

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة 8 ماي 1945 قالمة

Université 8 Mai 1945 Guelma

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité/Option: biologie Moléculaire et Cellulaire

Département : Biologie

Thème

Impact toxicologique d'un biocide "le Triclosan" sur un bio-indicateur de pollution l'escargot (*Helix aspersa*).

Présenté par :

- Bouaoune Imane.
- Chergui Fadia.
- Mokhneche Imane.

Devant le jury composé de :

Présidente :	Mme. Hamdikene M.	M.C.B	Université 8 Mai 1945 Guelma
Examineur :	Mr. Hemici A.	M.C.B	Université 8 Mai 1945 Guelma
Encadrante :	Mme. Benosmane S.	M.C.B	Université 8 Mai 1945 Guelma

Juillet 2023



Remerciement

*Nous tenons à remercier en première lieu « **ALLAH** » le tout puissant de nous avoir donné la santé, le courage ainsi que la volonté, la patience pour achever ce modeste travail.*

*Nos gratitude vont également au Docteur « **Mme. Hamdikhene M** », pour avoir accepté de présider ce jury.*

*Nos gratitude vont également au Docteur « **Mr. Hemicic A** », pour avoir accepté de faire partie de ce jury et d'examiner ce modeste travail.*

*Nous voudrions exprimer chaleureusement nos remerciements notre promotrice « **Mme. Benosmane Sana** », pour le choix du thème, et d'avoir accepté de diriger ce travail tout le long de sa réalisation, pour sa patience, sa disponibilité, pour ses précieux conseils, son suivi, et sa compréhension. La chance que nous sommes données en nos confiant ce travail nous permis de découvrir une femme, modeste, et gentille, qui attire la sympathie et le respect de ceux qui ont le privilège de vous côtoyer.*

Nos remerciements vont également à tous les enseignants-chercheurs du laboratoire de Biologie de l'université de Guelma, qui nous a beaucoup encouragé et soutenu depuis le début de nos cycles d'étude jusqu'à la fin.

Enfin, nous n'oublions jamais l'aide, les conseils, surtout les encouragements et le soutien moral de nos familles et de nos précieux amis et tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin, nous remercions beaucoup.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

Mes chers parents, c'est le fruit de vos prières, vos sacrifices, et de vos encouragements accompagnés tout au long de mes études.

*A l'homme qui doit ma vie et ma réussite, mon refuge après Dieu, mon soutien et mon confiance, mon héros, pour mon cher père « **Wahabe** ».*

*A la femme sans qui mon succès n'aurait pas été possible, la Reine de mon cœur et l'étoile qui illumine mon chemin, ma mère « **Soltana** ».*

*A ma petite sœur « **Afrah** » pour son encouragement et son soutien.*

*A mon adorable frère « **Abdelnour** », ma force dans la vie.*

Je souhaite une longue vie et une bonne santé remplie d'amour, le respect et la solidarité comme nous l'ont enseigné nos parents.

*A tous les membres de familles « **Mokhneche** » et « **saadane** ».*

*A mes binômes « **Fadia** » et « **Imane** » pour tous les bons et les mauvais moments qu'on a passé durant notre parcours scolaire.*

*À mes amis « **Rayan, Djanet et Assala** », pour les souvenirs de notre amitié et des moments agréables que nous avons passés ensemble.*

A tous mes camarades de promotion Master 2 biologie moléculaire et cellulaire 2023, et tous mes enseignants jusqu'à maintenant.

A tous ceux qui me sont cher et n'est pas mentionné, et toute personne ayant participé de près ou de loin dans ce modeste travail.

Du fond du cœur, merci pour tous.

Imane

Dédicace

Au signe du respect et de reconnaissance je dédie le fruit de mes efforts

à :

***Mon père** : Tu étais pour moi l'épaule solide, l'œil attentif
compréhensif et la personne la plus digne de mon estime et mon
respect, aucune dédicace ne saurait exprimer mes sentiments. Dieu te
préserve et te procure santé et longue vie.*

***Ma mère** : Tu as déployé toute ta vie pour ma joie et mon bonheur, à
longue qui a allumé mon chemin par ces prières et à qui m'a ouvert les
portes de succès par ses encouragements.*

Que le bon dieu te garde.

*À mes étoiles qui éclairent ma vie : **Mes frères et Ma sœur et leurs
enfants**, source de joie et de bonheur.*

*A mes binômes et chères copines **Imane et Imane**, je tiens à vous
exprimer ma gratitude pour tous les bons moments que nous avons
partagés tout au long de ce parcours. Vos efforts, votre travail
acharné et votre soutien moral ont été inestimables.*

*À mes amis «**Donia, Raounek et Assala** », pour les moments agréables
que nous avons passés ensemble.*

*A tous mes camarades de promotion Master 2 biologie moléculaire et
cellulaire 2023, et tous mes enseignants jusqu'à maintenant.*

*Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de
ce travail, je vous dis merci et je vous suis sincèrement reconnaissance.*

Fadia

Dédicace

Je dédie ce travail :

A celle qui a attendu avec patience les fruits de sa bonne éducation et ses dévouements A ma chère mère :

Malika

A celui qui s'est changé la nuit en jour pour m'assurer les bonnes conditions A mon cher père :

Messaoud

A la meilleure chose de ma vie mes frères : Hichem, Hamza et Atef.

A ma petite princesse : Bayane.

A belle-sœur Romaïssa

A mon chère ami Assala.

A mes trinômes « Fadia » et « Imane » pour tous les bons et les mauvais moments qu'on a passé durant notre parcours scolaire.

A tous mes camarades de promotion Master 2 biologie moléculaire et cellulaire 2023, et tous mes enseignants jusqu'à maintenant.

A ma famille et toutes personnes qui j'aime.

Imane

Résumé

Le Triclosan est un pesticide organochloré, utilisé en tant qu'antiseptique, désinfectant et agent de conservation. La présente étude a été réalisée pour évaluer sa toxicité sur un modèle bio-indicateur dépollution : l'escargot *Helix aspersa* placés dans des conditions contrôlées (laboratoire). On a réalisé un traitement de 14 jours par le biocide Triclosan sur des groupes d'escargot à différentes concentrations (0,035g ; 0,04g ; 0,045g et 0,05g /g d'aliment sec).

Les résultats obtenus montrent que le Triclosan entraîne des altérations physiologiques qui se traduisent par une diminution du poids d'escargots.

Du point de vue biochimique, l'exposition aux concentrations croissantes du biocide testé a mis en évidence une augmentation du taux des protéines totales au niveau de l'hépatopancréas et du rein des traités par rapport aux témoins. Le suivi des biomarqueurs montre une augmentation de l'activité enzymatique Catalase ; parallèlement, une déplétion dose-dépendante du taux de glutathion (GSH) au niveau de l'hépatopancréas et du rein des escargots traités par rapport aux témoins. Le pouvoir bio-accumulateur du modèle animal choisi pour notre étude a été confirmé par les résultats obtenus chez des individus traités à la plus forte concentration. Ces résultats confirment que le Triclosan intervient dans la modification des paramètres biochimiques. L'ensemble des résultats obtenus indiquent le déclenchement du système de détoxification afin de faire face au stress oxydatif occasionné.

Mots clés : Triclosan, biocide, bio-indicateur, *Helix aspersa*, hépatopancréas, rein, stress oxydatif, biomarqueurs.

Abstract

Triclosan is an organochlorine pesticide, that causes harmful effects on living beings. The present study was carried out to assess their toxicity on a bio-indicator model of pollution: the snail *Helix aspersa* placed under controlled conditions (laboratory). A 14-day treatment with the biocide Triclosan was taken on groups of snails at different concentrations (0.035 g / 0.04 g / 0.045 g and 0.05 g / g of dry food).

The results obtained show that Triclosan causes physiological alteration which results in a decrease in snail weight. On the other hand, our results show that the exposure of snails in the laboratory revealed a significant decrease in the level of total proteins also in the treated with the highest concentrations of Triclosan, and this at the level of the hepatopancreas and the kidney.

Monitoring of biomarkers shows an increase in catalase enzyme activity in parallel with a dose-dependent depletion of glutathione (GSH) levels in the hepatopancreas and kidney. All the results obtained indicate the triggering of the detoxification system in order to deal with the oxidative stress caused. These results confirm that Triclosan intervenes in the modification of the biochemical parameters.

Keywords : Triclosan, pesticide, *Helix aspersa*, hepatopancreas, kidney, bio-indicator, protein, CAT, GSH, oxidative stress, biomarkers.

المخلص

التريكوسان هو مبيد حشري عضوي كلوري ، يسبب تأثيرات ضارة على الكائنات الحية. أجريت الدراسة الحالية لتقييم سميتها على نموذج مؤشر بيولوجي للتلوث: الحلزون *Helix aspersa* الموضوعة تحت ظروف خاضعة للرقابة (المختبر). تم أخذ علاج لمدة 14 يومًا بالمبيد الحيوي Triclosan على مجموعات من القواقع بتركيزات مختلفة (0.035 / 0.04 / 0.045 و 0.05 غرام/ غرام من الطعام الجاف).

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن التريكوسان يسبب تغييرات فسيولوجية تؤدي إلى انخفاض في وزن الحلزون. من ناحية أخرى ، أظهرت نتائجنا أن التعرض للقواقع في المختبر أظهر انخفاضًا معنويًا في مستوى البروتينات الكلية أيضًا في المعاملة بأعلى تركيزات من التريكوسان وهذا على مستوى الكبد والبنكرياس.

تظهر مراقبة المؤشرات الحيوية زيادة في نشاط إنزيم الكاتالاز بالتوازي مع استنفاد مستويات الجلوتاثيون (GSH) في الكبد والبنكرياس المعتمد على الجرعة. تشير جميع النتائج التي تم الحصول عليها إلى بدء تشغيل نظام إزالة السموم من أجل التعامل مع الإجهاد التأكسدي الناتج. تؤكد هذه النتائج أن تريكلوسان يتدخل في تعديل المعلمات البيوكيميائية.

كلمات مفتاحية: تريكلوسان ، مبيد حشري ، هيليكساسبيرسا ، كبد بنكرياس ، كلية ، مؤشر حيوي ، بروتين ،

الإجهاد التأكسدي ، المؤشرات الحيوية، GSH, CAT

Liste des abréviations et acronymes

Symboles	
%	Pourcentage
° C	Degré Celsius
E	Facteur d'extinction
A	
ASS	Acide sulfosalicylique
AchE	Enzyme L'acétylcholinestérase
B	
BSA	Bovine Sérum Albumine
BBC	Bleu brillant de Coomassie
C	
CAT	Catalase
D	
DCE	Directive cadre sur l'eau
DL50	dose létale médiane
DO	Densité optique
DTNB	Dithio-bis-nitrobenzoate (Acide 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoïque)
E	
EDTA	Acide éthylène-diamine-tétra-acétique
ERO	Espèce réactive de l'oxygène
EU	Etats-Unis
F	
FDA	Food and Drug Administration (Administration des aliments et des médicaments)
G	
GPx	Glutathion peroxydase
GSH	Glutathion réduit
GSSG	disulfure de glutathion
GST	glutathion S-transférase

H	
H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène	Peroxyde d'hydrogène
H	heure
I	
INERIS	L'Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques
IUPAC	Union Internationale de Chimie Pure et Appliquée
K	
K_{ow}	Coefficient de partage Octanol /Eau
M	
M	Masse molaire (g/mol)
MDA	Malondialdéhyde (un produit secondaire de la peroxydation des lipides)
Min	Minute
MTs	métallothionéines (protéines de faible masse moléculaire)
N	
NaOH	L'hydroxyde de sodium
P	
PK_a	Constante d'acidité
PPCP	Pharmaceuticals and Personal Care Products (produits pharmaceutiques et produits de soins corporels)
PCBs	les polychlorobiphényles
PF	Poids Frais
PH	Puissance de l'hydrogène
S	
-SH : Groupement thiol	Groupement thiol
SOD	Superoxide Dismutase
T	
TCA	Acide trichloracétique

TCS	Triclosan
Tris	Tris hydroxy méthyl-amine-méthane
Trs/min	Tours par minute

Liste des figures

Figure 1 :	<i>Helix aspersa</i>	9
Figure 2 :	Anatomie interne de l'escargot.....	11
Figure 3 :	Voies et sources d'exposition (et de transfert potentiel) des mollusques gastéropodes aux polluants	13
Figure 4 :	Localisation du site d'échantillonnage à « MdjezAmar »	15
Figure 5 :	Le Triclosan 5-chloro-2-(2,4- dichlorophénoxy) phénol.....	16
Figure 6 :	Formule chimique du Triclosan.....	16
Figure 7 :	Dispositif d'exposition des escargots en laboratoire.....	19
Figure 8 :	Les étapes de la dissection de l'escargot.....	20
Figure 9 :	Principales étapes d'extraction des métabolites : protéines.....	21
Figure 10 :	Réalisation de courbe d'étalonnage pour le dosage des protéines	23
Figure 11 :	Evolution des poids relatifs d' <i>Helix aspersa</i> traités par différentes concentrations de Triclosan en fonction du temps.....	27
Figure 12 :	Effets des concentrations croissantes du Triclosan sur l'évolution du taux moyen des protéines totales au niveau de l'hépatopancréas d' <i>Helix aspersa</i>	28
Figure 13 :	Effets des concentrations croissantes du Triclosan sur les variations du taux moyen des protéines totales au niveau du rein d' <i>Helix aspersa</i>	29
Figure 14 :	Effet du traitement par des concentrations croissantes du Triclosan sur l'évolution de l'activité Catalase au niveau de l'hépatopancréas d' <i>Helix aspersa</i>	30
Figure 15 :	Effet du traitement par des concentrations croissantes du Triclosan sur l'évolution de l'activité Catalase au niveau du rein d' <i>Helix aspersa</i>	31
Figure 16 :	Effet du traitement par des concentrations croissantes du Triclosan sur	32

	l'évolution du taux de GSH au niveau de l'hépatopancréas d' <i>Helix aspersa</i>	
Figure 17 :	Effet du traitement par des concentrations croissantes du Triclosan sur les variations du taux moyen de GSH au niveau du rein d' <i>Helix aspersa</i>	33

Liste des tableaux

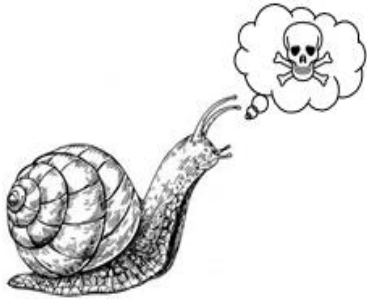
Liste des tableaux		
Tableau 1 :	Propriétés physico-chimiques du TCS.....	17
Tableau 2 :	Répartition des concentrations de Triclosan	19
Tableau 3 :	Dosage des protéines, réalisation de la gamme d'étalonnage.....	22
Tableau 4 :	Protocole utilisé pour le dosage de l'activité Catalase.....	23

Table des matières

Résumé.	
Abstract.	
ملخص	
Liste des abréviations et acronymes.	
Liste des figures.	
Liste des tableaux.	
Introduction.....	1
Chapitre 1 : Synthèse Bibliographique	
1. Le Triclosan	4
1.1.Les pesticides organochlorés.....	4
1.2.Généralité sur le Triclosan.....	4
1.3.Utilisations.....	4
1.4.Mécanisme d'action de TCS.....	5
2. Le stress oxydatif.....	6
3. Toxicité.....	6
3.1.Toxicité aigüe	6
3.2.Toxicité sub-chronique.....	7
3.3.Toxicité chronique.....	7
4. Biomarqueurs et bioaccumulateur : notions et concepts.....	8
4.1.Biomarqueurs d'exposition, d'effet et de susceptibilité.....	8
4.2.Bioaccumulation.....	8
5. L'escargot <i>Helix aspersa</i> : Un modèle biologique bio-indicateur de pollution.....	9
5.1.Présentation de l'espèce : <i>Helix aspersa</i>	9
5.2.Distribution géographique des escargots.....	10
5.3.Morphologie de l'escargot	10
5.4.Anatomie interne de l'escargot.....	11
5.5.Reproduction.....	11
5.6.Utilisation de l'escargot en écotoxicologie.....	12

Sources et voies d'exposition et d'absorption chez l'escargot.....	12
Chapitre 2 : Matériels et méthodes	
1. Matériel biologique.....	15
1.1.Méthode d'échantillonnage.....	15
2. Matériel chimique.....	16
2.1.Structure chimique du TCS.....	16
2.2.Caractéristiques du TCS.....	17
3. Condition d'élevage.....	18
4. Mode de traitement.....	18
5. Dissection des escargots et prélèvement de l'hépatopancréas et du rein.....	19
6. Paramètres étudiés.....	20
6.1.Paramètres biométriques.....	20
- Poids d'escargot.....	20
6.2.Paramètres biochimiques et enzymatiques.....	20
6.2.1. Extraction des métabolites.....	20
6.2.2. Dosages des protéines totales.....	22
6.2.3. Dosage de l'activité catalase (CAT).....	23
6.2.4. Dosage du glutathion (GSH).....	24
Chapitre 3 : Résultats et Discussions	
1. Effets de Triclosan sur l'évolution du poids relatif des escargots.....	27
2. Effets de Triclosan sur l'évolution des paramètres biochimiques.....	28
2.1.Evolution du taux de protéines totales au niveau de l'hépatopancréas.....	28
2.2.Evolution de taux de protéines totales au niveau du rein.....	29
3. Effets de Triclosan sur les biomarqueurs.....	30
3.1.Evolution de l'activité Catalase (CAT) au niveau de l'hépatopancréas.....	30
3.2.Evolution de l'activité Catalase (CAT) au niveau du rein.....	31

3.3.Évolution du taux de glutathion (GSH) au niveau de l'hépatopancréas.....	32
3.4.Évolution du taux de glutathion (GSH) au niveau du rein.....	33
Discussion.....	34
Conclusion et perspective.....	40
Les références bibliographiques.....	43



Introduction

Générale

Introduction générale

Jusqu'au début des années 90, plusieurs textes réglementaires comme la Directive Cadre sur l'Eau (DCE 2000/60/CE), ont fixé des objectifs pour limiter voire supprimer certains polluants chimiques reconnus comme « prioritaires » et « dangereux prioritaires ». Aujourd'hui, ces composés, tels les métaux lourds et les pesticides non polaires, semblent être moins pertinents pour plusieurs pays industrialisés, étant donné qu'une réduction spectaculaire des émissions a été atteinte suite à l'adoption de mesures appropriées et par l'élimination des principales sources de pollution consécutive à la mise en place de programmes de surveillance intensive (**Petrovic et al., 2003 ; Van der Gon et al., 2007**).

