

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحيى جيجل

Faculté des Sciences de la Nature et de la
Vie
Département : Sciences de
l'Environnement et Sciences
Agronomiques



كلية علوم الطبيعة و الحياة
قسم: علوم البيئة والعلوم
الفلاحية

Mémoire de Master

Filière : Sciences Biologiques

Option : Toxicologie Fondamentale et Appliquée

Thème

Evaluation de la toxicité d'un mélange d'insecticides utilisé
sur un modèle biologique : l'escargot *Helix aspersa*.

Membres de Jury

Président : Mr. Rouibah M.

Examinatrice: Mme. Khaled-khodja S.

Encadreur : Mr. Zouaghi M.F.

Présenté par :

- Boudoucha Islam
- Rekaik Ibrahim

Année Universitaire 2018-2019

Numéro d'ordre (bibliothèque) :

Dédicace

Du profond de mon cœur je dédie ce mémoire à :

Mes chers parents pour leur patience, soutien et amour

Mon cher frère Mohammed et mes chères sœurs Leila, Nihad, Fayrouz, Hiba, douaa

Toute ma famille, mes amis et toutes les personnes qui ont une place spéciale

Dans mon cœur

Ibrahim

Dédicace

Louange à Dieu, qui ma donnée la force pour accomplir ce modeste travail que

Je dédie:

Une pensée émue à mon père, c'est pour toi, et grâce à toi que j'ai

Fait ce parcours et je regrette de ne pas t'avoir parmi nous en ce moment

Tant attendu. J'espère que tu sois fière de moi là où tu es, dans mon

Cœur et mon esprit en toute circonstance

A ma très chère mère, Sans elle rien n'aurais pu être fait

A mes frère Farouk, Mohammed

A mes sœurs Amira, Houda, Maroua

À mon frère ami Laid En souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréables que nous avons passés ensemble.

A tous Mes amies et mes collègues

Islam

Remerciements

Au terme de ce travail, qui est le fruit de toutes ces années

D'études universitaires, nous remercions le dieu le tout puissant pour

Son aide et le courage qu'il nous a donné, pour surmonter les

Difficultés durant notre étude.

Nous tenons tout d'abord à remercier tous les membres du jury :

*Nous remercions monsieur Mr. Rouibah M. pour avoir accepté de présider le jury et évaluer
notre travail. On remercie vivement Madame Khaledkhouja S. pour avoir accepté
d'examiner notre travail. Qu'ils trouvent ici l'expression de nos sincères remerciements pour
le temps accordé à «l'examination» de ce manuscrit*

*Je tiens à remercier chaleureusement Notre encadreur Mr. Zouaghi Mohamed Fateh pour
m'avoir encadrée tout au long de ce travail*

*Ainsi Nos remerciements s'adressent également aux personnels du laboratoire
d'écotoxicologie **Houria, Samira** pour leur disponibilité, leur aide et leur soutien*

*Merci également à toutes et à tous qui nous ont aidés de près ou loin. Qu'ils trouvent ici
l'expression de notre amour et de notre reconnaissance.*

Liste des Abréviations

- BBC** : Bleu Brillant de Commassie
- BSA** : Albumine de Sérum de bœuf
- CAT** : Catalase
- CL50** : Concentration Létale Médiane (50%)
- DJA** : Dose Journalière Admissible
- DL50** : Dose Létale Médiane (50%)
- FC** : Facteur de bioconcentration
- GSH** : Glutathion réduit
- GUS** : Indice de Gustafson
- H₂O₂** : Peroxyde d'hydrogène
- KOC** : coefficient de partage (carbone organique/eau)
- Kow** : coefficient de partage (octanol/eau)
- LOEL** : Lowest Observed Effect Level
- MDA** : Aldéhyde Malonique
- nAChR** : récepteur nicotinique de l'acétylcholine
- NaCL** : Chlorure de sodium
- NaOH** : Hydroxyde de sodium
- NOEL** : No Observed Effect Level
- PC** : poids corporel
- pH** : potentiel hydrogène
- PKa** : Constante de Dissociation
- SCh** : Thiocholine
- SOD** : Superoxydes Dislutases
- T (1/2)** : Temp de demi vie
- TCA** : Trichloroacetic Acid solution

Liste des figures

Figures	pages
Figure 01. Schématisation du transfert des pesticides hors des parcelles agricoles	5
Figure 02. Modes d'exposition aux pesticides	6
Figure 03. Structure des néonicotinoïdes	7
Figure 04. Structure du récepteur nicotinique à l'acétylcholine	9
Figure 05. Voies et sources d'exposition de l'escargot aux polluants	14
Figure 06. Morphologie externe de l'escargot	16
Figure 07. Schéma en coupe de l'anatomie d'un escargot	17
Figure 08. Cartographie des différents sites d'échantillonnage	23
Figure 09. Méthodes d'extraction et dosage des métabolites	26
Figure 10. Mesure de l'activité du Catalase	27
Figure 11. Effet de la mixture d'imidaclopride et acétamipride sur l'évolution du poids moyens des des escargots <i>Helix aspersa</i> .	29
Figure 12. Effet de la mixture d'insecticides sur l'évolution du diamètre de la coquille des escargots <i>Helix aspersa</i> .	30
Figure 13. Effet de la mixture d'insecticides sur le taux de glucides totaux des escargots <i>Helix aspersa</i> .	31
Figure 14. Effet de la mixture d'insecticides sur le taux de protéines totales des escargots <i>Helix aspersa</i> .	32
Figure 15. Effet de la mixture d'insecticides sur l'activité enzymatique catalase des escargots <i>Helix aspersa</i> .	33

Liste des photos

photo	pages
photo 01. l'escargot Hélix aspersa dans son milieu naturel	15
Photo 02. Insecticide FIDOR SUPER 70 (Imidaclopride 70%)	18
Photo 03. Insecticide ACEPLAN (Acétamipride 20%)	18
Photo 04. Photographie des escargots traités par le mélange des insecticides	24

Liste des tableaux

Tableau	pages
Tableau 01. Caractéristiques principales de <i>L'imidaclopride</i>	19
Tableau 02. Propriété physico-chimique de <i>L'imidaclopride</i>	19
Tableau 03. Données éco-toxicologique de <i>d'imidaclopride</i>	20
Tableau 04. Caractéristiques principales de <i>d'acétamipride</i>	21
Tableau 05. Propriété physico-chimique de <i>D'acétamipride</i>	21
Tableau 06. Données éco-toxicologiques de <i>l'acétamipride</i>	22
Tableau 07. Composition des mixtures testées	24

Sommaire

Titres	Pages
Dédicace	i
Remerciement	iii
Liste des abréviations	iv
Liste des figures	v
Liste des photos	vi
Les des tableaux	vii
Sommaire	viii
introduction	01
Synthèse bibliographique	
Chapitre I. Généralités sur les pesticides	3
I.1 Rôles et utilisation	3
I.2 classification des pesticides	3
I.3 devenir des produits phytosanitaires dans l'environnement	4
I.3.1 Contamination de l'air	5
I.3.2 Contamination des eaux	5
I.3.3 Contamination des sols	6
I.4 Modes d'exposition aux pesticides	6
Chapitre II. Insecticides néonicotinoïdes	7
II.1 Définition	7
II.2 Structure chimique des néonicotinoïdes	7
II.3 Propriétés physico-chimiques	8
II.4 Mécanisme d'action	8
II.5 Effet toxicologique	9
II.6 Effets éco-toxicologique	10
Chapitre III. Bio-surveillance de l'environnement	11
III.1 Bio-surveillance	11
III.1.1 La biosurveillance dite sensible	11
III.1.2 La biosurveillance par accumulation	12

III.2 Les transferts des contaminants dans les milieux	12
III.3 Intérêts de l'utilisation de l'escargot dans la Bio-surveillance	13
III.3.1. Voies d'exposition et d'absorption par l'escargot	13

Etude expérimentale	
Chapitre IV. Matériels et méthodes	
IV.1. Matériels utilisés	15
IV.1.1. Matériels biologique	15
IV.1.1.1. Morphologie de l'escargot <i>Helix aspersa</i>	16
IV.1.1.2. Anatomie de l'escargot	17
IV.1.2. Matériels chimiques	18
IV.1.2.1. Présentation d'imidaclopride	19
IV.1.2.2. Présentation d'acétamipride	20
IV.2. Méthodes	22
IV.2.1. Site de ramassage des escargots	22
IV.2.2. Préparation des concentrations des deux insecticides	23
IV.2.3. Mode de traitement	24
IV.2.4. Préparation et sacrifice des animaux	24
IV.3. Paramètres étudiés	25
IV.3.1. Paramètres physiologique	25
IV.3.1.1. Le poids frais de l'escargot	25
III.3.1.2. Diamètre de la coquille	25
IV.3.2. Paramètres Biochimiques	25
IV.3.2.1. Dosage des protéines totales	25
IV.3.2.2. Dosage des glucides totaux	25
IV.3.2.3. Dosage de l'activité enzymatique catalase	27
IV.3.2.5. Analyse Histologique	28
VI.4. Etude statistique	28
Chapitre V. Résultats et discussions	29
V.1. Résultats	29

V.1.1. Effet de traitement par les insecticides sur les Biomarqueurs physiologiques chez <i>Helix aspersa</i>	29
V.1.1.1. Evaluation du poids des escargots	29
V.1.1.2 Evaluation du diamètre de la coquille des escargots	29
V.1.2. Effets de traitement des insecticides sur les paramètres biochimiques et enzymatiques	31
V.1.2.1. Effets de traitement des insecticides sur le taux de glucides totaux	31
V.1.2.2. Effets de traitement des insecticides sur le taux de protéines totales	32
V.1.2.3. Effets de traitement des insecticides sur l'activité Catalase	33
V.1.3. Effet de traitement par les insecticides sur l'Hépatopancréas et le rein des escargots <i>Helix aspersa</i> : Etude Histopathologique	34
V.1.3.1. Effet sur l'Hépatopancréas	34
V.1.3.2. Effet sur le Rein	35
V.2. Discussion	37
Conclusion et perspectives	42
Références bibliographiques	44
Annexes	I

Introduction

Pour répondre aux besoins alimentaires d'une population mondiale de 9 milliards d'habitants en 2050, la production agricole mondiale doit augmenter de 70 % et doubler dans les pays en voie de développement (**Alexandratos et Bruinsma, 2012**). Afin d'augmenter les rendements et régulariser la production ; dans ce contexte, l'utilisation des produits phytosanitaires ou pesticides est un puissant levier (**Lichiheb et al., 2015**).

En Algérie, l'usage des insecticides, des fertilisants, des engrais, des détergents et autres produits phytosanitaires se répand de plus en plus avec le développement de l'agriculture, mais aussi dans le cadre des actions de lutte contre les vecteurs nuisibles. Cette utilisation de produits chimiques toxiques à l'échelle nationale risque de polluer gravement les sols, les nappes d'eau et menace la santé de la population (**Bouziyani, 2007**).

Les néonicotinoïdes apparus autour des années 1990 sont devenus la classe d'insecticide la plus vendue au monde, utilisée pour lutter contre les insectes piqueurs-suceurs, certains coléoptères et lépidoptères (**Elbert et al., 2008**). Depuis 1992, le nombre de néonicotinoïdes utilisés dans le monde est passé de un à sept (Imidaclopride, Acétamipride, Nitenpyrame, Dinotéfurane, Thiaméthoxame, Thiaclopride, Clothianidine,) et leur utilisation, sous forme de cocktails s'accroît de plus en plus et spécialement sur les cultures (**Guégan et al., 2017**).

Des études montrent que les néonicotinoïdes sont actifs contre un large spectre de ravageurs de cultures économiquement importantes. Cependant, leur large spectre conduit à des effets indésirables sur les populations des abeilles domestiques, des invertébrés aquatiques et de très nombreuses espèces d'oiseaux (**Guégan et al., 2017 ; Elbert et al., 2008**).

L'utilisation des invertébrés pour l'évaluation de la qualité des écosystèmes a une longue histoire dans les milieux aquatiques et terrestres (**Eijsackers, 2010**) Les mollusques gastéropodes terrestres pulmonés sont reconnus comme indicateurs biologiques appropriés, suite à leur grande capacité d'accumulation des différents polluants (**Cortet et al., 1999**).

Donc, est ce qu'ils ont une toxicité des mélanges des produits phytosanitaires sur les écosystèmes et parallèlement sur le modèle biologique étudié ? Les escargots sont-ils vraiment des bio-indicateurs de pollution ?

L'objectif général de cette étude est l'évaluation des effets d'un mélange de deux insecticides, à large spectre d'utilisation et notamment dans la wilaya de Jijel, sur un modèle bioaccumulateur-bioindicateur qui est l'escargot, *Helix aspersa*.

Pour y répondre à cette problématique, nous avons divisé le manuscrit en deux parties :

- La première partie consacrée à une synthèse bibliographique, qui se rapporte à des généralités sur les pesticides et particulièrement les insecticides néonicotinoïdes, en suite la bio-surveillance de la qualité de l'environnement par l'utilisation des escargots.

- La deuxième partie illustre la partie expérimentale qui consiste en un travail de laboratoire (des conditions contrôlées), une interprétation et discussion des résultats obtenues basées sur une étude statistique.

Enfin, une conclusion générale et des perspectives futures sont apportées.

I. Généralités sur les pesticides

I.1. Rôle et utilisation

Le mot « pesticide » est un terme générique qui englobe les produits phytopharmaceutiques (herbicides, fongicides, insecticides) utilisés en milieu végétal (agricole et non agricole), et les produits biocides, destinés à détruire, repousser ou rendre inoffensifs les organismes nuisibles dans les secteurs non agricoles. Sont donc des produits biologiquement actifs présentant une toxicité pour un large spectre d'organismes considérés comme « nuisibles » (**Gatignol et Etienne, 2010**)

Du point de vue agricole les produits phytosanitaires sont défini comme des substances actives et des préparations contenant une ou plusieurs substances actives qui sont présentées sous la forme dans laquelle elles sont livrées à l'utilisateur et qui sont destinées à :

- protéger les végétaux ou les produits végétaux contre tous les organismes nuisibles ou à prévenir leur action
- exercer une action sur les processus vitaux des végétaux, pour autant qu'il ne s'agisse pas de substances nutritives
- assurer la conservation des produits végétaux, pour autant que ces substances ou produits ne fassent pas l'objet de dispositions particulières du Conseil ou de la Commission concernant les agents conservateurs
- détruire les végétaux indésirables, détruire les parties de végétaux, freiner ou prévenir une croissance indésirable des végétaux (**Directive, 1991**).

I.2. Classification des pesticides

Les pesticides disponibles aujourd'hui sur le marché sont caractérisés par une telle variété de structure chimique, de groupes fonctionnels et d'activité que leur classification est complexe. D'une manière générale, ils peuvent être classés en fonction de la nature de l'espèce à combattre mais aussi en fonction de la nature chimique de la principale substance active qui les compose (**Smina, 2013**).

Le premier système de classification repose sur le type de parasites à contrôler. Il existe principalement trois grandes familles de produits phytosanitaires selon la nature des cibles visées (**Ramade, 1998**), on distingue ainsi :

- **les insecticides** : sont des produits capables de provoquer la mort des insectes. Parmi eux, on peut citer : les carbamates, les néonicotnoïdes, les pyréthrinoides, les organophosphorés et les organochlorés.

- **les herbicides** : ce sont des produits chimiques complexes destinés au contrôle des mauvaises herbes et de végétation ligneuse
- **les fongicides** : sont des produits chimiques utilisés pour lutter contre les champignons. Ils sont le plus souvent de nature synthétique.

Le deuxième système de classification tient compte de la nature chimique de la substance active majoritaire qui compose les produits phytosanitaires, les principaux groupes chimiques comprennent les organochlorés, les organophosphorés, les carbamates, les pyréthriinoïdes, les triazines et les urées substituées (Leveau, 2016).

I.3. Devenir des produits phytosanitaires dans l'environnement

Malgré un souci croissant de protection de l'environnement, lors de l'utilisation des produits phytosanitaires, une certaine quantité de ces substances se retrouve dans l'environnement (Pimentel, 1995).

Après application en champs, ces substances vont être disséminées dans les sols et dans les airs. Les éléments comme la pluie et le vent vont favoriser cette dispersion provoquant la contamination des sols, des lacs, des fleuves, de l'air... parfois très loin du site d'épandage de ces produits chimiques (Van der Werf, 1997).

Ils peuvent alors être soumis à différents processus (Fig.1).

- la photo-dégradation (Marcheterre et al., 1988).
- la dégradation par le phénomène d'hydrolyse aqueuse (Wolfe et al., 1990) ou de biodégradation grâce aux micro-organismes présents dans le sol (Colin, 2000).
- la rétention dans le sol jusqu'à la formation des résidus liés (adsorption)
- le transport vers d'autres compartiments environnementaux par des processus physicochimiques (volatilisation) ou via un vecteur, l'eau par lixiviation ou ruissellement ou les particules de sol (désorption) (Van Der Werf, 1996).

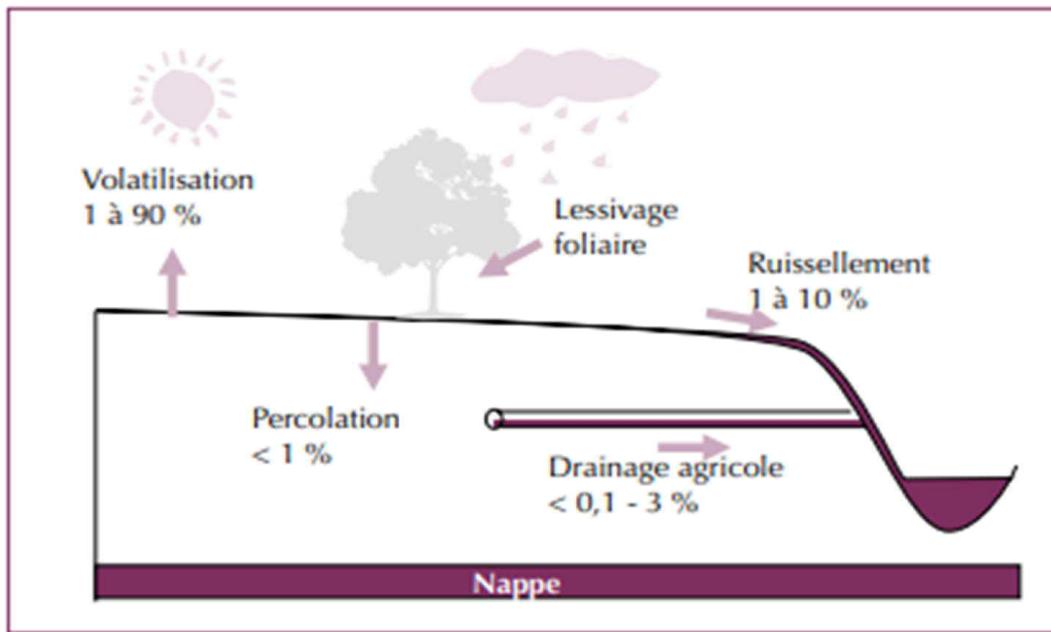


Figure 1. Schématisation du transfert des pesticides hors des parcelles agricoles (Voltz et Louchart, 2001).

