

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحيى - جيجل

Université Med-Seddik Benyahia- Jijel

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département des sciences de l'environnement  
et des sciences agronomiques



كلية علوم الطبيعة و الحياة  
قسم علوم المحيط و العلوم الفلاحية

## Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme : **Master Académique**

**Filière** : Sciences Biologiques

**Option** : Toxicologie Fondamentale et Appliquée

### Thème

**Effet toxicologique d'un insecticide organophosphoré à  
base de Chlorpyrifos sur l'escargot : *Hélix aspersa***

#### Jury de soutenance :

**Président:** Dr Rouibah M

**Examinatrice:** Dr Boulassel A

**Encadreur:** Dr Zouaghi M F

#### Présenté par :

- BOUDEBAZ Halima
- BOUZEKOUK Rima

Session : juillet 2018

Numéro d'ordre (réserve à la bibliothèque) :

## *Remerciements*

Avant tout, On remercie Dieu qui nous a donné la patience et la force pour atteindre nos buts.

Nos sincères remerciements vont à notre encadreur: **Mr Zouaghi M F**, Docteur à l'université de Jijel, nous le remercions également pour sa disponibilité, son aide, ses conseils et ses orientations tout au long de cette recherche, qu'il trouve ici toutes nos gratitude.

Notre respect et reconnaissance sont adressés à **Mr Rouibah M**, Docteur à l'université de Jijel, qui nous fait l'honneur de présider le jury de soutenance.

Nous tenons à remercier **Mme Boulassel A**, Docteur à l'université de Jijel d'avoir accepté d'examiner notre travail, nous vous adressons notre gratitude.

Nous tenons également à remercier **Mr Cheraitia H**, Docteur à l'université de Jijel pour sa patience et sa contribution à la réalisation de la partie d'analyse statistique.

Il met est aussi agréable de remercier vivement **Mme Boudebaz K**, Docteur à l'université de Jijel de nous avoir conseillé, encouragé et d'aider au long de ce travail.

Nous tenons également à remercier **Mr Mayache B**, Professeur à l'université de Jijel, pour son soutien, ses orientations et ses conseils au cours de notre recherche.

Nous adressons nos vifs remerciements aux ingénieurs de Laboratoire de Biologie d'université de Jijel (**Houriya, samira, Iness, et nassiha**) pour la gentillesse et conviviale, pour l'aide qu'ils nous ont apportée tout le long de la préparation de ce travail.

A tous ceux et celles qui ont participé de près ou de loin à l'élaboration de ce travail, qu'ils trouvent ici nos hautes considérations.

## *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail :*

*A ma très chère MAMA, pour sa sacrifice, son amour, sa tendresse, son soutien  
tout au long de mes études.*

*A mon très cher PAPA, Sans il rien n'aurait pu être fait !*

*A mes adorables sœurs*

*A mes meilleurs amies : Ilhem et Ilhem*

*A ma chère amie, ma chère sœur ma meilleure binôme: Rima*

*Sans oublier mes chers : Hana , Rana et Rami*

*Halima*

## *Dédicace*

*Je dédie ce travail :*

*A Ma chère MAMA pour son sacrifice, son encouragement, ses conseils et son amour et son soutien tout au long de mes études.*

*A Mon adorable PAPA pour ses efforts, son encouragement*

*J'espère que vous soyez fière de moi*

*Je dédie aussi mon marie pour son soutien, sa patience, son compréhension.*

*Mes chères sœurs : Rania, Fatiha et Hayett pour ses encouragements*

*Mes grands-mères et mes grands pères*

*Mes belles sœurs : Amina, Zahra, Aicha pour l'ambiance*

*Mes beaux-frères : Samir, Mohamed, Amir et Ayoub*

*Mes beaux-parents pour leurs soutiens et leurs encouragements*

*Mes amis : Ilhem et Ilhem*

*A ma collègue, ma binôme préféré qui m'accompagner 5 ans : Halima*

*Mes adorables princesses : Khadidja et Aya*

*Rima*

# Sommaire

Remerciement	
Décédas	
Table des matières	i
Abréviations	iii
Liste des figures	v
Liste des tableaux	vi
Introduction	1

## Synthèse bibliographique

### Chapitre I: Mise en contexte sur les pesticides

I.1 Définition	3
I.2 Contamination de l'environnement	3
I.3 Réglementation algérienne	5

### Chapitre II: Insecticide organophosphoré

II.1 Définition	6
II.2 Classification	6
II.3 Propriétés physico-chimiques	7
II.4 Mécanisme d'action	7
II.5 Effet toxicologique	7
II.6 Effet éco-toxicologique	8

### Chapitre III: Bio-surveillance de l'environnement

III.1 Bio-surveillance	9
III.2 Escargot, bio-indicateur de contamination	9

## Étude expérimentale

### Chapitre IV: Matériel et méthode

IV.1 Matériel:	11
IV.1.1 Matériel biologique:	11
IV.1.1.1 Morphologie d'escargot <i>Helix aspersa</i>	11
IV.1.1.2 Anatomie	13
IV.1.1.3 Activité d'escargot	13

IV.1.2. Matériel chimique:	14
IV.1.2.1 Présentation de Chlorpyrifos	14
IV.1.2.2 Comportement de Chlorpyrifos	16
IV.1.2.3. Mécanisme de toxicité	17
IV.2 Méthode:	18
IV.2.1 Ramassage des escargots	18
IV.2.2 Conditions d'élevage	18
IV.2.3 Mode de traitement	19
IV.2.4 Dissection et prélèvement d'organes	19
IV.2.5 Paramètres étudiées :	20
IV.2.5.1 Paramètres biométriques	20
IV.2.5.1.1 Poids d'escargot	20
IV.2.5.1.2 Diamètre de la coquille	20
IV.2.5.2 Paramètres biochimiques :	20
IV.2.5.2.1 Dosage des protéines totales	20
IV.2.5.2.2 Dosage des glucides totaux	20
IV.2.5.2.3 Dosage de l'activité Catalase (CTA)	22
IV.2.6 Étude statistique	22
<b>Chapitre V: Résultats et discision</b>	
V.1 Effet de Chlorpyrifos sur les paramètres biométriques	23
V.2 Effet de Chlorpyrifos sur les paramètres biochimiques	25
<b>Conclusion et perspective</b>	31
<b>Référence bibliographique</b>	32
<b>Annexe</b>	I

## **Abréviation :**

AChE	: Acétylcholine estérase
ADN	: Acide désoxyribonucléique
ANSI	: American National Standards Institute
BBC	: Bleu brillant de Commassie
BCF	: Facteur de bioconcentration
BSA	: Albumine de sérum de boeuf
BSI	: British Standards Institution
CAT	: Catalase
CE50	: Concentration efficace médiane (50 %)
CL50	: Concentration létale médiane (50 %)
CPF	: Chlorpyrifos
DETP	: Diethylthiophosphate
DJA	: Dose journalière admissible
DL50	: Dose létale médiane (50 %)
ESA	: European Space Agency
GPx	: Glutathion peroxydase
HO <sup>•</sup>	: Radical hydroxyle
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	: Peroxyde d'hydrogène
ISO	: Organisation internationale de normalisation
JMAF	: Joint Manufacturing Assembly Facility
Koc	: Coefficient de partage (carbone organique/eau)
Kow	: Coefficient de partage (n-octanol/eau)
NOEC	: No Observed Effect Concentration
NOP	: Neurotoxiques de guerre
OMS	: Organisation mondiale de la Santé
OP	: Organophosphorés
O <sub>2</sub> <sup>•-</sup>	: Anion superoxyde
PH	: Potentiel hydrogène
POP	: Pesticides
ROS	: Reactive oxygen species ( Fr : espèces réactives oxygénées)
SOD	: Superoxyde dismutase
TCP	: 3, 5,6-trichloro-2-pyridinol
TCPy	: 3,5,6-trichloro-2-pyridinol
UV	: Rayonnement ultraviolet

## Liste des figures:

<b>Figure 01:</b> Devenir des pesticides dans l'environnement	3
<b>Figure 02:</b> Relations générales entre les propriétés des molécules, les phénomènes correspondant et les processus contentés	4
<b>Figure 03:</b> Structure chimique générale des organophosphorés	6
<b>Figure 04:</b> Contamination des escargots dans le milieu terrestre	10
<b>Figure 05:</b> l'escargot <i>Hélix aspersa</i> dans son milieu naturel	11
<b>Figure 06:</b> Morphologie d'escargot <i>Hélix aspersa</i>	12
<b>Figure 07:</b> Vue externe de la coquille d'escargot <i>Hélix aspersa</i>	12
<b>Figure 08:</b> Anatomie d'escargot Genre <i>Hélix</i>	13
<b>Figure 09:</b> Photographie d'insecticide PYRICAL 5	14
<b>Figure 10:</b> Photographie de site de la collecte	18
<b>Figure 11:</b> Photographie des escargots traités par PYRICAL 5G	18
<b>Figure 12:</b> Photographie de la dissection des escargots	19
<b>Figure 13:</b> Extraction Shibko et al (1966), et dosage des métabolites (protéine ; Bradford (1976) et glucide ; Duchateau & Florkin (1959))	21
<b>Figure 14 :</b> Mesure de l'activité du Catalase	22
<b>Figure 15 :</b> Effets du traitement par le Chlorpyrifos sur les variations de poids d'escargot <i>Hélix aspersa</i>	23
<b>Figure 16 :</b> Effets du traitement par le Chlorpyrifos sur les variations de diamètre de la coquille d'escargot <i>Hélix aspersa</i>	23
<b>Figure 17 :</b> Effets du traitement par le Chlorpyrifos sur les variations du taux de protéines totales au niveau de l'hépatopancréas et du rein d' <i>Hélix aspersa</i> .	25
<b>Figure 18 :</b> Effets du traitement par le Chlorpyrifos sur les variations du taux de glucides totaux au niveau de l'hépatopancréas et du rein d' <i>Hélix aspersa</i> .	27
<b>Figure 19:</b> Effets du traitement par le Chlorpyrifos sur les variations de l'activité enzymatique Catalase au niveau de l'hépatopancréas et du rein d' <i>Hélix aspersa</i> .	29



## **Liste des tableaux:**

<b>Tableau 01:</b> Caractéristiques principales de Chlorpyrifos	14
<b>Tableau 02:</b> Propriétés physico-chimiques de Chlorpyrifos	15
<b>Tableau 03:</b> Identification de danger pour le Chlorpyrifos	15
<b>Tableau 04:</b> Données éco-toxicologique de Chlorpyrifos	16
<b>Tableau 05:</b> Doses de Chlorpyrifos administrées	19

## Introduction



**Introduction:**

La lutte contre les ennemis des cultures à l'aide des pesticides contribue à améliorer la qualité de la production végétale et augmenter la productivité agricole (Calvet, 2005 ; Oecd, 1999).

En Algérie, l'usage des pesticides est trop limité par rapport aux autres pays. Néanmoins une forte application de ces produits dans des cultures maraîchères sous serres (Belhadi *et al.*, 2016).

La découverte de quelques substances insecticides permit aux hommes de mieux lutter contre les nuisibles; ces substances d'origines minérale et végétale constituaient l'ensemble des matières actives utilisées. Les premiers insecticides de synthèse a été mis sur le marché à partir de la deuxième moitié du XX<sup>e</sup> siècle. Les composés organophosphorés sont utilisés dans tous les domaines, que ce soit en agriculture ou en santé publique. Les industries agrochimiques ont intéressé aux propriétés toxiques des organophosphorés, elles ont alors mis sur le marché différents types d'insecticides (Darriet, 1998 ; Lambert *et al.*, 2005). Donc, est ce qu'ils ont une toxicité sur les écosystèmes et parallèlement sur le modèle biologique étudié ? Les escargots sont-ils vraiment des bio-indicateurs de la pollution ?

Des études ont prouvé d'une part que les OP peuvent affecter les organismes non ciblés, ils provoquent une toxicité sur les différentes espèces comme les oligochètes, les invertébrés terrestres et les mollusques gastéropodes due à leur propriété anticholinestérasique. Récemment, des pesticides organophosphorés ont induit des dommages oxydatifs dans les cellules des différents organes (Coourdassier *et al.*, 2001 ; Salama *et al.*, 2005).

D'autre part, l'escargot est un mollusque gastéropode pulmoné. Leur sensibilité aux contaminants courants dans leur environnement a été démontrée (Iso, 2006). Il est considéré comme bio-accumulateurs important des différents polluants de sol, des végétaux et de l'atmosphère dans ces tissus par multiples voies d'expositions (Grara *et al.*, 2015 ; De Vaufleury *et al.*, 2012 ; Zouaghi *et al* 2017).

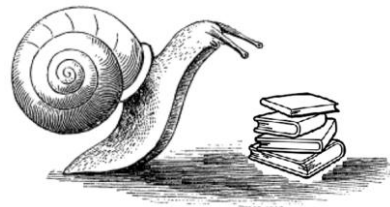
C'est donc, dans ce contexte que nous avons mené notre travail et dont l'objectif général est d'évaluer les effets toxiques de Chlorpyrifos sur une espèce bio-indicatrice de la pollution: l'escargot *Hélix aspersa*; nous avons mis en évidence une étude physiologique qui se base sur les changements de la croissance des escargots et d'autre biochimique au niveau de l'hépatopancréas et le rein qui évalue l'effet sur certains bio-marqueurs; il s'agit de déterminer l'activité enzymatique Catalase (CAT), ainsi que taux des protéines et glucides suite à une exposition au Chlorpyrifos.

Pour traiter ce travail nous avons consacré deux parties :

- La première partie consacrée à une synthèse bibliographique, qui vise à présenter des généralités sur les pesticides et particulièrement les insecticides organophosphorés, ainsi que la bio-surveillance de la qualité de l'environnement par l'utilisation des escargots.
- La deuxième partie illustre la partie expérimentale qui consiste à un travail au laboratoire (expose le matériel et les méthodes utilisées pour les différents dosages), l'ensemble des résultats obtenus avec l'interprétation et une discussion appuyés par des études statistiques.

Enfin, le travail sera clôturé par une conclusion générale et des perspectives.

