

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
سككدة - 1955 أوت 20 جامعة
UNIVERSITE 20 AOUT 1955- SKIKDA



Faculté des sciences

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire Présenté en Vue de l'obtention du Diplôme de Master

Filière : Sciences Biologique

Option: Ecotoxicologie Animale

Intitulé

*Etude expérimentale de la bioaccumulation de deux métaux toxiques
(Pb, Cr) chez les adultes
de l'escargot Hélix Aspersa bio-indicateurs de contamination des sols.*

Présenté par :

Melle LAOUAR AMIRA
Melle RAMOUL KARIMA
Melle LALMI FATIMA ZOHRA
Melle LEDJASSA MADIHA

Membres de jury :

M ^{me} BOUCETTA. S	Présidente	MCA	Université du 20 Aout 1955 Skikda
M ^{me} NADJL S	Promotrice	MCB	Université du 20 Aout 1955 Skikda
M ^{me} BENDJEDID. M	Examinatrice	MAA	Université du 20 Aout 1955 Skikda

Année universitaire : 2021 / 2022

REMERCIEMENT

*Nos remerciements s'adressent spécialement : A mon **dieu** qui nous a aidées à finir ce travail.*

*Tout d'abord à «**Dr. NADJI SAFIA** » C'est une chance pour nous de vous avoir eu comme encadreuse. Merci pour votre disponibilité votre efficacité et surtout votre rigueur scientifique merci pour votre implication, vos corrections et vos conseils qui ont été toujours riches et pertinents. Ce fut un immense plaisir de travailler à vos côtés. Et malgré vos nombreuses activités, vous avez toujours trouvé le temps de répondre à nos questions .Pour tout cela nous vous remercions énormément*

*Nous tenons particulièrement à remercier les membres du jury : Nous adressons nos sincères remerciements à **Dr BOUCETTA SABRINE** pour nous avoir fait l'honneur de présider ce mémoire, à **M^{eme} BENDJEDID M**, qui a accepté d'examiner ce travail et participer à ce jury.*

*Merci aux personnes du labo de l'université qui ont contribué par des aides technique ou tout simplement par des conseils a visés á ce travail plus précisément **NAWEL**.*

*On exprime notre gratitude au : Chef service d'anapath **M^{eme} JAMAA AMIRA** De l'hôpital de Skikda qui a fait nos coupes histologiques.*

*On tient à remercier particulières le chef département de **GNL1K SKIKDA Mr M. CHEMAA** ainsi le chef de service de laboratoire chimie industriel **Mr A. BOUCHERKHA** De nous avoir accueillie et permet d'effectuer notre stage au sein de leur laboratoire. Et toute l'équipe qui nous ont permis de bien mener ce travail sont assurées de notre gratitude. Aussi nous tenons a remercier le chef de laboratoire Raffinerie Skikda pour l'intérêt qu'il a porté a notre projet et son aide précieuse.*

Nous n'oublierons pas dans nos remerciements l'ensemble de nos enseignants pour la qualité de l'enseignement qu'ils nous dispensé, pour leur tolérance et leur amabilité.

A tous ceux que nous n'avons pas nommés, mais qui nous ont aidés A vous tous, merci de nous avoir permis de réaliser un de nos rêves.

Dédicace

Tout d'abord, louange à « ALLAH » qui m'a Guidée sur le Droit Chemin tout au long de ma vie et m'a Permis de réaliser ce travail Et m'a inspirée les bons pas et les justes reflexes. Sans sa Miséricorde, ce travail n'aura pas abouti.

Ce mémoire représente l'aboutissement du soutien spirituel, moral et matériel et des encouragements qu'ils ont prodigués tout au long de notre scolarité On ne pourrait imaginer combien on est fière de dédier notre mémoire à tous Ceux qui de près ou de loin. Et qu'ils en soient remerciés par cette modeste dédicace

Je dédier ce travail A mes très chers parents LAOUAR RABAH et HAFSI AICHA. Je vous exprime toute ma gratitude pour les sacrifices que vous avez consentis. Vous m'avez donné toute l'attention et tout l'amour qu'un être puisse espérer, Aucun de mes mots ne saurait exprimer l'ampleur de ma reconnaissance.