Toutefois, l'émission de contaminants en provenance des produits principalement utilisés en grandes quantités dans la vie quotidienne, tels que les produits de soins personnels (PPCPs) considérés comme des « polluants émergents », est non réglementée, parmi lesquels le Triclosan (TCS). Le TCS utilisé en tant qu'antiseptique, désinfectant et agent de conservation dans les savons, les déodorants, les crèmes et les dentifrices (**Ying et al., 2007a**) et sous forme d'additif dans un certain nombre de plastiques (y compris des produits en contact avec les aliments) et dans les textiles (chaussettes, vêtements de sport) (**Bedoux et al., 2011**).

Ces polluants émergents sont reconnus comme étant des perturbateurs endocriniens. Plusieurs études sur le potentiel perturbateur endocrinien du Triclosan ont été réalisées au cours des dernières années (**Hilippat et al., 2014**).

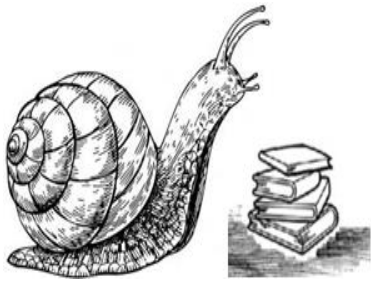
La grande stabilité du Triclosan fait qu'il se retrouve dans quasiment tous les compartiments environnementaux. Il a ainsi été retrouvé dans les cours d'eaux américains (**Halden et al., 2005**) ainsi que dans les boues d'épuration (**Butler et al., 2012**). A partir de ces boues, il est capable de s'accumuler dans les sols, où il va altérer les populations microbiennes et favoriser la résistance de certaines espèces. Le Triclosan peut également contaminer la chaîne alimentaire. A partir des sédiments, il peut contaminer les algues, les batraciens et les poissons. Il a notamment été retrouvé dans la bile des poissons en aval des effluents d'usine, mais aussi dans l'organisme de dauphins vivant au large dans l'Océan Atlantique. Du Triclosan a également été retrouvé dans les œufs d'oiseaux de mer (**Milow 15**). Le Triclosan affecte la reproduction et le développement de plusieurs espèces de poissons (**Dan et al., 2011**) ; il peut également affecter la reproduction d'escargots.

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

C'est donc, dans ce contexte que nous avons mené notre travail et dont l'objectif général vise à évaluer la toxicité d'un produit chimique le Triclosan à l'égard d'une espèce de gastéropodes bio-indicatrice de pollution *Helix-aspersa*.

L'impact que peut provoquer le Triclosan sur les paramètres biométriques et biochimiques de différentes parties (l'hépatopancréas et le rein) de *l'Helix aspersa*. Ce manuscrit comporte :

- ✓ Le premier chapitre comporte une étude bibliographique portant des généralités sur le produit chimique à tester le Triclosan. Ainsi que sur le modèle biologique utilisé dans la présente étude, *l'Helix aspersa*.
- ✓ Le second chapitre, nous présentons la méthodologie et les protocoles de dosages appliqués afin d'évaluer la toxicité du Triclosan.
- ✓ Les résultats obtenus, suivi de leur discussion.
- ✓ Enfin, notre travail sera clôturé par une conclusion générale et des perspectives.



*Synthèse
bibliographique*

1. Le Triclosan :

1.1 Les pesticides organochlorés :

Les pesticides organochlorés sont généralement des polluants toxiques composés principalement de carbone, d'hydrogène et de chlore. Les atomes de chlore empêchent les composés organiques de se dégrader rapidement dans l'environnement. Ces pesticides sont donc persistants et actifs pendant une longue période après leur application, par conséquent, leur utilisation et leurs applications sont soit interdites, soit limitées dans certains pays (Venelin et Stoyanka, 2019).

1.2 Généralité sur le Triclosan :

Le Triclosan, aussi appelé 5-chloro-2-(2,4-dichlorophénoxy) phénol, est un biocide (pesticide organochloré proche des Chlorophénols) (Yang et al., 2018). Est un agent antibactérien et antifongique à large spectre (Catherine et al., 2010).

Ce produit a été mis sur le marché vers 1970, tout d'abord pour le lavage chirurgical des mains, puis son usage a été largement étendu.

À partir de 1990 et jusqu'en 2010, les tonnages utilisés ont fortement augmenté pour atteindre 10 000 t/an en 2011[1].

1.3 Utilisations :

Le Triclosan est utilisé en tant qu'antiseptique, désinfectant et agent de conservation dans les détergents, les liquides vaisselle, les savons, les déodorants, les produits de nettoyage, les crèmes et les dentifrices bactéricides, et sous forme d'additif dans un certain nombre de plastiques (y compris des produits en contact avec les aliments) et dans les textiles (chaussettes, vêtements de sport).

Une étude récente montre que l'usage du TCS dans les PPCP atteint près de 85 % (du volume total) alors qu'il est utilisé à 10 % dans les textiles et 5 % dans les plastiques alimentaires (Bedoux et al., 2011). La concentration maximale permise est de 0,03 % dans les rince-bouches et de 0,3 % dans les autres produits cosmétiques (Sabaliunas et al., 2003). Il se caractérise par son activité bactériostatique pour un large spectre de micro-organismes (Ying et al., 2007a) : sur des bactéries Gram⁺ et Gram⁻ ainsi que sur des champignons et des levures (McAvoy et al., 2002). Il prévient la formation des membranes cellulaires et la multiplication bactérienne (Levy et al., 1999).

L'utilisation annuelle du Triclosan au niveau mondial augmente de 5,4 % pour atteindre un total de 6,9 millions de dollars en 2009 (**Heidler and Halden, 2007**). Cependant, le TCS a été retiré en 2010 de la liste des additifs (décision de la Commission 2010/169/EU) incorporés dans des matériaux en plastique à usage alimentaire (**Bedoux et al., 2011**).

1.4 Mécanismes d'action du TCS :

Un agent antimicrobien ou biocide est un composé qui peut altérer une cellule bactérienne par différentes voies à la fois ; certaines étant fonction de la concentration en biocide (**Maillard, 2005**).

L'action du TCS se caractérise par une activité bactériostatique pour un large spectre de micro-organismes dont des bactéries à gram + et gram - 5, mais aussi des champignons et des levures (**McAvoy et al., 2002; Ying and Kookana, 2007**). **McDonnell and Russell (1999)** indiquent qu'à des faibles niveaux en TCS (sans pour autant donner d'ordre de grandeur si ce n'est des « concentrations sub-inhibitrices »), la croissance des bactéries était gravement altérée, ce qui indique donc une forte interaction du TCS avec les bactéries. Pour des concentrations plus importantes, l'effet du TCS intervient plus vite et son action touche l'ensemble des phases de croissance.

Par ailleurs, il a été également observé des différences significatives au niveau de la mortalité (**Escalada et al., 2005**). Cette mortalité peut être en partie expliquée par l'inhibition d'importantes voies métaboliques et de synthèse (**McMurry et al., 1998**).

En effet, le TCS bloque la synthèse d'acides gras par l'inhibition de l'enzyme enoyl réductase (**McMurry et al., 1998**). Néanmoins selon (**Villalain et al., 2001**), la létalité induite par le TCS ne peut être expliquée par le seul blocage des voies de synthèse des acides gras mais également par des dommages appliqués aux membranes des bactéries.

Les effets membranaires du TCS vont avoir pour conséquences de déstabiliser les structures de la membrane et donc de nuire à l'intégrité fonctionnelle de la membrane bactérienne et cela sans induire de lyse bactérienne (**Guillen et al., 2004; Villalain et al., 2001**).

2. Le stress oxydatif :

✓ Rappel sur le stress oxydatif :

Le stress oxydatif se définit comme étant un déséquilibre entre la production des radicaux libres et leur destruction par des systèmes de défenses antioxydants. Les radicaux libres sont des molécules ou des atomes qui possèdent un ou plusieurs électrons non appariés sur leur couche externe qu'il le rend instable (**Gardès-Albert, 2003**), formés par la perte ou le gain d'électrons à partir d'un composé non radicalaire (**Berger, 2006**) ; (**Fontaine E, 2007**).

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) possèdent deux sources de production, exogène comme les produits de radiation, les médicaments, les pesticides et les solvants organiques (**Vergely et Rochette, 2005**) ; (**Flora, 2008**) et les sources endogènes notamment résident dans la mitochondrie, via sa chaîne respiratoire (**Favier, 2003**). La production de ces espèces pro-oxydantes est normale à faible concentration et s'accompagne d'un rôle physiologique important. A concentration élevée, leurs effets deviennent délétères pour les cellules, les tissus et diverses fonctions physiologiques (**Goldsworthy, 1972**).

3. La toxicité :

3.1 Toxicité subaiguë :

Le Triclosan a démontré un seuil élevé de toxicité grave dans les études aiguës. La DL50 après administration orale est de 3 750 à > 5 000 mg/kg de Triclosan de poids corporel chez le rat, 4 350 mg/kg de Triclosan de poids corporel chez la souris et > 5 000 mg/kg de triclosan de poids corporel chez les chiens (**Bhargava et al., 1996**; **DaSelva et al., 1989**; **Lyman et al., 1969**). La DL50 aiguë chez les rats nouveau-nés est de 580 mg/kg de Triclosan de poids corporel, ce qui est inférieur à celui des rats adultes (**DaSelva et al., 1989**).

La voie d'administration a une influence significative sur la toxicité du Triclosan. L'administration intraveineuse a montré un plus grand degré de toxicité, avec une DL50 de 19 mg/kg de Triclosan chez la souris et de 29 mg/kg de Triclosan chez rats (**DaSelva et al., 1989**; **Lyman et al., 1969**), tandis que l'injection intra péritonéale a conduit à des valeurs de DL50 allant de 184 à 1 090 mg/kg de Triclosan de poids corporel chez les souris (**Kanetoshi et al., 1992**; **Miller et al., 1982**). La DL50 dermique du Triclosan appliqué sur la peau de lapin sous forme de bouillie dans du propylène glycol sous occlusion patch était $\geq 9\,300$ mg/kg de

Triclosan (**Lyman et al., 1969**). Administration sous-cutanée de le Triclosan à l'éthanol a conduit à une DL50 de 14 700 mg/kg de Triclosan chez le rat (**Lyman et al., 1969**).

Les poudres pour le corps et les savons contenant du Triclosan ont été formulés sous forme aqueuse lissiers et administrés par voie orale à des rats (8 à > 250 mg/kg de Triclosan). Non des décès ont été enregistrés (**DaSelva et al., 1989**). De même, il n'y a pas eu de mortalité lorsque le corps lotions et gels douche contenant du Triclosan ont été administrés par voie orale rats (**DaSelva et al., 1989**).

3.2 Toxicité Sub-chronique :

La toxicité sub-chronique du Triclosan a été résumée par (**DeSalva et al., 1989**) principalement à partir d'études non publiées financées par l'industrie. Administration orale de Triclosan à des rats pendant 2 semaines a entraîné une diminution du gain de poids et de la mortalité à 1000 et 2000 mg/kg, respectivement. Aucune toxicité n'a été détectée à des doses aussi élevées que 1000 mg/kg après 4 semaines d'administration orale. Après 13 semaines d'administration, hépatique, thymique, et des changements rénaux ont été notés à 125 mg/kg mais pas à 315 mg/kg. L'administration de Triclosan pendant 13 semaines dans l'alimentation a entraîné des modifications hépatiques et hématopoiétiques à 150 et 300 mg/kg chez les rats mâles. Ces résultats ont également été rapportés par (**Bhargava et Leonard 1996**).

L'administration orale de Triclosan à des lapins a induit une mortalité et des changements hématologiques à 30 et 150 mg/kg en 13 semaines, mais pas de toxicité à 125 mg/kg lorsqu'il est inclus dans l'alimentation pendant 13 semaines (**DeSalva et al., 1989**). De même, l'administration de Triclosan dans l'alimentation de chiens pendant 13 semaines jusqu'à 25 mg/kg n'ont pas induit de toxicité, tandis que l'administration dans des modifications hépatiques induites par la capsule à 25, 50 et 100 mg/kg dans une étude et à 100 et 200 mg/kg dans une seconde étude (**DeSalva et al., 1989**). Administration de Triclosan jusqu'à 300 mg/kg par capsule orale à des babouins n'ont induit aucun signe pathologique en 52 semaines, bien que des vomissements et de la diarrhée aient été signalés (**DeSalva et al., 1989**).

3.3 Toxicité Chronique :

La toxicité/cancérogénicité orale chronique du Triclosan a été étudiée dans rats, souris et hamsters. Récemment, (**Rodricks et al., 2010**) ont résumé les résultats et indiqué qu'il y

avait une augmentation significative des adénomes et des carcinomes hépatocellulaires chez les souris, mais pas chez les rats ou les hamsters.

4. Biomarqueurs et bio-accumulateurs: notions et concepts :

Le biomarqueur utilise 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).

4.1. Biomarqueurs d'exposition, d'effet et de susceptibilité :

En écotoxicologie, trois types de biomarqueurs : les biomarqueurs d'exposition à un xénobiotique, les biomarqueurs d'effet de l'exposition et les biomarqueurs de sensibilité aux effets (Lagadic et al., 1997 ; Van der Oost et al., 2003).

- ✓ Les biomarqueurs d'exposition sont des indicateurs de la contamination des systèmes biologiques par un (des) xénobiotique(s). Ils peuvent être le résultat de l'interaction du polluant avec des molécules biologiques dans des tissus et/ou dans des liquides corporels.
- ✓ 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 sur une cible critique.
- ✓ Les biomarqueurs de susceptibilité 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, leur intérêt principal pourrait résider dans leur capacité à fournir un éclairage nouveau sur l'interprétation collective des biomarqueurs d'exposition et d'effet, ce qui encourage leur développement (Livingstone, 1993; Depledge et al., 1993; Lagadic et al., 1994).

4.2. Bio-accumulation :

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

5. L'escargot *Helix aspersa* : un modèle biologique bio-indicateurs de pollutions :

5.1. Présentation de l'espèce : *Hélix aspersa* :

L'escargot est une espèce ubiquiste qui s'adapte à des milieux, des sols et des climats variés (Benguedouar, 2016), qui se distingue par une Coquille brun doré portant des bandes brunes interrompues de façon caractéristique. Sa taille est de 30-35 et 32-40 mm à avec un corps mou et non segmenté complètement dépourvu d'appendices articulés, sa masse viscérale présente une torsion de 180° par rapport au pied (Larba, 2014) d'où une asymétrie de certains de ces organes : un seul rein, poumon, et une seule oreillette cardiaque (Smida&Toualbia, 2016).

Les escargots du genre *Hélix* appartiennent à la famille des Hélicidés comprend de nombreuses espèces européennes et méditerranéennes à l'exception notable de *Hélix aspersa* qui a également colonisé les régions atlantiques et a été introduit hors de l'Europe. L'espèce *Hélix aspersa* présente plusieurs sous-espèces dont les principales sont *H. aspersa aspersa*, *H. aspersa elata* et *H. aspersa maxima* (Bonnet et Vrillon, 1990). (Figure 1).

La position systématique est la suivante : (Bonnet et Vrillon, 1990)

Règne: Animalia

Embranchement: Mollusca

Classe: Gasteropoda

Ordre: Stylommatophora

Famille: Helicidae

Genre: *Helix*

Espèce: *aspersa*



Figure 1:*Helix aspersa* [2].

5.2. Distribution géographique des escargots :

Grâce à ses pouvoirs adaptatifs aux variations climatiques, *H. aspersa* est très commun; se trouve dans ses zones habituelles de répartition : jardins, buissons, haies, champs, mais également dans les zones cultivées (**Kerney et al., 2006**). Généralement, il est très commun dans la région méditerranéenne, se distribue dans les régions : Royaume-Uni, l'Italie, la France et le long des frontières des mers Méditerranée et Noire (**Dekle et Fasulo, 2008**). Il est introduit en Argentine, Australie, Canada, Chili, Haïti, la Nouvelle-Zélande, le Mexique, Le Nord d'Afrique (Algérie) et le Sud, Etats-Unis et les îles de l'Atlantique (**Dekle et Fasulo, 2008**). De nos jours mondialement répandus.

5.3. Morphologie de l'escargot :

L'escargot se compose d'une coquille et d'un corps (**Pol, 2006**).

✓ La coquille :

Elle est sous forme d'un cône calcaire, enroulé autour d'une columelle, l'ouverture de la coquille constitue le péristome.

La paroi de la coquille constitue de trois couches superposées. :

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

✓ Le corps :

En extension, l'escargot repose sur le sol par le pied : cette partie en avant de la coquille permet le déplacement de l'escargot par reptation. Cette masse musculaire pédieuse est recouverte par le mucus (**Cadart, 1975**). La partie antérieure de cette masse viscérale est couronnée par la tête qui se compose de deux grands tentacules (oculaires), deux petits tentacules (tactiles) (**Bonnet et al., 1990**), une bouche et un orifice génital. Pour le reste de la masse viscérale, contenue dans la coquille, on remarque la présence de :

- **Le pneumostome**, orifice de la cavité palléale pour la respiration.
- **L'anūs** : qui est situé en dessous du pneumostome.
- **L'orifice urinaire** : invisible, car il est trop petit.