## **Synthèse bibliographique**



## **Chapitre I**

### **Mise en contexte sur les pesticides**

### I.1 Définition:

Selon la définition de l'OMS « les pesticides sont des produits chimiques utilisés en agriculture pour détruire les ravageurs, les plantes adventices et les agents phytopathogènes. Ces produits peuvent être extraits de végétaux ou obtenus par synthèse. Mais on en utilise également des quantités appréciables en sylviculture et pour l'élevage du bétail. Les formulations de pesticides contiennent, en plus des matières actives, divers adjuvants qui servent de supports, de solvants, ou en améliorent l'absorption, etc.» (OMS, 1991).

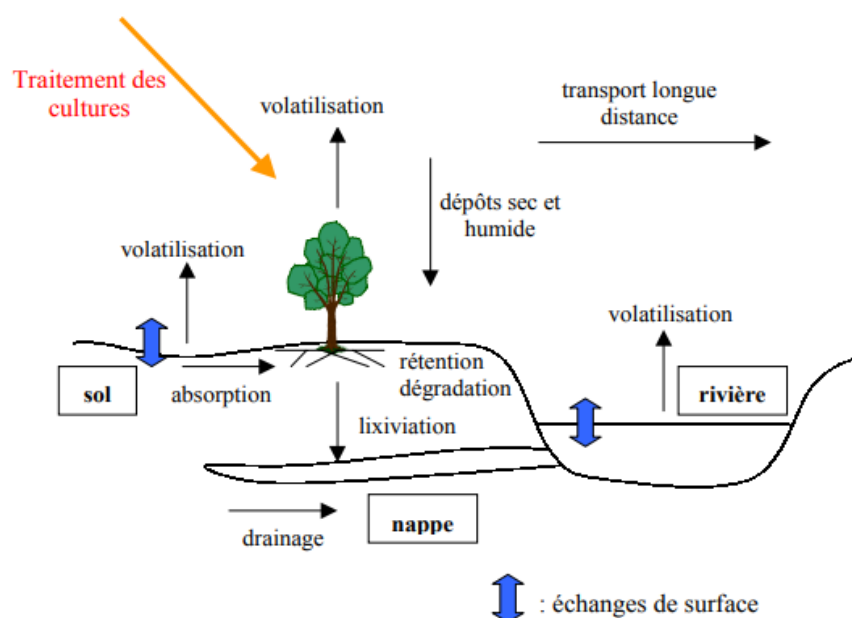
Chaque pesticide cible un organisme vivant, plusieurs catégories sont différenciées dont les principales sont: les insecticides-acaricides, les fongicides et les herbicides (Calvet, 2005).

En fonction de leur toxicité, l'organisation mondiale de la santé distingue entre les pesticides:

- Extrêmement toxique: classe Ia.
- Hautement dangereux: classe Ib.
- Modérément dangereux: classe II.
- Peu dangereux: classe III (Barberis, 1994 ; Baird et Cann, 2016).

### I.2 Contamination de l'environnement:

Quelle que soit le mode d'application des pesticides, une partie de la quantité appliquée atteint la cible visée, le reste du produit a été mise en évidence dans tous les compartiments de la biosphère : air, sol et eau (Figure 01) (Mce, 2003).



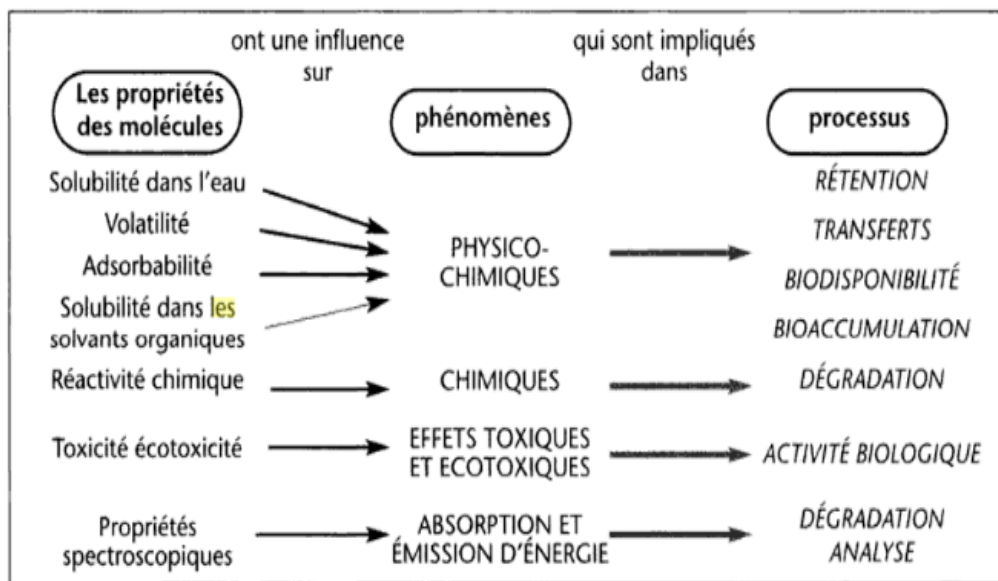
**Figure 01:** Devenir des pesticides dans l'environnement (Marliere, 2000).

- La contamination de l'atmosphère par les pesticides a été provoquée par:
  - Les dérives lors de la pulvérisation au champ.
  - La volatilisation après traitement.
  - L'effet de l'érosion éolienne sur les sols traités (Kafadaroff, 2008).

Si bien que des quantités peuvent retomber sur la surface du sol à travers les dépôts humides ou secs (Melquiot, 2003).

- Dès qu'ils ont atteint leurs cible, la diffusion est assurée par différents modes de transfert (volatilisation, lixiviation-lessivage, ruissellement et absorption par la plante), ils subissent des transformations chimiques et biochimiques (photolyse, hydrolyse...) par l'intervention des micro-organismes de sol (Quae, 2001).
- Les processus naturels (lessivage du sol, ruissellement, dérive des brouillards de dispersion, précipitations contaminées) peuvent être responsable de la contamination des eaux de surface par suite d'une utilisation agricole (Lundberg, 1995).

Le comportement des pesticides dans l'environnement dépend de leurs propriétés et les différents compartiments concernés: le sol, les eaux et l'atmosphère (Figure 02).



**Figure 02:** Relations générales entre les propriétés des molécules, les phénomènes correspondant et les processus concernés (Calvet, 2005).



**I.3 Réglementation algérienne:**

Selon le **décret exécutif n° 95-405 du 9 Rajab 1416 correspondant au 2 décembre 1995 relatif au contrôle des produits phytosanitaires à usage agricole. (JORA N° 75 du 26-12-1995):**

**Art. 18.** - Sans préjudice des dispositions réglementaires en vigueur sur l'entreposage des produits chimiques, les produits phytosanitaires à usage agricole et le matériel d'application, doivent être entreposés dans un local approprié, aéré, ventilé, muni d'artifices de sécurité adéquats et fermant à clef.

L'accès à ces locaux est interdit à toute personne non autorisée.

**Art. 19.** - Les locaux destinés à l'entreposage et à la commercialisation en gros ou en détail des produits phytosanitaires à usage agricole ne doivent, en aucun cas, servir à d'autres utilisations notamment celles liées à la commercialisation en gros et en détail ou à l'entreposage de denrées pour l'alimentation humaine ou animale.

**Art. 20.** - Les produits phytosanitaires à usage agricole "particulièrement dangereux" ne peuvent faire l'objet d'une commercialisation ou d'une utilisation que sur autorisation délivrée, sur demande, par l'autorité phytosanitaire.

**Art. 32.** - L'application d'insecticides ou acaricides est interdite sur toutes cultures et peuplements forestiers visités par les abeilles et insectes pollinisateurs pendant la floraison. Seuls les produits dûment autorisés à être utilisés pendant ce stade peuvent être appliqués.

**Art. 33.** - En application des dispositions de l'article 49 de la loi n° 87-17 du 1er août 1987 susvisée, toute opération de traitement phytosanitaire par voie aérienne, est subordonnée à une autorisation délivrée par l'autorité phytosanitaire.

## **Chapitre II**

### **Insecticides organophosphorés**

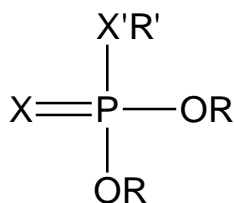
### II.1 Définition:

Les insecticides de synthèse sont des produits issus de la synthèse chimique, destiné à tuer les insectes, par l'empêchement d'éclosion des œufs ou le développement normal des larves. (Collin, 1992 ; Regnault-Roger, 2005). On connaît cinq familles chimiques principales:

- Les organochlorés.
- Les organophosphorés.
- Les carbamates.
- Les pyréthroides.
- Les néonicotinoides (Ramade, 2011).

Dans le contexte des composés organophosphorés; on trouve deux types: les neurotoxiques de guerre (NOP) et les pesticides (POP). Ces derniers sont largement utilisés comme des insecticides depuis 1935 (Buisson *et al.*, 2004).

Les insecticides organophosphorés sont des composés organiques du phosphore, représentés en majorité par des dérivés de l'acide orthophosphorique (Figure 03). Ils ciblent le système nerveux des insectes et des acariens en inhibant le cholinestérase (Levet, 2008 ; Ramad, 2011).



**Figure 03:** Structure chimique générale des organophosphorés (Lambert *et al.*, 2005).

*R et R' représentent des radicaux aliphatiques, X et X' des atomes d'oxygène ou de soufre.*

*Si X et X' sont des atomes d'oxygène: les phosphates.*

*Si X est un atome de soufre et X' est un atome d'oxygène: les thionophosphates.*

*Si X et X' sont des atomes de soufre: les thionothiophosphates.*

### II.2 Classification:

- Chimiquement on distingue trois groupes:
  - Organophosphorés aliphatiques (ex. diclorvos et malathion).
  - Organo-phosphorés phényliques (ex. bromophos et parathion).
  - Hétérocycles (ex. diazinom et phosmet) (Clos, 2012).

- Ils ont été classés aussi selon leur mode d'action sur la plante:
  - **Semi-systémiques** (exothérapeutiques): ce sont des insecticides externes qui restent à la surface du végétal, mais ils pénètrent directement dans l'organisme des insectes.
  - **Vrais systémiques** (endothérapeutiques): ils pénètrent dans les tissus végétaux et transporter par la sève et diffusent à l'intérieur de la plante (Mbondji, 2011 ; Regnault-Roger, 2005).

### II.3 Propriétés physico-chimiques:

Les produits techniques se trouvent sous forme de liquides huileux ou de solides. Ils ont un poids moléculaire faible, une hydrosolubilité élevée dans la majorité des solvants organiques, certains composés sont volatils, très lipophiles. Les OP sont pour la plupart assez instables et subissent une hydrolyse rapide sur le sol et les plantes et une faible persistance dans l'environnement (Testud et Grillet, 2007 ; Lambert *et al.*, 2005).

### II.4 Mécanismes d'action:

Les OP atteignent tous les tissus:

- Les composés les plus liposolubles sont stockés dans les graisses.
- Les thiophosphates (-P= S) sont activés par les cytochromes P450 hépatiques en donnant un métabolite "oxons" (-P = O) pour être anticholinestérasiques.
- L'hydrolyse des molécules-mères et les métabolites actifs, avec formation d'alkylphosphates et de divers dérivés hydrosolubles qui subissent une conjugaison (acide glucuronique, sulfate, glycine) et éliminés par la suite dans les urines et dans les selles (Testud et Grillet, 2007).

### II.5 Effets toxicologique:

Les OP pénètrent dans l'organisme par les voies: digestive, respiratoire, conjonctivale et percutanée; cela entraîne l'apparition des manifestations toxiques (Testud et Grillet, 2007 ; Thabet *et al.*, 2009):

- L'inhibition de l'enzyme acétylcholinestérase qui assure l'hydrolyse de l'acétylcholine (ACh) par les insecticides organophosphorés entraîne une toxicité aiguë (Benslama *et al.*, 2004 ; Testud et Grillet, 2007).
- Accumulation d'ACh au niveau des ganglions génère des troubles métaboliques (hypokaliémie, hyperglycémie et acidose) qui sont en relation avec un hyperadrénergisme par sympathiques et des surrénales.
- Des troubles cardiovasculaires (bradycardie profonde, bloc auriculoventriculaire, extrasystoles et fibrillation ventriculaires, torsades de pointe, collapsus) (Testud et Grillet, 2007).

- Complications neurologiques: le syndrome intermédiaire, la neuropathie tardive et le syndrome extrapyramidal (Thabet *et al.*, 2009).
- Des dommages induits par le stress oxydatif résultent de la surproduction des ROS, ces derniers ciblent l'ADN, les lipides, les protéines et les sucres réducteurs (Bernard, 2009 ; Abou-Donia, 2015).

### II.6. Effets éco-toxicologique:

L'usage des insecticides organophosphorés provoquent des risques sur la faune terrestre et aquatique non cible. D'autre part, l'équilibre de l'écosystème aquatique est menacé par l'application massive de ces insecticides par deux voies:

- Directement: lors du traitement des organismes aquatiques nuisibles.
- Indirectement: par les ruissellements et lessivages des zones agricoles traitées ou lors de pulvérisations aériennes.

Les OP agissent même sur la faune sauvages non cible, l'intoxication des maillons de la chaîne trophique résulte de la contamination alimentaire qui entraîne des perturbations biochimiques, physiologiques et comportementales chez les animaux arrive jusqu'à la mort:

- Ces produits ont des effets sur l'embryogénèse et la morphogénèse à cause d'une perturbation de système endocrinien qui altère le renouvellement des générations.
- La baisse de la réactivité de l'animal (prédation) et la diminution de la recherche alimentaire et inappétence (effet amplificateur) due à une accumulation de la forme libre de l'acétylcholine (Lambert *et al.*, 2005).

Par ailleurs, les populations d'insectes développent une résistance vers ces insecticides qui nécessite à chaque fois d'augmenter la quantité de produits utilisé en provoquant des dommages pour l'environnement (Haubruge et Amichot, 1998).

## **Chapitre III**

### **Bio-surveillance de l'environnement**

### III.1 Bio-surveillance:

Pour évaluer la pollution dans les différents compartiments de l'environnement et prédire les risques potentiels sur les cibles de façon scientifique, l'emploi des différents espèces animales et végétales comme bio-indicateurs a été développé (Cemagref, 2011 ; Regnault-Roger, 2005). La bio-surveillance comprend 4 concepts:

- **Bio-indicateur:**

Se situe au niveau individuel, on définit un bio-indicateur comme un organisme ou un ensemble d'organismes utilisés pour apprécier une modification des variables biochimiques, cytologiques, physiologiques, éthologiques ou écologiques et permet d'une façon pratique la caractérisation de l'état d'un écosystème (Académie des sciences, 2010 ; Genin *et al.*, 2003).

