

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Larbi Tébessi –Tébessa-
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie



Département : Biologie Appliquée

MEMOIRE de fin d'étude

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Option : Toxicologie

Aspects biochimique et histologique de la toxicité des pyréthronoïdes de type 2

Présenté par :

Melle : SIAD Amel

Melle : BAKKOUCHE Zaineb

Devant le jury :

Mr. HANNACHI Med Salah

Dr. Université de Tébessa

Président

Mme. MESSADIAA Amira

Dr. Université de Tébessa

Examinatrice

Mme. AMAMRA Rima

Dr. Université de Tébessa

Promotrice

Date de soutenance : 08/06/2021

Année universitaire 2020/2021

Remerciement

Ce mémoire vient finaliser 5 ans de travail. Il marque un terme à cette expérience estudiantine mais aussi personnelle qui n'aurait pas été réalisée sans le savoir et le soutien de nombreuses personnes. Nous tenons ainsi à remercier en quelques lignes tous ceux qui, de près ou de loin ont contribué à ce travail, en espérant n'avoir oublié personne. Nous allons essayer de faire de nos mieux.

*Nous remercions tout d'abord **Allah**, le tout puissant et le maître de l'univers qui nous a donné la forte volonté et la patience afin d'accomplir ce travail. Dieu nous a toujours guidés vers le droit chemin.*

*Nos sincères remerciements vont particulièrement à : **Dr. AmamraRima** pour les conseils judicieux et constants qu'elle nous a prodigués tout au long de ce travail, pour sa disponibilité et son indulgence qui nous ont permis de mener à bien cette étude, qu'elle trouve ici l'expression de nos plus profonds respects et toutes notre gratitude.*

*Nous remercions **Dr. Hannach Med Salah** qui nous a fait l'honneur de présider ce jury.*

*Nous exprimons également nos remerciements à **Dr. MessadiaaAmira** qui a accepté d'examiner ce travail et consacré de son temps pour son évaluation.*

*Nous remercions tout particulièrement nos collègues de **TOXICOLOGIE**.*

♥
Merci à
tous. *AmelZaineb*

Dédicace

*Je tiens à remercier en premier lieu **ALLAH** le tout puissant pour toute la volonté et le courage qu'il m' a donné pour l'achèvement de ce mémoire, il a été et sera toujours à mes côtés pour accomplir ce qui est juste et meilleur*

*je dédie ce travail à mon**cher papa**, c'est pour toi, et grâce à toi que j'ai pu faire ce parcours*

*A ma très **chère mère**, sans elle rien n'aurait pu être fait : Elle m'a tout donné sans rien en retour, Elle m'a encouragé, conseillé et soutenu dans mes moments les plus difficiles durant tout mon cycle universitaire.*

*"**Merci mama**".*

*A mes **grandes familles** sans exception*

*A toutes mes **chères meilleures amies** en qui j'ai toujours trouvé le soutien et le réconfort*

Mes remerciements s'adressent également à toutes les personnes que je n'ai pas citée...merci pour votre gentillesse et votre amabilité.



Zaineb



Dédicace

Après un remerciement sincère à dieu. Avec les bons sentiments je dédie ce modeste travail en signe de respect et de reconnaissance, respectivement.

A la mémoire de mon grand-père décédé « Messaoud Med El-Hadi »

Je dédie ce travail à mon cher grand-père qui a toujours soutenu et encouragé ses petits-enfants et ses enfants, grâce à son jugement avisé et à ses conseils. Il a contribué à faire de moi ce que je suis aujourd'hui.

Paix à son âme.

A ma chère famille

A mes chers parents « Siad Ahmed » et « Messaoud Dalila »

Autant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour vous. Vous m'avez comblé avec tendresse et affection tout au long de mon parcours. Vous n'avez cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études, vous avez toujours été présents à mes côtés pour me consoler quand il le fallait. En ce jour mémorable, pour moi ainsi pour vous, recevez ce travail en signe de ma vive reconnaissance et ma profonde estime. Puisse le tout puissant vous donner santé, bonheur et longue vie afin que je puisse vous combler à mon tour.

Je remercie tous les membres de ma petite et chers famille, mon frère

***ISLEM** et ma sœur **SARA** pour leur encouragement.*

*A toute la famille paternelle surtout ma tante **Fatima**, qui est considérée comme ma deuxième maman, Et ma tante **Fedha** et ma meilleure cousine **Fouzia**.*

*A tout la famille maternelle mes grand-mères **Aldjia** et **Jaraila**, mes tantes (**Souâd, Amina, Fazou, Rahina**) et mes oncles.*





A mon directeur de mémoire

*Madame Amamra Rima qui m'a beaucoup appris sur les défis à relever,
Elle a partagé avec nous ses connaissances et expériences tout en
m'accordant sa confiance. Malgré toutes les circonstances je la remercie,
pour sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à
alimenter ma réflexion.*

A toutes mes amies intimes

*Surtout mes belles Asma, Manel, Nada, Donia, Manel, Roumaissa, Takwa,
Nidhal, Ines, Omnia, Ladmia, Nour, Ikram, Souhir, Oumaima, Selma et
djihenavec lesquelles je partage des souvenirs inoubliables.*

A mon cher frère abdelmoumen qui a partagé avec nous ses connaissances.

*Et mon ami Ahmed, qui est toujours présent à mes côtés, me soutient et
m'encourage.*

Je remercie ma très chère ZAINEB d'être restée toujours à mes côtés.

A tout la promotion Toxicologie appliquée 2020/2021.

♥ *Amel.*



Résumé

La présente étude porte sur l'étude de certains aspects biochimique et histologique de la toxicité d'un pyréthrianoïde de type II largement utilisé en Algérie, en l'occurrence, la Deltaméthrine chez les escargots *Helix aspersa*.

L'exposition aux concentrations croissantes de Deltaméthrine, à savoir, 12,5; 25 et 37,5 µg/l a mis en évidence des perturbations physiologiques, biochimiques et histologiques illustrées par des fluctuations du poids moyen de l'hépatopancréas, une diminution du taux de glutathion (GSH), spécialement, chez les animaux traités par la plus forte concentration. Le suivi du taux du malondialdéhyde (MDA), quant à lui, indique une augmentation très hautement significative chez les escargots traités par la plus faible concentration et une augmentation significative chez ceux traités par les deux plus fortes concentrations.

L'étude histologique illustre des atteintes tissulaires se manifestant par une hypertrophie cellulaire et des nécroses consolidées par la survenue d'une peroxydation lipidique.

L'ensemble des résultats obtenus indiquent que la toxicité de la Deltaméthrine se manifeste par, d'une part, des perturbations physiologique et histologique, et d'autre part, par la provocation d'un stress oxydatif.

Mots clés :Deltaméthrine, *Helix aspersa*, hépatopancréas, Etude histologique, GSH, MDA, peroxydation lipidique, stress oxydatif.

Abstract

The present study concerns the study of certain biochemical and histological aspects of the toxicity of the pyrethroidtype II which is widely used in Algeria, in this case, we use Deltamethrin in *Helixaspersa* snails.

Exposure to increased concentrations of deltamethrin, namely, 12.5; 25 and 37.5 µg / l revealed physiological, biochemical and histological disturbances illustrated by fluctuations in the mean weight of the hepatopancreas, a decrease in the level of glutathione (GSH), especially, in animals treated with the highest concentration. On the other hand, Monitoring the level of malondialdehyde (MDA), indicates a very highly significant increase in snails treated with the lowest concentration and a significant increase in those treated with the two highest concentrations.

The histological study illustrates tissue damage manifested by cell hypertrophyand cellular necrosis consolidated by the occurrence of lipid peroxidation.

All the results obtained indicate that the toxicity of Deltamethrinis manifested by,on the one hand, physiological and histological disturbances, and on the other hand, by provoking oxidative stress.

Keywords: Deltamethrin, *Helixaspersa*, hepatopancreas, GSH, MDA, histological study, lipid peroxidation, oxidative stress.

ملخص:

تتعلق الدراسة الحالية بدراسة بعض الجوانب البيوكيميائية والنسجية لسمية نوع البيروثرويد الثاني الذي يستخدم على نطاق واسع في الجزائر ، وفي هذه الحالة نستخدم مادة الدلتامثرين في حلزون هيليكساسبرسا.

التعرض لتركيزات متزايدة من الدلتامثرين، وهي كالتالي 12.5؛25 و37.5 ميكروغرام / لتراظهر اضطرابات فسيولوجية وكيميائية حيوية ونسجية يتضح من التقلبات في متوسط وزن البنكرياس، انخفاض في مستوى الجلوتاثيون (GSH) ، خاصة في الحيوانات المعالجة بأعلى تركيز. من ناحية أخرى ، تشير مراقبة مستوى malondialdehyde (MDA) إلى زيادة بارزة جدا بالنسبة للحلزون المعالجة بأقل تركيز وزيادة بارزة في تلك المعالجة بأعلى تركيزين.

توضح الدراسة النسيجية تلف الأنسجة المتمثل في تضخم الخلايا و توضح أيضا وجود النخر الخلوي بسبب بيروكسيد الدهون.

تشير جميع النتائج التي تم الحصول عليها إلى أن سمية مادة الدلتامثرين تتجلى من خلال الاضطرابات الفسيولوجية والنسجية من ناحية ، ومن ناحية أخرى من خلال إثارة الإجهاد التأكسدي.

الكلمات المفتاحية: الدلتامثرين، حلزون هيليكساسبرسا، الجلوتاثيون (GSH) ، مالونديالدهيد (MDA) ، الدراسة النسيجية، بيروكسيد الدهون، الإجهاد التأكسدي.

Liste Des abréviations

ROS	Reactiveoxygenspecies
OC	Organochlorés
OP	Insecticides organophosphorés
GABA	Acide gamma-aminobutyrique
DLT	Deltamethrine
CA	Champs amoniens
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
EPA	l'Agence de Protection del'Environnement
DL50	Dose mortel 50
ATP	Adenosine triphosphate
MDA	Acide Malon-dialdéhyde
SOD	Super oxyde-dusmitase
CYP	Cyperméthrine
CAT	Catalase
GPx	Glutathion peroxydase
GSH	Glutathion réduit
TBA	L'acide thiobarbiturique
GSSG	Glutathion oxydée
P53	Protéine suppresseur de tumeur
DTNB	5-5'-dithiobis2-nitrobenzoïque
P450	Cytochromes P450
pH	Potentiel d'hydrogène
°C	Celsius
GR	Glutathion réductase
3-PBA	3-phenoxy-benzoic acid
DBCA	cis-dibromovinyl-dimethylcyclopropane-carboxylicacid

Liste des Figures

N°	Titre	Page
01	Modes d'exposition de l'homme aux pesticides	04
02	<i>Chrysanthemum cinerariaefolium</i>	05
03	<i>Helix aspersa</i>	13
04	Schéma en coupe de l'anatomie d'un escargot	15
05	Préparation des concentrations de deltaméthrine	18
06	dissection et prélèvement de l'hépatopancréas	19
07	Dosage du glutathion	21
08	dosage du MDA	22
09	Fixation de l'hépatopancréas	23
10	Observation des lames au microscope optique	25
11	Evolution du poids moyen des hépatopancréas d' <i>Helix aspersa</i> exposés aux concentrations croissantes de Deltaméthrine.	27
12	Evolution du taux du GSH au niveau de l'hépatopancréas d' <i>Helix aspersa</i> exposé aux concentrations croissantes de Deltaméthrine	28
13	Evolution du taux de MDA au niveau de l'hépatopancréas d' <i>Helix aspersa</i> exposé aux concentrations croissantes de Deltaméthrine	29

Liste des Tableaux

N°	Titre	Page
01	Caractéristiques physico-chimiques et structure moléculaire de la Deltaméthrine.	17
02	Répartition des concentrations croissantes de Deltaméthrine	18