5.4. Anatomie interne de l'escargot :

Le corps d'un escargot consiste en un pied musculeux, large et plat (**Didier, 2006**) unique, une tête et une masse viscérale enroulée qui est placée dans la coquille. Les glandes de mucus placées dans la partie antérieure du pied, il y a aussi des glandes de mucus sur le reste du corps protégeant l'escargot contre la perte d'eau. La coquille est sécrétée par un épais pli de peau, appelé le manteau (**Gireuad, 2008**). Elle est reliée au corps par un puissant muscle qui est attaché à la columelle. La contraction de ce muscle permet à l'escargot de se retirer dans sa coquille. À l'intérieur de la coquille, se trouve une cavité du manteau, qui contient le cœur, le rein et le poumon. (**Figure 2**).

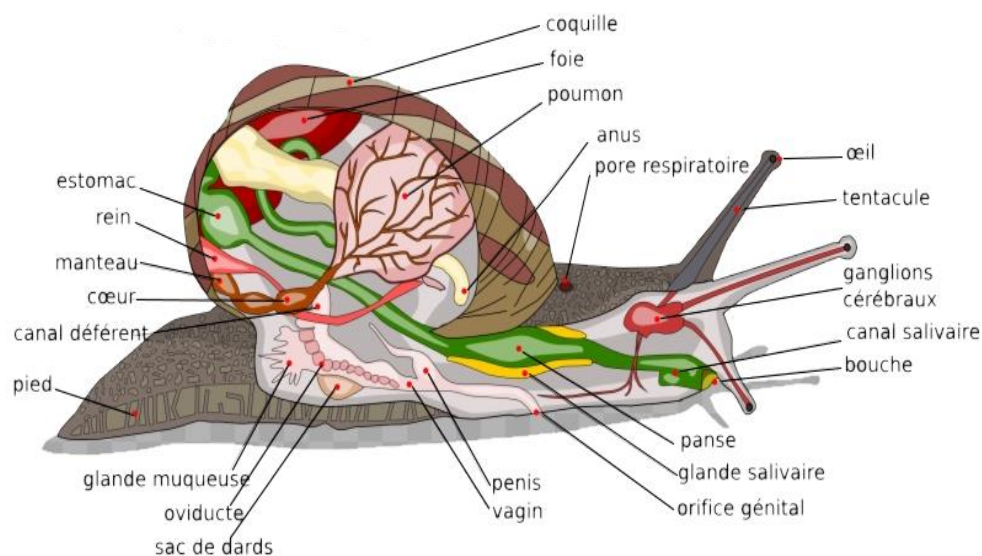


Figure 2 : Anatomie interne de l'escargot [3].

5.5. Reproduction :

Les escargots sont hermaphrodites, mais doivent s'accoupler car ils ne peuvent pas s'auto-féconder. Ils sont tous équipés d'un pénis et de l'organe réceptif correspondant.

La fécondation est réciproque par échange de spermatophores entre les 2 partenaires, certains individus peuvent toutefois se comporter uniquement comme mâle ou comme femelle. L'auto-fécondation, qui existe chez les limaces et les achatines, est rarement observée chez les escargots du genre *Helix* et n'a jamais été rapportée pour *Helix aspersa* (**Gomot, 1980**). La durée entre l'accouplement et la ponte est d'environ 10 jours en conditions

optimales mais peut atteindre 1 voire 2 mois lorsque les conditions de l'environnement sont défavorables.

Les œufs (entre 80 et 130) sont déposés dans une cavité creusée à quelques cm sous la surface du sol, cavité qui est ensuite rebouchée. L'incubation dure de 12 jours à 20°C à environ 22 jours à 15°C. Le nombre moyen de ponte par reproducteur est de 1,3 et le nombre d'infantiles produits est de 75 à 85 (Madec, 1983).

5.6. Utilisation de l'escargot en écotoxicologie :

L'escargot *Helix aspersa* juvéniles et adultes sont utilisés dans de nombreuses études écotoxicologiques. En effet, de par leur place au sein de l'écosystème terrestre, ils représentent une biomasse significative au sein de la communauté des invertébrés du sol (Dallinger et al., 2001) Les petit-gris sont des bioindicateurs d'exposition et d'effets de polluants métalliques (Fritsch et al., 2011 ; Grara et al., 2009, 2012 ; Boucenna et al., 2015) ou organiques (Coeurdassier et al., 2002 ; De Vaufleury et al., 2006) et ce aussi bien dans les chaînes trophiques (Gomot-de Vaufleury et Pihan, 2000; Hispard et al., 2008), que dans l'évaluation des cinétiques de transfert milieu-escargot (Gimbert et al., 2006, 2008). Diverses réponses biologiques peuvent être apportées par les escargots *Helix aspersa* quand ils sont exposés aux contaminants : physiologiques par l'inhibition de croissance, perturbation de la reproduction (Swaleh et Ezzughayyar, 2001; Notten et al., 2006) ainsi que des perturbations/modifications biochimiques (Ismert et al., 2002 ; Regoli et al., 2006), et des réponses de génotoxicité et embryotoxicité ont été également indiqués chez *Helix aspersa* (Druart et al., 2012; Baurand et al., 2013; 2014). En plus ils constituent un maillon des réseaux trophiques qui contribue au transfert des polluants du sol et/ou des plantes aux prédateurs (Beeby, 1985; Scheifler et al., 2002 ; Hispard et al., 2008).

5.7. Sources et voies d'exposition et d'absorption chez l'escargot :

A l'interface sol-plante-atmosphère, l'escargot intègre plusieurs sources de contaminations accessibles via différentes voies d'exposition (Figure 3).

- ✓ Digestive par ingestion de nourritures (plantes mais également particules de sols, (Gomot et al., 1989).
- ✓ Cutanée par diffusion des polluants du sol à travers l'épithélium du pied (Coeurdassier et al., 2002 ; Gomot-de Vaufleury et Pihan, 2002)

- ✓ Respiratoire par inhalation de gaz et /ou de particules atmosphériques (Ismert et al., 2002 ; Regoli et al., 2006)

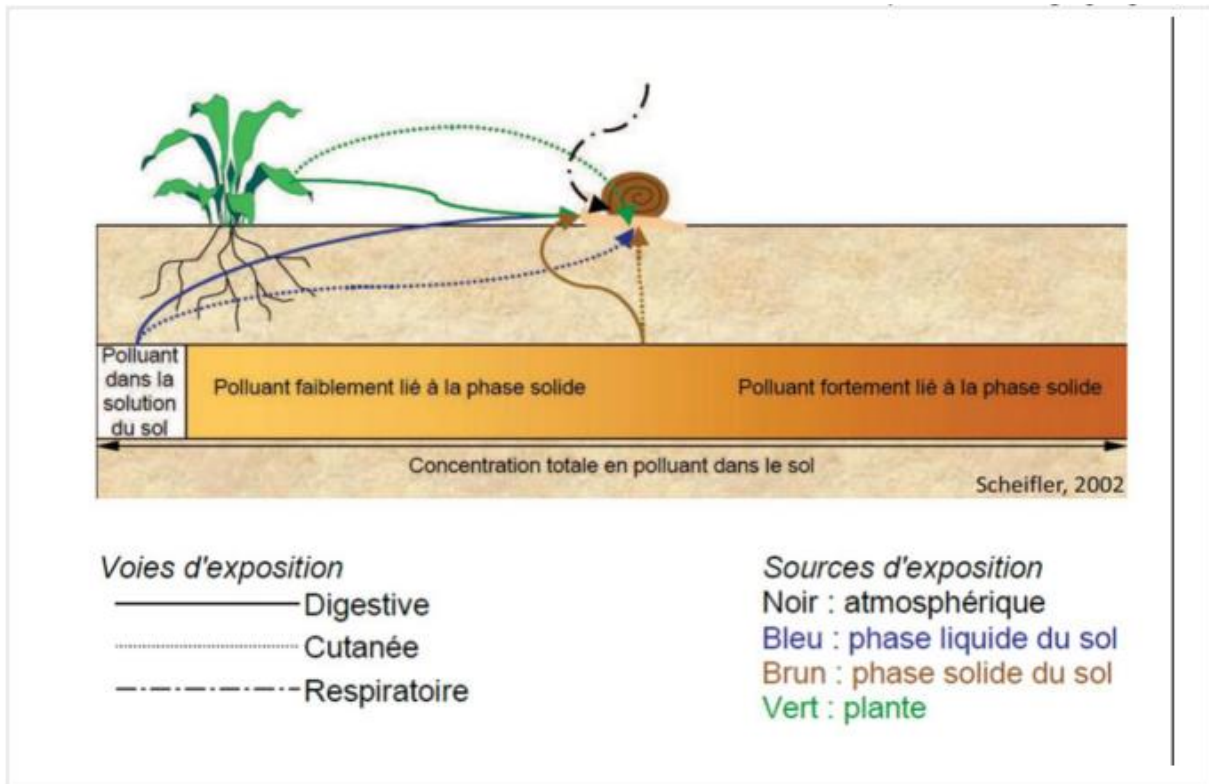
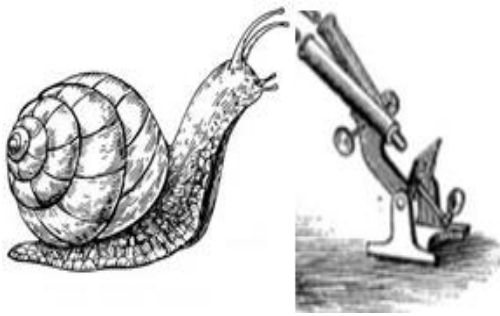


Figure 3 : Voies et sources d'exposition (et de transfert potentiel) des mollusques gastéropodes aux polluants (Scheifler, 2002).



Matériel et méthodes

Matériel et méthode :

1. Matériel biologique :

Notre étude a été réalisée au niveau du laboratoire pédagogique d'université 08 Mai 1945 – GUELMA. Ces escargots utilisés au cours des expérimentations proviennent d'une population originaire d'une région non polluée à Mdjez Amar wilaya de Guelma (Nord-est de l'Algérie), et la situation géographique de la région de collecte des escargots est illustrée dans (Figure 4)

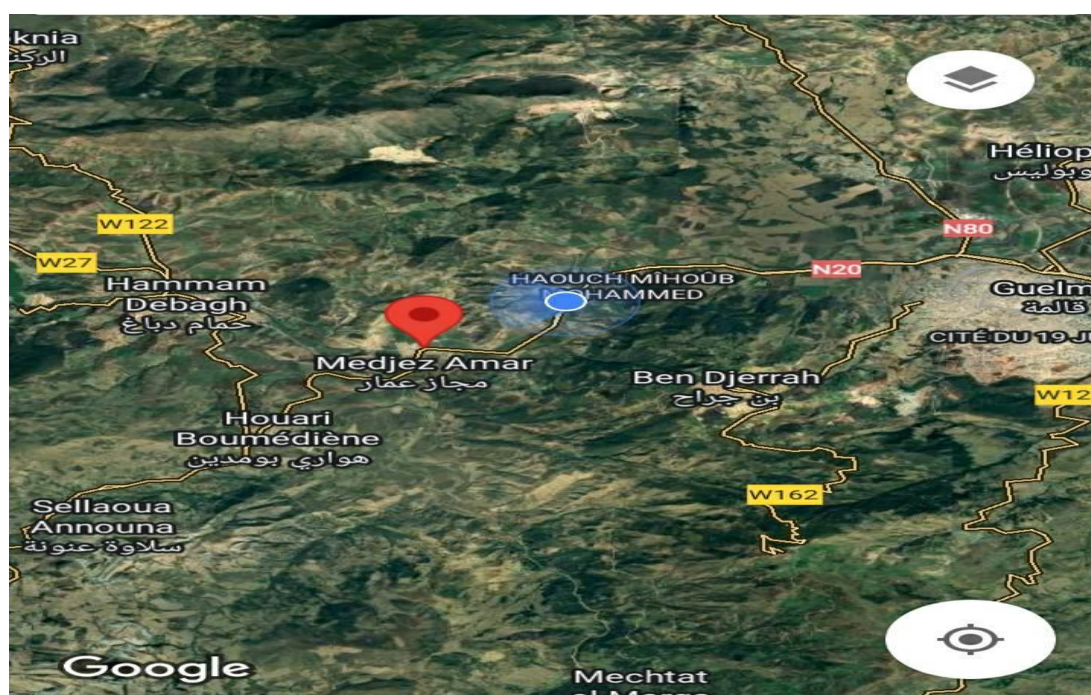


Figure 4 : Localisation du site d'échantillonnage à « Mdjez Amar »

1.1.Méthode d'échantillonnage :

La collecte de l'escargot *Helix aspersa* a été effectuée au mois Mars 2023 dans des jardins de la région de Mdjez Amar « GUELMA », de façon aléatoire. Les escargots collectés sont maintenus pendant une semaine pour l'acclimatation aux conditions da laboratoire avant le traitement.

2. Matériel chimique :

Nous avons utilisé dans notre expérimentation un biocide appelé le Triclosan :



Figure 5 : le Triclosan 5-chloro-2-(2,4- dichlorophénoxy) phénol

2.1. Structure chimique du TCS :

Le TCS est aussi appelé 2, 4,40-trichloro-20-hydroxydiphenyl ether ou 5-chloro-2-(2,4- dichlorophénoxy) phénol. La structure chimique de ce composé, est un diphenyle éther halogéné, qui lui confère des propriétés chimiques similaires à plusieurs composés toxiques tels que les polychlorobiphényles (PCBs), le bisphénol A et les dioxines (**Dhillon et al.,2015**). (**Figure 6**).

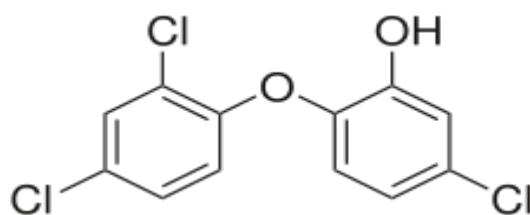


Figure 6 : formule chimique du Triclosan [1]

2.2. Caractéristiques du TCS :

Tableau 1: propriétés physico-chimiques du TCS

Caractéristique		Réf *
Aspect	Poudre blanche cristalline	(O'Neil, M.J, 2013)
Biodégradable	Oui	(Singer et al., 2002)
CAS no	3380-34-5	(Tamura et al., 2013), (Wang et al., 2013)
Coefficient d'absorption dans les sédiments	2400	(Dhillon et al.,2015)
Constante de Henry	1.5×10^{-7} atm mol/m ³ à 25 °C	(Dhillon et al.,2015)
Demi vie (s)	18 à 107 jours dans les sols agricoles amendés 60 jours dans l'eau 120 jours dans le sol 540 jours dans les sédiments	(Ma et al., 2017), (Dhillon et al.,2015), (Waria et al., 2011), (Halden et al., 2017), (Halden et al., 2005)
Formule Moléculaire Brute	C ₁₂ H ₇ Cl ₃ O ₂	(Dhillon et al.,2015)
K _{ow}	4.8 4.66	(Ma et al., 2017) (Hwang et al., 2014) (Rüdel et al., 2013) (Martins et al.,2017) (Peng et al., 2013) (Tamura et al., 2013)
Masse Moyenne	289.54 Da	(Dhillon et al.,2015)
Nature	Hydrophobe	(Dhillon et al.,2015)
Nom de marque	Irgasan® DP300, Irgasan® PG60, Irgasan® CF100, FAT 80'023, CH 3565, GP41-353, Irgacare® MP, Ster-Zac, Lexol 300, CF100, Irgagard® B1000	(Dhillon et al.,2015)
Nom systématique, IUPAC Name	5-Chloro-2-(2,4-dichlorophenoxy)phenol	(Montville et al., 2011)
Odeur	Faible, légèrement aromatique	(O'Neil, M.J., 2013)
Photo dégradation	demi-vie en solution aqueuse : 41 minutes	(Dhillon et al.,2015)
PKa	8.14 à 20°C 7.80 ± 0.35	(Dhillon et al., 2015), (Tamura et al., 2013),

		(Ribbenstedt <i>et al.</i> , 2017)
Poids moléculaire	289.536 g/mol	(US-EP A, 2014)
Point d'ébullition	120 °C	(Dhillon <i>et al.</i> , 2015)
Point de fusion	55-57 °C	(Dhillon <i>et al.</i> , 2015)
Pression de Vapeur	5.2×10^{-6} Pa (ou mm Hg à 20 °C)	(Dhillon <i>et al.</i> , 2015)
Produits de dégradation	Methyl-TCS, Dioxines, chlorophénols, chloroforme	(Dhillon <i>et al.</i> , 2015)
Référence à la FDA	4NM5039Y5X	(Dhillon <i>et al.</i> , 2015)
Solubilité dans l'eau	12 mg/L à 25°C	(Dhillon <i>et al.</i> , 2015)
Synonyme	2, 4,4-trichloro-2-hydroxydiphenyl ether	[1]
Métabolites	2,4-dichlorophénol, méthyl-triclosan	[1]

3. Condition d'élevage :

L'élevage des escargots est passé par les conditions environnementales suivantes : (Gomot de Vaufleury, 2000)

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

Les escargots utilisés dans notre expérimentation sont des adultes, leur poids moyen est ($10 \pm 2\text{g}$). Ils sont répartis dans des boîtes en plastique transparentes avec des couvertures trouées (pour l'oxygénation), chacune contient une éponge mouillée pour qu'ils boivent et pour maintenir l'humidité, les escargots sont alimentés dans chaque lot 15g de farine de blé. Les boîtes sont nettoyées, et en renouvelant l'alimentation régulièrement tous les trois jours.

4. Mode de traitement :

Le type de toxicité qui nous permet d'obtenir une réponse biologique en un temps assez court est la toxicité sublétales qui est nécessaire pour la compréhension des effets toxiques autres que létaux puisque ce sont ces effets qui s'expriment le plus souvent dans les situations réelles de pollution environnementale (Benosmane, 2015).

Après une semaine d'adaptation aux conditions de laboratoire, les animaux sont traités par addition de concentrations croissantes de produit chimique le Triclosan dans leur alimentation. Nous avons retenu quatre concentrations et un milieu témoin. Ces

concentrations sont déterminées à partir d'un test de toxicité sublétales et de toxicité neurocomportementale chez des souris dont les concentrations utilisées étaient 1000, 2000 et 4000 mg/kg (Tabari et al., 2019).

