

*République Algérienne Démocratique et Populaire*  
*الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية*  
*Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique*  
*وزارة التعليم العالي و البحث العلمي*



C.Q 15/09

*Université de JIJEL*  
*Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie*  
*Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire*

*Mémoire de Fin d'Etudes en vue de L'Obtention du Diplôme d'Ingénieur d'Etat*  
*En Biologie*

**Option : Contrôle de Qualité et Analyses**

**Thème**

*Recherche de biomarqueurs de la pollution*  
*dans la chair de crevettes pêchées*  
*au niveau de la baie de Jijel.*

**Membres de jury :**

**Président : M<sup>elle</sup> LAGGOUNE S.**

**Examinatrice : M<sup>elle</sup> BOUHAFS L.**

**Encadreur : M<sup>elle</sup> GHORAB I.**

**Réalisé Par :**

**ABDALLAH Abdelhalim**

**MEKHLOUFIA Abderrahim**



**Promotion 2009**

## Remerciements

Ce travail a été réalisé à l'université de Jijel dans le cadre du mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en contrôle de qualité et analyses, pour le thème : « Recherche de biomarqueurs de la pollution dans la chair de crevettes pêchées au niveau de la baie de Jijel », dirigé par M<sup>elle</sup> Ghorab Ismahene, chargée de cours au Département de Biologie.

Nos remerciements s'adressent avant tout à ELLAH, qui nous a soutenu le long de nos études et nous a accordé la chance d'accomplir notre travail dans de bonnes conditions.

Notre grande gratitude sera portée en premier lieu à nos parents, nous ne pourrons jamais remettre leurs efforts, ni redonner leur tendresse.

Nous sommes très reconnaissants envers notre encadreur Ghorab Ismahene, qui a su nous entourer de ses connaissances, de sa disponibilité, nous la remercions également pour le temps précieux qu'elle nous a consacré, ainsi que, pour ses conseils, son encouragement et ses suggestions. Nous trouvons ici l'occasion de lui exprimer notre respect et notre gratitude les plus sincères.

Nos plus vifs remerciements à nos enseignants de la faculté des sciences, pour leurs enseignements, leurs conseils et leurs rigueurs.

Nous tenons à remercier Monsieur LAHOUEL MESBAH pour son aide précieuse et ses encouragements. Nos remerciements vont également aux membres du jury M<sup>elle</sup> LAGGOUNE S et M<sup>elle</sup> BOUHAFS L.

Nos remerciements vont également aux responsables et techniciens du laboratoire de l'institut de biologie.

A toute personne, qui nous a aidés à accomplir ce travail, soit directement ou indirectement, nous disons Merci.

ABDELHALIM ET ABDERRAHIM.

A@A

IV-4-2 Le malondialdehyde (MDA).....	18
IV-4-3 Le glutathion (GSH).....	19
IV-4-4 Acétylcholinestérase (AChE) = bio marqueur de neurotoxicité.....	19

## 2<sup>ème</sup> partie : Partie expérimentale

<b>Chapitre I : Matériel et méthodes</b> .....	<b>20</b>
<b>I-1 Présentation du matériel biologique</b> .....	<b>20</b>
I-1-1 Ordre chronologique des prélèvements.....	20
I-1-2 Test de fraîcheur.....	20
<b>I-2 Dosage des protéines</b> .....	<b>21</b>
I-2-1 Préparation des échantillons.....	21
I-2-2 Réalisation de la gamme d'étalonnage.....	21
I-2-3 Extraction des constituants des échantillons (chair et hépatopancréas)....	22
<b>I-3 Analyse des métaux traces par spectrométrie d'absorption atomique(SAA)</b> .....	<b>24</b>
<b>I-4 Dosage des biomarqueurs de détoxification</b> .....	<b>27</b>
I-4-1 Extraction de la fraction « S9 ».....	27
I-4-2 Dosage de biomarqueurs de stress oxydant.....	27
I-4-2-1 Dosage de l'activité catalase.....	27
I-4-2-2 Dosage du malondialdehyde.....	28
I-4-2-3 Dosage du glutathion.....	29
I-4-2-4 Dosage de l'acétylcholinestérase.....	30
<b>I-5 Analyse statistique des données</b> .....	<b>31</b>
I-5-1 Régression linéaire.....	31

I-5-2 Analyse de la variance.....	32
I-5-3 Le seuil de signification.....	32
<b>Chapitre : Résultats.....</b>	<b>33</b>
II-1 Test de fraicheur.....	33
II-2 Dosage des protéines.....	33
II-2-1 Réalisation de la courbe d'étalonnage.....	33
II-2-2 Teneur des échantillons en protéines.....	34
II-2-2-1 Dans la chair.....	34
II-2-2-1 Dans l'hépatopancréas.....	35
II-3 Analyse des métaux traces.....	36
II-4 Dosage des biomarqueurs de stress oxydant.....	39
II-4-1 Activité catalase.....	39
II-4-1-1 Dans la chair.....	39
II-4-1-2 Dans l'hépatopancréas.....	40
II-4-2 Taux du MDA.....	41
II-4-2-1 Dans la chair.....	41
II-4-2-2 Dans l'hépatopancréas.....	42
II-4-3 Taux du glutathion.....	43
II-4-3-1 Dans la chair.....	43
II-4-3-2 Dans l'hépatopancréas.....	44
II-4-4 Activité acétylcholinestérase(AChE).....	45
II-4-4-1 Dans la chair.....	45

<b>II-4-4-2 Dans l'hépatopancréas.....</b>	<b>46</b>
<b>Chapitre III : Discussion.....</b>	<b>47</b>
<b>Conclusion et perspectives.....</b>	<b>50</b>

## Liste des tableaux

Tableau	Titre	page
1	Evolution de la production halieutique à Jijel au cours des dix dernières années.	3
2	Production des crevettes durant les dix dernières années à Jijel (en tonne).	4
3	Evolution du nombre de chalutiers à Jijel au cours de la décennie précédente.	4
4	Modes de présentation des crevettes en conserve.	14
5	Ordre chronologique des prélèvements.	20
6	Réalisation de la gamme d'étalonnage de protéines.	22
7	Protocole utilisé pour le dosage de l'activité catalase.	28
8	Réalisation de la courbe d'étalonnage pour le dosage des protéines ( $m \pm s$ , $n=3$ ).	33
9	Teneur en protéines dans la chair des crevettes des deux régions.	34
10	Teneur en protéines dans l'hépatopancréas des crevettes des deux régions.	35
11	Dosage des métaux traces dans la chair des crevettes de la région de Jijel.	36
12	Dosage des métaux traces dans la chair des crevettes de la région de Bejaia.	37
13	Résultat de dosage de la catalase dans la chair des crevettes ( $m \pm s$ , $n=3$ ).	39
14	Résultats de dosage de la catalase dans l'hépatopancréas des crevettes ( $m \pm s$ , $n=3$ ).	40

15	Résultats de dosage du MDA dans la chair des crevettes (m±s, n=3).	41
16	Résultats du dosage du MDA dans l'hépatopancréas des crevettes (m±s, n=3).	42
17	Résultats du dosage du glutathion dans la chair des crevettes (m±s, n=3).	43
18	Résultats du dosage du glutathion dans l'hépatopancréas des crevettes (m±s, n=3).	44
19	Résultats du dosage de l'AChE dans la chair des crevettes (m±s, n=3).	45
20	Résultats du dosage de l'AChE dans l'hépatopancréas des crevettes (m±s, n=3).	46

## Liste des figures

Figure	Titre	Page
1	Moyenne de production par wilaya et par an (2000-2007).	3
2	Schéma d'une crevette pénaeide mâle.	5
3	Cycle de développement d'un crustacé pénaeidé , d'après .	6
4	Photo de <i>Palaemon serratus</i> (C1).	7
5	Photo d' <i>Aristeus antennatus</i> (C2).	8
6	Photo de <i>Parapenaeus longirostris</i> (C3).	10
7	Indice d'altération.	21
8	Extraction des glucides, lipides et protéines selon .	23
9	Photo de l'appareil SAA.	24
10	Chemin suivi par la solution à analyser.	25
11	Schéma représentatif de seuil de signification.	32
12	Courbe de référence exprimant l'absorbance en fonction de la quantité ( $\mu\text{g}$ ) de la protéine standard, l'albumine ( $R^2$ : coefficient de détermination).	33
13	Teneur en protéines (mg/100mg) de la chair de la chair des crevettes des deux régions.	34



14	Teneur en protéines ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ ) dans l'hépatopancréas des crevettes des deux régions.	35
15	Concentration en plomb dans la chair des crevettes de deux régions( $\mu\text{g}/\text{g}$ ).	38
16	Concentration en cadmium dans la chair des crevettes des deux régions( $\mu\text{g}/\text{g}$ ).	38
17	Concentration en zinc dans la chair des crevettes des deux régions( $\mu\text{g}/\text{g}$ ).	38
18	Activité catalase ( $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de prot) dans la chair des crevettes	39
19	Activité catalase ( $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de prot) dans l'hépatopancréas des crevettes.	40
20	Taux du MDA ( $\mu\text{M}/\text{mg}$ de prot) dans la chair des crevettes.	41
21	Taux du MDA ( $\mu\text{M}/\text{mg}$ de prot) dans l'hépatopancréas des crevettes.	42
22	Taux du glutathion ( $\mu\text{M}/\text{mg}$ de prot) dans la chair des crevettes.	43
23	Taux du glutathion ( $\mu\text{M}/\text{mg}$ de prot) dans l'hépatopancréas des crevettes.	44
24	Activité acétylcholinestérase ( $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de prot) dans la chair des crevettes.	45
25	Activité de l'acétylcholinestérase ( $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de prot) dans l'hépatopancréas des crevettes.	46

## Liste des abréviations

AChE : Acétyl Choline Estérase.

As : Arsenic.

ASCh : Acétyl thio choline.

BBC : Bleu Brillant de Commassie.

BSA : Albumine de Sérum de Bœuf.

Ca : Calcium.

CAT : Catalase.

C° : degré Celsius.

Cd : Cadmium.

cm : centimètre.

cv : chevaux.

DO : densité optique.

DTNB : DiThiobisNitroBenzoate.

EDTA : Acide Ethylène Diamine Tétracétique.

Et al : et collaborateurs.

Hg : Mercure.

µg : microgramme.

mg : milligramme.

g : gramme.

GSH : Glutathion réduit.

µl : microlitre.

ml : millilitre.

l : litre.

LCC : Lampe à Cathode Creuse

$\mu\text{m}$  : micromole.

mM : milli mole.

M : mole.

MDA : MalonDiAldéhyde.

min : minute.

N : Normale.

NaOH : hydroxyde de sodium.

Nm : nanomètre.

Pb : plomb.

PMSF : Phényl Méthane Sulfonyl Fluoride.

ppb : partie par billion.

ppm : partie par million.

Prot : protéines.

RL : radicaux libres.

ROS : Espèces Réactives de l'Oxygène.

$R^2$  : coefficient de détermination.

SAA : Spectroscopie d'Absorption Atomique.

SCh : thiocholine.

SSA : Acide SulfoSalicylique.

TBA : Acide ThioBarbutirique

TCA : Acide TrichlorAcétique.

Ti : Titane.

Trs : tours.

U : unité.

UV :Ultra Violet.

V : Volume.

v.m.s : viande mécaniquement séparée.

W : Tungstene.

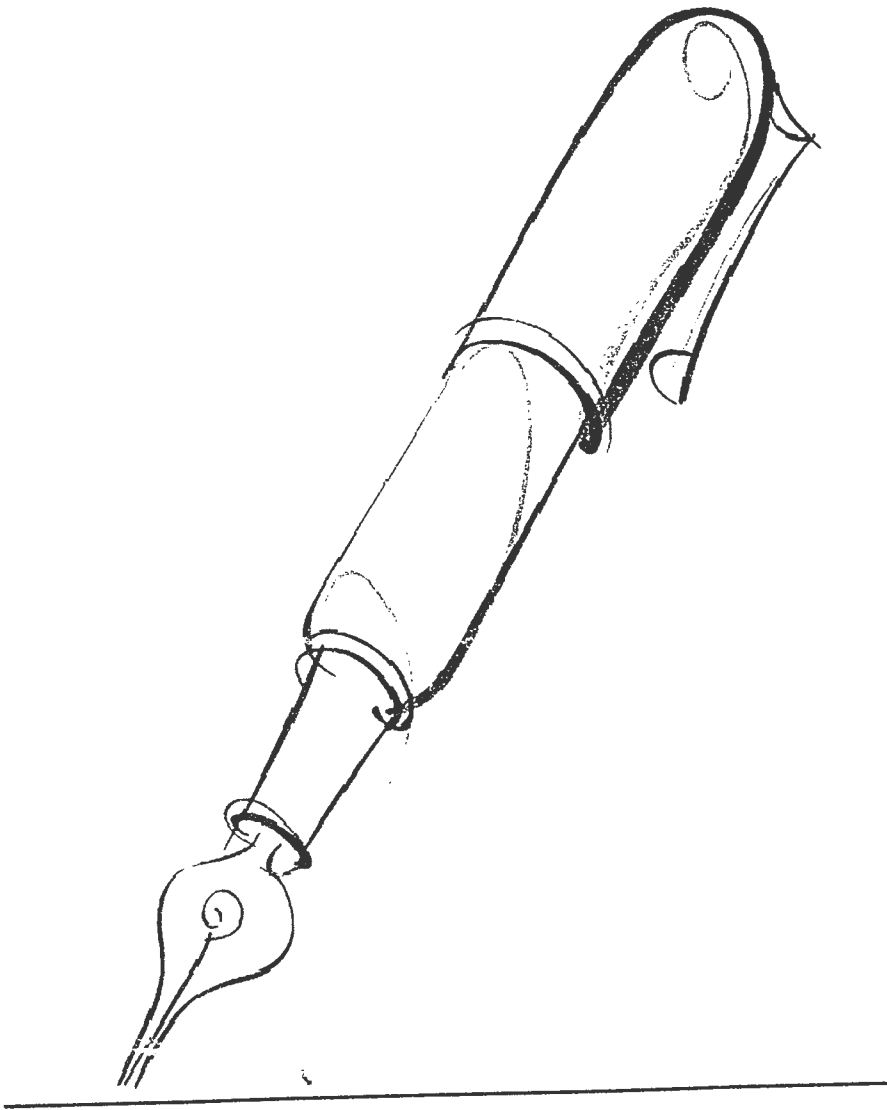
Zn : zinc.

Zr : Zirconium.

$\varepsilon$  : coefficient d'extinction.

% : unité de pourcentage.

# INTRODUCTION



## Introduction

Il est clair aujourd'hui que le développement de la production aquacole constitue l'une des réponses à la demande toujours croissante en produits aquatiques dans le monde (Amalou et Boudjenah, 1998).

L'alimentation humaine est caractérisée par une diversité et un changement dans les dernières années, où les produits de la mer notamment les poissons et les crustacés jouent un rôle essentiel dans cette diversité (Collomb et Mayor, 2007).

Ceux exploités intensivement à l'échelle mondiale appartiennent essentiellement à l'ordre des décapodes. Les crevettes, de tailles diverses, sont largement distribuées ; la plupart des espèces d'un intérêt commercial en méditerranée et en mer noire appartiennent aux quatre familles suivantes de pénaeïdes : Solénoceridae, Aristeidae, Penaeidae et Sicyonidae ; et aux quatre familles de Caridés : Palaemonidae, Procésidae, Pandalidae et Caragnidae (Fisher et al, 1987).

Dans ce contexte, les protéines jouent un rôle fondamental dans l'organisme de toutes les espèces biologiques vivantes. Ces constituants principaux des tissus interviennent dans la formation des gamètes comme source énergétique (Borsa et Millet, 1992).

Les écosystèmes aquatiques, qu'ils soient continentaux ou marins, sont souvent victimes de pollutions chimiques [métaux lourds, xénobiotiques]. Celle-ci constituent un danger pour les différents compartiments qui constituent ces écosystèmes et, par contre coup ; pour la santé humaine (Stallwitz et Hader, 1994).

Parmi les constituants majeurs de l'environnement, les métaux lourds posent de sérieux problèmes écologiques, tant par le caractère ubiquiste de leur présence au sein de la biosphère que par la forte rémanence de leur toxicité élevée (Barillet, 2007).

Les biomarqueurs ont fait l'objet, au cours de ces vingt dernières années, d'importants efforts de recherche et de développement. Ils peuvent être identifiés à différents niveaux d'organisation biologiques (Lagadic et al, 1997).

C'est ainsi que l'étude du stress oxydant et de ses applications toxicologiques chez les organismes aquatiques a été initiée il y a une vingtaine d'années, suite à la mise en évidence d'activité enzymatique antioxydante chez les poissons [Livingstone, 2001 ; Di Giulio et al, 1989 ; Winston et Di Giulio, 1991 ; Cossu et al, 1997].

A notre connaissance aucune étude n'a été réalisée sur les biomarqueurs de pollution dans la crevette. Ceci nous a poussés à faire une étude comparative entre la crevette de la région de Jijel et celle de la région de Bejaia. Notre choix a été basé sur la différence entre les activités industrielles des deux régions.

Nous avons choisi le muscle de la crevette (comme tissu) pour notre étude vu qu'elle est la partie comestible, et une organelle « hépatopancréas » organe similaire du foie au niveau des organismes vertébrés.

Pour cela on a eu recours aux dosages :

- Des protéines ; vu l'intérêt que présentent ces espèces en alimentation humaine, la quantification de ces nutriments est intéressante, car les poissons en général, sont une source de protéines animales de bonne valeur nutritionnelle.
- Des métaux lourds car ils sont bioconcentrés par les organismes vivants et en particuliers par les organismes marins.
- Des enzymes de détoxifications ; vue leurs rôles dans la défense au niveau de l'organisme (la catalase, malondialdéhyde, le glutathion réduit et l'acétylcholinestérase).

SYNTHÈSE  
BIBLIOGRAPHIQUE





# CHAPITRE I :

Secteur de pêche

de la wilaya de

Jijel

## I-Secteur de pêche de la wilaya de Jijel

Les statistiques enregistrées au niveau des archives de la direction de pêche de la wilaya de Jijel montre que :

### I- 1-la production halieutique du secteur

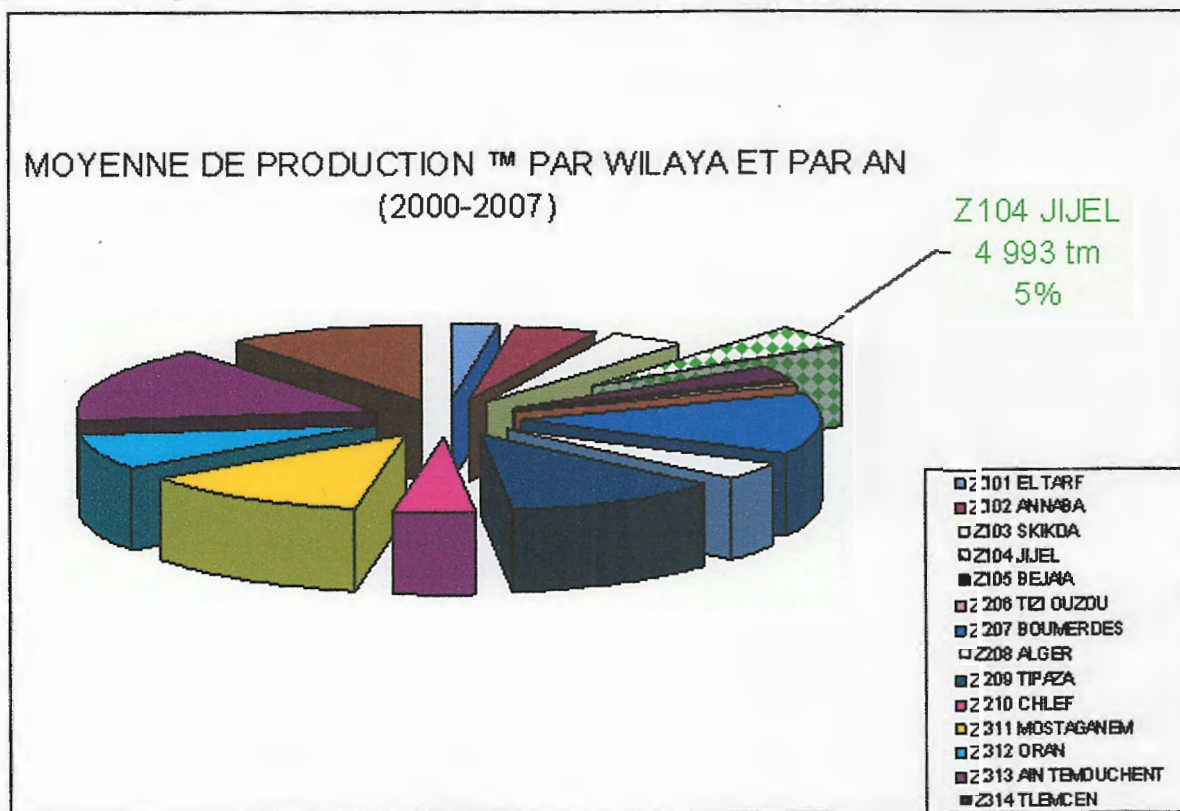
Le tableau suivant (tableau1) montre que la production annuelle échelonnée sur les dix dernières années est en augmentation sauf pour l'année 2004 où on constate une nette baisse.