- **Bio-marqueur:**

Se situe au niveau infra-individuel, c à d les changements biochimiques, cellulaires, physiologiques ou comportementales qui peuvent être évalué dans des tissus ou des fluides corporels ou au niveau de l'organisme entier et qui confirment l'exposition présente ou passée d'un individu à un contaminant chimique environnemental (Amiard et Amiard-Triquet, 2008 ; Merot, 2006).

- **Bio-intégrateurs:**

Se situe au niveau individuel populationnel et/ou communautaire: toute disparition ou apparition d'une espèce, la variation densitaire, la modification de l'abondance relative d'une espèce ou de la structure des peuplements végétaux d'un écosystème (Hervé et Laurent, 2012 ; Target, 2005).

- **Bioaccumulation:**

Selon Ramade (1993); la bioaccumulation est un phénomène par lequel une substance, présente dans un biotope, s'accumule en surface et/ou pénètre dans un organisme même si elle n'a aucun rôle métabolique, voire même si elle est toxique à ce dernier.

### III.2 Escargot, bio-indicateur de contamination :

Les escargots sont des macro-invertébrés, considérés comme l'un des maillons de la chaîne trophique, peuvent donc être à l'origine de transferts des contaminants (De Vaufleury *et al.*, 2012 ; Grara *et al.*, 2015).

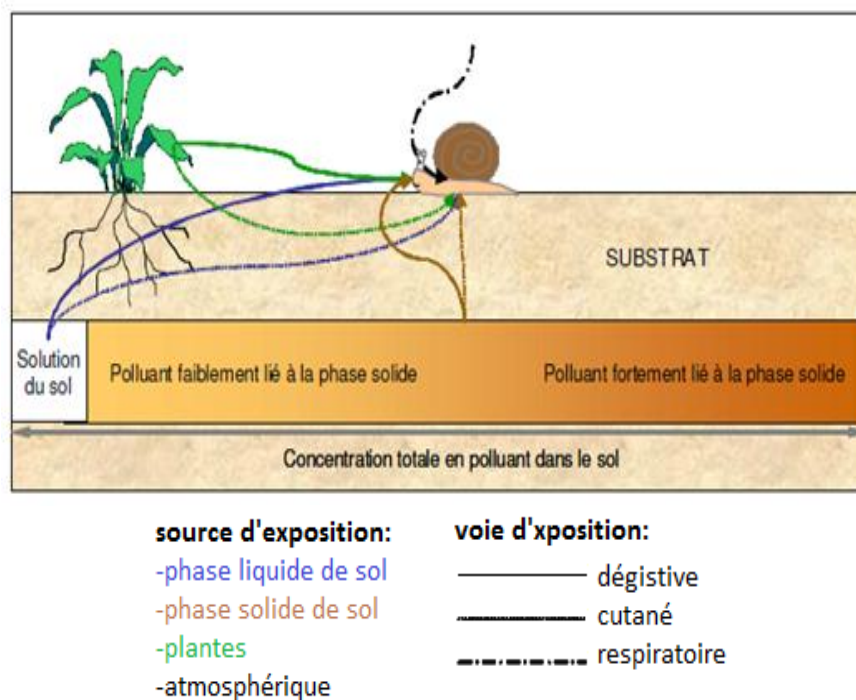
Ils répondent entièrement aux critères d'un bon indicateur biologique:

- Identification et collecte facile.
- Une large répartition.
- Un bio-accumulateurs des contaminants.
- Leurs caractéristiques écophysiologiques sont bien connues.

- Ils sont saprophages et phytophages (ISO, 2006).
- Une biomasse suffisante pour l'analyse.
- Elevage contrôlé possible (Gimbert et Druart, 2011).
- Contamination par des divers polluants présents dans l'air, le sol et la flore (Zaafour *et al.*, 2014).

Les escargots intègrent de multiples sources et voies de contamination (Figure 04):

- **Voie cutané:** par contact avec des substrats variés tels que le sol, les lixiviats du sol et la litière végétale.
- **Voie digestive:** par ingestion de plantes et de sol.
- **voie respiratoire** (ISO, 2006).

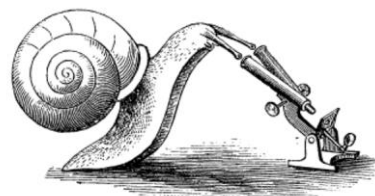


**Figure 04:** Contamination des escargots dans le milieu terrestre (De vaufleury *et al.*, 2012).



**Étude expérimentale**

**Chapitre IV**  
**Matériel et méthodes**



## IV.1 Matériel:

### IV.1.1 Matériel biologique:

Le modèle biologique utilisé dans notre travail est l'escargot *Hélix aspersa* appelé Petit-Gris, est un Mollusque Pulmoné, terrestre, hermaphrodite et herbivore vivant dans la région méditerranéenne et dans la région atlantique européenne (Figure 05). Certaines espèces d'escargots sont comestibles (Chevallier, 1977 ; Corbeil, 2009).

#### ▪ La systématique:

**Règne:** *Animal*

**Embranchement:** *Mollusques*

**Classe:** *Gastropodes*

**Sous classe:** *Pulmonés*

**Ordre:** *Stylommatophores*

**Famille:** *Hélicidae*

**Genre:** *Hélix*

**Espèce:** *aspersa* (petit Gris) (Bonnet *et al.*, 1990).



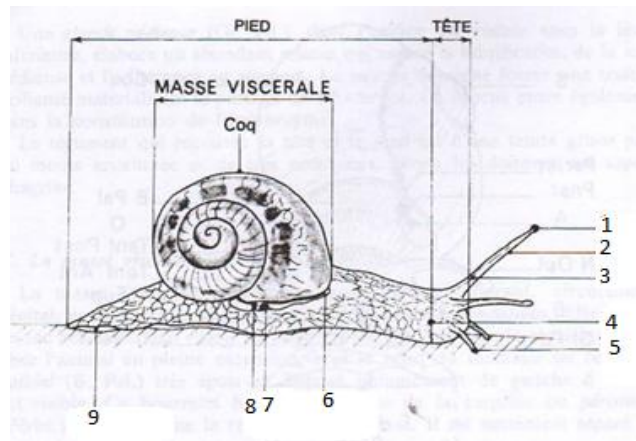
**Figure 05:** L'escargot *Hélix aspersa* dans son milieu naturel ([www.paulstarosta.com](http://www.paulstarosta.com)).

#### IV.1.1.1 Morphologie d'escargot *Hélix aspersa* :

##### ➤ **Corps:**

*Hélix aspersa* possède un corps mou en absence d'un axe squelettique; son corps subdivise en trois parties (Figure 06):

- **La tête:** est considéré comme une région céphalique de l'escargot.
- **Le pied:** représente la grande partie de la masse charnue, très développé. Le rampement est effectué par sa face ventrale.
- **La masse viscérale:** constitue de l'appareil digestif, circulatoire, génital, excréteur et respiratoire avec leurs complémentarités. Elle se trouve à l'intérieur de la coquille dans un sac hélicoïdal (Beaumont et Cassier, 1970).



**Figure 06:** Morphologie d'escargot *Hélix aspersa* (Beaumont et Cassier, 1970).

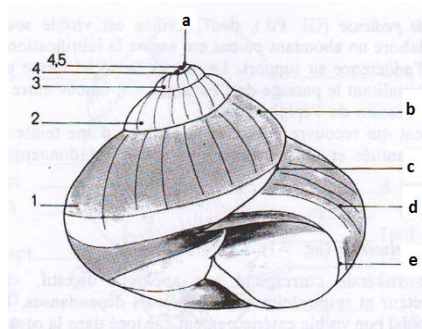
1 : œil, 2: tentacule postérieur, 3: nerf optique, 4: orifice génital, 5: tentacule antérieur, 6: bourrelet palléal, 7: pneumostome, 8: anus, 9: sole de reptation

#### ➤ Coquille:

Elle est sous forme d'un cône calcaire, enroulé autour d'une columelle pleine chez le Petit-Gris, l'ouverture de la coquille constitue le péristome (Figure 07).

Elle est creux, chagrinée en jaune gris à taches fonces variables, sa surface contient des bandes décoratives et des stries d'accroissement parallèles au bord libre du péristome. La paroi de la coquille constitue de trois couches superposées :

- **La couche lamelleuse:** qui couvre la surface interne de la coquille.
- **La couche externe:** cornée ne se brise pas.
- **La couche moyenne, blanche:** est formé de calcaire presque pur (Beaumont et Cassier, 1970).



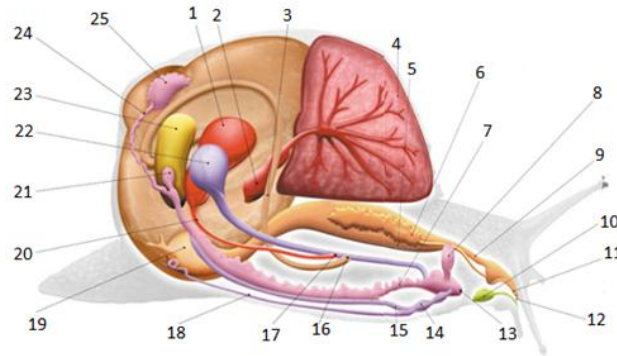
**Figure 07:** Vue externe de la coquille d'escargot *Hélix aspersa* (Beaumont et Cassier, 1970).

1, 2, 3, 4, 4.5: numéros des tours de la coquille adulte, a: sommet, b: bande pigmentaire, c: ligne de suture, d: strie d'accroissement, e: péristome.

#### IV.1.1.2 Anatomie d'escargot:

L'escargot contient (Figure 08):

- Un appareil digestif.
- Un système nerveux.
- Un appareil circulatoire et respiratoire.
- Un appareil génital (Bonnet *et al.*, 1990).



**Figure 08:** Anatomie d'escargot Genre *Helix* (Corbeil, 2009).

1:rien, 2:cœur 3:intestin 4:poumon 5:jabot 6:glande salivaire 7:vagin 8:poche du dard 9:œsophage, 10 :glande pédieuse, 11:radula, 12:bouche, 13:orifice génitale, 14:pénis 15:spermiduce, 16:anus, 17:orifice excréteur, 18:flagelle, 19:estomac, 20:uréter, 21:spermathèque, 22:poche copulatrice, 23:glande de l'albumine, 24:canal hermaphrodite, 25:ovotestis.

#### IV.1.1.3 Activité d'escargot:

Pendant la belle saison, les Escargots se trouvent en grand nombre dans les jardins et les champs riches en calcaires. Au cours des nuits tièdes ou le jour après les pluies, leur activité augmente.

Lors des conditions inappropriées, les escargots restent à l'intérieur de leurs coquilles donc ils passent par deux phénomènes:

- **Estivation:** les escargots restent dans des coins sombres et frais et leur épiphragme reste mince et souple.
- **Hibernation:** ils burinent une profonde galerie et leur épiphragme incrusté de phosphate de calcium est épais et rigide (Beaumont et Cassier, 1970).

### IV.1.2 Matériel chimique:

Nous avons utilisé un insecticide dont le nom commercial est le PYRICAL 5G (Figure 09) contenant 5% de Chlorpyrifos sous forme micro-granulé.

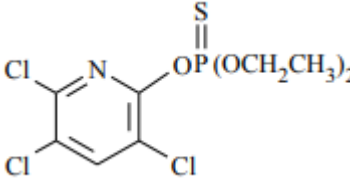


**Figure 09:** Photographie d'insecticide PYRICAL 5.

#### IV.1.2.1 Présentation de Chlorpyrifos:

Chlorpyrifos est un insecticide organophosphoré (Tableau 01), qui contrôle parfaitement un grand nombre d'insectes du sol, comme les taupins, les vers gris, les vers blancs, les courtilières, les larves de mouches, la mouche du chou sur principalement les cultures légumières, céréales, pomme de terre, tabac...etc. Il agit par contact, inhalation et ingestion.

**Tableau 01:** Caractéristiques principales de Chlorpyrifos (FAO, 2015).

<b>Caractéristiques principales</b>	
<b>Nom commun (ISO)</b>	Chlorpyrifos (E-ISO, BSI, ANSI, ESA)
<b>Synonymes</b>	Chlorpyriphos ([m] F-ISO, JMAF) Chlorpyriphos-éthyl ([m] France)
<b>Formule</b>	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> Cl <sub>3</sub> NO <sub>3</sub> PS
<b>Molécule</b>	
<b>Nom chimique</b>	O,O-diethyl O-3,5,6-trichloro-2-pyridyl phosphorothioate



➤ **Propriétés physico-chimiques:**

**Tableau 02:** Propriétés physico-chimiques de Chlorpyrifos (Tissier *et al.*, 2005).

<b>Propriétés physico-chimiques</b>	
Poids moléculaire	350,59 g/mole
Solubilité	0,39 mg/ L à 19,5°C
pH	6,28 0,7623 mg/ L à 20°C. pH 7,0 – 7,6
Pression de vapeur	1,0 x 10 <sup>-3</sup> Pa à 25°C
Constante de Henry	0,91 Pa m <sup>3</sup> / mol
Log Kow	4,7
Koc	4400- 15500
BCF	1358 (invertébrés), 1374 (poissons)

➤ **Idendification de danger:**

**Tableau 03:** Idendification de danger pour le Chlorpyrifos (Levet, 2008).

<b>Idendification de danger</b>	
<b>Indication du danger</b>	 <b>T</b> : Toxique
	 <b>N</b> : Dangereux pour l'environnement
<b>Phase de risque</b>	<b>R25</b> : Toxique en cas d'ingestion <b>R50</b> : Très toxique pour les organismes aquatiques <b>R53</b> : Peut entraîner des effets néfastes à long terme pour l'environnement aquatique
<b>Consiels de prudence</b>	<b>S1</b> : Conserver sous clé <b>S2</b> : Conserver hors de la portée des enfants <b>S45</b> : En cas d'accident ou de malaise consulter immédiatement un médecin (si possible lui montrer l'étiquette) <b>S60</b> : Eliminer le produit et son récipient comme un déchet dangereux <b>S61</b> : Eviter le rejet dans l'environnement. Consulter les instructions spéciales/la fiche de données de sécurité

➤ **Donnée éco-toxicologique:****Tableau 04:** Données éco-toxicologique de Chlorpyrifos.