Le traitement a duré deux semaines (Figure 7).



Figure 7 : Dispositif d'exposition des escargots en laboratoire.

Les escargots sont répartis en 5 lots de (4 escargots / lots) **Tableau 2 :**

Tableau 2 : Répartition des concentrations de Triclosan

Lots	Nombre d'Escargots	Concentration en g de Triclosan/ g d'aliment sec (farine de blé)
T	4	0
1	4	0,035
2	4	0,04
3	4	0,045
4	4	0,05

Le traitement se déroule pendant deux semaines pour les 5 lots.

5. Dissection des escargots et prélèvement de l'hépatopancréas et du rein :

Les animaux sont pesés avant le traitement et après chaque sept jours, mis à jeun pendant 48 h pour vider leur tube digestif, ensuite nous les avons anesthésiés par du chloroforme, puis disséqués. (Figure 8)

Après la dissection l'hépatopancréas et le rein sont prélevés, pesés et divisés en trois fragments :

- ✓ Un échantillon pour le dosage des métabolites (protéines).
- ✓ Un échantillon pour le dosage du Glutathion (GSH).
- ✓ Un échantillon pour le dosage de la Catalase.

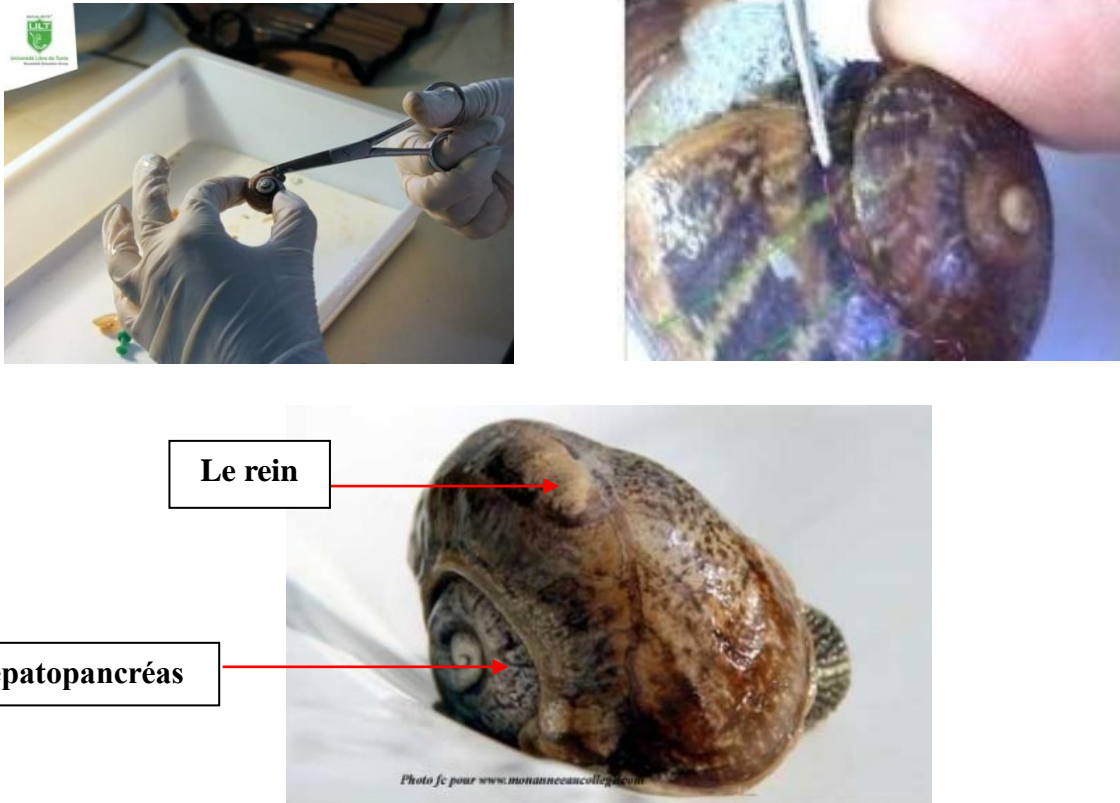


Figure 8 :Les étapes de la dissection de l'escargot

6. Paramètres étudiés :

6.1 Paramètres biométriques :

➤ Poids d'escargot :

Les escargots sont pesés avant et après le traitement par le Triclosan à l'aide d'une balance de précision et répartis en 5 lots avec un poids moyen environ $10 \pm 2g$, pour déterminer l'effet de ce dernier sur le poids.

6.2 . Paramètres biochimiques et enzymatiques :

6.2.1 Extraction des métabolites :

L'extraction des métabolites de l'hépatopancréas et du rein ont été réalisées selon le procédé de (Shibkoetal., 1966). (Figure 9).

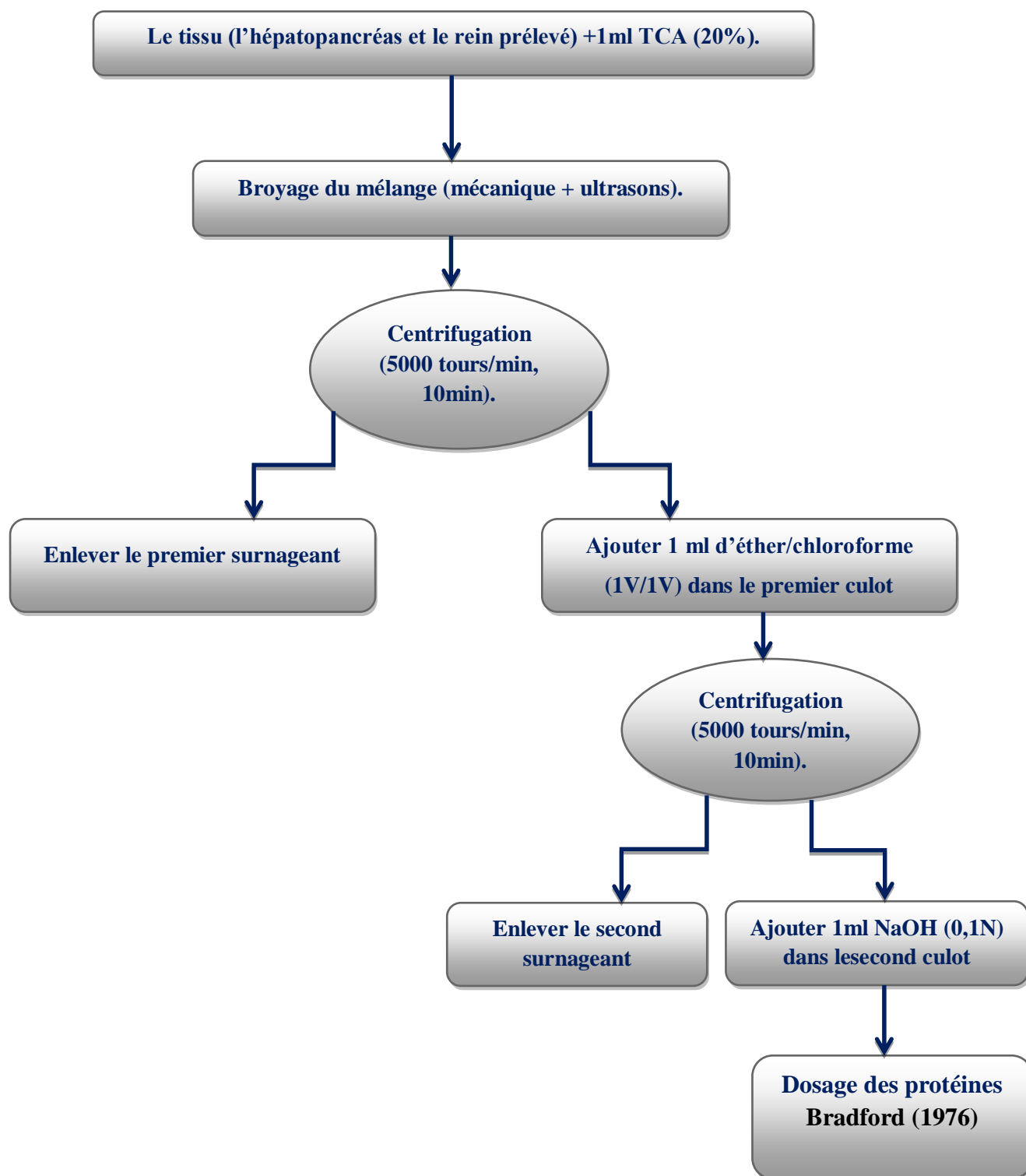


Figure 9 : Principales étapes d'extraction des métabolites : protéines (Shibko et al., 1966).

6.2.2 Dosages des protéines totales :

Le dosage des protéines est effectué selon la technique de (Bradford *et al.*, 1976) sur une fraction aliquote de 0,1 ml de l'homogénat avec 4 ml de bleu brillant de Coomassie (BBC)(G 250, Merk) comme réactif (50 mg de bleu brillant de Coomassie, 25 ml d'éthanol (95%), 50ml d'acide orthophosphorique (85%) et complété à 500 ml avec l'eau distillée) et l'albumine sérum de bœuf (BSA) comme standard.

➤ Mode opératoire :

- ✓ Prélever 100µl de l'homogénat [culot +1ml NaOH (0,1 N)] dans des tubes secs.
- ✓ Agiter l'homogénat.
- ✓ Ajouter 4 ml de BBC et laisser reposer 5 min.
- ✓ Lire la densité optique à 595 nm, contre un blanc préparé dans les mêmes conditions (100 µlH₂O + 4ml BBC + 5 min repos).

La lecture des absorbances s'effectue à une longueur d'onde de 595 nm, et la gamme d'étalonnage est réalisée à partir d'une solution d'albumine de bœuf (1 mg/ml) selon les indications ci-dessous. (Tableau 3)

Tableau 3: Dosage des protéines, réalisation de la gamme d'étalonnage.

Tubes	1	2	3	4	5	6
Solution d'albumine (µl)	0	20	40	60	80	100
Eau distillée (µl)	100	80	60	40	20	0
Réactif BBC (ml)	4	4	4	4	4	4

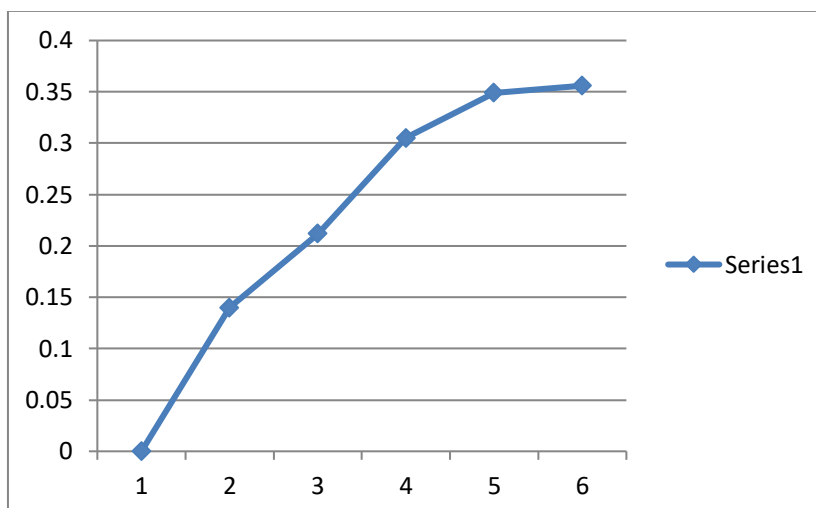


Figure 10 : Réalisation de courbe d'étalonnage pour le dosage des protéines

6.2.3 Dosage de l'activité catalase :

La catalase est l'enzyme antioxydant le plus couramment mesurées dans les recherches liées aux radicaux libres. La catalase est l'enzyme qui élimine le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). Le protocole le plus couramment utilisé est le plus direct (Aebi, 1984; Goth 1991a, b). Cette enzyme intervient dans la défense de la cellule contre le stress oxydatif en catalysant la dismutation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) 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_2O_2) ($\epsilon = 40 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) en faisant réagir dans 100Mm de tampon phosphate pendant 1mn à pH 7,5 100 μl de H_2O_2 (500 mM) sur 20 μl d'homogénat, à une température d'incubation de 25°C.

Les résultats sont exprimés en μmol d' H_2O_2 par minute et par mg de protéines (Tableau 4).

Tableau 4: Protocole utilisé pour le dosage de l'activité Catalase.

	Essai μl	Blanc μl
Tampon phosphate (100 mM ; pH 7,5)	780	780
H₂O₂ (500mM)	200	200
Homogénat	20	0
H₂O	0	20

L'activité de la CAT est plus sensible décroît rapidement, après 15 secondes de délai durant 60 secondes de mesure. Le coefficient d'extinction est de $0,0040 \text{ m M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ et l'activité CAT est calculée par la formule suivante :

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

Activité CAT : micromole de substrat hydrolysé par minute et par mg de protéines ($\mu\text{M/mn/mg}$ de protéines).

$\Delta \text{ DO}$: différences des absorbances pendant une minute

ϵ : Facteur d'extinction ($\epsilon = 40 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)

L : Longueur de la cuve utilisée.

mg : de protéines : quantité de protéines exprimée en mg

6.2.4 Dosage du Glutathion (GSH):

Le glutathion est un tripeptide constitué d'acide glutamique, cystéine et de glucine. Le GSH est requis pour l'activité de plusieurs enzymes, il participe avec le glutathion réductase à l'établissement de ponts désulfures dans de nombreuses protéines et dans des

hormones polypeptidiques et prend part au métabolisme des xénobiotiques. Il est aussi un substrat des glutathions peroxydases sélène dépendantes (GPx), et avoir présent dans la majorité des tissus. Il est intéressant de noter que le GSH peut chélater les ions Cu^+ et ainsi limiter leur participation à la génération de radicaux libres par la réaction de Fenton (**Hanna et Mason, 1992**).

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

Le dosage s'effectue après homogénéisation des échantillons dans 1 ml d'une solution d'éthylène diamine tétra-acétique (EDTA) à 0,02 M [7,448 g EDTA, 1000 ml eau distillée]. Afin de protéger les groupements thiols du glutathion l'homogénat doit subir une déprotéinisation par l'acide sulfosalicylique (ASS) à 0,25 % [0,25 g ASS, 100 ml eau distillée] où 0,2 ml du ASS sont additionnés à 0,8 ml d'homogénat. Le mélange après agitation est plongé dans un bain de glace pendant 15 mn, puis centrifugé à 1000 trs/mn pendant 5 mn.

Une aliquote de 500 μl du surnageant récupéré est ajoutée à 1 ml du tampon tris/EDTA (0,02 M, pH 9,6) [63,04 g tris, 7,4448 g EDTA, 1000 ml eau distillée] et 0,025 ml de DTNB (0,01 M) [3,96 g DTNB, 1000 ml méthanol absolu]. La lecture des absorbances s'effectue à une longueur d'onde de 412 nm après 5 minutes de repos pour la stabilisation de la couleur contre un blanc où les 500 μl du surnageant sont remplacés par 500 μl d'eau distillée en utilisant le spectrophotomètre de type (JENWAY 6300).

Le taux du glutathion est estimé selon la formule suivante :

$$\text{Taux de GSH } (\mu\text{M/mg de protéines}) = \frac{\text{DO} \times 1 \times 1,525}{13,1 \times 0,8 \times 0,5 \times \text{mg de protéine}}$$

Taux du GSH : micromole de substrat hydrolysé par mg de protéines ($\mu\text{M/mg}$ de protéines).

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

13,1 : coefficient d'extinction molaire concernant le groupement thiol (-SH).

Vd : volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation : 1 ml [0,2 ml ASS + 0,8 ml homogénat].

Vh : volume de l'homogénat utilisé dans la déprotéinisation : 0,8 ml

Vt : volume total dans la cuve : 1,525 ml [0,5 ml surnageant + 1 ml tris/EDTA + 0,025 ml DTNB].

Vs : volume du surnageant dans la cuve : 0,5 ml.

Mg de protéines : quantité de protéines exprimée en mg.

Analyse statistique :

L'analyse statistique est réalisé à l'aide d'un logiciel d'analyse des données : Minitab (Version 19.0) (Dagnelie, 1999).



Résultats et discussions

1. Effets du Triclosan sur l'évolution du poids relatif des escargots :

La figure (11) met en évidence l'évolution du poids relatif des escargots pendant deux semaines d'exposition au biocide "le Triclosan".

A partir de la première semaine d'exposition, le poids des escargots traités par les différentes concentrations du xénobiotique testé diminue par rapport aux témoins dont le poids ces derniers augmente au cours de cette semaine ; cependant, ce taux tend à diminuer d'une manière dose-dépendante, pour les traités par la concentration (0,035 ; 0,040 ; 0,045 et 0,05 g/g d'aliment sec) ou les poids enregistrés sont de l'ordre (10,42± 0,7 g ; 09,87±0,64 g ; 9,97 ±0,81 ; 09,62± 0,69 g) respectivement par rapport aux témoins qui de (11,20± 0,60 g) après 7 jours de traitement.

Cependant, après deux semaines de traitement, les variations du poids relatif chez les lots traités continue à diminuer d'une manière dose-dépendante et cela par rapport au poids initial des escargots et des témoins.