**Tableau1** : Evolution de la production halieutique à Jijel au cours des dix dernières années.

année	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008
Production (tonne)	3467.71	3604.88	4046.33	3920.23	6186.52	3505.13	4704.00	8007.00	8220.00	7680.00

### I-2-Part de la wilaya de Jijel dans la production halieutique nationale

La production halieutique annuelle moyenne de la wilaya de Jijel est de 4993 tonnes. Celle-ci représente 5% de la production nationale. Ce taux est relativement faible mais comparativement aux moyens et à l'infrastructure existante, on peut dire qu'il est acceptable.



**Figure 1** : Moyenne de production par wilaya et par an (2000-2007).

### I-3-La production de crevette

Les statistiques disponibles concernent uniquement les deux espèces les plus fréquentes à savoir : la crevette rouge « *Aristeus antennatus* » et la crevette blanche (la rose) « *Parapenaeus longirostris* ». Par contre il n'existe pas de statistique concernant la crevette « *Palaemon serratus* » qui est pêchée au niveau de la baie de Jijel (tableau2)

**Tableau2** : Production des crevettes durant les dix dernières années à Jijel (en tonne).

année	Crevette rouge	Crevette blanche	total	%
1999	15.5	38.8	54.3	1.56
2000	54.7	62.34	117.04	3.24
2001	32.25	37.50	69.75	1.72
2002	17.04	32.17	49.21	1.25
2003	11.5	25.02	36.25	0.59
2004	20.3	30.10	50.40	1.43
2005	24.2	31.80	56.00	1.19
2006	13.75	07.95	21.70	0.27
2007	15.27	14.09	29.36	0.35
2008	13.45	21.63	35.08	0.45

### I-4-Evolution du nombre de chalutiers

Le moyen utilisé pour la pêche de la crevette est le chalutier. Au port de pêche de Jijel (Bouddis) il existe actuellement 14 chalutiers dont 13 sont en activité.

**Tableau 3** : Evolution du nombre des chalutiers à Jijel au cours de la décennie précédente.

années	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008
Nombre d'unités	11	11	10	10	09	11	13	13	16	14

### I-5-Les engins de pêche

Les engins utilisés sont des chaluts de fond caractérisés par un maillage de 20mm, longueur entre 13.6m et 25m et largeur de 4m à 7m, leurs puissance est de 180 à 920 cv.

### I-6-Zone et période de pêche

La pêche s'effectue à l'intérieur des trois milles nautiques à des profondeurs au delà de 60m. Il est à noter que la région qui s'étend d'Elkennar jusqu'à Oued Zhour est la plus fréquentée par ces chalutiers. La réglementation algérienne autorise la pêche à l'intérieur des trois milles nautiques durant toute l'année sauf la période allant du premier mai jusqu'au 31aout. Cette période correspond au repos biologique des crevettes.

## II- Les crevettes

### II-1-Définitions

Les crustacés représentent un ordre diversifié qui colonise les milieux aquatiques marins ou lacustres (Keith *et al*, 1998).

Les pénaeïdés représentent un groupe de crustacés principalement marins, avec un degré élevé de diversité de la forme du corps et de l'habitat (Grassé, 1996).

Ils sont les plus abondants la nuit en raison de leur activité nocturne, à des profondeurs de 0 à 20m au moins (Ghorab, 2002).

### II-2-Caractères morphologiques des pénaeïdés

Les pénaeïdés sont souvent caractérisés par leurs corps composés de deux parties qui sont le céphalothorax et l'abdomen.

- Six métamères de la tête, cette dernière porte : une paire des yeux, une paire d'antennes, une paire d'antennules, avec une paire des mandibules préorales.
- Huit métamères du thorax qui portent essentiellement huit paires de pattes dites « périopodes » dont cinq pattes ambulatoires qui servent à marcher et à attraper les proies, alors que les trois paires de pattes restantes forment les maxillipèdes.

L'abdomen de sa part est constitué de six métamères portant cinq paires de pattes dites : « pleipodes », dont la première paire de patte est impliquée dans le phénomène de reproduction, alors que les quatre paires restantes sont adaptées à la nage (Grassé, 1996). (figure 2).

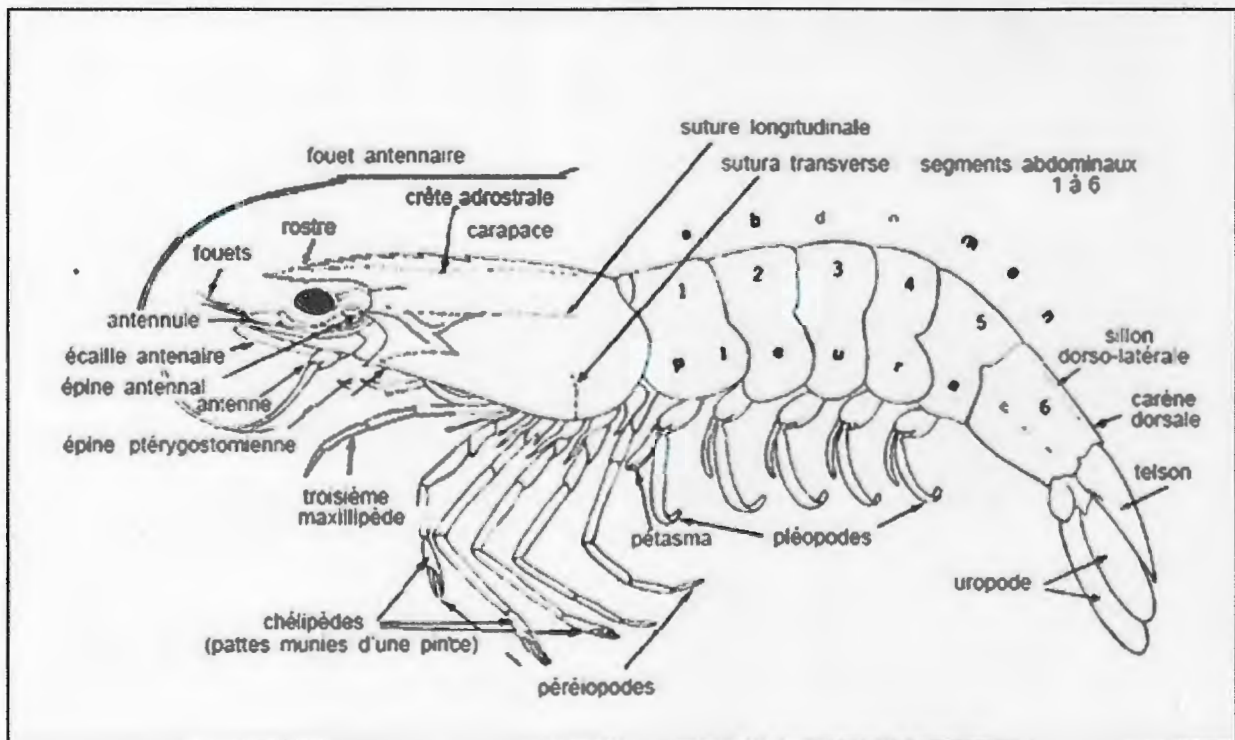


Figure 2 : Schéma d'une crevette pénaeïdée mâle (Fisher *et al*, 1987).

### II-3- Cycle biologique des penaeidés

Chez les penaeidés, les œufs ne sont pas retenus par la femelle mais libérés directement dans l'eau, les larves subissent une métamorphose importante, première étape d'un cycle biologique qui requiert à la fois les eaux marines et les eaux saumâtres (Bailey-Brock et Moss, 1992).

Les femelles adultes, pondent leurs œufs à des profondeurs de 10 à 80m environ. L'œuf à l'éclosion donne un nauplius qui est dépourvu de bouche, se nourrit au dépend des réserves vitellines. Par la suite, la succession des stades larvaires comprenant cinq stades nauplius, trois protozoés et trois mysis, s'accompagne de changements morphologiques et comportementaux. Ces larves planctoniques sont transportées par les courants vers la côte qu'elles atteignent comme post larves. Quand ces dernières mesurent 6 à 14mm de long et ont l'aspect de crevette, elles grandissent rapidement et deviennent juvéniles. Au fur et à mesure de leur augmentation de taille, elles retournent graduellement vers les embouchures des lagunes ou elles deviennent sub-adultes (Fisher et al, 1987).

Ces sub-adultes émigrent vers le large en continuant leur croissance et finalement deviennent adultes. Elles atteignent les lieux de reproduction où les femelles mures et le cycle recommence (figure 3).

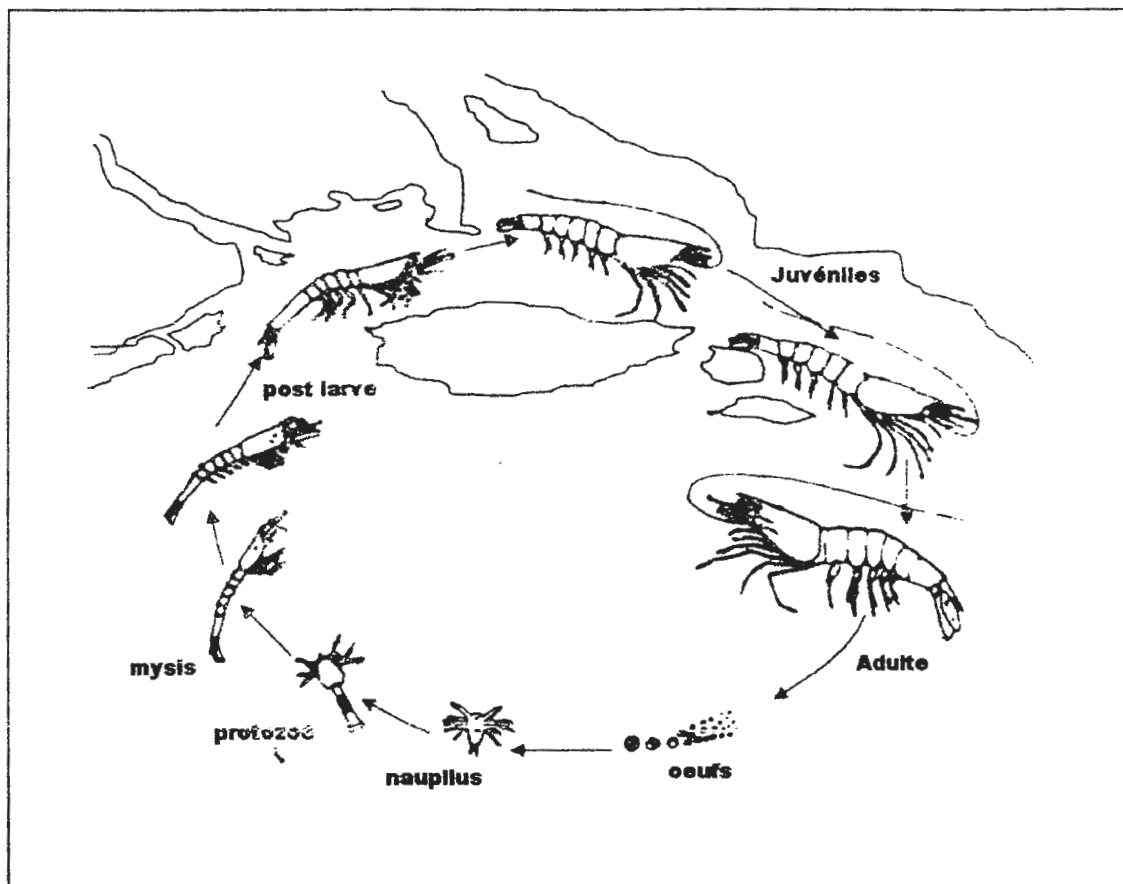


Figure 3: Cycle de développement d'un crustacé penaeidé, d'après (Fisher et al, 1987).

## II-4-Présentation des espèces étudiées

II-4-1-*Palaemon serratus* :En 1777 par Pennant :

*Palaemon serratus* est une espèce des eaux méditerranéenne et côtière (Coppin, 1984).

Les crevettes appartenant à cette espèce vivent dans le sable, sur les roches et dans les herbiers. Elles sont suspensivores mais mangent également des polychètes et broutent les particules sur les algues (Magali, 2007).

La taille de *palaemon serratus* varie de 5 à 10cm. Le corps est allongé et comprimé latéralement, la tête et le thorax sont recouverts d'une carapace (Magali, 2007).

La pièce est transparente avec bandes transversales et des lignes sombres sur les segments abdominaux dominants et des stries longitudinales et obliques sur la carapace. Des taches rouges apparaissent sur les périopodes. Le rostre est long, recourbé vers le haut, plus long chez le male que chez la femelle. On distingue sept à onze dents sur le bord dorsal (Arzel et al, 1992). (Figure 4).



Figure 4 : Photo de *Palaemon serratus*(C1),

❖ Sa position systématique :

Règne	Animal
Sous règne	Eu métazoaire
Embranchement	<i>Arthropodes</i>
Sous embranchement	<i>Mondibulata</i>

Classe	<i>Crustacea</i>
Sous classe	<i>Malacostraca</i>
Ordre	<i>Decapoda</i>
Super famille	<i>Caridés</i>
Famille	<i>Palaemonidae</i>
Genre	<i>Palaemon</i>
Espèce	<i>Palaemon serratus</i>

#### II-4-2- *Aristeus antennatus* : En 1816 par Risso :

*A. antennatus* est une crevette de grande taille présente au-dessus des fonds vaseux, des îles du « cap-verre » au Portugal, ainsi qu'en méditerranée (Arzel et al, 1992).

Cette espèce est également abondante dans la région de Jijel et appelée communément « crevette rouge » en France et en Algérie  
Les males sont nettement les plus petits que les femelles (Arzel et al, 1992)  
La carapace est très lisse et porte latéralement une paire de dents (Grassé et Doumenc, 1998).

La coloration est rouge pale ou vif, avec des bandes blanchâtres ou violacées sur la carapace. Cette crevette se nourrit essentiellement de bivalves (50%), de macroures (*calocaris macandrea*), d'amphipodes, polychètes, ophiruides (Arzel et al, 1992). (Figure 5).

Compte tenu de sa valeur économique, cette crevette apparait comme le crustacé de profondeur pêché en méditerranée occidentale et au sud de Portugal (Arzel et al, 1992).



Figure 5 : Photo de *Aristeus antennatus* (C2).

## ❖ Sa position systématique :

Règne	Animal
Sous règne	Eu métazoaire
Embranchement	: <i>Arthropoda</i>
Sous embranchement	<i>Mandibulata</i>
Classe	<i>Crustacea</i>
Sous classe	<i>Malacostracea</i>
Ordre	<i>Decapoda</i>
Sous ordre	<i>Natantia</i>
Famille	<i>Aristeidae</i>
Genre	<i>Aristeus</i>
Espèce	<i>Aristeus antennatus</i> .

II-4-3-*Parapenaeus longirostris* : En 1846 par Lucas :

*P. longirostris* est présente sur les fonds sablo-vaseux ou vaseux en atlantique, depuis l'Angola jusqu'au nord du Portugal ainsi que dans toute la méditerranée (Arzel et al, 1992).

Elle est connue en Algérie sous le nom de « crevette blanche » et en France « crevette rose ».

La carapace est dorsalement carénée. La coloration est beige plus au moins nacré, ou rose orangée ; le rostre est rouge ainsi que les articulations des appendices et le telson. Cette crevette se nourrit essentiellement de petits bivalves, de petits crustacés (crangonides en particulier) ainsi que de cadavres de poisson (Arzel et al, 1992). (Figure 6).





**Figure 6** : Photo de *Parapeneaus longirostris* (C3).

❖ **Sa position systématique :**

Règne	Animal
Sous règne	Eu métazoaires
Embranchement	<i>Artropoda</i>
Sous embranchement	<i>Mandibulata</i>
Classe	<i>Crustacéa</i>
Sous classe	<i>Malacostracéa</i>
Ordre	<i>Décapoda</i>
Sous ordre	<i>Natantia</i>
Super famille	<i>Penaeida</i>
Famille	<i>Penaedae</i>
Genre	<i>Parapeneaus</i>
Espèce	<i>Parapeneaus longirostris</i> .

# CHAPITRE III :

Microbiologie et conservation

des crevettes



### III-5-1-1- Conservation des crevettes par surgélation

La norme codex pour les crevettes surgelées (Codex Stan 092-1981 Rev. 1-1995) stipule que « le traitement de congélation doit être effectué à l'aide d'un équipement approprié de façon que l'intervalle des températures de cristallisation maximale soit franchi rapidement. La surgélation n'est jugée achevée que lorsque la température du produit est égale ou inférieure à  $-18^{\circ}\text{C}$  au centre thermique après stabilisation thermique. Le produit doit être conservé à l'état surgelé de manière à en maintenir la qualité pendant les opérations de transport, d'entreposage et de distribution. Les crevettes surgelées doivent être traitées et conditionnées de manière à réduire au minimum la déshydratation et l'oxydation ».

### III-5-1-2- Conservation domestique en armoire frigorifique

En principe les mollusques et les crustacés doivent être utilisés après leur achat, toute fois, ils peuvent être congelés pendant 48 heures au maximum, Pour les crustacés, dans leur emballage, dans le réfrigérateur (2 à 3 heures) pour éviter le phénomène de noircissement. Les crevettes non cuites, conservés par réfrigération sous glace ou par congélation, sont également préservées du noircissement enzymatique par les sulfites. Le traitement de ces crevettes consiste à les immerger une minute dans un bain d'eau de mer à 1.25% de sulfite acide de sodium ou bisulfite de sodium (E222  $\text{NaHSO}_3$ ) (Chantreau et Vallet, 1994).

Cette pratique recommandée et appliquée par de nombreux pays n'intéresse pas notre marché national, le consommateur algérien préfère les crevettes entières.

### III-5-2- Conservation industrielle par stérilisation

Ce mode de conservation permet d'augmenter la consommation des produits de pêche.

Ces conserves offrent une gamme étendue de hors d'œuvre tout prêt comme les sardines, thons, maquereaux, colins, crustacés (le crabe, la langouste, le homard) sont mis en boîte, après son sertissage. Celle-ci est stérilisée à l'autoclave à  $112^{\circ}\text{C}$  durant 2 heures 30 minutes. La valeur alimentaire des conserves stérilisées par perte d'eau est préservée par addition d'huile végétale (Comelade, 1995).