Liste des Planches

N°	Titre	Page
01	Planche 1. Coupe histologique des escargots témoins (X40) (Atilia, 2017)	30
02	Planche 2. Coupes histologiques des hépatopancréas des escargots témoins et traités par les concentrations croissantes de deltaméthrine (X100)	31

Table des matières

Introduction	1
Chapitre 1 : Partie bibliographique	
1. Les pyréthrinoides.....	4
1.1. Généralités sur les pesticides	4
1.2. Les pyréthrinoides	5
1.2.1. Mode d'action des pyréthrinoides	5
1.3. La deltaméthrine	6
1.3.1. Toxicocénitique et métabolisme	7
1.3.1.1. Chez l'homme	7
1.3.1.2. Chez l'animal	7
1.3.2. Toxicité de la deltaméthrine.....	8
1.3.3. Mode d'action de la deltaméthrine	8
1.3.3.1. Action sur les canaux ioniques	8
1.3.3.2. Action sur la membrane plasmique	9
1.3.3.3. Action sur les neuromédiateurs	9
1.3.3.4. Action apoptotique	9
1.3.3.5. Action sur le statut redox	10
2. Biomarqueurs	10
3. La gastéropodes terrestres <i>Helixaspersa</i> comme bioindicateur.....	11
Chapitre 2 : Matériel et méthodes	
1. Matériel biologique	13
1.1. Anatomie externe de l'escargots.....	14
1.2. Anatomie interne de l'escargots	15
1.3. Rythme d'activité	15
1.4. Déplacement	15

1.5. Longévité.....	16
1.6. Cycle biologique	16
2. Matériel chimique	16
3. Méthodes	17
3.1. Condition d'élevage	17
3.2. Mode de traitement.....	18
3.3. Dissection et prélèvement de l'hépatopancréas.....	18
3.4. Paramètres étudiés.....	19
3.4.1 Paramètre physiologique	19
3.4.1.1. Poids de l'hépatopancréas ;;.....	19
3.4.2. Paramètres biochimiques	19
3.4.2.1. Détermination du taux de glutathion(GSH).....	19
3.4.2.2. Dosage du malondialdéhyde(MDA)	21
3.4.3. Étude histologique	22
3.4.3.1. Préparation des échantillons.....	22
3.4.4. Analyse statistique	25

Chapitre 3 :Résultat

1. Effet du traitement par des concentrations croissantes de Deltaméthrine sur certains paramètres physiologiques chez <i>Helixaspersa</i>	27
1.1. Effet des concentrations croissantes de la Deltaméthrine sur l'évolution du poids moyen de l'hépatopancréas des escargots <i>Helixaspersa</i> après 21 jours de traitement.....	27
2. Effet du traitement par des concentrations croissantes de Deltaméthrine sur certains paramètres biochimiques chez <i>Helixaspersa</i>	28
2.1. Effet des concentrations croissantes de Deltaméthrine sur l'évolution du taux de glutathion (GSH) au niveau de l'hépatopancréas des escargots <i>Helixaspersa</i> après 21 jours de traitement	28

2.2. Effet des concentrations croissantes de Deltaméthrine sur l'évolution du taux de malondialdéhyde (MDA) au niveau de l'hépatopancréas des escargots <i>Helix aspersa</i> après 21 jours de traitement	29
3. Etude histologique.....	30

Chapitre 4 : Discussion

Discussion	33
-------------------------	-----------

Chapitre 5 : Conclusion et perspectives

Conclusion et perspective.....	39
---------------------------------------	-----------

Références bibliographiques.....	41
---	-----------



Introduction



Introduction

Un grand nombre de produits chimiques différents sont produits pour être utilisés à la maison, dans l'industrie, dans l'agriculture et dans la lutte contre les maladies. On estime maintenant que l'univers des composés chimiques dépasse les 5 millions et qu'au moins 80000 produits chimiques sont disponibles sur le marché libre. On estime, également, que 1000 à 2000 nouveaux produits chimiques entrent sur le marché chaque année et par conséquent, passent dans l'environnement (**Aissaoui et al., 2013**).

A l'ère de la société de consommation et la demande incessante de la population mondiale en produits alimentaires, il est plus qu'indispensable de miser sur les grandes cultures et l'agriculture massive afin de répondre à cette exigence contemporaine de l'humanité. Cette demande ne peut être satisfaite avec les méthodes classiques de production agricole, ce qui a poussé les agriculteurs à opter pour l'intensification de la production des produits agricoles en assurant une large prise en charge phytosanitaire des cultures et l'utilisation intensive des pesticides afin d'augmenter la biomasse végétative et de diminuer les vecteurs des différentes maladies (**Refaieet al., 2014**).

Malheureusement, ces substances constituent un danger de toxicité permanente pour la santé de la population, ce qui a suscité une attention particulière toxicologie environnementale. En effet, ces polluants sont responsables de sérieux problèmes environnementaux en raison de leur large utilisation par les agriculteurs, leur persistance et leur bioaccumulation le long de la chaîne trophique. De plus, plusieurs études ont montré l'implication de ces xénobiotiques dans la survenue de diverses pathologies, (**Nadia et al., (2016) et Vendelac et Bacon, (1999)**). L'exposition aux pesticides peut se produire directement lors de leur production ou de leur utilisation professionnelle. Les personnes intoxiquées sont prises en charge par la médecine professionnelle ou les centres de détoxification spécialisés. Or, les études d'exposition de la population générale à ces toxiques, à de faibles doses via les matrices biologiques, notamment alimentaires sur l'organisme vivant restent faibles, ce qui rend opaque la relation entre ces polluants et l'étiologie de certaines pathologies telles que les maladies métaboliques, les maladies neurodégénératives, les atteintes de la fonction reproductive, les altérations neuro-développementales et les cancers (**Baldietal., 2012**).

Introduction

Les pyréthrinoides figurent parmi les pesticides les plus utilisés en Algérie. Ils sont utilisés depuis plus de 40 ans et représentent 25% du marché des insecticides. Ils constituent les insecticides les plus souvent employés en usage agricole, vétérinaire et domestique. Cette large utilisation s'explique par leur grande efficacité sur les insectes et leur relative sécurité chez l'homme (**Dorothee, 2011**).

Les pyréthriinoïdes sont les analogues synthétiques des pyréthrines, qui sont des substances naturelles présentes dans les fleurs des plantes (**Grojean, 2002**). Comme tous les pesticides, leur toxicité s'est avérée élevée à cause, notamment, de leur nature lipophile leur permettant de s'accumuler au niveau des tissus adipeux. Ils sont, aussi, capables de générer des espèces réactives de l'oxygène (ROS) pendant leur métabolisation, altérant, ainsi, l'intégrité fonctionnelle et structurelle de la cellule et de ses organelles suite au déséquilibre du statut redox produit. Les conséquences qui s'en suivent peuvent aller jusqu'à l'apoptose ou la nécrose, (**Rodríguez *et al.*, 2016 ; Hossinet *et al.*, 2014**).

Dans le présent travail, on s'est intéressé à l'étude de certains aspects biochimique et histologique de la toxicité d'un pyréthriinoïdes de type II largement utilisé en Algérie, en l'occurrence, la Deltaméthrine chez les escargots *Helix aspersa*.



Chapitre I :

Synthèse

Bibliographique



Chapitre I : Synthèse bibliographique

1. Les pyréthrinoïdes

1.1. Généralités sur les pesticides

Les pesticides (de l'anglais *pestis*: insecte ou plante nuisible et du latin *caedere* : tuer), désignent une substance ou l'ensemble des substances chimiques biologiquement actives intervenant notamment dans la protection des cultures et des récoltes, dans l'assainissement des locaux, des véhicules et l'entretien des animaux, dans le transport des cultures et des récoltes, dans le traitement et la prévention de certaines maladies animales et humaines comme les parasitoses (**Gauthier et al., 2010**)

Considérés comme "tueurs de fléaux" par certains étymologistes, ce sont des molécules dont les propriétés toxiques permettent de lutter contre des organismes nuisibles à l'homme et/ou à son environnement (**Aprifel, 2004**). Ils constituent un ensemble très vaste et hétérogène de composés et peuvent être classés selon différents critères :

- **Selon la nature des êtres vivants nuisibles** : les insecticides, les herbicides, les fongicides et les bactéricides.
- **Selon la ou les matières actives** : les organochlorés (OC), les organophosphorés (OP), les carbamates, les pyréthrinoïdes, etc...
- **Selon leur mécanisme d'action** : neurotoxines, perturbateurs endocriniens, etc... (**Hayden et al., 2010**).

Les pesticides peuvent pénétrer dans l'organisme par multiple voies d'exposition : par contact cutané, par ingestion ou bien par inhalation. La figure (01) résume les possibles modes d'exposition de l'homme aux pesticides (**Grimfeld et al., 2002**).

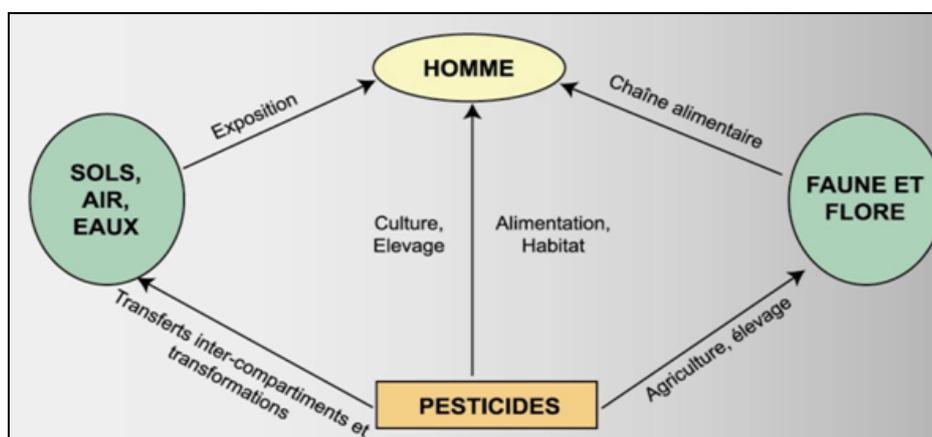


Figure 1 : Modes d'exposition de l'homme aux pesticides(**Grimfeld et al., 2002**).

Chapitre I : Synthèse bibliographique

1.2. Les Pyréthrinoïdes

Les pyréthrinoïdes de synthèse sont des insecticides neurotoxiques. Ils sont instables à la lumière et sont en général efficace à faible dose sur un large spectre d'insectes. Ils sont dérivés des pyréthrines naturelles qui sont extraites de la fleur jaune de *Chrysanthemum cinerariaefolium* (Aissaoui et al., 2013).



Figure 2: *Chrysanthemum cinerariaefolium* (Matthew, 2018).

Le terme « pyréthrines » est employé au pluriel parce qu'il désigne le mélange des six molécules formant l'extrait naturel (pyréthrine I, cinerine I, jasmoline I (sont des esters de l'acide chrisanthémique) et perithrine II, cinerine II, jasmoline II) (Ban et al., 2010 ; Rehman et al., 2014).

1.2.1. Mode d'action des Pyréthrinoïdes

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

Les pyréthrinoïdes sont neurotoxiques: En effet, ils interfèrent, principalement, avec la propagation des signaux neuronaux. Plus précisément, ils agissent sur les canaux sodiques voltage dépendants : En les maintenant ouverts, ils déclenchent une série d'influx

Chapitre I : Synthèse bibliographique

électriques causant une dépolarisation. Ceci engendre différents symptômes comme des tremblements des mouvements involontaires et la salivation (**Hénault-Ethier, 2015**).

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

Les pyréthriinoïdes sont classés en deux grands groupes selon la structure chimique et la symptomatologie après la toxicité aiguë : Les pyréthriinoïdes de type I et ceux de type II :

- **Les pyréthriinoïdes de type I** : ne contiennent pas un groupe alpha cyano et provoquent un «syndrome T» caractérisé par une hyperexcitation, une incoordination et des tremblements (**Scollonetal., 2015 ; Hossainetal.,2014 ; Cao et al., 2014**).
- **Les pyréthriinoïdes de type II** contiennent un groupe alpha cyano et provoquent un «syndrome CS» caractérisé par une salivation abondante, une choréoathétose, une hypersensibilité et une paralysie, (**Scollonetal., 2015 ; Hossainetal., 2014 ; Cao et al., 2014**).