Merci pour vos instructions, votre soutien, que le tout puissant vous accorde Une bonne santé et longue vie.

À mon cher frère ANIS et mes chères sœurs INES et ISMAHANE Merci de m'avoir encouragé, entouré et motivé sans cesse pour devenir meilleure.

À toute la famille et plus précisément à mon oncle FOUAD merci de votre aide et votre patience. Et sans oublier tous mes amis et tous ceux qui sont chers pour moi ILHEM, NADJAH, LAMINE.

A mes binômes et à tous mes collègues, Merci pour votre disponibilité et vos conseils

AMIRA

Dédicace

Tout d'abord, louange à « ALLAH » qui m'a Guidée sur le Droit Chemin tout au long de ma vie et m'a Permis de réaliser ce travail Et m'a inspirée les bons pas et les justes reflexes. Sans sa Miséricorde, ce travail n'aura pas abouti.

Ce mémoire représente l'aboutissement du soutien spirituel, moral et matériel et des encouragements qu'ils ont prodigués tout au long de notre scolarité On ne pourrait imaginer combien on est fière de dédier notre mémoire à tous Ceux qui de près ou de loin. Et qu'ils en soient remerciés par cette modeste dédicace

Je dédier ce travail A mes très chers parents LALMI HICHEM et MESSADI NAWEL. Je vous exprime toute ma gratitude pour les sacrifices que vous avez consentis. Vous m'avez donné toute l'attention et tout l'amour qu'un être puisse espérer, Aucun de mes mots ne saurait exprimer l'ampleur de ma reconnaissance.

Merci pour vos instructions, votre soutien, que le tout puissant vous accorde Une bonne santé et longue vie.

À mes chers frères NASSIM et NASRO et ma chère sœur HADJER Merci de m'avoir encouragé, entouré et motivé sans cesse pour devenir meilleure.

À toute la famille. Et sans oublier tous mes amies et tous ceux qui sont chers pour moi ZINEB, HADJER, RAYENE, ABIR, ZINA.

A mes binômes et à tous mes collègues, Merci pour votre disponibilité et vos conseils

FATIMA

Dédicace

Tout d'abord, louange à « ALLAH » qui m'a Guidée sur le Droit Chemin tout au long de ma vie et m'a Permis de réaliser ce travail Et m'a inspirée les bons pas et les justes réflexes. Sans sa Miséricorde, ce travail n'aura pas abouti.

Ce mémoire représente l'aboutissement du soutien spirituel, moral et matériel et des encouragements qu'ils ont prodigués tout au long de notre scolarité On ne pourrait imaginer combien on est fière de dédier notre mémoire à tous Ceux qui de près ou de loin. Et qu'ils en soient remerciés par cette modeste dédicace

Je dédier ce travail A mes très chers parents RAMOUL MOUSTAPHA et KARROUT NADIA. Je vous exprime toute ma gratitude pour les sacrifices que vous avez consentis. Vous m'avez donné toute l'attention et tout l'amour qu'un être puisse espérer, Aucun de mes mots ne saurait exprimer l'ampleur de ma reconnaissance.

Merci pour vos instructions, votre soutien, que le tout puissant vous accorde Une bonne santé et longue vie.

À mes chères sœurs RAYANE, ROUMAÏSSA, YOUSRA et ROUKAYA Merci de m'avoir encouragé, entouré et motivé sans cesse pour devenir meilleure.

À toute la famille et plus précisément à mon oncle RIAD merci de votre aide et votre patience. Et sans oublier tous mes amis et tous ceux qui sont chers pour moi KHADIDJA, CHAIMA, CHAMS et ALAE EDDINE.