### III-5-3- Conservation par ionisation

Le terme « irradiation » s'applique à toute matière exposée à un rayonnement. Dans l'industrie agro-alimentaire, le traitement des denrées alimentaires par les rayonnements ionisants consiste à les soumettre à l'action directe de certains rayonnements électromagnétiques, électroniques ou photoniques, d'énergie suffisante, de façon telle qu'ils puissent se conserver plus ou moins longtemps en gardant au mieux leur qualités organoleptiques, hygiéniques et nutritionnelles. (Kodo, 1990).

L'ionisation a donc sur les agents d'altération des produits de la pêche, des effets létaux ou inhibiteurs :

- Action sur les enzymes : il faut combiner l'ionisation (dose faible) avec un traitement thermique
- Action sur les parasites et les insectes
- Action sur les micro-organismes : dépend des facteurs extrinsèques et intrinsèques.

#### III-5-4-Le surimi

Terme japonais, c'est un procédé inventé par les japonais au moyen âge pour préserver les produits de la mer. C'est un exemple type de « produit-procédé » qui utilise les traitements déjà cités, la technique utilise aussi d'autres matières alimentaires comme la v.s. m (graisses animales) aussi certains légumes.

Elle permet d'utiliser toutes les espèces de poisson comme le colin d'Alaska, la brème de mer et la chair des fruits de mer Saint Jaque, crabe, langouste. Par produit commercial, on utilise une seule de ces chaînes à la fois afin d'optimiser les traitements.

**N.B :** la norme **codex STAN 037-1981** pour les crevettes en conserve **Rev.1-1995**, stipule que le produit doit être présenté selon l'un des modes ci-après :

**Tableau 4 :** Modes de présentation des crevettes en conserve.

<b>Crevettes décortiquées</b>	Crevettes étêtées et décortiquées sans élimination du filet dorsal.
<b>Crevettes parées ou deveinées</b>	Crevettes décortiquées dont le dos a été incisé et le filet dorsal enlevé au moins jusqu'au dernier segment précédant la queue. La portion de crevettes parées ou deveinées doit constituer au moins 95% du contenu en crevettes.
<b>Crevettes brisées</b>	Plus de 100% du contenu en crevettes est composé de morceaux de crevettes décortiquées de moins de quatre segments dont le filet dorsal a été enlevé ou non.

## CHAPITRE IV :

### Les biomarqueurs

## IV-Les biomarqueurs

L'évaluation des conséquences toxicologiques de la présence d'un xénobiotique au sein d'un écosystème aquatique est complexe (Barillet, 2007).

En théorie, la nécessité de développer des outils permettant une détection précoce de la toxicité exercée par un contaminant. Les effets à des niveaux hiérarchiques élevés sont, le plus souvent, précédés par des changements de processus biologique à des niveaux inférieurs. C'est sur la base de ce postulat que le développement d'indicateurs biologiques prédictifs d'effets plus tardifs a été motivé (Van der Oost et al, 2003).

Pour cela des paramètres biologiques sont utilisés comme signaux d'alarme : les biomarqueurs (Bucheli et Fent, 1995).

### IV-1- Les biomarqueurs : notions et concepts

#### IV-1-1-Définitions

Différentes définitions ont été données au terme « biomarqueurs ». Ce terme est généralement utilisé dans un sens très large, incluant quasiment toutes les mesures reflétant une interaction entre un système biologique et un danger potentiel, ce danger pouvant être chimique, physique, ou biologique (Who, 1993).

La définition ayant été retenue par (Lagadic et al, 1997) est la suivante :

Un biomarqueur est un changement observable et/ou mesurable au niveau moléculaire, biochimique, cellulaire, physiologique ou comportemental, qui révèle l'exposition présente ou passée d'un individu à au moins une substance chimique à caractère polluant.

Ce changement peut alors être associé à l'exposition en elle-même, aux effets toxiques ou à la sensibilité vis-à-vis du contaminant environnemental (Peakall, 1994).

Les biomarqueurs sont définies par le national Institute of Health (USA) comme des « caractères biologiques mesurés de façon objective et évalués comme des indicateurs, soit de processus biologiques, normaux ou pathologiques, soit de réponses pharmacologiques résultant d'une interaction thérapeutique ».

### IV-2-Les différents types de biomarqueurs

Il est classique, en écotoxicologie de distinguer trois types de biomarqueurs : les biomarqueurs d'exposition à un xénobiotique, les biomarqueurs d'effet d'exposition et les biomarqueurs de sensibilité aux effets (Lagadic et al 1997, Van der Oost et al, 2003).

#### IV-2-1-Les biomarqueurs d'exposition

Les biomarqueurs d'exposition sont des indicateurs de la contamination des systèmes biologiques par un ou (des) xénobiotique(s). Ils peuvent être le résultat de l'interaction des polluants avec des molécules biologiques dans le tissu et/ou dans des liquides corporels (métabolites spécifiques de la conjugaison au glutathion, adduits à l'ADN, etc.). Dans ce cas leur suivi consiste en la détection au sein d'un individu de métabolites issues de son interaction avec certaines biomolécules ou cellules cibles. Les biomarqueurs d'exposition peuvent également prendre la forme d'activité ou de quantités anormales d'enzymes (Livingston, 2001).

#### IV-2-2-Les biomarqueurs d'effet de l'exposition

L'utilisation des biomarqueurs d'effet permet de montrer que le xénobiotique est entré dans l'organisme et, qu'après avoir été distribué entre les différents tissus, a exercé un effet toxique ou non sur une cible critique. Il s'agit donc d'altérations (biochimiques, physiologiques ou autres) mesurables au sein des tissus des fluides corporels d'un organisme et pouvant être reconnus comme étant associés de manière avérée statistiquement ou possible de point de vue mécanique à une pathologie ou un état sanitaire altéré (Depledge et al, 1993).

#### IV-2-3-Les biomarqueurs de sensibilité aux effets

Les biomarqueurs de sensibilité indiquent quant à eux la capacité inhérente ou acquise d'un organisme à répondre au stress induit par l'exposition à un xénobiotique, cette catégorie de biomarqueurs peut donc notamment inclure des facteurs génétiques (Lagadic et al, 1994).

Néanmoins, malgré l'intérêt croissant suscité par le phénomène de variation d'origine génétique de la réponse à la contamination par les polluants, les études incluant le suivi de ce type de biomarqueur sont rares. Par contre, leur intérêt principal pourra résider dans leur capacité à fournir un éclairage nouveau sur l'interprétation collectif des biomarqueurs d'exposition et d'effet, ce qui encourage leur développement (Lagadic et al, 1994).

N.B : cette subdivision des biomarqueurs dans la littérature est quelque peu imprécise du fait que les biomarqueurs d'exposition et d'effet se distinguent plus de par la manière dont ils sont utilisés que par une réelle dichotomie (Suter, 1993).

### IV-3- Le stress oxydant

#### IV-3-1- Définition des radicaux libres

Les radicaux libres sont des atomes ou des molécules présentant un ou plusieurs électrons célibataires. Les électrons sont facteurs d'instabilité et de réactivité (Lagadic et al, 1997).

Cet état confère à la molécule une grande réactivité sur les constituants organiques et sur les structures cellulaires ce qui entraîne des modifications irréversibles au niveau de la cellule comme la dénaturation de l'ADN, l'inactivation des enzymes ou encore, la peroxydation des lipides membranaires. Les radicaux libres ayant une durée de vie très limitée, de l'ordre de microseconde ; ils se forment de façon irréversible en parallèle au métabolisme énergétique et par une multitude de voies. La production excessive de ces radicaux libres aboutit à ce qu'on appelle stress oxydant (Aurousseau, 2002).

#### **IV-3-2-Définition du stress oxydant**

Dans les conditions normales, il existe un équilibre entre la production des radicaux libres et les défenses antioxydantes. Lorsque un déséquilibre survient, soit une production des radicaux libres augmentée par rapport aux capacités antioxydantes intactes, soit un état déficient de ces derniers, soit ces deux situations cumulées, alors les radicaux libres vont immédiatement réagir et altérer les molécules de la cellule avec des conséquences qui peuvent être dramatiques ; cette situation définit « le stress oxydant » (Aurousseau, 2002).

Le stress oxydant a été défini par (Sies, 1991) comme « un déséquilibre entre les systèmes prooxydants et antioxydants en faveur des premiers, et source d'effets toxiques potentiels ». Pour (Halliwell, 1987), « le stress oxydant implique la production d'espèces réactives de l'oxygène et est synonyme de dommages ».

Le stress oxydant peut mener à une désorganisation des cellules cibles, voire à la nécrose cellulaire, endommageant l'interstitium environnant et les cellules adjacentes (Aurousseau, 2002).

#### **IV-3-3-Le système antioxydant cellulaire**

A fin d'éliminer les espèces radicalaires et de limiter les dommages provoqués par le stress oxydant, les cellules disposent de trois mécanismes de défenses antioxydants :

- L'élimination des espèces réactives et des catalyseurs de leur formation
- L'induction de la synthèse d'antioxydants
- L'augmentation de l'activité des systèmes de réparation et d'élimination des molécules endommagées (Barillet, 2007).

#### **IV-3-4-Intérêt du stress oxydant**

L'intérêt majeur des paramètres antioxydants en tant que biomarqueurs réside dans le caractère aspécifique de leur réponse qui se traduit, en général dans une première phase par une augmentation de l'activité des enzymes impliquées. L'induction d'activité est en général transitoire, relativement modérée et aspécifique. Ce phénomène traduit l'adaptation des organismes à un nouvel environnement (Barillet, 2007).



La validation de biomarqueurs de stress oxydant nécessite donc, pour un organisme et un type de polluant donné, d'identifier les organes cibles potentiels des toxiques et de caractériser la cinétique des réponses des paramètres biochimiques étudiées. De même, du fait de la complexité des systèmes antioxydants et de leurs nombreuses interactions au sein du métabolisme cellulaire, il est généralement nécessaire de mesurer plusieurs paramètres de la défense antioxydante pour pouvoir interpréter l'effet des polluants sur cette dernière (Barillet, 2007).

#### IV-4- Biomarqueurs de stress oxydant retenus pour notre étude

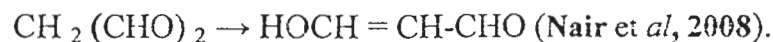
##### IV-4-1- La catalase (CAT)

C'est une enzyme à hème qui agit en synergie avec la SOD puisque son rôle est d'accélérer la dismutation du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène moléculaire.

En effet, le résultat de la dismutation de l'anion superoxyde, le  $H_2O_2$ , est converti en  $H_2O$  et  $O_2$  à l'aide de la catalase. Cette protéine est un homodimère de 56KD, essentiellement localisée dans le foie et les globules rouges. Dans le tissu cardiaque, il est pensé que la catalase existe seulement au niveau des mitochondries avec une activité très basse par rapport au glutathion peroxydase (Sami, 1995).

##### IV-4-2- Le malondialdéhyde (MDA)

Le malondialdéhyde est le composé organique avec la formule  $CH_2(CHO)_2$ . Il existe principalement dans la forme Enol :



Parmi les aldéhydes formés lors de la peroxydation lipidique ; le plus connu est le malondialdéhyde, un composé très réactif qui n'est généralement pas observé dans sa forme pure. Le MDA est également un excellent substrat des peroxydases (Bonnes-Taourel et al, 1992).

La production de cet aldéhyde est utilisée comme un biomarqueur pour mesurer le niveau de stress oxydatif dans l'organisme (Lefèvre et al, 1998).

Dans le foie, le MDA peut être transformé en  $CO_2$  et  $H_2O$  par des métabolisations successives. Le MDA est converti en acide malonique semi-aldéhyde par l'aldéhyde déshydrogénase mitochondriale. Le semi-aldéhyde malonique se décarboxyle spontanément en acétaldéhyde qui est oxydé par l'acétaldéhyde déshydrogénase en acétate qui est métabolisé. Une partie du MDA peut être convertie en malonate qui est convertie en malonyl COA et décarboxyle en acétyl COA (Isabelle, 2005).

#### IV-4-3- Le glutathion(GSH)

Le glutathion (L-gamma-glutamyl-L-cysténylglycine) est un tripeptide qui joue un rôle à divers niveaux dans la lutte contre le stress oxydant dont 90% existe sous la forme réduite GSH.

Il est riche en soufre ce qui lui confère son rôle de piègeur de radicaux libres. Il existe des enzymes responsables de la synthèse, de la dégradation ou de recyclage du glutathion. Certaines de ces enzymes ont un rôle crucial pour la stabilisation de ce composé et le maintien de l'équilibre redox (Andreyev et al, 2005).

Le glutathion est le composé réducteur soufré le plus abondant dans le compartiment intracellulaire. En interceptant un radical hydroxyle, le glutathion génère un radical superoxyde qui doit être pris en charge par une SOD, ce qui témoigne, là, encore, de l'importance de la coopération entre les différents systèmes de défense antiradicalaire (Barillet, 2007).

Outre son rôle essentiel d'agent réducteur, le glutathion intervient également à un second niveau dans la défense antiradicalaire par son implication dans les réactions de détoxification catalysées par la glutathion-S-transférase (Barillet, 2007).

#### IV-4-4- L'acétylcholinestérase (AChE) = biomarqueur de neurotoxicité

Il n'existe que peu de marqueurs de neurotoxicité, le marqueur le plus fréquemment utilisé dans ce cas est le suivi de l'activité de l'acétylcholinestérase, une enzyme clé du système nerveux (Barillet, 2007).

Concernant la structure de l'acétylcholinestérase chez les invertébrés, seules ont été identifiées les formes globulaires, sous forme de monomère, dimères et tétramères de l'unité catalytique. Ces différentes formes, selon leur localisation dans l'organisme, ont des comportements hydrophiles ou amphiphile. L'isoforme la plus commune chez la majorité des espèces est le dimère amphiphile lié par un ancrage glycophospholipidique à l'extérieur de la membrane cellulaire (Lagadic et al, 1997).

Dans les jonctions neuromusculaires et interneuronales, la terminaison nerveuse libère un médiateur chimique, l'acétylcholine, qui va permettre la transmission de l'influx nerveux. Lorsque l'acétylcholine est libérée des terminaisons nerveuses dans l'espace synaptique, elle se fixe sur l'un des récepteurs cholinergiques (nicotinique ou muscarinique) qui se traduit sur la membrane post-synaptique (nerfs, muscles lisses ou glandes). L'interaction de l'acétylcholine avec le récepteur provoque une dépolarisation de la membrane post-synaptique, générant ainsi un potentiel d'action qui assure la transmission du signal nerveux. L'AChE, en inactivant rapidement l'acétylcholine, permet au système de revenir immédiatement à son état de repos. Le rôle de l'AChE est d'hydrolyser rapidement l'acétylcholine à fin de stopper la stimulation du récepteur et, par conséquent, le transfert du signal par repolarisation de la membrane. L'AChE posséderait d'autres fonctions non cholinergiques, encore mal connues (Barillet, 2007).

## I- Matériel et méthodes

Les crevettes utilisées au cours de ce travail ont été obtenus de deux sites de pêche différents : la baie de Jijel et celle de Bejaïa à des périodes plus au moins séparées.

### I-1- Présentation du matériel biologique

Les échantillons des trois espèces des crevettes présentées au chapitre II (partie théorique) ont été transportées fraîches au laboratoire de l'université selon l'ordre chronologique récapitulé au tableau 5.

#### I-1-1- Ordre chronologique des prélèvements

Tableau 5 : Ordre chronologique des prélèvements.

Régions	Jijel	Bejaïa
<i>P.serratus</i>	15 mars	27 avril
<i>A.antennatus</i>	17 mars	15 avril
<i>P.longirostris</i>	06 avril	15 avril

#### I-1-2- Test de fraîcheur

Pour tester la fraîcheur de la crevette, on peut se baser sur les critères décrits par la norme européenne (utilisée en Algérie) définissant les catégories de la qualité de poisson.

La pièce peut être considérée comme fraîche si elle réunie des critères typiques concernant l'odeur, l'aspect, la texture, l'œil, la peau et les branchies. L'essentiel de ces critères visuels sont :

- ✓ Une odeur marine, légère et agréable caractéristique de l'espèce
- ✓ L'aspect général révèle un éclat métallique, brillant, généralement de couleur vive
- ✓ Corps rigide légèrement humide, tissu musculaire ferme et élastique en même temps
- ✓ Les sécrétions cutanées ne sont pas visibles, le mucus est transparent
- ✓ L'œil est légèrement saillant, clair, vif, brillant et luisant, la cornée est convexe et transparente
- ✓ L'opercule est bien adhérent au corps, humide et sans tache notamment sur la face interne

- ✓ Les branchies d'une crevette fraîchement pêchée sont brillants, bien colorées et exempte de mucus. Plus la crevette vieillit, plus les branchies virent au jaune, plus les lames qui les constituent ont tendance à s'agglutiner, plus il y a des mucus qui deviennent laiteux.

#### ❖ Indice d'altération

Dans l'inspection vétérinaire sur terrain, les agents qui ont habilité utilisent un barème de cotisation juge l'état de fraîcheur des produits de la mer, c'est une grille d'évaluation sensorielle repose sur trois critères essentiels qui sont : l'aspect, l'état et l'odeur qui seront cotés de 0 à 6 selon le degré d'altération, la moyenne arithmétique des critères évalués présentes l'indice d'altération (figure 7).

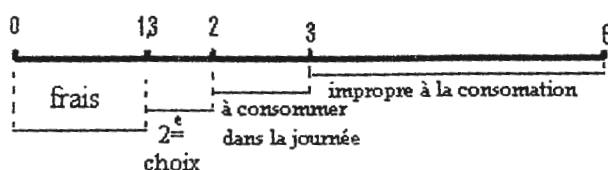


Figure 7:Indice d'altération (Zine, 1999).

## I-2- Dosage des protéines

La technique retenue dans le cadre de ce travail est celle décrite par (Bradford, 1976).

### I-2-1-Préparation des échantillons

Un fragment de la chair (0.1 à 0.6g) est prélevé dans la partie abdominale de chaque individu mâle et femelle, après pesée, met dans des ependorffs additionner de 1ml TCA (20%) puis étiquetés et conservés au congélateur en attendant le dosage.

En suivant ces mêmes étapes pour l'hépatopancréas qui est prélevée de la partie céphalothoracique de chaque pièce.

### I-2-2- Réalisation de la gamme d'étalonnage

La réalisation de ce dosage nécessite l'élaboration d'une gamme étalon de protéine standard : la BSA (albumine sérum bovine).

La méthode de Bradford utilise les propriétés du bleu brillant de coomassie (BBC) à se fixer sur les acides aminés basiques – l'arginine en particulier – et aromatiques ; il en résulte une modification des propriétés spectrales du bleu de coomassie qui, une fois complexé, présente un maximum d'absorbance à 595nm. (Dauvillier, 1998).

On utilise le bleu brillant de coomassie (G250) comme réactif. Les résultats sont exprimés en équivalent- albumine [l'albumine de sérum de bœuf BSA (1 mg/ ml)

(Sigma, France)], produit de référence servant à la standardisation (Dauvillier, 1998). (Tableau 6).