1.3. La Deltaméthrine

La deltaméthrine [cyano-3-phénoxybenzyl- (1R) -cis-3- (2,2-dibromovinyl) -2,2-diméthylcyclopropane carboxylate] (**Ding and Catherine, 2004**) est un des pyréthriinoïdes de type II, et le métabolite primaire d'un autre pyréthriinoïde : la tralométhrine(**Shenet al., 2017**).

La deltaméthrine est largement utilisée dans l'agriculture pour lutter contre les ravageurs, les insectes et les vecteurs des maladies endémiques. Elle permet de protéger les graines pendant le stockage et de lutter contre les insectes domestiques en raison de sa faible persistance (**Angahar, 2017 ; Aroraet al., 2016**). Les sources les plus importantes d'exposition humaine et animale à ce contaminant sont les aliments et l'eau polluée, d'autant plus que son absorption est facile par voie orale (**El-maghraby, 2007**).

Chapitre I : Synthèse bibliographique

1.3.1. Toxicocénitique et métabolisme

La deltaméthrine est une molécule lipophile pouvant être absorbée par différentes voies. Elle est éliminée dans les urines et les fèces sous forme de métabolites résultant de son hydrolyse et de son oxydation dans l'organisme, (**Nadia et al., (2016) ; Bavoux et al., (2007)**).

1.3.1.1. Chez l'homme

L'administration orale d'une dose unique de DLT chez des volontaires a permis de montrer que le pic plasmatique apparaît presque 2 heures après l'administration et reste détectable jusqu'à la 48^{ème} heure. Elle est rapidement métabolisée au niveau hépatique avec formation d'acide 3-phénoxybenzoïque (3-PBA) et d'acide décamétrique (ou acide cis-3-(2,2-dibromovinyl)-2,2-diméthyl-cyclopropane-1-carboxylique ou cis Br₂ CA). (**Iwanicka et Borzecki, 2015**).

La DLT peut être éliminée soit sous forme de 3-PBA et cis-Br₂CA, soit sous forme inchangée. L'élimination urinaire représente presque 60 % de la dose absorbée ; tandis que l'élimination fécale est d'environ 10 à 26 %. La demi-vie d'élimination varie entre 10 et 13,5 heures (**Nadia et al., (2016) et Bavoux et al., (2007)**).

1.3.1.2. Chez l'animal

Les études ont montré que la DLT est facilement absorbée par le tractus gastro-intestinal, avec un taux de 90% chez le rat. Par contre, son absorption respiratoire et dermatologique est faible, mais peut être augmentée en fonction du solvant organique. D'autres travaux chez le rat, la souris et la vache montrent qu'après ingestion de DLT, ce pesticide est distribué avec une concentration importante dans les tissus adipeux et presque 1.6 % de la dose administrée est sécrétée dans le lait (**fishel, 2014**).

La DLT est métabolisée en composés non toxiques DBCA (cis-dibromovinyl-diméthylcyclopropane-carboxylic acid) et 3-PBA (3-phénoxy-benzoic acid) par oxydation, via hydrolyse de la fonction ester et par conversion du groupement cyano en thiocyanate. Les métabolites oxydés sont ensuite sulfo-ou gluco-conjugués, facilitant ainsi leur élimination dans les urines, (**Starretal., 2014**).

Les pyréthrinoïdes de synthèse prennent depuis une vingtaine d'années une place de plus en plus importante sur le marché des insecticides, cette famille regroupe maintenant des

Chapitre I : Synthèse bibliographique

insecticides très actifs qui ne présentent aucun effet cumulatif sur l'environnement et pratiquement aucune action toxique sur les vertébrés supérieurs. La plupart de ces molécules montrent toutefois une toxicité assez élevée pour les animaux à sang froid, notamment les poissons et les bactéries (**Darriet, 1998**)

1.3.2. Toxicité de la déltaméthrine

La Deltaméthrine est répertoriée en classe II par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) et par l'Agence de Protection de l'Environnement (EPA, USA) et dans la liste noire par la Convention de Stockholm (Green Peace) (**Utipeetal., 2013**). Elle est très toxique pour les poissons et les abeilles (**EuroCom, 2002**).

La toxicité de la DLT par voie cutanée est faible ; la DL50 correspondante est supérieure à 800mg/kg chez le rat et supérieure à 2000 mg/kg chez le lapin (**INRS, 2016**).

De plus, l'intoxication aiguë se manifeste chez le rat et la souris par les signes suivants : hypersalivation, diarrhée, dyspnée, faiblesse, défaut de coordination motrice, hypotonie, tremblements, mouvements cholériques, tachycardie, difficultés respiratoires et convulsions cloniques. En outre, les paralysies des muscles respiratoires sont susceptibles de conduire à la mort. La sévérité des symptômes est corrélée à la concentration du pesticide dans le cerveau (**INRS, 2016**). De nombreux travaux ont rapporté l'observation d'une esalivation excessive, secousses cloniques, mouvements involontaires, convulsions toniques et cloniques (**Toumi, 2013**).

1.3.3. Mode d'action de la Deltaméthrine

1.3.3.1. Action sur les canaux ioniques

Le système nerveux est la principale cible des pyréthrinoïdes qui agissent en prolongeant

l'ouverture des canaux sodiques membranaires (**Aissaoui et al., 2013**). La DLT induit des changements de conformation dans la structure alpha et bêta des sous-unités des canaux sodiques et retarde la fermeture de ces canaux, ce qui se traduit par un afflux de sodium et une dépolarisation lente et prolongée (**Shivanooret al., 2016**) Elle est susceptible d'affecter, aussi, les récepteurs GABA, les canaux chlorure et les canaux calciques (**Renet al., 2016**).

Chapitre I : Synthèse bibliographique

1.3.3.2. Action sur la membrane plasmique

Les insecticides peuvent modifier l'intégrité structurale et fonctionnelle de la membrane cellulaire en agissant, notamment, sur les enzymes membranaires, telles que Na⁺/ K⁺ ATPase, Ca²⁺ et Mg²⁺ ATPase. En effet, des travaux antérieurs ont montré lors de l'exposition à la DLT une inhibition de Na⁺/ K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺ ATPase (**Gallelal., 2016 ; Mani et al., 2014**).

1.3.3.3. Action sur les neuromédiateurs

Les pyréthrinoïdes agissent au niveau des synapses cholinergiques en augmentant le fonctionnement de l'acétylcholine estérase, l'enzyme de dégradation de l'acétylcholine. Ce dernier diminue, donc, dans l'espace inter-synaptique ce qui entraîne des troubles dans la mémoire (**Dorothee Batsch, 2011**).

1.3.3.4. Action apoptotique

Des études ont rapporté que la DLT induit la dégénérescence et la mort cellulaire apoptotique dans le cerveau et les neurones corticaux des rats. L'apoptose des cellules nerveuses est médiée aussi par les mitochondries dans le cerveau (**Hasiburet et al., 2014**). En effet, la DLT induit l'apoptose par l'augmentation de l'expression de p53 et Bax (pro-apoptotique), alors que l'expression de Bcl-2 (anti apoptotique) a été significativement réduite, ce qui peut contribuer à l'apoptose dans les neurones corticaux cérébraux (**Kumar, 2015 ; Wu et al., 2015**).

Par ailleurs, cet insecticide est susceptible d'induire un effet apoptotique via l'altération de l'expression de cytochrome-c mitochondriale (**Khalatbary et al., 2015**). Cette enzyme est une petite protéine héminique, impliquée dans l'initiation de l'apoptose. Lorsque le cytochrome-c se lie avec la protéine Apaf-1 en présence d'ATP, la caspase-9 est activée, conduisant à une cascade de maturation des caspases. Une fois la caspase-3 est maturée elle provoque la mort cellulaire (**Yang et al., 2017**).

La DLT active, aussi, la voie de stress du réticulum endoplasmique conduisant à l'initiation de l'apoptose. En effet, le RE joue un rôle dans l'augmentation de la libération de

Chapitre I : Synthèse bibliographique

calcium susceptible d'activer la caspase-12, qui lui même active la caspase-9 et 3, conduisant à l'apoptose (**Hossain *et al.*, 2014**).

1.3.3.5. Action sur le statut Redox

L'induction du stress oxydatif est l'un des principaux mécanismes d'action de nombreux pesticides y compris les pyréthriinoïdes. Lors de l'exposition à la DLT, des espèces réactives d'oxygène (ROS) sont générées et entraînent une oxydation des macromolécules cellulaires.

La peroxydation lipidique entraîne une dégradation des lipides membranaires et des changements dans la structure des protéines et de l'ADN (**Mani et Sadiq, 2014**).

Des études ont démontré que la DLT induit un stress oxydatif dans différents tissus fonctionnels, par l'augmentation du taux de MDA et la diminution simultanée des activités des enzymes antioxydantes, notamment, la SOD, la CYP P450, la CAT, la GPx et la GR (**Shivanoor *et al.*, 2016**).

2. Les biomarqueurs

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

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

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

Les biomarqueurs peuvent être classés en trois catégories :

- **Les biomarqueurs d'exposition**, qui sont généralement caractérisés par leur réponse précoce et leur spécificité de réactions. Ils sont induits par un type spécifique de polluants et, de ce fait, leurs variations sont indicatrices d'une exposition de l'organisme à cette classe de polluants. (**Champeau, 2005**)
- **Les biomarqueurs d'effet** correspondent à une altération biologique qui, en fonction de l'intensité de la réponse, peut être associée à une altération possible de l'état

Chapitre I : Synthèse bibliographique

physiologique de l'individu, comme des effets sur la croissance ou sur le succès reproducteur (**Champeau, 2005**).

- **Les biomarqueurs de sensibilité/susceptibilité** utilisent la mise en évidence de caractères de résistance d'origine génétique des organismes à certains contaminants, comme la synthèse d'enzymes moins sensible ou une augmentation du pouvoir de détoxification (résistance des insectes aux pesticides) (**Champeau, 2005**).

3. Les gastéropodes terrestres *Helixaspersa* comme bioindicateurs

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

De nombreuses études ont démontré que les mollusques gastropodes comme les escargots terrestres *Helixaspersa* sont des bioindicateurs de pollution notamment des métaux, des pesticides et des HAPs (**Belgasem et al.,(2018) et Graraet al.,(2012)**).

Ces consommateurs primaires occupent une place particulière dans l'écosystème à l'interface sol-air-végétation. Ils participent à la décomposition et à la fragmentation de la matière organique et sont impliqués dans de nombreuses chaînes alimentaires, y compris celle menant à l'homme (**Belgacem al., (2018) et Barker,(2004)**).



Chapitre II : **Matériel et** **Méthodes**



Chapitre II: Matériel Et Méthode

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

1. Matériel biologique

Le matériel biologique utilisé dans notre travail est l'escargot: *Helixaspersa* étant donné que ces organismes sont d'excellents modèles biologiques ayant une grande capacité d'accumulation des xénobiotiques (**Bigot, 2009**).

Helixaspersa ou le petit gris, est un escargot appartenant 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 d'où une asymétrie de certains de ses organes (**Bonnet et al., 1990**).

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

Règne	Animalia
Embranchement	Mollusca
Classe	Gastropoda
Ordre	Stylommatophora
Famille	Helicidae
Genre	<i>Helix</i>
Espèce	<i>Asperca</i>
Sous-espèce	<i>Aspersa</i>



Figur 03 : *Helixaspersa* (Gbaiocc, 2009)

Chapitre II: Matériel Et Méthode

Les escargots utilisés dans notre expérimentation sont des escargots jeunes, leurs poids moyen est de (7 g \pm 1).