<b>Données éco-toxicologique</b>	<b>Espèce</b>	<b>Référence</b>
<b>DL<sub>50</sub></b>	<b>Rats :</b> (oral) : 135-163 mg/kg (cutané) : 200 mg/kg <b>Souris :</b> (oral) : 62mg/kg <b>Abeille (<i>A. mellifera</i>) :</b> (Oral) :250 ng/abeille (cutané) : 59 ng/abeille <b>Oiseaux sauvage :</b> (oral) : 5mg/kg	(Testud et Grillet, 2007) (Pradyot Patnaik, 2007) (Deacon <i>et al.</i> ; 1980) (Dorneles <i>et al.</i> ; 2017) (Pradyot Patnaik, 2007)
<b>CL<sub>50</sub></b>	<b>Daphnia magna</b> (48 h) : 1.7 µg/l <b>poisson</b> (96h) : 0,54µg/L	(FAO, 2015) (Tissier <i>et al.</i> , 2005)
<b>CE<sub>50</sub></b>	<b>algue</b> : 46 µg/L <b>daphnie</b> : 0,014 µg/L <b>anguille</b> (96h) : 0,54 µg/L	(Levet, 2008)
<b>NOEC</b>	<b>Algue</b> : 27 µg/L <b>daphnie</b> : 0,056 µg/L <b>crevette</b> (35j) : 0,0046 µg/L <b>poisson</b> : 0,14 µg/L	(Levet, 2008)
<b>DJA (OMS)</b>	0,01 mg/kg pc/j (EU)	(Levet, 2008)

**IV1.2.2 Comportement de Chlorpyrifos:**

Le Chlorpyrifos participe à la pollution environnementale à cause de leur usage dans les terrains agricoles ; soit après l'épandage ou par les retombées atmosphériques. Il se trouve dans l'air sous forme de particules et à l'état gazeux. Leur photodégradation donne le métabolite 3, 5,6-trichloro-2-pyridinol (TCP) après une réaction avec les radicaux hydroxyles. Il possède une demi-vie de 4 heures (moins persistant).



Le Chlorpyrifos est fortement adsorbé par les particules en suspension et le sédiment. Il a une forte bioaccumulation chez les organismes aquatiques, cela présente une source de risque d'empoisonnement secondaire (Tissier *et al.*, 2005).

#### IV.1.2.3 Mécanisme de toxicité:

Selon l'OMS, Chlorpyrifos a été classé modérément dangereux de classe II (Mahaboob et Gurjot, 2007). Il est biotransformé par deux voies:

- **Activation:** une désulfuration oxydative de Chlorpyrifos (CPF) par le cytochrome P450 donne un métabolite toxique Chlorpyrifos-oxon qui inhibe l'activité AChE.
- **Désactivation:** une détoxification de CPF et du Chlorpyrifos oxon via le cytochrome P450 par une réaction de déarylation qui donne la formation de 3,5,6-trichloro-2-pyridinol (TCPy) et diethylthiophosphate (DETP) ( Tang,2001 ; Anuradha *et al.*, 2005).

L'un de principal mécanisme de toxicité par le Chlorpyrifos est l'inhibition de façon irréversible de l'AChE qui entraîne l'accumulation d'acétylcholine libre, en provoquant une stimulation continue des tissus (Gaétan *et al.*, 2005 ; Amitai *et al.*, 1998).

Plusieurs études montrent que l'exposition au CPF induit un stress oxydatif par la surproduction des ROS; il s'agit de l'anion superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ ), radical hydroxyle ( $HO^{\cdot}$ ) et peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) qui visent et inhibent les macromolécules biologiques endommageant les tissus (Nadia *et al.*, 2010 ; Mahaboob et Gurjot, 2007).Le système de défense antioxydant protège les cellules et les tissus contre la toxicité des espèces réactives oxygénées; les enzymes antioxydantes tel que la superoxyde dismutase (SOD), La catalase (CAT) et la glutathion peroxydase (GPx) ont affectées par les pesticides, notamment le Chlorpyrifos (Kavitha *et al.*, 2008 ; Nadia *et al.*, 2010).

En plus de l'inhibition d'AChE, le Chlorpyrifos cible aussi la neurogenèse, le développement du système nerveux, la synthèse des macromolécules, les récepteurs des neurotransmetteurs, la signalisation cellulaire et les facteurs de transcription nucléaires en entraînant une cytotoxicité (Anuradha *et al.*, 2005).

## IV.2 Méthode:

### IV.2.1 Ramassage des escargots:

Dans cette expérience, nous avons utilisé des escargots adultes, collectés de la région de Taher Nord- Est de Jijel (Figure 10), leurs poids moyen est environ de 7 g.



**Figure 10:** Photographie de site de la collecte.

### IV.2.2 Conditions d'élevage:

L'élevage des escargots est passé par les conditions environnementales suivant:

- Photopériodes 12h de lumière / 24h.
- Température  $18 \pm 2^\circ\text{C}$ .

Ils sont répartis dans des boîtes de plastiques transparentes avec des couvertures troués (pour l'oxygénation), chaque une contient une éponge mouillée pour qu'ils boivent et pour maintien l'humidité, les escargots sont alimentés par 20 g de farine de blé fournit dans des boîtes de pétrie (Figure 11). Les boîtes sont nettoyées régulièrement tous les deux jours.



**Figure 11:** Photographie des escargots traités par PYRICAL 5G.

### IV.2.3 Mode de traitement:

Le traitement par le Clorpyrifos est effectué dans des conditions contrôlées (au niveau de laboratoire) qui consistent à introduire le xénobiotique dans la farine utilisée dans toutes nos expériences comme aliment principal.

Nous avons retenu 3 doses de Clorpyrifos dans la farine (Tableau 05) pendant 21 jours. Les escargots sont répartis en 4 lots.

**Tableau 05:** Doses de Chlorpyriphos administrées.

Lots	témoin	1	2	3
Doses ( $\mu\text{g/g}$ d'alimentation)	0	100	500	1000

### IV.2.4 Dissection et prélèvement d'organes:

Après la période de traitement (21 jours), les escargots sont sacrifiés par le coupement de leurs têtes, puis disséqués. Les coquilles sont enlevées, le rein et l'hépatopancréas sont excisés (Figure 12), et lavés à l'eau physiologique (0.9 %) (Coeurdassier, 2001).



**Figure 12:** Photographie de la dissection des escargots.

**IV.3 Paramètres étudiées:****IV.3.1 Paramètres biométriques:****IV.3.1.1 Poids d'escargot:**

Les escargots sont pesés avant et après le traitement par le Chlorpyrifos à l'aide d'une balance de précision et répartis en 4 lots avec un poids moyen environ 7g, pour déterminer l'effet de ce dernier sur le poids.

**IV.3.1.2 Diamètre de la coquille:**

À l'aide d'un pied à coulisse, la coquille est mesurée avant le traitement. Les mesures sont encore réalisées après le traitement par Chlorpyrifos pour déterminer l'effet de ce dernier sur le diamètre de la coquille.

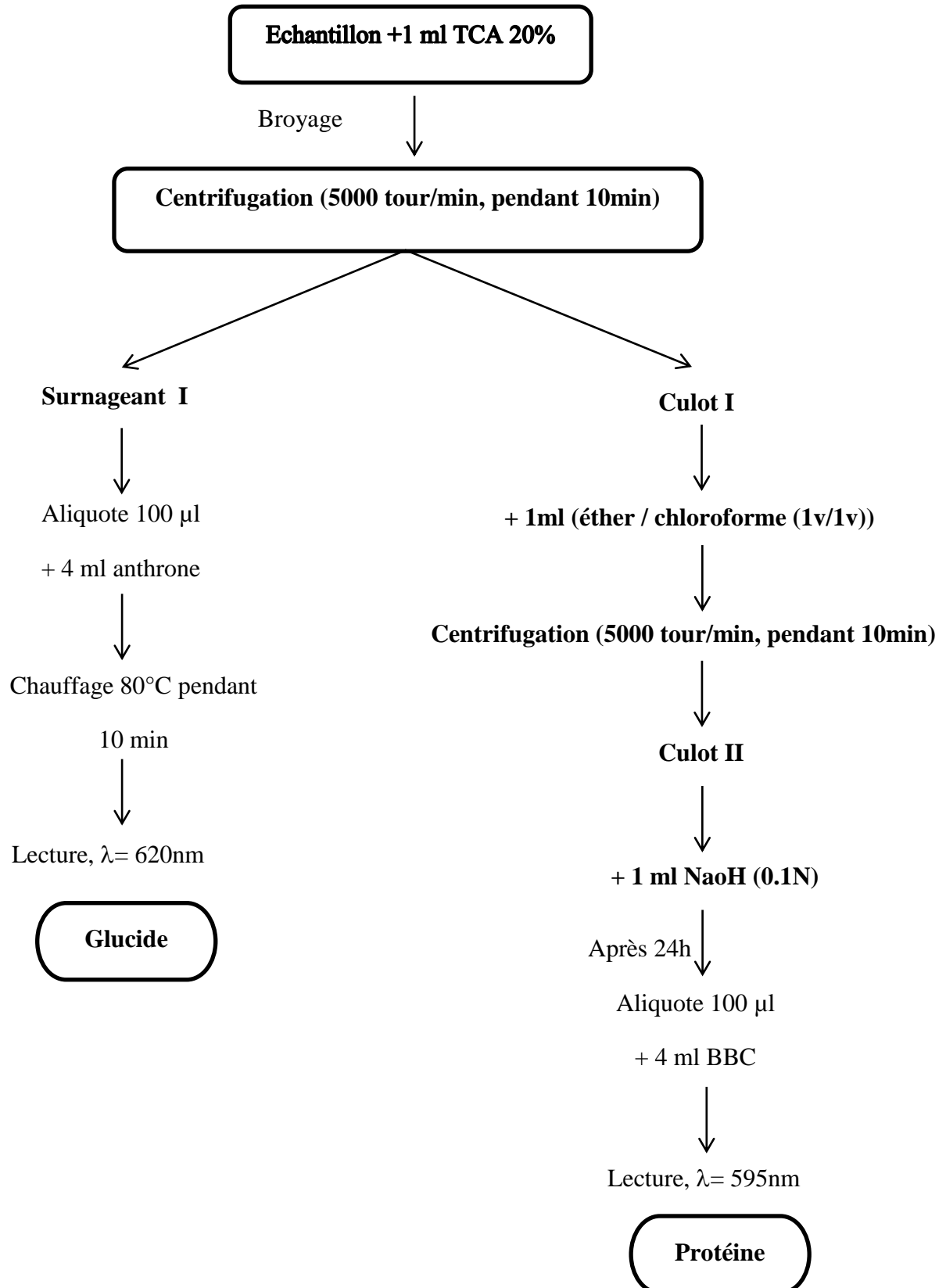
**IV.3.2 Paramètres biochimiques:****IV.3.2.1 Dosage des protéines totales:**

Selon la méthode de Bradford (1976); qui utilise le bleu brillant de comassie G 250 (BBC) comme réactif et une solution de mère d'albumine de sérum de boeuf (BSA) comme protéine standard. Dont la lecture des absorbances est obtenue par un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 595 nm contre un blanc de la gamme.

**IV.3.2.2 Dosage des glucides:**

Selon la méthode de Duchateau & Florkin (1959); qui utilise l'antrone comme réactif et une solution de mère de glucose comme standard. Dont la lecture des absorbances est obtenue par un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 620nm contre un blanc de la gamme.

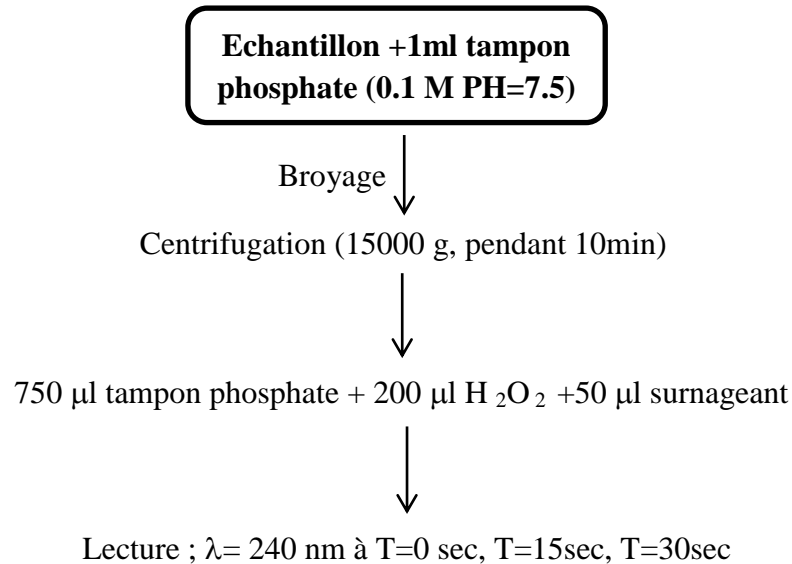
➤ Mode opératoire :



**Figure 13:** Extraction Shibko *et al* (1966), et dosage des métabolites (protéine ; Bradford (1976) et glucide ; Duchateau & Florkin (1959)).

### IV3.2.3 Dosage de catalase CAT:

Selon la méthode de Claiborne (1985), l'activité de la catalase (CAT) est mesurée à une longueur d'onde de 240 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV. La variation de la densité optique due à la dismutation du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) par la catalase.



**Figure 14:** Mesure de l'activité du Catalase Claiborne (1985).

L'activité de catalase est exprimée selon la formule suivant:

$$\text{CAT } (\mu\text{M/ mn/ mg de protéines}) = \Delta \text{Do} / (0.040 \times \text{mg de prot})$$

$\Delta \text{DO}$  : différence de la densité optique obtenue après hydrolyse du substrat.

$0.040 \text{ M}^{-1}.\text{cm}^{-1}$ : coefficient d'extinction molaire du peroxyde d'hydrogène.

**mg de prot** : mg de protéines.

### IV.4 Étude statistique:

Les résultats sont donnés sous forme de moyenne et d'écart type à l'aide de logiciel Minitab et l'Excel. L'évaluation statistique est effectuée en comparant les moyennes des groupes traités par le Chlorpyrifos à celles des groupes témoins en utilisant le test t de Student:

- **P > 0,05**: différence non significative.
- \* **P < 0,05** : significative.
- \*\* **P < 0,01**: hautement significative.
- \*\*\* **P < 0,001** : très hautement significative.