**Tableau 6:** Réalisation de la gamme d'étalonnage des protéines.

<b>Tubes</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>
<b>BSA (<math>\mu</math>l)</b>	0	20	40	60	80	100
<b>Eau distillée (<math>\mu</math>l)</b>	100	80	60	40	20	0
<b>Réactif BBC (ml)</b>	4	4	4	4	4	4
<b>Quantité des protéines (<math>\mu</math>g)</b>	0	200	400	600	800	1000

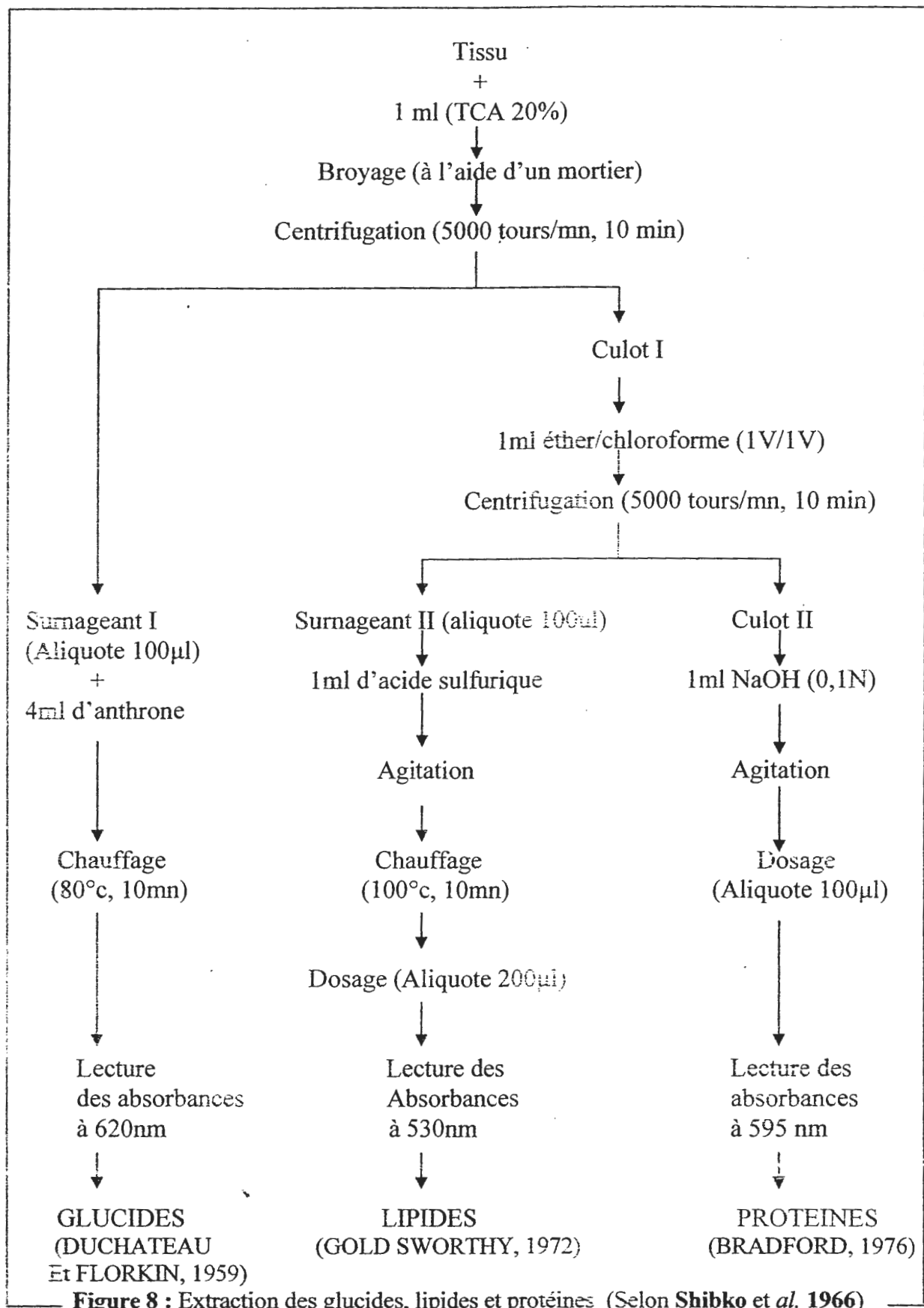
### I-2-3- Extraction des constituants des échantillons (chair et hépatopancréas)

L'extraction des métabolites des échantillons a été réalisée selon le procédé de (Shibko et al, 1966).

Les fragments de l'échantillon additionnés de TCA (20%) sont broyés manuellement à l'aide d'un mortier. Le broyat est centrifugé à 5000 tours /min pendant 10 minutes. Le culot I est additionné de 1 ml d'éther / chloroforme (1V/1V).

Une deuxième centrifugation est réalisée, permet d'obtenir ainsi le surnageant II contenant les lipides, tandis que le culot II, dissout dans 1ml de NaOH (0.1 N), sera utilisé pour le dosage des protéines totales (Figure 8).

Les protéines des échantillons ont été dosées dans un aliquote de 100  $\mu$ l additionné de 4 ml de BBC (voir annexe A). Après agitation la lecture des absorbances est effectuée à 595 nm contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre.



### I-3- Analyse des métaux traces par spectrométrie d'absorption atomique(SAA)

Les éléments minéraux présents dans les océans peuvent être regroupés en trois grandes classes. Dans la première on classera les éléments considérés comme non critiques : H, O, N, C, etc. une seconde catégorie concerne les éléments à haute toxicité et relativement soluble : Pb, Cd, Hg, As. A faible concentration ils peuvent interférer avec le déroulement des processus enzymatiques spécifiques. Enfin on retiendra les éléments à haute toxicité dont la relative insolubilité : Ti, Zr, W, Ca (Le Gal, 1988).

La spectroscopie atomique s'applique à l'analyse qualitative et quantitative d'environ 70 éléments. Sa sensibilité couvre un domaine qui s'étant de la ppm au ppb. Sa rapidité, sa simplicité, sa sélectivité exceptionnellement élevée et le coût modéré de son appareillage constitue au tant d'atouts supplémentaire de la méthode (Skoog *et al*, 1997).

La base de la spectrométrie d'absorption atomique est le phénomène nommé absorption par résonance dans les gaz : si l'on fait passer un rayonnement lumineux polychromatique à travers un gaz à l'état d'atomes dispersés, une partie du rayonnement correspondant à des longueurs d'ondes bien définies sera absorbée. Une lampe à cathode creuse(LCC), ayant pour cathode l'élément étudié, produit un spectre d'émission caractéristique de l'élément sous l'effet d'une décharge électrique. Sur le parcours du rayonnement se situe un atomiseur (unité permettant le passage à l'état d'atomes) contenant l'échantillon à analyser à l'état gazeux dont les atomes absorbent dans le domaine de résonance (Figure 9). L'intensité de la lumière primaire sera donc atténuée. Les raies spectrales qui ne sont pas absorbées ne sont pas atténuées (Schwedt, 1993).

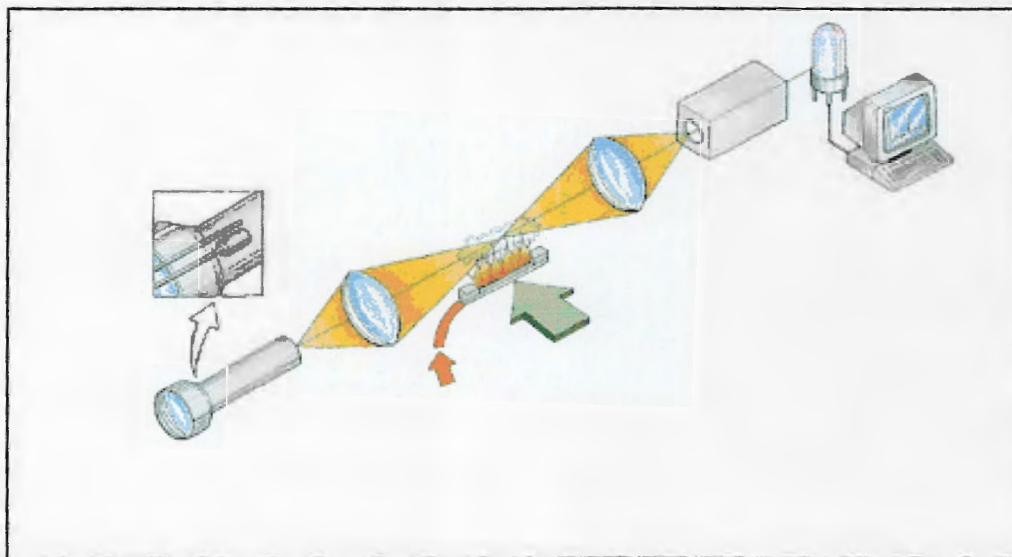


Figure 9: Photo de l'appareil SAA.

La chaleur nécessaire pour faire passer l'échantillon à l'état gazeux est générée par une flamme (la SAA de flamme analyse seulement les solutions). Un atomiseur de flamme consiste en un nébuliseur qui convertit l'échantillon en un aérosol, qui est alimenté dans le brûleur. L'atomisation se produit dans la flamme qui

est habituellement alimentée par de l'acétylène et du protoxyde d'azote ( $N_2O - C_2H_2$ ) 3100k, ou de l'air comprimé (air-  $C_2H_2$ ) 2500k (OIML, 1991). (Figure 10).

Les solutions de références (ou standards) sont préparées à l'aide de solutions pures achetées pour l'absorption atomique. La lampe cathodique émet son rayonnement au travers d'une lentille focalisant le faisceau au travers de la flamme. Un monochromateur reçoit le signal et mesure l'absorbance. L'échantillon en solution est aspiré par un capillaire dans la chambre d'injection qui conduit au brûleur (Schwedt, 1993).

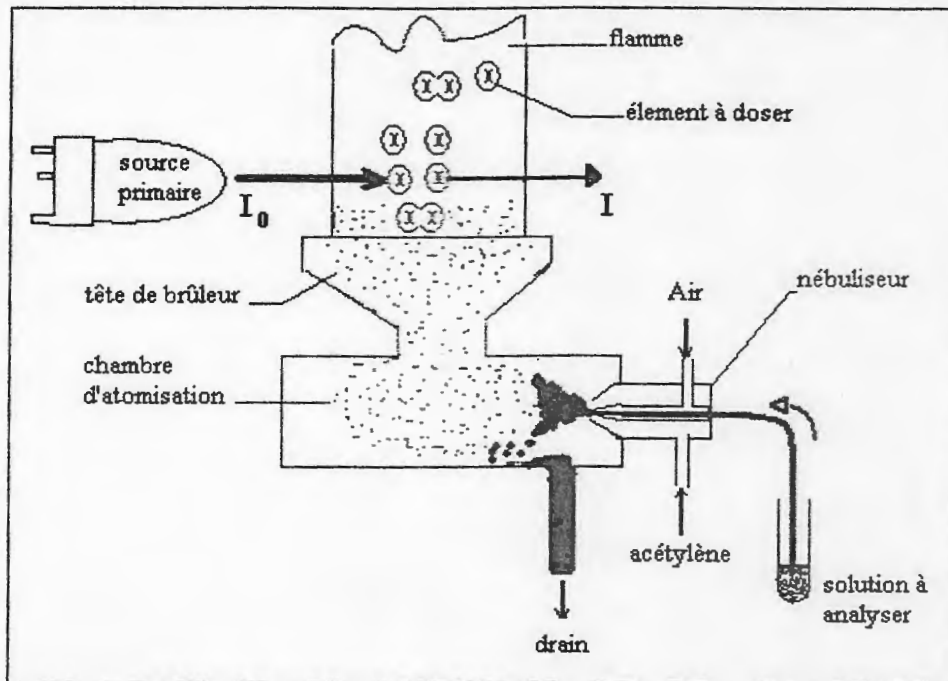


Figure 10: Chemin suivi par la solution à analyser (OIML, 1991).

L'absorbance obéit à une loi de proportionnalité du type de loi de Beer-Lambert :

$$Abs = kLN_0$$

Dont :

**K** : coefficient d'absorption ou la section efficace de capture d'un photon ;

**L** : longueur du chemin optique dans l'atomiseur ;

**N<sub>0</sub>** : nombre d'atomes à l'état fondamental par unité de volume dans l'atomiseur.

L'appareil utilisé dans notre travail est du modèle AA-6200 (SHIMADZU CORPORATION) caractérisé par une limite de détection (Concentration d'un élément qui donne un signal égal à trois fois l'écart type du bruit de fond) varie de 0,001 à 0,02ppm avec une exactitude de 1 à 2 % d'erreur relative.



### ❖ Préparation des échantillons

Le protocole mis en œuvre pour le prélèvement et le traitement des échantillons est capital pour les conclusions qui découleront de l'analyse.

Les fragments de la chair prélevés au paravent sont décongelés puis portés à l'étuve à 105°C pendant 48 heures pour les faire sécher totalement, la matière sèche est ensuite broyée puis tamisée sur des mailles de 2 mm. La poudre ainsi obtenue va subir une digestion non humide avec de l'eau régale (HCl / HNO<sub>3</sub>, 3V/1V) ; cette technique consiste en une digestion de la matière organique dans un milieu très oxydant puisqu'on ne peut faire appel à des catalyseurs minéraux, l'opération est brutale, présente des risques mais elle est rapide et à la fin le milieu de minéralisation renferme la totalité des éléments minéraux en solution, sans risque de perte par volatilisation. (Dauvillier, 1998).

Dans un ballon, un gramme de l'extrait sec en poudre est additionné de 16 ml de l'eau régale puis porté à l'ébullition. Au cours de cette phase, l'évaporation des acides s'accompagne du dégagement d'une fumée brune indiquant que la digestion de la matière organique n'est pas terminée, nous veillons alors à rajouter l'eau régale (12 ml) lorsque le contenu du ballon atteint 2 à 3 ml. Au fur et à mesure la couleur de la fumée devienne blanchâtre ce qui prouve que la minéralisation est achevée. On laisse l'opération se poursuivre jusqu'à l'obtention d'un résidu de 3 à 4 ml qui sera filtré sur papier puis complété à 25 ml par l'eau déminéralisée. Une deuxième filtration s'effectue sur membrane (pore de 4 à 5µm), le filtrat final est conservé à froid (4 à 8°C pendant 30 jours) dans des flacons en polyéthylène pour éviter tout transfert ou diffusion de minéraux entre l'emballage et la préparation dans un sens ou dans un autre.

Notre analyse a été réalisée sur les trois éléments suivants :Pb, Cd, Zn.

La concentration des éléments en (µg/g) de tissu égale à la concentration lue (µg/l) en ppm divisée par la masse de l'échantillon multipliée (le volume total de l'échantillon moins le volume de l'échantillon acide après la digestion).

$$[\text{Métaux}] = \frac{[\text{ppm}]}{1g \times (V_{t_{ech}} - V_{t_{ech\ acid}})}$$

Où :

1g : la masse de la prise d'essai

V<sub>t<sub>ech</sub></sub> : volume total de l'échantillon = 25ml

V<sub>t<sub>ech aci</sub></sub> : volume total de l'échantillon après digestion = 3 à 4ml

**N.B:** Toutes ces étapes doivent se dérouler sous la haute.

## I-4-Dosage des biomarqueurs de détoxification

Le dosage a été réalisé dans la chair et dans l'hépatopancréas des crevettes.

### I-4-1-Extraction de la fraction « S9 »

Les dosages enzymatiques (relatifs aux suivis de biomarqueurs de stress oxydant et de neurotoxicité) nécessitent que les tissus biologiques (la chair et l'hépatopancréas) fassent l'objet préalable d'une homogénéisation et d'un fractionnement subcellulaire. L'ensemble de ces procédures se déroulent dans un tampon adapté dont la composition est la suivante : tampon phosphate 100 mM (8.44 ml), glycérol 20% (1.56 ml) et phénylméthane sulfonyl fluoride (PMSF) 0.2 mM (2 µl).

Une fois l'organe prélevé, il doit donc être placé dans un mortier dans lequel un volume déterminé de ce tampon aura préalablement été déposé (environ 500 µl pour 10mg de tissu, ce rapport étant moindre pour des masses de tissus plus importantes). Etant donnée l'insuffisance du matériel biologique disponible sur un seul individu, les organes de quatre individus différents doivent être regroupés au sein d'un même échantillon.

Le broyage des tissus se fait directement dans le mortier où il se trouve, et ce afin d'éviter une perte trop importante de l'homogénat lors de transvasements successifs.

Une fois les tissus correctement homogénéisés dans le tampon, on procède à leur centrifugation (15 min ; 10000 g) en vue de l'obtention de la fraction dite « S9 ».

La fraction « S9 » est en effet utile pour l'étude du métabolisme cellulaire puisqu'elle contient les enzymes microsomiales et cytosoliques. (Barillet, 2007).

Une fois cette fraction obtenue, elle est aliquotée (généralement en deux aliquotes) et stockée au congélateur en attendant les dosages.

### I-4-2- Dosage de biomarqueurs de stress oxydant

#### I-4-2-1- Dosage de l'activité catalase

Les catalases sont présentes dans un grand nombre de tissu. Ce sont des enzymes tétramériques à groupement hème. Ces enzymes interviennent dans la défense de la cellule contre le stress oxydant en catalysant la dismutation du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) toxique en eau et en oxygène (Regoli et Principato, 1995).



L'activité catalase (CAT) est mesurée à 240 nm à l'aide d'un spectrophotomètre par la variation de la densité optique consécutive à la dismutation du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ( $\epsilon = 40 \text{ M}^{-1} \text{cm}^{-1}$ ) en faisant réagir dans le tampon phosphate (100 mM ; pH 7.5) pendant 1 mn, 200 µl de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (500mM) sur 20 µl d'homogénat, à une température d'incubation de 25°C. Les résultats sont exprimés en µmole d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> par minute et par mg de protéines (tableau 7).

**Tableau 7:** Protocole utilisé pour le dosage de l'activité catalase.

<b>solutions</b> / <b>Tubes</b>	<b>Essai (µl)</b>	<b>Blanc (µl)</b>
<b>Tampon phosphate (100 mM ; pH 7.5)</b>	780	800
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (500 mM)</b>	200	200
<b>Homogénat</b>	20	0

L'activité de la CAT décroît rapidement, il est important de mettre toujours le même temps entre le pipetage et le moment de la lecture qui se fait après 15 secondes de délai durant 60 secondes de mesure. Le coefficient d'extinction est de  $0.0040 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$  et l'activité CAT est calculée par la formule suivante :

$$\text{Activité } (\mu\text{mol/ mn /mg de prot}) = \frac{\Delta \text{DO} \times 10}{(\varepsilon \times L \times X \times 0.05)}$$

L: longueur de la cuve utilisée.

X : la lecture des protéines.

$\varepsilon$ : coefficient d'extinction= $0.0040 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$

#### I-4-2-2- Dosage du malondialdehyde

Le dosage du malondialdehyde (MDA) a été réalisé suivant la méthode de Draper & Hadley(1990).

La méthode est basée sur la mesure colorimétrique de la réaction entre l'acide thiobarbiturique (TBA) avec la malondialdehyde, composé issu de la peroxydation lipidique des acides gras polyinsaturés des membranes cellulaires donnant un complexe rouge brun mesuré à une longueur de 532 nm.

Le dosage est réalisé comme suit :

-500 µl de surnageant sont additionnés à 2.5 ml TCA (100 g/l).

- chauffer au bain marie 100°C/15 min.
- refroidissement dans la glace.
- centrifugation (10.000 trs/min pendant 10 min).
- 2 ml de surnageant sont additionnés à 1 ml TBA (0.67 g/100 ml eau distillée ; ajouter 2 ml de NaOH 2 N à 98 ml de cette solution).
- Chauffage au bain marie à 100°C/15 min.
- refroidissement dans la glace.
- après avoir agité au vortex le mélange, une dernière centrifugation (10,000 trs/min pendant 10 min) est effectuée.
- récupérer le surnageant constitué de butanol renfermant les complexes TBA-MDA (complexe rose).
- lecture des absorbances à une longueur d'onde de 532 nm.

Le taux du malondialdéhyde est déterminé selon la formule suivante :

$$\text{Taux du MDA} = \frac{\frac{\text{DO}}{156} \times \frac{\text{volume total de la cuve}}{\text{volume de la prise d'essai}} \times 10^3}{\text{mg de protéines}}$$

DO : la densité optique obtenue après hydrolyse du substrat à 532 nm.

156 mM<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup> : coefficient d'extinction molaire du TBA.

Volume total de la cuve : 1ml

Volume de la prise d'essai (volume de l'homogénat) : 0.5 ml

10<sup>+3</sup> : unité de conversion en µM.

mg de protéines : taux de protéines en mg.