1.1. Anatomie externe de l'escargot

La coquille est un squelette externe secrétée par la face dorsale et le bord libre du manteau, elle est globoïde, spirale, a un enroulement dextre, son ouverture est évasée, descendante ; son bord externe est appelé : péristome (**Chevalier, 1982**). Le corps de l'escargot est mou, visqueux en raison de la présence du mucus. Il est constitué de trois parties : la tête, le pied et la masse viscérale (**Bonnet *et al.*, 1990**). Sa tête comporte la bouche qui s'ouvre vers le bas et les organes des sens constitués de deux paires de tentacules. Les tentacules inférieures, tactiles, sont dirigés vers le bas, les tentacules supérieures, oculaires, portant un œil simple et un organe olfactif, qui sont dirigés vers le haut (**Bonnet *et al.*, 1990**). Le pied est musculeux, large et plat, il supporte une coquille calcaire formée d'une seule pièce en forme de spirale. Sa face inférieure, en contact avec le sol, forme une sole de reptation, lorsque l'escargot se déplace, elle laisse une trace brillante formée de mucus (**Cadart, 1975**). La masse viscérale dont la plus grande partie est enfermée dans la coquille (**Chevalier, 1982**), contenant presque tous les organes ; elle est richement vascularisée.

Chapitre II: Matériel Et Méthode

1.2. Anatomie interne d'un escargot

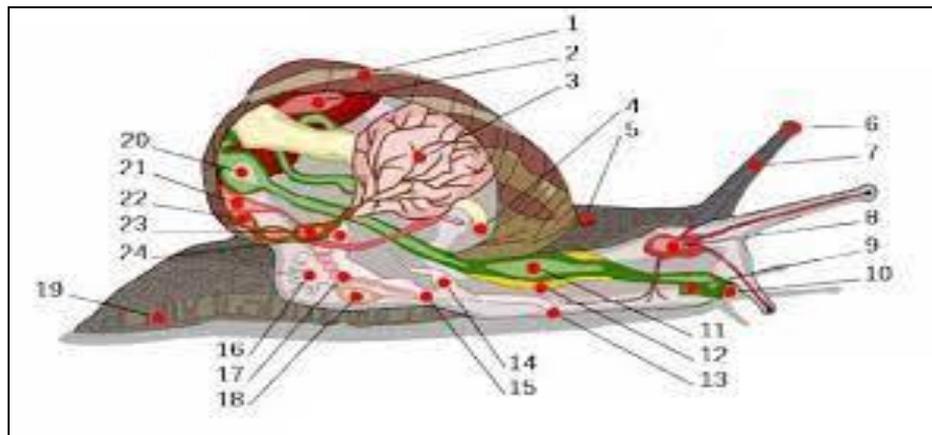


Figure 04: Schéma en coupe de l'anatomie d'un escargot (Quibik; 2007)

1 :coquille ; 2 : foie ; 3 : poumon ; 4 : anus ; 5 : pore respiratoire ; 6 : œil ; 7 : tentacule ; 8 : cerveau ; 9 : conduit salivaire ; 10 : bouche ; 11 : panse ; 12 : glande salivaire ; 13 : orifice génital ; 14 : pénis ; 15 : vagin ; 16 : glande muqueuse ; 17 : oviducte ; 18 : sac de dards ; 19 : pied ; 20 : estomac ; 21 : rein ; 22 :manteau; 23 : cœur ; 24 : canal déférent.

1.3. Rythme d'activité

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

1.4. 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 et de se fixer même verticalement sur certains supports (Pol, 2006).

Chapitre II: Matériel Et Méthode

1.5. Longévité

La durée de vie des escargots varie selon les espèces, 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 (**SmidaetToualbia, 2016**). La mort d'un escargot dans la nature, est souvent due à des prédateurs ou à des parasites (**Zaafour, 2014**).

1.6. 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 qu'ils possèdent 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 et dure de quatre à douze heures. Les escargots échangent réciproquement des 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**).

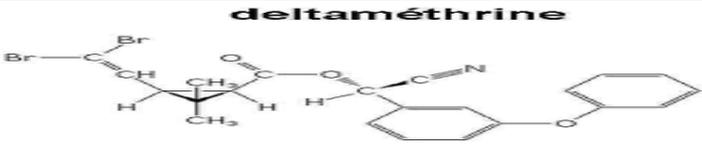
2. Matériel chimique

Le matériel chimique utilisé dans cette expérimentation est une formulation chimique dont la molécule active est la Deltaméthrine : un pyrèthrine de type **II** à large spectre, fortement utilisé en Algérie.

Les caractéristiques physicochimiques de la Deltaméthrine ainsi que sa structure sont représentées dans le tableau suivant :

Chapitre II: Matériel Et Méthode

Tableau 01 : Caractéristiques physico-chimiques et structure moléculaire de la Deltaméthrine (Source : fiche technique)

Nom chimique	R-3-(2.2-dibromovinyl)-2,2 diméthyl-cyclopropane carboxylate de (S)- α -cyano-3-phénoxybenzyle
Structure chimique	 <p>The image shows the chemical structure of deltaméthrine. It consists of a 2,2-dibromovinyl group attached to a 2,2-dimethylcyclopropane ring. This ring is further substituted with a carboxylate group, which is linked to a (S)-α-cyano-3-phenoxybenzyl group. The structure is labeled 'deltaméthrine' above it.</p>
Formule chimique	C ₂₂ H ₁₉ Br ₂ NO ₃
Masse molaire	505,20 g/mole
Point de fusion	90 °C
Solubilité dans l'eau	≤0.0002 mg/l à 25°C
Etat physique	Cristaux blancs
DL50	130 mg/kg chez le rat
DJA	100 à 150µg/kg/j
Effets toxiques	Médiatement toxique (irritation, inflammation, ...)

3. Méthodes

3.1. Condition d'élevage

Les escargots utilisés dans notre expérimentation sont des jeunes d'un poids moyen de 7 g \pm 2, collectés dans la région de Bekkaria -Tébessa.

Les essais sont réalisés dans les conditions suivantes: Photopériodes 18h de lumière / 24h, température 20 \pm 2 ° C.

Les escargots sont répartis dans des boites en plastiques transparentes avec couvercle perforés pour permettre l'oxygénation. Chaque boite contient une éponge mouillée pour maintenir l'humidité. Le nettoyage des boites et le changement de nourriture se fait un jour sur deux. L'alimentation fournie est les feuilles de laitue .

Chapitre II: Matériel Et Méthode

3.2. Mode de traitement

Le traitement des escargots est effectué par addition de concentrations croissantes de Deltaméthrine dans l'alimentation (les feuilles de laitue). Nous avons retenu 3 concentrations et un milieu témoin. Les escargots sont répartis en 4 lots, à raison de 07 escargots / lot (Tableau 02). La durée de traitement est de 21 jours pour les 04 lots.

Tableau 02. Répartition des concentrations croissantes de Deltaméthrine

Lots	Concentration en $\mu\text{g/l}$ d'aliment sec
T	0
1	12.5
2	25
3	37.5



Figure 05 :Préparation des concentrations de deltamethrine

3.3. Dissection et prélèvement de l'hépatopancréas

Après 21 jours d'exposition à l'insecticide, les escargots sont mis à jeun pendant 48 heures pour vider leur tube digestif , puis disséqués.

Après la dissection, l'hépatopancréas de chaque animal est prélevé, pesée divisé en 2 fragments :

Chapitre II: Matériel Et Méthode

- Un échantillon pour le dosage du glutathion (GSH)
- Un échantillon pour le dosage du malondialdéhyde (MDA)



Figure 06: Dissection et prélèvement de l'hépatopancreas

3.4. Paramètres étudiés

3.4.1. Paramètres physiologiques

3.4.1.1. Poids de l'hépatopancreas

Une fois les escargots disséqués, les hépatopancreas sont prélevés et pesés individuellement. Le poids moyen de chaque lot est calculé et comparé à celui du témoin.

3.4.2. Paramètres biochimiques

3.4.2.1. Déterminatin du taux de glutation (GSH)

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

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

Chapitre II: Matériel Et Méthode

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

($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines)

X : Micromole de substrat hydrolysé par mg de protéines ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines).

Δ Do : Différence de la densité optique obtenue après hydrolyse du substrat.

DO : Densité Optique

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

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

13,1 : Coefficient d'absorbance (concernant le groupement $-\text{SH}$ à 412 nm).

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

0,5 : Volume de surnageant utilisé en ml.

Mg de protéine : Quantité de protéines exprimée en mg

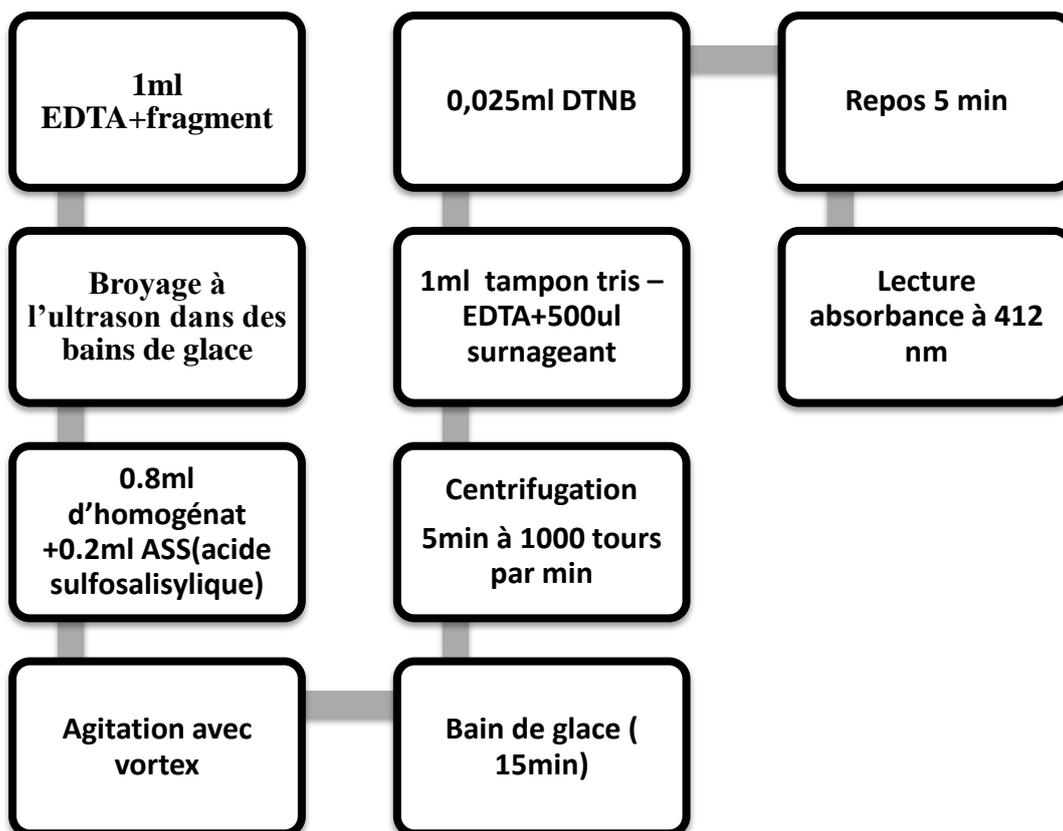


Figure 07 : Dosage du glutathion (Weckberker et Cory. 1988)

3.4.2.2. Dosage du malondialdéhyde (MDA)

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

La concentration en MDA est calculée selon la loi de Beer-Lambert (DO=E.C.L):

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

Chapitre II: Matériel Et Méthode

DO:Densité optique.

ϵ : Coefficient d'extinction molaire du MDA.

L:Longueur du trajet optique: 1 cm.

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

Fd:Facteur de dilution (0,2083).