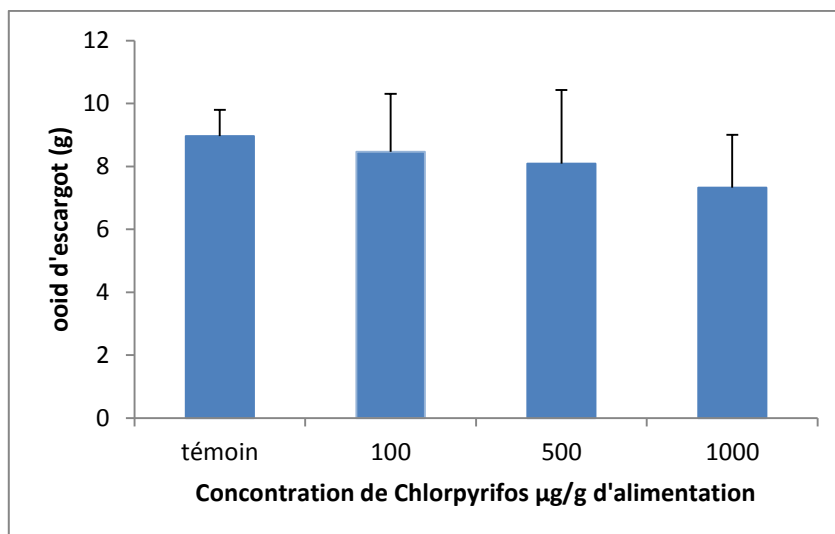
**Chapitre V**  
**Résultats et discussion**



## V.1. Effet de traitement par Chlorpyrifos sur les paramètres biométriques:

### V.1.1 Evaluation de poids d'escargot:

La figure (14) représente l'évolution de poids moyen des escargots.

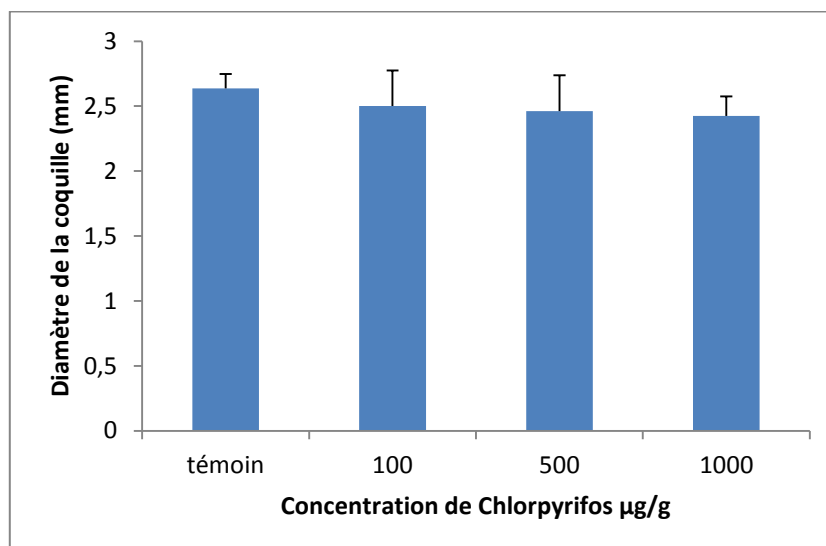


**Figure 15:** Effets du traitement par le Chlorpyrifos sur les variations du poids d'escargot *Helix aspersa*.

Nous remarquons une diminution non significative ( $p > 0.05$ ) de poids moyen des escargots traités par rapport au témoin après 21 jours de traitement par le Chlorpyrifos.

### V.1.2 Evaluation de diamètre de la coquille d'escargot:

La figure (15) montre l'évolution de diamètre de la coquille des escargots traités.



**Figure 16:** Effets du traitement par le Chlorpyrifos sur les variations de diamètre de la coquille d'escargot *Helix aspersa*.

Chez les escargots traités par le Chlorpyrifos, nous remarquons une diminution de diamètre de la coquille par rapport au témoin après 21 jours d'exposition.



Les pesticides sont diffusés dans tous les compartiments de la biosphère: air, sol et eau (Mce, 2003). Pour signaler la pollution d'un écosystème ainsi que la biodisponibilité des substances toxiques, l'utilisation des bio-indicateurs a été développée (Hamdi et Soltani, 2014).

Nos résultats reflètent une inhibition non significative de la croissance (diminution de poids et de diamètre de la coquille) des escargots traités par les différentes concentrations de Chlorpyrifos. Nos résultats sont en accord avec les travaux de Coeurdassier *et al* (2001) qui ont constaté un déclin de la croissance et du diamètre de la coquille chez *Hélix aspersa* exposés à un pesticide organophosphoré. La variation du poids et de diamètre de la coquille est un paramètre physiologique indiquant la toxicité des OP sur la croissance d'*Hélix aspersa*.

De même Lambert *et al* (2005) ont observé que les organophosphorés induisaient un effet amplificateur (diminution de la recherche alimentaire et inappétence) et la baisse de la réactivité de l'animal, qui est due à une accumulation de la forme libre de l'acétylcholine au niveau des jonctions neuromusculaires et des plaques motrices, entraînant des crampes musculaires.

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

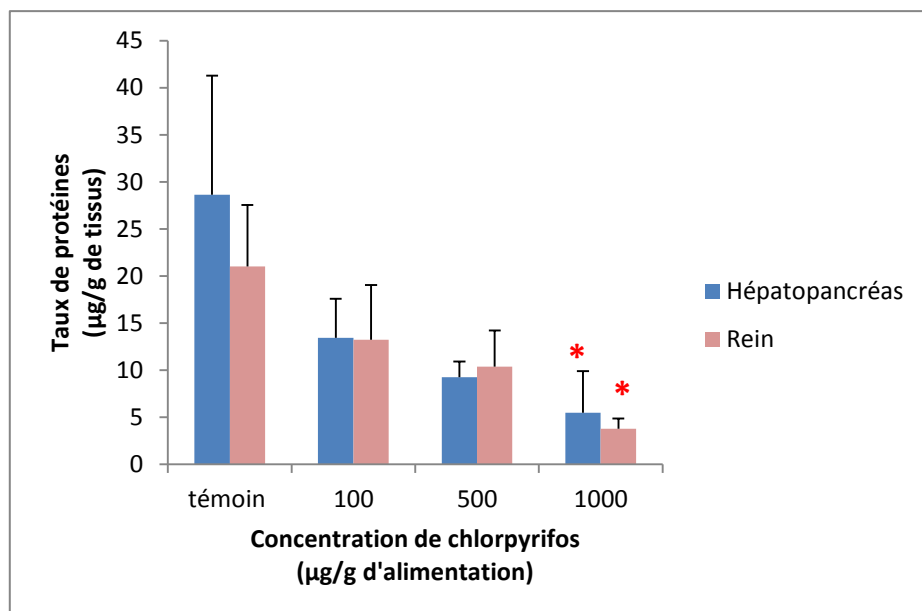
Laskowski et Hopki (1995) ont expliqué cette perte par la diminution de la consommation alimentaire chez les escargots nourris sur des régimes contaminés avec les métaux Zn, Cu, Pb et Cd.

Les Mollusques Gastéropodes possèdent des capacités de bioaccumulation importantes pour de nombreux polluants hydrocarbonés (Zouaghi *et al.*, 2015) et organiques (Coeurdassier *et al.*, 2001; Sverdrup *et al.*, 2006). Cette propriété a été mise à profit pour utiliser les escargots comme bio indicateurs de pollution.

## V.2 Effet de traitement Chlorpyrifos sur les paramètres biochimiques:

### V.2.1 Effet de traitement sur le taux des protéines totales:

La figure (16) met en évidence la variation du taux de protéines totales d'escargot en fonction de différentes concentrations de Chlorpyrifos.



**Figure 17:** Effets du traitement par le Chlorpyrifos sur les variations du taux de protéines totales au niveau de l'hépatopancréas et du rein d'*Helix aspersa*.

Chez les escargots traités, nous observons une diminution dose dépendante de taux de protéines totales par rapport au témoin. Cette diminution est significative ( $p < 0.05$ ) chez les escargots traités par la concentration 1000µg.

- **Au niveau de l'hépatopancréas:** le taux de protéines totales chez les escargots traités diminue pour atteindre un maximum de 5.46 µg/g de tissus avec la concentration 1000µg et une valeur de 28.63 µg/g de tissus chez les témoins.
- **Au niveau du rein:** le taux de protéine totale diminue de 21.02 µg/g de tissus chez témoins pour atteindre un maximum de 3.78 µg/g de tissus avec la concentration 1000µg.

Les protéines sont des macromolécules complexes, de nature organique. Elles ont une importance vitale et assurent dans l'organisme diverses fonctions; principalement sont impliquées dans la structure et l'architecture cellulaires, la réparation des cellules et la production d'énergie (Brooker, 2000 ; Imtiyaz *et al*, 2014).

L'exposition aux insecticides organophosphorés entraîne de graves entraves aux processus métaboliques vitaux (Imtiyaz *et al*, 2014).

D'autre part, nous avons noté l'effet de Chlorpyrifos sur le taux de protéines totales des escargots placés dans des conditions contrôlées (laboratoire). Nos résultats montrent une diminution significative du taux de protéines totales au niveau des deux organes ciblés; l'hépatopancréas et le rein.

Des résultats similaires ont été trouvés par Madhusudan *et al* (2011) qui a mis en évidence la diminution rapide de la teneur totale en protéines dans les tissus de *Clarias batrachus* sous l'effet d'un stress après une exposition au Chlorpyrifos. Il en est de même à ceux de Sneha et Anurag (2017), Sangeetha et Deepa (2016) qui ont signalé une réduction de la teneur en protéines chez les différentes espèces exposées aux pesticides.

En effet Naqvi *et al* (2016) ont rapporté que cette perte est liée aux effets des pesticides en provoquant: l'augmentation de la protéolyse, la réduction de la synthèse des protéines, endommagement de l'ADN, la destruction ou la nécrose des cellules et altération des activités enzymatiques. Selon Jha (1991) suggère que la diminution des protéines pourrait être due à l'inhibition de la synthèse protéique, à leurs dénaturations ou à l'interruption de la chaîne protéique.

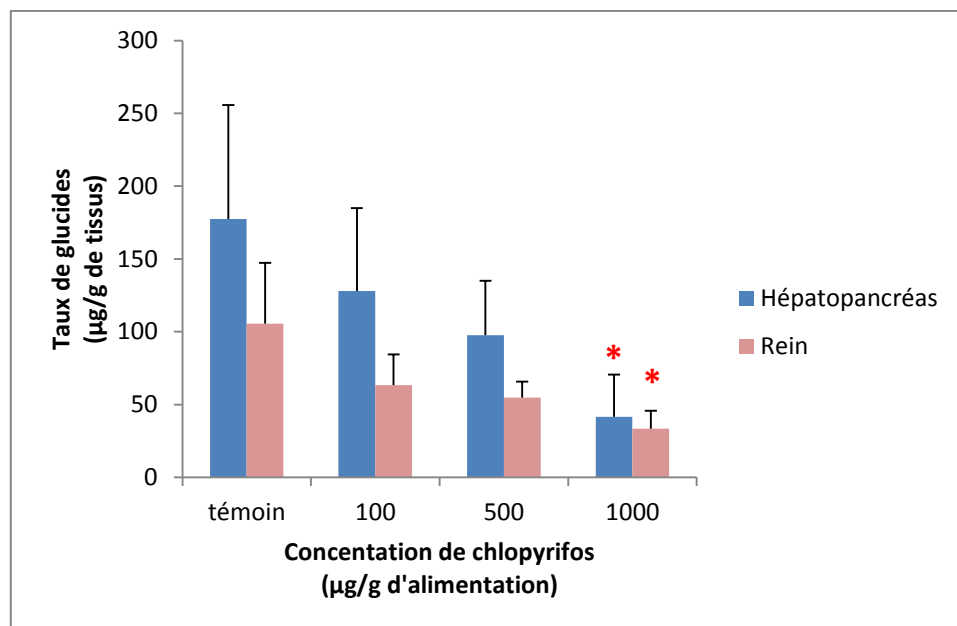
La réduction des teneurs en protéines peut également être due à leur dégradation ou à la destruction des hépatocytes et l'altération des protéines par les organophosphorés (Ogueji et Auta, 2007).

Le stress oxydatif induit par les pesticides organophosphorés est responsable de la dégradation des protéines chez les poissons (Malkovich, 1995).

Irshad et Gautam (2014) ont constaté une diminution significative des teneurs en protéines totales, en albumine et en globuline après exposition aiguë de *Heteropneustes fossilis* à un pesticide organophosphoré.

### V.2.1 Effet de traitement sur le taux de glucides totaux:

La figure (17) représente la variation du taux de glucides totaux d'escargot en fonction de différentes concentrations de Chlorpyrifos.



**Figure 18:** Effets du traitement par le Chlorpyrifos sur les variations du taux de glucides totaux au niveau de l'hépatopancréas et du rein d'*Helix aspersa*.

Nos résultats montrent une diminution dose dépendante de taux du glucide totaux chez les escargots témoins et traités pas les différentes concentrations de Chlorpyrifos. Elle est significative ( $p < 0.05$ ) chez les escargots traités par la concentration 1000µg.

- **Au niveau de l'hépatopancréas:** le taux de glucides totaux passe de 177.39 µg/g de tissus chez les témoins pour atteindre un maximum de 41.69 µg/g de tissus chez les escargots traités par la concentration 1000µg.
- **Au niveau du rein:** le taux de glucides totaux chez les escargots traités par concentration 1000µg de Chlorpyrifos atteint 33.42µg/g de tissus, alors qu'il été 105.48 µg/g de tissus chez les témoins.

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

Plusieurs travaux montrent des perturbations du métabolisme glucidique lorsque les animaux sont exposés aux substances toxiques (Neeraja et Giridhar, 2014).

Dans notre étude, le taux de glucides totaux a diminué chez les escargots traités par les concentrations croissantes de Chlorpyrifos. Cette même observation a été décrite par une étude suite à une exposition des poissons aux Chlorpyrifos (Sneha et Anurag, 2016).

Gamil *et al* (2011) qui ont mis en évidence une réduction de taux de glucides totaux après l'exposition des insectes à un insecticide.

D'autre part Sangeetha et Deepa (2016) suggère que lors d'un stress, il y a une diminution de la teneur des glucides (hydrates de carbone) pour assurer un apport suffisant d'énergie. Cette diminution pourrait être due à une glycogénolyse rapide et des inhibitions de la glycogénèse par l'activation du glycogène phosphorylase.