A mes binômes et à tous mes collègues, Merci pour votre disponibilité et vos conseils

KARIMA

Dédicace

Tout d'abord, louange à « ALLAH » qui m'a Guidée sur le Droit Chemin tout au long de ma vie et m'a Permis de réaliser ce travail Et m'a inspirée les bons pas et les justes reflexes. Sans sa Miséricorde, ce travail n'aura pas abouti.

Ce mémoire représente l'aboutissement du soutien spirituel, moral et matériel et des encouragements qu'ils ont prodigués tout au long de notre scolarité On ne pourrait imaginer combien on est fière de dédier notre mémoire à tous Ceux qui de près ou de loin. Et qu'ils en soient remerciés par cette modeste dédicace

Je dédier ce travail A mes très chers parents LADJESSA AHMED et LECHEHEB ZAHIRA. Je vous exprime toute ma gratitude pour les sacrifices que vous avez consentis. Vous m'avez donné toute l'attention et tout l'amour qu'un être puisse espérer, Aucun de mes mots ne saurait exprimer l'ampleur de ma reconnaissance.

Merci pour vos instructions, votre soutien, que le tout puissant vous accorde Une bonne santé et longue vie.

*À mes chers frères AMER, NADJIB, WASSIM, ET ABDOU et ma chère sœur SOUMIA
Merci de m'avoir encouragé, entouré et motivé sans cesse pour devenir meilleure.*

À toute la famille. Et sans oublier mon fiancé MOHAMED LEKRINE et tous mes amies et tous ceux qui sont chers pour moi INES, HADIL, WIAM, RATIBA, AHLEM, NAAIMA, MERIEM, KHENISSOU, MAROUA, AMINA, MANAR, CHAIMA, FATIMA, MANISSA

A mes binômes et à tous mes collègues, Merci pour votre disponibilité et vos conseils

MADIHA

Résumé :

Le but de ce travail d'évaluer dans les conditions de laboratoire l'accumulation de deux éléments traces métalliques (Pb, Cr) chez un organisme bio accumulateur de métaux lourds, l'escargot *Hélix aspersa* qui repose sur la mesure des concentrations internes de ces métaux après contamination des escargots par deux voies: complémentaires: digestive et cutanée durant. 6 semaines d'exposition, cette étude a été compléter par une analyse histopathologique de deux organes cibles le pied et l'hépatopancréas.

Le modèle biologique de la présente étude montre un potentiel d'accumulation très important de métaux, en effet, l'hépatopancréas et le Pied accumulent des quantités importantes de Chrome et de Plomb. Cependant, nous avons mis en évidence une bioaccumulation élevée de Plomb par rapport au Chrome et que l'hépatopancréas accumule préférentiellement les deux métaux surtout par voie digestive.

L'aspect histologique de l'hépatopancréas et du pied a permis d'illustrer les atteintes tissulaires de l'exposition aux particules métalliques se manifestant par une Hypertrophie cellulaire, des nécroses et une présence de particules sphériques sous forme d'amas confirmant ainsi la bioaccumulation des métaux.

Mots clés: *Hélix aspersa*, bioaccumulation, Plomb(Pb), Chrome (Cr), digestive, cutanée

Abstract :

The purpose of this work to evaluate under laboratory conditions the accumulation of two trace metals (Pb, CR) in a bio-accumulative organism of heavy metals, the snail *Hélix aspersa* which is based on the measurement of internal concentrations of these metals after contamination of snails by two routes: complementary: digestive and cutaneous during. 6 weeks of exposure, this study was completed by a histo-pathological analysis of two target organs the foot and the hepatopancreas.

The biological model of the present study shows a very important potential of accumulation of metals, indeed, the hepatopancreas and the foot accumulate important quantities of Chromium and Lead. However, we found a high bioaccumulation of Lead compared to Chromium and that the hepatopancreas preferentially accumulates both metals, especially through the digestive tract.