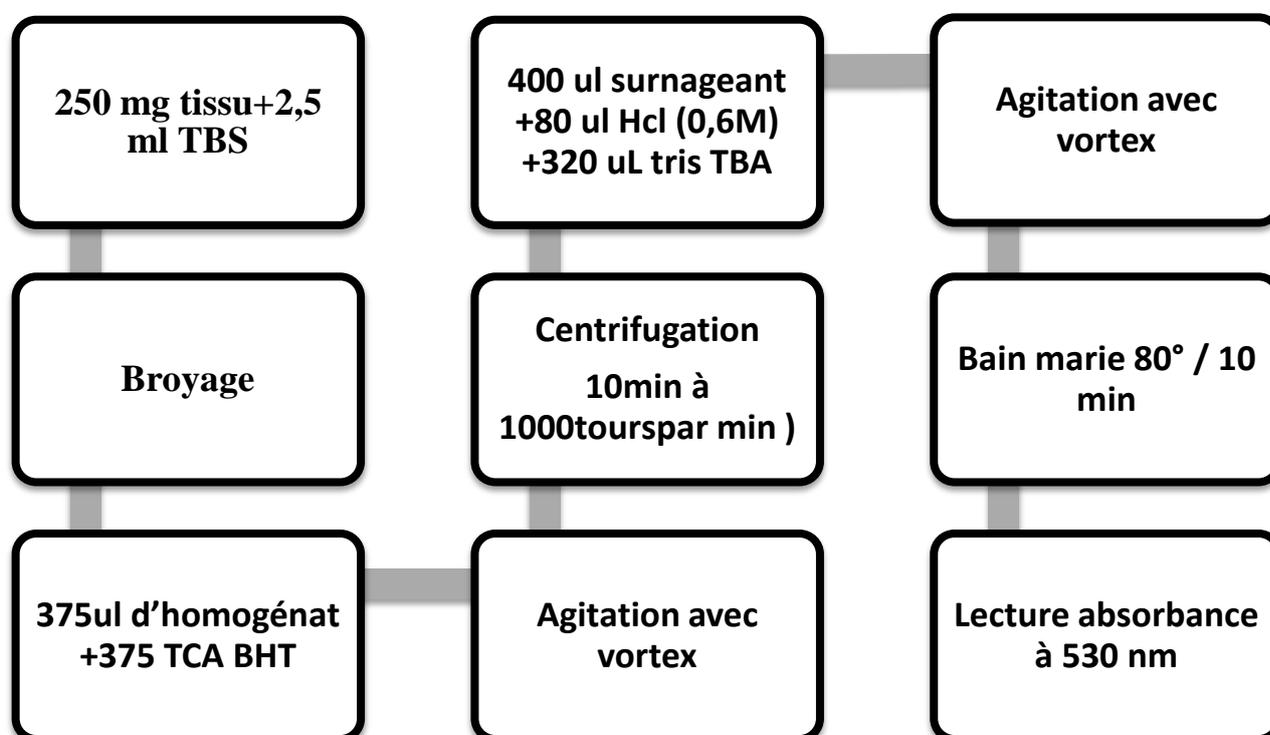


Figure 08 : dosage du MDA

3.4.3. Etude histologique

3.4.3.1. Préparation des échantillons

Les hépatopancreas destinés aux études histologiques subissent une fixation, une inclusion, la coupe, une coloration et enfin un montage avant l'observation microscopique (préparation des coupes histologiques avant la lecture). Ces étapes sont décrites ci-dessous :

Chapitre II: Matériel Et Méthode

➤ Fixation

Après le prélèvement des hépatopancréas, les escargots sont placés à l'intérieur de petits contenants en verre de 50 ml remplis de formol dilué à 10%.

La fixation permet la conservation des structures et le durcissement des pièces. Elle doit impérativement être réalisée après la dissection de l'escargot (séparation du pied et des viscères quand les escargots sont encore vivants), par immersion de l'échantillon dans un grand volume de liquide fixateur, dans notre cas le liquide est le formol (Preece, 1972), compte tenu de leur taille, les échantillons séjournent trois jours dans ce fixateur.



Figure 09 : Fixation de l'hépatopancréas

➤ Inclusion

Cette étape a pour but de permettre la réalisation de coupes fines et régulières. Les échantillons sortis du formol sont rincés plusieurs fois à l'eau déminéralisée. Le milieu d'inclusion utilisé est la paraffine (du fait de son caractère hydrophobe). Les échantillons doivent subir, dans un premier temps, une déshydratation par immersion successives dans des bains d'alcool à degré croissant (30 minutes dans un bain d'alcool à 70°, deux bains successifs de 15 minutes dans de l'alcool à 95° puis trois bains de 30 minutes dans de l'alcool à 100°). Ensuite, l'alcool est remplacé par du toluène (trois bains de 15 minutes chacun) afin d'imprégner les échantillons par le solvant de la paraffine.

Chapitre II: Matériel Et Méthode

Dans un deuxième temps, les échantillons sont placés à l'étuve dans un bain de paraffine liquide (étuve de 56 à 58°C) afin qu'elle les imprègne totalement. Après une nuit, les échantillons sont inclus dans la paraffine à l'aide de moules (barres de Leuckart) : après refroidissement, on obtient des blocs de paraffine durs, à l'intérieur des quels se trouvent les échantillons inclus et orientés selon le plan de coupe choisi.

➤ Coupes

Les coupes des blocs de paraffine, de 6µm d'épaisseur, sont réalisées par un microtome Leitz et sont collées sur des lames en verre grâce à l'eau albumineuse.

➤ Coloration

Comme les colorants sont en solution aqueuse, les lames doivent être déparaffinées avant de pouvoir être réhydratées (coloration à l'hématoxyline-éosine). Le déparaffinage consiste à chauffer les lames, jusqu'à fusion de la paraffine, avant de les immerger dans trois bains successifs de toluène. Ensuite, les lames sont plongées dans des bains d'alcool à degré décroissant (un bain d'alcool à 100°, deux bains d'alcool à 95° puis un bain d'alcool à 70°) puis colorées (Gabe, 1968 ; Martoja et Martoja-Pierson, 1967).

➤ Montage

Après avoir subi une nouvelle déshydratation (deux bains d'alcool à 95°C puis à 100°, trois bains de toluène), les lames colorées sont montées entre lames et lamelles avec une résine synthétique, le baume de Canada. Les lames sont alors prêtes pour être observées au microscope optique.

➤ Observation

L'observation des coupes histologiques de l'hépatopancréas est réalisée avec un microscope (OPTIKA b-190) doté d'une caméra (I phone XR).

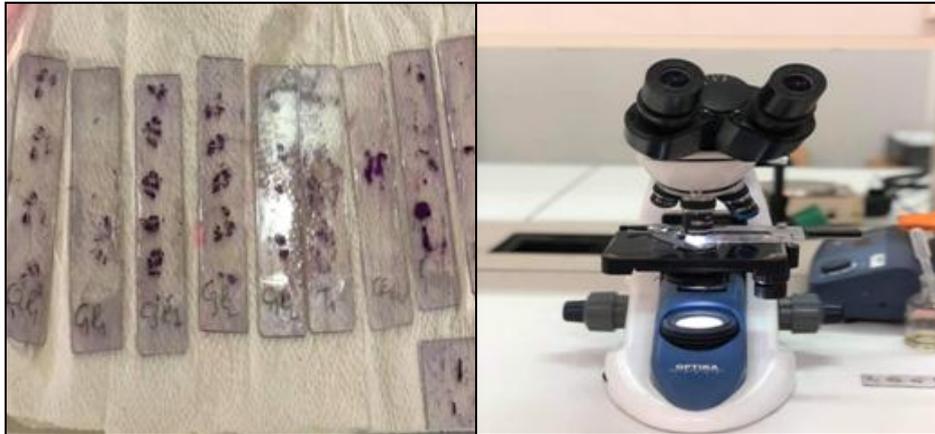


Figure 10 : Observation des lames au microscope optique

3.4.4. Analyse statistique

Les résultats graphiques sont présentés sous forme de moyenne + d'écart type. L'analyse statistique est effectuée en comparant les moyennes de groupe témoin et ceux traités, en utilisant le test de student. Ce test est réalisé à l'aide d'un logiciel d'analyse des données : Mini tab (Version 14.0) (**Dagnelie, 1999**).



Chapitre III : **Résultats**



CHAPITRE III : Résultats

1. Effet du traitement par des concentrations croissantes de Deltaméthrine sur certains paramètres physiologiques chez *Helixaspersa*

1.1. Effet des concentrations croissantes de la Deltaméthrine sur l'évolution du poids moyen de l'hépatopancréas des escargots *Helixaspersa* après 21 jours de traitement

La Figure (09) illustre les variations du poids moyen de l'hépatopancréas des escargots traités par les concentrations croissantes de Deltaméthrine après 21 jours de traitement.

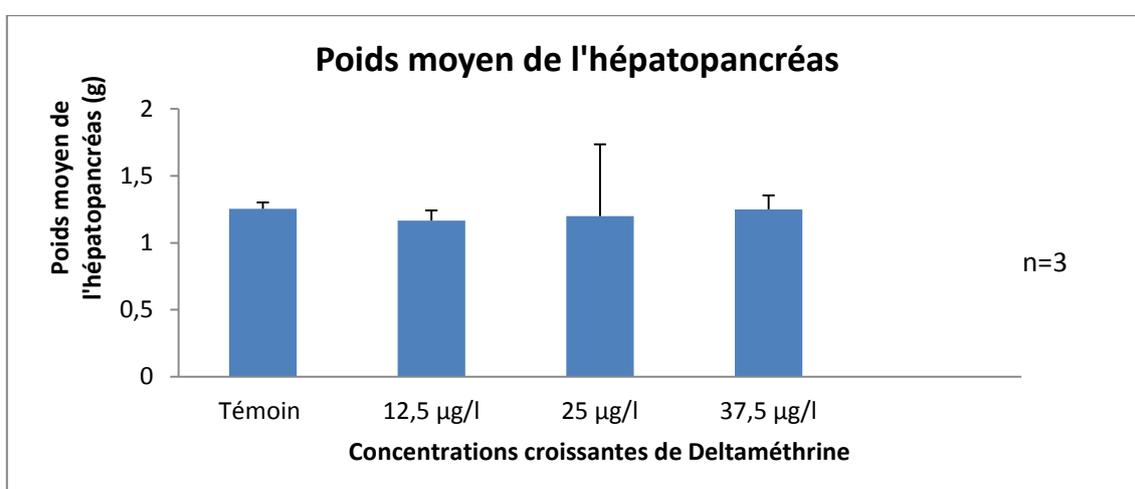


Figure (11) : Evolution du poids moyen des hépatopancréas d'*Helixaspersa* exposés aux concentrations croissantes de Deltaméthrine.

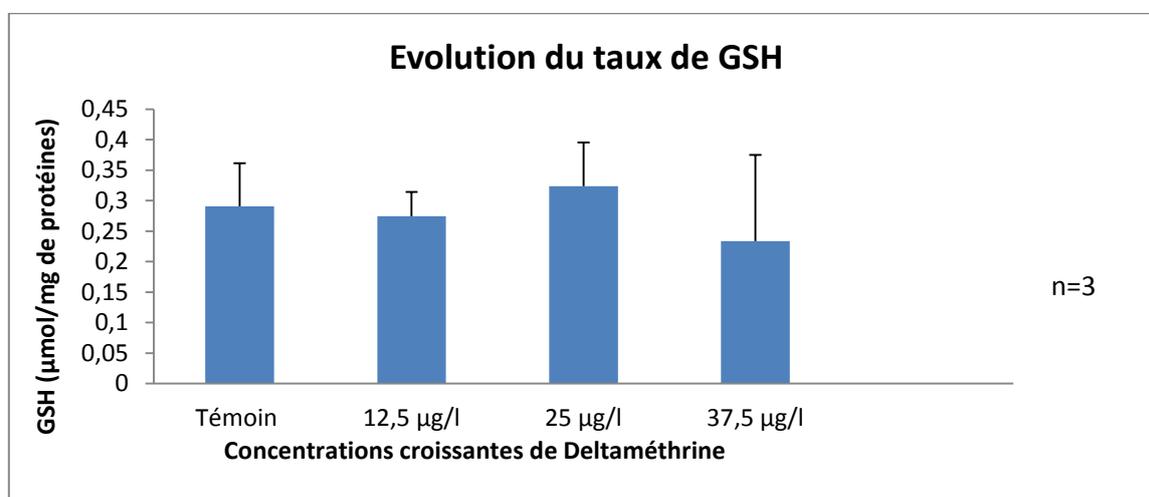
Nos résultats montrent qu'il n'y a pas une différence significative entre le poids moyen des hépatopancréas des escargots témoins et de ceux des escargots traités pour les différentes concentrations, à savoir, 12,5 ; 25 et 37,5 µg/l.

