioxyde de Titane
UV	Rayonnement Ultraviolet

Table des matières

- ✓ ملخص
- ✓ Abstract
- ✓ Résumé
- ✓ Remerciement
- ✓ Dédicace
- ✓ Liste des abréviations
- ✓ Liste des figures
- ✓ Liste des tableaux
- ✓ Introduction

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I. Étude bibliographique sur les nanoparticules

I.1.les nanotechnologies	03
I.1.2 les nanoparticules	03
1. Définition	03
1.3. Sources démission des nanoparticules	04
1. Ces produits sont classés selon leurs différentes origines	04
I.1.4.Les déférentes types des nanoparticules	05
I.1.5. La propriété physique et chimique des nanoparticules	05
I.1.6.Les domaines d'applications des nanotechnologies	08
1. Domaines d'utilisation	09
I.1.7.La toxicité des nanoparticules	10
1. L'étude de la toxicité des nanoparticules est divisée en deux parties	10
I.1.8. Effets des nanoparticules sur l'Homme	10
1. Voies d'entrée dans l'organisme	10
2. L'appareil respiratoire	10
3. Le tractus digestif	11
4.La Voie cutanée	11
1. Définition de la peau	11
2. Pénétration des nanoparticules par voie cutanée	11

Table des matières

I.1.9.Effets des particules inhalées sur la santé	12
I.1.10. Les nanotechnologies environnementales	13
I.1.11. Risque pour les écosystèmes et les organismes vivants les constituant	14

II. Etude bibliographique sur la nanoparticule sbcl3

II.1.Définition	16
II.2.Procédé	16
II.3. L'utilisation	16
II.4. Trichlorure d'antimoine	17
II.5.Propriétés physiques	17
II.6.Identification et caractérisation	18
II.7.Les paramètres physico-chimiques	18
II.8.Données toxicologiques	19
1. Toxicologie aigu	19
2. Toxicologie chronique	19
II.9. Incompatibilité	19
II.10. Produits de décomposition	19
II.11.Manipulation	19
II.12.Entreposage	20

III. Etude bibliographique sur un indicateur de pollution

III. Place des gastéropodes dans les écosystèmes terrestres	21
III.1.Choix du modèle biologique: l'escargot terrestre <i>Helix aspersa</i>	21
III.2. <i>Helix aspersa</i>	22
III.3.Principales espèces	20
1. Classification	22
2. Systématique	23
3. Distribution géographique	23
III.4.Morphologie d' <i>Helix aspersa</i>	23
1. Anatomie externe de l'escargot	24
III.5.Rythme d'activité	24
III.6.Croissance	25

Table des matières

III.7.Cycle biologique de l'escargot	25
III.8. La pont	26
III.9.Ecologie de L'escargot	27
VI. Le stress oxydant	28
VI.1.Définition	28
VI.2. Radicaux libres	29
VI.3.Espèces réactives de l'oxygène (ROS)	29
1. Les radicaux hydroxyles (OH•)	30
2. L'anionsuperoxyde (O ₂ •-)	30
3. Le peroxyde d'hydrogène (H ₂ O ₂)	30
VI.4.Systèmes de défense : les molécules antioxydants	31
VI.5.systèmes de défense enzymatiques	31
1. Le superoxydedismutases (SOD)	32
2. Les glutathion peroxydase (GPx).	32
3. Les glutathion sous forme réduit (GSH).	33

Chapitre II : Matériels et Méthodes

I. Matériel et Méthodes

I. Matériel et Méthodes	34
1. Présentation et description de l'espèce bioindicatrice	34
2. Description de l'escargot	35
3. Anatomie d' <i>Helix aspersa</i>	36
4. L'espèce en milieu naturel	36
5. Déplacement	37
6. Estivation et hibernation	37
7. Longévité	37
I.2.Materiel chimique	38
1. Le nanoparticule SbCl ₃	38
I.3.Méthode	38
1. Condition d'élevage	38

Table des matières

2. Mode de préparation de solution SbCl ₃	39
3. Dispositifs expérimentaux et durée d'exposition	41
1. Mode de traitement et exposition d' <i>Helix aspersa</i> à la nourriture	41
4. Dissection et prélèvement des organes	43
I.4.Méthode de mesure des effets comportementaux	44
I.5. Recherche des biomarqueurs physiologiques	44
1. Mortalité	44
I.6.Mesure du rapport hépato-somatique et du rapport réno-somatique	45
I.7.Analyse statistique des résultats	45
<i>Chapitre III Résultats et discussions</i>	
I. Résultats	
I.1.Les effets comportementaux	46
1. Estimation du taux d'alimentation	46
2. Effets sur le comportement	46
I.2. Effets sur les paramètres morphométriques	46
1. La mortalité	46
I.3.Effet de trichlorure d'antimoine (SbCl ₃) sur le rapport hépato-somatique	47
I.4. Effet de trichlorure d'antimoine (SbCl ₃) sur le rapport réno-somatique	48
II. Discussion	49
II.Conclusion	53
Références bibliographiques	54

Introduction générale

La nanoscience et la nanotechnologie font l'objet d'une attention accrue ces dernières années, en raison de leurs progrès notables dans de nombreux domaines tels que la santé, la biotechnologie, l'énergie, l'électronique, etc. En effet, les nanomatériaux manufacturés ont de nouvelles propriétés physiques chimiques qui leur permettent d'être utilisés dans un grand nombre de produits. Les nanoparticules possèdent des propriétés photocatalytiques et une absorption UV élevées, ce qui justifie leur incorporation dans les textiles, les peintures, le ciment et les verres autonettoyants mais aussi leur utilisation dans le traitement des sols contaminés (**Angélique., 2008**). Parmi les nanocorps les plus étudiés figurent les nanoparticules de nombreuses substances telles qu'Or, silice et oxydes métalliques (par exemple TiO₂) et semi-conducteurs pour cristaux quantitatifs. L'une des préoccupations de ces nanoparticules est la capacité à contrôler la forme, la taille et la composition lors du réglage et à modifier la surface pour les utiliser. De plus, la taille des nanoparticules et la diversité des nanoparticules de composition en font un candidat intéressant pour des applications biomédicales et médicales (**Sandrine Q., 2013**).

Le développement croissant d'équipements qui incluent des nanomatériaux et la dispersion inévitable des nanoparticules dans l'environnement doivent être évalués car ils ont des impacts sur l'homme et l'environnement (**Bigorgne., 2011**) La toxicité des nanoparticules métalliques comprend la solubilité des nanoparticules et donc la toxicité chimique associée aux ions émis avec une génération d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) (**Angélique., 2008**).

La pollution de l'environnement par les minéraux est devenue l'un des problèmes les plus importants au monde et n'a cessé d'augmenter ces dernières années en raison de l'utilisation généralisée des métaux lourds dans l'agriculture, la chimie et l'industrie (**Mule et Lomte., 1994**). La toxicité des NP minéraux est apparue chez de nombreux êtres vivants, mais il reste encore de nombreuses questions Basique sur leurs effets sur les systèmes biologiques. Et la taille de l'échelle nanométrique leur confère des propriétés uniques qui peuvent conduire à des effets toxiques nouveaux et différents qui n'ont pas encore été clarifiés. Pour permettre un développement responsable et sûr de la nanotechnologie à l'aide de NP métalliques, une meilleure compréhension des mécanismes de la toxicité des NP métalliques au niveau cellulaire est nécessaire (**François P., 2012**). Par conséquent, il est nécessaire d'avoir des signes de désordre environnemental à travers un groupe d'organismes vivants qui sont utilisés comme gardes en étudiant les modifications physiologiques, biochimiques et écologiques qui les

affectent. Ces organismes hautement sensibles de polluants présentent l'intérêt de se prêter plus facilement que L'homme en étudiant les effets des polluants et en leur permettant de mettre en évidence une pollution chronique ou brutale (**Little E et al., 1990**).

Par conséquent, il existe une grande importance pour les invertébrés dans la structure des sociétés et le fonctionnement des écosystèmes terrestres et aquatiques et, par conséquent, un intérêt pour l'élargissement de la recherche liée à la toxicité environnementale de ces groupes d'animaux (**Ramade., 1992**) Les approches actuelles ont tendance à étudier les interactions entre les polluants et un large éventail d'organismes animaux afin d'évaluer l'impact des polluants Sur toutes les sociétés animales (**Coeurdassier et al., 2001**).

Notre travail vise à évaluer les effets d'une nanoparticule métallique (SBCL3) sur deux indices de pollution environnementale dans le but de maintenir la santé humaine après une exposition subchronique. Chez un gastéropode terrestre *Helix aspersa* à travers la contribution d'une voie d'exposition (voie digestive), une voie représentative dans la détermination de la bioaccumulation et des effets toxiques des contaminants.

Chapitre I: synthèse bibliographique

I.1.les nanotechnologies

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

I.1.2 lesnanoparticules

I.1.2 définition

La nanoparticule est un assemblage d'atome dont au moins une des dimensions est dans le domaine nanométrique (1 nm = 10⁻⁹ m). La limite admise est inférieure à 100 nm, sont des objets relativement fréquents. Il existe en effet différentes sources de production des nanoparticules : les sources naturelles (incendies, ...), les sources accidentelles (feux de bois,...) et les sources industrielles (nanoparticules manufacturées intentionnellement par l'homme). (**Couvreur et Puisieux., 1993**).

Du point de vue de la taille, les nanoparticules se situent sur l'échelle du monde vivant entre l'hélice d'ADN (2_3nm) et un virus (100 nm) (**Ibaseta, 2007**) (**Figure1**)

Les nanoparticules sont des agents thérapeutiques émergents en oncologie en raison de leurs caractéristiques biochimiques et physiques, et de leur pharmacocinétique. Le rationnel actuel et les applications cliniques en association avec la radiothérapie ont été analysés(**Issue., 2015**).

Chapitre I: synthèse bibliographique

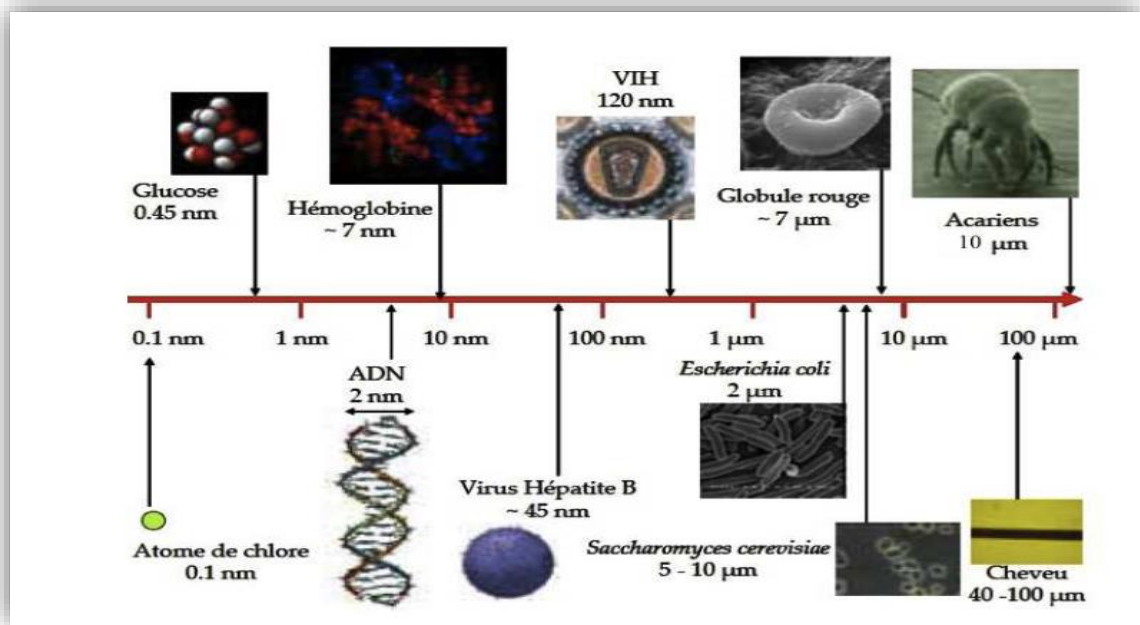


Figure 1 : Exemples d'objets présents dans la nature dans une échelle de taille en nanomètres (Ibaseta, 2007)

I.1.3. Sources démission des nanoparticules

I.1.3.1. Ces produits sont classés selon leurs différentes origines

Tableau 1: Principales sources de nanoparticules (Oberdorster G et al, 2005)

Origine naturelle	Origine anthropogéniques non-intentionnelle (accidentelles)	Origine anthropogéniques (intentionnelles)
<p>Causé principalement par :</p> <ul style="list-style-type: none"> *Des phénomènes de nucléation. * Des condensations de vapeurs dans l'atmosphère. *Des volcans (cendres). *Des combustions de forêts. 	<p>Causé par:</p> <ul style="list-style-type: none"> *Des procédés chauds tels que le soudage des métaux. * La combustion des moteurs. *Friture, grillade. 	<p>Causé directement manufacturés par:</p> <ul style="list-style-type: none"> * l'homme sous forme de nanomatériaux (nanoparticule, nanotube, nano films). *Nanomatériaux. *Métaux, semi-Conducteurs: oxyde métallique, carbone.

Chapitre I: synthèse bibliographique

I.1.4. Les différents types de nanoparticules

Les nanoparticules peuvent avoir des formes très diverses (sphériques, fibreuses, tubulaires et planes) et nous verrons ultérieurement que la morphologie est un paramètre important pour expliquer l'activité biologique des particules. (Ibaset, 2007)

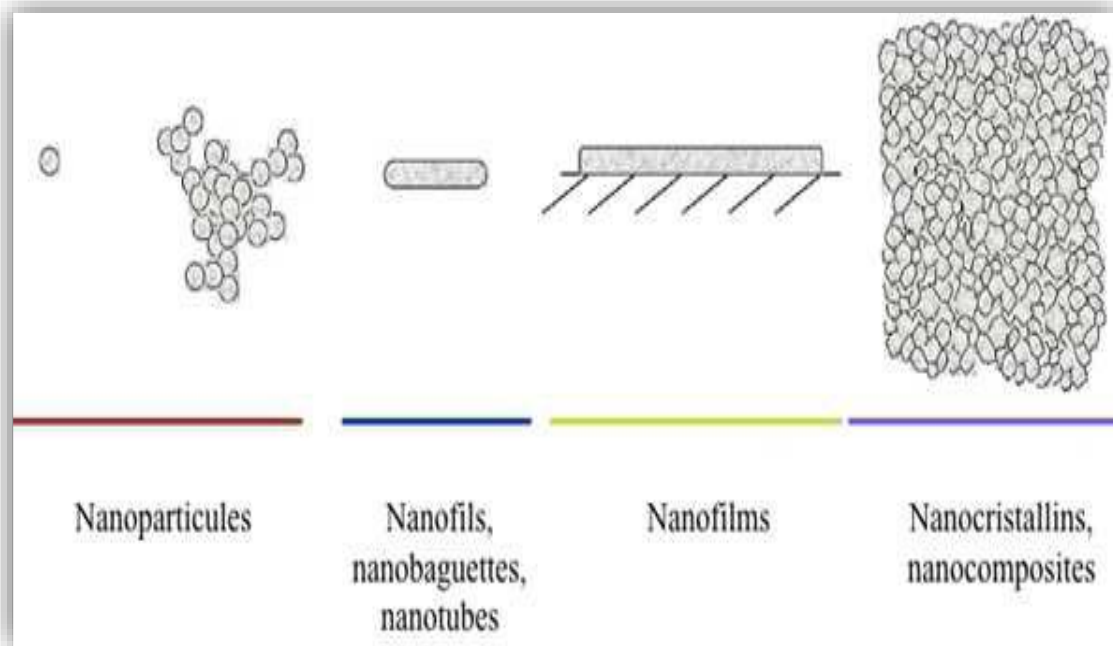


Figure 2: Schéma représentant les différents types de nanoparticules (Ibaset, 2007)

I.1.5. La propriété physique et chimique des nanoparticules

Biologique la petite taille des nanoparticules leur permet d'interagir de façon particulière avec les systèmes biologiques (protéines, membranes, cellules).