The histological aspect of the hepatopancreas and the foot allowed us to illustrate the tissue damage caused by exposure to metal particles, manifested by Cellular hypertrophy, necrosis and the presence of spherical particles in the form of clusters, thus confirming the bioaccumulation of metal

Key words: *Hélix aspersa*, bioaccumulation, lead(Pb), chromium (Cr), digestive, dermal.

ملخص:

الهدف الشئُضُ هي هذا العول هي دساصت حشاكن عٌصشَِي هي العٌبصش الوعدٌت (الشصبص و الكشوم) ضوي الششوط الوخبشَت لذي كبئِي حِ َخوُز ببلؤنسة عٌلَّ الخشاكن الحُيُ للوعبدي الزقُك إلكش أصبشصب ، عخوذ هزِ الدساصت عٌلَّ قُبس الخشاكنُز الداخُلُت لكال الوعدٌتُي بعد

جأد الحلزوبث لودة صج أصببُع هي الخعشض عبش هكبهلي: طشَق هضو و طشَقُي

إخش صلدُ و قذ حن خخبم هزِ الدساصت بخحلُلُ الَّضرضت للعضيُي الوضخهذفُي الوخوزلُي القدم و الكبذ البُكشَبص.

الُّوبرس البُيُليصِ للدساصت الحبُكُ بُبُي إكبُتُ الخشاكن الكبُشة للوعدٌتُي نِ الياق ع كوتُي

حشاكن الوعدٌتُي الكشوم و الشصبص كبُشة صذا نه كل هي البُكشَبس الكبذ و القدم و هع رلك ففأ أربخُب أي الخشاكن ببلشصبص كبي أكبش هقبست ببلكشوم و أي فيك الخشاكن لكبذ البُكشَبص ببلوعدٌتُي حنضُتُ خبصت عبش الطشَق الهضو.

إي الوظمش الُّضُض الكبذ البُكشَبص و القدم صوح بنضُح الخلف الضُض البُحش عي الخعشض للضرزوبث الوعدٌتُ حُذَ خضلُ هزا الخلف نِ حضخن الخالَب ، الخش ، وصرد صزوبث كشوت نِ شكل هضوي عبث موب ووكذ الخشاكن الحُيُ للوعبدي.

الكلمات المفتاحية: إلكش أصبشصب ، الخشاكن الحُيُ ، الشصبص ، الكشوم ، هضو ، صلدُ

SOMMAIRE

Titre	Page
Résumés	
Résumé français.....	
Résumé en Arabe.....	
Résumé en Anglais.....	
▪ Liste des tableaux	
▪ Liste des figures	
▪ Liste des abréviations	
1. Introduction	1
2. Matériel et Méthodes	4
2.1. Matériel biologique	4
2.1.1. Anatomie général de l'escargot.....	5
2.1.1.1. Anatomie externe.....	5
2.1.1.2. Anatomie interne.....	9
2.1.2. Distribution géographique	14
2.1.3. Le cycle de vie d' <i>Hélix aspersa</i>	14
2.1.4. Le site de prélèvement	17
2.1.5. Techniques d'échantillonnage et condition d'élevage.....	18
2.2. Présentation des deux xénobiotiques	18
2.2.1. Chrome (Cr)	19
2.2.2. Plomb (Pb)	20
2.3. Protocole de contamination des escargots.....	21
2.4. Dissection et prélèvement des organes.....	23
2.5. Analyse des métaux	24
2.5.1. Séchage	24
2.5.2. Broyage	25
2.5.3. Minéralisation	25
2.5.4. Dosage des métaux traces	26
2.6. Analyse histologique	27
2.6.1. Fixation	27
2.6.2. Inclusion	28