Koundinya et Ramamurthy (1979) ont rapporté une hyperglycémie et une diminution des niveaux de glycogène dans le foie et le muscle du poisson *Sarotherodon mossambicus* exposé à un insecticide organophosphoré à base de sumithion.

Ces résultats vont dans le même sens que ceux de Zouaghi *et al* (2015) qui ont signalé une diminution du taux de glucide chez l'escargot *Hélix aspersa* exposé aux hydrocarbures.

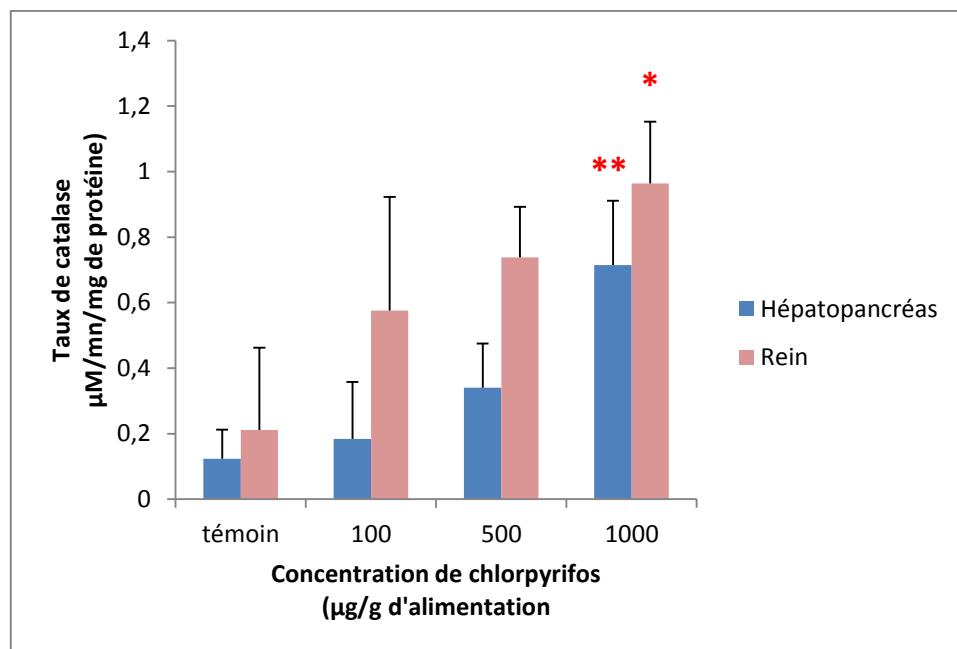
Il en est de même à ceux de Grara *et al* (2016) qui ont signalé une diminution du taux de glucides chez l'escargot *Hélix aspersa* exposé aux poussières métalliques et ils ont montré un épuisement des réserves d'hydrates de carbone dans les conditions de stress pour satisfaire les demandes énergétiques.

EL-Wakil et Radwan (1991) ont suggéré que la diminution du contenu de glycogène dans le tissu de l'escargot d'eau douce *Bellamya dissimilis* résulte de l'utilisation directe du glycogène pour la production d'énergie après l'exposition de l'animal au déférents pesticides; l'Endosulfane, Parathion méthylique, Quinalphos et au Nuvan qui induisent une hypoxie.

Ces mêmes observations ont été décrites par différentes études suite à une exposition des escargots *Hélix aspersa* et *Hélix pomatia* aux métaux lourds (Bislimi *et al*, 2015 ; Grara *et al*, 2012).

### V.2.3 Effet de traitement sur l'activité enzymatique Catalase:

La figure (18) illustre la variation de l'activité Catalase de l'escargot en fonction de différentes concentrations de Chlorpyrifos.



**Figure 19:** Effets du traitement par le Chlorpyrifos sur les variations de l'activité Catalase au niveau de l'hépatopancréas et du rein d'*Helix aspersa*.

- **Au niveau de l'hépatopancréas:** chez les escargots traités, le Chlorpyrifos induit une augmentation de l'activité Catalase de manière dose dépendante par rapport au témoin. Elle est hautement significative ( $p < 0.01$ ) à partir de la concentration 1000μg avec une valeur de 0.714 μM/mn/ mg de protéine, alors qu'elle était 0.123 μM/mn/ mg de protéine chez les escargots témoins.
- **Au niveau du rein:** chez les escargots traités, le Chlorpyrifos induit une augmentation de l'activité Catalase de manière dose dépendante par rapport au témoin. Cette augmentation est significative ( $p < 0.05$ ) pour les escargots traités par la concentration 1000μg avec une valeur de 0.963μM/mn/ mg de protéine, alors qu'elle était 0.211 μM/mn/ mg de protéine chez les escargots témoins.

L'activité Catalase est une enzyme héminique, elle est localisée dans le peroxydosome des cellules de nombreux types tissulaires, mais est particulièrement abondante dans le foie et les globules rouges. Cette enzyme antioxydante catalyse la réaction de détoxification de peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) par la dismutation en  $H_2O$  et en  $O_2$  et agit en synergie avec la SOD (Belli *et al.*, 2010 ; Bas *et al.*, 2011).

Les antioxydants enzymatiques: la SOD et la Catalase (CAT) constituent la première ligne de défense contre le stress oxydatif (Basopo , 2015). En effet, l'activité Catalase est considérée comme l'un des bio-marqueurs les plus sensibles du stress oxydatif elle joue un rôle très important dans la protection antioxydante (Zouaghi *et al.*, 2015 ; Khalil, 2015).

Nos résultats ont mis en évidence une augmentation de l'activité Catalase après traitement des escargots par le Chlorpyrifos. Ces résultats sont en accord avec ceux de Basopo (2015) qui a montré une induction de l'activité Catalase chez l'escargot *Helisoma duryi* exposés au Chlorpyrifos et au Plomb. Cette réponse met en évidence l'adaptation d'escargot en conditions de stress, tandis que l'activité Catalase joue un rôle dans la protection contre les ROS générés principalement le peroxyde d'hydrogène résultant de la dismutation des radicaux anions superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ ) par la SOD.

Dans le même contexte, Khalil (2015) a été observé que l'activité CAT a été augmentée de façon significative chez les escargots *Lanistes carinatus* exposé au Chlorpyrifos, il a suggéré que lors du stress oxydatif, les radicaux libres (espèces oxygénées réactives) sont produites en excès, et la cellule dispose un système de défense antioxydant pour faire face à ce stress oxydatif; ce qui explique l'augmentation de l'activité Catalase.

El-Gendy *et al* (2009) ont rapporté une augmentation de l'activité enzymatique CAT chez l'escargot *Theba pisana* exposé à un pesticide à base de cuivre.

El-Shenawy *et al* (2012) ont noté une induction de l'activité CAT chez l'escargot *Eobania vermiculata* exposé aux métaux lourds.

Il en est de même à ceux de Chebab *et al* (2009) qui ont également noté une induction de l'activité enzymatique CAT par deux pesticides: l'Endosulfan et le Chlorpyrifos administré aux rats *Wistar albinos*.

## Conclusion et perspective





Le Chlorpyrifos est une substance active, appartient à la famille chimique des insecticides organophosphorés et largement utilisé dans les applications agricoles.

Il apparaît clairement que le CPF entraîne des altérations physiologiques et biochimiques sur l'escargot *Helix aspersa*. Cette étude montre l'intérêt de l'escargot *Helix aspersa* comme espèce modèle de gastéropode pulmoné terrestre pour l'évaluation de la toxicité d'insecticide Chlorpyrifos dans des tests de laboratoire et pour la surveillance des milieux terrestres récepteurs en utilisant ces organismes dans une démarche de biosurveillance. Il apparaît clairement que l'espèce *Helix aspersa* est un excellent bio-indicateur de la dégradation du milieu, elle est particulièrement sensible à une pollution par les insecticides organophosphorés.

D'une façon générale, ce travail a permis de montrer que l'exposition des escargots *Helix aspersa* aux différentes concentrations de Chlorpyrifos sous des conditions de laboratoire entraîne une toxicité qui se confirme par une perturbation de développement; une diminution de poids et le diamètre de la coquille d'escargot.

L'étude biochimique a permis de déterminer les teneurs des métabolites (protéines et glucides) au niveau de l'hépatopancréas et du rein d'*Helix aspersa*, elle est diminuée en fonction de la concentration de Chlorpyrifos. D'autre part le statut antioxydant a été affecté à cause de l'induction d'un stress oxydatif qui se traduit par l'augmentation de l'activité enzymatique Catalase au niveau de deux organes ciblés (hépatopancréas et rein).

Par référence à ces résultats, il devrait de poursuivre ces recherches pour compléter ce travail:

- Développer les dosages d'autres bio-marqueurs biochimiques (SOD, MDA, GSH, lipides....).
- Réaliser une analyse histologique sur les tissus de l'hépatopancréas et du rein.
- Déterminer la concentration d'insecticide au niveau d'escargot.
- Augmenter les concentrations de pesticide et la période de traitement.

## **Références Bibliographiques**

## A

- **Abou-Donia M.**, (2015). *Mammalian Toxicology*, John Wiley & Sons, united kingdom, pp720.
- **Academie des sciences.**, (2010). *Systématique : ordonner la diversité du vivant*, Lavoisier, Paris, pp : 288.
- **Amiard JC., Amiard-Triquet C.**, (2008). *Les biomarqueurs dans l'évaluation de l'état écologique des milieux aquatiques*, Lavoisier, Paris, pp:400.
- **Amitai G., Moorad D., Adani R.**, (1998). *Inhibition of Acetylcholinesterase and Butyrylcholinesterase by Chlorpyrifos-oxon*, *Biochemical Pharmacology*, Vol. 56, pp: 293–299.

## B

- **Bas H., Kalender Y.**, (2011). *Chlorpyrifos Induced Cardiotoxicity in Rats and the Protective Role of Quercetin and Catechin*, *Gazi University Journal of Science*, Vol 24(3), pp: 387-395.
- **Basopo N.**, (2015). *Toxicological Effects of Chlorpyrifos and Lead on the Aquatic Snail Helisoma duryi* , *Advances in Biological Chemistry*, Vol 5, pp: 225-233.
- **Baird C., Cann, M.**, (2016). *Chimie de l'environnement*, De Boeck Supérieur, Paris, pp : 832.
- **Barberis G.**, (1994). *Législation sur l'homologation des pesticides*, FAO, Rome, pp: 97.
- **Beaumont A., Cassier P.**, (1970). *Travaux pratiques de biologie animale: zoologie, embryologie, histologie*, Dunod, PARIS, pp : 472.
- **Belhadi A., Mehenni M., Reguieg L., Yakhlef H.**, (2016). *Pratiques phytosanitaires des serristes maraichers de trois localités de l'est des Ziban et leur impact potentiel sur la santé humaine et l'environnement*, *Revue Agriculture*, Numéro spécial 1, pp : 09 – 16.
- **Belli N., Lahouel M., Chebab S., Tekouk M et Leghouchi E.**, (2010). *Stress oxydant induit par la coexposition au plomb et au cadmium : deux contaminants des eaux souterraines de Oued Nil (Jijel - Algérie)* , *Journal of Water Science*, Vol 23(3), pp : 289-301.
- **Benslama A., Moutaouakkil S., Charra B., Menebhi L.**, (2004). *Le syndrome intermédiaire des intoxications aiguës par les insecticides organophosphorés*, *Annales Françaises d'Anesthésie et de Réanimation*, Vol 23, pp : 353–356.
- **Bernard S.**, (2009). *Quand le gène est en conflit avec son environnement: Introduction à la médecine darwinienne*, de boeck, Bruxelles, pp : 368.

- **Bonnet JC., Aupinel P., Vrillon L.,** (1990). L'escargot, Quae, Paris, pp : 124.
- **Brooker C.,** (2000). Le corps humain: Étude, structure et fonction, De Boeck Supérieur, Bruxelles, pp : 562.
- **Buisson Y., Cavallo JD., Kowalski JJ., Treguier JY.,** (2004). Les risques NRBC savoir pour agir, Xavier Montauban SA, Montrouge, pp : 300.

## C

- **Calvet R.,** (2005). Les pesticides dans le sol Conséquences agronomiques et environnementales, France agricole, France, pp: 637.
- **Cemagref.,** (2011). Pesticides, agriculture et environnement - Réduire l'utilisation des pesticides et en limiter les impacts environnementaux, Quae, France, pp : 134,
- **Carrier G., Robert C., Bouchard BM., Gosselin NH., Dumoulin MJ., Bonvalot Y.,** (2005). Évaluation de l'exposition humaine aux organophosphorés et des risques associés à l'aide de biomarqueurs urinaires, IRSST, Québec, pp: 73.
- **Chebab S., Belli N., Leghouchi E., Lahouel M.,** (2009). Stress oxydatif induit par deux pesticides : l'endosulfan et le chlorpyrifos, Environnement, Risques & Santé, Vol 8(5), pp: 425-432.
- **Chevallier H.,** (1977). La variabilité de l'Escargot Petit-Gris : *Helix aspersa* Muller, bulletin du muséum national d'histoire naturelle, 3 e série, n° 448, Zoologie 311, pp: 425-442.
- **Clos J.,** (2012). Immunité chez les animaux et les végétaux, Lavoisier, Paris, pp : 432.
- **Coeurdassier M., Ribera D., De Vaufléury A., Badot PM.,** (2001). The garden snail (*Helix aspersa*) as a bioindicator of organophosphorus exposure: Effects of dimethoate on survival, growth, and acetylcholinesterase activity, Environmental Toxicology and Chemistry, Vol 20(9), pp: 1951-1957.
- **Collin B.,** (1992). Petit dictionnaire de la médecine du gibier, Le gerfaut, Allier, pp : 521.
- **Corbeil JD.,** (2009). Le Dictionnaire Visuel Définitions - Règne animal, Québec Amérique, Canada, pp : 176.