Les propriétés physiques et chimiques des nanomatériaux peuvent différer des propriétés du matériau en vrac correspondant en raison d'effets quantiques et de surface qui dépendent de la taille (Roduner E., 2006).

Chapitre I: synthèse bibliographique

Tableau 2: Récapitulatif des changements de propriétés des particules à l'échelle nanométrique (**Luther W, 2004**)

Propriété	Exemple
Catalytique	Efficacité catalytique élevée due au rapport surface/volume élevé.
Electrique	Augmentation de la conductivité électrique des céramiques et des nano composites magnétiques ; Augmentation de la résistance électrique des métaux.
Magnétique	Augmentation de la coercivité magnétique, comportement super paramagnétique.
Mécanique	Augmentation de la dureté et de la solidité des métaux et des alliages, de la ductilité et de la super élasticité des céramiques.
Optique	Changement spectral de l'absorption optique et des propriétés fluorescentes, augmentation de l'efficacité quantique des cristaux semi-conducteurs.
Stérique	Augmentation de la sélectivité Sphères creuses pour un transport spécifique de médicaments et une distribution contrôlée.
Biologique	Augmentation de la perméabilité vis-à-vis des barrières biologiques (membrane, barrière épithéliale,...), augmentation de la biocompatibilité.

Les propriétés spécifiques des NPs sont liées à leur très grande réactivité, due à l'augmentation de leur surface, dite surface spécifique, au niveau de laquelle vont se produire les réactions chimiques. (**Bottero et al, 2004**)

Tableau 3 : Grandes classes de propriétés des NP, domaines et exemples d'applications

Chapitre I: synthèse bibliographique

Propriétés (exemples de NP concernées)	Applications/ domaines d'application	Exemples
Electriques, magnétiques, optiques (NTC, Au)	Electronique, stockage de l'information	Matériel informatique, multimédia
Optiques et photo-thermiques	Imagerie médicale	Agents contrastants, tomographie
	Diagnostic médical	
Catalyse (CeO ₂ , TiO ₂)	Secteur automobile	Additifs pour diesel, lubrifiants
	Stockage de l'énergie	Batteries / piles
	Produits autonettoyants	Revêtements pour façades, textiles, verres optiques
	Protection anti-UV	Crèmes solaires, textiles, revêtements extérieurs
Antibactériens (Ag, ZnO)	Secteur alimentaire	Transformation, conservation
	Médecine	Ustensiles, outils chirurgicaux
	Textiles	Pansements, vêtements « anti-odeurs »
	Cosmétiques	Crèmes de soin, traitement de l'acné
Grande résistance / souplesse / biocompatibilité (TiO ₂ , NTC)	Médecine	Implants orthopédiques, cardiaques
	Matériaux de construction	Ciments
	Matériel de sport	Raquettes, vélos, planches, skis
Possibilité d'encapsuler d'autres substances (Au, NP organiques)	Médecine	Traitements ciblés, anticancéreux
	Pesticides	Relargage progressif et ciblé
Interaction avec d'autres substances (NTC)	Remédiation environnementale	Purification des sols contaminés et des eaux souterraines

I.1.6. Les domaines d'applications des nanotechnologies

Chapitre I: synthèse bibliographique

Le marché des nanotechnologies ne cesse de grandir depuis les années 90. Les nanoparticules possèdent de nombreuses propriétés qui peuvent donc conduire à un large domaine d'applications industrielles. En 2010, l'impact économique et industriel des nanotechnologies se répartit sur trois grands secteurs: électronique, pharmaceutique et les nanomatériaux (**Figure 3**).

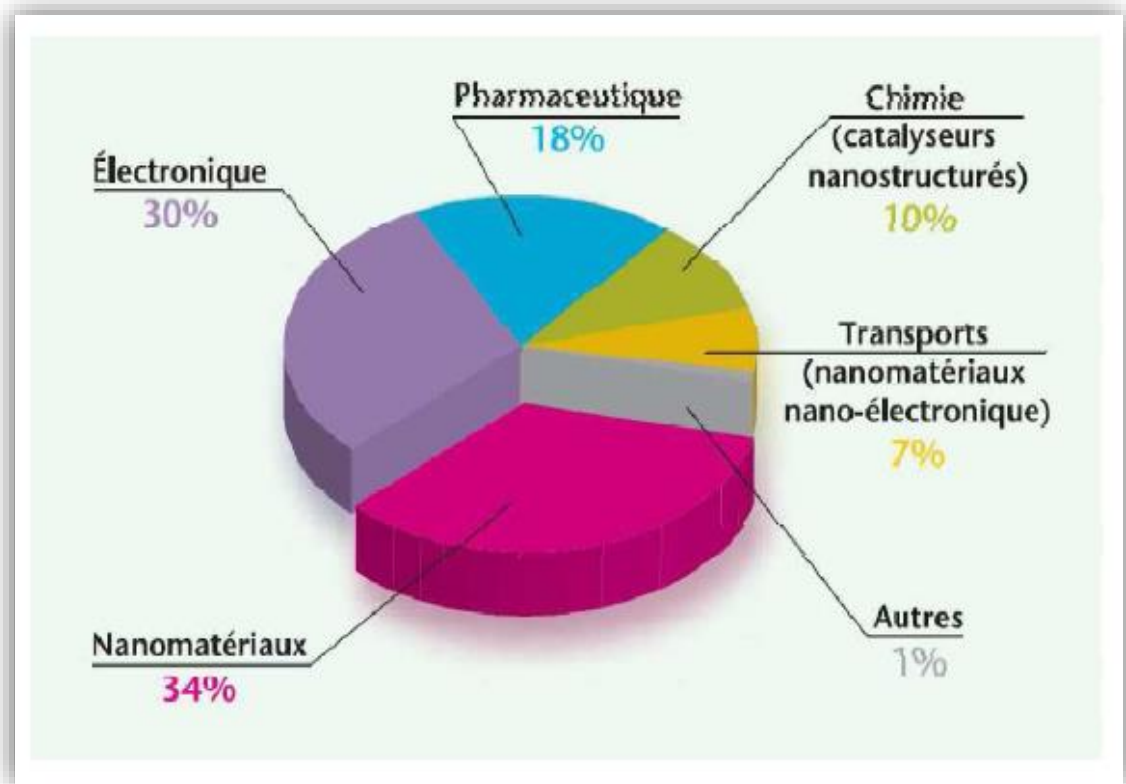


Figure 3: Répartition en pourcent de l'impact économique global des nanotechnologies en 2010 (INERIS, 2007)

I.1.6.1. Domaines d'utilisation

Chapitre I: synthèse bibliographique

Tableau 4: Applications visées par l'utilisation de nanomatériaux, entreprises concernées et estimation de la production mondiale actuelle (Afsset, 2006)

Secteurs	Applications visées	Fabricants-Utilisateurs	Production (2010)
Agro-alimentaire	Revêtement imperméable Membranes pour le traitement de liquides alimentaires Marquage pour la traçabilité	Laiteries, vins	
Automobile	Revêtement autolubrifiant, anti-rayure et anticorrosion Pneu vert, Pot catalytique Vitrage autonettoyant, hydrophobe, athermique	Rhodia, Michelin, Saint Gobain, Hutchinson Renault, Arcelor	Oxydes de Ce, Ti Nanotube de C
Chimie	Catalyseur pour chimie sélective Photocatalyse pour production de H ₂	Rhodia, Arkéma	
Cosmétiques	Anti-UV, anti- vieillesse Antibactérien	L'oréal, BASF DGTec	Oxydes de Ti, Zn, Fe 103t/an
Electronique	Matériau isolant Polissage de wafers et disques durs Polymère nanostructuré pour électronique souple	Alliance, Croles Baikowski Arkéma, iNanov	Nanotubes de C, oxydes de Ti, Zn, Fe, Ce 102t/an
Energie	Pile à combustible, Eclairage à basse consommation Allègement de structure pour éolien Cristaux photoniques pour panneaux solaires	Toshiba, Arkéma, DGTec, Kodak, Phillips	
Environnement	Traitement de pollutions Traitement de l'eau potable	Orelis TAMI, Suez	Oxydes d'Al, Fe 102t/an
Santé, Pharmacie	Délivrance ciblée de médicaments Réparation et implants	Arkéma Biometrix, DGTec	nC60, quantum dots, oxyde de Fe 1t/an
Textile, Habillement	Antibactérien, retard au feu, filtres UV et IR Tissu indéfroissable et antisalissure	DGTec, Rhodia Nano-TEX	

I.1.7. La toxicité des nanoparticules

Chapitre I: synthèse bibliographique

I.1.7.1.L'étude de la toxicité des nanoparticules est divisée en deux parties

Le premier groupe d'étude des NPs utilisée en ingénierie biomédicale ou thérapeutique, pour la vectorisation de médicaments, l'imagerie médicale Pour ces applications, les matériaux les plus fréquemment utilisés sont des polymères (vectorisation via des dendrimères des liposomes)et aussi des nanotubes de carbone, NPs d'or et oxydes de fer paramagnétiques (utilisés en IRM), Les effets étudiés sont généralement localisés liés aux voies d'exposition principales (peau, appareils respiratoire et digestif)(**Aillon et al, 2009**).

Le deuxième groupe d'études concerne les effets des nanoparticules métalliques, plus fréquemment employées dans la composition des produits de consommation courante. Les modèles sélectionnés ont deux finalités : la toxicologie environnementale (éconanotoxicologie), et la toxicologie humaine (nano toxicologie).

I.1.8. Effets des nanoparticules sur l'Homme

I.1.8.1.Voies d'entrée dans l'organisme

L'homme peut entrer en contact de différentes manières avec les nanoparticules (**Hervé-Bazin, B et Collectif, 2007**). 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 est la voie la plus importante et par conséquent la voie la plus étudiée).

I.1.8.2.L'appareil respiratoire

Les particules peuvent pénétrer par le nez ou par la bouche à l'intérieur du tractus respiratoire qui se compose schématiquement de trois parties :

- Les voies aériennes supérieures comprenant la bouche, le nez, le pharynx et le larynx.
- L'arbre trachéobronchique allant de la trachée aux bronches puis bronchioles.
- Le parenchyme pulmonaire comprenant les bronchioles terminales, les alvéoles et surtout la barrière alvéolo-capillaire.

I.1.8.3.Le tractus digestif

Chapitre I: synthèse bibliographique

Les nanoparticules peuvent pénétrer de deux façons différentes à l'intérieur du tube digestif. L'ingestion involontaire des nanoparticules peut avoir lieu lorsque le mucus du système respiratoire contient des nanoparticules. Les particules peuvent être éliminées de l'appareil respiratoire grâce au fonctionnement de l'appareil mucociliaire respiratoire qui permet de ramener les particules captées au niveau du carrefour aérodigestif ou celles-ci seront ensuite dégluties puis transportées par la voie digestive (Afsset, 2006)(figure 7).

Cependant les principales sources d'ingestion pour la voie digestive sont les aliments, les médicaments ou l'eau. Les particules ultrafines peuvent passer dans le sang lorsqu'elles atteignent les intestins (Oberdorster G et al, 2005)

I.1.8.4. La Voie cutanée:

1. Définition de la peau :

La peau est constituée de trois tissus conjonctifs : l'épiderme, le derme et l'hypoderme (Barus C, 2008).

2. Pénétration des nanoparticules par voie cutanée:

L'exposition aux nanoparticules par voie cutanée est probablement faible en raison du temps long de dépôt sur les surfaces. Tout d'abord la manipulation directe au poste de travail mais aussi lors de l'utilisation de produits cosmétiques (crèmes solaires, déodorants, dentifrices, rouge à lèvres...) ou de textile (autonettoyants, antibactériens, antitaches, hyper isolants...). L'utilisation des nanoparticules dans de tels produits a comme intérêt (du fait qu'elles soient invisibles à l'œil nu) de ne pas laisser de trainées blanches sur la peau tout en conservant les propriétés protectrices (Alexander P, 1991) Les principales nanoparticules susceptibles de pénétrer par voie cutanée sont l'argent utilisé pour le textile, le dioxyde de titane pour les crèmes solaires et l'aluminium dans les déodorants.

Chapitre I: synthèse bibliographique

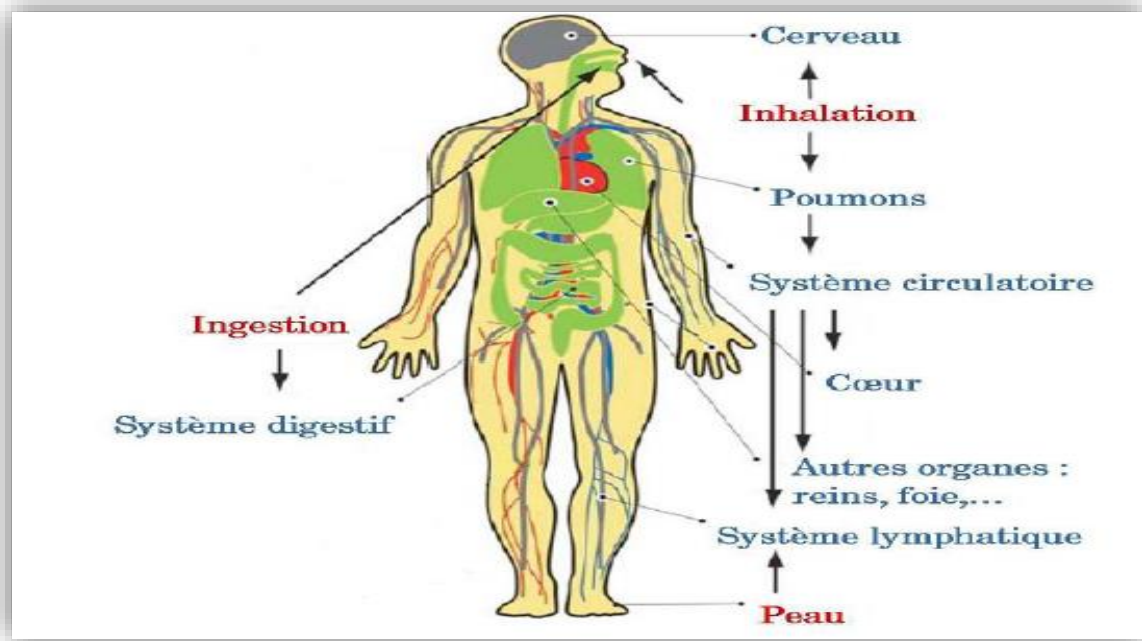


Figure 04:Schéma du corps humain avec les voies d'exposition aux nanoparticules et les organes touchés(Buzea C et al , 2007)

I.1.9.Effets des particules inhalées sur la santé

Les poussières ultrafines, de mêmes dimensions que les nanoparticules, pénètrent principalement dans l'organisme via l'inhalation et se déposent dans les poumons, une partie pouvant se distribuer directement au cerveau pour les nerfs olfactifs. Les poumons ne réussissent pas nécessairement à éliminer ces particules indésirables qui causent alors une réaction inflammatoire pouvant conduire au développement de certaines maladies pulmonaires spécifiques selon la nature des particules en question (fibroses interstitielles, berylloses, bronchite obstructive...).(Oberdorster G et al, 2005).