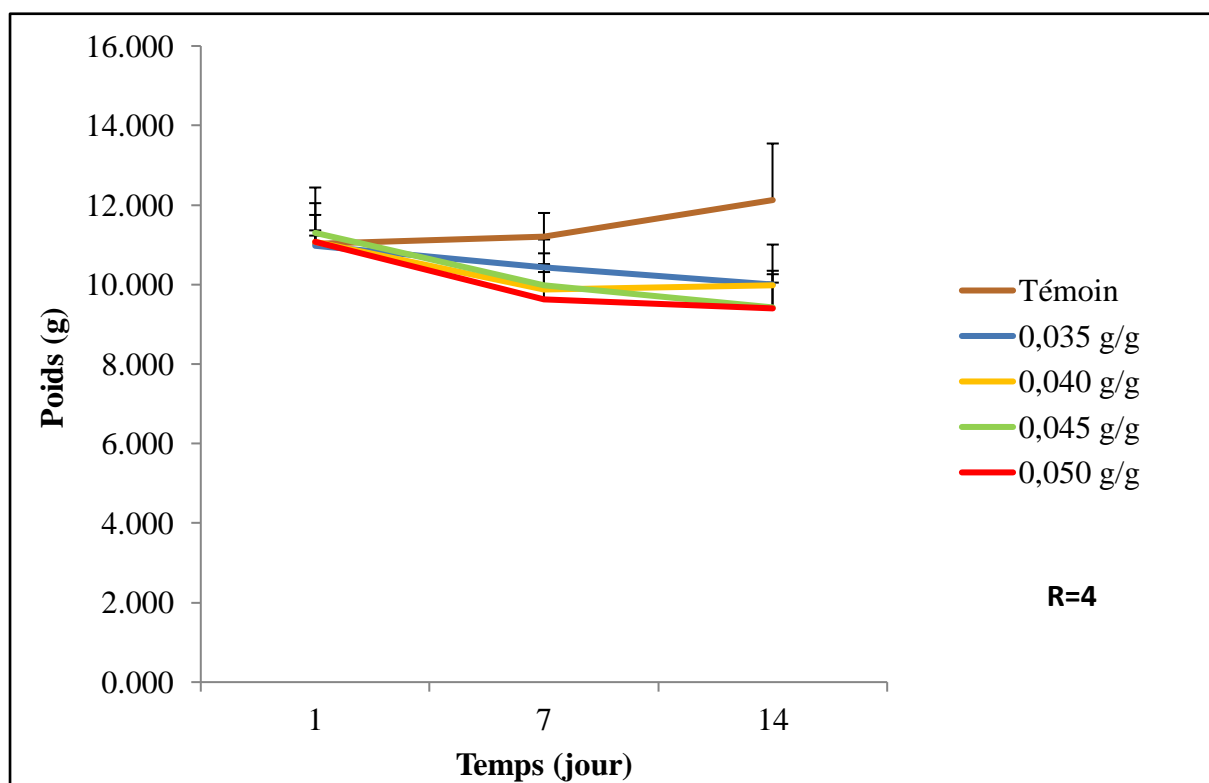


Figure 11 : Evolution du poids relatif d'*Helix aspersa* traités par différentes concentrations de Triclosan en fonction du temps.

2. Effets du Triclosan sur l'évolution des paramètres biochimiques :

2.1.Évolution du taux des protéines totales au niveau de l'hépatopancréas :

La figure (12) montre l'effet du biocide sur le taux des protéines totales au niveau de l'hépatopancréas à la suite de l'intoxication alimentaire d'*Helix aspersa* en présence de concentration croissante de Triclosan.

Chez les escargots traités aux plus fortes concentrations (0,045 et 0,05 g/g d'aliment sec), l'augmentation du taux des protéines totales est plus importante (environ 3900µg/mg poids frais) que chez les traités par les faibles concentrations (0,035 et 0,04 g /g d'aliment sec) qui est aux environs de 3200 µg/mg poids frais et cela par rapport aux témoins dont le taux de protéines est de 2200 µg/mg poids frais.

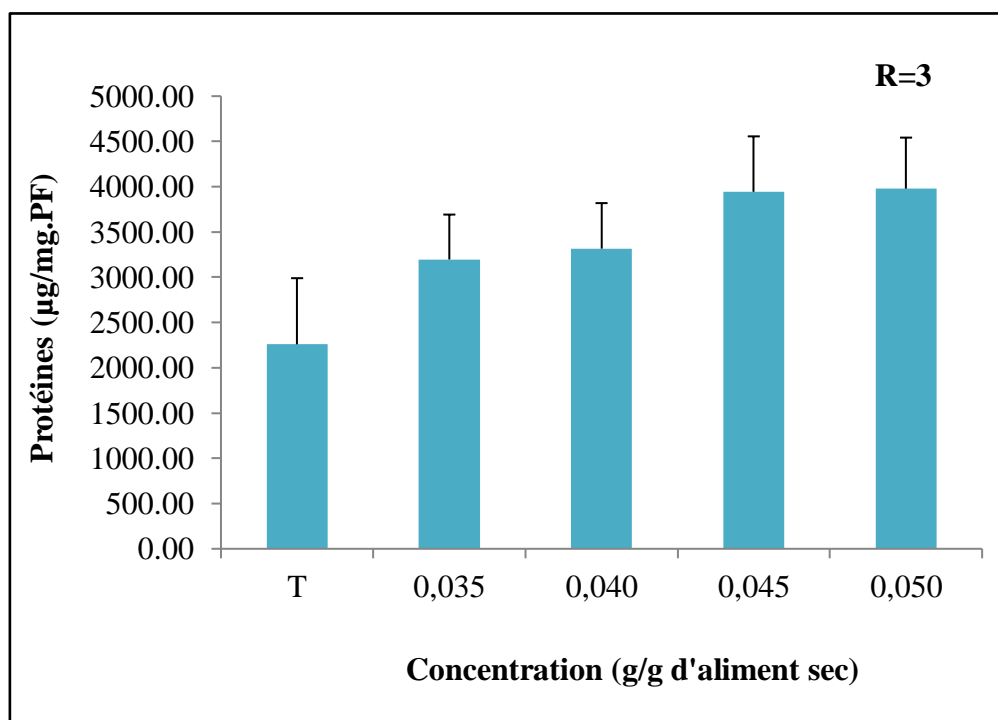


Figure 12 : Effets des concentrations croissantes du Triclosan sur l'évolution du taux moyen des protéines totales au niveau de l'hépatopancréas d'*Helix aspersa*.

2.2.Évolution de taux de protéines totales au niveau du rein :

La figure (13) illustre l'évolution du taux de protéines totales au niveau du rein. Nous constatons une différence entre le taux de protéines totales des témoins et des traités par les différentes concentrations du Triclosan, puisque ce taux est de 4500 $\mu\text{g}/\text{mg.PF}$ chez les individus témoins tandis qu'il a augmenté chez les traités par la plus faible concentration (5430 $\mu\text{g}/\text{mg.PF}$). Cette augmentation est dose-dépendante dont laquelle cette dernière arrive à un taux de 8110 $\mu\text{g}/\text{mg.PF}$ chez les organismes traités par la plus forte concentration de Triclosan.

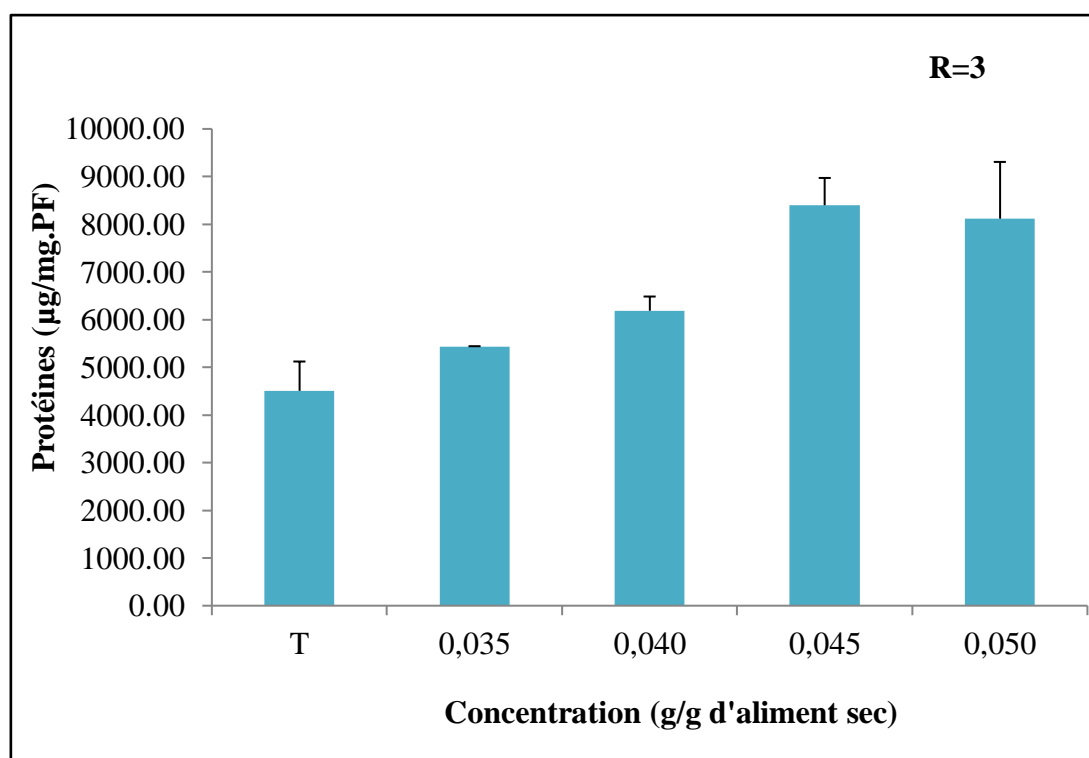


Figure 13: Effet des concentrations croissantes du Triclosan sur les variations du taux moyen des protéines totales au niveau du rein d'*Helix aspersa*.

3. Effets du Triclosan sur les bio-marqueurs du stress oxydant :

3.1.Évolution de l'activité Catalase (CAT) au niveau de l'hépatopancréas :

La figure (14) montre l'évolution de l'activité catalase au niveau de l'hépatopancréas des escargots traités par les concentrations croissantes de Triclosan.

Cette activité enzymatique révèle une légère augmentation qui semble équivalente entre les lots traités par les concentrations de 0,035 ; 0,04 et 0,05 g/g d'aliment sec qui est de l'ordre de 0,8 ; 0,7 ; 0,6 $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ prot par rapport aux témoins (0,5 $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ prot). Une importante augmentation du taux de la CAT chez les traités par la concentration 0,045 g/g d'aliment sec qui est de 1,80 $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ prot par rapport aux restes les lots.

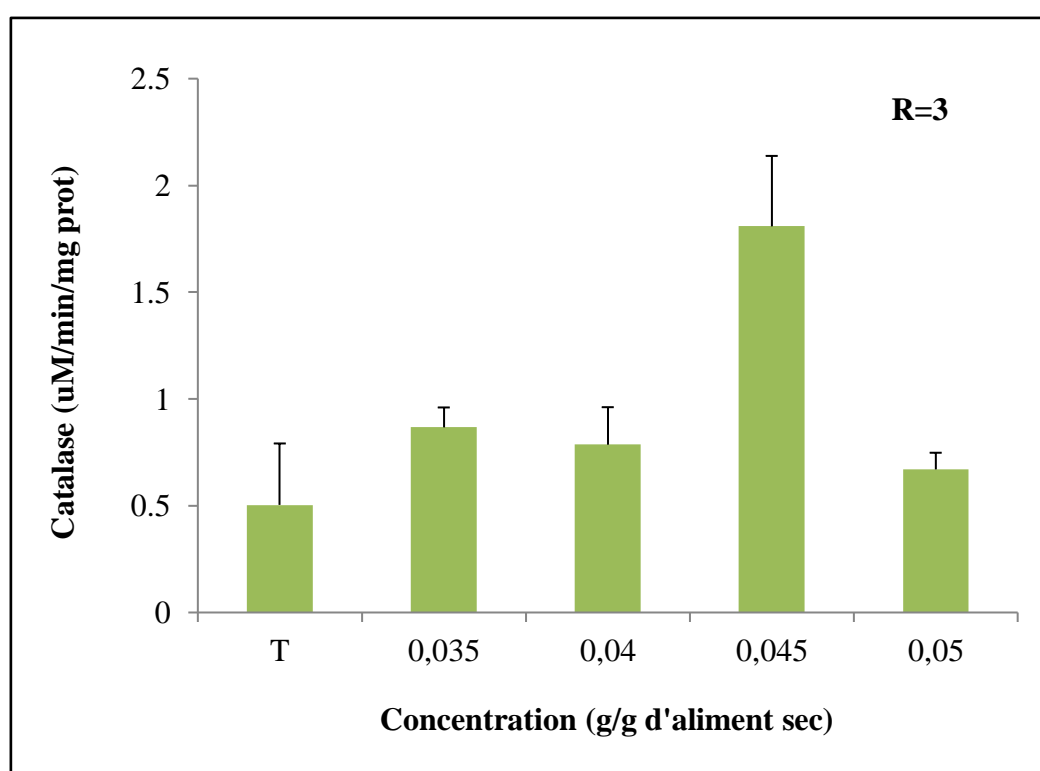


Figure 14 : Effet du traitement par des concentrations croissantes du Triclosan sur l'évolution de l'activité Catalase au niveau de l'hépatopancréas d'*Helix aspersa*.

3.2.Évolution de l'activité Catalase (CAT) au niveau du rein des escargots :

La figure (15) met en évidence les variations respectives des concentrations de l'activité Catalase potentiellement accumulées au niveau des reins d'*Helix aspersa*.

Nos résultats montrent que chez les escargots exposés aux concentrations croissantes du biocide "Triclosan" le taux de la Catalase accumulé au niveau des reins augmente de manière dose-dépendante jusqu'à la concentration de 0,045 g /g d'aliment sec qui arrive à un taux égale à 1,75 uM/min/mg prot par rapport aux témoin qui est de 0,64 uM/min/mg prot, tandis qu'au lot des traités par la plus forte concentration (0,050 g/g d'aliment sec) le taux de cette activité est inférieur (1,16 uM/min/mg prot) aux traités par la concentrations de 0,045 g/g d'aliment sec.

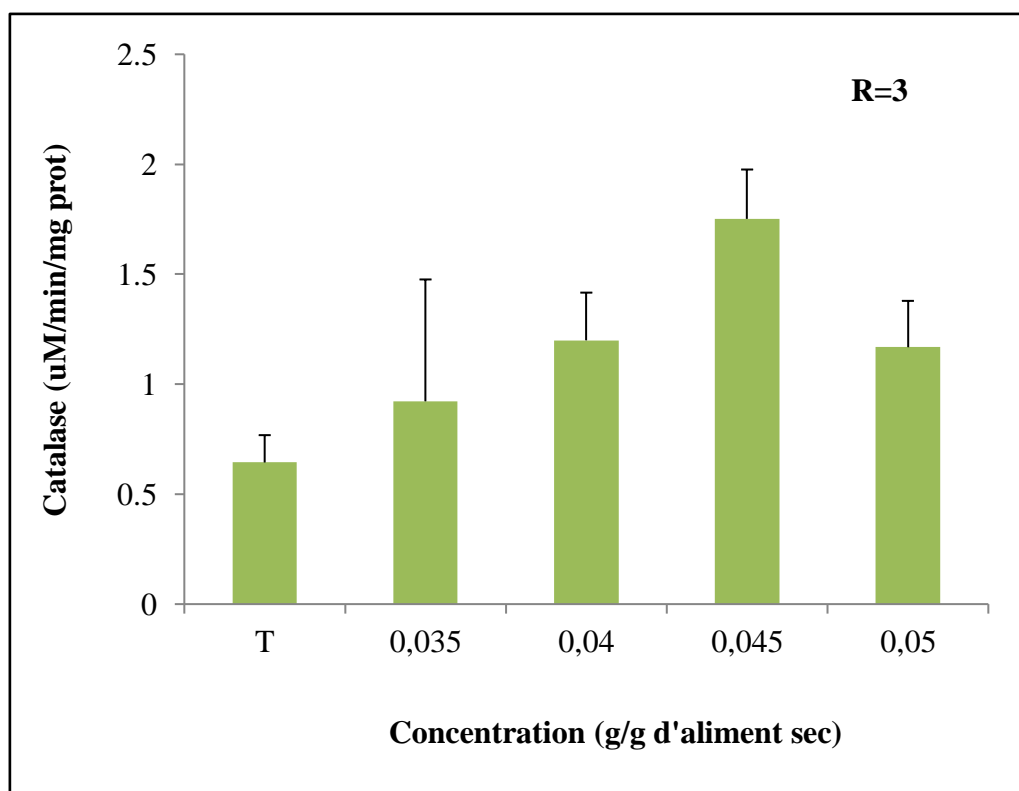


Figure 15 : Effet du traitement par des concentrations croissantes du Triclosan sur l'évolution de l'activité Catalase au niveau du rein d'*Helix aspersa*.

3.3.Évolution du taux du Glutathion (GSH) au niveau de l'hépatopancréas :

La figure (16) illustre l'évolution du taux de GSH au niveau de l'hépatopancréas chez *Helix aspersa* en réponse à un traitement avec des concentrations croissantes de Triclosan. Nous constatons une déplétion du taux de la GSH chez les traités d'une manière dose dépendante jusqu'à la concentration 0,045 g/g d'aliment sec par rapport aux témoins.

En effet le taux de GSH chez les témoins est de 0,159 μ M/mg de protéines tandis que chez les traités par les concentrations 0,035 ; 0,04 et 0,45 g/g d'aliment sec le taux de GSH est respectivement de l'ordre de 0,08 ; 0,065 ; 0,035 μ M/mg de protéines.

Chez les traités à la plus forte concentration le taux de GSH (0,059 μ M/mg de prot) est supérieur à celui du lot traité par la concentration de 0,045 g/ g d'aliment sec.