CHAPITRE III : Résultats

2. Effet du traitement par des concentrations croissantes de Deltaméthrine sur certains paramètres biochimiques chez *Helixaspersa*

2.1. Effet des concentrations croissantes de Deltaméthrine sur l'évolution du taux de glutathion (GSH) au niveau de l'hépatopancréas des escargots *Helixaspersa* après 21 jours de traitement

La figure (10) met en évidence l'évolution du taux de GSH en présence des différentes concentrations de Deltaméthrine au niveau de l'hépatopancréas des escargots après 21 jours de traitement.



Figure(12): Evolution du taux du GSH au niveau de l'hépatopancréas d'*Helixaspersa* exposé aux concentrations croissantes de Deltaméthrine

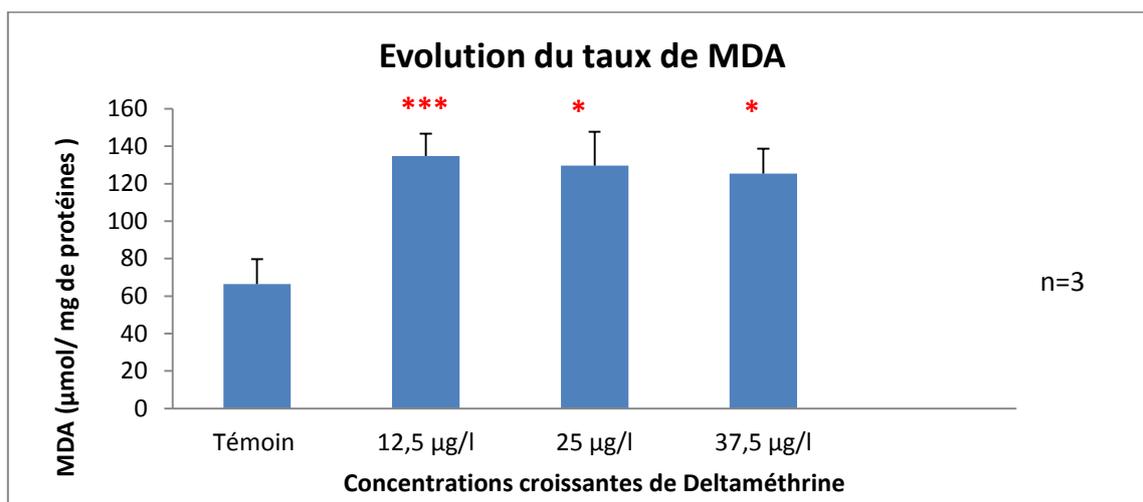
Nos résultats mettent en évidence des fluctuations concernant l'évolution du taux de GSH chez les escargots témoins et ceux traités par les différentes concentrations de l'insecticide. A titre d'exemple, nous notons une diminution dans le taux du GSH chez les animaux traités par la plus forte concentration (37,5 µg/l) et ceux témoins. Cette diminution est d'environ 0,06 µmol/mg de protéine.

L'analyse statistique ne révèle pas de différence significative entre le lot témoin et ceux traités par le xénobiotique.

CHAPITRE III : Résultats

2.2. Effet des concentrations croissantes de Deltaméthrine sur l'évolution du taux de malondialdéhyde (MDA) au niveau de l'hépatopancréas des escargots *Helixaspersa* après 21 jours de traitement

L'évolution du taux de MDA chez les escargots exposés aux concentrations croissantes de Deltaméthrine est indiquée dans la figure (11).



Figure(13):Evolution du taux de MDA au niveau de l'hépatopancréas d'*Helixaspersa* exposé aux concentrations croissantes de Deltaméthrine

Nos résultats illustrent une augmentation très hautement significative ($p \leq 0.001$) chez les escargots traités par la plus faible concentration de deltaméthrine, à savoir 12,5 µg/l par rapport aux témoins. Chez les escargots traités par les deux plus fortes concentrations, à noter, 25 et 37,5 µg/l, cette augmentation est significative ($P \leq 0.05$), toujours comparativement au témoin.

CHAPITRE III : Résultats

3. Etude histologique

La planche (P1), illustre des coupes histologiques effectuées au niveau d'un hépatopancréas sain, alors que la planche (P2) montre les coupes histologiques réalisées chez les escargots témoins et traités par les concentrations croissantes de Deltaméthrine, Ainsi, chez les témoins (P1/ P2.A), l'hépatopancréas est constitué de lobules formés d'un ensemble d'acini homogènes et maintenus par un tissu conjonctif. Ces acini sont constituées de trois types de cellules : les cellules digestives (CD) (les plus abondantes), les cellules excrétrices (CE) et les cellules à calcium (CC) (Zaldibar et *al.*, 2008).

L'étude histologique des hépatopancréas des escargots traités par la concentration 12,5µg/l de Deltaméthrine (P2.B) montre des acini avec un contour irrégulier.

L'observation microscopique des hépatopancréas traités par la concentration 25 µg/l d'insecticide (P2.C) confirme l'aspect hétérogène des acini : En effet, la lumière devient irrégulière. De même, les cellules excrétrices sont plus abondantes. .

Concernant l'examen histologique des hépatopancréas traités par la concentration de 37,5 µg/l (P2.D), nous observons une hypertrophie cellulaire accompagnée d'une dégénérescence ainsi qu'une disparition de la lumière des acini (la membrane basale est complètement dégradée).

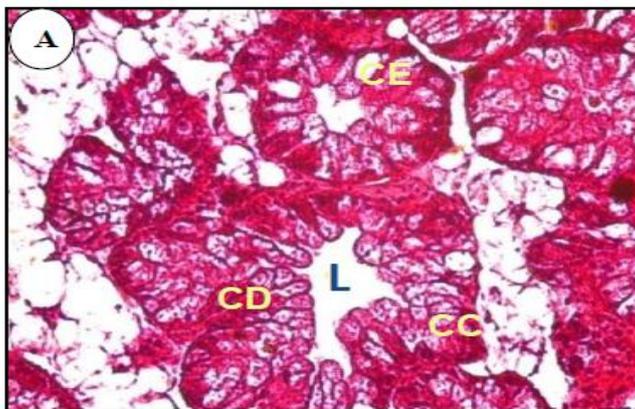


Planche 1. Coupe histologique des escargots témoins (X40) (Atailia, 2017)

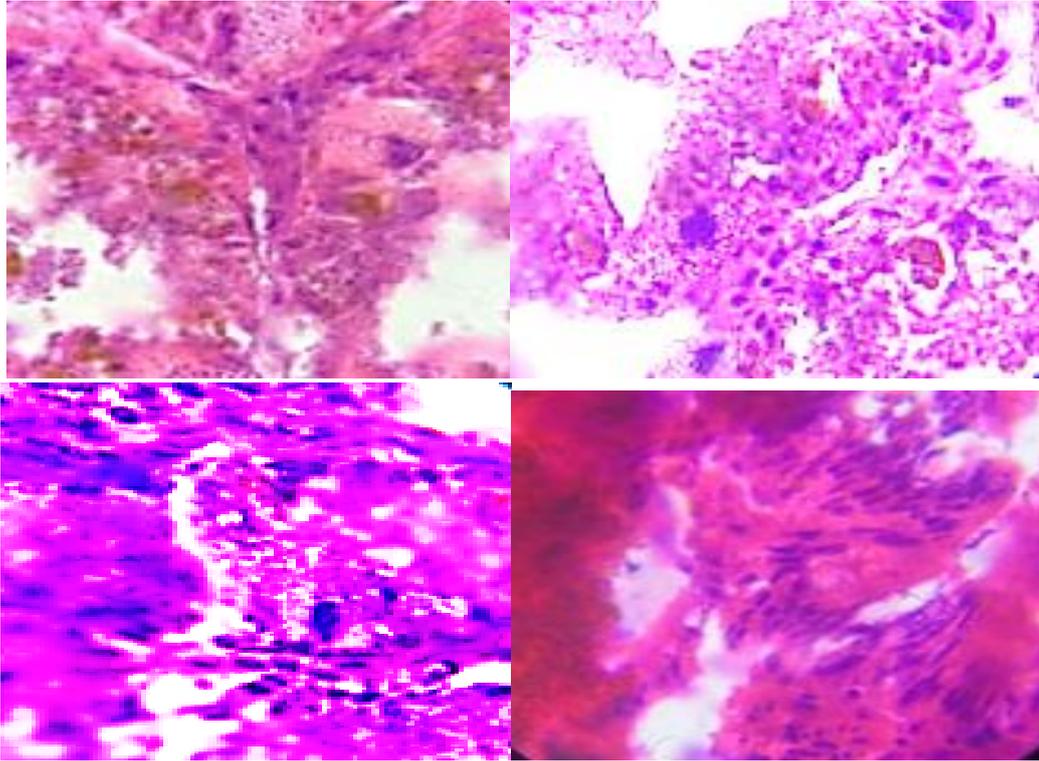


Planche 2. Coupes histologiques des hépatopancréas des escargots témoins et traités par les concentrations croissantes de deltaméthrine (X100)



Discussion IV



DISCUSSION

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

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

Dans un premier temps, nous nous sommes intéressés à l'effet des concentrations croissantes de deltaméthrine sur l'évolution du poids moyen de l'hépatopancréas: siège principal de la métabolisation et de la biotransformation des xénobiotiques, notamment, les pesticides. Nos résultats montrent une perturbation nos significative chez les escargots traités par les trois concentrations, à noter, 12,5 ; 25 et 37,5 µg/l comparativement aux témoins. Ces résultats pourraient être dus à la répulsion de la nourriture :De nombreuses recherches ont mis en évidence le fait que dans un environnement pollué, l'animal se met dans un état de jeun prolongé pour éviter la nourriture contaminée (Belgacem et Charef, 2018; Kahli, 2015; Bourbia- Ait Hamlet, 2013; Grara et al., 2012; Gimbert et al., 2008). Par ailleurs, Gomot (1997),explique que le mécanisme impliqué dans l'inhibition de croissance des escargots nourris avec de la nourriture contaminée est difficile à identifier. Il pourrait s'agir d'une inhibition dans la synthèse d'une hormone de croissance essentielle au développement des escargots et/ou de leurs organes.

L'exposition aux pesticides est l'un des facteurs de risque qui favorise l'augmentation du stress oxydatif en produisant des radicaux libres oxygénés. Ce risque du stress oxydatif est largement accepté comme étant un composant critique de la plupart des voies pathologiques CHABBI et al (2019) et BONNEFONT-ROUSSELOT *et al.*, (1997). En effet, Les ERO peuvent endommager la structure des macromolécules (acides nucléiques, protéines, lipides,

Chapitre IV : DISCUSSION

hydrates de carbone), générer de nouveaux produits oxydants, provoquant, ainsi, une toxicité cellulaire et des mutations génétiques **CHABBI et al., (2019) et MASSART., (2011)**.