2.6.3. Coupe	28
2.6.4. Coloration	28
2.6.5. Montage	28
2.6.6. Observation	29
2.7. Analyse statistique des données	30
3. Résultats	31
3.1. Analyse des métaux au niveau de l'hépatopancréas et du pied chez <i>Hélix aspersa</i>	31
3.1.1. Accumulation du Pb et Cr au niveau du pied et de l'hépatopancréas par la voie digestive.....	31
3.1.1.1. Accumulation du plomb.....	31
3.1.1.2. Accumulation du chrome.....	31
3.1.2. Accumulation du Pb et Cr au niveau du pied et de l'hépatopancréas par la voie cutanée.....	33
3.1.2.1. Accumulation du plomb.....	33
3.1.2.2. Accumulation du chrome.....	33
3.2. Etude histologique.....	36
3.2.1. Effet du plomb et du chrome sur l'histologie de l'hépatopancréas.....	36
3.2.1.1. Effet du plomb sur l'histologie de l'hépatopancréas.....	36
3.2.1.2. Effet du chrome sur l'histologie de l'hépatopancréas.....	36
3.2.2. Effets du plomb et du chrome sur l'histologie du pied.....	40
3.2.2.1. Effet du plomb sur l'histologie du pied.....	40
3.2.2.2. Effet du chrome sur l'histologie du pied.....	41
4. Discussion	45
4.1. Accumulation du plomb et du chrome au niveau de l'hépatopancréas et le pied d' <i>H. aspersa</i>	45
4.2. Effets du plomb et du chrome sur l'histologie de l'hépatopancréas et du pied d' <i>Hélix aspersa</i>	47
5. Conclusion et perspectives	49
Références bibliographiques	

Liste des figures

Intitulé	N° de page
Figure n° 01 Classification d' <i>Hélix aspersa</i>	4
Figure n° 02 Morphologie externe de l'escargot <i>Hélix aspersa</i> adulte	5
Figure n° 03 Anatomie externe de l'escargot <i>Hélix aspersa</i>	6
Figure n° 04 Ondes de contraction sur la face ventrale des pieds d'escargots	7
Figure n° 05 Coquille d'escargot	8
Figure n° 06 Schéma en coupe de l'anatomie d'un escargot	9
Figure n° 07 Appareil digestif de l'escargot	10
Figure n° 08 Système nerveux de l'escargot	11
Figure n° 09 Schéma de l'appareil génital de l'escargot	13
Figure n° 10 carte géographique de distribution d' <i>Hélix aspersa</i>	14
Figure n° 11 Accouplement de petit-gris	15
Figure n° 12 Œufs d'escargot	16
Figure n° 13 Naissains escargots	16
Figure n° 14 Site de beni oulbane	17
Figure n° 15 Carte géographique de site de prélèvement	17
Figure n° 16 Les boîtes d'élevage des escargots sous des conditions contrôlés	18
Figure n° 17 Élément chimique de chrome	19
Figure n° 18 Chrome	19
Figure n° 19 Élément chimique de plomb	21
Figure n° 20 Acétate de plomb	21
Figure n° 21 Le traitement des escargots	22
Figure n° 22 Anatomie d' <i>Hélix aspersa</i> sorti de sa coquille, avec représentation de la ligne de dissection séparant le pied des viscères	23
Figure n° 23 Echantillon de pied et l'hépatopancréas après dissection	23
Figure n° 24 Echantillon d'hépatopancréas et du pied après séchage	24
Figure n° 25 Echantillon des pieds et de l'hépatopancréas après broyage	25
Figure n° 26 Echantillon de la solution (matière organique+ HNO ₃) après minéralisation	26
Figure n° 27 protocoles expérimentaux d'extraction des métaux lourds	27