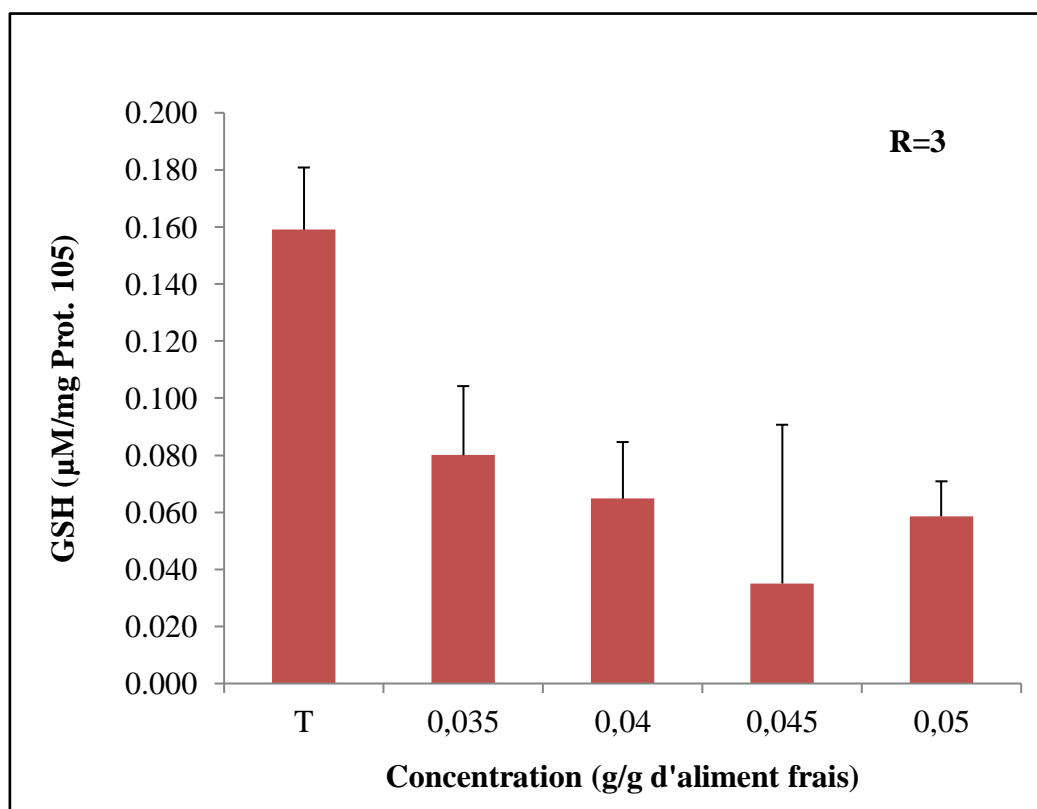


Figure 16 : Effet du traitement par des concentrations croissantes du Triclosan sur l'évolution du taux de GSH au niveau de l'hépatopancréas d'*Helix aspersa*.

3.4.Évolution du taux de glutathion (GSH) au niveau du rein :

La figure (17) indique l'évolution du taux de la GSH au niveau du rein chez *Helix aspersa* traités avec des concentrations croissantes de biocide « le Triclosan » par rapport aux témoins.

Nos résultats révèlent une augmentation du taux de GSH dans les reins des escargots traités avec les concentrations 0,035 ; 0,045 et 0,050 g /g d'aliment sec qui est de 0,075 ; 0,094 ; 0,107 $\mu\text{M}/\text{mg}$ de prot par rapport aux témoins.

Cette activité enzymatique semble équivalente dans les reins des lots témoins et des lots traités par la concentration de 0,04 g de Triclosan/g d'aliment sec qui est de 0,062 $\mu\text{M}/\text{mg}$ de prot.

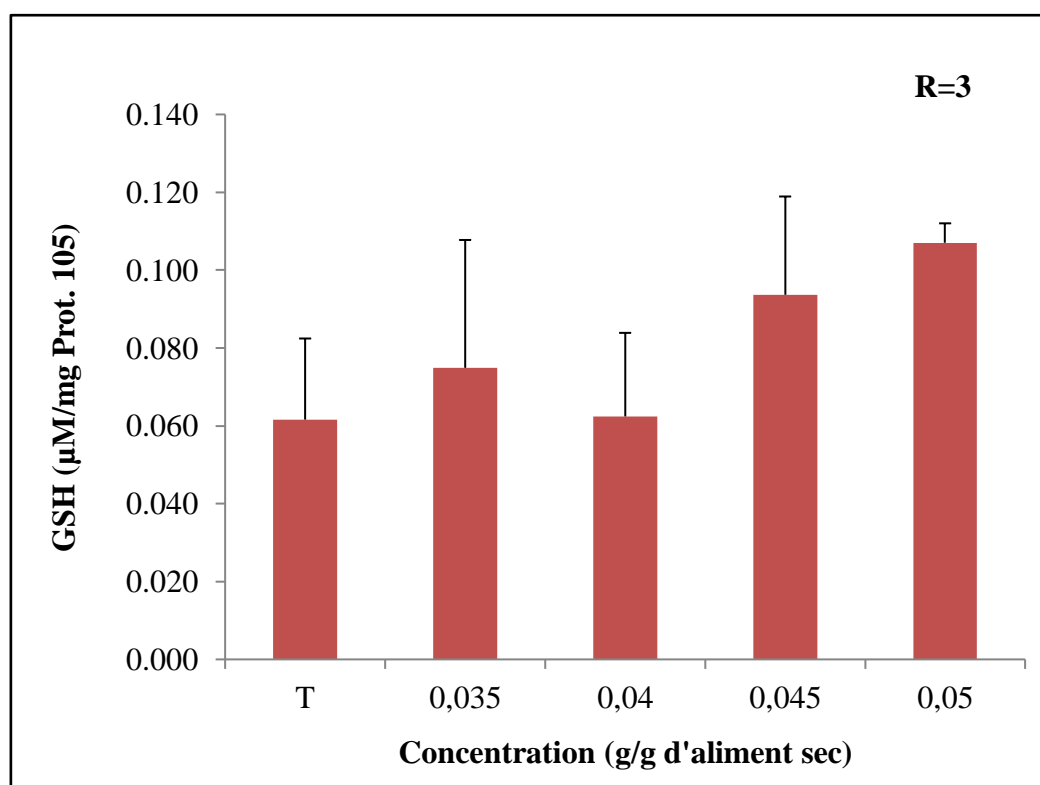


Figure 17 : Effet du traitement par des concentrations croissantes du Triclosan sur les variations du taux moyen de la GSH au niveau du rein d'*Helix aspersa*.

Discussion

Pour déterminer les effets des xénobiotiques sur un individu ou un compartiment d'individu, il est nécessaire de disposer de modèles biologiques représentatifs du milieu étudié (**Druart, 2011**), ces derniers ne sont d'autres que des espèces sensibles aux variations physicochimiques de leur milieu et surtout à toute forme de pollution (eau, sol, atmosphère) dont leur sensibilité vis-à-vis des xénobiotiques varient tels que les pesticides (**ABID, 2016**).

Plusieurs études sur les bioindicateurs convergent vers l'idée que les gastéropodes dont les escargots sont d'excellents modèles biologiques pour toutes les études écotoxicologiques. C'est pourquoi, ils sont de plus en plus utilisés pour évaluer l'impact de contamination sur leur croissance et leur physiologie (**Boucenna, 2010**).

Ainsi, l'objectif de notre étude est à évaluer la toxicité d'un biocide "le Triclosan" à l'égard d'une espèce de gastéropodes bio-indicatrice de pollution *Helix-aspersa* après exposition à quatre concentrations croissantes de ce pesticide pendant une période de 14 jours dans des conditions contrôlées.

Dans notre étude, en premier lieu dans l'évaluation de l'effet du Triclosan sur les paramètres biométriques des escargots, nous avons noté une réduction du poids des individus exposés au biocide particulièrement ceux exposés aux plus fortes concentrations en comparaison avec les témoins. Nos résultats sont en accord avec les travaux de (**Bourbia-ait, 2013**) qui a noté que l'exposition des escargots *Helix aspersa* par ingestion au Thiaméthoxame, à la Téfluthrine et leurs mixtures inhibent la prise de poids des escargots, sans pour autant limiter l'accumulation possible de ses molécules toxiques, ou de ses métabolites dans leurs organes.

De même que **Lambert et al. (2005)** ont observé que les organophosphorés induisaient un effet amplificateur (diminution de la recherche alimentaire et inappétence) et la baisse de la réactivité de l'animal, qui est due à une accumulation de la forme libre de l'acétylcholine au niveau des jonctions neuromusculaires et des plaques motrices, entraînant des crampes musculaires. **Laskowski et Hopki. (1995)** ont expliqué cette perte par la diminution de la consommation alimentaire chez les escargots nourris sur des régimes contaminés avec les métaux Zn, Cu, Pb et Cd.

D'autres études de **Coeurdassiez et al. (2001)** réalisées pour un autre pesticide sur le même modèle animale l'*Helix aspersa* ont observé une diminution dose-dépendante de la croissance des escargots induite par le Diméthoate.

Par ailleurs **Hopkin et al. (1995)** et **Bibic et al. (1997)** stipulent que dans un environnement pollué, l'animales met dans un état de jeun prolongé, ce qui concorde avec les résultats de **Gomot de Vaufleury, (2000)** et **Bispo (2000)** observés sur les effets du Pentachlorophénol, Dutri-chlorophénols et du Naphtalène sur la croissance de l'*Helix aspersa* et *Helix maxima* oùest montrée une inhibition de la croissance chez ces animaux, hypothèse confirmée par **Notten et al. (2006)** ou encore **Gimbert et al. (2008)** sur la croissance des juvéniles d'*Helix aspersa* ainsi que des travaux de **Hispard (2008)** et **Atailia (2009)** sur la même espèce.

Les protéines sont de grosses molécules complexes contenant du Carbone, de l'Hydrogène, de l'Oxygène, de l'Azote et parfois du Soufre et du Phosphore. Elles ont une importance vitale assurant dans l'organisme diverses fonctions, principalement le transport de l'oxygène dans tout l'organisme, la réparation des cellules et la production de l'énergie (**Brooker, 2000**).

De la seconde part, nous avons noté l'effet du Triclosan sur le taux de protéines totales des escargots placés dans des conditions contrôlées (laboratoire) par rapport à des témoins. Nos résultats montrent une augmentation dose -dépendante du taux des protéines totales au niveau des deux organes ciblés ; l'hépatopancréas et le rein.

Ces résultats vont dans le même sens que ceux de **Peccini et al. (1994)** ; **Masaya et al. (2002)** qui ont mis en évidence une augmentation significative du taux des protéines totales sous l'effet d'un stress chimique chez des modèles biologiques différentes (têtards, protistes ciliés et lapins).

D'autre part, **Köhler et al. (1994 ;1998)** suggèrent une induction de la synthèse des structures de stockage (MTs et granules) liée à la toxicocinétique c'est-à-dire que chez différentes espèces de gastéropodes, le Cd accumulé dans l'hépatopancréas est majoritairement fixé à des protéines cytosoliques qui montrent des propriétés proches des métallothionéines et dont la synthèse est induite par l'exposition des animaux au Cd, dans l'hépatopancréas, le Zn aussi est principalement associé à des granules de pyrophosphate dans

les cellules basophiles. La part restante est fixée à des MTs ou à d'autres protéines cytosoliques de faible poids moléculaire (Coeurdassier, 2001). De plus l'exposition de la limace *Derocerasreticulatum* à des concentrations élevées de Cd, Pb et Zn dans l'aliment a également induit une synthèse dose-dépendante des protéines de stress hsp70 (Coeurdassier, 2001).

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

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

Dans ce travail, l'activité de la catalase est mesurée au niveau de l'hépatopancréas et du rein ; le traitement aux trois premières concentrations croissantes de Triclosan (0,035g ; 0,04g ; 0,045g/ g d'aliment sec) a provoqué une augmentation de l'activité Catalase au niveau des deux organes de façon dose-réponse chez les lots traités par rapport aux témoins. Ces résultats sont en accord avec ceux d'Elwakil et Radwan (1991), qui ont montré une augmentation significative de l'activité Catalase après une exposition du gastéropode *Eubaniavermiculata* à des pesticides Methomyl, Thiodicarb, Metaldehyde.

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

La diminution de l'activité Catalase chez les individus traités par la plus forte concentration qui est de 0,05g/ g d'aliment sec au niveau des deux organes cibles peut être expliqué par l'adaptation des individus ou au pouvoir bio-accumulateur des gastéropodes face à un stress chimique.

Le Glutathion (GSH) est un composé tripeptidique produit par le foie qui est composé de trois acides aminés différents : la cystéine, l'acide glutamique et la glycine (γ -Glu-Cys-Gly) (Saydam et al., 1997). Le GSH agit comme un antioxydant et est impliqué dans de nombreux processus de l'organisme, notamment la construction et la réparation des tissus, le transport et le stockage de la cystéine, la modulation de la transduction du signal, le contrôle de la propagation cellulaire et la régulation de la réponse du système immunitaire (Tsiasioti et Tzanavaras, 2021 ; Sen et Nutr, 1997).

Le Glutathion protège les cellules contre le stress oxydatif de deux manières : Il capte les groupements chimiques oxydants et contribue ainsi à réduire les effets délétères oxydants provoqués par les radicaux libres, ces dérivés actifs de l'oxygène hautement réactifs et instables, et aussi Il inhibe l'oxydation (peroxydation) des lipides (Hong SY et al., 2005 ; Martin HL et Teismann P, 2009).

En se liant à différents composés toxiques, il joue un rôle majeur dans la défense de l'organisme contre les xénobiotiques (Kretschmar et Klinger, 1990) (Substances étrangères à l'organisme, carcinogènes, polluants, pesticides, métaux lourds, médicaments...) (Corcoran et Wong, 1986 ; Biaglow et al., 1989). Hautement concentré au niveau du foie, il exerce un rôle détoxifiant en limitant l'accumulation de toxines (Ketterer et al., 1983).

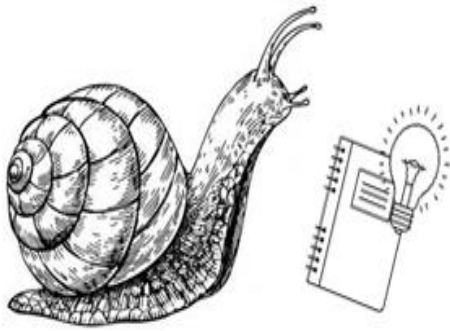
Certains des rôles importants du Glutathion sont la réduction ou l'inactivation des ERO par la formation de Glutathion disulfure (GSSG) et la conjugaison du Glutathion réduit (GSH) pour l'élimination des xénobiotiques) (DiMonte et Lavasani, 2002; Arora, 2016) ; (Rjeibi, 2016).

Nos résultats montrent une réduction des teneurs en GSH au niveau des hépatopancréas des espèces bio-indicatrices de pollution *Helix aspersa* après une exposition de concentrations croissantes de triclosan par rapport à ceux des témoins. La diminution peut refléter l'effet du stress oxydatif causés par le triclosan. En effet, le GSH est un antioxydant dont la diminution devrait contribuer à la protection de l'animal de l'effet du composé testé. En effet, la fixation possible de cet insecticide organochloré aux groupements thiols du GSH permettrait, éventuellement, de prévenir des dommages cellulaires. Ces résultats sont en accord avec ceux de Khen (2017) qui stipule que cette déplétion est due à sa liaison ou conjugaison aux radicaux libres produits par la nanoparticule et/ ou par la liaison du GSH au métal.

Résultats et discussions

Des résultats similaires ont été également rapportés dans différents organes et tissus suite à l'exposition des rats à d'autres insecticides carbamates, le Carbofuran (**Rai et al., 2009; Kamboj et al., 2006**), l'Aldicarbe et le Propoxur (**Matos et al., 2007; Maranet al., 2010**) et le Methiocarb (**Ozden et al., 2009**). Le Méthomyl provoque aussi une diminution du taux de GSH (**El-Khawaga, 2005; Salama et al., 2005; Garg et al., 2008; Garg et al., 2009a; El-Demerdash et al., 2013; Manawadi et al., 2010a**)

D'autre part, le taux de cette substance (la GSH) a augmenté d'une manière dose-dépendante au niveau des reins des organismes traités au Triclosan par rapport à ceux des témoins. Ceci confirme le rôle antioxydant de la GSH et son induction lors d'un stress oxydatif ainsi que son intervention pour la détoxification de l'organisme.



*Conclusion et
perspective*

Conclusion et perspective

Le Triclosan est une substance active, appartenant à la famille chimique des insecticides organochlorés. Un biocide, il « tue » la vie, généralement ce sont des produits chimiques toxiques et difficilement biodégradables. Le Triclosan est un conservateur à large spectre permettant de protéger nos produits de consommations. Cependant celui-ci est cible de nombreuse hypothèse quant à sa toxicité, il est soupçonné d'être un perturbateur endocrinien, cancérigène, écotoxique, neurotoxique et d'être toxique pour l'environnement.

D'une façon générale, ce travail montre l'évaluation de la toxicité du produit chimique le Triclosan à l'égard d'une espèce de gastéropodes bioindicatrices de pollution *Helix aspersa* et l'impact que peut provoquer sur les paramètres biométriques et biochimiques de différentes parties (l'hépatopancréas et le rein) d'escargots.

Au terme de ce travail, nous pouvons conclure que l'escargot est un excellent bioindicateurs de la dégradation du milieu qui peut répondre à la pollution d'une manière sensible et mesurable ainsi qu'à son pouvoir accumulateur, il est donc employé comme une sentinelle de la pollution environnementale dans les milieux contaminés, car il est particulièrement sensible par les pesticides organochlorés.

Le traitement aux différentes concentrations du Triclosan (0,035g ; 0,04g ; 0,045g et 0,05g/g d'aliment sec) pendant une période de 14 jours montre une réduction du poids d'une manière dose dépendante des escargots traités par rapport aux témoins, signifiant une perturbation dans le métabolisme globale particulièrement chez les traités aux fortes concentrations.

L'étude biochimique a permis d'évaluer le stress oxydatif du au Triclosan d'une part par le dosage des protéines totales au niveau de l'hépatopancréas et du rein d'*Helix aspersa*, qui a indiqué une augmentation de ces biomolécules en fonction des concentrations croissantes du xénobiotique. Ainsi que le statut antioxydant a été mis en évidence à cause de l'induction d'un stress oxydatif qui s'est traduit par l'augmentation de l'activité enzymatique Catalase dans les deux organes ciblés, d'autre part une déplétion d'une manière dose dépendante de glutathion au niveau de l'hépatopancréas et induction de cette substance au niveau des reins et ceux par rapport aux témoins.