I.3.1. Contamination de l'air

La volatilisation lors de l'application, est l'une des causes principales de fuites de pesticides hors de la zone cible, notamment quand les traitements visent la surface du sol ou celle des végétaux. (Briand et al., 2002).

I.3.2. Contamination des eaux

L'eau peut entraîner la dispersion des pesticides dans le milieu par lavage des feuilles, ruissellement et lixiviation. Le ruissellement peut être défini comme le mouvement à la surface du sol de l'eau et des matières dissoutes et suspendues qu'elle contient éventuellement, Cet écoulement peut entraîner des pesticides dissous, en suspension ou adsorbés sur les sédiments (Leonard, 1990).

Le transfert par lixiviation peut causer la pollution des eaux souterraines (Gustafson, 1989).

L'indice d'ubiquité dans l'eau souterraine est donné par la formule :

$$GUS = \log(DT50) (4 - \log(Koc))$$

- GUS supérieur à 2,8 que l'on détecte en général dans les eaux souterraines.
- GUS inférieur à 1,8 n'y ont jamais été mis en évidence.

I.3.3. Contamination des sols

Une proportion importante d'un pesticide peut persister dans le sol liée aux colloïdes (Calderbank, 1989), l'absorption des pesticides du sol par les plantes est probablement une des voies majeures qui conduisent à leur accumulation le long des chaînes trophiques et, partant, à leur mise en contact avec l'homme et les animaux (Paterson et al., 1990).

I.4. Modes d'exposition aux pesticides

L'exposition aux pesticides se caractérise par une multiplicité des voies d'exposition, ces substances pouvant pénétrer dans l'organisme par contact cutané, par ingestion et par inhalation. La grande variété de produits rend difficile l'évaluation des expositions des populations, qu'il s'agisse de la population exposée professionnellement (agriculteurs ou manipulateurs), ou de la population générale (Merhi, 2008).

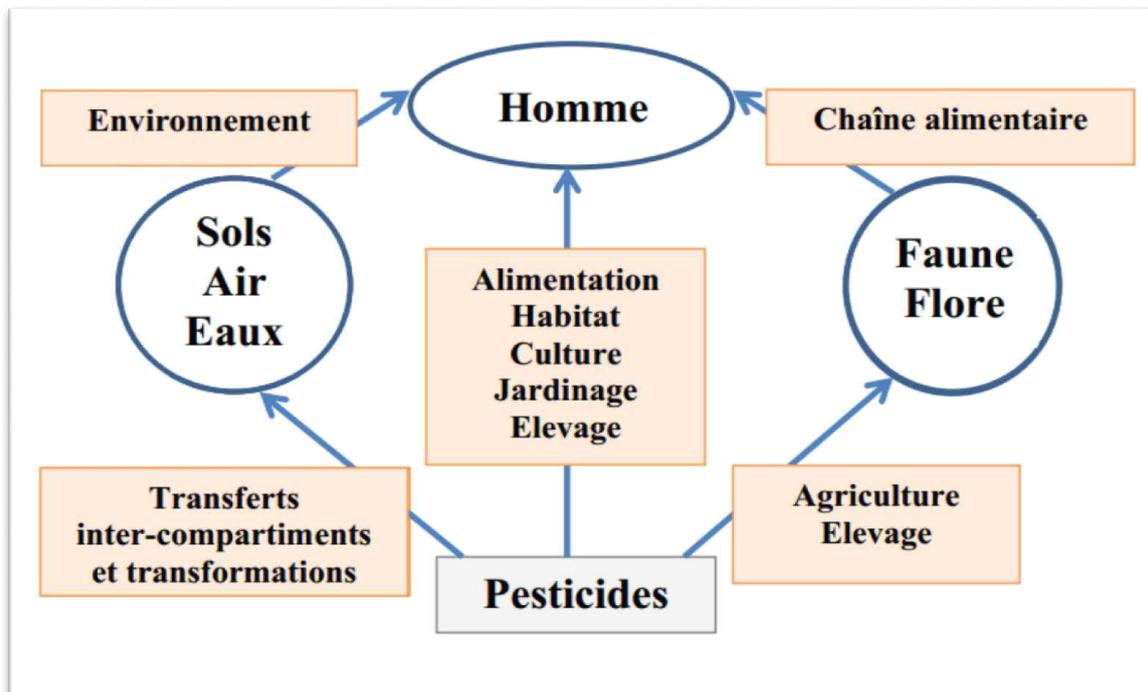


Figure 2. Modes d'exposition aux pesticides (CPP, 2002).

II. Insecticides néonicotinoïdes

II.1. Définition

Les insecticides sont des substances actives ou des préparations phytosanitaires ayant la propriété de tuer les insectes, leurs larves et/ou leurs œufs. Selon la composition chimique et le mode d'action il existe cinq familles principales :

- les organochlorés
- les organophosphorés
- les carbamates
- les pyréthroides
- les néonicotinoïdes (**Ramade, 2011**)

Les néonicotinoïdes entre dans la nouvelle classe des pesticides la plus importante, Se sont des insecticides de type neurotoxique agissant sur le système nerveux central des insectes, Ils comportent des dérivés soufrés ou chlorés ciblant dans le cerveau les récepteurs nicotiques de l'acétylcholine (**Guégan et al., 2017**).

II.2. Structure chimique des néonicotinoïdes

La structure chimique globale des néonicotinoïdes à chaîne ouverte et à système cyclique est composée par 3 segments différents (**Fig.3**) (**Iwasa et al., 2004 ; Jeschke et Nauen, 2008**).

- (i) un groupe « R1 » et « R2 », cyclique (imidaclopride, thiaméthoxame, thiaclopride) ou acyclique (acétamipride, nitenpyram, clothianidine, dinotefurane);
- (ii) un cycle « A » de 5 ou 6 atomes, avec un atome de chlore ;
- (iii) un groupe fonctionnel cyano ou nitro « [X-Y] », indispensable à l'activité insecticide.

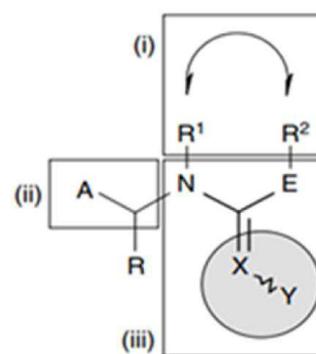


Figure 03. Structure des néonicotinoïdes (**Jeschke et Nauen 2008**)

En fonction de ce groupe fonctionnel, on peut classer les molécules selon des propriétés physiques communes (**Jeschke et Nauen 2008**) :

- **les nitroimines** : thiaméthoxame, dinotéfurane, nithiazine, imidaclopride, clothianidine et nitempyram.
- **les cyanoimines** : thiaclopride et acétamipride.

II.3. Propriétés physico-chimiques

Les néonicotinoïdes sont des insecticides avec des propriétés systémiques, c'est-à-dire absorbés par la plante et transportés vers tous les tissus (feuilles, fleurs, racines, tiges), se distinguent des autres pesticides systémiques par des pressions de vapeur peu élevées ce qui indique une très faible proportion à la volatilisation post-traitement de ces molécules (**Anderson et al., 2015**).

De plus, ces substances présentent simultanément une forte solubilité et de faible rétention dans le sol : sans pouvoir la quantifier, ces données suggèrent néanmoins une pénétration préférentielle post-traitement de ces substances dans le milieu aquatique (**Morrissey et al., 2015**).

De façon générale, les substances néonicotinoïdes semblent présenter des solubilités importantes et une persistance élevée dans le compartiment aquatique (**Armbrust et Peeler, 2002**).

II.4. Mécanisme d'action

Le système cholinergique représente chez les insectes la principale voie de transmission excitatrice du système nerveux central, l'acétylcholine est le neurotransmetteur libéré au niveau de la membrane présynaptique lié au récepteur nicotinique qui est une combinaison de 5 sous unités (**Fig.4**). La fixation de l'acétylcholine entraîne l'ouverture du canal cationique puis une dépolarisation de la cellule nerveuse, à l'origine de la transmission du signal nerveux (**palmer et al., 2013**).

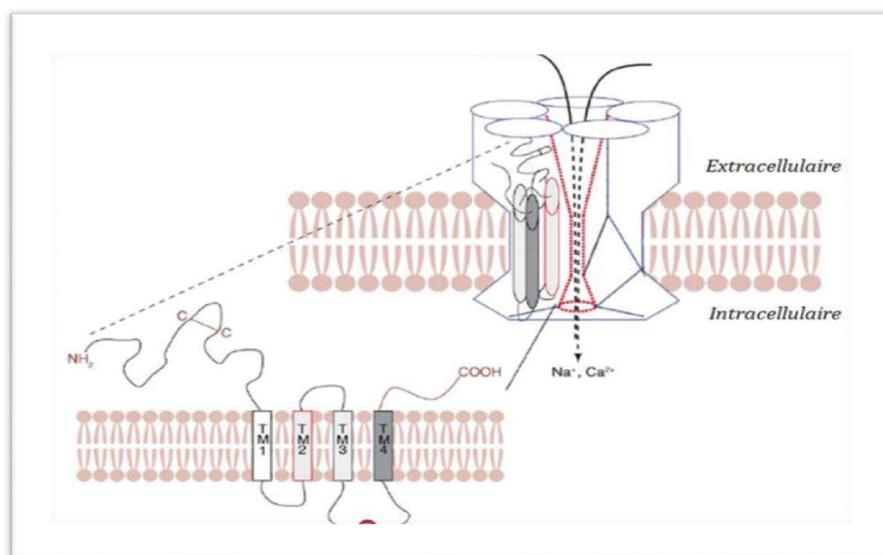


Figure 04. Structure du récepteur nicotinique à l'acétylcholine (en haut) et d'une de ses sous -unités (en bas) (Thany *et al.*, 2007).

Les Néonicotinoïdes, se lient aux récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine (nAChR), L'activation des nAChRs se traduit souvent par une augmentation de Ca^{2+} libre intracellulaire, tandis que leur suractivation génère un blocage engendrant une paralysie mortelle (Aïna *et al.*, 2015). De plus Iwasa (2004) confirme la paralysie et la mort des insectes suite à l'accumulation de l'acétylcholine au niveau du système nerveux central de l'insecte.

II.5. Effet toxicologique

Les Néonicotinoïdes pénètrent dans l'organisme par les voies : digestive et percutanée à travers la peau, comme pour la plupart des insecticides utilisés en agriculture, l'utilisation des Néonicotinoïdes dans l'agriculture pourrait avoir des effets sur la santé humaine et animale.

Les Néonicotinoïdes classé comme un "peu probable" cancérigène pour l'homme parce qu'il n'existe aucune preuve de cancérogénicité, neurotoxicité, mutagène et/ou de perturbation endocrinienne (Aïna *et al.*, 2015).

des études réalisés sur des rats et des souris mâles exposées à des néonicotinoïdes tel que acétamipride, imidaclopride, montrent une altération du système reproducteur suite à un effet au niveau du poids des testicules, de l'épididyme, de la vésicule séminale, de la prostate, de la quantité de sperme, du taux de testostérone, de la viabilité et de la motilité des spermatozoïdes (Zhang *et al.*, 2008), ainsi que l'épuisement et l'appauvrissement des lymphocytes et des hémorragies chez des rats exposés (Mondal *et al.*, 2009).

Le groupe scientifique de l’Autorité européenne de sécurité, indiquait que deux néonicotinoïdes, l’Acétamipride et l’Imidaclopride, pouvaient affecter le développement des neurones et des structures cérébrales chez l’humain conduisant à l’altération des fonctions telles que l’apprentissage et la mémoire de l’adulte. Les effets pourraient encore être majorés chez l’enfant ou le fœtus ainsi que pour d’autres populations à risque (femme enceinte, personne âgée, personne malade...) (EFSA, 2013).

II.6. Effets éco-toxicologique

L’usage des insecticides néonicotinoïdes peuvent présenter un risque pour la faune terrestre et aquatique non cible soit :

- **Directement** : par ingestion du produit formulé, par absorption par la peau suite à une pulvérisation, ou par la consommation de proies contaminées.
- **Indirectement** : par exemple en réduisant la ressource alimentaire (Gibbons *et al.*, 2014).

La contamination des écosystèmes aquatiques aux néonicotinoïdes survient par lessivage et ruissellement qui sont favorisés par leur nature hydrosoluble. Plusieurs espèces d’invertébrés aquatiques (crustacés, amphipodes et insectes en particulier) se trouvent donc directement exposées à ces insecticides sur de longues périodes, ce qui affecte leurs abondance, leur reproduction, leur développement, leur comportement et leur capacité à remplir leurs fonctions trophiques ou biogéochimiques.

De plus les effets négatifs des néonicotinoïdes sur ces niveaux trophiques aquatiques peuvent se traduire par l’altération de la base de la chaîne alimentaire aquatique étant donné le rôle crucial qu’ils jouent dans le transfert de nutriments et d’énergie entre les producteurs primaires et les consommateurs.

Par ailleurs, les populations d’insectes développent une résistance en vers ces insecticides nécessitant un apport supplémentaire de ces xénobiotiques dangereux pour l’environnement (Guégan *et al.*, 2017).

III. Bio-surveillance de l'environnement

III.1. Bio-surveillance

D'après **Garrec et Van Haluwyn (2002)**, La bio-surveillance est l'utilisation, à tous les niveaux d'organisation biologique (moléculaire, biochimique, cellulaire, physiologique, tissulaire, morphologique, écologique) d'un organisme ou d'un ensemble d'organismes, pour prévoir et/ou révéler une altération de l'environnement et pour en suivre l'évolution. Il existe deux approches possibles :

- passive, qui consiste à étudier des bio-indicateur naturellement présents sur le site d'étude.
- active, qui consiste à importer des bio-indicateur et sélectionnés, sur les sites à étudier.

En général, on distingue deux principes de biosurveillance :

III.1.1. La biosurveillance dite sensible

Qui utilise des organismes qui répondent au stress causé par la pollution. La mesure de cette sensibilité définit trois concepts :

- **Bio-indicateur**

On définit un bio-indicateur comme « un organisme ou un ensemble d'organismes qui, par référence à des variables biochimiques, cytologiques, physiologiques, éthologiques ou écologiques, permet de façon pratique et sûre de caractériser l'état d'un écosystème ou d'un écosystème et de mettre en évidence, leurs modifications naturelles ou provoquées » (**Lessire et al., 1997**).

- **Bio-marqueur**

Un biomarqueur peut être défini comme une réponse biologique pouvant être reliée à une exposition ou à des effets toxiques de contaminants chimiques présents dans l'environnement (**Peakall et Walker, 1994**). Selon le **NRC (National Research Council, 1987)**, les biomarqueurs peuvent être subdivisés en trois classes :

- ✓ **Les biomarqueurs d'exposition** sont des indicateurs de la contamination des systèmes biologiques par un (des) xénobiotique(s).
- ✓ **Les biomarqueurs d'effets** sont des altérations biochimiques, physiologiques, comportementales ou autres au sein d'un organisme, dont la réponse en fonction de son intensité, peut être assimilée à un trouble ou une maladie.

✓ **Les biomarqueurs de susceptibilité** sont des indicateurs d'une capacité inhérente ou acquise d'un organisme à répondre à un xénobiotique spécifique.

- **Bio-intégrateurs**

Permet d'évaluer les effets à long terme sur les communautés par l'étude de la densité et de la diversité spécifique d'une population au sein d'un écosystème. Les organismes sentinelles utilisés sont généralement les végétaux supérieurs, les bryophytes et les lichens (**Takahashi et Miyajima, 2010**).

III.1.2. La biosurveillance par accumulation

qui utilise des organismes qui ont la capacité de stocker les polluants dans leurs tissus (bioaccumulateurs) suite à des mécanismes de fixation et/ou de transfert (**Ramade, 2011**).

III.2. Les transferts des contaminants dans les milieux

- **La bioconcentration**

Elle est définie comme le processus par lequel une substance (ou un élément) se trouve dans un organisme vivant à une concentration supérieure à celle de son milieu environnant. Le facteur de concentration (FC) est défini comme une constante issue du rapport de la concentration d'un élément dans un organisme en état d'équilibre à sa concentration dans le biotope (**Kenaga, 1972**).

- **La bioaccumulation**

C'est un mécanisme physiologique désigne la capacité de certains organismes (végétaux, animaux, fongiques, microbiens) à absorber et concentrer dans tout ou une partie de leur organisme certain substance chimique donné à partir du milieu extérieur, ces substances non biodégradables vont se concentrer le long des divers maillons de la chaîne trophique, les concentrations maximales se trouvent chez les grands prédateurs (poisons, mammifères marins, et l'Homme) ou chez les mollusques filtreurs comme les moules (**Esser et Moser, 1982**).

- **La bioamplification**

C'est l'augmentation de la concentration d'un polluant au sein d'organismes du bas vers le haut de la chaîne trophique, il s'agit dans ce cas de la possibilité pour un toxique d'être cumulé par une chaîne trophique, si le toxique n'est pas dégradé ou éliminé, il va s'accumuler de plus en plus au niveau de chaque maillon de la chaîne alimentaire (**Gray, 2002**).

III.3. Intérêts de l'utilisation de l'escargot en Bio-surveillance

Les escargots comptent parmi les nombreux outils biologiques utilisés par les chercheurs afin de caractériser les pollutions du sol, d'identifier ou de prévoir les atteintes aux écosystèmes et de suivre leur évolution dans le temps et l'espace.

Les escargots (Mollusques, Gastéropodes, Pulmonés). Sont reconnus comme des indicateurs écologiques pertinents (**Berger et Dallinger, 1993 ; Cortet et al., 1999**), car :

- ✓ Ils intègrent des sources et des voies de contamination multiples (**Scheifler et al., 2006**).
- ✓ Facilité d'élevage et possibilité de contrôle.
- ✓ Ils présentent des réponses physiologiques (inhibition de croissance et de reproduction, mortalité), (**Notten et al., 2006**) et biochimiques quand ils sont exposés aux contaminants (**Regoli et al., 2006**).
- ✓ Ils possèdent des capacités de bioaccumulation importantes pour de nombreux polluants métalliques (**Viard et al., 2004**) et organiques (**Coeurdassier, 2001 ; Sverdrup et al., 2006**).
- ✓ Le choix préférentiel de cette espèce est principalement lié à sa distribution mondiale, traduisant ses capacités d'adaptation à des biotopes des sols et des climats variés (**Gomot, 1997**).