#### I-4-2-3-Dosage du glutathion

Le glutathion est dosé selon la méthode de Weckberker & Cory(1988) qui repose sur la mesure de l'absorbance de l'acide 2-nitro 5-mercapturique, résultant de la réduction de l'acide 5-5'-dithio-bis-2nitrobenzoïque (réactif d'Ellman) par les groupements thiol (-SH) du glutathion.

Afin de protéger les groupements thiol du glutathion l'homogénat doit subir une déprotéinisation par l'acide sulfosalicylique 0.25%( 0.25 g SSA, 100 ml d'eau distillée); 0.8 ml de l'homogénat sont additionnées à 0.2 ml d'acide sulfosalicylique.

Le mélange est agité et laissé pendant 15 min dans un bain de glace, puis centrifugé (1000trs/min pendant 5 min). Le surnageant est utilisé pour la mesure de la concentration du glutathion selon les étapes suivantes :

- prélever 0.5ml du surnageant.
- ajouter 1ml du tampon Tris-EDTA (0.02LM ; pH9.6.
- ajouter 0.025ml de DTNB (0.01M).
- laisser le mélange (la couleur devienne jaune palle) pendant 5 min à température ambiante.
- mesurer la densité optique au spectrophotomètre à 412nm.

Le taux du glutathion est estimé selon la formule suivante :

$$\text{Taux du GSH} = \frac{\text{DO} \times 1 \times 1.525}{13100 \times 0.8 \times \text{mg de protéines}}$$

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

DO : densité optique

1 : le volume total des solutions utilisés dans la déprotéinisation (0.2 ml ASS+0.8 ml homogénat)

1.525 : le volume total des solutions utilisées dans du GSH (0.025 ml DTNB+ 0.5 ml surnageant + 1 ml Tris-EDTA).

13100 : coefficient d'absorbance (concernant le groupement – SH à 412 nm).

0.8 : le volume de l'homogénat utilisé en ml

0.5 : le volume du surnageant utilisé en ml

Mg de protéine : taux de protéines en mg

#### I-4-2-4- Dosage de l'acétylcholinestérase

La méthode de dosage de l'acétylcholinestérase (AChE) la plus courante (Ellmen et al, 1961) consiste à fournir à l'enzyme un substrat, l'acétylthiocholine (ASCh), dont l'hydrolyse catalysée libère de la thiocholine (SCh) et de l'acide acétique. La quantité de thiocholine obtenue est proportionnelle à l'activité enzymatique, on la révèle à une méthode colorimétrique faisant intervenir un ion (le dithionbisnitrobenzoate du DTNB) qui se lie avec la thiocholine pour former un complexe de couleur jaune que l'on dose à 412 nm.

L'activité enzymatique de l'AChE est déterminée comme suit : 100 µl du surnageant sont additionnés à 100 µl de DTNB (0.1 M ; pH 7) et 1 ml du tampon Tris (0.1 M ; pH 7). Après 3 à 5 min de repos nécessaire pour épuiser la réaction spontanée, 100 µl du substrat acétylthiocholine iodide (sigma R) (118 mg ASCh dans 5 ml d'eau distillée sont ajoutés.

La lecture des densités optiques s'effectue à 412 nm toutes les 4 minutes pendant 20 minutes contre un blanc où le surnageant a été remplacé par un volume équivalent du tampon phosphate (50 µl). L'activité spécifique de l'AChE est déterminée par la formule suivante :

$$X \text{ (U/ mg de protéines)} = \frac{\Delta \text{ DO} \times V_t}{1.36 \times V_s \times \text{prot}}$$

X : activité spécifique de l'AChE en µM / mn / mg de protéines

Δ DO : densité optique

V<sub>t</sub> : volume total des solutions (0.1 ml du surnageant + 0.1 ml du DTNB+ 1 ml de tris+ 0.1 ml de substrat ASCh).

V<sub>s</sub> : volume du surnageant (0.1 ml).

1.36 : coefficient d'extinction (concernant le DTNB à 412 nm).

## I-5-Analyse statistique des données

### I-5-1- Régression linéaire

La quantité des protéines dans les échantillons biologiques des trois espèces de crevettes a été déterminée à partir d'une courbe de référence dont l'équation est de type :

$$Y = aX + b,$$

Où :

Y : absorbance ;

X : quantité de protéines;

a : pente ;

b : coefficient.

### I-5-2- Analyse de la variance

La comparaison des mesures des différents paramètres au niveau de la chair et de l'hépatopancréas des crevettes (dosage des métaux traces et dosage des biomarqueurs) entre les deux régions et entre les trois espèces (intra sexe) a été réalisé à l'aide de l'analyse de la variance à deux critères de classification.

La comparaison des teneurs en protéines se fait entre les deux sexes et entre les espèces de la même région.

### I-5-3- Le seuil de signification

Notre interprétation sera basée sur le seuil de signification (0.05).

Le seuil de signification est représenté dans la figure 11.

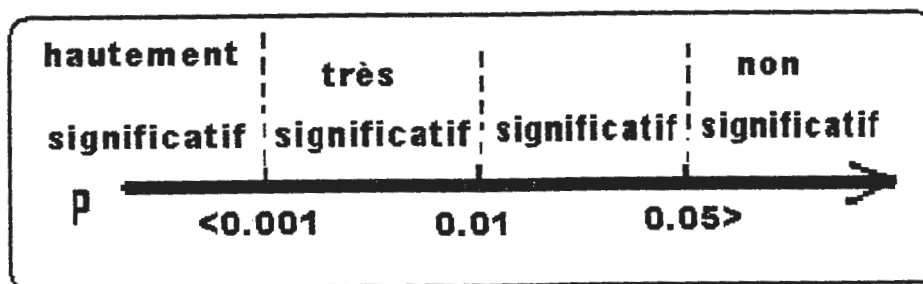


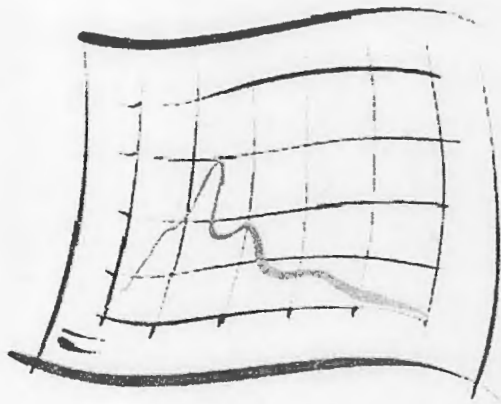
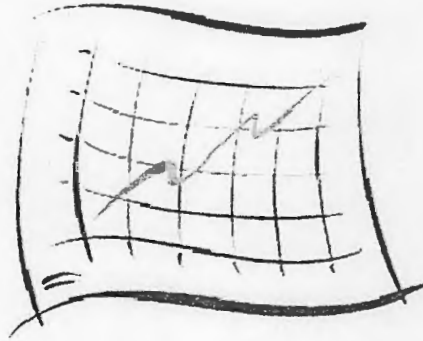
Figure 11: Schéma représentatif du seuil de signification.

Les symboles qui apparaissent sur la valeur de « p » signifient :

- $P^*$  : effet de la région.      \* : significative.  
                                      \*\* : très significative.  
                                      \*\*\* : hautement significative.
- $P^s$  : effet de l'espèce.      s : significative.  
                                      ss : très significative.  
                                      sss : hautement significative.

# CHAPITRE II :

## Résultats



---



## II-Résultats

### II-1- Test de fraîcheur

Les échantillons de crevette destinés à l'étude sont prélevés à deux endroits différents à savoir le port de pêche de Jijel et celui de Bejaia.

Aussitôt prélevés, ils sont transportés dans une glacière. Au niveau du laboratoire, le test macroscopique a permis d'apprécier la fraîcheur des échantillons. Nous avons constaté :

- ✓ Une odeur caractéristique non suspecte
- ✓ L'œil bien attaché
- ✓ Les branchies de couleur rose sont fraîches
- ✓ La chair ferme sans changement de couleur.

Ces observations nous permettent de juger que la durée entre le moment de pêche et la livraison ne dépasse pas les douze (12) heures. Ce qui confirme que les échantillons sont frais.

### II-2- Dosage des protéines

La détermination de la teneur en protéines a été réalisée à partir d'une courbe de référence (tableau 8, figure 12).

#### II-2-1- Réalisation de la courbe d'étalonnage

Tableau 8 : Réalisation de la courbe d'étalonnage pour le dosage des protéines ( $m \pm s$ ,  $n=3$ ).

BSA ( $\mu\text{g}$ )	Absorbance
0	0
20	$0.27 \pm 0.06$
40	$0.48 \pm 0.07$
60	$0.75 \pm 0.01$
80	$0.94 \pm 0.006$
100	$1.19 \pm 0.37$

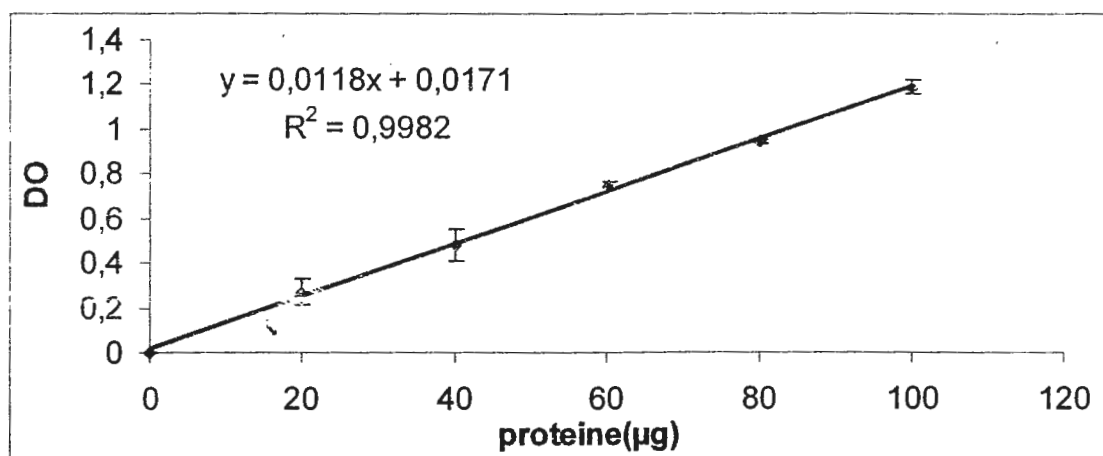


Figure 12 : Courbe de référence exprimant l'absorbance en fonction de la quantité ( $\mu\text{g}$ ) de la protéine standard, l'albumine ( $R^2$  : coefficient de détermination).

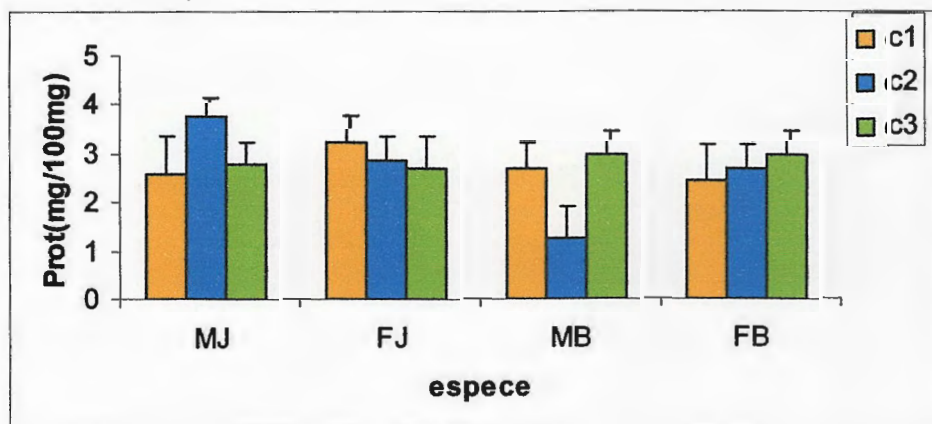
## II-2-2-Teneur des échantillons en protéines

## II-2-2-1- Dans la chair

L'analyse de la variance à deux critères de classification(espèce et sexe) des taux de protéines dans la chair des crevettes révèle qu'il n'y a aucune différence significative entre les trois espèces étudiées ( $p>0.05$ ), de même entre les deux sexes ( $p>0.05$ ) (Tableau 9, Figure 13).

**Tableau 9** : Teneur en protéine dans la chair des crevettes des deux régions.

Région \ Espèce	sexe	<i>P. serratus</i>	<i>A. antennatus</i>	<i>P. longirostris</i>
Jijel	Femelle	3.24±0.523 (n=5)	2.88±0.507 (n=6)	2.726±0.64 (n=6)
	Mâle	2.58±0.799 (n=6)	3.79±0.344 (n=6)	2.787±0.478 (n=6)
Bejaia	Femelle	2.477±0.716 (n=6)	2.767±0.512 (n=6)	3.018±0.429 (n=6)
	Mâle	2.696±0.563 (n=6)	1.286±0.669 (n=4)	2.996±0.442 (n=5)



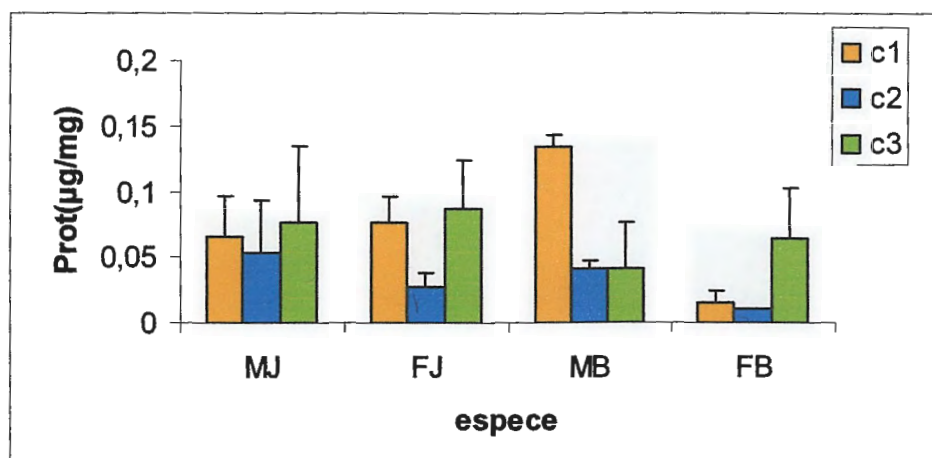
**Figure 13** : Teneur en protéines (mg/100mg) dans la chair des crevettes des deux régions.

## II-2-2-2- Dans l'hépatopancréas

L'analyse de la variance à deux critères de classification concernant les résultats enregistrés de la teneur en protéines de l'hépatopancréas des crevettes étudiées montre qu'il n'y a aucune différence significative entre les trois espèces ( $p > 0.05$ ) et entre les deux sexes ( $p > 0.05$ ). (Tableau 10, figure 14).

**Tableau 10:** Teneur en protéine dans l'hépatopancréas des crevettes des deux régions.

Espèce Région	sexe	<i>P. serratus</i>	<i>A. antennatus</i>	<i>P. longirostris</i>
	<b>Jijel</b>	<b>Femelle</b>	0.07±0.02 (n=5)	0.02±0.01 (n=5)
	<b>Mâle</b>	0.06±0.03 (n=5)	0.05±0.04 (n=5)	0.07±0.05 (n=5)
<b>Bejaia</b>	<b>Femelle</b>	0.015±0.01 (n=5)	0.01±0.0006 (n=5)	0.06±0.03 (n=5)
	<b>Mâle</b>	0.13±0.01 (n=5)	0.04±0.006 (n=5)	0.041±0.04 (n=5)



**Figure 14:** Teneur en protéine (µg/mg) dans l'hépatopancréas des crevettes des deux régions.

## III-3- Analyse des métaux traces

L'étude statistique des concentrations des métaux lourds (Pb et Cd) par l'analyse de la variance à deux critères de classification montre que la différence est non significative entre les trois espèces et entre les deux régions ( $p > 0.05$ ).

Par contre les résultats du zinc montre qu'il y a une différence significative entre les deux régions pour les mâles ( $p = 0.01 < 0.05$ ) et très significative pour les femelles ( $p = 0.004 < 0.05$ ). En outre, entre les trois espèces la différence est non significative ( $p > 0.05$ ). (Tableau 11 et 12, figure 15, 16 et 17).

**Tableau 11 :** Dosage des métaux dans la chair des crevettes de la région de Jijel ( $m \pm s$ ,  $n=3$ ).

Concentration de l'élément ( $\mu\text{g/g}$ ).		Plomb	Cadmium	Zinc
<i>P. serratus</i>	Mâle	0.052 $\pm$ 0.005	0.008 $\pm$ 0.0008	0.0878 $\pm$ 0.019
	Femelle	0.023 $\pm$ 0.008	0.009 $\pm$ 0.002	0.0922 $\pm$ 0.019
<i>A. antennatus</i>	Mâle	0.059 $\pm$ 0.010	0.009 $\pm$ 0.005	0.0963 $\pm$ 0.008
	Femelle	0.032 $\pm$ 0.019	0.010 $\pm$ 0.003	0.0943 $\pm$ 0.023
<i>P. longirostris</i>	Mâle	0.050 $\pm$ 0.017	0.011 $\pm$ 0.003	0.1294 $\pm$ 0.047
	Femelle	0.045 $\pm$ 0.017	0.011 $\pm$ 0.001	0.0752 $\pm$ 0.010

**Tableau 12:** Dosage des métaux dans la chair des crevettes de la région de Bejaia (m±s, n=3).

Concentration de l'élément (µg/g)		Plomb	Cadmium	Zinc
<i>P. serratus</i>	Mâle	0.033±0.008	0.008±0.001	0.001± 0.00005
	Femelle	0.0207±0.007	0.009±0.004	0.001± 0.00005
<i>A. antennatus</i>	Mâle	0.0534±0.007	0.0397±0.004	0.001± 0.0002
	Femelle	0.042±0.016	0.008±0.002	0.0007± 0.0001
<i>P. longirostris</i>	Mâle	0.025±0.008	0.008±0.001	0.001± 0.0001
	Femelle	0.046±0.0011	0.011±0.003	0.0001± 0.0001

❖ Les courbes de références utilisées en SAA sont représentées dans l'annexe B.

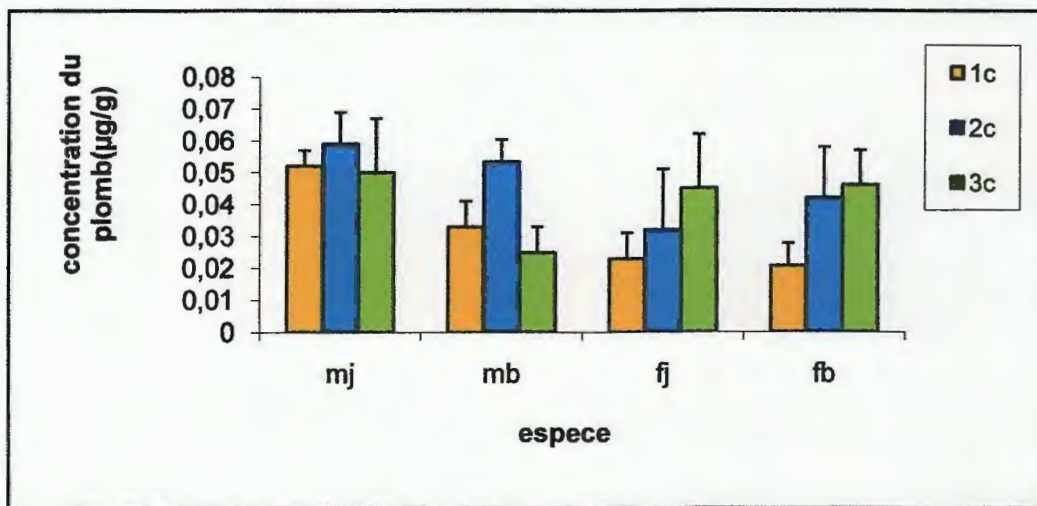


Figure 15: Concentration en plomb dans la chair des crevettes des deux régions (µg/g).