La somme des résultats obtenus sur l'effet indésirable du Triclosan permet d'affirmer :

- Le pouvoir cytotoxique du pesticide testé.
- La sensibilité de l'espèce *Helix aspersa* à la présence des pesticides organochlorés ainsi que son le pouvoir accumulateur face à un stress chimique.

Nos résultats sont pour nous remarquables car ils ouvrent dans le futur des perspectives expérimentales qui devraient nous permettre de:

- Étudier l'effet néfaste du Triclosan sur d'autres systèmes physiologiques et biologiques des différents modèles.
- Développer les dosages d'autre biomarqueurs biochimiques (SOD, AChE, MDA, GSH, GST, Lipides, Glucides ...).
- Etude de la génotoxicité et la perturbation endocrinienne du Triclosan sur des organismes supérieurs.



Les références bibliographiques

Références Bibliographiques :

A

- ❖ ABID A., et al. (2016). Nantoxicité de Fe₃O₄ (NPs) sur les paramètres de stress oxydatif d'un modèle cellulaire biologique alternatif Paramécium sp. Mémoire de Master en Toxicologie : xénobiotiques et Risques Toxicologiques Université de Larbi Tébessi –Tébessa.
- ❖ Arora D. H. S., (2016). Evaluation and physiological correlation of plasma proteomic finger prints for Deltamethrin induced hepatotoxicity in Wistar rats. LFS 14866: 04-25.
- ❖ Atilia A., (2009). Effet des poussières métalliques d'origine industrielles sur un organisme animal bio-indicateur / bio-accumulateur de pollution : *Helix aspersa*. Mémoire de magister, Université Badji Mokhtar, Annaba. 45 pages.

B

- ❖ Baurand P. E., Capelli N., Scheifler R., et de Vaufleury A., (2014). An assessment of the embryotoxicity of cadmium in the terrestrial mollusk *Cantareus aspersus*: From bioaccumulation to impacts at different levels of biological organization. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 110, 89–94.
- ❖ Baurand P. E., de Vaufleury A., Scheifler R., et Capelli N., (2013). Coupling of random amplified polymorphic DNA profiles analysis and high resolution capillary electrophoresis system for the assessment of chemical genotoxicity. *Environ. Sci. Technol.* 47 : 9505–9513.
- ❖ Bas H., Kalender Y., (2011). Chlorpyrifos Induced Cardiotoxicity in Rats and the Protective Role of Quercetin and Catechin, *Gazi University Journal of Science*, Vol 24(3), pp: 387-395.
- ❖ Basopo N., (2015). Toxicological Effects of Chlorpyrifos and Lead on the Aquatic Snail *Helisoma duryi*, *Advances in Biological Chemistry*. Vol 5, pp: 225-233.
- ❖ Beaumont A., Cassier P., (1970). *Travaux pratiques de biologie animale: zoologie, embryologie, histologie*, Dunod, PARIS. pp : 472.
- ❖ Belli N., Lahouel M., Chebab S., Tekouk M et Leghouchi E., (2010). Stress oxydant induit par la coexposition au plomb et au cadmium : deux contaminants des eaux

Références Bibliographiques

- souterraines de Oued Nil (Jijel - Algérie), Journal of Water Science. Vol 23(3), pp : 289-301.
- ❖ Bedoux G., Roig B., Thomas O., Dupont V and Le Bot B. (2011). Occurrence and toxicity of antimicrobial triclosan and by-products in the environment. Environ Sci-Pollut Res. 19(4): 1044-1065.
 - ❖ Beeby A., (1985). The role of *Helix aspersa* as a major herbivore in the transfer of lead through a polluted ecosystem. Journal of Applied Ecology. 22, 267-275.
 - ❖ Benguedouar H., (2016). Utilisation des escargots comme indicateur de la contamination métallique des sols : cas de *l'Helix aspersa*. Diplôme de Master en Gestion Durable des Ecosystèmes et Protection de l'Environnement, Université des Frères Mentouri-Constantine. 52p.
 - ❖ Benosmane S., (2015). Impact d'un mimétique œstrogène (MOS) sur un organisme bio indicateur de pollution : *R. saharica*. Ph.D. thèses, Badji Mokhtar University of Annaba, Algeria.
 - ❖ Berger M., (2006). Manipulations nutritionnelles du stress oxydant : état des connaissances. Nutrition clinique et métabolisme. 20: 48-53.
 - ❖ Bhargava HN., Leonard PA (1996). Triclosan: applications and safety. Am J Infect Control. 24:209–218.
 - ❖ Biaglow JE., Varnes ME., Epp ER., et al (1989). Role of glutathione and other thiols in cellular response to radiation and drugs. Drug Metab Rev. 20:1-12.
 - ❖ Bibic A., Drobne D., Strus J., and Byrne A.R., (1997). 'Assimilation of zinc by *Porcellio scaber* (Isopoda, Crustacea) exposed to Zinc', Bull. Environ. Contam. Toxicol. 58, 814–821.
 - ❖ Bonnet J.C., Aupinel P., et Vrillon J.L., (1990). L'escargot *Helix aspersa*, biologie, élevage. Collection du Labo au terrain, Ed INRA. p : 124.
 - ❖ Boucenna M., (2015). Etude de la toxicité des particules métalliques d'origine industrielle chez *Helix aspersa*. Evaluation nano toxicologique du Fe₂O₃ et Al₂O₃. Thèse de doctorat université d'Annaba. 165p.
 - ❖ Boucenna M., Berrebbah H., Atailia A., Grara N., Djebbar M.R., (2015). Effects of MetalDust on Functional Markers and Histology of Gland Digestive and Kidney of the Land Snails (*Helix aspersa*) in the North East of Algeria. Global Veterinaria. 14 (2): 189-198.
 - ❖ Boucenna M., (2010). Evaluation de la toxicité des poussières métalliques rejetées par les aciéries 1 et 2 du complexe sidérurgique d'El-Hadjar sur un modèle bio-

Références Bibliographiques

- accumulateur *Helix Aspersa*. Diplôme de Magister en Biologie. 85p. Université Badji Mokhtar-Annaba.
- ❖ Bourbia S., (2013). Évaluation de la toxicité de mixtures de pesticides sur un bio-indicateur de la pollution des sols *Helix aspersa*, These Doctorat. 177pp. Univ Annaba.
 - ❖ Butler E., Whelan MJ., Sakrabani R., van Egmond R., (1987). Fate of triclosan in field soils receiving sewage sludge. *Environ Pollut Barking Essex*. 2012; 167:101–109.
 - ❖ Bradford M. M., (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dyebinding, *analytical biochemistry*. 72(1-2) : 248-254.
 - ❖ Brooker C., (2000). Le corps humain: Étude, structure et fonction. De Boeck Supérieur. Bruxelles. p 562.

C

- ❖ Cadart J., (1975). Les Escargots. Biologie-Elevage-Parcage-Histoire Gastronomie Commerce. p : 38.
- ❖ Catherine M., Cooney., (2010), [Personal care products : Triclosan ComesunderScrutiny \[archive\]](#), *Environ Health Perspect*, juin 2010 ; 118 (6) : A 242.
- ❖ Chabicosky M., Klepal W., Dallinger R., (2004). Mechanisms of cadmium toxicity in terrestrial pulmonates : programmed cell death and metallothionein over load. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 23, 648-655.
- ❖ Coeurdassier M., Gomot de Vaufleury A., Saint-Denis M., Ribera D., Narbonne J.F., et Badot P.M., (2002). Effects of dimethoate on snail B-esterase and growth as a function of dose, time and exposure route in a laboratory bioassay. *Biomarkers*. 7(2) : 138-150.
- ❖ Coeurdassier M., Saint-Denis M., Gomot-de Vaufleury A., Ribera D., Badot P.M. (2001). The garden snail (*Helix aspersa*) as a bioindicator of organophosphorus exposure: effects of dimethoate on survival, growth and acetylcholinesterases activity. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 20: 1951-1957.
- ❖ Coeurdassier M., (2001) Thèse de doctorat, université de franche comté, France 281.
- ❖ Coogan A., Melinda E. R., La Point W. T., Venables J. B., (2007). "Algal bioaccumulation of triclocarban, triclosan, and methyl-triclosan in a North Texas wastewater treatment plant receiving stream." *Chemosphere* 67: 1911-1918.

Références Bibliographiques

- ❖ Corcoran GB., Wong BK., (1986). Role of glutathione in prevention of acetaminophen-induced hepatotoxicity by N-acetyl-L-cysteine in vivo. *J Pharmacol Exp Ther* 238:54-61.

D

- ❖ Dann AB., Hontela A., (2011) Triclosan : environmental exposure, toxicity and mechanisms of action : Triclosan exposure, toxicity and mechanisms of action. *J Appl Toxicol.* 31:285–311.
- ❖ Dallinger R., Berger B., Triebkorn-Köhler R., et Köhler H., (2001). Soilbiology and ecotoxicology, in Barker, G.M. (Ed.), and the biology of terrestrial molluscs. CABI, Wallingford. 489–525.
- ❖ Demerdash F.M., Dewar Y., Elmazoudy R.H. and Attia A.A., (2013). Kidney antioxidant status, biochemical parameters and histopathological changes induced by methomyl in CD-1 mice. *Experimental and Toxicologic Pathology.* 65: 897-901.
- ❖ DeSalva SJ., Kong BM., Lin YJ., (1989) Triclosan : a safety profile. *Am J Dent.* 2:185–196.
- ❖ Dekle G. W., et Fasulo T.R., (2008). Brown Garden Snail, *Cornu aspersum* (Müller, 1774) (Gastropoda : Helicidae). EENY 240, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences. Institute of Entomology and Nematology Department, University of Florida. P: 4.
- ❖ Dhillon GS., Kaur S., Pulicharla R., Brar SK., Cledón M., Verma M., et al. Triclosan : current status, occurrence, environmental risks and bioaccumulation potential. *Int J Environ Res Public Health.* 22 mai 2015;12(5):5657-84.
- ❖ Didier P., (2006). Elevage de l'escargot. Consultable sur internet : <http://www.fondationlamap.org/fr/page/11571/elevage-de-lescargot>.
- ❖ Di Monte D., Lavasani M., (2002). Manning-Bog Ab. Environmental factors in Parkinson's disease. *Neurotoxicology.* 23: 487-502.
- ❖ Druart C., Scheifler R., Millet M., et De Vaufleury A., (2012). Land snail eggs bioassays : A new tool to assess embryotoxicity of contaminants in the solid, liquid or gaseous phase of soil. *Applied Soil Ecology.* 53(1) : 56–64.

E

- ❖ El-Khawaga O.Y., (2005). Role of selenium on antioxidant capacity in methomyl treated mice. *J. Physiol. Biochem.* 61(4): 501-506.
- ❖ EL –wakil H.B., Radwan M.A., (1991). Biochemical studies on the terrestrial snail, *Eobania vermicula* (Muller) treated with some pesticides, *J. Environ. Sci. Health. B* 26, 479-489.
- ❖ Escalada M.G., Russell A.D., Maillard J.Y., Ochs D., (2005). Triclosan-bacteria interactions: single or multiple target sites? *Lett. Appl. Microbiol.* 2005; 41, 476–481.

F

- ❖ Favier A., (2003). Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité chimique.* 108-115.
- ❖ Flora S.J., M. M. (2008). Heavy metal induced oxidative stress and its possible reversal by chelation therapy. *Indian Journal Med Res.* 128(4): 501-52.
- ❖ Fontaine E., (2007). Radicaux libres et vieillissement. *CahNutrDiét.* 42(2): 110-115.
- ❖ Fritsch C., Cœurduassier M., Giraudoux P., Raoul F., Douay F., Rieffel D., de Vaufleury A., et Scheifler R., (2011). Spatially explicit analysis of metal transfer to biota : Influence of soil contamination and landscape. *PLOS ONE* 6, e20682.

G

- ❖ Garar B., (2015). Caractérisation Morpho-physiologique de la Toxicité du ZnO (Nano particule manufacturée) sur l'escargot l' *Helix aspersa* bio indicateur de pollution de l'environnement.
- ❖ Gardès-Albert M, B-R. D., (2003). Espèces réactives de l'oxygène: Comment l'oxygène peut-il devenir toxique? *L'actualité chimique.* 91-95.
- ❖ Garg D.P., Bhalla P., Kiran R., Bansal A.K., and Dhawan D.K., (2009a). Vitamin E mediated protection in methomyl induced alterations in rat liver. *Toxicological and Environmental Chemistry.* 91(4): 685-698.
- ❖ Garg D.P., Kiran R., Bansal A.N., Malhotra A., and Dhawan D.K., (2008). Role of vitamin E in mitigating methomyl acute toxicity in blood of male Wistar rats. *Drugand Chemical Toxicology.* 31: 487-499.

Références Bibliographiques

- ❖ Goldsworthy G.J., M. W., (1972). Studies on insectadipokinetic hormones. *General and Comparative Endocrinology*. 18: 545-551.
- ❖ Gomot-de Vaufleury A., et Kerhoas I., (2000). Effects of cadmium on the reproductive system of the land snail *Helix aspersa*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 64, 434-44.
- ❖ Gomot L., et Enée J., (1980). Biologie de la reproduction de l'escargot *Helix aspersa* Müller : les phases de la croissance et de la différenciation sexuelle. *Atti. Accad. Fisiocrit. Siena*, 37, 73-85.
- ❖ Gomot-de Vaufleury A., et Bispo A., (2000). Method for toxicity assessment of contaminated soil by oral or dermal up take in land snails. Sublethal effects on growth. *Environmental Sciences and Technology*. 34, 1865-1870.
- ❖ Goth L., (1991a). Serum catalase : Reversibly formed charge isoform of erythrocyte catalase. *Clin Chem*, 37(12): 2043-2047.
- ❖ Goth L., (1991b). A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. *Clin Chim Acta*, 196: 143–152.
- ❖ Gimbert F., (2006). Cinétiques de transfert de polluants métalliques du sol à l'escargot. University of Franche-Comté, Besançon, France, p. 192.
- ❖ Gimbert F., de Vaufleury A., Douay F., Coeurdassier M., Scheifler R., et Badot P.M., (2008). Long-term responses of snails exposed to cadmium-contaminated soils in a partial life-cycle experiment. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 70, 138–146.
- ❖ Gimbert F., De Vaufleury A., Douay F., Scheifler R., Coeurdassier M., et Badot P.M., (2006). Model lung chronic exposure to contaminated soil: A toxicokinetic approach with the terrestrial snail *Helix aspersa*. *Environ. Int.* 32, 866–875.
- ❖ Gimbert F., Vijver M.G., Coeurdassier M., Scheifler R., Peijnenburg W.J.G.M., Badot P.M., de Vaufleury A., (2008). How sub cellular partitioning can help to understand heavy metal accumulation and elimination kinetics in snails. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 27, 1284-1292.
- ❖ Gimbert F., Annette de Vaufleury., Douay F., Coeurdassier M., Scheifler R., Badot P.M., (2008). Long-term responses of snails exposed to cadmium-contaminated soils in a partial life-cycle experiment. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 70, 138–146.
- ❖ Gireaud O., (2008). Helici culture. Consultable sur internet : [http://www.gireaud.net/helici culture. htm](http://www.gireaud.net/helici%20culture.htm).

Références Bibliographiques

- ❖ Grara N., Atailia A., Boucenna M., Khaldi F., Berrebbah H., et Djebbar M.R., (2012). Effects of heavymetals on the snail *Helix aspersa* bioindicators of the environment pollution for humanhealth. Int. Conf. Appl. Life Sci, 241–246.
- ❖ Grara N., Berrebbah H., Rouabhi R., Atailia A., et Djebbar M.R., (2009). Impact of Pollution by Industrial MetallicDust on Bio-Accumulator Organism *Helix aspersa*. Global Veterinaria, 3(4): 276-280.
- ❖ Grara N. B., (2012). Stress oxydatif des poussières métalliques du Complexe Sidérurgique d'Annaba (NordEst algérien) chez l'escargot *Helix aspersa*. Environnement, Risques & Santé, 11(3) : 221-229.
- ❖ Guillen J., Bernabeu A., Shapiro S., Villalain, J., (2004). Location and orientation of Triclosan in phospholipide model membranes. Eur. Biophys. J. Biophys. Lett. 33, 448–453.

H

- ❖ Halden RU., Paull DH., (2005) Co-occurrence of triclocarban and triclosan in U.S. water resources. Environ SciTechnol 2005; 39:1420–1426.
- ❖ Halden RU., Lindeman AE., Aiello AE., Andrews D., Arnold WA., Fair P., et al. (2017) The Florence Statement on Triclosan and Triclocarban. Environ Health Perspect. 20 juin 2017;125(6):064501.
- ❖ Halden RU., Paull DH., Co-Occurrence of Triclocarban and Triclosan in U.S. Water Resources. Environ Sci Technol. 1 mars 2005; 39(6):1420-6.
- ❖ Haixia Yang *et al.*, (2018), [A common antimicrobial additive increases colonic inflammation and colitis-associated colon tumorigenesis in mice \[archive\]](#), *Science TranslationalMedicine*, 30 mai 2018; vol. 10, n° 443-4116.
- ❖ Hanna P.M., Mason R.P., (1992). Direct evidence for inhibition of free radical formation from Cu (I) and hydrogen peroxide by glutathione and other potential ligands using the EPR spintrapping technique. Archives of Biochemistry and Biophysics. 295, 205-13.
- ❖ Heidler J., and Halden R. U., (2007). "Mass balance assessment of triclosan removal during conventional sewage treatment." Chemosphere. 66(2): 362-369.
- ❖ Hispard F., Schuler D., de Vaufleury A., Scheifler R., Badot P.M., et Dallinger R., (2008). Metal distribution and metallothionein induction after cadmium exposure in the terrestrial snail *Helix aspersa* .Environmental Toxicology and Chemistry. 27, 1533-1542.