III.3.1. Voies d'exposition et d'absorption par l'escargot

A l'interface sol-plante-atmosphère, l'escargot intègre plusieurs sources de contamination accessible via différentes voies d'exposition (**Fig.5**).

- ✓ **Voie digestive** : par ingestion de nourriture (plantes et différents compositions du sol) (**Gomot et al., 1997**).
- ✓ **Voie cutanée** : Par diffusion des polluants du sol à travers l'épithélium du pied (**Coeurdassier et al., 2002**).
- ✓ **Voie respiratoire** : Par inhalation des différents gaz ou particules atmosphérique (**Regoli et al., 2005**).

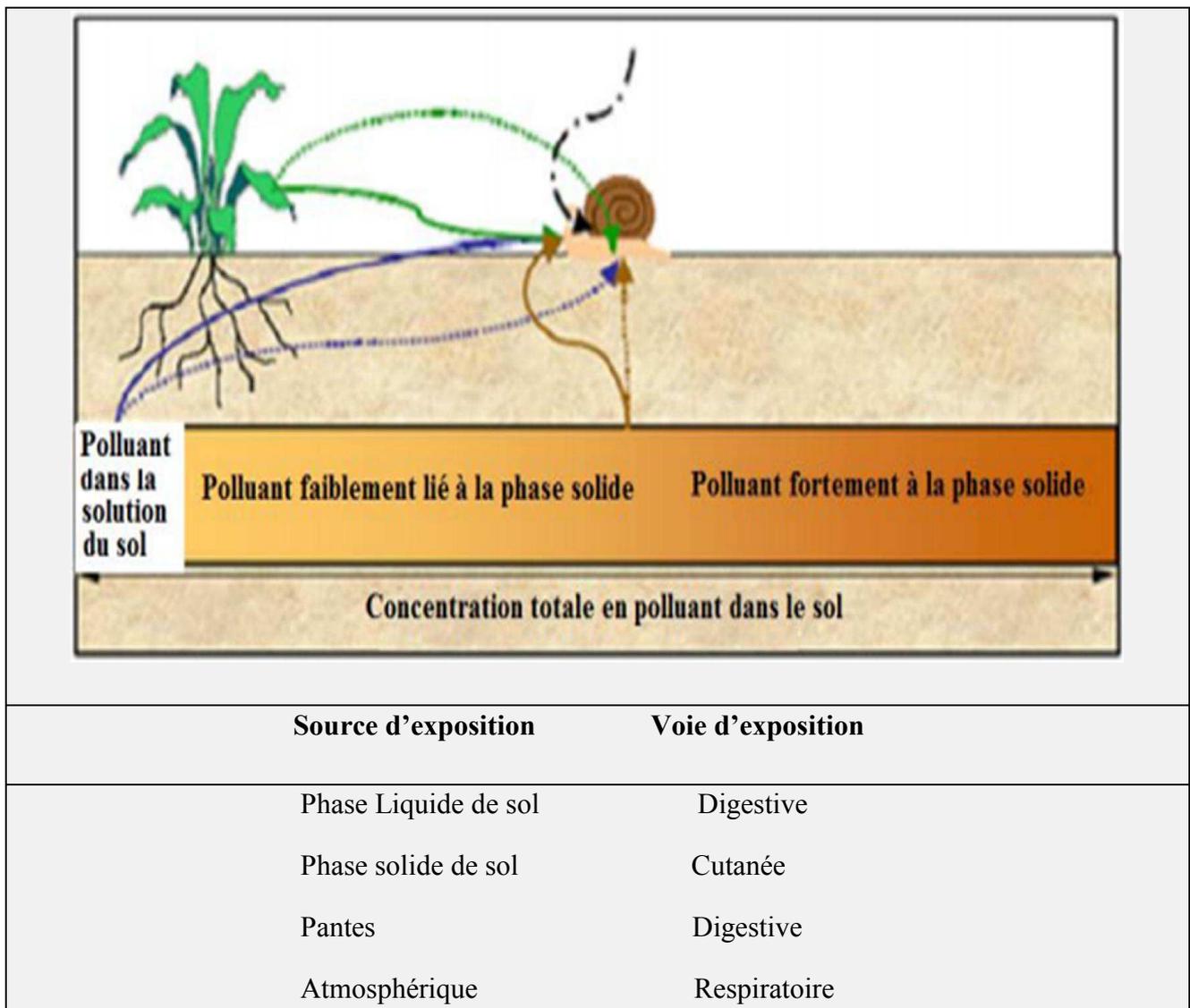


Figure 05. Voies et sources d'exposition de l'escargot aux polluants (De vaufleury et al., 2012).

IV. Matériels et Méthodes

Notre étude a été réalisée au niveau du laboratoire de toxicologie de département de biologie, université de Jijel.

IV.1. Matériels utilisés

IV.1.1. Matériels biologique

Le matériels biologique utilisé dans notre travail de recherche est l'escargot *Helix aspersa* appelés petit gris, est un mollusque gastéropode, pulmoné terrestre, aussi nommé *Cantareus aspersus*, *Cornu aspersum*, *Criptomphalus aspersus*, Il appartient à l'embranchement des mollusques, animaux à corps mous et dépourvus de squelettes. Il fait partie de la classe des gastéropodes, est une espèce ubiquiste, originaire des pays méditerranéens et de la façade atlantique française, très répandue en Europe et dans le monde (**Barker, 2001 ; Chevalier, 1977**).

➤ Hiérarchie taxonomique et nomenclature du Petit-Gris

Selon **Bonnet et vrillon, (1990)** sa position systématique est la suivante:

Règne: *Animal*

Embranchement : *Mollusques*

Classe : *Gastéropodes*

Sous -classe : *Euthyneurs*

Super ordre : *pulmonés*

Ordre: *stylommatophores*

Famille: *Helicidae*

Genre : *Helix*

Espèce : *Helix aspersa*



Photo 01. L'escargot *Helix aspersa* dans son milieu naturel (www.terrain.net.nz).

IV.1.1.1. Morphologie de l'escargot *Helix aspersa*

L'escargot *Helix aspersa* possède une coquille spiralée pouvant contenir tout son corps. Lorsqu'il est en extension, seul le pied apparaît, la masse viscérale étant retenue dans la coquille par le muscle columellaire (Pirame, 2003).

➤ Le Corps

Le corps d'un escargot est constitué d'un pied unique, d'une tête et d'une masse viscérale enroulée qui est placée à l'intérieur de la coquille.

- **La tête** : Elle porte deux paires de tentacules rétractiles (Fig.7), les plus grandes portent les yeux à leurs extrémités, alors que les plus petites ont un rôle tactile, La bouche est localisée sous les tentacules, Du côté droit derrière la tête se situe l'orifice génital (Bonnet et al., 1990).
- **Le pied** : c'est l'organe qui permet la reptation (Fig.7), il est constitué de deux parties différentes, la partie supérieure au bord de la coquille représente l'ouverture respiratoire et l'anus, et la partie inférieure contient des glandes qui secrètent sur le support un mucus de façon continue (Bonnet et al., 1990).
- **La masse viscérale** : La masse viscérale est enveloppée par le manteau et totalement enfermée dans la coquille (Fig.7), elle contient les organes de respiration, de circulation, de digestion et de reproduction (Beaumont et cassier, 1970).

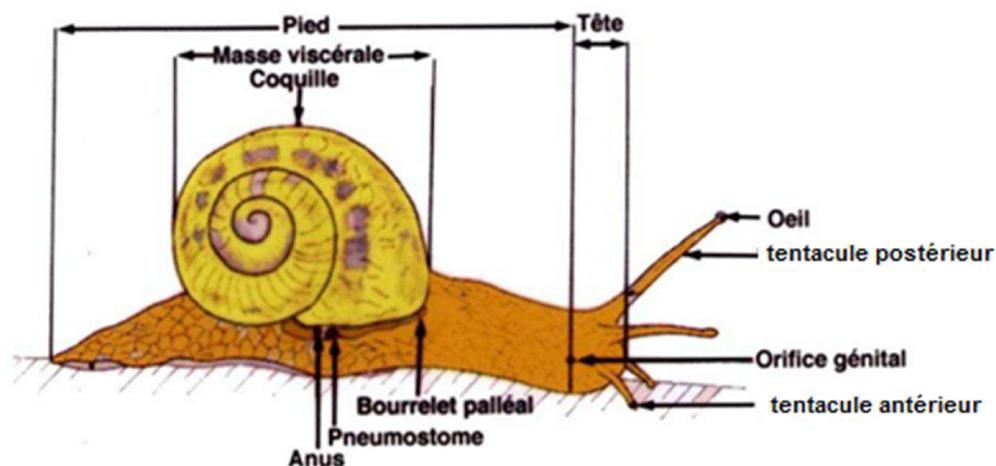


Figure 06. Morphologie externe de l'escargot (Kerney et al., 2006).

IV.1.1.2. Anatomie de l'escargot

Le corps d'un escargot consiste en un pied unique, une tête et une masse viscérale enroulée placée dans la coquille. La **Fig.8** montre l'anatomie d'*Helix aspersa*.

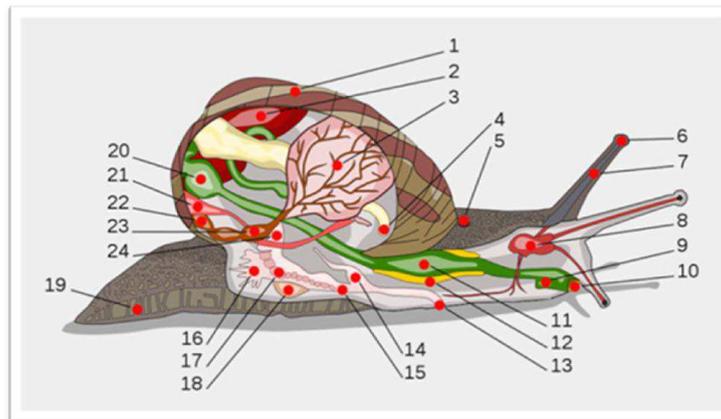


Figure 07. Schéma en coupe de l'anatomie d'un escargot (Quibik, 2007).

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.

➤ Rythme d'activité

L'escargot est un animale nocturne. Il se synchronise avec la photopériode naturelle et débute son activité au coucher du soleil avec un maximum six heures après celui-ci. Les trois facteurs qui influencent cette activité sont l'hygrométrie du milieu (air et sol), la température et l'intensité lumineuse (Bailey, 1981).

Lorsque les conditions de l'environnement sont défavorables ils restent à l'intérieur de leurs coquilles. Leur cycle de vie est marqué par deux phénomènes :

- **Estivation** : est activée lorsque les conditions sont défavorables à la vie active, c'est-à-dire que le climat est trop chaud ou trop sec.
- **Hibernation** : les escargots se mettent en hibernation en se "collant" sur un support ou en s'enfouissant dans le sol ou la litière et secrètent un épiphragme d'hiver Lorsque la température moyenne devient inférieure à 15°C.

IV.1.2. Matériels chimique

Nous avons utilisé dans notre expérimentation un mélange de deux insecticides appartenant à la famille des néonicotinoïdes, Le choix s’est fait selon une enquête sur l’utilisation des pesticides dans la wilaya de Jijel, Pour appuyer cette enquête, nous nous sommes rapprochés auprès des agriculteurs ainsi que des points de vente des produits phytosanitaires. Cette initiative à bien confirmé l’utilisation fréquente de l’imidaclopride et de l’acétamipride par les agriculteurs de la région de Jijel surtout dans le traitement de la fraise, le premier insecticide dont le nom commercial **FIDOR SUPER 70** Contenant 70% D’imidaclopride sous forme de poudre (fig.9).

Le deuxième insecticide dont le nom commercial **ACEPLAN** contenant 20% de l’acétamipride (fig.10).



Photo 02. Insecticide **FIDOR SUPER 70** (Imidaclopride 70%).



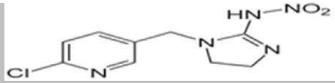
Photo 03. Insecticide **ACEPLAN** (Acétamipride 20%).

IV.1.2.1. Présentation d'imidaclopride

L'imidaclopride est un insecticide de la famille des néonicotinoïdes connue pour son effet fortement toxique (Lambin et al., 2001), Il a été synthétisé en 1985 et le premier enregistrement a été réalisé en France (1991), Il s'agit d'un insecticide systémique à large spectre qui agit comme un poison de contact et par ingestion, Il est souvent utilisé comme traitement de semence, particulièrement pour le maïs, le tournesol et le colza ainsi pour le sol ou le traitement foliaire (Sur et Stork, 2003).

➤ Caractéristiques Principales

Tableau 01. Caractéristiques principales de L'imidaclopride (FAO, 2015)

Caractéristiques principales	
Nom commun (Iso)	imidaclopride (BSI, E-ISO 1750, published)
Nom chimique	1-(6-chloro-3-pyridylméthyle)-N-nitroimidazolidine-2-ylidèneamine
Famille chimique	Néonicotinoïdes
Utilité	Insecticide
Molécules	
Formule	C ₉ H ₁₀ ClN ₅ O ₂

➤ Propriétés physico-chimiques

Tableau 02. Propriété physico-chimique de L'imidaclopride (Sanchez-Bayo et al., 2013)

Propriétés physico-chimiques	
Poids Moléculaire	255.7 g/mol
Solubilité dans L'eau	514 mg/L (20°C et pH 7)
Hydrolyse à pH=7	Très stable (355 jours)
Pression de Vapeur	4.10-7 mPa à 25°C (25°C)
Index GUS	3.76
Constante de Henry	2.10-10 Pa m ³ .mole-1
Coefficient de partage octanol/eau	0,57. Ce paramètre est noté log Kow

➤ **Données éco-toxicologiques :**

Tableau 03. Données éco-toxicologique d'imidaclopride.

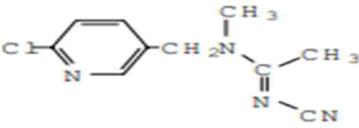
Données éco-toxicologique	Espèce	Références
DL50	Rats (orale) : 450 mg/kg (cutané) : 5.103 mg/kg/j Souris (orale) : 131mg/kg Abeille (orale) : 4 ng/abeille	(Elbert et al., 1998) (Charvet et al., 2004)
CL50	Rats (inhalation) : 69 mg/m ³ Poisson : > 82 mg.L ⁻¹ Daphnies : 85 mg.L ⁻¹ Algues : > 9 mg.L ⁻¹	(Jargot et al., 2015)
NOEL	Rats (orale) : 60 mg/kg pc/j Chien (orale) : 7,3 mg/kg pc/j	(Jargot et al., 2015)
LOEL	Rats (orale) : 63,3 mg/kg pc/j Chien (orale) : 31 mg/kg pc/j	(Jargot et al., 2015)
DJA	Rats 0,05 mg.kg ⁻¹ .j ⁻¹	(Elbert et al., 1998)

IV.1.2.2. Présentation d'acétamipride

L'acétamipride est un insecticide appartenant à la famille des Néonicotinoïdes. De formule moléculaire C₁₀H₁₁C₁N₄, il est un nouvel insecticide dont la structure est proche des insecticides nicotinoïdes, Il est très utilisé pour la protection des cultures contre les ravageurs agricoles et il est utilisé dans le traitement des semences par pulvérisation (**Uchigashima et al., 2012 ; Blacquiere et al., 2012**).

➤ **Caractéristiques principales d'acétamipride**

Tableau 04. Caractéristiques principales d'acétamipride (Abramovitch, 2002).

Caractéristiques principales	
Nom commun	Acétamipride
Nom chimique	(E)-N1-[(6-chloro-3-pyridyl)methyl]-N2-cyano-N1-methyl
Formule	C ₁₀ H ₁₁ ClN ₄
Famille chimique	Néonicotinoïde
Utilité	Insecticide
Molécule	

➤ **Propriétés physico-chimiques**

Tableau 05. Propriété physico-chimique D'acétamipride (Aïna et al., 2015).

Propriétés physico-chimiques	
Poids Moléculaire	222.68 (g/mol)
Solubilité dans L'eau	4.25 x 10 ³ mg/L à 25 °C.
Pression de Vapeur	1 x 10 ⁻⁸ (mm Hg)
Point d'ébullition (°C)	98.9 °C
Constante de Henry	5,3.10 ⁻⁸
Coefficient de partage octanol/eau	0.8 à 20 °C. Ce paramètre est noté log Kow
Constante de dissociation	0.7 à 25 °C. Ce paramètre est noté PKa
Hydrolyse (T_{1/2})	13 jours, (PH= 9, T > 35°C)

➤ **Données éco-toxicologiques De l'acétamipride**

Tableau 06. Données éco-toxicologiques de l'acétamipride.

Données éco-toxicologique	Espèce	Références
DL50	Rats (orale) : 195 mg/kg p.c (Cutanée) : 2000 mg/kg Abeille : 7.07 mg/bee Oiseaux (orale) : 98 mg/kg	(IWASA, 2004) (INERIS, 2015)
CL50	Rats (inhalation) : 1.15 mg/L	(INERIS, 2015)
NOEL	Mousse (carcinogécité) : 20.3/75.9 mg/kg/day Rat (neurotoxicité) : 14.8/16.3 mg/kg/day. (carcinogécité) : 7.1/8.8 mg/kg/day Chien : 13/14 mg/kg/day	(Abramovitch, 2002).
LOEL	Mousse (carcinogécité) : 65.6/214.6 mg/kg/day Rat (neurotoxicité) : 59.7/67.6 mg/kg/day. (carcinogécité) : 17.5/22.6 mg/kg/day. Chien : 32 mg/kg/day	(Abramovitch, 2002).
DJA	Rat : 0–0.07 mg/kg/p.c/j	(EFSA, 2014)

IV.2. Méthode

IV.2.1. Site de ramassage des escargots

Les escargots utilisés dans notre expérimentation sont des adultes de poids moyen 7,5 g, ont été collectés à partir de deux régions différentes loin de toute activité industrielle ou automobile couvrant la distribution naturelle de l'escargot *Helix apersa*. Le premier site concerné est un endroit naturel situé dans la commune de Taher, 18 km au Nord- Est de la ville de Jijel, Le deuxième site est prélevé dans un espace montagnard situé dans la commune de El-Djamaa Benni Hbib, 40 km au nord-est de la ville de Jijel.