Chapitre I: synthèse bibliographique

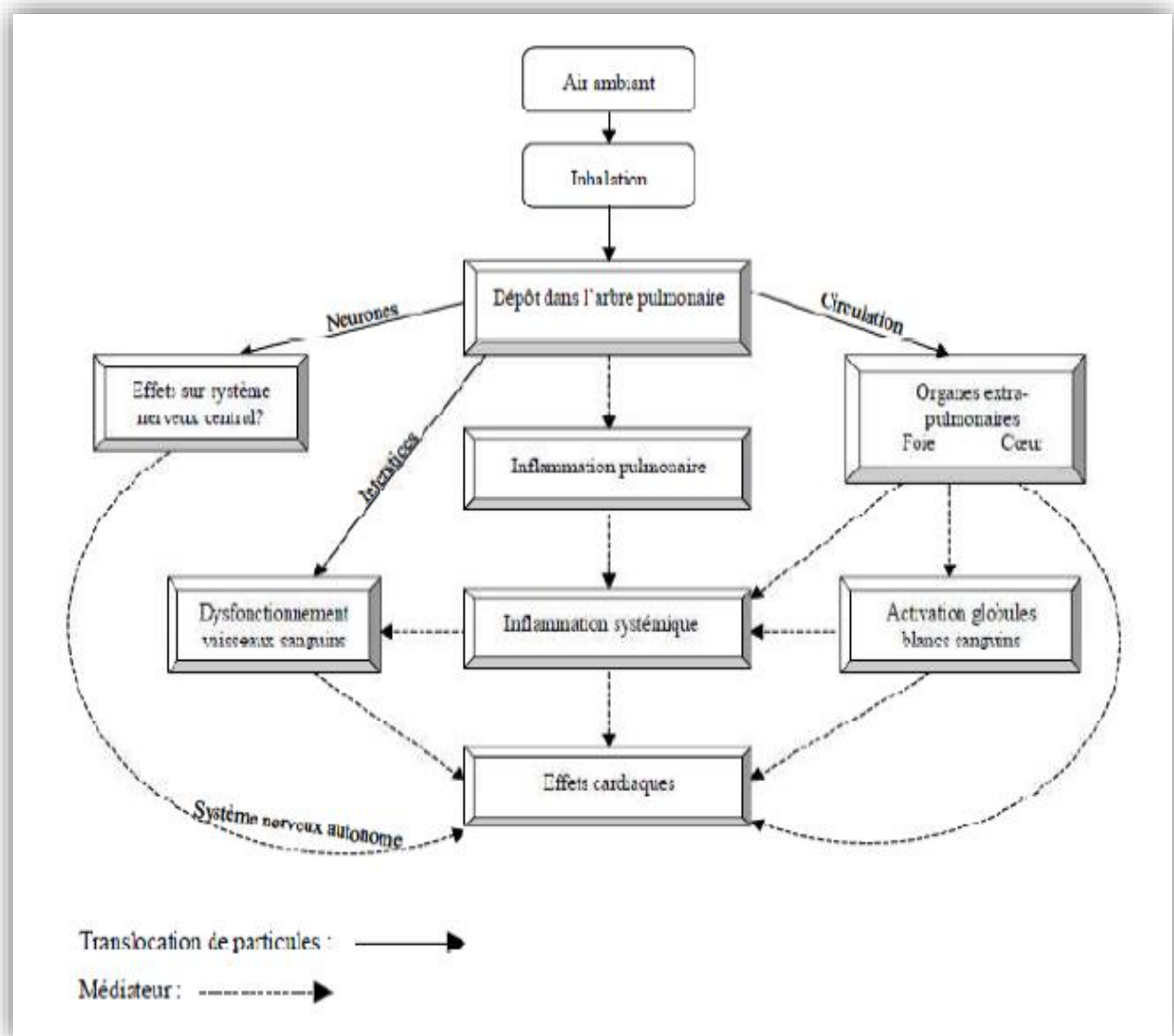


Figure 5 : Effets potentiels des particules ultrafines inhalées(Oberdorster G et al, 2005)

I.1.10.Les nanotechnologies environnementales

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) les nanoparticules sont utilisées en tant que membranes nanostructures, catalyseurs ou nano-adsorbants.

Chapitre I: synthèse bibliographique

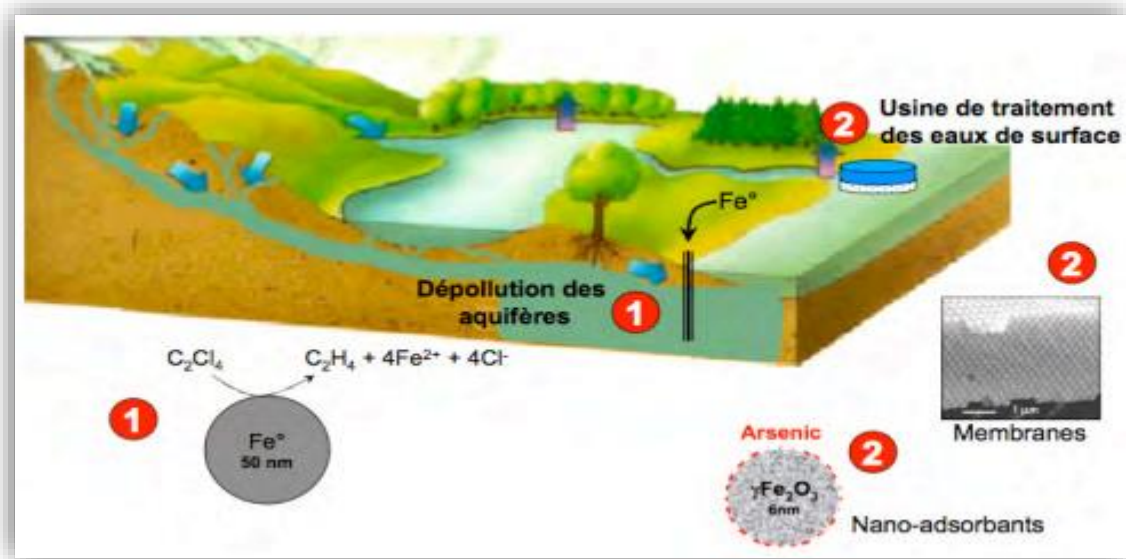


Figure 6 : différentes utilisations des nanoparticules manufacturées dans les applications environnementales. (Lowry et al, 2004).

I.1.11. Risque pour les écosystèmes et les organismes vivants les constituant

Selon les espèces considérées les voies d'exposition des organismes aux nanoparticules diffèrent, les nanoparticules peuvent avoir des effets néfastes sur la faune et la flore aquatique (Hund et Simon., 2006) De même les nanoparticules peuvent aussi avoir des effets sur la croissance des végétaux terrestres. En effet, les nanoparticules d' Al_2O_3 et de Zn ou ZnO sont capables d'inhiber la croissance de différentes espèces de plantes, cette inhibition dépendant du surfactant utilisé (Yang et Watts., 2005).

Certaines nanoparticules peuvent avoir un effet bactéricide sur différentes souches bactériennes. Il est donc tout à fait envisageable que ces mêmes nanoparticules puissent inhiber la croissance de souches naturelles et ainsi déséquilibrer les écosystèmes. Plusieurs facteurs sont impliqués dans la toxicité, telles que l'attachement des nanoparticules, la localisation intracellulaire, les changements dans l'expression des gènes et des protéines, des organites et le cycle de structure de la membrane, la viabilité et de la cellule (Nanna B., 2011).

On peut envisager deux types d'impacts des nanoparticules industrielles sur les organismes vivants :

Chapitre I: synthèse bibliographique

- un effet direct lié à une toxicité intrinsèque (assimilation cellulaire directe des nanoparticules par les différents organismes).
- un effet indirect lié à la présence de polluants adsorbés à leur surface (oxydes, phosphates, silicates) ou dans leur structure (nanotubes de carbone, fullerènes, etc.) **(Kahru et al., 2008)**.

Enfin, certaines nanoparticules peuvent fixer d'autres polluants à leur surface, ce qui dans certains cas rend moins toxique le polluant et dans d'autres cas augmente l'effet toxique **(Navarro et al., 2008)**. Ainsi, ces nanoparticules peuvent avoir un impact sur les écosystèmes. Cependant, pour la plupart d'entre elles, des effets sont observés à des concentrations élevées qui ne reflètent probablement pas les conditions environnementales **(Angélique., 2008)**.

Chapitre I: synthèse bibliographique

II. Etude bibliographique sur la nanoparticule SbCl₃

II.1. Définition

SbCl₃ est un intermédiaire dans la production de composés de l'antimoine et surtout un catalyseur de chloration de composés organiques ou de polymérisation. Il a été très utilisé, par exemple, comme catalyseur pour la fabrication de composés chlorofluorocarbones (CFC). (O'Neil, M.J. et al., 2006).

Le trichlorure d'antimoine est un catalyseur en synthèse organique, pour la fabrication d'autres sels d'antimoine, comme mordant pour les textiles et le cuir, et comme réactif de laboratoire. Il est également utilisé comme lubrifiant pour les matières plastiques. En solution, il permet le bronzage de l'acier, le mordantage du cuir, le noircissement du zinc. Il entre dans la fabrication des laques pour bois.

II.2. Procédé

SbCl₃ est obtenu par **chloration directe de l'antimoine par du chlore gazeux**. On opère en général dans un appareillage du type colonne de percolation, où le chlore est envoyé au sommet de la charge d'antimoine, ce qui assure par ruissellement l'obtention de la forme réduite SbCl₃. La température peut atteindre 200 °C. En revanche, si l'on souhaite obtenir SbCl₅, il suffit d'introduire une addition complémentaire de chlore à la base de la colonne réactionnelle. (Merck et Co. Inc., 2006).

Les produits sont ensuite condensés, ce qui constitue une opération de purification des produits. (Merck et Co. Inc., 2006).

Un autre procédé consiste à dissoudre et à faire réagir un oxyde d'antimoine dans de l'acide chlorhydrique concentré et chaud. La distillation du produit brut en présence d'antimoine métal agissant comme réducteur permet d'obtenir SbCl₃. (Merck et Co. Inc., 2006).

II.3. L'utilisation

L'antimoine est utilisé dans la fabrication d'alliages avec le plomb, l'étain et le cuivre (il augmente la dureté du plomb). Avec l'étain, il est utilisé dans la fabrication du "métal anglais". Avec le plomb et l'étain, il est utilisé dans la fabrication d'alliages

Chapitre I: synthèse bibliographique

antifriction. Il est également employé dans la fabrication des plaques de plomb des batteries, (INERIS., Avril 2007).

II.4. Trichlorure d'antimoine

Tableau 5 : Trichlorure d'antimoine

<u>Formule moléculaire brute</u>	SbCl ₃
Principaux synonymes	
Noms français	*Antimoine, de trichlorure
	*Antimoine, de trichlorure
	*Antimonouschloride
	*Antimony(III) Chloride
	*Stibine, Trichloro-
	*Trichlorured'antimoine
Noms anglais	*Antimony trichloride

II.5. Propriétés physiques : (Merck et Co. Inc., 2006)

Tableau 6 : Propriétés physiques de SbCl₃

État physique	Solide
Masse moléculaire	228,12
Densité	3,14 g/ml à 20 °C
Solubilité dans l'eau	99 g/l à 25 °C
Densité de vapeur (air=1)	Sans objet
Point de fusion	73 °C
Point d'ébullition	223,5 °C
Facteur de conversion (ppm->mg/m ³)	9,33

Chapitre I: synthèse bibliographique

II.6. Identification et caractérisation: (INERIS., Avril 2007)

Tableau 7 : Identification et caractérisation de trichlorure d'antimoine

Substance chimique	Synonymes	Forme physique
Trichlorure d'antimoine $SbCl_3$	beurre d'antimoine chlorure d'antimoine chlorure antimonieux antimony butter antimony (III) chloride antimonous chloride antimony trichloride	solide cristallisé

II.7. Les paramètres physico-chimiques: (INERIS., Avril 2007)

Tableau 8 : Les paramètres physico-chimiques de trichlorure d'antimoine

Paramètre	Nom de substance	Valeur
Facteur de conversion (dans l'air à 20 °C)	$SbCl_3$	1ppm = 9,48 mg/m ³ , 1 mg/m ³ = 0,11 ppm
Masse molaire (g/mol)	$SbCl_3$	223,5
Point d'ébullition (°C) (à pression normale)	$SbCl_3$	223,5
Pression de vapeur (Pa)	$SbCl_3$	133 à 49,2 °C (sublime)
Densité	$SbCl_3$	d _{25 4} : 3,14 , vapeur : 7,87 (par rapport à l'air)
Solubilité (mg/L) dans l'eau	$SbCl_3$	9,9.10 ¹ à 25°C

Chapitre I: synthèse bibliographique

II.8. Données toxicologiques

II.8.1. Toxicologie aigu

L'ingestion accidentelle par voie orale de trioxyde d'antimoine a entraîné des sensations de brûlures dans l'estomac, des coliques, des nausées (IARC., 1989).

Une application cutanée de trioxyde d'antimoine pendant 24 heures n'a pas entraîné d'effet dermatologique ou systémique (IBTL., 1972).

II.8.2. Toxicologie chronique

L'exposition professionnelle par inhalation à du trioxyde d'antimoine ou des poussières de pentoxyde d'antimoine a entraîné des effets respiratoires incluant une stibiose (pneumoconiose stibiée), de la bronchite chronique et des effets pulmonaires (Cooper et al., 1968); (Potkonjak et Pavlovich., 1983).

II.9. Incompatibilité

Le trichlorure d'antimoine est incompatible avec l'ammoniac, les bases fortes, les métaux alcalins (tel le potassium et le sodium), le N-chloro-diméthylamine et l'aluminium (Pohanish, R. et al., 2003).

Le contact du trichlorure d'antimoine avec les métaux, en présence d'humidité, produit de l'hydrogène, un gaz inflammable et explosible.

II.10. Produits de décomposition

En présence d'eau, le trichlorure d'antimoine produit de l'acide chlorhydrique, et de l'oxychlorure d'antimoine. (Urban, P et al., 2007).

II.11. Manipulation

Le trichlorure d'antimoine est une matière corrosive. Il doit être manipulé conformément au RSST (règlement sur la santé et la sécurité du travail). Si ce produit est manipulé ou transvasé régulièrement ou fréquemment, des douches oculaires ou des douches de secours conformes doivent être mises à la disposition des travailleurs, et être situées aux environs du poste de travail. Éviter tout contact avec la peau et les yeux. Porter un équipement de protection des yeux. Ventiler adéquatement sinon porter un

Chapitre I: synthèse bibliographique

appareil de protection respiratoire approprié. Éviter la génération de brouillards et de poussières. (<http://legisquebec.gouv.qc.ca/fr/ShowDoc/cr/S-2.1>).

II.12. Entreposage

Le trichlorure d'antimoine étant une matière corrosive, il doit être entreposé selon les dispositions prévues par le CNPI (Code national de prévention des incendies) et par le RSST. Entreposer dans un récipient hermétique, portant une identification claire de son contenu, placé dans un endroit frais, sec et bien ventilé, à l'abri des bases, des métaux, des oxydants forts, des matières comburantes et des autres produits incompatibles. Entreposer dans un endroit avec sol cimenté résistant à la corrosion. (<http://legisquebec.gouv.qc.ca/fr/ShowDoc/cr/S-2.1>).

Chapitre I: synthèse bibliographique

III. Place des gastéropodes dans les écosystèmes terrestres

Les mollusques gastéropodes occupent une place importante dans la structure des communautés d'invertébrés du sol et le fonctionnement des écosystèmes terrestres (**Barker, G., 2001**) estime qu'il existe mondialement environ 35000 espèces. En Europe, plus de 300 espèces sont actuellement décrites et se répartissent dans 150 genres (**Kerney et al., 1999**) Les gastéropodes terrestres sont très largement répartis dans tous les continents incluant l'Arctique, les hautes montagnes (plus de 3000 m) et les déserts arides qu'ils peuvent coloniser à des densités relativement élevées (**Dallinger et al., 2001**) Leur répartition est déterminée par des conditions régionales et stationnelles impliquant le climat et la nature de l'habitat notamment au niveau des caractéristiques édaphiques comme la concentration en Calcium du milieu (**Peake, 1978**).

III.1. Choix du modèle biologique: l'escargot terrestre *Helix aspersa*

Le choix préférentiel de cette espèce est principalement lié à sa distribution mondiale, traduisant ses capacités d'adaptation à des biotopes des sols car ils représentent une bio masse significative au sein de la communauté des invertébrées des sols (**Dallinger et al., 2001**).

Parce qu'ils constituent un élément de réseaux trophique qui contribue au transfert des polluants du sol et /ou des plantes aux prédateurs (**Beeby., 198 ; laskowski et hopki., 1995 ; scheifler et al., 2002**).