**D**

- **Darriet F.**, (1998). La lutte contre les moustiques nuisants et vecteurs de maladies: l'évaluation de nouveaux insecticides utilisables contre les moustiques en Afrique tropicale, KARTHALA Editions, Paris, pp : 114.
- **Deacon MM., Murray JS., Pilny MK., Rao KS., Dittenber DA., Hanley TR., John JA.**, (1980). Embryotoxicity and Fetotoxicity of Orally Administered Chlorpyrifos in Mice, Toxicology and applied pharmacology, Vol 54, pp: 31-40.
- **De Vaufleury A., Gimbert F., Pauget B., Fritsch C., Scheifler R., Coeurdassier M.**, (2012). Les escargots bio-indicateurs de la qualité des sols - Snail watch : analyse en laboratoire ou in situ de la biodisponibilité des contaminants, HAL, France, pp: 4.
- **Dorneles AL., Souza A., Blochtein B.**, (2017). Toxicity of organophosphorus pesticides to the stingless bees *Scaptotrigona bipunctata* and *Tetragonisca fiebrigi*, Apidologie, Vol 48, pp: 612–620.

**E**

- **El-Gendy K S., Radwan M A., Gad F.**, (2009). In vivo evaluation of oxidative stress biomarkers in the land snail, *Theba pisana* exposed to copper-based pesticides, Chemosphere, Vol 77, pp: 339–344.
- **El-Shenawy N S., Mohammad A., Al-Fahmie H Z.**, (2012). Using the enzymatic and non-enzymatic antioxidant defense system of the land snail *Eobania vermiculata* as biomarkers of terrestrial heavy metal pollution, Ecotoxicology and Environmental Safety, Vol 84, pp: 347–354.
- **EL-wakil H B., Radwan MA.**, (1991). Biochemical studies on the terrestrial snail *Eobaniavermicula* (Müller) treated with some pesticides, J.Environ .sci .Health, B26, pp: 479-489.

**F**

- **FAO.**, (2015). Chlorpyrifos : Fao Specifications And Evaluations For Agricultural Pesticides, Rome, pp:52.

## G

- **Gamil WE., Mariy FM., Youssef LA, Abdel Halim SM.,** (2011). Effect of Indoxacarb on some biological and biochemical aspects of *Spodoptera littoralis* (Boisd.) larvae, *Annals of Agricultural Science*, Vol 56(2) pp: 121–126.
- **Genin B., Chauvin C., Menard E.,** (2003). Cours d'eau et indices biologiques: pollution, méthodes, IBGN, Educagri Editions, Dijon, pp : 221.
- **Gillian P, Christopher D R.,** (2004). *Physiologie humaine: les fondements de la médecine*, Elsevier Masson, Paris, pp : 638.
- **Gimbert F., Druart C.,** (2011). Utilisation intégrée des escargots en bioindication de la qualité de l'environnement, RITTMO, France, pp:8.
- **Grara N., Bouloudenine M., Khaldi F., Zenir Z., Abdemadjid S.,** (2015). Caractérisation Morphophysiological de la Toxicité du ZnO (Nanoparticule manufacturée) sur l'escargot l' *Helix aspersa* bio indicateur de pollution de l'environnement, *J. Mater. Environ. Sci*, Vol 6 (9), pp :2596-2603.
- **Grara N., Atailia A., Boucenna M., Berrebbah H., Djebbar M R.,** (2016). Etude biochimique et histopathologique de la toxicité des poussières métalliques du complexe sidérurgique d'Annaba (Nord- Est Algérien) chez *Helix aspersa* (Biochemical and Histopathology study of the toxicity of metal dust emitted by the Annaba steel complex in Northeastern Algeria in the snail *Helix aspersa*). *J. Mater. Environ. Sci*. Vol 7 (12), pp: 4733-4741.
- **Grara N., Atailia A., Boucenna M., Berrebbah H., Djebbar M R., Khaldi F.,** (2012), Effects of Heavy Metals on the Snails *Helix aspersa* Bioindicators of the Environment Pollution for Human Health, International Conference on Applied Life Sciences, pp:241-254.

## H

- **HAMDI OURFELLA A. N., SOLTANI N.,** (2014). Soil quality of two sites in Northeast Algeria: use of a bioindicator species of soil pollution). *J. Mat er. Environ. Sci*. Vol 5 (S2), pp: 2527-2533.
- **Haubruge É., Amichot M.,** (1998). Les mécanismes responsables de la résistance aux insecticides chez les insectes et les acariens, *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*, Vol 2 (3), pp: 161–174.
- **Hervé J., Laurent L ;** (2012). BIO-SURVEILLANCE Applications aux milieux terrestres de Nouvelle Calédonie, CEIL, pp: 19.

## I

- **Imtiyaz Q., Balkhi MH., Mukhtar M, Bhat F A ., Shah F A.,** (2014). Biochemical Toxicity of Organophosphate Compounds in Fishes, *SKUAST J. Res*, Vol 16(1), pp:1-13.
- **ISO.,** (2006). Qualité du sol - Effets des polluants vis-à-vis des escargots juvéniles (*Helicidae*) -Détermination des effets sur la croissance par contamination du sol, Genève, pp : 31.
- **Irshad S A., et Gautam R K.,** (2014). Effect of organophosphate pesticide nuvan on serum biochemical parameters of fresh water catfish *Heteropneustes fossilis* (Bloch.). *International Research Journal of Environment Sciences*, Vol 3, pp: 1-6.

## J

- **Jha BS.,** (1991). Alteration in protein and lipid contents of intestine, liver and gonads in the lead exposed fresh water murrel *Channa punctatus* (Bloch), *J .Ecobiol*, Vol 3 (1), pp :29-24
- **Journal officiel de la république algérienne,** N° 75, 26 décembre 1995, pp: 16-21.

## K

- **Kafadaroff G.,** (2008). Agriculture durable & nouvelle révolution verte, Publieur, pp:291.
- **Khalil AM.,** (2015). Toxicological effects and oxidative stress responses in freshwater snail, *Lanistes carinatus*, following exposure to chlorpyrifos, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, Vol 11, pp: 137–142.
- **Kavitha P., Venkateswara RJ.,** (2008). Toxic effects of chlorpyrifos on antioxidant enzymes and target enzyme acetylcholinesterase interaction in mosquito fish, *Gambusia affinis*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, Vol 26, pp:192–198.
- **Koundinya P R., Ramamurthy R.,** (1979). Haematological studies in *S. mossambicus* (Peters) exposed to sublethal concentration of sumithion and sevin organophosphates, *Curr. Sci*, pp: 48: 832.

**L**

- **Lambert O., Pouliquen H., Clergeau P., (2005).** Impact des insecticides inhibiteurs des cholinestérases sur la faune sauvage non cible : essai de synthèse des travaux relatifs aux vertébrés terrestres. *Rev. Écol. (Terre Vie)*, Vol 60, pp: 3-20.
- **Laskowski R., Hopkin P., (1995).** Accumulation of Zn, Cu, Pb, and Cd in the garden snail (*Helix aspersa*): Implication for Predators. *Environmental Pollution*, Vol 91(3), pp: 289-297.
- **Levet D., (2008).** Guide pratique Des Substances Toxiques dans les Eaux Douces et Littorales, AESN, France, pp: 271.
- **Lundberg I., (1995).** Pesticides et eaux de surface, Council of Europe, Allemagne, pp: 61.

**M**

- **Madhusudan RN., Begumb G, Rajendera K., Venkateswara RK., (2011).** Sub-lethal effect of chlorpyrifos on protein metabolism of the food fish *Clarias batrachus* and monitoring of recovery, *Toxicological & Environmental Chemistry*, Vol 93(8), pp:1650–1658.
- **Mahaboob KS., Gurjot K., (2007).** Subacute oral toxicity of chlorpyrifos and protective effect of green tea extract, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, Vol 89, pp: 118–123.
- **Malkovich B., (1995).** Effect of organophosphates on the antioxidant systems of fish tissue. *Acta Biologica Hungarica*, Vol 46, pp: 9-11.
- **Marliere F., (2000).** Mesure des pesticides dans l’atmosphère, INERIS, pp: 74.
- **Mbondji P., (2011).** Principaux insectes nuisibles au cacaoyer et aux caféiers du Cameroun: bionomie et lutte, Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique, Indiana, pp: 94.
- **Mce., (2003).** Les pesticides. : réglementation, et effets sur la santé et l’environnement. Mce, France, pp : 31.
- **Melquiot P., (2003).** 1.001 mots et abréviations de l'environnement et du développement durable, Librairie Environnement, France, pp : 190.
- **Merot P., (2006).** Qualité de l'eau en milieu rural: Savoirs et pratiques dans les bassins versants, Quae, Paris, pp : 344.



## N

- **Nadia S., Ahmed a., Aneesa S., Mohamed b., Mosaad A., Abdel-Wahhab.,** (2010). Chlorpyrifos-induced oxidative stress and histological changes in retinas and kidney in rats: Protective role of ascorbic acid and alpha tocopherol, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, Vol 98, pp:33–38.
- **Nallapaneni A., Carey N.,** (2005). Chlorpyrifos, *Encyclopedia of Toxicology*, Volume 1, pp :583–585.
- **Naqvi GZ, Shoaib N., Majid A.,** (2017). Pesticides impact on protein in fish (*Oreochromis mossambicus*) tissues, *Indian Journal of Geo Marine Sciences*, Vol. 46 (09), pp: 1864-1868.
- **Neeraja SRK., Giridhar P.,** (2014). Impact of Deltamethrin on some aspects of Carbohydrate metabolism in fresh water fish *Labeo rohita* (Hamilton). *International Journal of Advanced Research*, Vol 2 (6), pp: 361-366.

## O

- **Oecd.,** (1999). Indicateurs environnementaux pour l'agriculture Concepts et cadre d'analyse, OECD Publishing, Paris, pp: 52.
- **Oecd.,** (2008). La performance environnementale de l'agriculture dans les pays de l'OCDE depuis 1990, OECD Publishing, Paris, pp : 657.
- **Ogueji E O., et Auta J.,** (2007). Investigation of biochemical effects of acute concentration of lambda-cyhalothrin on African catfish, *Clarias gariepinus* (Teguels). *Journal of Fisheries International*, Vol 2, pp: 86-90.
- **OMS.,** (1991). L'utilisation des pesticides en agriculture et ses conséquences pour la sante publique, Genève, pp: 145.

## P

- **Patnaik P.,** (2007). A Comprehensive Guide to the Hazardous Properties of Chemical Substances, John Wiley & Sons, Canada, pp: 1100.

## Q

- **Quae.,** (2001). Ingénieries-eau-agriculture-territoire, Quae, France, pp: 157.

## R

- **Ramade E.**; (2011). Introduction à l'écochimie: Les substances chimiques de l'écosphère à l'homme .Lavoisier, Paris, pp: 828.
- **Regnault-Roger C.**, (2005).\_Enjeux phytosanitaires pour l'agriculture et l'environnement, LAVOISIER, Paris, pp: 1013.

## S

- **Sangeetha I S., Deepa R.**, (2016). Histological and Biochemical Changes Caused by the Pesticides Endosulfan, Chlorpyrifos and Carbaryl on the Gonads of Fiddler Crab, *Uca triangularis*, World Journal of Environmental Pollution, Vol 6 (1), pp: 07-14.
- **Sneha V., Anurag R.**, (2017). Effect of chlorpyrifos on protein and carbohydrate content of *Heteropneustes fossilis* (Bloch, 1794), International Journal of Fisheries and Aquatic Studies, Vol 5(1), pp: 463-466.
- **Somaiah K., Satish PV., Sunita K., Nagaraju B., Oyediran O.**, 2014. Toxic Impact of Phenthoate on Protein and Glycogen Levels in Certain Tissues of Indian Major Carp *Labeo rohita* (Hamilton), IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology, Vol 8(9), pp: 65-73.
- **Sverdrup L E., De Vaufleury A., Hartnik T., Hagen S B., Loibner A P., Jensen J.**, (2006). Effects dans uptake of polycyclic aromatic compounds in snails (*Helix aspersa*). Environmental Toxicology and Chemistry, Vol 25 (7), pp: 1941-1945.

## T

- **Tang J., Cao Y., Rose RL., Brimfield AA., Dai D., Goldstein JA., Hodgson E.**, (2001). Metabolism of chlorpyrifos by human cytochrome P450 isoforms and human, mouse, and rat liver microsomes, The biological fate of chemical, Vol 29 (9), pp: 1201-4.
- **Target A.**,( 2005). La biosurveillance, ASPA, Strasbourg, pp: 5.
- **TESTUD F., Grillet JP.**, (2007). Insecticides organophosphorés, carbamates, pyrèthrinoïdes de synthèse et divers. Toxicologie - Pathologie professionnelle, EMC (Elsevier Masson SAS), Paris 16-059-C-10, Doi : 10.1016/S1155-1925(07)44508-6.
- **Thabet H., Brahmi N., Kouraïchi N., Elghord H., Amamou M.**, (2009). Intoxications par les pesticides organophosphorés :nouveaux concepts. Reanimation, Vol 18, pp: 633-639.
- **TISSIER C., MORVAN C., BOCQUENÉ G., GROSSEL H., JAMES A., MARCHAND M.**, (2005). Les substances prioritaires de la dce, Ifremer, France, pp : 89.

**Z**

- **Zaafour M., Meddour A., Boulakoud M.S.,** (2014). Biométrie et dosage du glutathion chez *Helix aspersa* Müller (Gastropoda ; Helicidae) en zones agricole et urbaine polluée dans la région d'El-Hadjar (Annaba, Algérie), Rev. Sci. Technol. Synthèse, Vol 28, pp:96-105.
- **Zouaghi M F., Berrebbah H., Réda Djrbar M., Amamra R.,** (2015). Study of the behavior/adaptation of non-target biological models exposed to multiple pollution, J. Bio. & Env. Sci, Vol. 7(2), pp: 207-215.

**Site internet:**

- Paul starosta: photographe naturaliste. disponible sur :<<  
[http://www.paulstarosta.com/mollusques\\_terrestres/h48b787b6#h48b787b6](http://www.paulstarosta.com/mollusques_terrestres/h48b787b6#h48b787b6)>> [consulté le 20/04/2018].

**Annexe**

## Annexe 01 :

- Gamme d'étalonnage pour le dosage des protéines.

Tube	blanc	1	2	3	4	5
B.S.A (µl)	0	20	40	60	80	100
Eau distillé (µl)	100	80	60	40	20	0
BBC (ml)	4	4	4	4	4	4

- Gamme d'étalonnage pour le dosage des glucides.

Tube	blanc	1	2	3	4	5
glucose (µl)	0	20	40	60	80	100
Eau distillé (µl)	100	80	60	40	20	0
Anthrone (ml)	4	4	4	4	4	4

- **Préparation des réactifs:**

### **BBC (bleu brillant de coomassie G250):**

50 mg de BBC+50ml éthanol → agitation 2h + 50ml acide orthophosphorique puis compléter jusqu'à 500ml avec l'eau distillé.