Références Bibliographiques

- ❖ Hispard F., de Vaufleury A., Cosson R.P., Devaux S., Scheifler R., Cœurassier M., Gimbert F., Martin H., Richert L., Berthelot A., Badot P.M., (2008). Comparison of transfer and effects of Cd on rats exposed in a short experimental snail–rat food chain or to CdCl₂ dosed food. *Environment International*. 34, 381–389.
- ❖ Hong SY., Gil HW., Yang JO., Lee EY., Kim HK., Kim SH., Chung YH., Hwang SK., Lee ZW., (2005). Pharmacokinetics of glutathione and its metabolites in normal subjects. *J Korean Med Sci*. 20(5):721-6.
- ❖ Hopkin S.P., (1995). Deficiency and excess of essential and non-essential metals in terrestrial insects, In: Harrington R., Stork N.E., (Eds.), *Insects in a Changing Environment*, Academic Press, London, 251-270.
- ❖ Hwang J., Suh S-S., Chang M., Yun Park S., Ryu TK., Lee S., et al. Effects of triclosan on reproductive parameters and embryonic development of seaurchin, *Strongylocentrotus nudus*. *Ecotoxicol Environ Saf*. Févr 2014;100:148-52.

I

- ❖ Ismert M., Oster T., Bagrel D., (2002). Effects of atmospheric exposure to naphthalene on xenobiotic-metabolising enzymes in the snail *Helix aspersa*. *Chemosphere*. 46 : 273-280.
- ❖ ISO., (2006). Qualité du sol - Effets des polluants vis-à-vis des escargots juvéniles (Helicidae) -Détermination des effets sur la croissance par contamination du sol, Genève, pp : 31.

K

- ❖ Kamboj A., Kiran R., et Sandhir R., (2006). Carbofuran-induced neurochemical and neurobehavioral alterations in rats: attenuation by N-acetylcysteine. *Experimental Brain Research*. 170: 367-575.
- ❖ Kanetoshi A., Katsura E., Ogawa H., Ohyama T., Kaneshima H., Miura T., (1992) Acute toxicity, percutaneous absorption and effects on hepatic mixed function oxidase activities of 2,4,4-trichloro-2-hydroxydiphenyl ether (Irgasan DP300) and its chlorinated derivatives. *Arch Environ Contam Toxicol*. 23:91–9.
- ❖ Ketterer B., Coles B., Meyer DJ., (1983). The role of glutathione in detoxication. *Environ Health Perspect*. 49:59-60.

Références Bibliographiques

- ❖ Kerney M., Cameron R., et Bertrand A., (2006). A Field Guide to the Land Snails of Britain and Northwest Europe, Frenched. Paris, Delachaux ET Niestlé SA. 97 p.
- ❖ Khalil AM., (2015). Toxicological effects and oxidative stress responses in fresh water snail, *Lanistes carinatus*, following exposure to chlorpyrifos, *Ecotoxicology and Environmental Safety*. Vol 11, pp: 137–142.
- ❖ Khene et al., (2017). Biomarkers of oxidative stress, lipid peroxidation and ROS production induced by TiO₂ micro particles on snails *Helix aspersa*. Vol. 27 issue 2, 2017 ; pp. (127-133).
- ❖ Köhler H-R., Belitz B., Eckwert H., Adam R., Rahman B., Trontelj P., (1998) *Environ. Toxicol. Chem.* 17 : 2246-2253.
- ❖ Köhler H.R., Rahman B., Rahmann H., (1994). *Verh. Dtsch. Zool. Ges.* 87 : 328-329.
- ❖ Kretschmar M., Klinger W., (1990). The hepatic glutathione system-influences of xenobiotics. *ExpPathol.* 38:145-164.

L

- ❖ Lambert O., Pouliquen H., Clergeau P., (2005). Impact des insecticides inhibiteurs des cholinestérasés sur la faune sauvage non cible : essai de synthèse des travaux relatifs aux vertébrés terrestres. *Rev. Écol. (Terre Vie)*, Vol 60, pp: 3-20.
- ❖ Larba R., (2014). Bio-surveillance de l'environnement dans la région Est : mesure de bio-marqueurs chez *Helix aspersa* et corrélation avec les caractéristiques physicochimiques des sols. Thèse de Doctorat en Physio-Toxicologie, Université Badji Mokhtar d'Annaba, 105p.
- ❖ Laskowski R., Hopkin P., (1995). Accumulation of Zn, Cu, Pb, and Cd in the garden snail (*Helix aspersa*): Implication for Predators. *Environmental Pollution*, Vol 91(3), pp: 289-297.
- ❖ Levy C. W., Roujeinikova A., Sedelnikova S., Baker P. J., Stuitje A. R., Slabas A. R., Rice D. W., and Rafferty J. B., (1999). "Molecular basis of triclosan activity." *Nature*, 398(6726): 383-384.
- ❖ Lindström A., Buerge I., Poiger T., Bergqvist P-A., D Müller M., Buser H-R., Occurrence and Environmental Behavior of the Bactericide Triclosan and Its Methyl Derivative in Surface Waters and in Wastewater. *Environ Sci Technol.* 1 juill 2002;36:2322-9.
- ❖ Lyman FL., Furia T., (1969). Toxicology of 2, 4, 4-trichloro-2-hydroxy-diphenyl ether. *IMS Ind Med Surg.* 38:64–71.

M

- ❖ Ma L., Xie Y., Han Z., Giesy J.P., Zhang X., (2017). Responses of earth worms and microbial communities in their guts to Triclosan. *Chemosphere*. 168:1194-202.
- ❖ Madec, L., (1983). Importance des conditions climatiques et de l'origine des individus pour la reproduction de l'escargot petit-gris en élevage sous bâtiment contrôlé. Session ITAVI, Rennes, France.
- ❖ Maillard J-Y., (2005). Antimicrobial biocides in the health care environment : efficacy, usage, policies, and perceived problems. *Ther. Clin. RiskManag.* 1 : 307–20.
- ❖ Manawadi S.I., and Kaliwal B.B., (2010a). Methomyl-induced gonadaldys function, biochemical contents and enzyme activities in male albinomice. *International Journal of Biotechnology Applications*. 2(2): 20-32.
- ❖ Martin H.L., Teismann P., (2009). Glutathione--a review on its role and significance in Parkinson's disease. *FASEB J.* 23(10):3263-72.
- ❖ Martins D., Monteiro M.S., Soares AMVM., Quintaneiro C., (2017). Effects of 4-MBC and triclosan in embryos of the frog *Pelophylax perezi*. *Chemosphere*. 178:325-32.
- ❖ Masaya M., Yoshinobu H., Ai Y., Maki K., Yasuo O., (2002). *Journal of Phycology*. 38(5) : 983.
- ❖ Matos P., Fontáinhas-Fernandes A., Peixoto F., Carrola J., and Rocha E., (2007). Biochemical and histological hepatic changes of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* exposed to carbaryl. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. p89: 73-80.
- ❖ Maran E., Fernandez-Franzon M., Font G., and Ruiz M.J., (2010). Effects of aldicarb and propoxur on cytotoxicity and lipid peroxidation in CHO-K1 cells. *Food Chem. Toxicol.* 48: 1592-1596.
- ❖ McAvoy D., Schatowitz B., Jacob M., Hauk A., and Eckhoff W., (2002). "Measurement of triclosan in wastewater treatment systems." *Environmental Chemistry*. 21(7): 1323-1329.
- ❖ McDonnell G., Russell A.D., (1999). Antiseptics and disinfectants: Activity, action, and resistance. *Clin. Microbiol. Rev.* 12, 147.
- ❖ McMurry L.M., Oethinger M., Levy S.B., (1998). Triclosan targets lipid synthesis. *Nature*, 394, 531–532.

Références Bibliographiques

- ❖ McAvoy D., Schatowitz B., Jacob M., Hauk A., Eckhoff W., (2002). Measurement of triclosan in wastewater treatment systems. *Environ. Toxicol. Chem.* 21 : 1323–1329.
- ❖ Miller TL., Lorusso DJ., Deinzer ML., (1982). The acute toxicity of nonachloropredioxin and 3- and 4-hydroxy-nonachlorodiphenyl ether in mice. *J Toxicol Environ Health.*10:699–707.
- ❖ Montville R., and Schaffner D.W., (2011). “A meta-analysis of the published literature on the effectiveness of antimicrobial soaps,” *Journal of food protection*, vol. 74, no. 11, pp. 1875-1882.

N

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

O

- ❖ O'Neil M.J., (2013). *The Merck Index - An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals.* Cambridge, UK: Royal Society of Chemistry. p. 1789.
- ❖ Ozden S., Catalgol B., Gezginici-Oktayoglu S., Arda-Pirincci P., Bolkent S., and Alpertunga B., (2009). Methiocarb-induced oxidative damage following subacute exposure and the protective effects of vitamin E and taurine in rats. *Food and Chemical Toxicology.* 47: 1676- 1684.

P

- ❖ Peccini E., Staudenmann W., Albergoni V., Gabriel R.D., James P., (1994). *European journal of Biochemistry.*226 : 853-859.
- ❖ Peng Y., Luo Y., Nie X-P., Liao W., Yang Y-F., Ying G-G., (2013). Toxic effects of triclosan on the detoxification system and breeding of *Daphnia magna*. *Ecotoxicol Lond Engl.* 22(9):1384-94.
- ❖ Petrovic M., Gonzalez S., and Barceló D., (2003). "Analysis and removal of emerging contaminants in wastewater and drinking water." *TrAC Trends in Analytical Chemistry.* 22(10): 685-696.
- ❖ Philippat C., et al., (2014). Prenatal exposure to phenols and growth in boys. *Epidemiology.* 25(5): p. 625-35.

Références Bibliographiques

- ❖ Pihan F., de Vaufleury A., (2000). The snail as a target organism for the evaluation of industrial waste dump contamination and the efficiency of its remediation. *Ecotoxicology and Environmental Safety* .46 : 137-147.
- ❖ Pol D., (2006). Elevage de l'escargot. La Main À La Pâte. Fondation pour l'éducation à la science, Académie des sciences, France.

R

- ❖ Rai D.K., Rai P.K., Rizvi S.I., Watal G., and Sharma B., (2009). Carbofuran-induced toxicity in rats: Protective role of vitamin C. *Experimental and Toxicologic Pathology*. 61(6): 531-535.
- ❖ Regoli F., Gorbi S., Fattorini D., Tedesco S., Notti A., Machella N., Bocchetti R., Benedetti M., Piva F., (2006). Use of the land snail *Helix aspersa* as sentinel organism for monitoring ecotoxicologic effects of urban pollution: an integrated approach. *Environmental Health Perspectives* .114 : 63-69.
- ❖ Regoli F., and Pricipato G., (1995). Glutathione, glutathione-dependant and antioxidant enzymes in mussel *Mytilus galloprovincialis* exposed to metal under field and laboratory conditions: implication for the biomarkers. *Aquatic Toxicology*. 31: 143-164.
- ❖ Ribbenstedt A., Mustajärvi L., Breitholtz M., Gorokhova E., Mayer P., et Sobek A., (2017). Passive dosing of triclosan in multi generation tests with copepods - stable exposure concentrations and effects at the low µg/L range. *Environ Toxicol Chem*. 36(5):1254-60.
- ❖ Rjeibi I., (2016). Oxidative damage and hepatotoxicity associated with deltamethrin in rats : The protective effects of *Amaranthus spinosus* seed extract. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 84(8): 853-860.
- ❖ Rodricks JV., Swenberg JA., Borzelleca JF., Maronpot RR., Shipp AM., (2010). Triclosan : a critical review of the experimental data and development of margins of safety for consumer products. *Crit Rev Toxicol*. 40:422–484.
- ❖ Rüdell H., Böhmer W., Müller M., Fließner A., Ricking M., Teubner D., et al., (2013) Retrospective study of triclosan and methyl-triclosan residues in fish and suspended particulate matter : Results from the German Environmental Specimen Bank. *Chemosphere*. 91(11):1517-24.
- ❖ Russell L. K., DeHaven J.I., and Botts R.P., (1981). Toxic Effects of Cadmium on the Garden Snail (*Helix aspersa*). *Bull. Environm. Contam. Toxicol*. 26 : 634-640.

S

- ❖ Sabaliunas D., Webb S. F., Hauk A., Jacob M., and Eckhoff W. S., (2003). "Environmental fate of Triclosan in the River Aire Basin, UK." *Water Research* 37(13): 3145-3154.
- ❖ Salama A.K., Osman K.A., Saber N.A., and Sliman S.A., (2005). Oxidative stress induced by different pesticides in the land snail, *Helix aspersa*. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 8(1) : 92-96.
- ❖ Saydam N., Kirb A., Demir O., Hazan E., Oto O., Saydam O., Guner G., (1997). Détermination des taux de glutathion, de glutathion réductase, de glutathion peroxydase et de glutathion S-transférase dans les tissus cancéreux du poumon humain. *Cancer Lett.* 119 : 13–19. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)].
- ❖ Scheifler R., Gomot-de Vaufleury A., Toussaint M., Badot P-M., (2002). Transfer and effects of cadmium in an experimental food chain involving the snail *Helix aspersa* and the predatory carabid beetle *Chryso carabus splendens*. *Chemosphere*. 48 : 571-579.
- ❖ Sen CK., (1997). Biochimie nutritionnelle du glutathion cellulaire. *J. Nutr. Biochimie*. 8 : 660–672. [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)].
- ❖ Shibko S., Koivistoinen P., Tratyneck C., Newhall A., and Freidman L., (1966). A method for the sequential quantitative separation and glycogen from a single rat liver homogenate or from a sub cellular fraction. *Analyt. Biochem*, 19 : 415-428.
- ❖ Singer H., Müller S., Tixier C., Pillonel L., (2002). Triclosan: Occurrence and Fate of a Widely Used Biocide in the Aquatic Environment: Field Measurements in Wastewater Treatment Plants, Surface Waters, and Lake Sediments. *Environ Sci Technol*. 36(23):4998-5004.
- ❖ Smida R., et Toualbia K., (2016). L'étude de l'hépatotoxicité de deux molécules nanométriques chez un bioindicateur de pollution *Helix Aspersa*. Mémoire de master en toxicologie : xénobiotiques et risque toxicologique, Université de Larbi Tébessi – Tébessa, 100 p.
- ❖ Swaileh K.M., Ezzughayyar A., (2001). Dose-dependent effects of dietary Pb and Zn on feeding and growth rates of the land snail *Helix engaddensis*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 50: 9-14.

T

- ❖ Tabari S. A., Esfahani M. L., Hosseini S. M., Rahimi A., (2019). Neuro behavior al toxicity of triclosan in mice. *Food Chem Toxicol*, vol. 130, P. 154-160.
- ❖ Tamura I., Kagota K., Yasuda Y., Yoneda S., Morita J., Nakada N., et al., (2013). Ecotoxicity and screening level ecotoxicological risk assessment of five antimicrobial agents: triclosan, triclocarban, resorcinol, phenoxyethanol and p-thymol. *J ApplToxicol*.33(11):1222-9.
- ❖ Tsiasioti A., Tzanavaras PD., (2021). Détermination du glutathion et du disulfure de glutathion à l'aide de la fluidique de zone et de la détection fluorimétrique. *Talante*. 222 :121559. [[PubMed](#)] [[CrossRef](#)] [[Google Scholar](#)].

U

- ❖ United States Environmental Protection Agency (U.S. EPA). (2014). About EPA. EPA History. <http://www2.epa.gov/aboutepa/epa-history> Consulté le 2 mars 2015.

V

- ❖ Venelin T., et Stoyanka P-G., (2019). The health and safety problems according to the pesticides usage in the ecosystem. Article in SSRN Electronic Journal. 658p.
- ❖ Vergely C., Rochette L., (2005). Le stress oxydatif : Les radicaux libres, des composés à fonction biologique méconnue : à côté de leur action physiopathologique, ce sont des régulateurs avant d'être des destructeurs. *Affections Métaboliques AMC pratique*. 114: 28-30.
- ❖ Villalain J., Mateo C.R., Aranda F.J., Shapiro S., Micol V., (2001). Membrano tropic effects of the antibacterial agent triclosan. *Arch. Biochem. Biophys*. 390 : 128–136.

W

- ❖ Weckberker G., and Cory G., (1988). Ribonucléotide reductase activity and growth of glutathione depleted mouse leukemial 1210 cells in vitro. *Cancerletters*, 40: 257-264.
- ❖ Wang X-N., Liu Z-T., Yan Z-G., Zhang C., Wang W-L., Zhou J-L., et al., (2013). Development of aquatic life criteria for triclosan and comparison of the sensitivity between native and non native species. *J Hazard Mater*. 260:1017-22.
- ❖ Waria M., O'Connor GA., Toor GS., (2011). Biodegradation of triclosan in biosolids-amended soils. *Environ ToxicolChem*. 30(11):2488-96.

Y

- ❖ Ying G-G., and Kookana R. S., (2007a). "Triclosan in wastewater and biosolids from Australian wastewater treatment plants." *Environment International*. 33(2): 199-205.
- ❖ Ying G-G., Kookana R.S., (2007). Triclosan in wastewaters and biosolids from Australian wastewater treatment plants. *Environ. Int.* 33 : 199–205.

Z

- ❖ Zouaghi B. H., (2015). Study of the behavior/adaptation of non-target biological models exposed to multiple pollution, *J. Bio.& Env.*
- ❖ Zouaghi M F., Berrebbah H., Réda Djrbar M., Amamra R., (2015). Study of the behavior/adaptation of non-target biological models exposed to multiple pollution, *J. Bio. & Env. Sci*, Vol. 7(2), pp: 207-215.

Les sites d'internet :

- ❖ [1] [« Triclosan » \[archive\]](#), [INERIS](#) - Données technico-économiques sur les substances chimiques en France.
- ❖ [2] <https://www.dreamstime.com/escargot-petit-gris-helix-aspersa-brown-garden-snail-helix-aspersa-adult-image170719049>.
- ❖ [3] https://fr.wikipedia.org/wiki/Fichier:Scheme_snail_anatomy-numbers.svg.