Ils occupent une situation privilégiée à l'interface sol-plante-atmosphère, et ils intègrent des sources et voies de contaminations multiples (**Barker., 2001**)

Ils possèdent des capacités de bioaccumulation importantes pour de nombreux polluants métalliques (**Viard et al., 2004**) et organiques.

Ils présentent des réponses physiologiques (inhibition de croissance et de reproduction, mortalité) (**Notten et al., 2006**) et biochimiques (**Regoli et al., 2006**) quand ils sont exposés aux contaminants et des climats variés et à sa facilité d'élevage (**Gomot A., 1997**).

III.2. *Helix aspersa*

Chapitre I: synthèse bibliographique

L'escargot est une espèce ubiquiste qui s'adapte à des sols et des climats variés, des milieux (Benguedouar., 2016), Il se caractérise par à corps mou et non segmenté complètement dépourvu d'appendices articulés, sa masse viscérale présente une torsion de 180° par rapport au pied (Larba., 2014) Cela a conduit à des incohérences de certains de ces organes : un seul rein, poumon, et une seule oreillette cardiaque (Smida et Touaibia., 2016).

Ce polymorphisme a donné vraisemblablement, en grande partie, à l'espèce sa potentialité d'adaptation et d'acclimatation. (Françoise danrigal).

III.3.Principales espèces

III.3.1.Classification

L'escargot appartient à l'embranchement des mollusques, animaux à corps mou et dépourvu de squelette. Sa masse viscérale présente une torsion de 180° par rapport au pied, ce qui engendre une asymétrie plus ou moins prononcée de certains de ses organes. Cette particularité anatomique le place dans la classe des gastéropodes (Bonnet et al., 1990)



Figure 7: Photos d'un escargot prise pendant le ramassage.

III.3.2.Systematique

Chapitre I: synthèse bibliographique

L'escargot petit gris : est *Helix aspersa* dont la position systématique selon (Bonnet et Vrillon., 1990)(Lalmi et Lazre., 2016)est la suivante :

Tableau 9 :Systématique d'escargot *Elica aspersa*

Règne	Animalia
Embranchement	Mollusca
Classe	Gastéropoda
Sous –classe	Pulmonés
Ordre	Stylomatophora

III.3.3.Distribution géographique

L'escargot petit-gris est très répandu en Europe en particulier dans l'océanique Il est trouvé dans des zones habituelles de répartition : jardins, buissons, haies, champs, rochers, et vignobles. Généralement, il est très commun au niveau de la région méditerranéenne (en Algérie l'escargot se trouve généralement dans le nord du pays), il se nourrit principalement des plantes, des lichens et des champignons. il se nourrit principalement et l'escargot s'adapte en fonction des plantes qui colonisent le milieu (chevalier H., 1990).

III.4.Morphologie d'*Helix aspersa*.



Figure 08 : Escargot *Helix aspersa*. (Annegret Nicolai, 2010)

Chapitre I: synthèse bibliographique

III.4.1. Anatomie externe 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, la figure montre l'anatomie d'*Helix aspersa*.



Figure 9 : morphologie externe de l'escargot

III.5. Rythme d'activité

L'activité des escargots gris nocturnes Elle se synchronise avec la photopériode naturelle et commence au coucher du soleil pendant une période maximale de six heures par la suite (Chevallier., 1992).

Trois facteurs sont affectés par cette activité: l'humidité de l'environnement (air et sol), la température et l'intensité lumineuse les escargots sont actifs si l'humidité relative de l'air est supérieure à 80% et si la température minimale nocturne n'est pas inférieure à 9° C (Chevallier., 1982).

Chapitre I: synthèse bibliographique

III.6. 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**):

- ✓ 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 14g.

En général, la croissance naturelle jusqu'au stade adulte s'étale sur deux ans si bien que les individus sont le plus souvent considérés comme sexuellement matures à partir du deuxième ou troisième été suivant leur naissance (**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 A et Gomot L., 1995**).

III.7. Cycle biologique de l'escargot

Les escargots se reproduisent de mai à septembre ; généralement deux pontes ont lieu, l'une au printemps et l'autre au début de l'automne (**Boukhallout et Touati., 2016**) La reproduction des escargots est sexuée et nécessite un accouplement, bien que ces Animaux soient hermaphrodites (**Douafer., 2015**) C'est-à-dire, il possède à la fois des lignées germinales mâles et femelles (**Stiévenart et al., 1990**) et les deux partenaires agissent simultanément comme mâle et comme femelle, ainsi le mâle va harponner la femelle avec son dard calcaire afin de favoriser la survie des millions de spermatozoïdes transmis (**Djadouri et ben dahra., 2014**). L'accouplement est nocturne, dure de quatre à douze heures de nuit, lors duquel les escargots échangent réciproquement des

Chapitre I: synthèse bibliographique

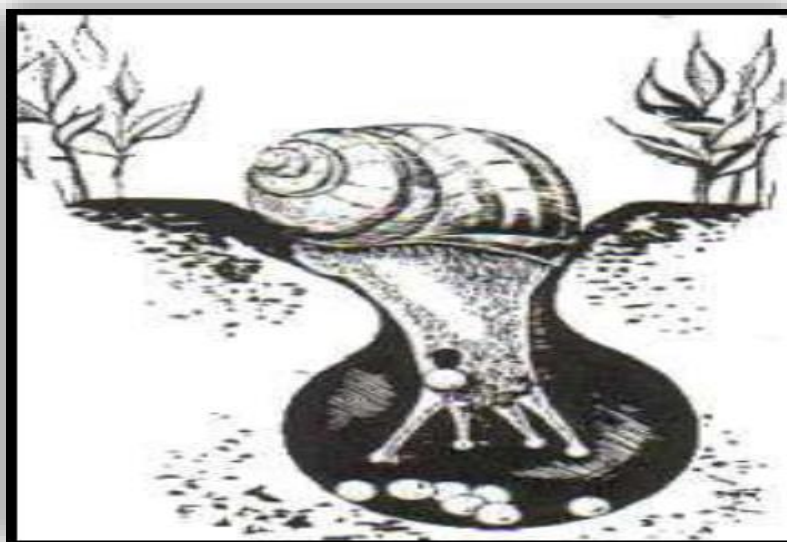
spermatozoïdes (Dahirel., 2014) ceux-ci peuvent être conservés plusieurs mois ou plusieurs années avant d'être utilisés pour fertiliser les ovaires (Stiévenart et al., 1990).



Figure 10: L'accouplement de deux partenaires d'escargots (Pol., 2006).

III.8. La ponte

Environ deux à trois semaines après l'accouplement, 80 à 130 œufs sont pondus dans des trous creusés de 4 à 5 cm de profondeur dans un sol humide puis recouverts de terre (Dahirel., 2014) La durée entre l'accouplement et la ponte varie en fonction des conditions du milieu, car l'accouplement débute lorsqu'il y a au moins dix (10) heures de lumière par jour (Lalmi et Lazre., 2016).



Chapitre I: synthèse bibliographique

Figure 11: Escargot en position de ponte (Zaafour., 2014)

III.9. Ecologie de L'escargot

L'escargot est très sensible à la pollution. En effet, par leur place au sein de l'écosystème terrestre, les escargots sont capables d'intégrer des sources multiples de contamination (De Vaufleury et al., 2009) par diverses voies : digestifs, respiratoire et/ou cutanée (Baurand., 2014), qui dépendent principalement de l'écologie de l'organisme considéré (Rocca., 2004).

- Digestive par ingestion de nourriture, plante et/ou sol (Gimbert., 2006)
- Cutanée par diffusion des polluants à partir de l'épithélium du pied (De Vaufleury et al., 2009)
- Respiratoire par inhalation de gaz et/ou de particules en suspension dans l'atmosphère (Baurand., 2014).

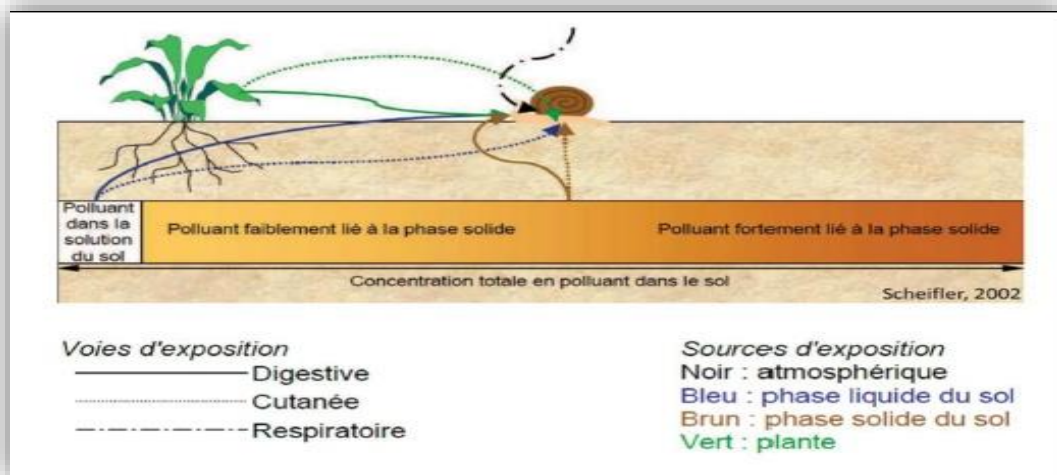


Figure 12 : Transferts des polluants dans un écosystème terrestre (Benguedouar., 2016)

VI. Le stress oxydant

Radicaux libres, stress oxydant, espèces oxygénées activées, antioxydants sont devenus des termes de plus en plus familiers pour les professionnels de la santé et même le grand public. Le milieu médical prend conscience qu'une augmentation de stress oxydant chez un individu est potentiellement une cause d'apparition de diverses pathologies comme les maladies cardio-vasculaires, le cancer ou le diabète sucré.

VI.1. Définition

Chapitre I: synthèse bibliographique

Le stress oxydant est dû à un déséquilibre entre la production de radicaux libres et la destruction par des systèmes de défenses structure et le métabolisme cellulaire par exemple peut être provoqué par les radicaux libres en dégradant de nombreuses nucléiques.

VI.2. Radicaux libres

Les radicaux libres possèdent un électron célibataire (ou non apparié). Le champ magnétique créé par sa rotation, ou spin, n'est alors pas compensé par la rotation en sens inverse d'un électron apparié. Cette propriété donne aux radicaux libres la capacité de réagir avec différentes molécules, notamment lors de réactions en chaîne (Barus., 2008).

Certaines molécules non-radicalaires peuvent présenter une activité oxydante accrue parmi lesquelles le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), le peroxyde d'azote ($ONOO^-$) ou l'acide hypochloreux ($HOCl$). Ainsi, les espèces réactives de l'oxygène (ROS : RéactiveOxygèneSpecies) et les espèces réactives de l'azote (RNS : RéactiveNitrogèneSpecies) peuvent être classées en deux catégories : les radicaux libres et les non-radicaux (Barus., 2008).

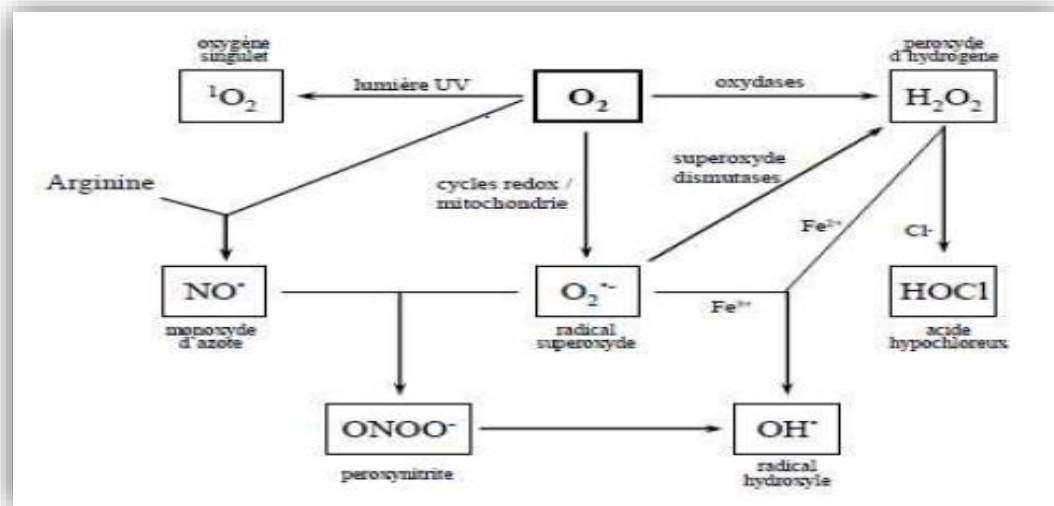


Figure 13 : Mécanisme de production des ROS et des RNS (Barus., 2008).

VI.3. Espèces réactives de l'oxygène (ROS)

Les ROS comprennent le radical hydroxyle ($OH\bullet$), l'anion super oxyde ($O_2\bullet^-$), le

Chapitre I: synthèse bibliographique

peroxyde d'hydrogène (H₂O₂).

***Principales espèces de l'oxygéné ERO (Bartosz., 2003)**

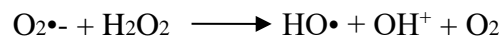
Tableau 10 : principales espèces de l'oxygène ERO

Radicaux libres RL	Espèces réactives non radicalaires
Anion superoxyde (O ₂ •)	peroxyde d'hydrogène(H ₂ O ₂)
Hydroxyle (OH•)	acide hypochlorique (HOCl)
Hydroperoxyde (HO ₂ •)	Ozone(O ₃)
Peroxyde (RO ₂ •)	oxygène singulet(O ₂)
Alkoxyde (RO•)	Hydroperoxyde(ROOH)
Dioxyde de carbone (CO ₂ •)	peroxynitrite (ONOO ⁻)

VI.3.1. Les radicaux hydroxyles (OH•)

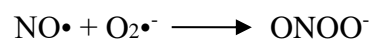
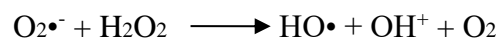
Sont les ROS les plus toxiques car ils sont très réactifs (Lubec, 1996), Ce sont de puissants agents oxydants qui s'attaquent à la plupart des molécules organiques et inorganiques présentes dans les cellules Ils agissent selon trois modes d'actions : en arrachant soit un électron soit un atome d'hydrogène ou encore en s'additionnant sur les doubles liaisons.

Le radical hydroxyle est formé à partir du peroxyde d'hydrogène au cours de la réaction de Fenton ou à partir de l'anion super oxyde dans la réaction d'Haber Weiss :



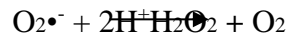
VI.3.2. L'anion superoxyde (O₂•-)

Les radicaux O₂•- sont des espèces potentiellement toxiques via leurs réactions avec le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) et le monoxyde d'azote (NO•), générant respectivement des radicaux OH• et des peroxynitrites (ONOO⁻). Ces deux espèces sont particulièrement réactives vis-à-vis des cibles biologiques.



Chapitre I: synthèse bibliographique

Enfin, la dismutation spontanée des $O_2^{\bullet-}$ conduit à la formation de peroxyde d'hydrogène (Halliwell et Gutteridge., 1999).



VI.3.3. Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)

Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) cause d'importants dommages cellulaires à concentration relativement faible. Du fait de sa forte solubilité dans l'eau, il pénètre facilement les membranes biologiques, entraînant la dégradation des protéines, l'inactivation d'enzymes et l'oxydation de l'ADN, de lipides ou encore de thiols. Il est impliqué notamment dans la voie de l'apoptose, cependant, il a été montré que les dommages attribués à H_2O_2 sont en fait causés, pour plupart, par sa réduction en radical hydroxyle OH^{\bullet} via la réaction de fenton (Wardman et al., 1996).