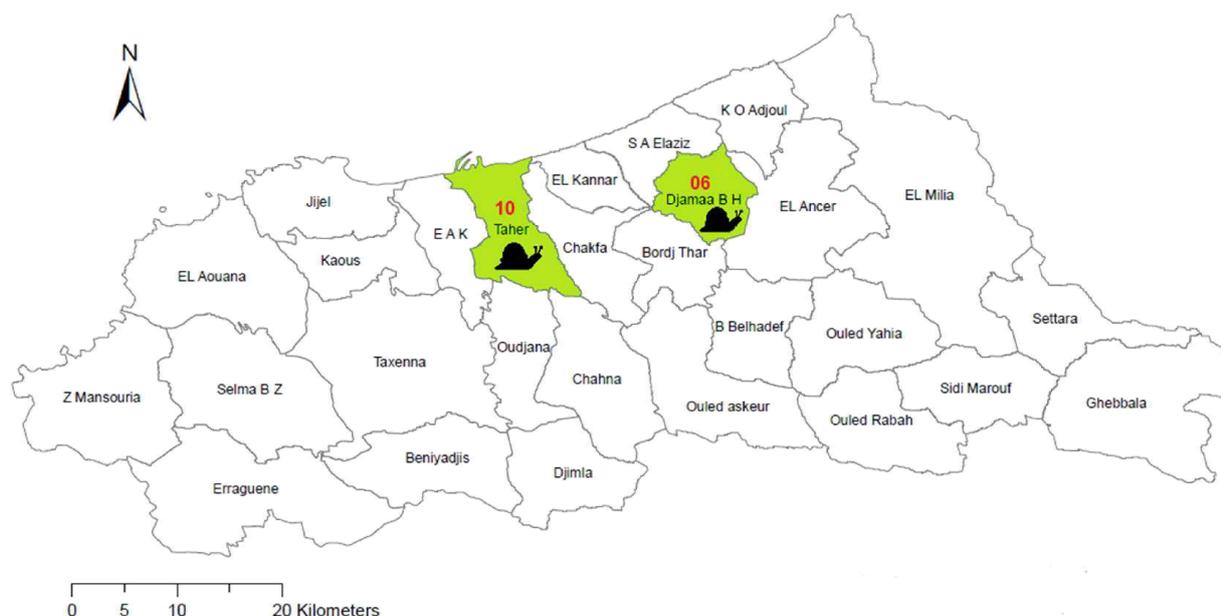


Figure 08. Cartographie des différents sites d'échantillonnage.

IV.2.2. Préparation des concentrations des deux insecticides

Pour chaque insecticide testé, nous tenons compte de la dose utilisée sur le terrain, considérée comme dose de référence. A partir de celle-ci, nous préparons par ordre logarithmique décroissant trois concentrations :

✓ Imidaclopride

La dose d'emploi de cet insecticide est de 25 g pour 100 litres d'eau, sachant que la masse de la matière active est de 70% de masse du produit, ce qui correspond à 0,175 g pour 1 litre d'eau, les concentrations testées pour cet insecticide sont donc : 50, 140 et 280 $\mu\text{g/g}$ d'alimentation.

✓ Acétamipride

La dose d'emploi de cet insecticide est de 20 g pour 100 litres d'eau, avec une densité de matière active est de 20% de masse du produit, ce qui correspond à 0,04 g pour 1 litre d'eau, les concentrations testées pour cet insecticide sont donc : 20, 40, 60 $\mu\text{g/g}$ d'alimentation.

✓ Les Mixtures

Les mixtures ont été testées aux doses citées ci-dessus (Tab.7).

Tableau 07. Composition des mixtures testées.

Mixture	Désignation	concentration en Acétamipride et Imidaclopride
Mixture 1 :	M1	50 µg Imidaclopride + 20 µg acétamipride
Mixture 2 :	M2	140 µg Imidaclopride + 40 µg acétamipride
Mixture 3 :	M3	280 µg Imidaclopride + 60 µg acétamipride

IV.2.3. Mode de traitement

Le traitement des animaux a été effectué dans des conditions contrôlées par addition des concentrations croissantes des pesticides dans 20 g d'alimentation (farine de blé). Chaque lot de 4 escargot, Un premier lot témoin, Le deuxième, le troisième et le quatrième lot d'escargots sont destinées aux traitements à la mixture M1, M2, M3 respectivement. On a retenu un traitement de 21 jours par le mélange de deux insecticides (Imidaclopride + Acétamipride), chaque deux jour la nourriture est renouvelée, au moment du nettoyage des boîtes.



Photo 04. Photographie des escargots traités par le mélange des insecticides.

IV.2.4. Préparation et sacrifice des animaux

Après la durée du traitement (21 jours), les escargots sont mis à jeun pendant 48 heures afin que le contenu de leur tube digestif soit vide, et d'éviter d'éventuelles interférences entre les contaminants présents dans l'aliment ingéré et les quantités de contaminants réellement accumulées dans les tissus. Les boîtes sont lavées après 24 heures pour éviter la réingestion des fèces. Les

animaux sont ensuite sacrifiés par congélation à -20°C Puis disséqués à l'aide de ciseaux et de pinces. Le rein et l'hépatopancréas sont excisés, et lavés à l'eau physiologique (0.9 %) (Coeurdassier, 2001).

IV.3. Paramètres étudiés

IV.3.1. Paramètres physiologique

IV.3.1.1. Le poids frais de l'escargot (tissus mous+ la coquille)

Les escargots sont pesés individuellement avant le traitement à l'aide d'une balance de précision, puis repartis en 4 lots de poids moyen de 7,5 g, et aussi après le traitement pour évaluer les effets de ces insecticides sur le poids de l'escargot.

IV.3.1.2. Diamètre de la coquille

Le diamètre est mesuré avec un pied à coulisse (avec une précision de 10^{-1} mm). Avant et après le traitement par la mixture des insecticides tant que un paramètre permet de suivre la croissance des individus depuis le stade infantile jusqu'au stade adulte, il permet de révéler l'effet de ces insecticides.

IV.3.2. Paramètres Biochimiques et enzymatique

IV.3.2.1. Dosage des protéines totales

Selon la méthode de **Bradford (1976)** ; qui utilise le bleu brillant de commassie G 250 (BBC) comme réactif et une solution 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.

IV.3.2.2. Dosage des glucides totaux

Le dosage des glucides a été réalisé selon la méthode de **Duchateau et Florkin (1959)**. Cette méthode qui utilise l'antrone comme réactif et une solution mère de glucose comme standard. Dont la lecture des absorbances est obtenue par un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 620 nm.

➤ Mode opératoire

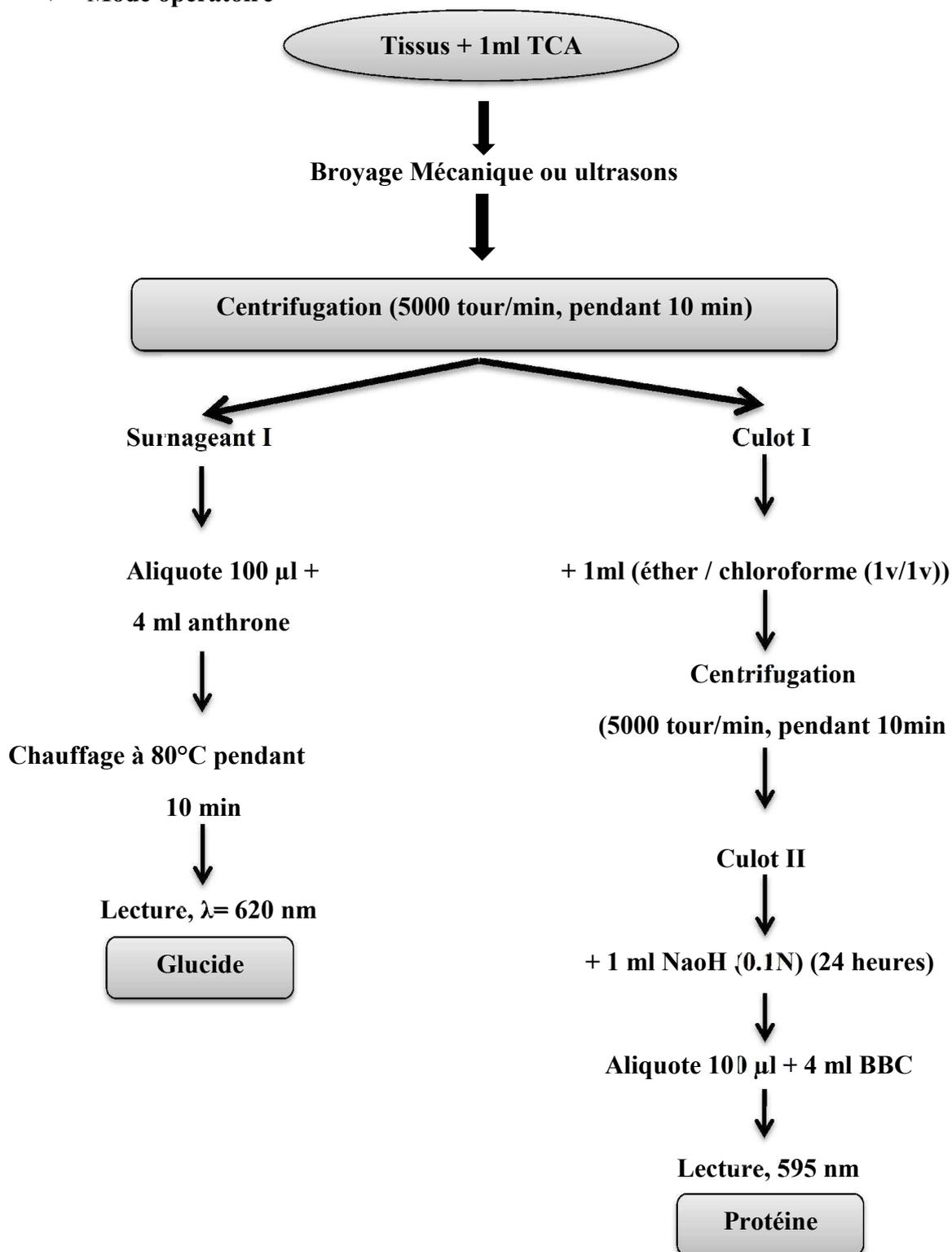


Figure 09. Méthodes d'extraction et dosage des métabolites (Bradford, 1976 ; Duchateau & Florkin, 1959 ; Shibko et al., 1966)

IV.3.2.3. Dosage de l'activité enzymatique catalase

Selon la méthode de **Regoli et Principato (1995)**, 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 (H₂O₂).

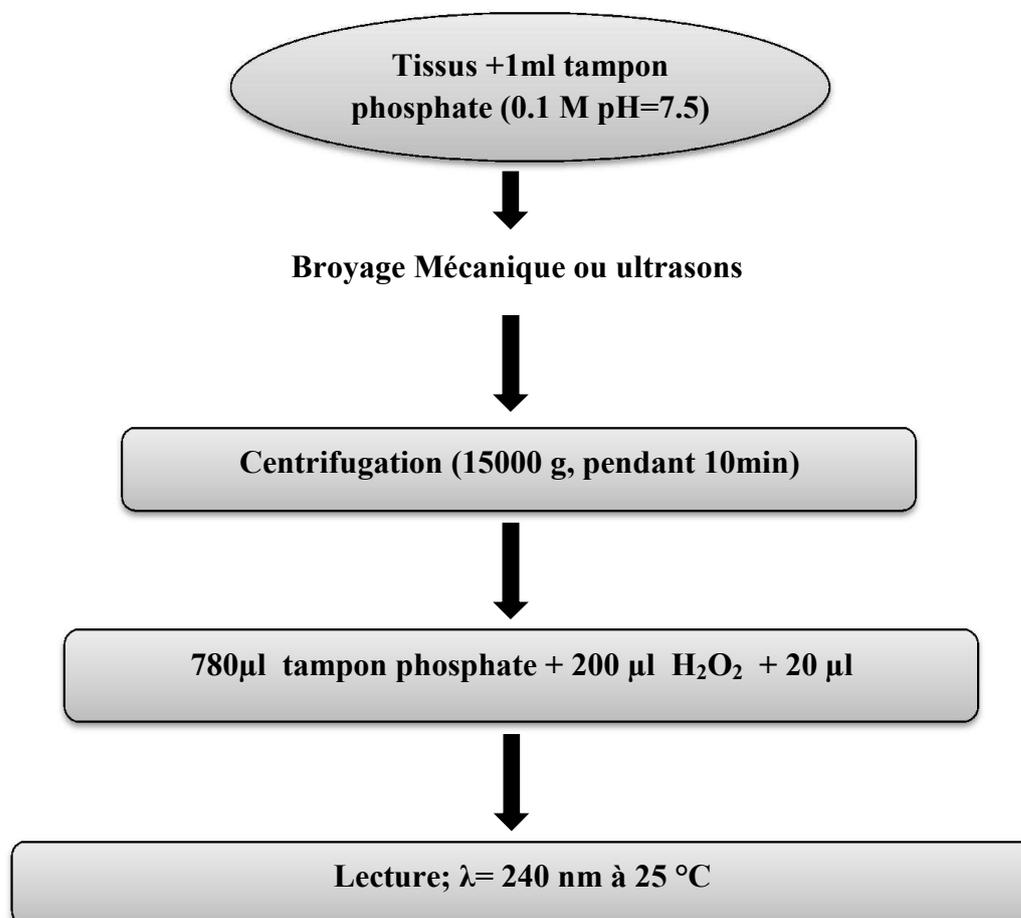


Figure 10. Mesure de l'activité enzymatique Catalase (**Regoli et Principato, 1995**).

L'activité catalase (CAT) est exprimée en μmol d' H₂O₂ par minute et par mg de protéines selon la formule suivante :

$$X (\mu\text{M}/ \text{mn}/ \text{mg de protéines}) = \Delta \text{Do} / (\epsilon \times L \times \text{mg de Pro})$$

X : μmoles de H₂O₂ consommées par minute et par mg de protéines.

ϵ : Coefficient d'extinction ($0,040 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{Cm}^{-1}$).

L : Longueur de la cuve utilisée (1cm).

ΔDO : différence de la densité optique obtenue après hydrolyse du substrat.

IV.3.2.5. Analyse Histologique

Nos coupes histologiques ont été réalisées au niveau de laboratoire d'anatomopathologie de centre hospitalier spécialisé Abdallah Nouaouria –El Bouni – Annaba.

IV.4. Etude statistique

Les résultats sont donnés sous forme de moyenne et d'écart type, à l'aide de logiciel Graphpad prism (8.0.2) et l'Excel. L'évaluation statistique est effectuée en comparant les moyennes des groupes traités par la Mixture à celles des groupes témoins en utilisant le test t de Student:

- Ns : différence non significative.
- $p < 0,05$; significative.
- $p < 0,01$; hautement significative.
- $p < 0,001$; très hautement significative.

V.1. Résultats

V.1.1. Effet de traitement par les insecticides sur les Biomarqueurs physiologiques chez *Helix aspersa*

V.1.1.1. Evaluation du poids des escargots

La figure (11) met en évidence l'évolution du poids moyen des escargots avant et après exposition à la mixture des insecticides pendant 21 jours. A la fin de l'expérience nous remarquons que le poids des escargots traités avec les différentes concentrations de la mixture des insecticides tend à diminuer de façon non significative ($p>0.05$) par rapport aux témoins.

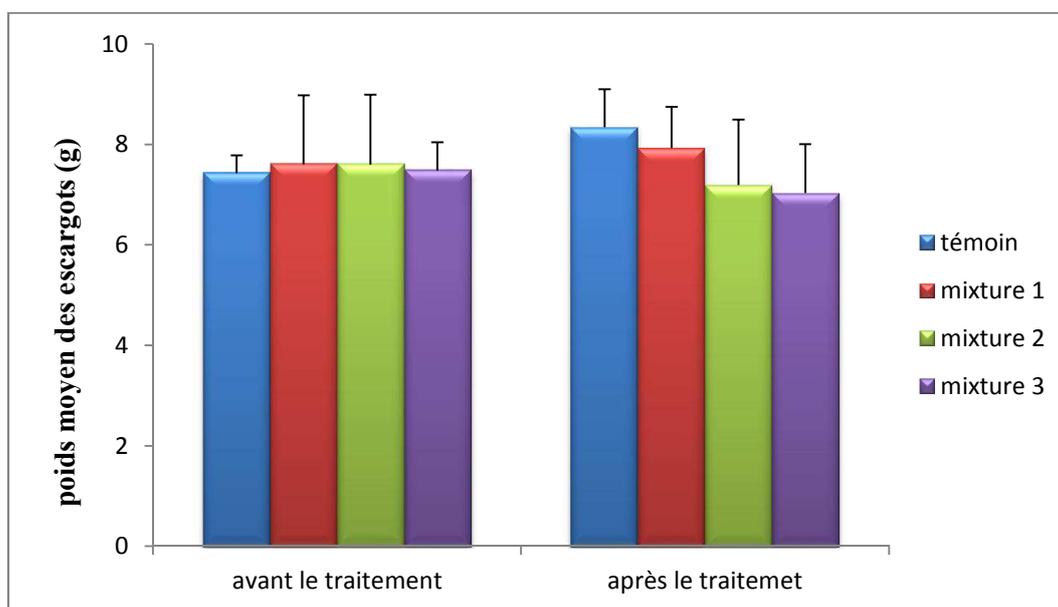


Figure 11. Effet de la mixture d'insecticides sur l'évolution du poids moyens des des escargots *Helix aspersa*.

Aucune différence significative ($P>0,05$).

V.1.1.2 Evaluation du diamètre de la coquille des escargots

La figure (12) illustre l'évolution du diamètre de la coquille D des escargots témoins et traités par la mixture des insecticides imidacloprides et acétamipride pendant 21 jours.

Nos résultats montrent qu'il y'a une différence significative ($P<0,05$) entre le diamètre D des témoins et les traités par la mixture 2 et la mixture 3 des insecticides après la période du traitement 21 jours.