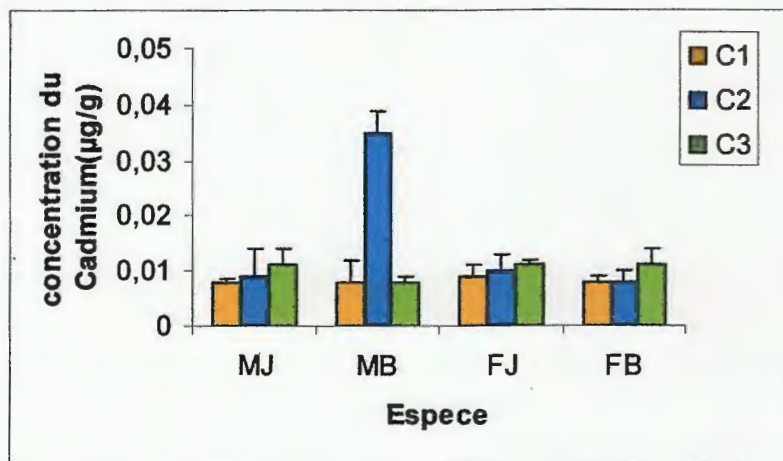


Figure16 : Concentration en cadmium dans la chair des crevettes des deux régions (µg/g).

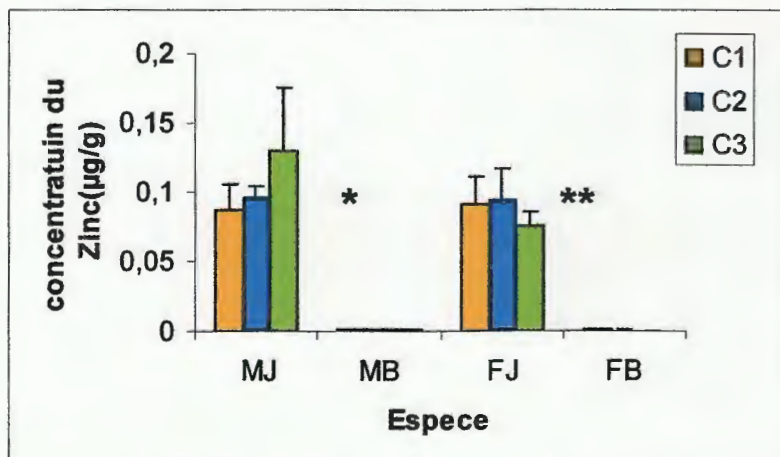


Figure17 : Concentration en zinc dans la chair des crevettes des deux régions (µg/g).

### III-4- Dosage des biomarqueurs de stress oxydant

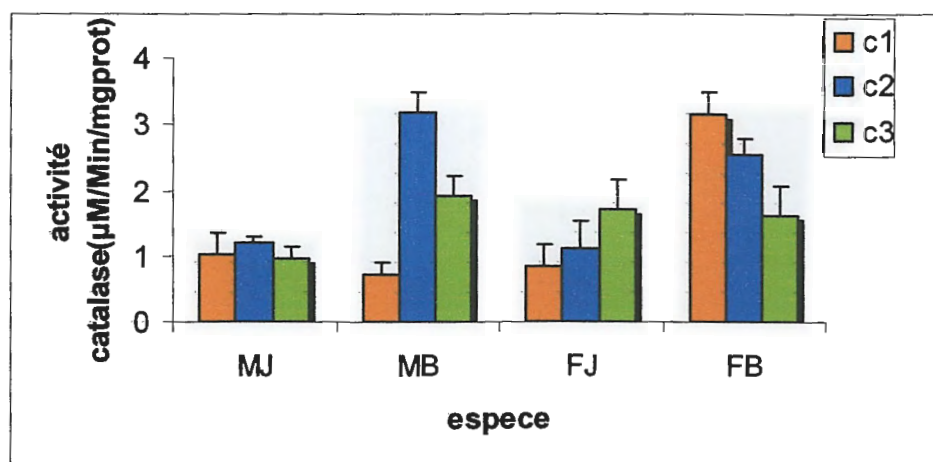
#### III-4-1- Activité catalase

##### III-4-1-1- Dans la chair

L'analyse de la variance à deux critères de classification de l'activité catalase ne présente aucun effet significatif que ce soit entre les régions ou entre les espèces ( $p > 0.05$ ). (Tableau 13, figure 18).

**Tableau 13** : Résultats de dosage de la catalase dans la chair des crevettes ( $m \pm s$ ,  $n=3$ ).

Région \ Espèce	sexe	<i>P.serratus</i>	<i>A.antennatus</i>	<i>P.longirostris</i>
	<b>Jijel</b>	<b>Femelle</b>	0.84±0.34	1.12±0.4
	<b>Mâle</b>	1.01±0.33	1.21±0.077	0.95±0.19
<b>Bejaia</b>	<b>Femelle</b>	3.16±0.13	2.56±0.24	1.63±0.44
	<b>Mâle</b>	0.73±0.17	3.18±0.31	1.92±0.31



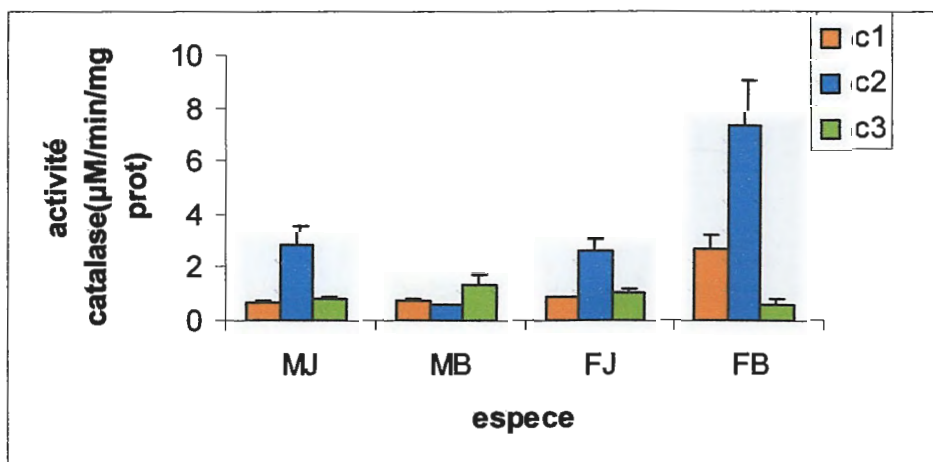
**Figure 18**: Activité catalase ( $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$  de prot) dans la chair des crevettes.

## III-4-1-2- Dans l'hépatopancréas

Les résultats obtenus révèlent qu'il n'y a aucune différence significative que ce soit entre les espèces ou entre les deux sites ( $P > 0.05$ ). (Tableau 14, figure 19).

**Tableau 14** : Résultats de dosage de la catalase dans l'hépatopancréas des crevettes ( $m \pm s$ ,  $n=3$ ).

Espèce Région	sexe	<i>P.serratus</i>	<i>A.antennatus</i>	<i>P.longirostris</i>
Jijel	Femelle	0.90±0.02	2.60±0.47	1.09±0.13
	Mâle	0.65±0.008	2.82±0.71	0.84±0.04
Bejaia	Femelle	2.72±0.54	7.35±1.69	0.60±0.20
	Mâle	0.75±0.08	0.58±0.03	1.32±0.39



**Figure 19:** Activité catalase ( $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$  de prot) dans l'hépatopancréas des crevettes.



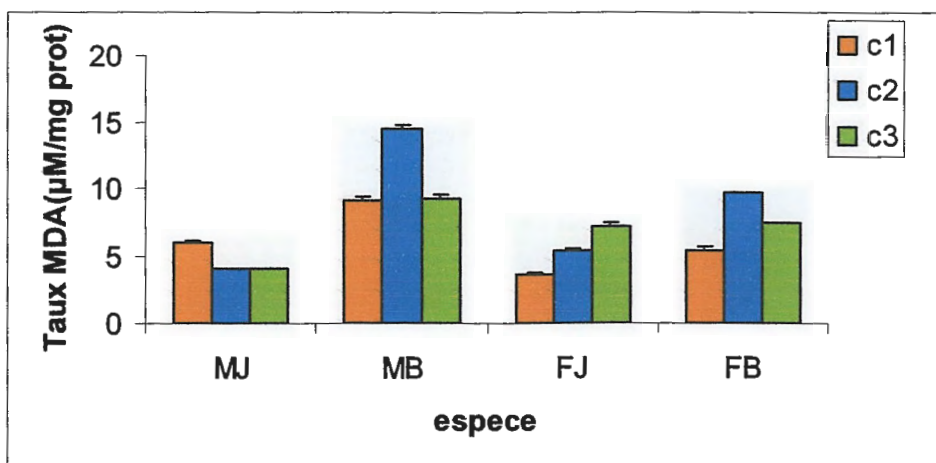
## III-4-2- Taux du MDA

## III-4-2-1- Dans la chair

L'analyse statistique des données enregistrées du taux du MDA dans la chair montre qu'ils n'y a pas de variation significative entre les trois espèces et entre les deux régions ( $p > 0.05$ ). (Tableau 15, figure 20).

**Tableau 15:** Résultats du dosage du MDA dans la chair des crevettes ( $m \pm s$ ,  $n=3$ ).

Espèce Région	sexe	<i>P.serratus</i>	<i>A.antennatus</i>	<i>P.longirostris</i>
		<b>Jijel</b>	<b>Femelle</b>	3.57±0.17
	<b>Mâle</b>	5.96±0.10	3.96±0.04	4.02±0.02
<b>Bejaia</b>	<b>Femelle</b>	5.31±0.30	9.74±0.008	7.45±0.05
	<b>Mâle</b>	9.12±0.21	14.46±0.31	9.18±0.38



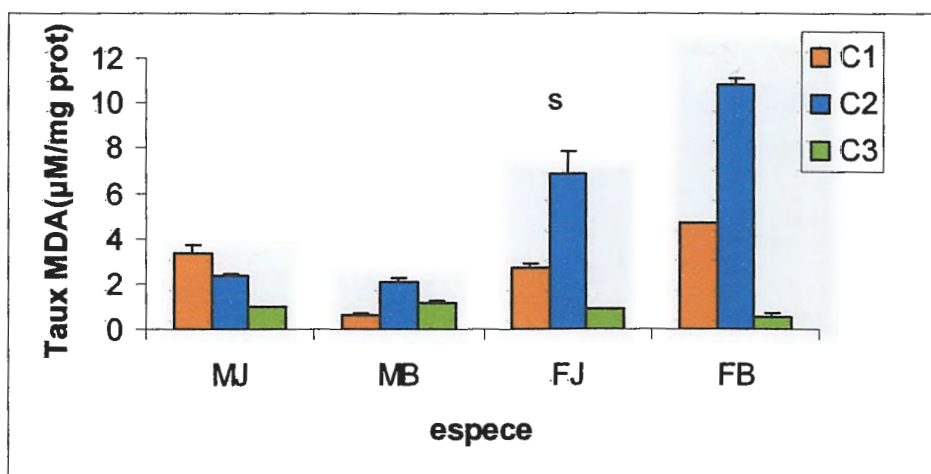
**Figure 20:** Taux du MDA ( $\mu\text{M}/\text{mg}$  de prot) dans la chair des crevettes.

## III-4-2-2- Dans l'hépatopancréas

Les résultats obtenus révèlent qu'il n'y a pas de différence significative du taux du MDA entre les trois espèces et entre la région concernant les mâles ( $p > 0.05$ ). Cependant, nous avons noté une différence significative entre les femelles de la région de Béjaia ( $P = 0.04 < 0.05$ ). (Tableau 16, figure 21).

**Tableau 16** : Résultats du dosage du MDA dans l'hépatopancréas des crevettes ( $m \pm s$ ,  $n=3$ ).

Espèce Région	sexe	<i>P.serratus</i>	<i>A.antennatus</i>	<i>P.longirostris</i>
	<b>Jijel</b>	<b>Femelle</b>	2.72±0.21	6.84±0.97
	<b>Mâle</b>	3.30±0.38	2.37±0.07	0.95±0.02
<b>Bejaia</b>	<b>Femelle</b>	4.65±0.02	10.83±0.24	0.50±0.22
	<b>Mâle</b>	0.64±0.06	2.10±0.14	1.27±0.06



**Figure 21**: Taux du MDA ( $\mu\text{M}/\text{mg}$  de prot) dans l'hépatopancréas des crevettes.

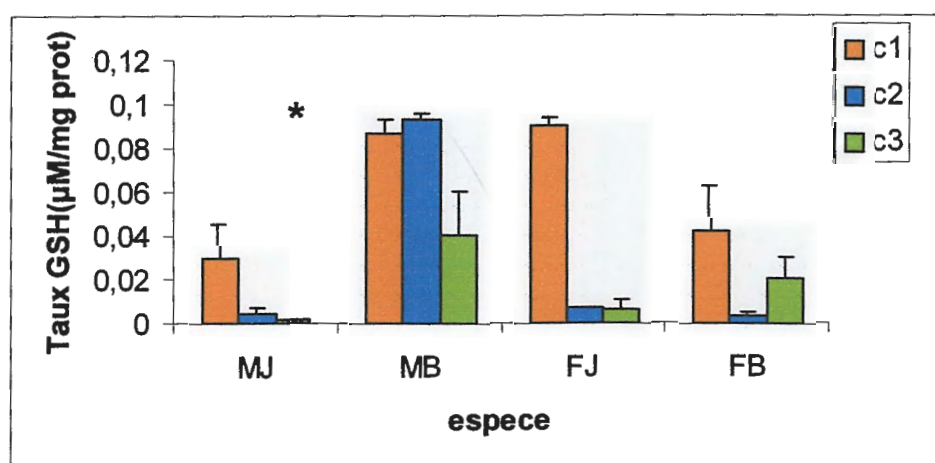
### III-4-3- Taux du glutathion(GSH)

#### III-4-3-1- Dans la chair

L'analyse statistiques montre que la différence dans le taux du glutathion entre les espèces est non significative soit pour les males ou pour les femelles ( $p > 0.05$ ). Nous avons enregistré également une différence significative entre les deux régions concernant les males ( $p = 0.04 < 0.05$ ). (Tbleau 17, figure 22).

**Tableau 17** : Résultats du dosage du GSH dans la chair des crevettes ( $m \pm s$ ,  $n=3$ ).

Espèce Région	sexe	<i>P.serratus</i>	<i>A.antennatus</i>	<i>P.longirostris</i>
Jijel	Femelle	0.0906 $\pm$ 0.0036	0.0072 $\pm$ 0.0003	0.0065 $\pm$ 0.004
	Mâle	0.0297 $\pm$ 0.016	0.0041 $\pm$ 0.003	0.0018 $\pm$ 0.0002
Bejaia	Femelle	0.0430 $\pm$ 0.02	0.0033 $\pm$ 0.002	0.0210 $\pm$ 0.01
	Mâle	0.087 $\pm$ 0.007	0.094 $\pm$ 0.002	0.041 $\pm$ 0.02



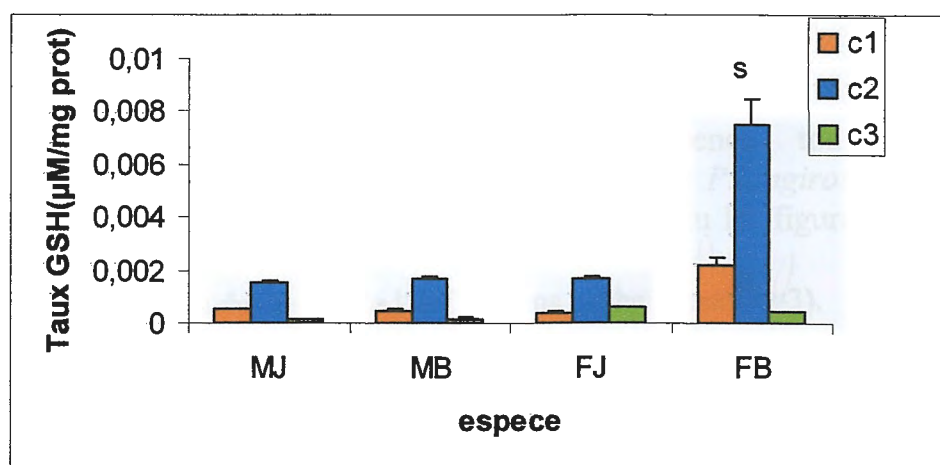
**Figure 22:** Taux du glutathion ( $\mu\text{M/mg}$  de prot) dans la chair des crevettes.

## III-4-3-2- Dans l'hépatopancréas

L'analyse statistique montre qu'il y a une différence très significative du taux du GSH entre les trois espèces femelles ( $p=0.006<0.05$ ) contrairement aux mâles ( $p>0.05$ ). Nous n'avons pas enregistré de différences significatives entre les deux régions ( $p>0.05$ ). (Tableau 18, figure 23).

**Tableau 18:** Résultats du dosage du GSH dans l'hépatopancréas des crevettes ( $m\pm s$ ,  $n=3$ ).

Espèce Région	sexe	<i>P.serratus</i>	<i>A.antennatus</i>	<i>P.longirostris</i>
		Jijel	Femelle	0.0004±0.00004
	Mâle	0.0005±0.00002	0.0015±0.0001	0.00014±0.00002
Bejaia	Femelle	0.0022±0.0003	0.0075±0.001	0.00046±0.00009
	Mâle	0.00048±0.00004	0.0017±0.00004	0.00015±0.00008



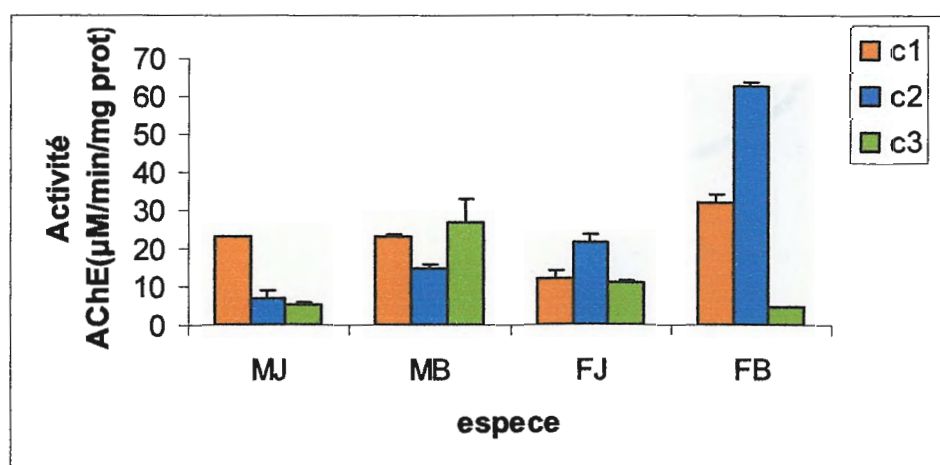
**Figure 23:** Taux du glutathion ( $\mu\text{M}/\text{mg}$  de prot) dans l'hépatopancréas des crevettes.

## III-4-4-2- Dans l'hépatopancréas

L'analyse statistique nous montre qu'il n'y a aucune différence significative entre les activités de l'AChE soit entre les espèces ( $p > 0.05$ ), soit entre les régions pour les deux sexes ( $p > 0.05$ ). (Tableau 20, figure 25).