VI.4. Systèmes de défense : les molécules antioxydants

L'organisme possède plusieurs systèmes de défenses afin de lutter contre les dommages oxydants, comme les systèmes de réparation (enzymes réparatrices de l'ADN) ou d'élimination de molécules endommagées par les ROS. Il y a les systèmes de prévention qui empêchent la formation de radicaux libres (ex : chélation des métaux de transition). Il y a les protéines telles que l'albumine ainsi que les hormones (œstrogènes ou mélatonine) qui participent à la lutte contre le stress oxydant. Et enfin, les antioxydants qui assurent une protection des sites biologiques. Leur efficacité est due au fait d'une élimination directe des molécules pro-oxydantes. Il existe trois familles d'antioxydants : enzymatiques (catalase, glutathion peroxydase, super oxyde dismutase), moléculaires naturels (vitamine E, C, β -carotène...) et synthétiques (le butylhydroxyanisole (BHA), le butylhydroxytoluène (BHT), les esters de l'acide gallique (gallate de propyle, gallate d'octyle et gallate de dodécyle) (Delattre et al., 2005 ; Barus., 2008).

VI.4.1. Systèmes de défense non enzymatiques

VI.4.1.1. Les glutathion sous forme réduit (GSH).

Le glutathion réduit (GSH). Son rôle principal consiste en l'élimination des peroxydes lipidiques résultant de l'action du stress oxydant sur les acides gras polyinsaturés. Et

Chapitre I: synthèse bibliographique

aussi Le glutathion (GSH sous sa forme réduite) considéré particulièrement important car c'est le substrat de plusieurs enzymes antioxydants (**Halliwell et Gutteridge., 1999**) Il se présente sous la forme réduite GSH et la forme oxydé (GSSG), Le ratio GSH/GSSG est souvent utilisé comme marqueur du niveau d'oxydation d'une cellule. La maintenance d'un niveau élevé de glutathion est donc essentielle pour prévenir d'éventuels dégâts oxydatifs.

VI.5. systèmes de défense enzymatiques

Les principales enzymes antioxydants sont le superoxyde dismutase (SOD), la catalase (CAT), la glutathion peroxydase (GPX) et la glutathion S-transférase (GST), Ces molécules vont interrompre la chaîne de réaction radicalaire chez les mollusques (**Stegeman., 1992**).

VI.5.1. Le superoxyde dismutases (SOD)

La SOD est la première ligne de défense enzymatique, catalyse la conversion de l'anion superoxyde (O_2^-) produit par la chaîne respiratoire mitochondriale en peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (**Badary et al., 2003**).

Ces métalloprotéines, qui représentent une des premières lignes de défense contre le stress oxydant, assurent l'élimination de l'anion super-oxyde $O_2^{\bullet-}$ par une réaction de dismutation, en le transformant en peroxyde d'hydrogène et en oxygène. Chez l'homme, on décrit 3 iso-enzymes : la Cu/Zn-SOD₁ cytosolique, la Mn-SOD₂ mitochondriale et la Cu/Zn-SOD₃, qui diffèrent par la localisation chromosomique du gène, leur contenu métallique, leur structure quaternaire et leur localisation cellulaire. La SOD₃ est sécrétée par les cellules musculaires lisses et constitue le système antioxydant majeur de la paroi artérielle : son expression et sa sécrétion sont augmentées par les facteurs vasoactifs (histamine, endothéline 1, angiotensine II) et diminuées par l'homocystéine.

Chapitre I: synthèse bibliographique

VI.5.2. Les glutathion peroxydase (GPx).

La GPx est une séléno-protéine (cinq isoformes) qui réduit les peroxydes aux dépens de son substrat spécifique. En cas de déficit majeur en sélénium, elle est donc un bon reflet de cette carence. Toutefois, pour un apport adéquat en sélénium, les teneurs en GPx atteignent un plateau. Le dosage en GPx ne peut donc être utilisé comme marqueur d'une intoxication en sélénium. Cependant, sa synthèse étant rénale et hépatique, d'autres facteurs tels que l'insuffisance rénale ou la cytolyse hépatique peuvent modifier sa concentration.

La (GPx) considéré la deuxième ligne de défense enzymatique, empêche la formation des radicaux libres, elle peut réduire d'une part l' H_2O_2 en H_2O et d'autre part les hydro peroxydes organiques (ROOH) en alcool (ROH) (Favier., 2003 ; Fontaine., 2007). La CAT est présent principalement dans les peroxysomes, lysosomes et les mitochondries. Neutralise le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau et oxygène moléculaire (Cassetta et al., 2005).

Chapitre II : Matériel et méthode

I. Matériel et Méthodes

Notre étude a été réalisée au niveau du laboratoire de toxicologie de département de biologie Université de Tébessa, sur 80 escargots du genre *Helix aspersa*.

I.1. Matériel

I.1. Matériel biologique

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

I.1.1. Présentation et description de l'espèce bioindicatrice

Est une espèce « atlanto-méditerranéenne » assez ubiquiste dont le polymorphisme prononcé se traduit par une variation de la taille, de la coloration, de la forme, de l'épaisseur et de la sculpture de la coquille. Les divers morphotypes sont décrits. La coloration et le système de bandes de la coquille sont d'origine génétique.

Helix aspersa dont la position systématique selon (Bonnet et Vrillon., 1990) est la suivante :

Tableau 11: les classes de l'escargot *Helix aspersa* (Barker, 2001)

Règne	Animalia
Embranchement	Molluca
Classe	Gasteropoda
Ordre	Stylommatophora
Famille	Helicidae
Genre	Helix
Espèce	Aspersa
Sous-espèce	Aspersa

- ✓ Ce sont des mollusques gastéropodes de la sous-classe des pulmonés. Ces animaux sont dotés d'un "poumon" constitué par un épithélium vascularisé tapissant la cavité palléale dans laquelle l'air atmosphérique pénètre par un orifice appelé pneumostome (Coeurdassier., 2001).
- ✓ Les escargots du genre *Helix* appartiennent à la famille des Hélicidés qui comprend de nombreuses espèces européennes et méditerranéennes à l'exception notable de *Helix aspersa* qui a également colonisé les régions atlantiques et a été introduit hors de l'Europe.

Chapitre II : Matériel et méthode

L'espèce *Helix aspersa* présente plusieurs sous-espèces dont les principales sont *Helix aspersa aspersa*, *Helix aspersa elata* et *Helix aspersa maxima* (Bonnet et Vrillon., 1990).



Figure 14: Escargot *Helix aspersa*.

I.1.2. Description de l'escargot

L'escargot comprend en gros deux parties, le corps et la coquille (Zaafour., 2014).

- **Le corps:** se distingue par un corps mou, visqueux en raison de la présence du mucus, il est constitué de trois parties: une tête, un pied et une masse viscérale enroulé (Larba., 2014).
- **La tête:** comporte une bouche munie d'une mâchoire cornée et d'une radula, qui s'ouvre vers le bas (Anonyme., 2004). Les organes des sens constitués de deux paires de tentacules rétractables : deux tentacules oculaires (postérieures sont dirigés vers le haut) portant un œil simple, et deux tentacules tactiles (antérieurs qui sont dirigés vers le bas), et un organe olfactif, (épithélium) qui sont dirigés vers le haut (Pirame., 2003).
- **Le pied:** est musculueux, large et plat (Douafer., 2015). Dont la face inférieure en contact avec le sol, forme une sole de reptation et lorsque l'escargot se déplace, elle laisse une trace brillante formée de mucus (Anonyme., 2004). Le pied occupe presque toute la surface ventrale comme la tête, n'est pas clairement démarquée du reste du corps (Cobbinah et al., 2008).
- **La masse viscérale:** dont la plus grande partie contenue dans la coquille s'appelle le tortillon (Pol., 2006) Elle est richement vascularisée, contenant presque tous les organes vitaux: poumon, glande digestive, cœur, rein et une partie de l'appareil génital qui se prolonge jusqu'à le pied (Baurand., 2014).

Chapitre II : Matériel et méthode

➤ **La coquille:** est un squelette externe secrété par la face dorsale et le bord libre du manteau (Douafer., 2015). De forme globuleuse et spiralée (Dahirel., 2014), qui s'enroule autour d'un axe appelé la columelle (Stiévenart et al., 1990). Elle est composée de :

- Une partie organique : trame protéique, représentant 1 à 2% de la coquille (Pirame., 2003).
- Une partie minérale : carbonate de calcium sous forme de calcite et d'aragonite Représentant 98% de la coquille (Djadouri et ben dahra., 2014).

➤ **Les orifices impairs:** très visibles sur le corps de l'escargot et se dénombrent en quatre (Zaafour., 2014):

1. Orifice génital situé en arrière du tentacule oculaire droit.
2. Orifice respiratoire situé sur le côté droit du bourrelet palléal.
3. Orifice anal situé à proximité de l'orifice respiratoire.
4. Orifice urinaire situé à proximité de l'anus qu'est généralement indétectable en raison de sa petite taille (Douafer., 2010).

I.1.3. 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, la **Figure (15)** montre l'anatomie d'*Helix aspersa*.

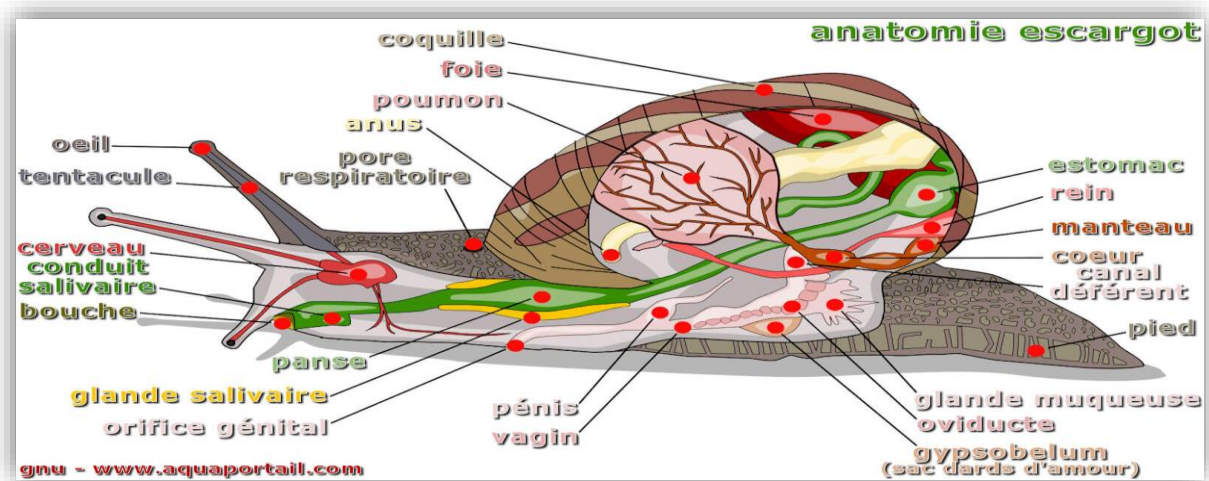


Figure 15: Anatomie de l'escargot.

I.1.4. L'espèce en milieu naturel

Chapitre II : Matériel et méthode

Ces espèces peuvent s'adapter à tous types de sols, climats divers et biotopes. Ils se nourrissent généralement de plantes vivantes ou mortes (Iglesias et Castillejo., 1999) auxquelles s'ajoutent des quantités plus ou moins importantes du sol (Gomot et al., 1989) Elle préfère les espaces ouverts où vivre.

I.1.5. Déplacement

L'escargot rampe, il se déplace seulement vers l'avant sur un pied qu'est un gigantesque muscle. Celui-ci se contracte et s'allonge alternativement (Baurand., 2014). Le mucus sécrété par l'escargot lui permet à la fois d'avancer plus facilement en glissant sur les obstacles (Pol., 2006).



Figure 16 : Ondes de contraction sur la face ventrale des pieds d'escargots (Pol., 2001)

I.1.6. Estivation et hibernation

L'absence d'humidité prolongée provoque l'activation de l'*Helix aspersa*. L'animal est fixé au 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. Les escargots se mettent en hibernation en se "collant" sur un support ou en s'enfouissant dans le sol et secrètent un épiphragme d'hiver lorsque la température descend en dessous de 15 ° C. 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 ; Chevallier.,1982).

I.1.7. Longévité

Selon les espèces d'escargots La durée de vie varie, elle est bien plus longue et va de dix à quinze ans pour la plupart de ces espèces. Certains escargots ont vécu plus de trente ans (Smida

Chapitre II : Matériel et méthode

et Touaibia., 2016). La mort d'un escargot dans la nature, est souvent due à des prédateurs ou à des parasites (Zaafour., 2014).

I.2. Matériel chimique

I.2.1. Le nanoparticule $SbCl_3$

Le $SbCl_3$ a été utilisé sous forme de préparation commerciale. Nous avons choisi deux doses (1 g/l et 5g/l). ($m \pm s$, $n=4$).

I.3. Méthode

Les escargots utilisés sont *d'hélix aspersa* collectés d'un site non traité par les nanoparticules, situe dans la région de **Tébessa**.

Nous prenons d'abord des escargots au laboratoire, ou ils seront adaptés aux conditions contrôlées pendant trois semaines. Cependant, ils sont nourris exclusivement de feuilles de laitue fraîche, les 80 individus choisis ont une masse moyenne de **5.86 ± 1.15g**. Et ensuite, ils sont divisés en 3 lots, le premier groupe témoin de 20 escargots et deux autres groupes de 20 escargots chacun. Ces deux groupes sont destinées aux traitements au l' $SbCl_3$ par deux doses ($n=4$).

I.3.1. Condition d'élevage

Tous les essais sur *Helix aspersa*, adultes, sont réalisés dans les mêmes conditions environnementales:

-Photopériodes 18 h de lumière / 24 h, Eclairage assuré par des tubes néon de type "lumière du jour"

-Température $20 \pm 2^\circ C$,

-Hygrométrie : 80 % à 95. %

Les escargots sont réparties dans des boites de plastique transparentes (23,5 X 16,5 X 10,5 cm) avec couvercle perforé (pour l'oxygénation), et chaque boite contient une éponge mouillée pour maintenir l'humidité, l'alimentation (feuilles de laitue fraîche) est fournie dans des boites de

Chapitre II : Matériel et méthode

pétrie. Les boîtes sont nettoyées régulièrement tous les 3 jours (Gomot.,1997 ; Coeurdassier.,2001).