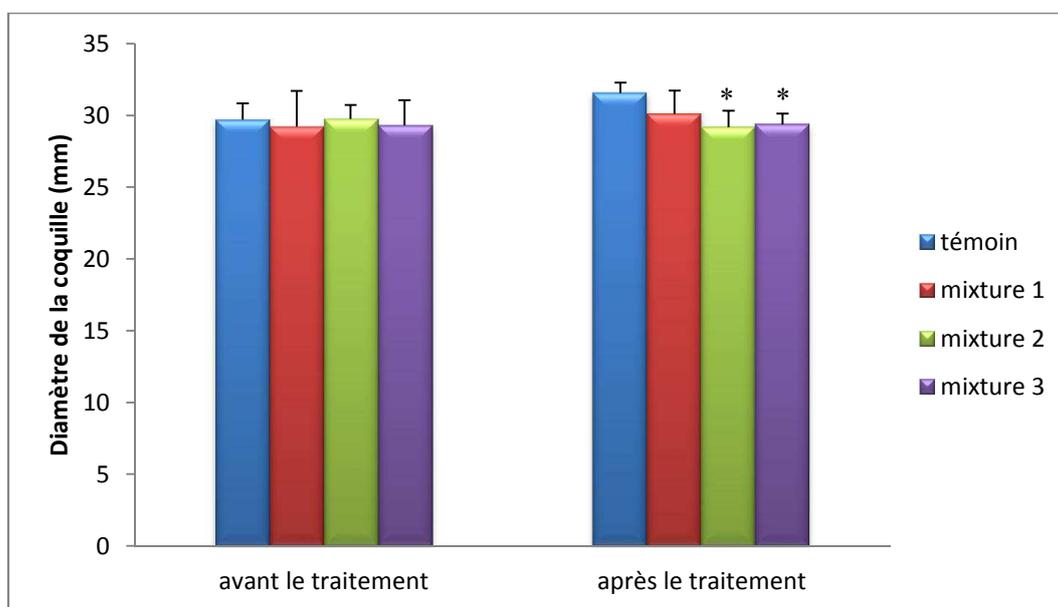


Figure 12. Effet de la mixture d'insecticides sur l'évolution du diamètre de la coquille des escargots *Helix aspersa*.

Les valeurs sont exprimées en moyennes et écarts types, Les astérisques symbolisent une différence significative dans les moyennes de diamètre des coquilles chez les escargots soumis aux différentes concentrations par rapport à celles des escargots témoins.

*différence significative ($P < 0,05$).

V.1.2. Effets de traitement des insecticides sur les paramètres biochimiques et enzymatiques

V.1.2.1. Effets de traitement des insecticides sur le taux de glucides totaux

La figure (13) représente les variations du taux de glucides totaux au niveau des organes analysés (Hépatopancréas, rein).

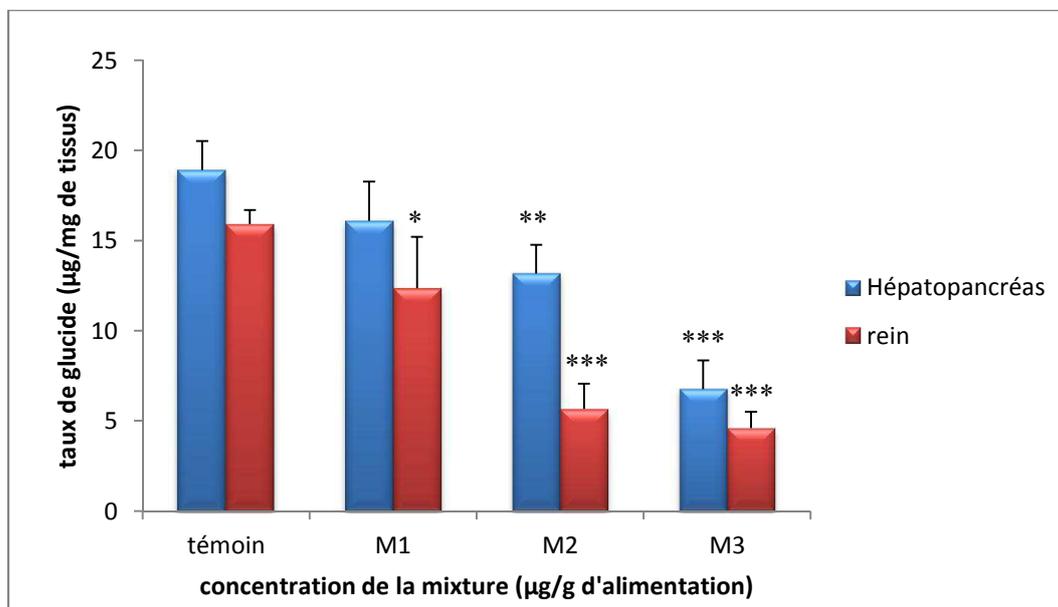


Figure 13. Effet de la mixture d'insecticides sur le taux de glucides totaux des escargots *Helix aspersa*.

Les valeurs sont exprimées en moyennes et écart types, Les astérisques symbolisent une différence significative dans les moyennes du taux des glucides chez les escargots soumis à différentes concentrations par rapport à celles des escargots témoins.

* différence significative $p \leq 0.05$, *** différence très hautement significative $p \leq 0.001$

- **Au niveau de l'hépatopancréas :** le contenu en glucide diminue de façon non significative ($p > 0.05$) à la mixture 1 par rapport au groupe témoin, cependant ces teneurs sont très hautement significative ($p \leq 0.001$) à la mixture 2 et 3 des escargots traités par rapport au témoin. Le taux des glucides totaux diminue pour atteindre un minimum de 6,75625 µg/mg de tissus pour la mixture 3 avec une valeur de 18,9125 µg/mg de tissus chez les témoins.
- **Au niveau du rein :** le contenu en glucide diminue de façon significative ($P < 0,05$) à la mixture 1 par rapport au groupe témoin, avec une différence hautement significative aux mixtures 2 et très hautement significatives à la mixture 3 par rapport aux témoins. Le taux des glucides totaux diminue pour atteindre un minimum de 4,6 µg/mg de tissus à la mixture 3 avec une valeur de 15,9125 µg/mg de tissus chez les témoins.

V.1.2.2. Effets de traitement des insecticides sur le taux de protéines totales

La figure (14) met en évidence les variations du taux de protéines totales des escargots en fonction des différentes concentrations ingérées.

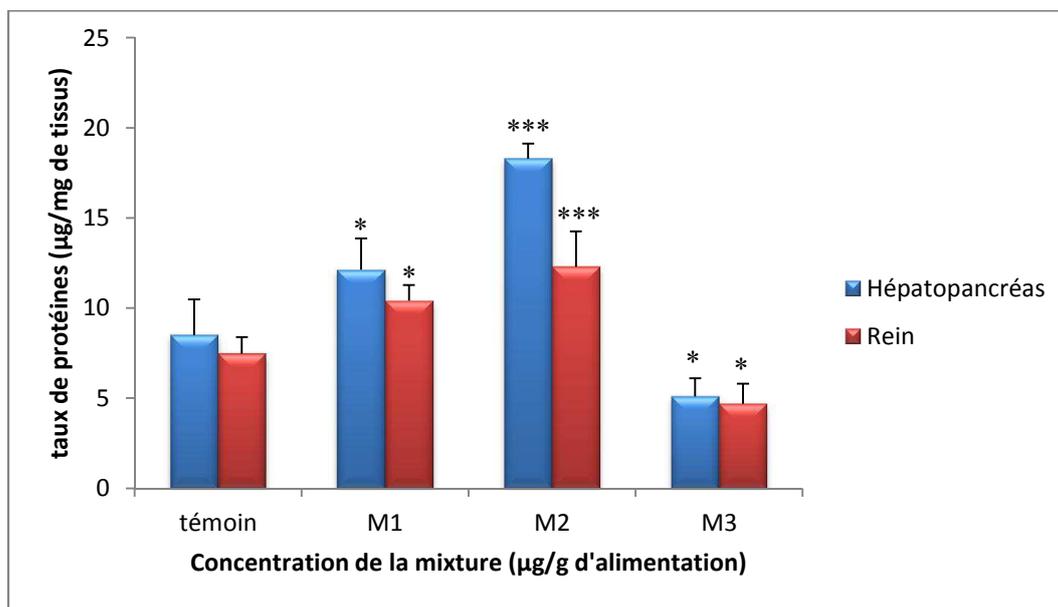


Figure 14. Effet de la mixture d'insecticides sur le taux de protéines totales des escargots *Helix aspersa*.

Les valeurs sont exprimées en moyennes et écarts types, Les astérisques symbolisent une différence significative dans les moyennes du taux des protéines chez les escargots soumis à différentes concentrations par rapport à celles des escargots témoins.

* différence significative $p \leq 0.05$, *** différence très hautement significative $p \leq 0.001$.

- **Au niveau de l'hépatopancréas :** le traitement des escargots avec la mixture 1 induit une augmentation de façon significative ($p \leq 0.05$) du taux de protéines totales par rapport aux témoins, ainsi qu'une augmentation très hautement significative avec la mixture 2 ($p \leq 0.001$), et une diminution très hautement significative ($p \leq 0.001$) avec la mixture 3. Le taux de protéines totales augmente pour atteindre une valeur de 18,28767 µg/mg de tissus pour la mixture 2, et diminue pour atteindre une valeur de 5,10273 µg/mg de tissus à la mixture 3.
- **Au niveau du rein :** après traitement nous constatons une augmentation significative ($p \leq 0.05$) pour la mixture 1 et une augmentation très hautement significative avec la mixture 2 par rapport aux témoins. Nous remarquons aussi une diminution très hautement significative ($p \leq 0.001$) avec la mixture 3. Le taux de protéines totales augmente pour atteindre une valeur 12,2945µg/mg de tissus avec la mixture 2, et diminue pour atteindre un minimum de 4,6917 pour la mixture 3.

V.1.2.3. Effets de traitement des insecticides sur l'activité Catalase

La figure (15) montre l'évolution de l'activité Catalase au niveau de l'hépatopancréas et le rein des escargots traités par les concentrations croissantes de la mixture des insecticides.

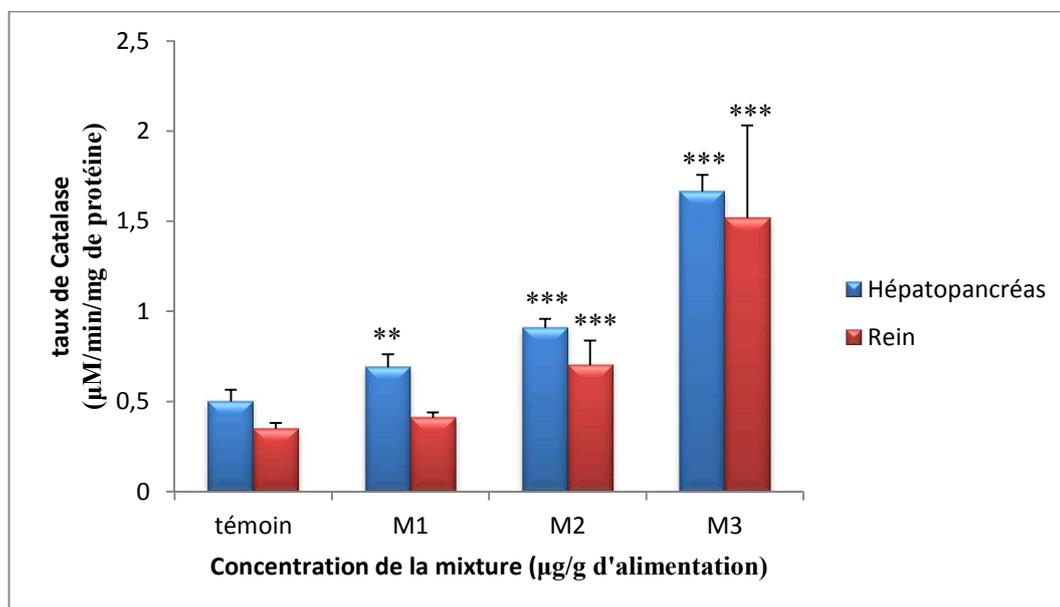


Figure 15. Effet de la mixture d'insecticides sur l'activité enzymatique catalase des escargots *Helix aspersa*.

Les valeurs sont exprimées en moyennes et écarts types, Les astérisques symbolisent une différence significative dans les moyennes de l'activité enzymatique Catalase chez les escargots soumis à différentes concentrations par rapport à celles des escargots témoins.

** hautement significative $p \leq 0.01$, *** très hautement significative $p \leq 0.001$.

- **Au niveau de l'hépatopancréas :** Nos résultats montrent une augmentation hautement significative ($p \leq 0.01$) de l'activité catalase avec la mixture 1, et très hautement significative ($p \leq 0.001$) avec les mixtures 2 et 3 par rapport aux escargots témoins. L'activité tend à augmenter pour atteindre une valeur de $1,6654 \mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine par la mixture 3. Alors qu'elle était $0,4998 \mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine chez les escargots témoins.
- **Au niveau du rein :** L'activité catalase chez les escargots traités par la mixture 1 augmente de façon non significative ($P > 0,05$) par rapport aux escargots témoins. Cette activité augmente de façon très hautement significative $p \leq 0.001$ avec les mixtures 2 et 3 par rapport aux témoins.

V.1.3. Effet de traitement par les insecticides sur l'Hépatopancréas et le rein des escargots *Helix aspersa* : Etude Histopathologique

V.1.3.1. Effet sur l'Hépatopancréas

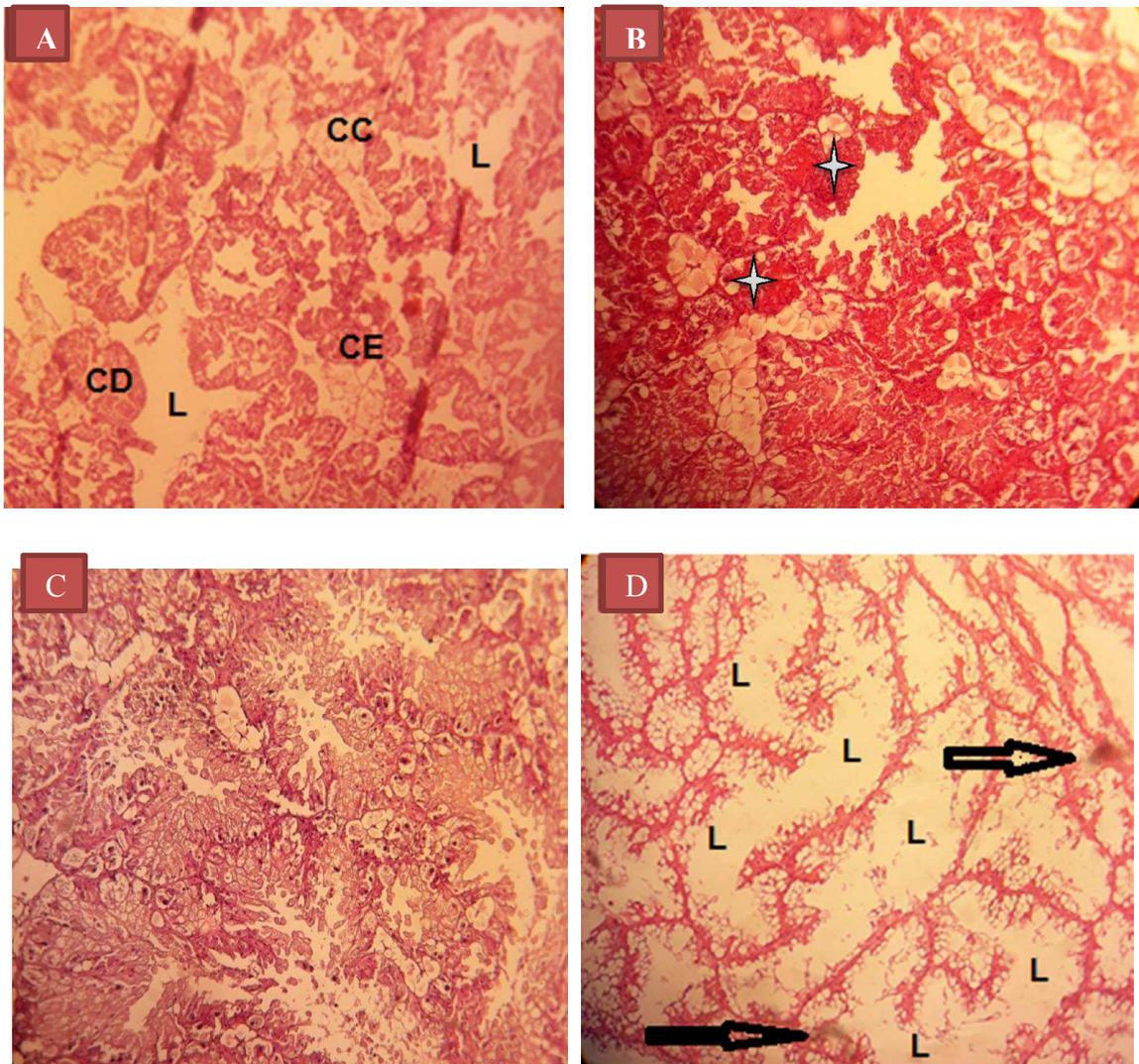


Planche 01. Coupes histologiques de l'hépatopancréas des escargots témoins (A) et traités par les différentes mixtures de pesticide (B), (C), (D), (G×40).

Légende : L : Lumière de l'acini, CD : Cellule digestive, CE : Cellule excrétrice, CC : Cellule à Calcium,  : Nécrose cellulaire,  : Hypertrophie cellulaire.

La Planche (01), illustre des coupes histologiques effectuées au niveau de l'hépatopancréas chez les escargots témoins et traités. Ainsi, chez les témoins (A), l'hépatopancréas est constitué de lobules formés d'un ensemble d'acini, qui renferment 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'examen histologique de l'hépatopancréas des escargots traités par la mixture 1 (B) met en évidence des acini avec un contour irrégulier, accompagné d'une dégénérescence des cellules digestives, avec un aspect inflammatoire des tissus ainsi que la disparition de la lumière de l'acini.

Pour la mixture 2 (C), nous observons les mêmes altérations tissulaires accompagnées en plus d'une détérioration de la membrane basale de l'acini.

En ce qui concerne les traités par la mixture 3 (D), l'examen histologique de l'hépatopancréas, met en évidence une destruction du parenchyme de l'acini, de plus nous avons observés une lumière plus large, des nécroses cellulaires.