**Tableau 20** : Résultats du dosage de l'AChE dans l'hépatopancréas des crevettes ( $m \pm s$ ,  $n=3$ ).

Espèce Région	sexe	<i>P.serratus</i>	<i>A.antennatus</i>	<i>P.longirostris</i>
Jijel	Femelle	12.30±1.89	21.65±1.82	10.96±0.77
	Mâle	22.98±0.40	7.04±1.70	5.47±0.18
Bejaia	Femelle	32.30±1.95	62.51±1.15	4.73±0.26
	Mâle	23.18±0.30	14.69±1.31	26.93±6.11



**Figure 25**: Activité acétylcholinestérase ( $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$  de prot) dans l'hépatopancréas des crevettes.

principaux affluents de l'oued Nil ainsi qu'à proximité de l'oued Zhor plus à l'est (SONAREM, 1980).

Le zinc n'est pas reconnu comme étant très toxique car il est aussi considéré comme un antioxydant contre les effets néfastes du cadmium. Les interactions du zinc avec le cadmium et le plomb peuvent modifier la toxicité de ces métaux (Groyer, 2001). Un apport journalier en zinc induit la biosynthèse des métallothionéines (MTs) qui se lient avec le cadmium dans les cellules intestinales diminuant ainsi sa toxicité (Jonnalagadda et Rao, 1993).

La dose journalière admissible (DJA) du plomb est de 3 mg pour l'adulte et 0.2 mg pour l'enfant selon un rapport de FDA/FAO. La teneur de nos échantillons varie de 2 à 5 mg/100 mg de tissu pour le plomb et de 0.008 à 0.011 µg /mg pour le cadmium. Si on compare la concentration en plomb obtenue avec celle mesurée par (Cossa et al, 1990) dans la crevette grise (*Grangon grangon*) du littoral français (0.2 mg/100 mg) on trouve que la bioaccumulation du plomb dans les crevettes concernées par notre étude est très remarquable.

L'influence du sexe des organismes sur l'activité des enzymes antioxydantes n'a fait l'objet que de peu d'études écotoxicologiques (Barillet, 2007). Il en a été de même pour d'autres auteurs (Hansen et al, 2006).

L'étude du stress oxydant n'est pas aisée, en partie du fait de la complexité des mécanismes impliqués, mais aussi de la diversité des protocoles expérimentaux utilisés par les chercheurs, les comparaisons quantitatives des études entre elles sont rendues difficiles par la variété des méthodes analytiques, des fractions subcellulaires analysées et des modes d'expression des activités mesurées [en unité, concentration molaires ou pondérales exprimées par mg de protéines, g de tissu] (Lagadic et al, 1997).

Le dosage des biomarqueurs enzymatiques retenus pour l'étude du stress oxydant nous a permis de constater en générale, que l'activité catalase et le taux de GSH sont plus élevés dans les crevettes pêchées au niveau de la baie de Bejaia. En outre, la catalase est très sensible à l'imprégnation par les PCB, elle répond par une hyperactivité (Lemaire et al, 1992 ; Livingstone et al, 2001).

Il est également proposé que les métaux lourds puissent se combiner avec certains cofacteurs enzymatiques tels que le Fer (présent au sein du domaine hémique de la catalase), la formation de tels complexes conduirait alors à une inhibition de l'activité des enzymes concernées (Ercal et al, 2001). Le zinc protège les structures biologiques contre les radicaux libres en maintenant un niveau adéquat de métallothionéines (Tapiero et Tew, 2003).

Selon Lagadic et al, (1997), le glutathion ; antioxydant non-enzymatique vient de renforcer l'activité catalase en agissant comme réducteurs ou capteurs des radicaux libres grâce à sa fonction thiol libre (-SH). Donc on peut dire que les taux enregistrés dans notre étude vont dans ce sens.

L'étude de Maracine et Segner (1998) a ainsi permis de montrer que le glutathion intracellulaire protège les cellules de poissons contre l'action cytotoxique

du mercure, du cadmium ou encore du cuivre, mais pas contre les effets du zinc. Nos résultats concernant le dosage du glutathion et du zinc dans les crevettes de la baie de Jijel sont conformes avec ceux réalisées par cette étude.

La lipopéroxydation est communément mise en évidence par la mesure de la concentration en malondialdéhyde, indicateur de toxicité cellulaire (Lagadic et al, 1994).

Les résultats de dosage du MDA révèlent un taux élevé au niveau des crevettes pêchée dans la baie de Bejaia par rapport à celui de Jijel. Les travaux de (Lagadic et al, 1997) montrent que la formation du MDA n'a pas été observée chez les poissons exposés expérimentalement au zinc et au cadmium. Donc nous ne pouvons pas expliquer cette différence du taux de MDA entre les deux sites par le biais des métaux traces.

Les taux élevés en acides gras polyinsaturés chez les crevettes surtout Oméga-3 (396 mg/100 g de tissu), aussi les variations intertidales de la pression partielle en oxygène chez les invertébrés des zones côtières marines, sont autant facteurs susceptibles d'entraîner un stress oxydant (Rimouski, 2008 ; Lagadic et al, 1997). Pour cela, la comparaison s'avère très difficile entre les deux sites à cause du manque de données générales dans ce sens.

La mesure de l'activité acétylcholinestérase montre qu'il y a une absence totale de cette activité au niveau de la chair chez *Aristeus antennatus* et *Parapenaeus longirostris* dans les deux régions, en revanche *Palaemon serratus* présente cette activité, alors que pour l'hépatopancréas les trois espèces la manifeste.

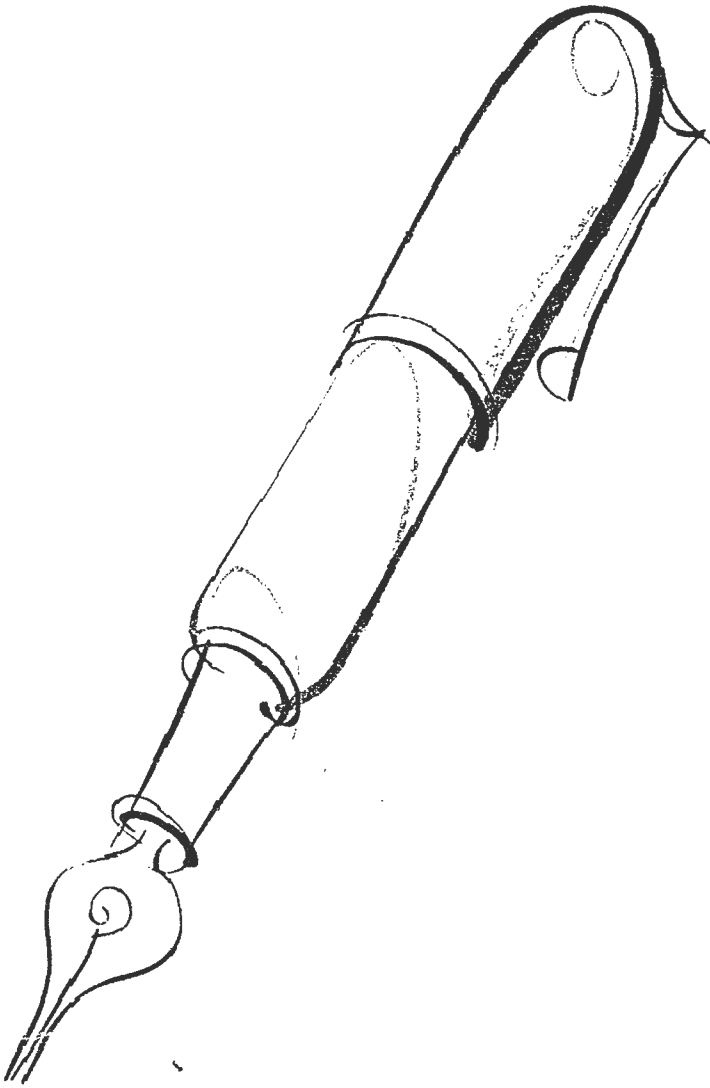
L'AChE est une enzyme impliquée dans les mécanismes de transmission de l'influx nerveux à travers l'organisme, son inhibition conduit généralement à la tétanie musculaire et à la mort de l'organisme (Barillet, 2007). Ce qui pourra expliquer son inhibition dans la chair au contraire dans l'hépatopancréas puisque elle est principalement musculaire.

Elle constitue, en effet la cible privilégiée de certains insecticides (organophosphorés et les carbamates), les herbicides et autres molécules neurotoxiques (incluant les métaux lourds) surtout utilisés en milieux marins (Galgani et Bocquené, 1998). A notre connaissance l'agriculture sous serre dans la wilaya de Jijel se concentre entre El-Kennar et l'oued Zhor, utilisent largement ces polluants persistants.

En plus, l'activité de l'AChE peut également être modulée par la température du milieu, et de certains facteurs intrinsèques tels que la taille des organismes, peuvent être à l'origine des différences observées (Flammarion et al, 2002). Cette supposition est en concordance avec nos résultats.

Enfin l'inhibition de l'AChE peut être réversible (particulièrement pour l'AChE cérébrales par les carbamates) et dans ces conditions seule les diminutions importantes de l'activité acétylcholinestérasique peuvent être décelées (Lagadic et al, 1997).

CONCLUSION ET  
PERSPECTIVES





## Conclusion et perspectives

Ce travail est une approche portant sur la recherche de biomarqueurs de pollution au niveau de la chair de trois espèces de crevette de la baie de Jijel : *P.serratus*, *A.antennatus* et *P.longirostris*.

Notre étude nous a permis de mettre en évidence la qualité nutritionnelle de la chair des trois espèces de crevettes commercialisées à Jijel du point de vue de son apport protéique.

En vue des résultats obtenues par cette étude ; la crevette possède une excellente valeur nutritive, riche en protéines avec un apport hypocalorique.

L'analyse qualitative et quantitative des métaux à savoir le zinc, le plomb et le cadmium révèle une augmentation remarquable de la concentration du zinc et du plomb dans la chair des crevettes de la région de Jijel.

L'analyse des données issues des mesures de stress oxydant (activité de la catalase, taux du GSH et du MDA), de neurotoxicité (activité de l'AChE) a montré que l'activité de ces enzymes impliquées dans le mécanisme de détoxification est plus élevée dans la région de Bejaia par rapport à celle de Jijel.

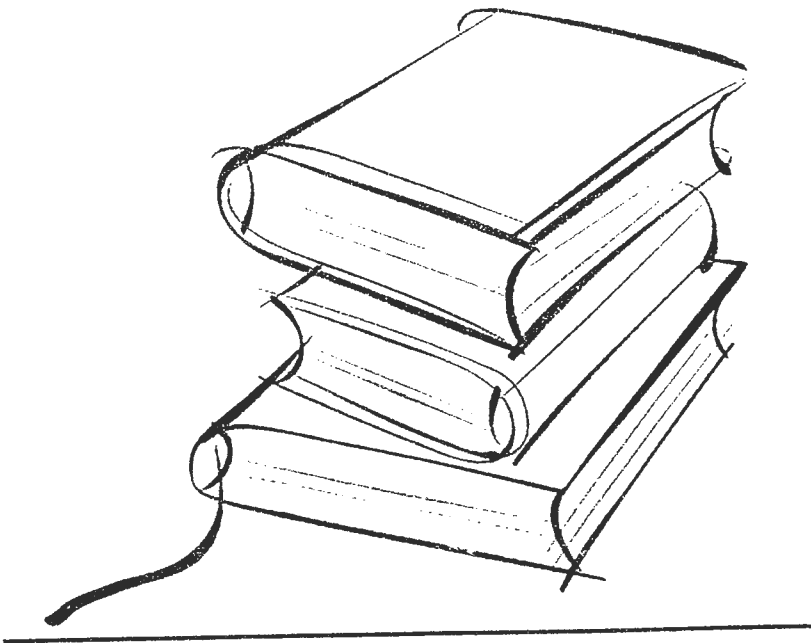
De plus, l'inhibition de l'AChE semble apparaître de façon plus claire dans les deux régions chez deux espèces : *A. antennatus* et *P.longirostris* Ce résultat nous a permis de dire que *P.serratus* résiste mieux que les deux autres espèces.

Les perspectives sur lesquelles s'ouvre ce travail, il est important d'apporter, dans un premier temps, des éléments complémentaires permettant d'affiner l'interprétation des résultats obtenus dans ce travail et d'ouvrir de nouvelles pistes de recherche dans ce domaine.

Parmi les nouvelles approches sur lesquelles pourrait déboucher notre étude, le dosage des métaux traces (Pb, Zn, Cd) et des pesticides dans l'eau de mer ainsi que le sélénium dans la chair de la crevette car celui-ci (sélénium) est reconnu pour ces propriétés antioxydantes. L'utilisation d'autres marqueurs tels que la réserve en glycogène est souhaitable.

RÉFÉRENCES

BIBLIOGRAPHIQUES



## Références bibliographiques

### A

**Ait Abdelouhab N., 2007.** Microbiologie alimentaire 2<sup>ème</sup> édition © office des publications universitaires Ben Aknoun(Alger), 147 :217-227.

**Amalou S .et Boudjneh M., 1998.** Potentiel aquacole en Algérie et les possibilités d'investissements. Centre national d'étude et de documentation pour la pêche et l'aquaculture, journées nationales d'étude sur les sciences marines.

**Andreyev Yu A., Kushnareva Yu E. et Strarkov A.A., 2005.** Review : mitochondrial metabolism of réactive oxygen species. *Biochemistry*, 70 :200-214.

**Arzel P.,Baud J.P.,Berthou P.,Boletzky S.V. ,Campillo A.,Clavier J.,Dao J.C.,Dardignac M.J.,Decamps P.,Duclerc J.,Fiassch J.P.,Fleury P.G.,Fontaine B.,Harmelin J.G.,Héral M.,Hussenot J.,Latrouite D.,Laubier A., Le Calvez J.C.,Le Foil D.,Lemoine M.,Marin J.,Monniot C.,Monniot F.,Perez R. ,Quéro J.C.,Raimbault R.,Richard O.,Talidec C.,Tetard A., Vacelet J.,Vadon C.et Véron G.,1992.** Les algues et invertébrés des pêches françaises, algues, éponges, corail rouge, escargots de mer, bivalves, poulpes, seiches, encornets, crustacés, oursins et violets., IFREMER., station de La Rochelle/L' Houmeau, Bp7 :17137, l'Houmeau.

**Aurousseau B., 2002.** Les radicaux libres dans l'organisme des animaux d'élevage : conséquences sur la production, la physiologie et la qualité de leurs produits. *INRA Prod Anim*, 15 :67-82.

### B

**Barillet S., 2007.** Toxicocinétique, toxicité chimique et radiologie de l'uranium chez le poisson zèbre (*Danio rerio*) .Thèse de doctorat, université Paul Verlaine de Metz. France, pp.

**Bonnes-Taourel D., Guérin M.C.et Torreilles J., 1992.** Is malonaldehyde a valuable indicator of lipid peroxidation ? *Biochem Pharmacol*, 44 :pp.

**Borsa P. et Millet B., 1992.**Recruitment of Clam *Ruditapes de Cussantus* in the lagon of thau, mediterraneau, Estuarine. *Coastal and shelf science*, 35 :289-300.

**Bradford M.M., 1976.** A rapid and sensitive methode for the quantitation of microgram quantities on proteines utilizing the p̄ncipe of protein. Dye binding. © *Anal. Biochem*, 72 :-248-254.

**Bourgeois C.M., Mescle J.f.et Zucca j., 1996.** Microbiologie alimentaire : aspect microbiologique de la sécurité des aliments, *Tec.et Doc.* Paris, tome1 :348-352.

**Bucheli T. D.et Fent K., 1995.**Induction of cytochrome P450 as a biomarkers of environmental contamination in aquatic écosystèmes, *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, **25(3)** :201-268.

## C

**Chantreau P.et Vallet J.L., 1994.** Traitement des langoustines et des crevettes contre le noircissement. IFREMER. Nantes, 4.

**Charron R.A., Fenwick J.C., Lean D.R .et al., 2000.** Ultraviolet-B radiation effects on antioxydant status and survival in the Zebrafish, *Brachydario rerio*, *Photochemistry and Photobiology*, **72(3)** :327-333.

**Collomb V.et Mayor M., 2007.** Les crustacés : un luxe ou une nécessité, Haute école de santé, Genève, filière diététique.

**Comelade E., 1995.**Technologie des aliments et hygiène alimentaire, tome 2© Jacques La nore ,5<sup>eme</sup> édition, 239.

**Coppin I., 1984.** Crevette rose. IFREMER

**Cossa D. et al., 1990.** Niveaux de concentration en métaux, métalloïdes et composée organochlorés dans les produits de la pêche française. IFREMER-département milieu et ressources.

**Cessu C., Doyott A., Jacquin M.C.et al., 1997.** Bio marqueurs du stress oxydant chez les animaux aquatiques, *In Masson, éd., bio marqueurs en éco toxicologie-aspects fondamenants.* Paris, 149-164.

## D

**Dauvillier P., 1998.** Introduction à l'analyse nutritionnelle des denrées alimentaires. © *Lavoisier*, 91.

**Del Rio D., Stewart A.J. et Pellergrini N., 2005.** " A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress". *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, **15(4)** :pp.

**Depledge M.H., Amaral-Mendes J.J ., Danial B.et al., 1993.** The conceptual basis of the biomarker approach, in D.B.Peakall, and L-Shugart, eds. Biomarkers. Research and application in the assessment of environmental health : NATO Advanced Science Intitutes Series, v. H 68 : Berlin, Springer Verlag, 15-29.

**DI Giulio R.T. Washburn P.C., Wenning R.J. et al., 1989.** Biochemical responses in aquatic animals : A review of determinants of oxidative stress, *Environmental Toxicology and Chemistry*, **8** :1103-1123.

**Direction de pêche de la wilaya de Jijel., 2009.**

**Draper et Hadley., 1995(In Barillet S, 2007).** Toxicocinétique, toxicité chimique et radiologie de l'uranium chez le poisson zèbre (*Danio rerio*) .Thèse de doctorat, université Paul Verlaine de Metz. France, pp.

## E

**Ellmen et al, 1961(In Barillet S, 2007).** Toxicocinétique, toxicité chimique et radiologie de l'uranium chez le poisson zèbre (*Danio rerio*) .Thèse de doctorat, université Paul Verlaine de Metz. France, pp.

**Ercal N., Gurer-Orhan H. et Aykin-Burns N ., 2001.** Toxic metals and oxidative stress part I : mechanisms involved in metal-induced oxidative damage, *Current-Topics in Medicinal Chemistry*, **1(6)** :529.

## F

**FAO., 1992.** Conduite de petites enquêtes nutritionnelles. Manuel de terrain. ©Rome, 180.

**Favier J.C., Ireland-Ripert j ., Toque C. et Feinberg M., 1995.** Répertoire général des aliments, tables de composition. Centre informatique sur la qualité des aliments. *Tec et Doc.* INDRA, CIQUAL, REGAL, 809.

**Fisher W., Schneider M. et Bauchot M.L., 1987.** Méditerranée et mer noire, zone de pêche 37. Végétaux et invertébrés CEE, FAO. volume **1** :760.

**Flammarion P, Noury P. ET Garric J., 2002a.** The mesurment of cholinesterase activities as biomarker in Chub (*Leuciscus cephalus*) : the fish lengh should not be ingnored. *Environmental pollution*, 120 :pp.

**Foulkes E.c., 2000.** Transport of toxic heavy métals across cell membranes. *Proc SOC Exp Biol Med*, **223** :234-240.

## G

**Galgani F. et Bocquené G., 1998.** Bio marqueurs moléculaires d'exposition des organisms marins aux pesticides organophosphorés er carbamate. In : utilisation des bio marqueurs pour la surveillance de la qualité de l'environnement. *Tech et.Doc Lavoisier*, Paris, 111-134.

**Ghorab I, 2002.** Etude comparative de trois espèces penaeidés : aspect biométrique et biochimique. Thèse de magister en physiologie animale, option : ecotoxicologie. Université d'Annaba, Algérie.96p.