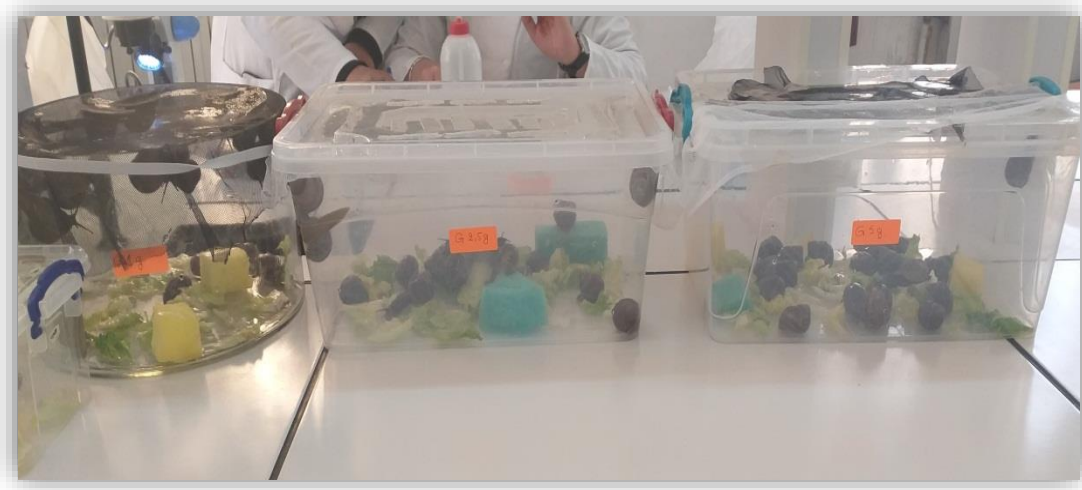


Figure 17 : Elevage d' *Helix aspersa* dans le laboratoire

I.3.2.Mode de préparation de solution SbCl3

Les dilutions des nanoparticules ont été préparées avec de l'eau distillée, 2doses ont été préparées pour le traitement des escargots : 1 et 5 mg/l



Figure18 : pesé des nanoparticules



Figure19:deux echantillons des nanoparticules

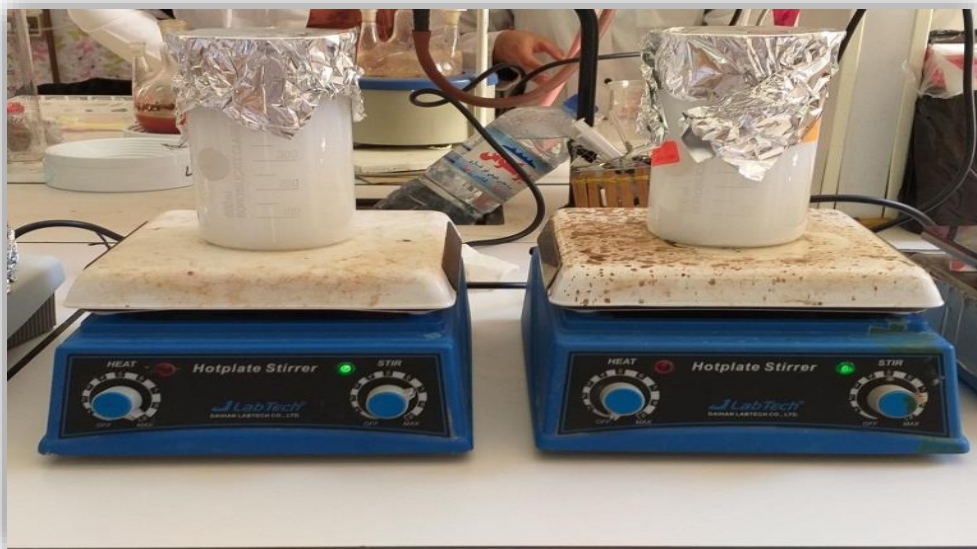


Figure 20 : préparation de solution

I.3.3. Dispositifs expérimentaux et durée d'exposition

I.3.3.1. Mode de traitement d'*Helix aspersa*

Les escargots sélectionnés ont été divisés en 03 lots à 12 escargots / lot dans des boîtes en plastique, Ils sont exposés à des nanoparticules préalablement préparées à partir de la

Chapitre II : Matériel et méthode

matière active de trichlorure d'antimoine (SbCl_3) diluée dans **1 L** d'eau distillée à deux concentrations de **(1 g/l et 5g/l)**, et un milieu témoin Pendant 28 jours. Ainsi, pour chaque traitement il est choisi quatre **(04)** animaux, cependant les deux temps de traitement retenus sont après **14jours et 28 jours**.

Tout en appliquant le traitement, nous nettoyons les boîtes et nous remplaçons l'éponge par une autre propre et humide, puis mettons une quantité de traitement dans une petite boîte en plastique transparente et y trempons une quantité de feuilles de laitue afin de les mettre comme nourriture pour les spirales et ce processus se poursuit tous les deux jours pendant une période estimée à **28jours**.



Figure 21 : Mode de traitement *d'Helix aspersa*



Escargots *d'Helix aspersa*

Traitement de 14 jours

Traitement de 28 jours

témoin

Traité dose 01

Traité dose 02

témoin

Traité dose 01

Traité dose 02

Dissection et prélèvement de l'hépatopancréas et les reins

Indicateurs métriques

Mesure du RHS

Mesure RRS

Figure 22 : Schéma représentatif du protocole expérimental.

Chapitre II : Matériel et méthode

I.3.4. Dissection et prélèvement des organes

Après chaque période de traitement, les escargots sont mis à jeun pendant 48 heures afin que le contenu de leur tube digestif soit vide. Ceci évite d'éventuelles interférences entre les contaminants présents dans l'aliment ingéré et les quantités de contaminants réellement accumulées dans les tissus. Les boîtes où ils jeûnent sont lavées à l'eau des récipients changée après 24 heures pour éviter la réingestion des fèces (**Coeurdassier., 2001**). Après le jeûne des escargots, nous en prenons quatre 4 pour les sacrifier par congélation à -20 °C et dissection. L'hépatopancréas et les reins sont enlevés. (**Coeurdassier., 2001**). Nous continuons le traitement des escargots restants pour les jours qui restent.



Figure 23 : Sacrifices des escargots et prélèvement des hépatopancréas et des reins

Chapitre II : Matériel et méthode

1.4. Paramètres étudiés

I. 4.1. effets comportementaux

Pendant le changement de la nourriture, les effets sont observés, et donc l'activité de l'escargot est mentionnée comme suit: surveillance de l'activité des escargots et interaction avec le traitement, et l'activité qui a été observée est de la mousse blanche (stress oxydatif) par les escargots, ce qui représente un état d'acceptation et la capacité d'interagir avec la stimulation et il convient de noter que les résultats sont exprimés sous forme de notes pendant le traitement (**14 jours 28 jours**).

I.4.2. Mortalité

Le contrôle de la vitalité des individus *d'Helix aspersa* au cours des essais au laboratoire est effectué au moment des renouvellements de nourriture trois fois par semaine du test. Dans tous les cas, les individus morts sont évacués des enceintes d'essai.

La mort d'un individu est généralement facile à déterminer : le pied flasque et jaunâtre est le plus souvent sorti de la coquille, la sole pédieuse n'adhère à aucune surface. Le corps luisant et très visqueux indique que la liquéfaction des tissus est en cours. L'odeur nauséabonde que dégage l'escargot est également un indicateur. En cas de doute, le pied est stimulé à l'aide d'une aiguille ou d'une paire de pinces brucelles, l'absence de réaction permet de conclure à la mort de l'individu. (**Coeurdassier., 2001**).

I.6. Mesure du rapport hépato-somatique (R.H.S) et du rapport réno-somatique (R.R.S)

Chez les escargots, le rapport hépato-somatique et réno-somatique représentent un moyen simple et rapide de mesure des interactions des individus avec leur environnement (**Goede et parton ., 1990**). Selon (**Bougis., 1952**), le RS est égale à cent fois le poids de l'organe sur le poids total de l'escargot.

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

$$RRS = \text{poids du rein} \times 100 / \text{poids total}$$

I.7. Analyse statistique des résultats

Les résultats obtenus sont exprimés par la moyenne plus ou moins l'écart-type ($m \pm s$). Deux tests statistiques sont réalisés à l'aide du logiciel Minitab (**Weisberg, 1985**), qui sont le test "t" de Student et l'analyse de la variance à deux critères de classification.

I. Résultats

I.1. Les effets comportementaux

I.1.1. Estimation du taux d'alimentation

Le taux des laitues consommées par les escargots n'a pas été mesuré car nous avons constaté que les feuilles de laitue trempées dans l'insecticide perdaient rapidement leur fraîcheur par rapport à celle des escargots témoins (trempées dans l'eau distillée), ainsi il était impossible de quantifier le taux de feuilles consommées avec précision, et il était donc impossible d'estimer le taux d'alimentation.

I.1.2. Effets sur le comportement

Les escargots exposés au trichlorure d'antimoine ont montré une série de symptômes. Le premier symptôme est la perte de la chimioréception, de sorte que les escargots ne sont plus attirés par la nourriture de façon dose-dépendante comparé aux escargots témoins.

La plupart des animaux ont montré une activité similaire à celle des escargots témoins pendant la période expérimentale. Cependant, à la forte concentration (5g/l), les individus ont tendance à être moins actifs, dès la deuxième semaine de traitement et sont préférentiellement en position haute sur le couvercle comparés aux escargots témoins. Tous les escargots fuient la nourriture, se positionnent au sommet des boîtes, et n'ont pratiquement pas d'activité locomotrice, dès la deuxième semaine de traitement. La consommation de la laitue contaminée diminuait d'une façon dose-dépendante.

I.2. Effets sur les paramètres morphométriques

I.2.1. La mortalité

Durant l'expérience, la mortalité était égale à zéro faible.

Tableau 12 : Mortalité des escargots adultes durant les quatre semaines de traitement par le trichlorure d'antimoine ($SbCl_3$) (1g/l et 5g/l).

Temps \ Groupe	03 J	1ère semaine	2ème semaine	3ème semaine	4ème semaine
Témoin	00	00	00	00	00
Dose1	00	00	00	00	00
Dose2	00	00	00	00	00

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

La comparaison des valeurs moyennes entre les séries témoins et traitées par les deux doses de trichlorure d'antimoine (1g/l et 5g/l) montre une diminution significative du rapport hépato-somatique chez les escargots traités à la faible dose après 14 jours: (p = 0,03 à 14j).

Tableau 13 : effet de deux doses de trichlorure d'antimoine (SbCl₃) (1g/l et 5g/l) sur l'évolution du rapport hépato-somatique (R.H.S) (%) chez des escargots terrestres *Elicia aspersa* (m ± s, n=4) (* Différence significative (p<0.05), entre les séries témoins et traitées).

	Témoin	Dose1	Dose2
14 jours	5.906 ± 1.084	3.686 ± 0.86*	5.516 ± 0.392NS
28 jours	4.605 ± 0.553	4.085 ± 0.537NS	4.336 ± 0.635NS

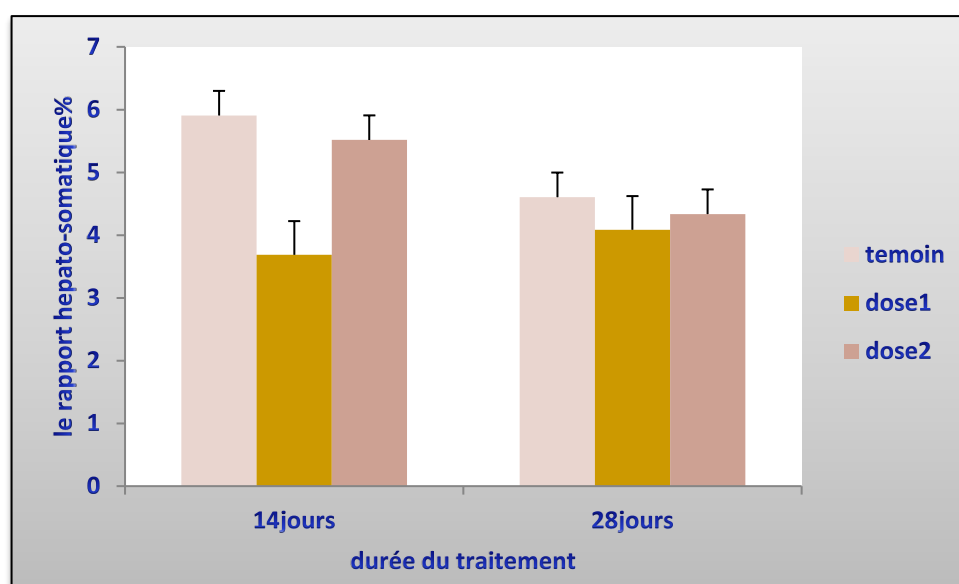


Figure 24 : effet de deux doses de trichlorure d'antimoine (SbCl₃) (1g/l et 5g/l) sur l'évolution du rapport hépato-somatique (R.H.S) (%) chez des escargots terrestres *Elicia aspersa* (m ± s, n=4)

I.4.Effet de trichlorure d'antimoine (SbCl₃) sur le rapport réno-somatique

Les effets de trichlorure d'antimoine (SbCl₃) (1g/l et 5g/l) sur le rapport réno-somatique chez *Elica aspersa* durant le traitement (14j et 28j) sont présentés par la figure 23 et le tableau 11. La comparaison des moyennes du R.R.S. entre le lot témoin et les lots traités montre qu'il n'existe pas une différence significative ($p > 0.05$).

Tableau 14 : effet de deux doses de trichlorure d'antimoine (SbCl₃) (1g/l et 5g/l) sur l'évolution du rapport réno-somatique (R.R.S) (%) chez des escargots terrestres *Elica aspersa* ($m \pm s$, n=4)

	Témoin	Dose1	Dose2
14 jours	2.116 \pm 0.803	1.719 \pm 0.353 ^{NS}	1.938 \pm 0.404 ^{NS}
28 jours	2.177 \pm 0.557	2.073 \pm 0.256 ^{NS}	2.219 \pm 0.484 ^{NS}

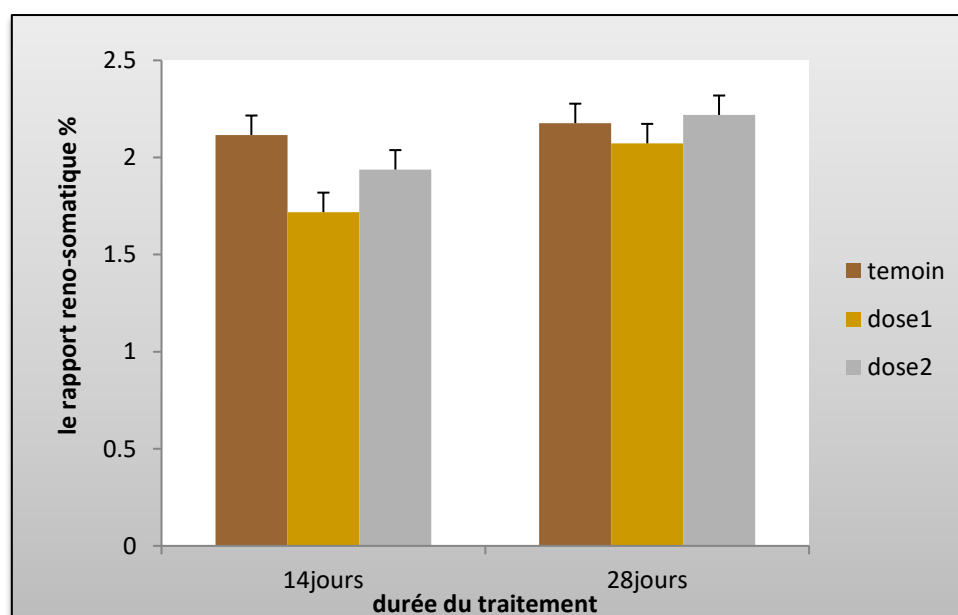


Figure 25 : effet de deux doses de trichlorure d'antimoine (SbCl₃) (1g/l et 5g/l) sur l'évolution du rapport réno-somatique (R.R.S) (%) chez des escargots terrestres *Elica aspersa* ($m \pm s$, n=4) (* Différence significative ($p < 0.05$), entre les séries témoins et traitées)

CHAPITRE IV DISCUSSION

Discussion

De taille nanométrique, les nanoparticules présentent des propriétés particulières telles qu'un rapport surface/volume très élevé et une surface d'échanges augmentée (**Linse *et al.*, 2007**). Ces particules peuvent être d'origine naturelle ou non, et chargées ou non avec des constituants chimiques comme par exemple des hydrocarbures aromatiques polycycliques dans le cas de particules de diesel (**Srogi., 2007**). Elles peuvent également relever de processus de fabrication spécifiques pour ensuite être incorporées dans des produits finis du fait des propriétés physicochimiques particulières de ces particules. On les retrouve ainsi dans de nombreux secteurs tels que ceux de l'environnement, de l'énergie, du textile, de la chimie, des cosmétiques, de la santé, de l'automobile ou du bâtiment. Leur taille très faible (<100 nm) fait qu'elles peuvent pénétrer profondément dans le tractus pulmonaire ou bien franchir la barrière cutanée, et gagner ainsi par voie systémique de nombreux organes comme le foie, le rein, la rate ou le cerveau (**L'Azou *et al.*, 2008**) La présence physique de ces particules au niveau de ces différents organes pose alors naturellement la question de leur toxicité à laquelle peu d'études ont été consacrées jusqu'à présent (**Klaine *et al.*, 2008**).

L'antimoine est un métal présent naturellement dans l'environnement, notamment dans les sols et l'eau. La présence de l'antimoine dans l'environnement provient des sources naturelles et des émissions liées aux activités humaines. En effet, ses propriétés physiques intéressent de nombreuses activités industrielles comme la fabrication d'alliages, de pigments ou encore le traitement des polymères comme retardateurs de combustion. En outre, les sels organiques d'antimoine sont le principal traitement antiparasitaire des leishmanioses. Du fait de nombreux usages anthropiques de l'antimoine, il apparaît intéressant de faire le point sur les expositions actuelles de la population à l'antimoine. En particulier, les expositions environnementales sont encore mal connues.