V.1.3.2. Effet sur le Rein

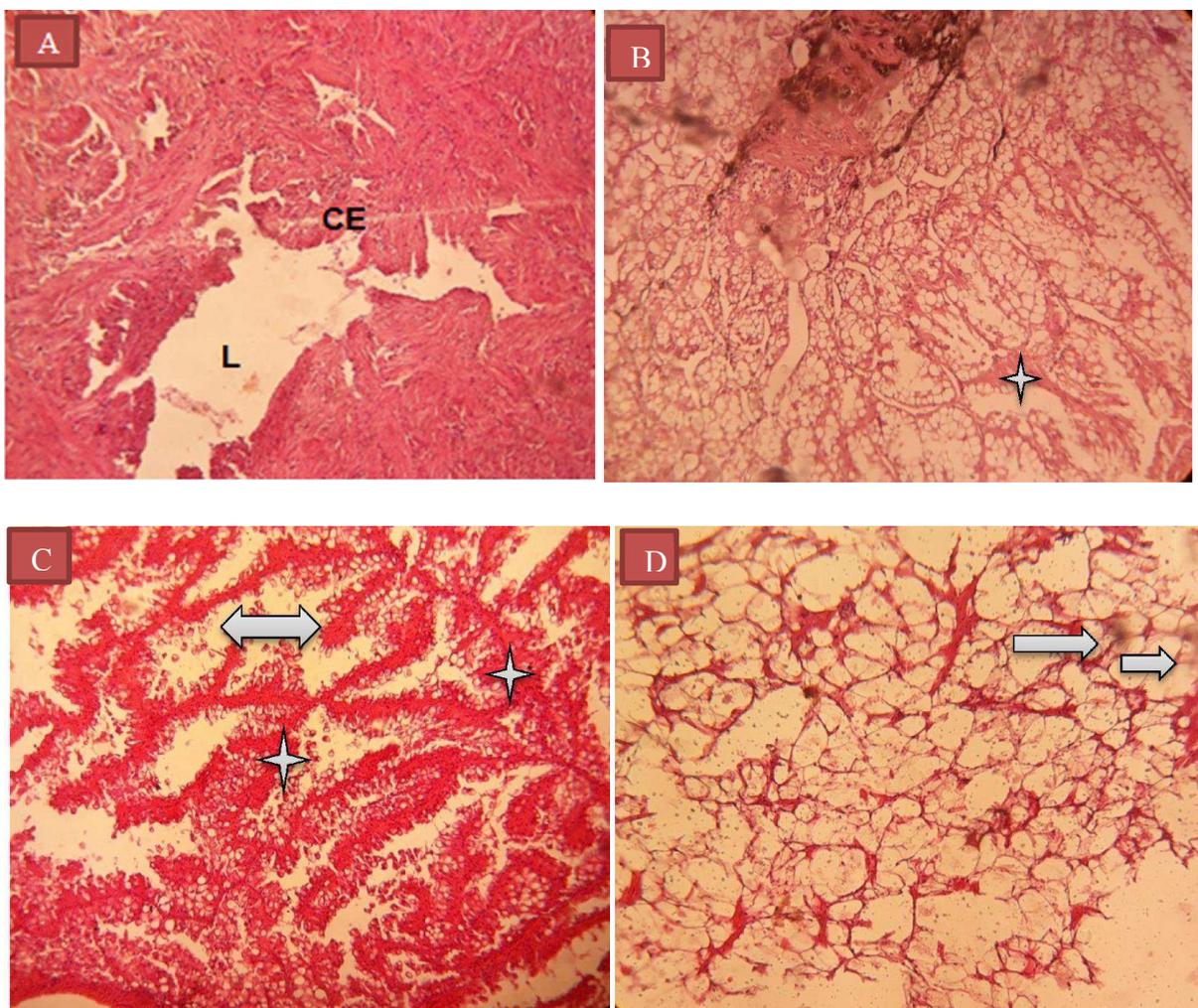


Planche 02. Coupes histologiques du rein des escargots témoins (A) et traités par les différentes mixtures des pesticides (B), (C), (D), (G×40).

Légende : L : Lumière de l'acini, CE : Cellule excrétoire, \rightleftarrows : Hyperplasie, \star Hypertrophie cellulaire.

L'aspect du tissu rénal chez les escargots témoins et traité est illustrés dans la Planche(02). Ainsi, chez les escargots témoins (A), le rein est constitué d'un épithélium excréteur renferment un seul type de cellule (de cellule excrétrice).

L'examen histologique du rein des escargots traités par les mixtures 1 et 2 (B), (C) des pesticides met en évidence des acini avec un contour irrégulier, accompagné d'une dégénérescence des cellules excrétoires et, une hyperplasie du tissu conjonctif.

Concernant les tissus des traités par la mixture 3 (D) des pesticides, nous remarquons une hypertrophie des cellules excrétrices parallèlement à une prolifération du tissu conjonctif engendrant ainsi la disparition de leur membrane (**Chabicovsky et al., 2004**).

V.2. Discussion

L'utilisation intensive des pesticides sur les cultures et les forêts au cours des dernières années pour la lutte contre les ravageurs agricoles est de plus en plus répandue, causant de graves problèmes aux organismes non ciblés conduisant à un certain nombre de processus biochimiques pathologiques et perturbation cellulaire (**Padmaja et Rao, 1994**).

Toutes les études sur les bioindicateurs, convergent vers l'idée que les espèces *Helix aspersa* sont des excellents modèles biologiques pour toutes les études toxicologiques et pour la compréhension des mécanismes d'action des xénobiotiques in situ. C'est dans ce contexte que se situe notre travail.

Dans cet étude nous nous sommes intéressés à l'effet de mixture de deux insecticides appartenant à la famille des néonicotinoïdes (Imidaclopride, Acétamipride) sur les paramètres physiologiques et biochimiques des escargots après exposition à des concentrations croissantes de ces pesticides pendant une période de 21 jours dans des conditions contrôlées, ainsi qu'une étude histologique.

Dans notre étude, nous avons notés en premier lieu une réduction du poids et du diamètre de la coquille des escargots exposés aux traitements par la mixture de deux insecticides néonicotinoides en comparaison avec les témoins.

Nos résultats sont en accord avec les travaux de **Coeurdassier et al. (2001)**, qui ont observé une diminution dose-dépendante de la croissance et de la survie des escargots induite par le diméthoate, cette perte de poids peut être expliquée par la diminution de la consommation alimentaire que nous avons constatée particulièrement chez les animaux traités par les différentes concentrations.

Ainsi (**Grara et al., 2015**) ont fait des constatations similaires en présence d'une contamination par des nanoparticules métalliques (ZnO) à des concentrations croissantes, pendant quatre semaines. Ils ont expliqué cette perte de croissance soit par une toxicité directe en liaison avec des dommages irréversibles sur certaines enzymes ou sur l'ADN, ou soit de manière indirecte provoquant des perturbations sur des processus physiologiques importants en entrant en compétition avec certains éléments essentiels tels que le calcium (Ca).

Dans la même optique **Swaleh et Ezzughayyar (2000)**, ont montré que les escargots exposés à des concentrations croissantes de cadmium et de cuivre pendant quatre semaines inhibé significativement les taux d'alimentation et de poids après 1 semaine et 3 semaines d'exposition au Cd et au Cu, respectivement. Peut s'expliquer soit par un refus de se nourrir des contaminants et donc un phénomène de répulsion, soit par une toxicité irréversible.

Le mécanisme impliqué dans l'inhibition de la croissance des escargots qui est ingérés de la nourriture contaminée est difficile à identifier, d'ailleurs **Gomot (1997)**, ou encore **Hames et hopkin (1989)**, ont expliqué ces résultats soit par inhibition de synthèse d'une hormone de croissance soit par des altérations de la sécrétion des enzymes digestives.

Concernant l'évolution du diamètres de la coquille, nous remarquons une diminution significative dose-dépendante du diamètre de la coquille des escargots traités aux mixtures à partir de la M2. Nos résultats vont dans le même sens que celui de **Smina (2013)**, qui a mis en évidence une perturbation des diamètres de la coquille des escargots après exposition aux thiaméthoxam (insecticide néonicotinoïde) et téfluthrine (insecticide pyréthriñoïde), et ceux de **(Grara et al., 2015)** qui ont mis en évidence une diminution du diamètre de la coquille en présence des poussières métalliques.

Les glucides ou hydrates de carbone sont des composés de carbone, d'hydrogène et d'oxygène, dans l'organisme leur principale fonction est de stocker et fournir de l'énergie (**Brooker, 2000**). Dans les conditions de stress le taux de glucose diminué de façon hautement significative pour assurer un apport suffisant d'énergie (**Carefoot et al., 1993**).

Dans notre travail nous avons noté que le taux de glucides diminue d'une manière dose-dépendante après l'exposition des escargots à la mixture des insecticides imidaclopride et acétamipride au niveau des deux organes ciblés (Hépatopancréas et rein).

Nos résultats sont conformes avec ceux de **El-wakil et Radwan (1991)**, qui ont suggèrent que l'épuisement du taux de glycogène dans les tissus de l'escargot *Eubania Vermiculata* exposés à des pesticides (Methomyl, Thiodicarb, Metaldehyde) serait dû soit à un taux accru de dégradation du glycogène (glycogénolyse) ou à une raison d'une diminution de la concentration de taux de glycogénèse.

D'un autre côté, **Padmaja et Rao (1994)**, suggèrent que l'épuisement du taux de glycogène dans les tissus de l'escargot d'eau douce *Bellamya dissimilis*, exposés à des pesticides (Endosulfan, Methyl-parathion, Quinalphos, Nuvan) peut être dû à des effets directs de l'utilisation de ces composés pour la production d'énergie, ou suite d'une hypoxie induite par les pesticides.

Pour la même espèce exposée aux hydrocarbures **Zouaghi et al. (2015)**, suggère une diminution du taux de glucides totaux lors de l'exposition des escargots aux hydrocarbures, et cela pour assurer un apport suffisant d'énergie.

Les protéines sont de grosses molécules complexes contenant de carbone, de l'hydrogène de l'oxygène de l'azote et parfois de soufre et de phosphore. Elles ont une importance vitale assurant dans l'organisme diverses fonctions, principalement le transport de l'oxygène dans tout l'organisme, la réparation des cellules et la production de l'énergie (**Brooker, 2000**).

Nous nous sommes intéressés à l'effet de mixture d'acétamipride et imidaclopride sur l'évolution du taux de protéines totales des escargots placés dans des conditions contrôlées.

Nous remarquons une augmentation dose-dépendante du taux des protéines totales au niveau des deux organes ciblés (hépatopancréas et rein) pour les deux mixtures M1 et M2 en comparaison avec le témoin, Nos résultats vont dans le même sens que ceux de plusieurs auteurs qui ont mis en évidence une augmentation significative des taux de protéines totales sous l'effet d'un stress chimique du fait que le glutathion constitue un facteur essentiel dans la défense contre le stress oxydant (**Zaafour et al., 2015 ; Redouane et al., 2004 ; Tadjine, 2007**).

Ces résultats sont en accord avec ceux de **Masaya et al. (2002); Peccini et al. (1994)**, qui ont mis en évidence une augmentation significative du taux de protéines totales sous l'effet d'un stress chimique chez des modèles biologiques différents (têtards, protistes, lapins). Cette augmentation pourrait être due à l'induction de la synthèse d'enzymes de détoxification (glutathion) et de métabolisation sous l'effet du stress oxydative produit par l'application des deux insecticides.

D'autre part, nous avons mis en évidence une diminution des protéines totales chez les escargots traités par les deux insecticides dans les mixtures 3 comparés aux escargots témoins. D'ailleurs les mêmes constatations ont été démontrées auparavant par **Naqvi et al. (2017)**, ont suggéré que L'épuisement des protéines totales peut être due à plusieurs mécanismes, parmi lesquels l'augmentation de l'activité protéolytique, réduction de la synthèse des protéines, destruction ou nécrose cellulaire provoque la dégradation consécutive de la machinerie de synthèse protéique, dommage de L'ADN, altération des activités enzymatiques.

Dans des conditions de stress, les escargots ont besoin de plus d'énergie pour détoxifier la substance toxique. Lorsque les escargots ont une quantité limitée de glucides et de lipides, la source d'énergie alternative pour répondre à la demande accrue d'énergie est les protéines (**Moussard, 1999**), en outre, ces résultats sont semblables avec ceux de (**Radwan et al., 2008**).

Le stress oxydatif apparait dans une cellule quand l'équilibre entre les espèces prooxydantes et antioxydantes est rompu en faveur de l'état prooxydant. La rupture de cet équilibre est due à la promotion d'espèces activées de l'oxygène, ou radicaux libres oxygénés (**Goudable et favier, 1997**).

Les défenses antioxydantes reposent sur des systèmes enzymatiques (superoxydes dismutases [SOD], catalase, glutathion peroxydase) et non enzymatiques (vitamines C et E, polyphénols, etc.), ces enzymes permettent de protéger les cellules contre les radicaux libres produits de manière physiologique au cours du métabolisme cellulaire normal (**Leverve, 2009 ; Goudable et Favier, 1997**).

Les catalases (CAT) sont des enzymes péroxysomales, particulièrement abondante dans le foie et les globules rouges. Elles réduisent le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 en libérant de l'oxygène et de l'eau dont le rôle est de prévenir les peroxydations des molécules biologiques induites par l'eau oxygénée (**Goudable et Favier, 1997**).

Dans notre travail, l'activité catalase au niveau de l'hépatopancréas et le rein tend à augmenter de façon dose-dépendante chez tous les lots par rapport aux témoins, ces résultats sont en accord avec ceux de **El-wakil et Radwan (1991)**, qui ont montré une augmentation significative de l'activité catalase après exposition de gastéropode *Eubania vermiculata* à des pesticide (Methomyl, Thiodicarb, Metaldehyde).

L'augmentation de l'activité CAT a déjà été relevée chez d'autres espèces de gastéropodes comme *Theba pisana* après exposition aux pesticides à base de cuivre (Oxychlorure de cuivre, hydroxyde de cuivre) par rapport au témoin **El-Gendy et al. (2009)**.

Des résultats similaires ont été observés par **Almeida et al. (2009)** après exposition des moules *perna perna* marines à des pesticides à base de cuivre.

Cependant **Grara et al. (2012)** ont constaté que cette activité enzymatique diminue de façon significative chez les escargots *Helix aspersa* sous l'effet des poussières métalliques au niveau de l'hépatopancréas et du rein. De plus, des expositions courtes au Cd semblent inhiber les enzymes antioxydantes de stress comme l'activité Catalase.

Notre étude histologique montre que l'exposition des escargots aux mixtures des pesticides peut causer des altérations cytologiques et ultra structurales très importantes au niveau de l'hépatopancréas, qui joue un rôle crucial dans la détoxification des polluants (**Frias-Espéricueta, et al., 2008**).

En effet l'examen histologique de l'épithélium rénal et hépatopancréatique met en évidence l'apparition d'infiltrats inflammatoires Lymphoplasmocytaires dès la plus faible concentration, ceci pourrait être une première réponse biologique due à la présence des xénobiotiques, ces observations sont en accord avec les travaux de **Chabicosky et al. (2004)**, et de **Russell et al. (1981)**, et de **Tadjine (2007)**, nous avons également mis en évidence une déformation des acini, et une destruction des cellules digestives de manière dose- dépendante, conduisant à une nécrose très importante de ces cellules aux plus fortes concentrations.

Ces résultats sont en accord avec ceux de **Triebskorn et Köhler (1996)**, **Triebskorn et Köhler (1998)** qui ont mis en évidence des altérations structurales et ultra structurales des cellules basophiles et digestives d'autant plus prononcées que les concentrations en xénobiotiques sont élevées dans la glande digestive de la limace *D. reticulatum* exposée au Cd, Pb. Notons que les cellules digestives sont les plus abondantes dans l'épithélium de l'hépatopancréas **Chabicosky et al. (2004)**, **Dimitriadis (2001)**, **Porcel et al. (1996)**.

La nécrose des cellules digestives semble être une réponse générale après une exposition aux mixtures des pesticides chez les gastéropodes terrestres et elle est reliée principalement à la détérioration du processus digestif provoqué par la présence des particules métalliques (**Zaldibar et al., 2008**).

Les réponses histopathologiques au niveau de plusieurs organes (glande digestive, rein, ovaires...) d'*Helix aspersa* exposé à des concentrations croissantes des mixtures de pesticide dans la nourriture se manifestent par des réactions qui impliquent une hyperplasie des épithéliums aux plus faibles concentrations testées et une nécrose cellulaire importante qui s'accompagne d'une prolifération de tissus conjonctifs (**Chabicosky et al., 2004**; **Radwan et al., 2008**).

Les gastéropodes terrestres sont connus par leur pouvoir accumulateurs et peuvent répondre à la pollution d'une manière sensible et mesurable. Ils sont donc employés comme des espèces sentinelles de la pollution des sols.

Conclusion générale

L'impact des produits phytosanitaires sur l'environnement et sur la santé de l'homme est devenu un sujet de préoccupation mondiale. Le nombre de molécules disponibles sur le marché étant considérable, toutes ne font pas l'objet d'une évaluation approfondie.

Face à ce climat d'anxiété et parfois de méfiance, est indispensable d'apporter une information scientifique et objective sur un tel sujet.

Le principale objectif de notre travail est d'étudier les effets d'une mixture de deux insecticides à des concentrations croissantes sur un modèle biologique l'escargot *Helix aspersa* en tant qu'un animal bioaccumulateur/ bioindicateur.

Il apparaît clairement que la mixture de ces deux insecticides entraîne des altérations physiologiques et biochimiques sur l'escargot *Helix aspersa*, Cette étude montre l'intérêt de *Helix aspersa* comme espèce modèle de gastéropode pulmoné terrestre pour l'évaluation de la toxicité de ces pesticides, 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.

Leurs effets ont été étudiés par une approche ciblée au laboratoire, consistant à évaluer l'effet de ces insecticides sur les paramètres physiologique (poids des escargots, diamètre de la coquille) et les métabolites de l'hépatopancréas et le rein (glucide, protéine, catalase).

Nos expériences montrent que les escargots répondent bien aux critères des bio-indicateurs pour participer à la biosurveillance de l'environnement, la présente étude a permis de mettre en évidence d'une part des perturbations physiologiques, biochimiques et des atteintes tissulaires, et d'autre part une activation des biomarqueurs protégeant ainsi ces cellules par le déclenchement du système de détoxification.

L'étude histopathologique a confirmé cette sensibilité de l'espèce vis-à-vis aux insecticides à travers des atteintes tissulaires bien visibles, au niveau de l'hépatopancréas et du rein.

A l'avenir, il serait intéressant de :

- développer les dosages d'autre bio-marquer (SOD, MDA, GSH, lipides....).
- Déterminer la concentration d'insecticides au niveau de modèles biologique étudié.
- Augmenter les concentrations de pesticide et la période de traitement.

A.