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

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

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

Nous nous sommes intéressés, ensuite, à l'évolution du taux de GSH, le thiol non protéique le plus abondant et principal piègeur non enzymatique de radicaux dans les organismes vivants et plus particulièrement chez les cellules animales (**Meister et Anderson, 1983**). Ce tripeptide est présent sous deux formes dans l'organisme : la forme réduite (GSH), majoritaire (90%) représente sa forme active et la forme oxydée (GSSG) (**Meister, 1988**). Dans ce travail, nous avons constaté une diminution significative et de manière dose-

Chapitre IV : DISCUSSION

dépendante chez tout les traités par rapport aux témoins. Cette diminution est probablement due à sa liaison aux radicaux libres produits par l'insecticide dans le but de les neutraliser. Ces résultats sont en accord avec ceux de Ferfar (2012), (**CHABBI et al., (2019)** et **El-Gendyet al., (2009)** qui ont rapporté la déplétion du glutathion chez *Helixaspersa* exposé à différent pesticides comme le méthomyl et le chlorpyrifos. La réduction de la teneur en GSH au niveau de la glande digestive est, également, signalé par Douafer (2015) dans son étude exposant des escargots au thiaméthoxame à des doses de 200 et 400 mg/l pensant 96.

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

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

Nos résultats mettent en évidence une augmentation dose dépendante et hautement significative au niveau de l'hépatopancréas, particulièrement, chez les escargots traités par les deux lus fortes concentrations comparativement aux témoins. Ces résultats vont dans le même sens que ceux de **Boulssane eT Bouazizi,(2017)** . Aussi l'étude de **Benaziza et al., (2016)** montre une augmentation de la concentration de MDA tissulaire chez des rats exposés à de faibles doses de la Deltaméthrine et Bifenthrine.

Le MDA résulte de l'oxydation des acides gras polyinsaturés membranaires et rend compte d'une lyse ou une dégradation de la membrane suite aux attaques radicalaires dans certaines conditions de stress, en particulier avec des contaminants organiques (pesticides) et inorganiques (métaux). En effet, les radicaux libres sont susceptibles d'interagir au niveau des doubles liaisons C=C avec les chaînes d'acides gras polyinsaturés qui constituent le double feuillet phospholipidiques des membranes. Ils entraînent alors la peroxydation des acides gras

Chapitre IV : DISCUSSION

polyinsaturés (**Guetteridge et Halliwell, 1990**) provoquant une désorientation membranaire (perturbation des propriétés physicochimiques des membranes, des communications intercellulaires et du fonctionnement des enzymes membranaires) pouvant aboutir à la lyse cellulaire. Les hydroperoxydes lipidiques formés sont dégradés principalement en malondialdéhyde (MDA), un aldéhyde très réactif vis-à-vis des macromolécules telles que les protéines, l'ARN ou l'ADN. Il peut former des adduits à l'ADN pouvant induire un effet mutagène pour l'organisme, ou se complexer aux acides aminés ou encore au glutathion et 4-hydroxynonéal (4-HNE). Ces composés réagissent de manière covalente avec les protéines et les inactives. C'est pourquoi, ces atteintes membranaires altèrent les systèmes de transfert d'ions comme Ca^{++} ainsi que le fonctionnement de nombreux transporteurs, récepteurs et affectent les voies de transduction des signaux (**Gismondi, 2012**). Le caractère lipophile de l'insecticide utilisé dans notre étude a certainement contribué à sa pénétration dans les cellules perturbant, ainsi, l'orientation des phospholipides et provoquant des changements dans la fluidité membranaire. Par ailleurs, l'augmentation du taux de MDA et la diminution du niveau de GSH observées dans l'hépatopancréas suggèrent que l'augmentation de la peroxydation lipidique peut être une conséquence de l'épuisement de GSH (**Birsan Aydin, 2011**).

Afin d'étayer nos résultats, nous avons effectué une étude histologique afin de mettre en évidence d'éventuelles altérations au niveau du tissu hépatopancréatique : L'organe le plus important dans la détoxification des xénobiotiques chez les mollusques. Il est responsable de la production d'enzymes digestives, l'absorption des nutriments et la digestion par endocytose de substances alimentaires, et de l'excrétion (Owen, 1996).

Nos résultats illustrent des altérations tissulaires de manière dose-dépendante. En effet, nous avons observé une dégénérescence cellulaire, une prolifération des cellules excrétrices et une disparition de la lumière chez les escargots exposés aux différentes concentrations du xénobiotique. Selon Atilia (2017), les xénobiotiques détériorent la dynamique des cellules et endommagent leurs membranes. Il en découle une perturbation de l'échange intercellulaire et la fluidité. En conséquence, la diffusion des contaminants augmente dans les cellules causant ainsi une nécrose cellulaire.

Les pesticides altèrent le processus digestif. De même, la prolifération des cellules excrétrices et les changements dans leur proportion après exposition chronique à des polluants semblent être une réponse générale chez les mollusques (Marigomez et al., (1996,1998)). Plus

Chapitre IV : DISCUSSION

récemment, des études ont permis de révéler la présence d'altérations au niveau du tissu hépato pancréatique chez les escargots exposés aux différents contaminants. On peut, ainsi, citer l'étude de (Boucenna ,2015) menée sur les escargots *Helixaspersa* exposés aux métaux lourds et les travaux de (El-Khaya et *al.*,2015) menés sur des escargots d'eau douce (*Biomphalariaalexandrina*) collectées au niveau d'un lac impacté par divers xénobiotiques. et d'une prolifération des cellules excrétrices.



Conclusion



CONCLUSION

A l'issue de ce travail, nous pouvons conclure que l'exposition d'*Helix aspersa* aux concentrations croissantes de deltaméthrine a induit une hépatotoxicité se traduisant par des perturbations physiologique, biochimique et histologique. En effet, nos résultats illustrent une légère fluctuation dans l'évolution du poids moyen de l'hépatopancréas, une diminution non significative du taux de GSH et une augmentation significative du taux de MDA indiquant la survenue d'une peroxydation lipidique due, certainement, à un stress oxydatif. L'étude histologique révèle, quant à elle, le déclenchement d'une lyse tissulaire.

Afin de mieux comprendre les mécanismes impliqués dans la toxicité du pyréthrianoïde étudié, ces résultats doivent être approfondis en réalisant des études complémentaires comme :

- ✓ Elargir la durée de l'expérimentation.
- ✓ Etudier la toxicité de ce pesticide sur les œufs des escargots et les juvéniles.
- ✓ Etudier le devenir et la toxicité des pesticides et de leurs métabolites dans des microcosmes obéissant aux conditions naturelles d'exposition.



Références Bibliographiques



Références Bibliographiques

A

- ✓ **Aissaoui, Y., Kichna, H., Boughalem, M., Drissi, K.N. (2013).** Une intoxication peut en cacher une autre plus grave. Exemple d'une intoxication fatale à l'éthylène glycol masquée par une intoxication à un insecticide pyréthriné. *Pan African Medical Journal*.

- ✓ **Arora, D., Siddiqui, M. H., Sharma, P. K., & Shukla, Y. (2016).** Deltamethrin induced RIPK3- mediated caspase-independent non-apoptotic cell death in rat primary hepatocytes. *Biochemical and biophysical research communications*, 479(2), 217-223.

- ✓ **Angahar, L.T. (2017).** Investigations of Acute Toxicity and Neurotoxic Effects of Aqueous Extracted Pyrethroid (Deltamethrin) from Insecticide Treated Mosquito Net on *Clarias Gariepinus* and *Heterobranchus Bidorsalis*. *MOJ Biology and Medicine*. 1(4): 00020.

- ✓ **Amamra, R., 2015.** Etude de la toxicité de composés pyréthrinés utilisés en Algérie sur un modèle alternatif : *Paramecium tetraurelia*. Thèse doctorat . Université d'ANNABA. P 134

- ✓ **Amamra, R., 2015.** Etude de la toxicité de composés pyréthrinés utilisés en Algérie sur un modèle *Paramecium tetraurelia*. Thèse doctorat . Université d'ANNABA. P 14-15.

- ✓ **Ait Hamlet Bouriba Y , 2013.** Evaluation de la toxicité de mélanges de pesticides sur un bio-indicateur de la pollution des sols *Helix aspersa* . Mémoire de doctorat, Université Badjir Mokhtar. Annaba. 177 pages.

B

- ✓ **Baldi I., Cordier S., Coumoul X. and Elbaz A. 2012.** Pesticides, effets sur la santé. Exprtise collective Inserm, 8-12.

- ✓ **Ban D., Sladonja B., Luki M., Luki I., Lušeti V., Ganic K.K. and Žnidar D. 2010.**Comparison of pyrethrins extraction method sefficiencies. African Journal of Biotechnology, 9 (18) :2702-2708.

- ✓ **Bavoux C., Bonnard N., Jargot D., Pillière F. and Serre P. 2007.** Deltaméthrine. Institut National de Recherche et de sécurité, FT 193

- ✓ **Bavoux C., Bonnard N., Jargot D., Pillière F. and Serre P. 2007.** Deltaméthrine. Institut National de Recherche et de sécurité, FT 193.

- ✓ **BOUKHALLOUT, F., & TOUATI, K. (2016).**Nantoxicité de Séléniure de Cadmium (NPs) sur les paramètres de stress oxydatif d'un modèle cellulaire biologique alternatif *Helix aspersa*. Mémoire De Master en Toxicologie, Xénobiotiques et Risque Toxicologique, Université de Larbi Tébessi –Tébessa ,96p.

- ✓ **Barker G.M.,(2004).**Natural enemies of terrestrial mollusks.Wallingford.UK ,CABI publishing.p644

- ✓ **Bonnet,J .C. and Vrillon, J.L., 1990.** L'escargot *Hélix aspersa* biologie-élevage .Edition INRA,14-15

- ✓ **Belgacem O, et Charef M, 2018.** Evaluation du stress oxydatif généré les nanoparticules chez *heixaspersa* : cas du dioxyde de titane. Mémoire de master. Université de Tebess. Page 41.

- ✓ **Benbouzid H, Berrebbah H, Berredjem M, Djebar M.R, 2012.**Toxic effects of phosphoramides on paramecium sp. With special emphasis on respire tory metabolism, growth, and generation time. Toxicol. Environ. Chem. 94(3) : (557-565).

C

- ✓ **Cao Z., Cui Y., Nguyen M. H., Jenkins P.D., Wulff H. and Pessah N.I. 2014.** Nanomolar Bifenthrin Alters Synchronous Ca^{2+} Oscillations and cortical Neuron Development Independent of Sodium Channel Activity. *Molecular Pharmacology*, 85:630–639.
- ✓ **Champeau Olivier ., 2005 .** biomarqueurs d'effets chez *C. fluminea* : du développement en laboratoire à l'application en mesocosme. Thèse de doctorat .université de bordeaux 1.P281.
- ✓ **CUEV ALI ER I I. (1 992).** L'élevage des escargots : production et préparation du « Petitgris ». Ed. du point vétérinaire. 144 page7

D

- ✓ **Darriet F, (2007) .** Moustiquaires imprégnées et résistance des moustiques aux insecticides Ed, Institut De Recherche Pour le Développement(IRD). 117p.
- ✓ **Dorothee, B. (2011).** L'impact Des Pesticides Sur La Santé Humaine. Universite Henri Poincare
- ✓ **Ding, Y., White, C. A., Muralidhara, S., Bruckner, J. V., & Bartlett, M. G. (2004).** Determination of deltamethrin and its metabolite 3-phenoxybenzoic acid in male rat plasma by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B*, 810(2), 221-227.
- ✓ **Dorothee, B. (2011).** L'impact Des Pesticides Sur La Santé Humaine. Universite Henri Poincare.
- ✓ **DOUAFER, L. (2015).** Réponses in situ et en laboratoire de deux espèces communes de gastéropodes (*Helix aspersa* et *Helix aperta*) à une contamination des agrosystèmes par un insecticide néonicotinoïde (Actara) : activité de l'AcChE et stress oxydatif. Thèse de Doctorat en Biologie et Physiologie Animale, Université Badji-Mokhtar-Annaba, 162p.

Bibliographie

- ✓ **DJADOURI, D., & BEN DAHRA, I. (2014).** Effets potentiels antioxydant et anti Inflammatoire de l'homogénat d'*Helix aspersa* dans un modèle expérimental de colite chimio-induite Diplôme de Master en Immuno-oncologie, Université de Constantine I, 126p.
- ✓ **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.
- ✓ **Daguzan.J., Bonnet. J.C, Perrin Y., Perrin. E., et Rouet. H.** Contribution à l'élevage del'escargot Petit-Gris en bâtiment et en conditions the rmohygométriques contrôlées.