Des évaluations des risques liés aux expositions à l'antimoine ont été réalisées en 1992 aux Etats-Unis, de plus des relations doses réponses ont été établies pour les expositions orales. De même, des mesures de gestion comme la fixation de valeur limites de références dans l'eau ont été prises. Cependant, ces données étant anciennes, des réévaluations sont actuellement menées dans plusieurs pays comme la Suède et les

CHAPITRE IV DISCUSSION

Etats Unis. De plus, l'apport hydrique d'antimoine est une problématique actuelle de l'Organisation Mondiale de la Santé et de l'Union Européenne.

Selon la voie d'exposition et la forme de l'antimoine, celui-ci sera absorbé dans le corps puis distribué dans différents compartiments corporels. Une partie sera éliminée, tandis qu'une fraction sera accumulée. L'antimoine peut exercer des effets toxiques sur certains organes qu'il atteint. Les effets différeront selon la voie, l'intensité et la durée d'exposition, ainsi que selon la toxicité de la forme chimique. Ils concernent des organes différents et peuvent se manifester à court ou à long terme.

L'antimoine trivalent soluble (ATP) administré à des souris via l'eau de boisson est faiblement absorbé (**Dieter et al., 1991**) Seul 5 à 15 % des sels d'antimoine trivalent (ATP et chlorure d'antimoine) administrés par voie orale sont absorbés par les animaux, le reste étant éliminé dans les fèces (**Gebel., 1997**) Chez l'homme, une étude indique que seul 5 % de l'APT ingéré accidentellement est absorbé (**WHO., 2003**).

Chez les animaux, après absorption, l'antimoine est distribué dans le foie, les reins, les os, les poumons, la rate et la thyroïde (**EPA., 1999**). L'antimoine trivalent s'accumulerait plus dans le foie et la rate alors que l'antimoine pentavalent (APT) serait plus affiné dans les os. Chez l'homme, dans la population générale, l'antimoine est retrouvé dans les fluides et tissus à de très faibles niveaux, de l'ordre de 7 mg pour l'ensemble du poids corporel (**ATDSR., 1992**). L'ICRP recommande des valeurs de référence de 5 mg dans les tissus mous et 2 mg dans les os.

Toutes les études sur les bioindicateurs s'accordent sur l'idée que les espèces *Helix* sont d'excellents modèles biologiques pour toutes les études toxicologiques et pour la compréhension des mécanismes d'action des xénobiotiques.

Un escargot *Helix* est plus susceptible d'être utilisé comme modèle d'étude de la toxicité des nanoparticules due à plusieurs raisons (**Scheifle.,2002 ; viard.,2009**), notamment: ,Parce qu'il est connu pour ses capacités à accumuler les polluants (Zn, Cu, Pb.....) à des concentrations importantes dans ses tissus Herbivore et détritivore, ce mollusque gastéropode pulmoné est exposé aux pollutions des sols, des végétaux et de

CHAPITRE IV DISCUSSION

l'atmosphère et représente de ce fait un modèle intégrateur complémentaire des organismes souterrains comme les annélides ou les organismes à régime strictement herbivore ou détritivore . Peut-être parce qu'il entre dans le régime alimentaire de l'homme, Il est considéré comme l'un des maillons de la chaîne trophique. Il est la proie de nombreux prédateurs tels que les mammifères, les oiseaux, etc. et peut donc être à l'origine de transferts des polluants (Grara et al.,2012 ; Coeurdassier et al., 2001) .

Dans ce travail, nous sommes intéressés à l'effet de deux concentrations croissantes d'une nanoparticule (Trichlorure d'antimoine $SbCl_3$: 1g/l, 5g/l) sur des paramètres morfo-physiologiques des escargots adultes *Helix aspersa* en fonction du temps (14 et 28 jours).

- Effets de trichlorure d'antimoine sur le taux de mortalité :

Nos résultats révèlent que le traitement des escargots par le trichlorure d'antimoine n'a aucun effet sur le taux de mortalité. Des résultats similaires ont été observés par (Marigomez et al., 1986) chez *Arion ater* après ingestion d'aliment contaminés par 1000 $\mu\text{g/g}$ de Zn ou Cu.

Mais à l'opposé, (Bendokhane et al., 2013) ont montrés que le pourcentage cumulatif de mortalité des escargots *Helix aspersa* exposés aux concentrations croissantes de nanoparticules (ZnO , Al_2O_3 , Fe_2O_3) est dose-dépendante. Les doses de Cl_3Sb ne sont pas mortelles peut être puisque elles sont très faibles ou la durée de traitement est courte.

1. Effets des nanoparticules (Trichlorure d'antimoine $SbCl_3$) sur le rapport hépato-somatique chez *Helix aspersa*

L'indice hépato-somatique: C'est le poids du foie par rapport au poids total de l'animal. C'est lui qui est autorisé à évaluer l'activité métabolique du foie, Le RHS est également utilisé pour évaluer l'état de santé des organismes, Suivi du cycle hépatique et détermination du rôle du foie au cours de la croissance (Virginie Maes., 2014) par le biais de troubles et de changements qui se produisent au niveau du foie en raison de la présence de nanoparticules ($SbCl_3$).

Nos résultats montrent une diminution significative du rapport hépato-somatique chez les escargots traités à la faible dose de trichlorure d'antimoine après 14 jours, et après 28 jours les résultats montrent une diminution non significative de ce rapport chez les

CHAPITRE IV DISCUSSION

escargots traités à la dose (5g/l) de trichlorure d'antimoine. Notre résultat peut être interprété par l'activation des mécanismes de détoxification au niveau de l'hétopancreas pour l'élimination et l'adaptation à la présence de ce polluant.

Des résultats similaires sont observés chez les têtards de grenouille verte (*Rana clamitans*, Latreille) exposés pendant 30 jours à (25 ppb) de cadmium (Wani et Latey., 1983).

Notre résultat est similaire aussi aux résultats de (Laflamme et al., 2000) qui ont marqué une diminution non significative du RRS chez les perchaudes prélevés de lac de Rouyn-Noranda et les perchaudes prélevés de lac Osisko contaminé par le cadmium (Cd).

Selon (Grara et al., 2012) l'exposition des escargots aux nanoparticules (ZnO, Fe₂O₃, Al₂O₃) provoque une diminution du poids d'hétopancreas. Ainsi, (Marigomez et al., 1998) ont montré une réduction de 50% du poids de la glande digestive des limaçons après traitement par des nanoparticules (Fe₂O₃, de SiO₂ et des mixtures).

2. Effets des nanoparticules (Trichlorure d'antimoine SbCl₃) sur le rapport rénoso-matique chez *Helix aspersa*

L'indice rénoso-matique pourrait constituer un signal préventif adéquat d'une atteinte potentielle à la santé des escargots. Il est reconnu qu'une modification de R.R.S peut être associée à des dommages au rein. Une telle modification souligne également l'exposition aux polluants.

Les résultats obtenus montrent que le traitement des escargots par les deux doses de chlorure d'antimoine n'a aucun effet sur le rapport rénoso-matique durant les 28 jours.

Par contre (Grara et al., 2012) ont mis en évidence une diminution du poids des deux organes (glande digestive et rein) en présence des poussières métalliques.

L'absence de différence significative entre les lots traités et le lot témoin ne constitue pas un critère suffisant pour conclure à l'absence d'effet de ce polluant sur les escargots.

Chapitre V CONCLUSION

Conclusion

Les organismes vivants dans le sol sont soumis à de nombreux polluants en raison de la pollution chimique de l'environnement due aux activités humaines. Ainsi, ils doivent faire face à de nombreuses pressions.

Dans cette étude, nous souhaitons évaluer l'effet des nanoparticules métalliques (SbCl₃) et leurs effets sur un organisme bioaccumulateur et bioindicateur de pollution de l'environnement et un indicateur d'état sanitaire, le gastéropode *Helix aspersa*, pour la préservation de la santé de l'Homme. Il s'agit d'une étude de toxicité subchronique par la voie d'absorption digestive.

La toxicité des NPs est déterminée chez l'escargot *Helix aspersa* grâce à un biotest réalisé en laboratoire sur des animaux adultes exposés à des concentrations croissantes des NPs (1g/l, 5g/l). Les effets de SbCl₃ ont été étudiés par une approche ciblée au laboratoire, consistant à évaluer l'effet de cette molécule sur les indices métriques (RHS et RRS), sur le taux de mortalité et sur le comportement des escargots.

Les résultats obtenus montrent que les doses testées de SbCl₃ n'ont aucun effet sur le taux de mortalité des escargots et sur le RRS mais elles provoquent une diminution significative du RHS après 14 jours de traitement à la faible dose.

L'absence de différence significative entre les lots traités et le lot témoin ne constitue pas un critère suffisant pour conclure à l'absence d'effet toxique de ce polluant. En perspectives, notre travail sera poursuivi par des nouvelles voies d'approche (dosage biochimique (GSH, GST, CAT, MET, GPX, LDH, SOD...ect), embryologie, génétique...) qui pourrait peut-être élucider la toxicité de trichlorure d'antimoine.

Référence Bibliographique

A

- Afsset. (2006).** , Les nanomateriaux, effets sur la santé de l'homme et sur l'environnement. , Agence Française de Sécurité Sanitaire de l'Environnement et du Travail. 2005-010).
- Aillon., K. L., Y. Xie, N. El-Gendy, C. J. (2009).**Berkland and M. L. Forrest"Effects of nanomaterial physicochemical properties on in vivo toxicity." Adv Drug Deliv Rev 61(6):. 457-466.
- Alexander P. (1991).** Ultrafine titanium-dioxide makes the grade. Manufacturing Chemist (7). 21-62.
- Angélique, S. D. (2008).**Effets biologiques des nanoparticules manufacturées : influence de leur caractéristique. Thèse de Doctorat, Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (Agro Paris Tech), France, . 194P.
- Anonyme. (2004).** : APIA (Agence de Promotion des Investissements Agricoles).L'élevage d'escargots Partie monographique. Ministère de l'Agriculture, de l'environnement et des Ressources Hydrauliques, . 108 p.
- Atdsr. (1992).** Agency for Toxic Substances and Disease Registry U.S. Public Health Service : Toxicological profile for antimony and compounds (Sept. 92).

B

- Badary O.A.,Abd El-Gawad H.M.,Taha R.A.,(2003)** .Behavioral and neurochemical effects induced by subchronic exposure to 40 ppm toluene in rats .pharmacol biochem behavior . 74: 997-1003.
- Bailey, S.E.R. (1981).** Circannual and circadian rythms in the snail *Elica aspersa* Müller and the photoperiodic control of annual activity and reproduction. J. Comp. Physiol. 142, 89-94.
- Barker G.M. (2001).** The Biology of Terrestrial Molluscs. CAB International. Oxon.Wallingford.UK. 567 pages.
- Barus, C., (2008.).**Etude électrochimique de molécules antioxydantes et de leur associationen milieux homogène et biphasique - Application aux produits dermocosmétiques. Thèse de doctorat. Université de Toulouse III - Paul Sabatier.
- Bartosz, G. (2003).** Total Antioxidant Capacity.Advances in Clinical Chemistry,

37, 219-292.

Baurand.P. E. (2014).Embryotoxicité de contaminants métalliques et organiques chez l'escargot *Elica aspersa* .Thèse de Doctorat en Sciences de la Vie et de l'Environnement Université de Franche-Comté,. 207p.

Beeby A. (1985) . The role of *Elica aspersa* as a major herbivore in the transfer of lead through a polluted ecosystem. *Journal of Applied Ecology*. 22. 267-275.

Benguedouar. H. (2016).Utilisation des escargots comme indicateur de la contamination métallique des sols : cas de l'*Elica aspersa* . Diplôme de Master en Gestion Durable des Ecosystèmes et Protection de l'Environnement, Université des Frères Mentouri-Constantine,. 52p.

Bendokhane Wafa, Gounache Sabrina, -Mezriche Saida. (2013);Mémoire de Master : Evaluation de la toxicité de certainesnanoparticules métalliques (ZnO, Fe₂O₃ et Al₂O₃) sur un animalbioindicateur de pollution (*Helix aspersa*).

Bonnet. Jean-Claude . (1990). Pierrick Aupinel INRA, Domaine pluridisciplinaire du Magneraud.

Bottero J-Y., Lecoanet H.F., Wiesner M.R. (2004). Laboratory Assessment of The Mobility of Nanomaterials in Porous Media.*Environ Sci Techno* 38: 5164-5169

Bougis, P., (1952) . La croissance des poissons méditerranéens. *Vie Milieu Suppl.* 2:118-146.

Boukhallout et Touati.K. (2016). Nantoxicité de Séléniure de Cadmium (NPs) sur les paramètres de stress oxydatif d'un modèle cellulaire biologique alternatif *Elica aspersa* . Mémoire De Master en Toxicologie, Xénobiotiques et Risque Toxicologique universit Tébessi –Tébessa ,. 96p.

Buzea , C., Pacheco, I.I. & Robbie, K.,(2007).. Nanomaterials and nanoparticles: Sources andtoxicity. *Biointerphases*, 2(4), p.MR17-MR71.

C

- Cassetta I., Govoni V., Granieri E ., (2005).**Oxidative stress, antioxidants and neurodegenerative diseases .*Curr Pharm.* . 11(52): 20-33.
- Chevallier, H., (1982)** . Facteurs de croissance chez des gastéropodes pulmonés terrestres paléarctiques en élevage. *Haliotis*, . 12, 29-46.
- chevalier H. (1990).**L'élevage des des escargots.production et préparation du petit-gris 2ème édition.edition du point vétérinaire , maison-alfort.paris. p. 144.
- Chevallier, H., (1992) .** L'élevage des Escargots. Production et Préparation du **14**Petit-Gris. 2ème édition. Edition du point vétérinaire, Maison-Alfort.
- Cobbinah, J. R., Vink, A., & Onwuka, B. (2008).**L'élevage d'escargots : Production transformation et commercialisation, Agromisa Foundation, Série Agrodok N°47, Wageningen, Netherlands. 85p.
- Coeurdassier M., Saint-Denis, M., Gomot-de Vaufleury, A., Ribera, D., Badot, P.M.(2001).**The garden snail (*Elica aspersa*) as bioindicator of organophosphorus exposure: effects of dimethoate on survival, growth and acetylcholinesterases activity. *Environmental Toxicology and C.* 20, 1951-1957.
- Coeurdassier. (2001).** Utilisation de mollusques gastéropodes pulmonés terrestres (*Elica aspersa*) et aquatiques (*Lymnia stagnalis* et *Lymnia palustris*) comme indicateurs de pollution par les éléments métalliques et les xénobiotiques .Thèse de doctorat,université de franche comt. France.281p .
- Cooper D.A., Pendergrass E.P., Vorwald A.J., Mayock R.L. and Brieger H. (1968)** -Pneumoconiosis among workers in an antimony industry. *Am J Roentgenol Radium.*
- Couvreur et Puisieux. (1993).**Nanoparticles and microparticles for the delivery of polypeptides and proteins. *Advanced Drug Delivery Reviews.* 141_162.

D

- Dagnelie, P. (1999).**Statistiques théoriques et appliquées.Tome2 : références statistiques à une et à deux dimensions. Bruxelles.Univ De boeck et Larcier., 659p.