### **Anthrone:**

150 mg anthrone + 75ml acide sulfurique + 25ml l'eau distillé.

### **Tampon de phosphate:**

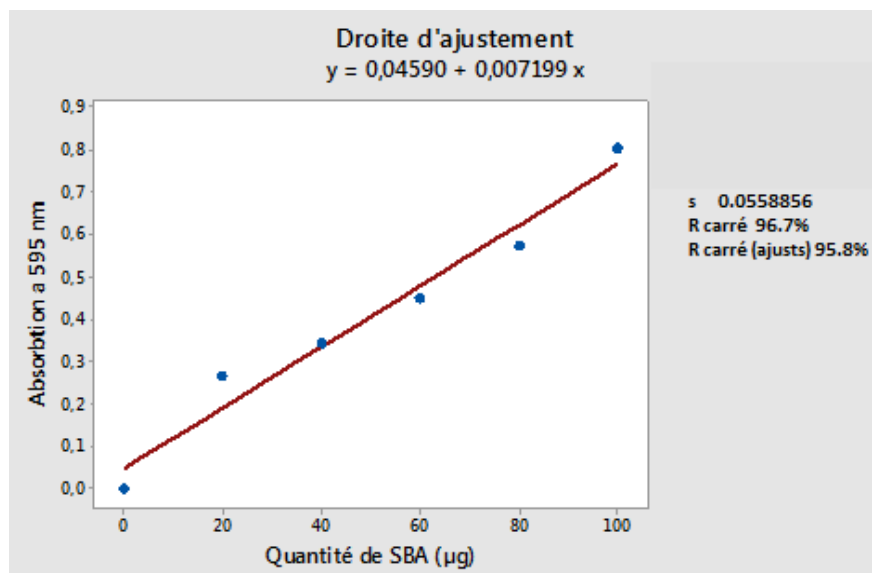
a 100Mm, Ph=7.5 ( $K_2HPO_4 / KH_2PO_4 / H_2O$ ).

## Annexe 02:

- Résultats des densités optiques de la gamme d'étalonnage des protéines.

Albumine (µg)	0	20	40	60	80	100
Do (nm)	0,000	0,267	0,342	0,450	0,574	0,802

- Courbe d'étalonnage des protéines.

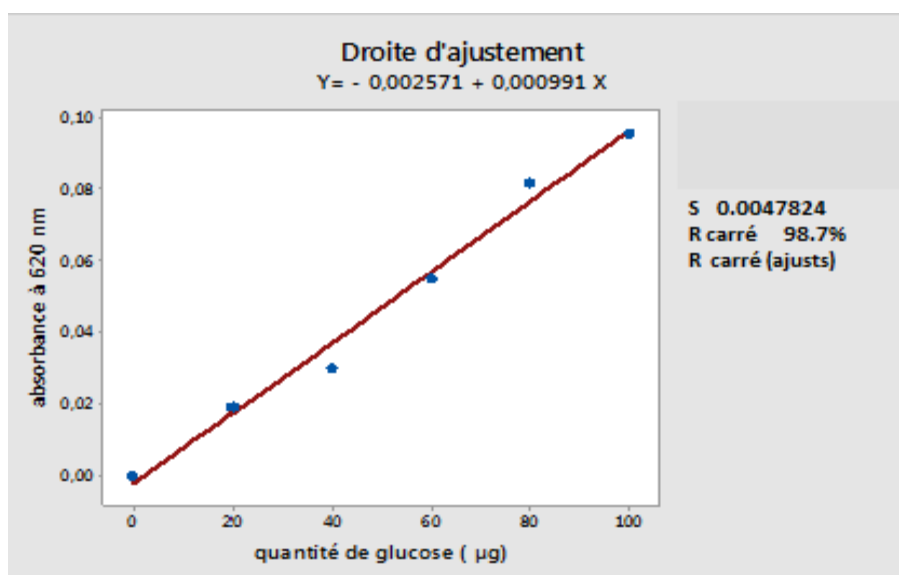


## Annexe 02:

- Résultats des densités optiques de la gamme étalonnage des glucides.

glucose (µg)	0	20	40	60	80	100
Do (nm)	0,000	0,019	0,030	0,055	0,082	0,096

- Courbe d'étalonnage des glucides.



### Annexe 03:

#### ➤ Résultats

	Moyenne de taux de protéines ( $\mu\text{g/g}$ )			
	témoin	Dose1	Dose2	Dose3
Hépatopancréas	28,63392	13,443569	9,2377708	5,4659804
Rein	21,024762	13,231217	10,364215	3,7809692

	Ecart type de protéine			
	témoin	Dose1	Dose2	Dose 3
Hépatopancréas	12,651131	4,1334588	1,6668024	4,4359283
Rein	6,5320802	5,8222591	3,8608502	1,0741279

	Moyenne de taux de glucide ( $\mu\text{g/g}$ )			
	témoin	Dose1	Dose2	Dose3
Hépatopancréas	177,3974	128,12112	97,597654	41,699012
Rein	105,4877	63,39898	54,79922	33,42191

	Ecart type de glucide			
	témoin	Dose1	Dose2	Dose3
Hépatopancréas	78,31894	56,905219	37,532747	28,961349
Rein	41,89494	21,02941	10,91187	12,49316

	Moyenne de l'activité de CAT			
	témoin	Dose1	Dose2	Dose3
Hépatopancréas	0,12318569	0,1844596	0,34056818	0,71475
Rein	0,21169591	0,57561728	0,73842593	0,96392857

	Ecart type de l'activité de CAT			
	témoin	Dose1	Dose2	Dose3
Hépatopancréas	0,08941816	0,17387268	0,13468757	0,19619076
Rein	0,25084128	0,34711007	0,1537992	0,18857278

Poids moyen d'escargot avant le traitement				
	témoin	dose1	dose2	dose3
moyenne	7,175	7,34	7,27	7,235
écart type	0,900537	1,92755458	2,24319712	2,24607064

Poids moyen d'escargot après le traitement				
	témoin	dose1	dose 2	dose3
moyenne	8,9625	8,4675	8,09	7,3275
écart type	0,83898252	1,83407334	2,33450923	1,67450241

Diamètre de la coquille d'escargot avant le traitement				
	témoin	dose1	dose 2	dose3
moyenne	2,5	2.55	2.5	2.575
écart type	0.14142136	0.17320508	0.28284271	0.17078251

Diamètre de la coquille d'escargot après le traitement				
	témoin	dose1	dose 2	dose3
moyenne	2.6375	2.5	2.4625	2.425
écart type	0.11086779	0.27386128	0.275	0.15



**Annexe 05:**➤ **Test t de Student pour les protéines.****Foie: témoin-dose3**

Test d'égalité des espérances: deux observations de variances égales.

	Variable 1	Variable 2
Moyenne	28,6339202	5,4659804
Variance	160,051126	19,6774595
Observations	3	3
Variance pondérée	89,8642927	
Différence hypothétique des Moyennes	0	
Degré de liberté	4	
Statistique t	2,99322569	
P(T<=t) unilatéral	0,02010492	
Valeur critique de t (unilatéral)	2,13184679	
P(T<=t) bilatéral	0,04020983	
Valeur critique de t (bilatéral)	2,77644511	

**Rein: témoin –dose3**

Test d'égalité des espérances: deux observations de variances différentes.

	Variable 1	Variable 2
Moyenne	21,0247619	3,78096923
Variance	42,668072	1,15375082
Observations	3	3
Différence hypothétique des Moyennes	0	
Degré de liberté	2	
Statistique t	4,51178298	
P(T<=t) unilatéral	0,02288908	
Valeur critique de t (unilatéral)	2,91998558	
P(T<=t) bilatéral	0,04577817	
Valeur critique de t (bilatéral)	4,30265273	

**Annexe 06:**➤ **Test t de Student pour les glucides :****Foie: témoin-dose3**

Test d'égalité des espérances: deux observations de variances égales.

	Variable 1	Variable 2
Moyenne	177,3974	41,6990115
Variance	6133,85638	838,759743
Observations	3	3
Variance pondérée	3486,30806	
Différence hypothétique des Moyennes	0	
Degré de liberté	4	
Statistique t	2,81473452	
P(T<=t) unilatéral	0,02404239	
Valeur critique de t (unilatéral)	2,13184679	
P(T<=t) bilatéral	0,04808479	
Valeur critique de t (bilatéral)	2,77644511	

**Rein: témoin-dose3**

Test d'égalité des espérances: deux observations de variances égales.

	Variable 1	Variable 2
Moyenne	105,487708	33,4219062
Variance	1755,18566	156,079149
Observations	3	3
Variance pondérée	955,632406	
Différence hypothétique des Moyennes	0	
Degré de liberté	4	
Statistique t	2,85515323	
P(T<=t) unilatéral	0,02307741	
Valeur critique de t (unilatéral)	2,13184679	
P(T<=t) bilatéral	0,04615481	
Valeur critique de t (bilatéral)	2,77644511	

**Annexe 07:****➤ Test t de Student pour l'activité de catalases :****Foie: témoin-dose 3**

Test d'égalité des espérances: deux observations de variances égales.

	Variable 1	Variable 2
Moyenne	0,12318569	0,71475
Variance	0,00799561	0,03849081
Observations	3	3
Variance pondérée	0,02324321	
Différence hypothétique des Moyennes	0	
Degré de liberté	4	
	-	
Statistique t	4,75225287	
P(T<=t) unilatéral	0,00447802	
Valeur critique de t (unilatéral)	2,13184679	
P(T<=t) bilatéral	0,00895605	
Valeur critique de t (bilatéral)	2,77644511	

**Rien : témoin-dose 3**

Test d'égalité des espérances: deux observations de variances égales.

	Variable 1	Variable 2
Moyenne	0,21169591	0,96392857
Variance	0,06292135	0,03555969
Observations	3	3
Variance pondérée	0,04924052	
Différence hypothétique des Moyennes	0	
Degré de liberté	4	
Statistique t	4,15180071	
P(T<=t) unilatéral	0,00711974	
Valeur critique de t (unilatéral)	2,13184679	
P(T<=t) bilatéral	0,01423947	
Valeur critique de t (bilatéral)	2,77644511	

**Thème**  
**Effet toxicologique d'un insecticide organophosphoré à base de Chlorpyrifos  
sur l'escargot: *Helix aspersa***

**Présenté par :**  
Boudebaz Halima  
Bouzekouk Rima

**Date de soutenance:** juillet 2018

**Résumé**

Le Chlorpyrifos est un insecticide organophosphoré, entraîne des effets néfastes sur les être vivant.

La présente étude a été réalisée pour évaluer leur toxicité sur un modèle bio-indicateur de la pollution : l'escargot *Helix aspersa* placés dans des conditions contrôlées (laboratoire). On a pris un traitement de 21 jours par l'insecticide Chlorpyrifos sur des groupes d'escargot à différents concentrations (100.500.1000µg de Chlorpyrifos/ g d'alimentation).

Les résultats obtenus montrent que le Chlorpyrifos entraîne des altérations physiologiques qui se traduisent par une diminution de poids et de diamètre de la coquille d'escargot.

D'autre part nos résultats montrent que l'exposition des escargots dans le laboratoire a mis en évidence une diminution significative du taux de protéines totales et de glucides totaux aussi chez les traités par la concentration 1000µg de Chlorpyrifos et ce au niveau de l'hépatopancréas et du rein. Parallèlement nous avons mis en évidence une augmentation significative à hautement significative de l'activité CAT au niveau du rein et de l'hépatopancréas successivement. Ces résultats confirment que le Chlorpyrifos intervient dans la modification des paramètres biochimiques.

**Mot clé :** Chlorpyrifos, insecticide, *Helix aspersa*, bio-indicateur, protéine, glucide, CAT

**Abstract**

Chlorpyrifos is an organophosphorus insecticide, which has harmful effects on living beings.

In this study we were interested in Studied to evaluate their toxicity on a model of bioindicator of the pollution: snail *Helix aspersa* placed under the controlled conditions (laboratory). We took a treatment of 21 days with Chlorpyrifos Insecticide on snail groups at concentrations (100, 500, 1000µg Chlorpyrifos / g diet).

The results obtained show that Chlorpyrifos causes physiological alterations which result in a decrease in weight and diameter of the snail shell. On the other hand our results show that the exposure of snails in the laboratory showed a significant decrease in the total protein and carbohydrate also in the treated by the concentration 1000µg of Chlorpyrifos and that at the hepatopancreas and kidney. In parallel we have highlighted a significant increase to highly significant in CAT activity in the kidney and hepatopancreas successively. These results confirm that Chlorpyrifos is involved in the modification of biochemical parameters.

**Keyword:** Chlorpyrifos, insecticide, *Helix aspersa*, bio-indicator, protein, carbohydrate, CAT.

**ملخص**

الكوربيريفوس مبيد حشري فوسفور عضوي له تأثيرات ضارة على الكائنات الحية.

إن البحث الذي قمنا به يتعلق بتقييم الاستجابة لألية سمية هذا المبيد على المستوى الفيزيولوجي و البيوكيميائي للمؤشر الحيوي للتلوث : حلزون هيليكس اسبيرسا. تم التشريح بعد 21 يوما من تعرض مجموعة الحلزونات إلى تراكيز مختلفة من الكوربيريفوس (100.500.1000 ميكرو غرام / غرام من الغذاء).

النتائج المتحصل عليها تبين من جهة أن هذا الأخير يؤدي إلى تغيرات فيزيولوجية تترجم بتناقص في الوزن و قطر القوقعة، و من جهة أخرى توضح معايرة المؤشرات الحيوية للكبد والكلية نقص كبير في تراكيز البروتينات والغلوسيدات بالنسبة للحلزونات المعرضة للتركيز 1000 ميكرو غرام من الكوربيريفوس. و كذلك تزايد كبير في تراكيز CAT على مستوى الكلية و تزايد كبير جدا على مستوى الكبد انطلاقا من التركيز 1000 ميكرو غرام من هذا المبيد. هذه النتائج تثبت أن الكوربيريفوس يسبب تغيرات بيوكيميائية.

**الكلمات المفتاحية:** الكوربيريفوس, هيليكس أسبيرسا, مؤشر الحيوي, مبيد حشري, الغلوسيدات, البروتينات, CAT.