- **Abramovitch, A., (2002).** Acetamiprid Reason for Issuance, Environmental Protection and Toxic Substances Agency, pp 14.
- **Aïna, M.P., Agbohessi, P., Toko, I. I., & Scippo, M. L., (2015).** Effets toxicologiques et méthodes d'analyse de la lambda-cyhalothrine et de l'acétamipride utilisés dans la protection phytosanitaire du cotonnier au Bénin. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, vol : 9(4), pp 2184-2199.
- **Alexandratos, N., & Bruinsma, J., (2012).** World agriculture towards 2030/2050. Food and Agriculture Organization of the United Nations, ESA Working paper, Rome Vol : 12 (3), pp 154.
- **Almeida, E. A., Miyamoto, S., Bainy, A. C. D., de Medeiros, M. H. G., & Di Mascio, P., (2004).** Protective effect of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase (PHGPx) against lipid peroxidation in mussels *Perna perna* exposed to different metals. *Marine Pollution Bulletin*, vol 49(5-6), pp 386-392.
- **Anderson, J.C., Dubetz, C., & Palace, V.P., (2015).** Neonicotinoids in the Canadian aquatic environment: à literature review on current use products with a focus on fate, exposure, and biological effects. *Science of the Total Environment*, vol : 505, pp 409-422.
- **Armbrust, K. L., & Peeler, H. B., (2002).** Effects of formulation on the run-off of imidacloprid from turf. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, vol : 58(7), pp 702-706.

B.

- **Bailey, S. E., (1981).** Circannual and circadian rhythms in the snail *Helix aspersa* Müller and the photoperiodic control of annual activity and reproduction. *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, vol : 142(1), pp 89-94.
- **Barker, G. M., (2001).** Gastropods on land: phylogeny, diversity and adaptive morphology. *The biology of terrestrial molluscs*, vol : (1), pp.139.
- **Beaumont, A., Cassier, P., (1970).** Travaux pratiques de biologie animale: zoologie, embryologie, histologie, Dunod, PARIS, pp 472.
- **Berger, B., & Dallinger, R., (1993).** Terrestrial snails as quantitative indicators of environmental metal pollution. *Environmental Monitoring and Assessment*, vol : 25(1), pp 65-84.
- **Blacquiere, T., Smaghe, G., Van Gestel, C. A., & Mommaerts, V., (2012).** Neonicotinoids in bees: à review on concentrations, side-effects and risk assessment. *Ecotoxicology*, vol : 21(4), pp 973-992.

- **Bonnet J.G., Aupinel P. et Vrillon J. L., (1990).** L'escargot *Helix aspersa*, biologie-élevage ; Institut National de l'Agronomi, paris, pp 124.
- **Bonnet, J. C., Vrillon, J. L., (1990).** L'escargot *Helix aspersa* biologie-élevage. Edition INRA, pp 14-15.
- **Bouziani M., (2007).** L'usage immodéré des pesticides. de graves consequences sanitaires. Santémarghreb [en ligne]. Disponible sur : <http://www.santetropicale.com/santemag/algerie/poivue51.htm>.(Consulte, 12/06/2019).
- **Bradford, M. M., (1976).** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, vol : 72(1-2), pp 248-254.
- **Briand, O., Millet, M., Bertrand, F., Clément, M., & Seux, R., (2002).** Assessing the transfer of pesticides to the atmosphere during and after application. Development of a multiresidue method using adsorption on Tenax and thermal desorption-GC/MS. *Analytical and Bioanalytical chemistry*, vol : 374(5), pp 848-857.
- **Brooker, C., (2000).** Le corps humain: Étude, structure et fonction. De Boeck Supérieur, Bruxelles, pp : 562.

C.

- **Calderbank, A., (1989).** The occurrence and significance of bound pesticide residues in soil. In : *Reviews of environmental contamination and toxicology*, Springer, New York, pp 71-103.
- **Carefoot, T. H., Qian, P. Y., Taylor, B. E., West, T., & Osborne, J., (1993).** Effect of starvation on energy reserves and metabolism in the Northern abalone, *Haliotis kamtschatkana*. *Aquaculture*, vol : 118(3-4), pp 315-325.
- **Chabicovsky, M., Klepal, W., & Dallinger, R., (2004).** Mechanisms of cadmium toxicity in terrestrial pulmonates: programmed cell death and metallothionein overload. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, Vol : 23(3), pp 648-655.
- **Charvet, R., Katouzian-Safadi, M., Colin, M. E., Marchand, P. A., & Bonmatin, J. M., (2004).** Insecticides systémiques: de nouveaux risques pour les insectes pollinisateurs. In : *Annales pharmaceutiques françaises*, Elsevier Masson, Vol : 62 (1), pp 29-35.
- **Chevallier, H., (1977).** La variabilité de l'Escargot Petit-Gris *Hélix aspersa* Miiller. *Bulletin du Museum d'Histoire Naturelle*, pp 425-442.
- **Cœurassier, M., (2001).** Utilisation de mollusques gastéropodes pulmonés terrestres (*Helix aspersa*) et aquatiques (*Lymnaea stagnalis* et *Lymnaea palustris*) comme indicateurs de pollution

par les éléments métalliques et les xénobiotiques organiques. Doctoral dissertation, Besançon. Univ. Franche Comté, France, pp 281.

- **Cœurassier, M., Gomot-de Vauflery, A., Lovy, C., & Badot, P. M., (2002).** Is the cadmium uptake from soil important in bioaccumulation and toxic effects for snails. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol : 53(3), pp 425-431.
- **Cœurassier, M., Saint-Denis, M., Vauflery, A. G. D., Ribera, D., & Badot, P. M., (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.
- **Colin, F., (2000).** Approche spatiale de la pollution chronique des eaux de surface par les produits phytosanitaires. Cas de l'Atrazine dans le bassin versant de Sousson (Gers, France). Unité mixte Cemagref-ENGREF. Structure des systèmes spatiaux, pp 233.
- **Cortet, J., Gomot-De Vauflery, A., Poinso-Balaguer, N., Gomot, L., Texier, C., & Cluzeau, D., (1999).** The use of invertebrate soil fauna in monitoring pollutant effects. *European Journal of Soil Biology*, vol : 35(3), pp 115-134.
- **CPP, (2002).** Risques sanitaires liés à l'utilisation des produits phytosanitaires. Comité de la Prévention et de la Protection. pp. 47.

D.

- **De Vauflery, A., Gimbert, F., Pauget, B., Fritsch, C., Scheifler, R., & Cœurassier, M., (2012).** les escargots bio-indicateurs de la qualite des sols-Snail watch: analyse en laboratoire ou in situ de la biodisponibilité des contaminants, pp 6.
- **Dimitriadis, V. K., (2001).** Structure and function of the digestive system in Stylommatophora. *The Biology of Terrestrial Molluscs*. Wallingford: CABI Publishing, pp 237-257.
- **Directive, C., (1991).** Council Directive 91/414/EEC of 15 July 1991 concerning the placing of plant protection products on the market. *Official Journal of the European Communities*, vol : 230, pp 32.
- **Duvhâteau, G., & Florkin, M., (1959).** Sur la tréhalosémie des insectes et sa signification. *Archives Internationales de Physiologie et de Biochimie*, vol : 67(2), pp 306-314.
- **E.**
- **EFSA (European Food Safety Authority), (2013).** Scientific Opinion on the developmental neurotoxicity potential of acetamiprid and imidacloprid. *EFSA Journal*, vol : 11(12), pp 47.

- **Eijsackers, H., (2010).** Earthworms as colonisers: primary colonisation of contaminated land, and sediment and soil waste deposits. *Science of the total environment*, vol : 408(8), pp 1759-1769.
- **Elbert, A., Haas, M., Springer, B., Thielert, W., & Nauen, R., (2008).** Applied aspects of neonicotinoid uses in crop protection. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*. Vol : 64(11), pp 1099-1105.
- **El-Gendy, K. S., Radwan, M. A., & Gad, A. F., (2009).** In vivo evaluation of oxidative stress biomarkers in the land snail, *Theba pisana* exposed to copper-based pesticides. *Chemosphere*, vol : 77(3), pp 339-344.
- **El-Wakil, H. B., & Radwan, M. A., (1991).** Biochemical studies on the terrestrial snail, *Eubania vermiculata* (Müller) treated with some pesticides. *Journal of Environmental Science & Health Part B*, vol : 26(5-6), pp 479-489.
- **Esser, H. O., & Moser, P., (1982).** An appraisal of problems related to the measurement and evaluation of bioaccumulation. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol 6(2), pp 131-148.
- **EFSA (European Food Safety Authority), (2014).** Reasoned opinion on the modification of the existing MRL for acetamiprid in bananas. *EFSA Journal*, vol : 12(9), pp 20.

F.

- **FAO, (2015).** Imidaclopride :Specifications And Evaluations For Agricultural Pesticides, Rome, pp.72.
- **Frías-Espericueta, M. G., Abad-Rosales, S., Nevárez-Velázquez, A. C., Osuna-López, I., Páez-Osuna, F., Lozano-Olvera, R., & Voltolina, D., (2008).** Histological effects of a combination of heavy metals on Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* juveniles. *Aquatic Toxicology*, Vol : 89(3), pp 152-157.

G.

- **Garrec, J. P., & Delzenne-Van Haluwyn, C., (2002).** Biosurveillance végétale de la qualité de l'air: concepts, méthodes et applications. Éditions Tec & Doc., Paris, pp.117.
- **Gatignol, C., & Etienne, J. C., (2010).** Pesticides et santé, Rapport parlementaire. Office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques, pp 6.
- **Gibbons, D., Morrissey, C., & Mineau, P., (2014).** Examen des effets directs et indirects des néonicotinoïdes et du fipronil sur la faune des vertébrés. *Environ Sci Pollut Res*. Springer, vol 10, pp 7.

- **Gomot, A., (1997).** Dose-dependent effects of cadmium on the growth of snails in toxicity bioassays. Archives of environmental contamination and toxicology, vol : 33(2), pp 209-216.
- **Gomot, A., (1997).** Double labelling of neural grafts for identification of sites mediating growth in snails. Biology of the Cell, vol : 89(2), pp 133-140.
- **Goudable J., & Favier, A., (1997).** Radicaux libres oxygénés et antioxydants. Nutrition clinique et métabolisme, vol : 11(2), pp 115-120.
- **Grara, N., Boucenna, M., Atailia, A., Berrebbah, H., & Djebar, M. R., (2012).** Stress oxydatif des poussières métalliques du complexe sidérurgique d'Annaba (Nord-Est algérien) chez l'escargot *Helix aspersa*. Environnement, Risques & Santé, vol : 11(3), pp 221-229.
- **Grara, N., Bouloudenine, M., Khaldi, F., Zenir, Z., & Abdelmadjid, S., (2015).** Caractérisation Morphophysiological de la Toxicité du ZnO (Nanoparticule manufacturée) sur l'escargot *l'Helix aspersa* bio indicateur de pollution de l'environnement Environ. Sci, vol : 6(9), pp 2596-2603.
- **Gray, J. S., (2002).** Biomagnification in marine systems: the perspective of an ecologist. Marine Pollution Bulletin, vol 45(1-12), pp 46-52.
- **Guégan, J. F., Barot, S., Couvet, D., Devictor, V., Sarrazin, F., Thébaud, C., et Thévenon, S., (2017).** Biodiversité et Néonicotinoïdes : revisiter les questions de recherche. Fondation pour la recherche sur la biodiversité, Paris, France, pp 24.
- **Gustafson, D. I., (1989).** Groundwater ubiquity score: a simple method for assessing pesticide leachability. Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal, vol : 8(4), pp 339-357.

H.

- **Hames, C. A. C., & Hopkin, S. P., (1989).** The structure and function of the digestive system of terrestrial isopods. Journal of Zoology, vol : 217(4), pp 599-627.

I.

- **INERIS., (2015).** Données technico-économiques sur les substances chimiques en France :Néonicotinoïdes, DRC-15-136881-07690B, pp 43.
- **Iwasa, T., Motoyama, N., Ambrose, J. T., & Roe, R. M., (2004).** Mechanism for the differential toxicity of neonicotinoid insecticides in the honey bee, *Apis mellifera*. Crop Protection, vol : 23(5), pp 371-378.

J.

- **Jargot, D., Marc, F., Pillière, F., Robert, S., (2015).** Imidaclopride. Fiche toxicologique. n°309.INRS. France, pp 08.
- **Jeschke, P., & Nauen, R. (2008).** Neonicotinoids—from zero to hero in insecticide chemistry. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, vol : 64(11), pp 1084-1098.
- **Kenaga, E.E., (1972).** Guidelines for environmental study of pesticides: determination of bioconcentration potential. In *Residue Reviews*, Springer, New York, pp 73-113.
- **Kerney, M., Cameron R., Bertrand A, (2006).** A field guide to the land snails of Britain and north-west Europe, French ed. Paris, Delachaux et Niestlé SA. pp 97.
- **Kohler, H. R., & Triebkorn, R., (1998).** Assessment of the cytotoxic impact of heavy metals on soil invertebrates using a protocol integrating qualitative and quantitative components. *Biomarkers*, Vol 3(2), pp 109-127.

L.

- **Lagadic, L., Caquet T., Amiard J.C., Ramade F., (1997).** Biomarqueurs en écotoxicologie. Collection Écologie, Masson, Paris, pp 419.
- **Lambin, M., Armengaud, C., Raymond, S., & Gauthier, M., (2001).** Imidacloprid-induced facilitation of the proboscis extension reflex habituation in the honeybee. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology: Published in Collaboration with the Entomological Society of America*, vol : 48(3), pp 129-134.
- **Leonard, R. A., (1990).** Movement of pesticides into surface waters. 'Pesticides in the Soil Environment: Processes, Impacts and Modeling', Soil Science Society of America: Madison, pp 303–349.
- **Lessire, F., Delaunois, A., Gustin, P., & Ansay, M., (1997).** Biomarqueurs et bioindicateurs chez les vertébrés: importance pour l'évaluation de la santé d'un écosystème. In ; *Annales de Médecine Vétérinaire*, Université de Liège, Vol : 141, pp. 281-290.
- **Leveau, P., (2016).** Intoxications aiguës par des produits phytosanitaires chez l'enfant. *Archives de Pédiatrie*, vol : 23(7), pp 775-780.
- **Leverve, X., (2009).** Stress oxydant et antioxydants? ,*Cahiers de nutrition et de diététique*, vol : 44(5), pp 219-224.
- **Lichiheb, N., Bedos, C., & Personne, E., (2015).** Synthèse des connaissances sur le transfert des pesticides vers l'atmosphère par volatilisation depuis les plantes. *Pollution Atmosphérique: climat, santé, société*, pp 224.

M.

- **Marcheterre, L., Choudhry, G. G., & Webster, G. B., (1988).** Environmental photochemistry of herbicides. In ; Reviews of Environmental Contamination and Toxicology. Springer, New York, vol : 103, pp 61-126.
- **Martoja, R., Martoja , M., (1967).** Initiation aux techniques de l'histologie animale. Masson et Cie, pp 347.
- **Masaya M., Yoshinobu H., Ai Y., Maki K. and Yasuo O., (2002).** Determination of cellular levels of nonprotein thiols in phytoplankton and their correlations with susceptibility to mercury. Journal of Phycology. Vol : 38(5), pp 983.
- **Merhi, M., (2008).** Etude de l'impact de l'exposition à des mélanges de pesticides à faibles doses: caractérisation des effets sur des lignées cellulaires humaines et sur le système hématopoïétique murin, Doctoral dissertation, université de toulouse, pp 249.
- **Mondal, S., Ghosh, R. C., Mate, M. S., & Karmakar, D. B., (2009).** Effects of acetamiprid on immune system in female Wistar rats. In Proceedings of the Zoological Society, Springer-Verlag, Vol : 62 (2), pp. 109-117.
- **Morrissey, C. A., Mineau, P., Devries, J. H., Sanchez-Bayo, F., Liess, M., Cavallaro, M. C., & Liber, K., (2015).** Neonicotinoid contamination of global surface waters and associated risk to aquatic invertebrates: a review. Environment international, vol : 74, pp 291-303.
- **Moussard, C., (1999).** La biochimie. Biochimie structurale et métabolique. Médecine. Pharmacie. Sciences. De Boek&Larciers.a. Bruxelles, pp 294.

N.

- **Naqvi, G. E. Z., Shoaib, N., & Ali, A. M., (2017).** Pesticides impact on protein in fish (*Oreochromis mossambicus*) tissues. Indian Journal of Geo Marine Sciences, vol : 46(09), pp 1864-1868.
- **Notten, M. J., Oosthoek, A. J., Rozema, J., & Aerts, R., (2006).** Heavy metal pollution affects consumption and reproduction of the landsnail *Cepaea nemoralis* fed on naturally polluted *Urtica dioica* leaves. Ecotoxicology, vol : 15(3), pp 295-304.
- **NRC (National Research Council), (1987).** Biological markers in environmental health research. Environmental Health Perspectives, vol : 74, pp 3-9.

P.

- **Padmaja Rambabu, J., & Balaparameswara Rao, M., (1994).** Effect of an organochlorine and three organophosphate pesticides on glucose, glycogen, lipid, and protein contents in tissues of

the freshwater snail *Bellamya dissimilis* (Müller). Bulletin of environmental contamination and toxicology, vol : 53(1), pp 142-148.

- **Palmer, M. J., Moffat, C., Saranzewa, N., Harvey, J., Wright, G. A., & Connolly, C. N., (2013).** Cholinergic pesticides cause mushroom body neuronal inactivation in honeybees. Nature communications, vol : 4, pp 1634.
- **Paterson, S., Mackay, D., Tam, D., & Shiu, W. Y., (1990).** Uptake of organic chemicals by plants: A review of processes, correlations and models. Chemosphere, vol : 21(3), pp 297-331.
- **Peakall, D. B., & Walker, C. H., (1994).** The role of biomarkers in environmental assessment (3). Vertebrates. Ecotoxicology, vol : 3(3), pp 173-179.
- **Peccinni, E., Staudenmann, W., Albergoni, V., Gabrieli R.D. and James P., (1994).** Purification and primary structure of metallothionins induced by cadmium in the protists *Tetrahymena pigmentosa* and *Tetrahymena pyriformis*. European Journal of Biochemistry. Vol : 226, pp 853-859.
- **Pimentel, D., (1995).** Amounts of pesticides reaching target pests: environmental impacts and ethics. Journal of Agricultural and environmental Ethics, vol : 8(1), pp 17-29.
- **Pirame, S., (2003).** Contribution à l'étude de la pathologie estivale de l'escargot Petit-Gris (*Helix aspersa*): reproduction expérimentale, Doctoral dissertation, université paul-sabatier, toulouse, pp 99.
- **Porcel, D., Bueno, J. D., & Almendros, A., (1996).** Alterations in the digestive gland and shell of the snail *Helix aspersa* Müller (Gastropoda, Pulmonata) after prolonged starvation. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology, Vol : 115(1), pp 11-17.