E

- ✓ **El-Maghraby, S. (2007).** Metabolism Of Deltamethrin In Rats. Biomedical and Environmental Sciences. 20, 212-216.
- ✓ **Fishel M.F. 2014. Pesticide Toxicity Profile: Synthetic Pyrethroid Pesticides.** IFAS Extension UNIVERSITY of FLORIDA, PI-54.

F

- ✓ **Fishel M.F. 2014. Pesticide Toxicity Profile: Synthetic Pyrethroid Pesticides.** IFAS Extension UNIVERSITY of FLORIDA, PI-54.

G

- ✓ **Gauthier, E., Fortier, I., Courchesne, F., Pepin, P., Mortimer, J., Gauvreau, D. (2010).** Environmental Pesticide Exposure as a Risk Factor for Alzheimer's Disease: A Case Control Study. Environnementale Reseach, 86:37-45.
- ✓ **Grimfeld, Bard, D., Bourrelier, P.H. (2002).** Risques sanitaires liés à l'utilisation des produits phytosanitaires. Comité de la Prévention et de la Protection. 47p.

Bibliographie

- ✓ **Gallel, M.K., Khalaf, A.A.A, Ogaly, H.A, Ibrahim, M.A. (2014).** Vitamin E attenuates neurotoxicity induced by deltamethrine in rats. *BMC Complementary and alternative medicine*, 14(1), 458.

- ✓ **Guelorget et Perthuisot, 1984.** Indicateurs biologiques et diagnose écologique dans le domaine paralique. *Bulletin d'écologie* .15(1),67-76

- ✓ **Grara N.,Boucenna M ., Atailia A .,Berrebah H ., Djebbar M.R., 2012 .** Stress oxydatif des poussières métalliques du complexe sidérurgique d'Annaba (Nord – Est algérien) chez l'escargot *Helix aspersa*. *Environnement , risque & santé* . 11(3) : 221 - 229

- ✓ **Gauthier, E., Fortier, I., Courchesne, F., Pepin, P., Mortimer, J., Gauvreau, D. (2010).** Environmental Pesticide Exposure as a Risk Factor for Alzheimer's Disease: A Case Control Study. *Environnementale Reseach*, 86:37-45.

- ✓ **Gomot A., & Gomot L., 1995.** Neurohormonal control of body and shell growth of the snail *Helix*. *Bull. Inst. Océa. Monaco*, 14, 141-194.

- ✓ **Gismondi E, 2012.** Etude des systems de defenses antitoxiques chez l'amphipode *gammarus peseli*: effets du parasitisme et d'une exposition au cadmium. Thèse de doctorat. Université de Lorraine.

- ✓ **Gomot A, 1997.** Effets des métaux lourds sur le développement des escargots. Utilisation des escargots comme bio-indicateurs de pollution par les métaux lourds pour la préservation de la santé de l'homme. *Bull. Acad. Natl. Med*, 181, 59-75.

- ✓ **Gomot A, & Gomot L, 1995.** Neurohormonal control of body and shell growth of the snail *helix*. *Bull. Inst. Océa; Monaco*, 14, 141-149.

H

- ✓ **Hossain M. M., Suzuki T., Jason R., Richardson R. J. and Kobayashi H. 2014.** Acute Effects of Pyrethroids on Serotonin Release in the Striatum of Awake Rats: An In Vivo Microdialysis Study. *Biochem Mol Toxicol*, 27(2): 150–156.

Bibliographie

- ✓ **Hayden, K.M., Norton, M.C., Darcey, D., Ostbye, T., Zandi, P.P., Breitner, J.C., WelshBohmer, K.A. (2010).** Occupational exposure to pesticides increases the risk of incident AD - The Cache County Study. *Neurology*, 74:1524-1530.
- ✓ **Hasibur, R., Al Thbiani, A., Shalini, S., Zahid, K.A., Anand, M., Abid, A.A. (2014).** Systematic review on pyrethroid toxicity with special reference to deltamethrin. *Journal of Entomology and Zoology Studies*; 2 (6): 60-70

I

- ✓ **Itiziou A, Kaloyianni M, Dimtridis V.K. 2011.** effects of organic contaminants in reactive oxygen species, protein carbonylation and DNA damage on digestive gland and haemolymph of land snails. *Chemosphere* 85. 1101-1107 .Doi: 10.1016/j.chemosphere.07.043.
- ✓ **Iwanicka N.B. and Borzecki A. 2015.** Subcutaneous poisoning of mice with Deltaméthrin produces memory impairment, reduced locomotor activity, liver damage and changes in blood morphology in the mechanism of oxidative stress. *Pharmacological reports*, 67:535-541.

K

- ✓ **Kalyanaraman B, Karoui H, Singh R.J et Felix C.C. 1996.** Detection of thiyl radical adducts formed during hydroxyl radical- and peroxynitrites-mediated oxidation of thiols – A high resolution ESR spin-trapping study at q-band (35 GHz). *Analytical Biochemistry*, 241,75-81.
- ✓ **Key P.B., Wirth E.F., FULTON m.h., 2006** A review of grass shrimp, *Palaemonetes* sp., as a bioindicator of anthropogenic impacts. *environ . bioindic*, 1,115-128.7
- ✓ **Kumar, A., Sasmal, D., Sharma, N. (2015).** An Insight Into Deltamethrin Induced Apoptotic Calcium, P53 And Oxidative Stress Signaling Pathways. *Toxicology and Environmental Health Science*, 7, 25-34.

Bibliographie

- ✓ **Khalatbary, A.R., Ghaffari, E., Negad, M.B. (2015).** Protective Role Of Oleuropein Against Acute Deltaethrin-Induced Neurotoxicity In Rat Brain. Iranian Biomedical Journal, 19(4), 247.

L

- ✓ **Louise H, 2016.** Impacts des insecticides pyréthrinoïdes sur la santé humaine et environnementale et Compte rendu sur les pesticides dans l'eau souterraine. Institut National de la Recherche Scientifique, 10-11.
- ✓ **Luperchio S, Tamir, S et Tannenbaum, S.R. 1996.** No-induced oxidative stress and glutathione metabolism in rodent and human cells. Free Radical Biology and Medicine, 21, 513-519.

M

- ✓ **Mani, V., M., Sadiq, A.M.M. (2014).** Naringin modulates the impairment of memory, anxiety, locomotor, and emotionality behavior in rats exposed to deltamethrin; a possible mechanism association with oxidative stress, acetylcholinesterase and ATPase. Biomedicine and Preventive Nutrition, 4 (4), 527-533.
- ✓ **Mtthew, 2018.** Pyrethrins are extracted from Chrysanthemum cineraria efolium. Credits: Blake Layton, Mississippi State University.
- ✓ **Meister A, Anderson M F. 1983.** Glutathion annual review of biochemistry. 1983 ; (52)711-760.

N

- ✓ **Nadia, Amina et Toufaha (2016).** Effet neurotoxique chronique des pyréthrinoïdes chez le rat. Université Mohammed Seddik Ben Yahia – Jijel.

O

- ✓ **Ojha A, Yaduvanshi S K ,Sivastava. 2011.** Effect of combine dexposure of commonly used organophosphate pesticide on lipid peroxidation and anitioxidant enzymes in rat tissues; Pesticide Biochemistr and Physiology. (99). 148-156.

Q

- ✓ **Quiniou. 2007.** Marine water quality assesement using transplanted oyte rlarveen ivironmental international. 2007; (33): 27-33.

R

- ✓ **Refaie E.A.A., Ramadan A. and Mossa H.A. 2014.** Oxidative damage and nephrotoxicity induced by prallethrin in rat and the protective effect of Origanummajoranaessential oil. Asian Pac J Trop Med, 7(1): 506-513.
- ✓ **Rehman H., Aziz A., Saggi S., Abbas K.Z., Mohan A. and Ansari A.A. 2014.**Systematicreview on pyrethroid toxicity with special reference to deltamethrin. Journal of Entomology and Zoology Studies, 2 (6): 60-70.
- ✓ **Ren, Q., Zhang, T., Li, S., Ren, Z., Yang, M., Pan, H., Chon, T.S. (2016).**Integrative Characterization of toxic Response of Zebra Fish (Daniorerio) to Deltamethrin Based on AChE activity and behavior strength. Biology Medecinal research international.
- ✓ **Rodríguez J L. 2016.**Effects of exposure to pyrethroid cyfluthrin on serotonin and dopamine levels in brainregions of male rats. Environmental Research 146 388– 394, 7.

S

- ✓ **Scollon J.E., Starr M.J., Crofton M.K., Wolansky J.M., DeVito J.M. and Michael F. 2015.**Correlation of tissue concentrations of the pyrethroid bifenthr in with neurotoxicity in the rat. Toxicology, 28; 290(1): 1–6.

Bibliographie

- ✓ **Shen, P., Hsieh, T. H., Yue, Y., Sun, Q., Clark, J. M., & Park, Y. (2017).** Deltamethrin increases the fat accumulation in 3T3-L1 adipocytes and *Caenorhabditis elegans*. *Food and Chemical Toxicology*, 101, 149-156.

- ✓ **Starr M.J., Grahamb E.S., Ross G.D., Tornero-Velez R., Scollon J.E., De Vitoc J.M., Crofton M.K., Wolanskyc J.M. and Hughes F.M. 2014.** Environmentally relevant mixing ratios in cumulative assessments: A study of the kinetics of pyrethroids and their ester cleavage metabolites in blood and brain; and the effect of a pyrethroid mixture on the motoractivity of rats. *Toxicology*, 320 (2014) 15–24.

- ✓ **Shivanoor, S.M., David, M. (2016).** Reversal of deltamethrin-induced oxidative damage in rat neural tissues by tumeric-diet: Fourier transform-infrared and biochemical investigation. *The journal of Basic and Zoology*, 77, 56-68.

- ✓ **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.

- ✓ **SMIDA, R., & TOUALBIA, K. (2016).** L'étude de l'hépatotoxicité de deux molécules Nanométriques Chez Un Bioindicateur De Pollution Helix Aspersa. Mémoire De Master en Toxicologie : Xénobiotiques et Risque Toxicologique, Université de Larbi Tébessi – Tébessa, 100 p.

V

- ✓ **Vandelac L. and Bacon M.H. 1999.** Perturbateurs endocriniens et polluants organiques persistants: inquiétante érosion de la santé, de la fertilité et de la capacité intellectuelle. *Ruptures, revue transdisciplinaire en santé*, 6(2): 237-267.

- ✓ **Velamuri B, Mariadoss S, Elif C, Erhan U, 2007.** The effects of fenvalerate on different tissues of freshwater fish *Cirrhinus mrigala*. *Journal of Environmental Sciences, Part B*(42).

W

- ✓ **Wahiba e Nour E.H ,(2017).** Effets neurotoxiques des pyréthrinoides sur les animaux de laboratoire. Université Mohammed-Seddik Benyahia-Jijel.

X

- ✓ **Xing I, HohijimaK, Grunwald DJ, Fujimoto E, Quist TS, Sennon J, et al., (2012).** Zebra fish forx zinc finger nuclease Mutant Has Normal Axon Pathfing. PLoS One 7(8) : e43968.<http://doi.Org/10.1372/journal.pone.0043968>

Y

- ✓ **Yang, Y., Zong, M., X.U, W., Zhang, Y., Wang, B., Yang, M., Teo, L. (2017).**Natural Pyrethrins Induces Apoptosis In Human Hepatocyte Cells ViaBax Ana Bcl-2 Mediated Mitochondrial Pathway. Chemico-Biological Interactions, 262, 38-45
- ✓ **Ye Yang, Ma H, Zhou J, Lin J, Lui W. 2014.** Joint toxicity of permethrin and cypermethrinetsublethal concentration of the embryo-larval Zebrafish. Chemosphere 96, 146-154.

Z

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