**Grassé P-P., 1996.** Traité de zoologie : anatomie, systématique et biologie. ©Masson.432p.

**Grassé P-P et Domenc., 1998.** Zoologie des invertébrés.6<sup>ème</sup> édition de l'abrégé zoologie invertébrés©Masson, paris.

**Guiraud J.P., 2003.** Microbiologie alimentaire. Tec et Doc DUNOD, paris.149, 150.

**Goyer R.A., 2001.** Toxic effects of metals. In Casarett and Doulls toxicology (Klaassen C.D, Amdur M.O., Doull J. and Casarett L.J., eds). New York, pp.691-736.

## H

**Halliwell B., 1987.** Oxidants and human disease : Some new concepts. FASEBJ., 1,358-364.

**Hansen E.H., Romma S., Garmo O.A.et al., 2006.** Anti oxydative stress proteines and their gene expression in brown trout(*Salmo trutta*) from three rivers with different heavy métal levels. *Comparative Biochemistry and Physiology part C : Toxicology and Pharmacology*, 143(3) :263-274.

## I

**Isabelle R., 2005.** Effet d'un traitement combiné au périndopril, inhibiteur de l'enzyme de conservation de l'angiotensine, et d'un agent diurétique l'indapamine, sur la progression de l'insuffisance rénale chez le rat Zucker obèse. Thèse de doctorat, paris 6 - pierre et marie curie et Sherbooke, pp.

## J

**Jacob F et Monod J., 1961.** Genitic regulatory mechanism in the synthesis of proteins. *J.Bio.Med.* N° 3, pp.318-321.

**Jonnaalgadda S.B.et Rao P.V.,1993.** Toxicity, bioavailability and metal speciation. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C : Toxicology and Pharmacology*, 106 : 585-595.

## K

**Keith P., Guilbot R. Et Cochet G., 1998.** Mollusques, crustacés, arachnides et autres petits invertébrés des eaux douces. MNHN, OPIE, CSP, Ministère de l'environnement, p48.

**Kodo J-L., 1990.** L'ionisation des produits de la pêche, IFREMER Pouzauges. pp.

## L

**Lagadic L., Caquet T. et Ramade F., 1994.** The role of biomarkers in environmental assessment. (5) invertebrate populations au *Communities Ecotoxicology*, **3(3)** :193-208.

**Lagadic L., Caquet T. et Amiard J.C., 1997.** Bio marqueurs en éco toxicologie : principes et définitions, in Masson, éd Bio marqueurs en éco toxicologie-aspects fondamentaux : paris, pp.

**Leffel E.K., Wolf C., Poklis. Et White K.L., 2003.** Drinking exposure to cadmium, an environment contaminant, results in the exacerbation of autoimmune disease in the murine model. *Toxicology* **188** :233-250.

**Le févre G., Beljean-Leymarie M., Beyerle F., Bonnefont D., Ousselot D., Cristol J.P., Thérond P. et Torreilles J., 1998.** Evaluation de la peroxydation lipidique par le dosage des substances réagissant avec l'acide thiobarbiturique, *Annales de Biologie clinique*, volume **56**, pp.

**Le Gal Y., 1988.** Biochimie marine. Paris, © Masson, 324.

**Lemaire p., Mathieu A., Carrière S., Narbonne J.F., Lafaurie M. et Dicelli J., 1992.** Biotransformation enzymes in aquatic european sea bass (*Dicentrarchus labras*) : Kinetic parameters and induction with benzo(a) pyrene. *Comp. Biochem. Physiol.*, **103** :847-853.

**Livingstone D.R., 2001.** Contaminant-stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms, *Marine Pollution Bulletin*, **42(8)** :656-666.

## M

**Magali W., 2007.** Zoologie et écologie marine. Edition Monsttainaut, 3.

**Mahler H. et Cordes E., 1969.** Biological Chemistry-Harper and Row.

**Maracine M et Segner H., 1998.** Cytotoxicity of métaux in isolated fish cells : importance of the cellular glutathion status, *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A : Molecular and Integrative Physiology*, **120(1)** :83-88.

**Misra U.K., Gawdi G., Akabani G. et Pizzo S.V., 2002.** Cadmium-induced DNA synthesis and cell proliferation in macrophages : the role of intracellular calcium and signal transduction mechanisms. *Cell Signal* **14** :327-340.

**Munoz-Sevilla P., 1982.** Contribution à l'étude de l'hémolymphe de *Penaeus kerrathurus* et *Penaeus japonicus* (crustacés, décapodes). Thèse doctorat en 3<sup>ème</sup>, océanologie. Université Aix Marseille II, France, 142.

**Munoz P et Ceccadi H.J ., 1987.** Variation des protéines de l'hémolymphe pendant le cycle de mue chez *Penaeus kerrathurus*. *Comp Biochem. Physiol*, **15(2)** :263-267.

## N

**Nair V., O'Neil C.L. et Wang P.G., 2008.** « Malondialdehyde » Encyclopedia of reagents for Organic Synthesis, *John Wiley and Sons*, New York.

## O

**OIML :** organisation internationale de métrologie légale R100, édition 1991(f). Spectromètre d'absorption atomique pour la mesure des polluants dans l'eau.

## P

**Pcakall D.B., 1994.** Biomarkers : the way for ward in environmental assessment. *Toxicology and Ecotoxicology. News*, **1**,55-60.

## R

**Regoli et Principato.,1995(In Barillet S, 2007).** Toxicocinétique, toxicité chimique et radiologie de l'uranium chez le poisson zèbre (*Danio rerio*) .Thèse de doctorat, université Paul Verlaine de Metz. France, pp.

**Rimouski, 2008.** Centre de recherche sur les biotechnologies marines, Québec, Canada.

## S

**Sami A., 1995.** Oxidative stress and antioxidant defenses in biology. *Kluwer Academic Publishers Boston Harbound*.



**Schwedt G., 1993.** Atlas de poche des méthodes d'analyse. *Medecine-sciences Flammarion*, Paris, 82.

**Shibko S., Koivistoinen P., Tratyneck C., New hall A. et Freindman L., 1966.** A method for sequential quantitative séparation and glycogen from a signale rat liver homogenate or from a subcellular fraction. © *Analyt. Biochem*, **19** :415-428.

**Sies H., 1991.** Oxidative stress : introduction .In H.Sies (ed), oxidative stress, oxidants and antioxiants. *Academic Press*, San Diego, I-XV.

**Skoog D.A., West D.M. et Holler., 1997.** Chimie analytique, département de Boeckuniversité, Bruxelles, 611-621.

**SONAREM** : société nationale de recherche et d'exploitation minière. **1980.** Rapport inédit.

**Stallwitz E. et Hader D.P., 1994.** Effects of heavy métaux on motility and gravimetric orientation of flagella *Euglena gracilis*. *Eur. J. Protistol.*, **30**, 18-24.

**Suter G.W., 1993.** Ecological risk assessment : Boca Raton, FL, USA, *Lewis Publishers*, 538.

## I

**Tapiero H. et Tew K.D., 2003.** Trace éléments in human physiology and pathology : zinc and metallothioneins. *Biomed Pharmacother.*, **57** :399-411.

## V

**Van der Oost R., Beyer J. et Vermeulen N.P.E., 2003.** Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment : a review, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, **13**(2) :57-149.

## W

**Weckbercker et Cory., 1988 (In Barillet S, 2007).** Toxicocinétique, toxicité chimique et radiologie de l'uranium chez le poisson zèbre (*Danio rerio*) .Thèse de doctorat, université Paul Verlaine de Metz. France, pp.

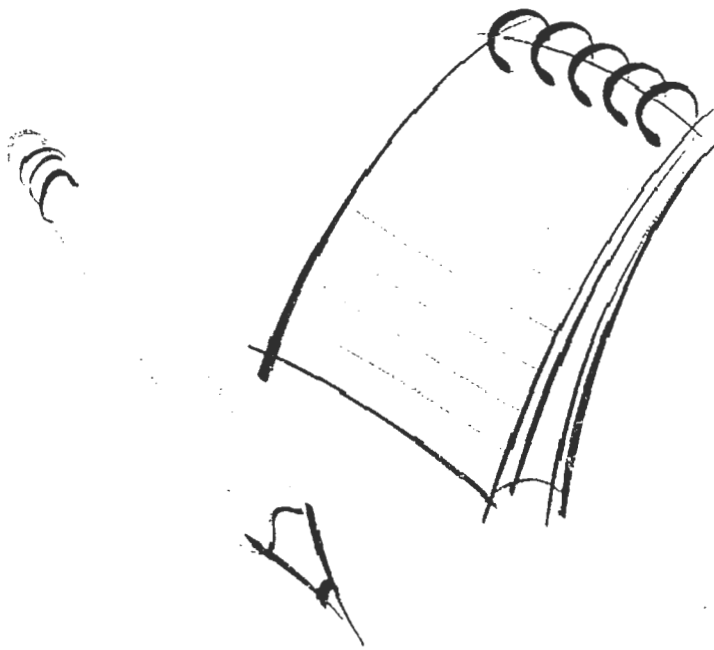
**Who International Programme on Chemical Safety (IPCS), 1993.** Environmental health Criteria 155-Biomarkers and risk assessment : concept and principles, Geneva, World Health Organization.

**Winston G.W. et Di Giulio R.T., 1991,** prooxidation and antioxydant mechanisms in aquatic organisms. *Aquatic Toxicology*, **19**(2) :137-161.

## Z

**Zine C., 1999.** Rôle vétérinaire dans la protection de consommation : cas d'inspection sanitaire du poisson. Direction service agricole inspection vétérinaire de la wilaya de Jijel.

# ANNEXES



↓ **Préparation du Bleu Brillant de Coomassie (BBC)**

Peser 100 mg du BBC(G250).



Ajouter 50 ml d'éthanol (95%) + 100 ml d'acide orthophosphorique (85%).



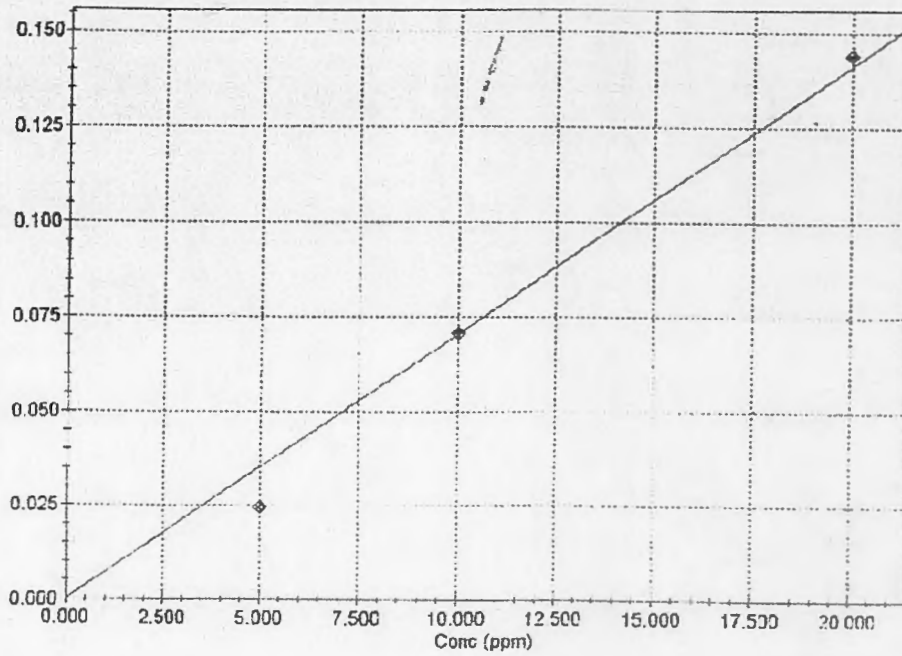
Mélanger par agitation sous la haute jusqu'à dissolution totale pendant 4heures.



Compléter à un litre par l'eau distillée



Mettre la solution préparée dans une bouteille ambre à température ambiante.

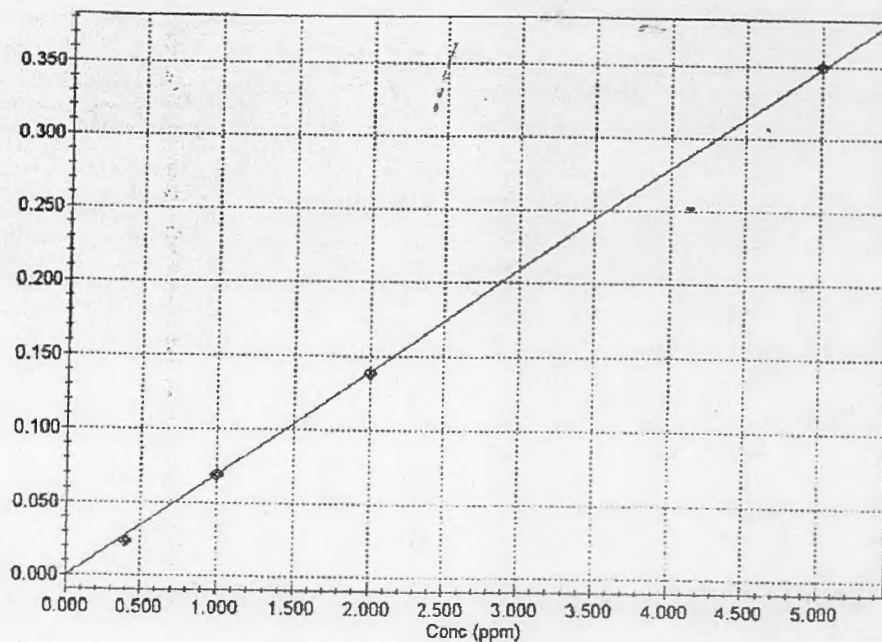


$Abs=0.00706667Conc+ 0$   $r=0.9981$

CONC
5.0000
10.0000
20.0000

ABS
0.0244
0.0708
0.1440

Figure A : courbe d'étalonnage du plomb 'Pb'.

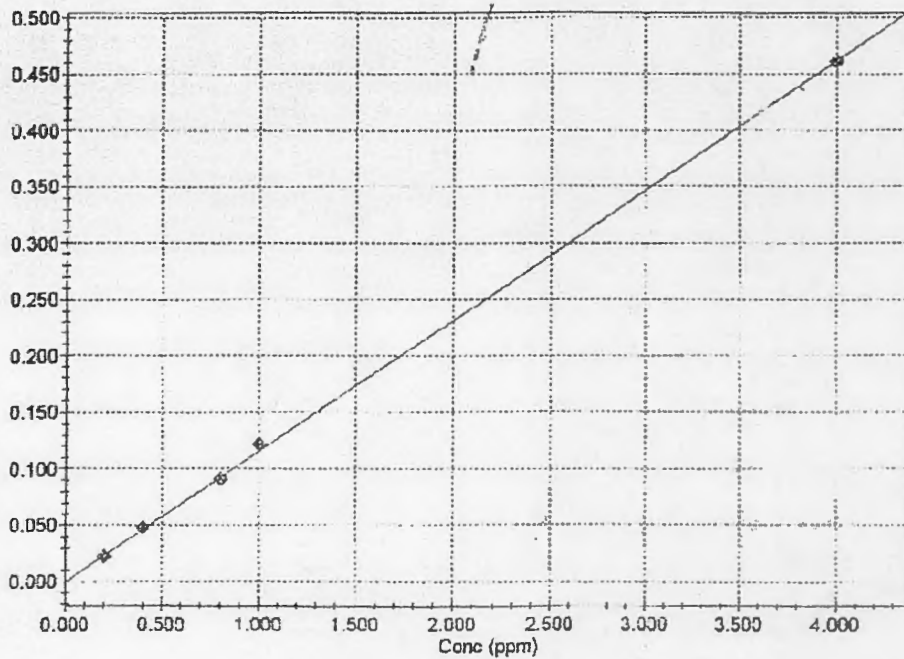


Abs=0.0697507Conc+ 0 r=1.0000

CONC
0.4000
1.0000
2.0000
5.0000

ABS
0.0237
0.0694
0.1384
0.3496

Figure B : courbe d'étalonnage du cadmium 'Cd'.



$Abs = 0.11558 \text{Conc} - 0 \quad r = 0.9999$

CONC
0.2000
0.4000
0.8000
1.0000
4.0000

ABS
0.0225
0.0472
0.0911
0.1217
0.4609

Figure C : courbe d'étalonnage du zinc 'Zn'.

**«Recherche de biomarqueurs de la pollution dans la chair de crevettes pêchées au niveau de la baie de Jijeb».**

Thème soutenu le 02/07/2009 par: Abdallah Abdelhalim & Mekhloufia Abderrahim.  
en vue de l'obtention du diplôme de: l'ingénieur d'état en biologie.

Option: Contrôle de qualité et analytiques.

**ملخص**

هذا العمل عبارة عن مقارنة للبحث عن دلائل حيوية للتلوث علي مستوي لحم ثلاثة اصناف من الجمبري مصطادة في خليج جيجل (*P. serratus*, *A. antennatus* et *P. longirostris*). التحليل البيوكيميائي يهدف إلي تحديد تركيز البروتينات, الأثار المعدنية (Pb, Cd, Zn) و أربعة إنزيمات للإجهاد المؤكسد. التحليل الكيفي و الكمي للحم يبين محتواها الغني بالبروتينات في الأصناف الثلاثة. أيضا تحليل الأثار المعدنية ب SAA اثبتت تزايد التركيز بهذه العناصر خصوصا بالرصاص و الزنك. تحليل الإنزيمات يوضح نشاطا إنزيميا 'الكاتالاز' أكثر ارتفاعا في منطقة بجاية مقارنة بتلك الموجودة في منطقة جيجل. و هو كذلك فيما يخص نسبة MDA و GSH عند الأصناف الثلاثة. فيما يخص نشاط AChE لم تسجل إلا عند الصنف *P. serratus*. الكلمات المفتاحية: القشريات, *P. serratus*, *A. antennatus*, *P. longirostris*, دلائل بيولوجية, الكاتالاز, SAA, GSH, AChE, MDA, خليج جيجل.

**Résumé**

Ce travail est une approche portant sur la recherche de biomarqueurs de la pollution dans la chair de trois espèces de crevettes pêchées au niveau de la baie de Jijel (*P. serratus*, *A. antennatus*, *P. longirostris*).

L'analyse biochimique consiste à évaluer les concentrations de protéines, de métaux traces (Pb, Cd et Zn) et de quatre enzymes de stress oxydant.

L'analyse qualitative et quantitative de la chair a révélé sa teneur considérable en protéines dans les trois espèces. Aussi l'analyse des métaux traces par SAA a prouvé l'augmentation de sa concentration en ces éléments notamment en Pb et en Zn.

L'analyse des enzymes a démontré une activité enzymatique de la catalase plus élevée dans la région de Bejaia par rapport à celle de Jijel, ainsi que pour le taux du MDA et du GSH chez les trois espèces.

Concernant l'activité de l'AChE, elle n'est enregistrée que chez *P. serratus*.

**Mots clés:** crustacés, *P. serratus*, *A. antennatus*, *P. longirostris*, biomarqueurs, la catalase, MDA, GSH, AChE, SAA, baie de Jijel.

**Abstract**

This work is an approach on the search for biomarkers of pollution in the flesh of three shrimp species caught in the bay of Jijel (*P. serratus*, *A. antennatus*, *P. longirostris*).

The biochemical analysis hurls to value the concentration of protein, trace metals and four enzymes of oxidative stress.

The qualitative and quantitative analysis of the flesh showed its considerable protein content in the three species. Also, the analysis of trace metals by SAA proves increased concentration of these elements in particular Pb and Zn.

The analysis of enzymes showed enzymatic activity of catalase in the highest region of Bejaia compared to that of Jijel, as well as the rate of MDA and GSH in the three species. Concerning the activity of AChE, it is recorded that in *P. serratus*.

**Key words:** crustacea, *P. serratus*, *A. antennatus*, *P. longirostris*, biomarkers, the catalase, MDA, GSH, AChE, SAA, bay of Jijel.