Q.

- **Quibik, C., (2007).** Schéma en coupe de l'anatomie d'un escargot. Dans Wikipédia, [en ligne] : Disponible sur : <https://fr.wikipedia.org/wiki/Escargot>, Consulté le (13/06/2019).

R.

- **Radwan M.A., Essawy A.E., Abdelmeguid N.E., Hamed S.S., Ahmed A.E., (2008).** Biochemical and histochemical on the digestive gland of *Eobania vermiculata* snails treated with carbamate pesticides. Pesticides Biochemistry and Physiology. Vol 90: pp 154- 167.
- **Ramade, F., (1998).** Dictionnaire encyclopédique des sciences de l'eau (No. 631.4 R165d). Paris, France.
- **Ramade, F., (2011).** Introduction à l'écochimie: Les substances chimiques de l'écosphère à l'homme .Lavoisier, Paris, pp 828.

- **Redouane-salah, S., Berrebbah, H., & Boulahrouf, A., (2004).** effets des rejets métalliques des aciéries du complexe sidérurgique d'el-hadjar d'annaba sur un modele cellulaire marin: *Tetraselmis suecica*. Sciences & Technologie. C, Biotechnologies, vol : 22, pp 121-124.
- **Regoli, F., & Principato, G., (1995).** Glutathione, glutathione-dependent and antioxidant enzymes in mussel, *Mytilus galloprovincialis*, exposed to metals under field and laboratory conditions: implications for the use of biochemical biomarkers. *Aquatic Toxicology*. Vol : 31(2), pp 143-164.
- **Regoli, F., Gorbi, S., Fattorini, D., Tedesco, S., Notti, A., Machella, N., & Piva, F., (2005).** Use of the land snail *Helix aspersa* as sentinel organism for monitoring ecotoxicologic effects of urban pollution: an integrated approach. *Environmental Health Perspectives*, vol : 114(1), pp 63-69.
- **Russell, L. K., DeHaven, J. I., & Botts, R. P., (1981).** Toxic effects of cadmium on the garden snail (*Helix aspersa*). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, Vol : 26(1), pp 634-640.

S.

- **Sanchez-Bayo, F. P., Tennekes, H. A., & Goka, K., (2013).** Impact of systemic insecticides on organisms and ecosystems. *InTech*, pp 50.
- **Scheifler, R., De Vaufleury, A., Cœurassier, M., Crini, N., & Badot, P. M., (2006).** Transfer of Cd, Cu, Ni, Pb, and Zn in a soil-plant-invertebrate food chain: A microcosm study. *Environmental Toxicology and chemistry*, vol : 25(3), pp 815-822.
- **Shibko, S., Koivistoinen, P., Tratnyneck, C., Newhall, A., and Freidman, L., (1966).** A method for the sequential quantitative separation and glycogen from a single rat liver homogenate or from a sub cellular fraction. *Analyt. Biochem.* Vol : 19, pp 415-428.
- **Smina, B. A. H., (2013).** Évaluation de la toxicité de mélanges de pesticides sur un bioindicateur de la pollution des sols *Helix aspersa*, Doctoral dissertation, Université Badji Mokhtar de Annaba, pp 177.
- **Sur, R., & Stork, A., (2003).** Uptake, translocation and metabolism of imidacloprid in plants. *Bulletin of Insectology*, vol : 56, pp 35-40.
- **Sverdrup, L. E., De Vaufleury, A., Hartnik, T., Hagen, S. B., Loibner, A. P., & Jensen, J., (2006).** Effects and uptake of polycyclic aromatic compounds in snails (*Helix aspersa*). *Environmental toxicology and chemistry*, vol : 25(7), pp 1941-1945.

- **Swaih, K. M., & Ezzughayyar, A. (2000).** Effects of dietary Cd and Cu on feeding and growth rates of the landsnail *Helix engaddensis*. *Ecotoxicology and environmental safety*, vol : 47(3), pp 253-260.

T.

- **Tadjine, A. (2007).** Impact de la pollution atmosphérique d'origine particulaire sur deux modèles (le rat et le lapin). Approche histologique, biochimique, hématologique et toxicologique, Doctoral dissertation, Thèse de Doctorat, Université Badji Mokhtar-Annaba, pp 104.
- **Tadjine, A., (2007).** Impact de la pollution atmosphérique d'origine particulaire sur deux modèles (le rat et le lapin). Approche histologique, biochimique, hématologique et toxicologique (Doctoral dissertation, Thèse de Doctorat, Université Badji Mokhtar-Annaba, pp 104.
- **Takahashi, K., & Miyajima, Y., (2010).** Effects of roads on alpine and subalpine plant species distribution along an altitudinal gradient on Mount Norikura, central Japan. *Journal of plant research*, vol : 123(6), pp 741-749.
- **Thany, S. H., Lenaers, G., Raymond-Delpech, V., Sattelle, D. B., & Lapied, B., (2007).** Exploring the pharmacological properties of insect nicotinic acetylcholine receptors. *Trends in pharmacological sciences*, vol : 28(1), pp 14-22.
- **Triebkorn, R., & Köhler, H. R., (1996).** The impact of heavy metals on the grey garden slug, *Deroceras reticulatum* (Müller): metal storage, cellular effects and semi-quantitative evaluation of metal toxicity. *Environmental Pollution*, Vol : 93(3), pp 327-343.

U.

- **Uchigashima, M., Watanabe, E., Ito, S., Iwasa, S., & Miyake, S., (2012).** Development of immunoassay based on monoclonal antibody reacted with the neonicotinoid insecticides clothianidin and dinotefuran. *Sensors*, vol : 12(11), pp 15858-15872.

V.

- **van der Werf, H. M., (1996).** Assessing the impact of pesticides on the environment. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, Vol : 60(2-3), pp 81-96.
- **Van Der Werf, H. M., (1997).** évaluer l'impact des pesticides sur l'environnement. *Le Courrier de l'environnement de l'INRA*, vol : 31(31), pp 5-22.

- **Viard, B., Maul, A., & Pihan, J. C., (2004).** Standard use conditions of terrestrial gastropods in active biomonitoring of soil contamination. *Journal of Environmental Monitoring*, vol : 6(2), 103-107.
- **Voltz, M., & Louchart, X., (2001).** Les facteurs-clés de transfert des produits phytosanitaires vers les eaux de surface. *Ingénieries Numéro Spécial «Phytosanitaires: transfert, diagnostic et solutions correctives*, pp 45-54.

W.

- **Wolfe, N. L., Mingelgrin, U., & Miller, G. C., (1990).** Abiotic transformations in water, sediments, and soil. *Pesticides in the soil environment: processes, impacts, and modeling*, pp 103-168.

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). *Synthèse: Revue des Sciences et de la Technologie*, vol : 28(1), pp 96-105.
- **Zaldibar, B., Cancio, I., Soto, M., & Marigomez, I., (2008).** Changes in cell-type composition in digestive gland of slugs and its influence in biomarkers following transplantation between a relatively unpolluted and a chronically metal-polluted site. *Environmental pollution*, Vol 156(2), pp 367-379.
- **Zhang, Y., Liu, S., Gu, J., Song, F., Yao, X., & Liu, Z., (2008).** Imidacloprid acts as an antagonist on insect nicotinic acetylcholine receptor containing the Y151M mutation. *Neuroscience letters*, Vol : 446(2-3), pp 97-100.
- **Zouaghi, M. F., Berrebbah, H., Djrbar, M. R., & Amamra, R., (2015).** Study of the behavior/adaptation of non-target biological models exposed to multiple pollution. *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences*, Vol : 7(2), pp 207-215.

Annexe 01 :➤ **Gamme d'étalonnage pour le dosage des protéines :**

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

➤ **Préparations des réactifs :****BBC (bleu brillant de coomassie G250) :**

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

BSA (sérum d'albumine de bœuf) :

1 mg/ 1ml de l'eau distillée.

Anthrone :

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

Solution mère de glucose :

1mg de glucose+ 1ml de l'eau d'distillée.

Tampon phosphate :

A 100Mm, PH = 7,5 (NAH₂PO₄) : 0,1 M/ 119,98 g/mol → 50 ml (eau distillée)

(NA₂HPO₄) : 0,1 M/ 141,96 g/mol → 50 ml (eau distillée)

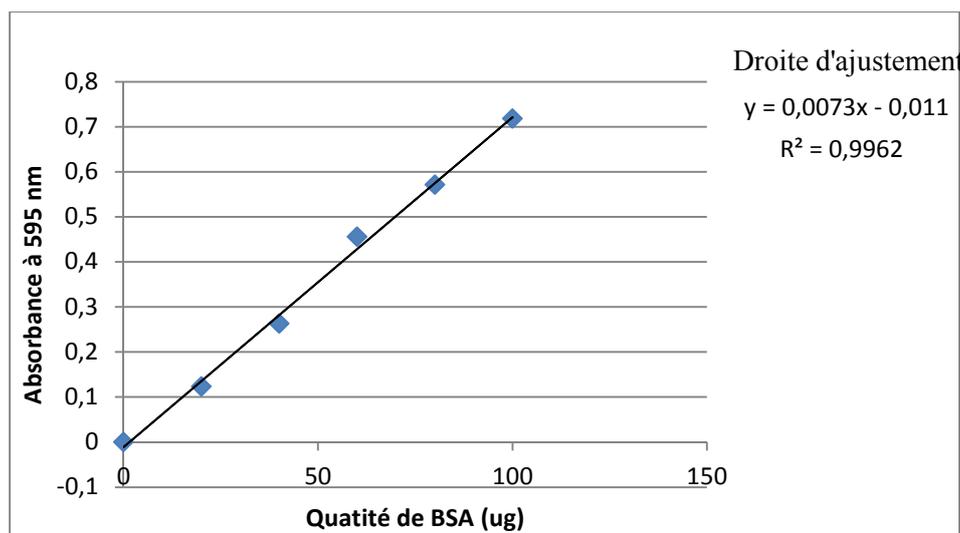
Prendre 50 ml de solution basique (NA₂HPO₄) et ajouté goutte à goutte la solution acide jusqu'au obtenir PH= 7,5.

Annexe 02 :

➤ Résultats des densités optiques de la gamme d'étalonnage des protéines :

Albumine (µg)	0	20	40	60	80	100
DO (nm)	0	0,123	0,263	0,456	0,571	0,718

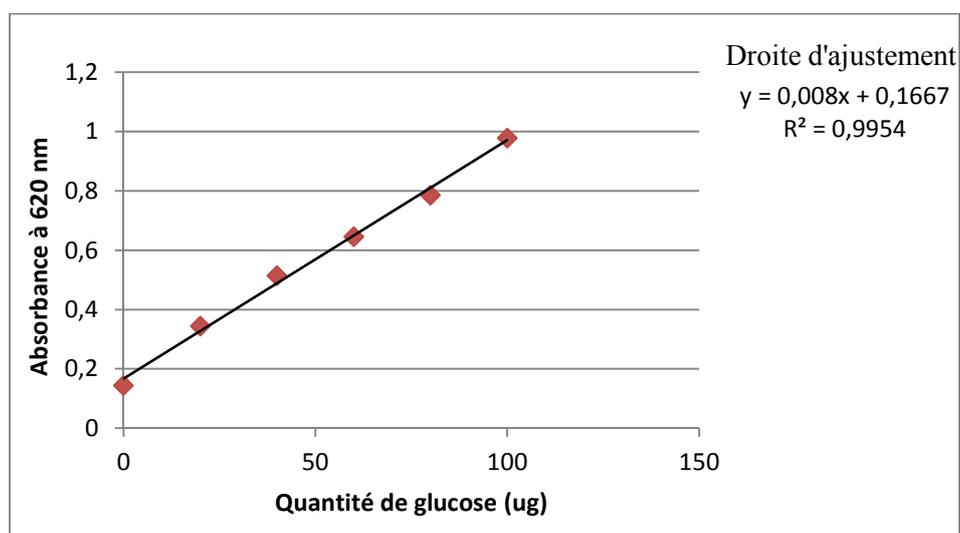
➤ Courbe d'étalonnage des protéines :



➤ Résultats des densités optiques de la gamme d'étalonnage des glucides :

Glucose (µl)	0	20	40	60	80	100
DO (nm)	0,144	0,344	0,514	0,646	0,786	0,978

➤ Courbe d'étalonnage des glucides :



Annexe 03 :➤ **Résultats :**

	Poids moyen d'escargot avant le traitement (g)			
	Témoin	Dose 1	Dose 2	Dose 3
Moyenne	7,425	7,6075	7,5975	7,4775
Ecart type	0,354436	1,368437	1,394066	0,567026

	Poids moyen d'escargot après le traitement (g)			
	Témoin	Dose 1	Dose 2	Dose 3
Moyenne	8,345	7,93	7,1925	7,0325
Ecart type	0,754868	0,816976	1,304863	0,974202

	Diamètre de la coquille d'escargot avant le traitement			
	Témoin	Dose 1	Dose 2	Dose 3
Moyenne	29,7125	29,2175	29,75	29,31
Ecart type	1,116076	2,491564	0,979217	1,753302

	Diamètre de la coquille après le traitement			
	Témoin	Dose 1	Dose 2	Dose 3
Moyenne	31,5425	30,1025	29,175	29,38
Ecart type	0,750483	1,626333	1,157771	0,741485

	Moyenne de taux de protéines (µg/mg)			
	Témoin	Dose 1	Dose 2	Dose 3
Hépatopancréas	8,493151	12,12329	18,28767	5,10274
Rein	7,465753	10,41096	12,29452	4,691781

	Ecart type de protéine			
	Témoin	Dose 1	Dose 2	Dose 3
Hépatopancréas	1,988269	1,738161	0,840728	1,008967
Rein	0,932446	0,866377	1,951354	1,109364

	Moyenne de taux de glucide (µg/mg)			
	Témoin	Dose 1	Dose 2	Dose 3
Hépatopancréas	18,9125	16,1	13,1625	6,75625
Rein	15,9125	12,35	5,6625	4,6

	Ecarte type de glucide			
	Témoin	Dose 1	Dose 2	Dose 3
Hépatopancréas	1,616967	2,16386	1,599153	1,602001
Rein	0,777282	2,860471	1,395678	0,904272

	Moyenne de l'activité de CAT			
	Témoin	Dose 1	Dose 2	Dose 3
Hépatopancréas	0,499853	0,688436	0,906345	1,665428
Rein	0,349785	0,409705	0,409705	1,51742

	Ecart type de l'activité de CAT			
	Témoin	Dose 1	Dose 2	Dose 3
Hépatopancréas	0,065839	0,073388	0,052318	0,091553
Rein	0,031303	0,028897	0,135953	0,514814

Thème	
Evaluation de la toxicité d'un mélange d'insecticide largement utilisé dans la wilaya de Jijel sur un modèle biologique : cas de l'escargot <i>Helix aspersa</i>	
Présenté par : •Boudoucha Islam •Rekaik Ibrahim	Date de soutenance : juillet 2019.
Résumé	
<p>Dans cette étude nous nous sommes intéressés à l'évaluation de l'effet d'un mélange de deux insecticides néonicotinoïdes sur un organisme bioaccumulateur et bioindicateur de pollution de l'environnement l'escargot <i>Helix aspersa</i>. Il s'agit d'une étude de toxicité subchronique (21 jours). La toxicité des insecticides est déterminée chez l'escargot <i>Helix aspersa</i> grâce à un biotest réalisé au laboratoire sur des animaux exposés à des concentrations croissantes de mixture d'insecticides (70 µg/g, 180 µg/g, 340 µg/g alimentation).</p> <p>Nos résultats mettent en évidence des perturbations physiologiques concernant le poids et le Diamètre de la coquille des escargots traités, Parallèlement les modifications métaboliques indiquent une perturbation du taux de protéines et une diminution du taux des glucides (dose dépendante) au niveau de l'hépatopancréas et du rein.</p> <p>En plus une induction de l'activité catalase a été mise en évidence. Cette dernière constitué constituant un moyen de défense cellulaire contre la présence des insecticides au niveau de deux organes cibles.</p> <p>Mots clés : insecticide, <i>Helix aspersa</i>, bioaccumulateur, bioindicateur, toxicité subchronique, protéines, glucides, catalase.</p>	
Abstract	
<p>In this study we were interested in evaluating the impact of a mixture of two neonicotinoid insecticides and their effects on a bioaccumulative organism and bioindicator of environmental pollution, the <i>Helix aspersa</i> snail. This is a subchronic (21-day) toxicity study. Insecticide toxicity is determined in the snail <i>Helix aspersa</i> by a laboratory biotest on animals exposed to increasing concentrations of insecticide mixture (70 µg/g, 180 µg/g, 340 µg/g diet).</p> <p>Our results show physiological disturbances in the weight and shell diameter of the treated snails, while metabolic changes indicate a disturbance in protein levels and a decrease in carbohydrate levels (dependent dose) in the hepatopancreas and kidney.</p> <p>Our results also show the existence of an induction of catalase activity constituting one of the cellular defence mechanisms against the presence of insecticides in two target organs.</p> <p>Keywords : insecticide, <i>Helix aspersa</i>, bioaccumulator, bioindicator, subchronic, protein, carbohydrates, catalase.</p>	
ملخص	
<p>في هذه الدراسة ، كنا مهتمين بتقييم تأثير مزيج من المبيدات الحشرية النيونوتينية وتأثيرها على الكائن الحي التراكمي الحيوي والمؤشر الحيوي للتلوث البيئي ، الحلزون <i>Helix aspersa</i>. هذه دراسة سمية غير مزمنة (21 يومًا) يتم تحديد سمية المبيدات الحشرية في حلزون عن طريق اختبار حيوي على الحيوانات المعرضة لتركيزات متزايدة من خليط المبيدات الحشرية (70 ميكروغرام / جم ، 180 ميكروغرام / جم ، 340 ميكروغرام / غرام ن الغذاء) تظهر نتائجنا الاضطرابات الفسيولوجية في وزن وقطر القواقع المعالجة ، في حين تشير التغييرات الأيضية إلى حدوث اضطراب في مستويات البروتين وانخفاض في مستويات الكربوهيدرات (الجرعة التابعة) في الكبد والكلية تظهر نتائجنا أيضًا وجود تحريض لنشاط الكاتالاز والذي بدوره يشكل إحدى آليات الدفاع الخلوي ضد وجود المبيدات الحشرية في العضوين المستهدفين</p> <p>الكلمات المفتاحية : مبيد الحشرات. حلزون إيليكس أسبيرسا. كائن حي تراكمي. مؤشر حيوي. كربوهيدرات. بروتينات. كاتالاز.</p>	