- Daguzan J. (1981).** Contribution à l'élevage de l'escargot petit-gris : *Elica 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.
- Dahirel. M. (2014),** Déterminants individuels et environnementaux de la dispersion chez une espèce hermaphrodi, l'escargot *Cornu aspersum*. Thèse de Doctorat en Biologie, Université Rennes 1, . 256p .
- Dallinger, R., Berger, B., Triebkom, R., Kohler, H. (2001).**Soil biology and ecotoxicology. In: Baker G.M. (Ed). *The biology to terrestrial molluscs*. CAB International, Oxon, Wallingford, UK, . 489-525.
- De Vaufleury .A., FRITSCH, C., GIMBERT, F., PAUGET, B., COEURDASSIER,M. CRINI, N., & SCHEIFLER, R. (2009).**Utilisation et intérêt des escargots et des micromammifères pour la bio-indication de la qualité des sols. *Etude et Gestion des Sols*, 16, 3/4, . 203-217p.
- Delattre, J. et al., (2005).** Radicaux libres et stress oxydant: Aspects biologiques et pathologiques, Tec & Doc Lavoisier.
- Djadouri, D., & Ben dahra , I. (2014).** Effets potentiels antioxydant et anti Inflammatoire de l'homogénat d'*Elica aspersa* dans un modèle expérimental de colitechimio-induite Diplôme de Master en Immuno-oncologie, Université de Constantine I. 126p.
- Dieter .MP, Jameson CW, Elwell MR, Lodge JW, Hejtmantic M, Grumbein SL,Ryan M,Peteers AC. (1991).** Comparative toxicity and tissue distribution of antimony potassium tartrate in rats et and mice dosed by drinking water or intraperitoneal injection,*J Toxicol Environ health.* 34 (1): 51-82.
- Douafer. L .(2010),,** Evaluation de la pollution des sols de quelques biotopes de l'Est algérien par l'utilisation d'un bioindicateur, *Elica aspersa* (Mollusca, Gasteropoda): inventaire, activité enzymatique et composition physico-chimique du sol. Magister en . *Biologie et Physiologie Animale, Université Badji Mokhtar – Annaba*, , 98p.

Douafer. (2015), L Réponses in situ et en laboratoire de deux espèces communes de gastéropodes (*Elicia aspersa* et *Helix aperta*) à une contamination des agrosystèmes par un insecticide néonicotinoïde (Actara) : activité de l'AChE et stress oxydatif. *these de Doctorat en Biologie et Physiologie Animale, Université Badji-Mokhtar-Annaba*,, 162p.

F

Favier A.,(2003).Le stress oxydant : Intéret conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique.L'actualité chimique.108-115.

Feruusaci . (1821).-Tandon Bourguignat locard germain. (1821 .1905 :1908). . d'Audebard de,. — Tableaux systématiques des animaux Mollusques ... In : Histoire Naturelle des Mollusques, Arthus Bertrand, Paris, ., pl. — Sur la distribution géographique de *VELICA aspersa* . F. nat. . 47 + 114. p 182-185.

Fontaine. (2007). Fontaine E..Radicaux libres et vieillissement.Cah Nutr Diét . . 42(2): 110-115.

Françoise danrigal. (s.d.). Laboratoire de Biologie des Invertébrés Marins et Malacologie, Muséum national d'Histoire naturelle, 55, rue Buffon, 75005 Paris. Les photographies sont dues à M U e Françoise DANRIGAL du même laboratoire.

G

Gebel T. (1997). Arsenic and antimony : comparative approach on mechanistic toxicology. *Chemico-Biological Interactions* 170: . 131-144.

Germaine .(1821). Les Helicidae de la Faune Française. J. Desvigne, Lyon ., 16 pl. (extr.*Des Archs Mus. Hist. nat. Lyon*, 13). 484 p.

Gimmbert, F. (2006). Cinétique de transfert de polluants métalliques du sol à l'escargot.Thèse de Doctorat en Science de la vie, Université de Franche-Comté, Besançon, France, . 192p.

Gomot, A., Gomot, L., Boukraa, S., Bruckert, S., (1989).Influence of soil on the growth on the land snail *Elicia aspersa* .An experimental study of absorption route for the stimulating factors. J. Moll. Stud, . 55, 1-7.

Gomot A., Gomot L. (1995). Neurohormonal control of body and shell growth of the snail *Helix*. Bull. Inst. Océanog. Monaco. 14. p.141-149.

Gomot A. (1997). dose-dependent effects of cadmium on the growth of snails in toxicity bionassays.archives of environmental contamination and toxicology.33. pp. 209-216.

Gomot A. (1997). b.Double labelling of neural grafts for identification of sites mediating growth in snails. Biol. Cell. 89. 133-140.

Gomot. (1997). Effets des métaux lourds sur le développment 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, 59-75.

Grara, N., Atilia, A., Boucenna, M., Berrebbah, H., Djebbar, M. R. a. (2012). Toxicity of metal dust from Annaba steel complex (Eastern Algeria) on the morpho physiological parameters of the snail *Elicia aspersa* . Advances in Environment0756. 6(2):. 605 - 611.

H

Halliwell, B. & Gutteridge, J. (1999). Free Radicals in Biology and Medicine 3e éd., Oxford University Press, USA.

Hervé-Bazin, B et Collectif. (2007). , Les nanoparticules: Un enjeu majeur pour la santé au travail?, EDP Sciences.

Hund-Rinke, K., Simon, M., (2006). Ecotoxic effect of photocatalytic active nanoparticles (tio₂) on algae and daphnids. Environ Sci Pollut Res Int. 13(4):225– 232.

I

Iaea. (1994) . Handbook of parameter values for the prediction of radionuclide transfer in temperate environments. International Atomic Energy Agency. Vienna, Austria. Technical Report Series, No. 364.

Iarc. (1989) - IARC monographs. on the evaluation of carcinogenic risk of chemicals to humans. Lyon, World Health Organization, vol 47.

Ibaseta. (2007). Etude expérimentale et modélisation de l'émission d'aérosols ultrafins lors du déversement de poudres nanostructurées. Institut national polytechnique de Toulouse.

60.Ibtl. (1972). Acute toxicity with antimony oxide. Industrial Biotest Laboratories.OTS206223.

61.Iglesias et Castillejo. (1999).Field observations on feeding of the land snail *Elicia aspersa* Müller. J. Moll. Stud. . 65. p.411-423.

Ineris. (2007).Institut national de l'environnement industriel et des risques.

Ineris. (2007). INERIS–DRC-03-47020-03DD050.doc Version N° 2-1- avril 2007.

J

Jaune. (2009). Issue 6,Revue des Maladies Respiratoires Volume 26. 625-63.

Jaune.(2015) .Issue (Bulletin du Cancer Volume),102. 83-91.

K

Kahru, A., Dubourguier, H. C., Blinova, I., Ivask, A., Kasemets, K.(2008). Biotests and Biosensors for Ecotoxicology of Metal Oxide Nanoparticles: A Minireview.

Kerney, M.P., Cameron, R.A.D., Bertrand, A. (1999).Guide des Escargots et Limaces d'Europe. Delachaux & Niestlé, Paris.

Klaine SJ, Alvarez PJJ, Batley GE,et al. (2008).Nanomaterials in the Environment: Behavior, fate, bioavailability, and effects. Environ Toxicol Chem; 27: 1825-1851.

L

- Lafamme J-S, Couillard Y, Campbell PGC, Hontela A. (2000)** . Interrenal metallothionein and cortisol secretion in relation to Cd, Cu, and Zn exposure in yellow perch, *Perca flavescens*, from Abitibi lakes. *Can J Fish Aquat Sci* 57:1692-1700.
- Lalmi, S., & Lazreg, A. (2016)**. Effet de deux molécule nanométrique sur les parametre physiologique des escargot *Elica aspersa* . Mémoire de Master en Toxicologie, Xénobiotiques et Risque Toxicologique, Université de Larbi Tébessi –Tébessa,. 82p .
- Larba, R. (2014)**. Bio-surveillance de l'environnement dans la région Est : mesure debiomarqueurs chez *Elica aspersa* et corrélation avec les caractéristiques physicochimiques des sols. Thèse de Doctorat en Physio-Toxicologie, Université Badji Mokhtar d'Annaba,. 105p.
- Laskowski R., Hopkin P. b. (1995)**. Accumulation of Zn. Cu. Pb. and Cd in the garden snail (*Elica aspersa*) : Implication for Predators . *Environmental Pollution*. 91. p.289-297.
- L'Azou B, Jorly J, On D_ et al. (2008)**. In vitro effects of nanoparticles on renal cells. *Part Fibre Toxicol.* ; 5 : 22-26.
- Linse S, Cabaleiro-Lago C, Xue WF_ et al. (2007)**. Nucleation of protein fibrillation by nanoparticles. *PNAS USA.* ; 104: 8691-8696
- Locard. A., (1881)**. Etudes sur les variations malacologiques d'après la faune vivante et fossile de la partie centrale du Bassin du Rhône. H. Georg, Lyon, t. 1, . 470 p., 5 pl.
- Lowry , G.V. and Johnson, K.M., (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.
- Lubeck, (1996)**. expedition in unbekante spraschlandschaften : Heinrich-Mann-literarisches werk ; in *Heinrich-Mann- Jahrbuch 14, 1996*, hg. von H. Koopmann und P.-P. Schneider, , p. 9-41.

Luther W. (2004). «Industrial application of nanomaterials-chances and risks. Technical report, Future Technolos Division of VDI Technologiezentrum».

M

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.

Marigomez, J.A., Angulo, E., Saez, V., (1986).c. Feeding and growth responses to copper, zinc, mercury and lead in the terrestrial gasteropod *Arion ater* (Linné). *J. Moll. Stud.*, 52, 68-78.

Marigomez, I., Kortabitarte, M., Dussart, G.B.J., (1998). Tissue- level biomarkers in sentinel slugs as cost-effective tools to assess metal pollution in soils. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 34, 167–176.

Merck et Co. Inc. (2006). O'Neil, M.J. et al., *The Merck Index : an encyclopedia of chemicals, drugs, & biologicals.* 14ème éd. New Jersey : . [RM-403001].

N

Nanna, B. H. (2011). Ecotoxicity of engineered nanoparticles to freshwater organisms
PhD Thesis DTU Environment Department of Environmental Engineering
Technical University of Denmark.

Navarro, E., Baun, A., Behra, R., Hartmann, N. B., Filser, J., Miao, A.-J., Quigg, A., Santschi, P. H., Sigg, L .(2008). Environmental behavior and ecotoxicity of engineered nanoparticles to algae, plants, and fungi. *Ecotoxicology.* , 17(5):372–386.

Notten .M.J.M., Oosthoek A.J.P., Rozema J., Aerts R . (2006). Heavy metal pollution affects consumption and reproduction of the landsnail *Cepaea nemoralis* fed on naturally polluted *Urtica dioica* leaves. *Ecotoxicology.* 15. P.295-304.

O

Oberdorster G et al. (2005). Nanotoxicology: An emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. *Environmental Health Perspectives*, 113(7), p.823-839.

O'Neil, M.J. (2006). The Merck Index : an encyclopedia of chemicals, drugs, & biologicals. 14ème éd. New Jersey : Merck & Co. Inc.

P

Peake, J. (1978). Distribution and ecology of stylommatophora. In *Pulmonates. Systematics, Evolution and Ecology* (Eds V. Fretter et J. Peake), Vol. 2A, Academic Press, London, . 429-526.

Pirame, S. (2003). Contribution à l'étude de la pathologie estivale de l'escargot Petit-Gris (*Elicia aspersa*): Reproduction expérimentale. Thèse d'exercice vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse- Université Paul-Sabatier de Toulouse,. 99p.

Pohanish, R.P. et Greene, S.A., (2003). Wiley guide to chemical incompatibilities. 2nd ed. New York, N.Y. : Wiley Interscience. (2003). [RR-015033].

Pol, D. (2001). Biologie animale : fonctions de relation. In : Fondation La main à la pâte [en ligne]. (1/7/2001) Disponiblesur: <http://www.fondationlamap.org/fr/page/12076/biologie-animale-fonctions-derelation> (Consulté le 20/04/2017).

Pol, D. (2006) .Elevage de l'escargot. In : Fondation La main à la pâte [en ligne]. (18/9/2006) Disponiblesur <http://www.fondationlamap.org/fr/page/11571/elevage-de-lescargot> (Consulté le 20/04/2017).

Potkonjak V. and Pavlovich M. (1983). Antimoniosis : a particular form of pneumoconiosis. I. Etiology, clinical and X-ray findings. *Int Arch Occup Environ Health*, 51, 3, . 199-207.

R

Regoli . F.,Gorbi S.,Fattorini D.,Tedesco S.,Notti A.,Machella N.,Bocchetti R .,Benedetti M., Piva F. (2006). Use of the land snail *Elicia aspersa* as sentinel

organisme for monitoring ecotoxicologic effects of urban pollution:An integrated approach. Environmental Health Per. 114. p.63-69.

Rocca, V. L. (2004). Mise au point et validation sur sites contaminés (ETM-HAP) d'un test de bio-surveillance en microcosme : croissance et bioaccumulation par gastéropode terrestre *Elica aspersa* *Aspersa*. Thèse de Doctorat en Sciences de la Vie, Universit Metz,. 266p.

Roduner E. (2006). «Size matters: why nanomaterials are different. Chemical Society Reviews»,. (p. 583_592).

S

Scheifler R., Gomot-de Vaufleury A., Toussaint M.L., Badot P.M.(2002). Transfer and effects of cadmium in an experimental food chain involving the snail *Elica aspersa* and the predatory carabid beetle *Chrysocarabus splendens*. Chemosphere 48. P.571-579.

Smida, R., &Touaibia, K. (2016). L'étude de l'hépatotoxicité de deux molécules Nanométriques Chez Un Bioindicateur De Pollution *Elica aspersa* . Mémoire De Master en Toxicologie : Xén-biotiques et Risque Toxicologique, Université de Larbi Tébessi – Tébessa,. 100 p.

Srogi .K. (2007)., **Monitoring of environmental polycyclic aromatic hydrocarbons: a review. Environ Chem Lett. ; 5: 169-195**

Stegeman. (1992). Nomenclature for hydrocarbon-inducible cytochrome P450 in fish. Marine Environmental Research 34,133-138. P450.

Stiévenart, C., Prince, S., Onwueme, I., Hardouin, J., & Delhove, G. (1990). Manuel d'élevage des escargots géants africains sous les Tropiques. Centre technique de coopération agricole et rurale (CTA), Wageningen (Pays-Bas),. 38p.

U

Urban, P. G. et Pitt, M.J., (2007). Bretherick's handbook of reactive chemical hazards. Vol. 1, 7th ed. Oxford; Toronto : Elsevier. (2007). RS-415001.

V

Viard B., Maul A., Pihan J.-C. (2004).Standard use conditions of terrestrial gastropods in active biomonitoring of soil contamination. *Journal of Environmental Monitoring*. . 6: 103-107.

Virginie MAES, (2014) . Le métabolisme énergétique chez un cyprinidé d'eau douce, le gardon *Rutilus rutilus* : vers le développement de nouveaux biomarqueurs en lien avec la contamination par des produits phytosanitaires. Thèse de doctorate. Université de Reims Champagne-Ardenne. p105.

Vrillon, J. L. (1990).L’escargot *Elica aspersa* biologie – élevage. Edition INRA,. 14-15.

W

Wani, G.P., et A.N. Latey. (1983) . Toxic effects of cadmium on the liver of a freshwater teleost garra mullya (Sykes). *Curr. Sei.*, 52(21): 1034-1035

Wardman et al. (1996). Calculation of Standard Reduction Potentials of Amino Acid Radicals and the Effects of Water and Incorporation into Peptides .

Wei-xian et al. (2003). Wei-xian ,Z.,Nanoscale Iron Particles for Environmental Remediation: An Overview. *J.*

Y

Yang, L., Watts, D. J., (2005). Particle surface characteristics may play an important role in phytotoxicity of alumina nanoparticles. *Toxicol Lett*, . 158(2):122–132.

Z

Zaafour. M. (2014). Étude écophysiologique de la reproduction de l’escargot terrestre Petit-Gris (*Elica aspersa aspersa*, Gastropoda: Stylommatophora; Helicidea) dans la région Nord-Est d’Annaba – Algérie. Thèse de Doctorat en Sciences, Université Badji Mokhtarannaba . 109p

Références Web graphique

<http://legisquebec.gouv.qc.ca/fr/ShowDoc/cr/S-2.1>, %. (s.d.).

[\(http://legisquebec.gouv.qc.ca/fr/ShowDoc/cr/S-2.1, %\)](http://legisquebec.gouv.qc.ca/fr/ShowDoc/cr/S-2.1,%) (s.d.).