Figure n° 28 Appareillage utilisés dans la réalisation du coupes histologiques : a) réservoir de paraffine d'inclusion, b) automate, c) microtome	29
Figure n° 29 L'étuve	29
Figure n° 30 Les bacs de coloration	30
Figure n° 31 Evolution des concentrations en pb au niveau de l'hépatopancréas et de pied par la voie digestive	32
Figure n° 32 Evolution des concentrations en cr au niveau de l'hépatopancréas et de pied par la voie digestive	33
Figure n° 33 Evolution des concentrations en pb au niveau de l'hépatopancréas et de pied par la voie cutanée	34
Figure n° 34 Evolution des concentrations en cr au niveau de l'hépatopancréas et de pied par la voie cutanée	35
Figure n° 35 Coupe histologique de l'hépatopancréas des escargots témoins	37
Figure n° 36 Coupe histologique de l'hépatopancréas des escargots traités par dose 01 de pb voie cutanée (G×10×10)	38
Figure n° 37 Coupe histologique de l'hépatopancréas des escargots traités par dose 01 de pb voie digestive (G×10×10)	38
Figure n° 38 Coupe histologique de l'hépatopancréas des escargots traités par dose 02 de pb voie cutanée (G×10×10)	38
Figure n° 39 Coupe histologique de l'hépatopancréas des escargots traités par dose 02 de pb voie digestive (G×10×10)	38
Figure n° 40 Coupe histologique de l'hépatopancréas des escargots traités par dose 03 de pb voie cutanée (G×10×10)	38
Figure n° 41 Coupe histologique de l'hépatopancréas des escargots traités par dose 03 de pb voie digestive (G×10×10)	38
Figure n° 42 Coupe histologique de l'hépatopancréas des escargots traités par dose 01 de cr voie cutanée (G×10×10)	39
Figure n° 43 Coupe histologique de l'hépatopancréas des escargots traités par dose 01 de cr voie digestive (G×10×10)	39
Figure n° 44 Coupe histologique de l'hépatopancréas des escargots traités par dose 02 de cr voie cutanée (G×10×10)	39
Figure n° 45 Coupe histologique de l'hépatopancréas des escargots traités par dose 02 de cr voie digestive (G×10×10)	39

Figure n° 46 Coupe histologique de l'hépatopancréas des escargots traités par dose 03 de cr voie cutanée (G×10×10)	39
Figure n° 47 Coupe histologique de l'hépatopancréas des escargots traités par dose 03 de cr voie digestive (G×10×10)	39
Figure n° 48 Coupe histologique du pied des escargots témoins (G×10×10)	41
Figure n° 49 Coupe histologique du pied des escargots traités par dose 01 de pb voie cutanée (G×10×10)	42
Figure n° 50 Coupe histologique du pied des escargots traités par dose 01 de pb voie digestive (G×10×10)	42
Figure n° 51 Coupe histologique du pied des escargots traités par dose 02 de pb voie cutanée (G×10×10)	42
Figure n° 52 Coupe histologique du pied des escargots traités par dose 02 de pb voie digestive (G×10×10)	42
Figure n° 53 Coupe histologique du pied des escargots traités par dose 03 de pb voie cutanée (G×10×10)	42
Figure n° 54 Coupe histologique du pied des escargots traités par dose 03 de pb voie digestive (G×10×10)	42
Figure n° 55 Coupe histologique du pied des escargots traités par dose 01 de cr voie cutanée (G×10×10)	43
Figure n° 56 Coupe histologique du pied des escargots traités par dose 01 de cr voie digestive (G×10×10)	43
Figure n°57 Coupe histologique du pied des escargots traités par dose 02 de cr voie cutanée (G×10×10)	43
Figure n° 58 Coupe histologique du pied des escargots traités par dose 02 de cr voie digestive (G×10×10)	43
Figure n° 59 Coupe histologique du pied des escargots traités par dose 03 de cr voie cutanée (G×10×10)	43
Figure n° 60 Coupe histologique du pied des escargots traités par dose 03 de cr voie digestive (G×10×10)	43

Liste des tableaux

Intitulé	N° de page
Tableau n° 01 Principales propriétés physico-chimiques du chrome	19
Tableau n° 02 Principales propriétés physico-chimiques du plomb	20
Tableau n° 03 Accumulation du plomb et du chrome au niveau du pied et l'hépatopancréas par la voie digestive	32
Tableau n° 04 Accumulation du plomb et du chrome au niveau du pied et l'hépatopancréas par la voie cutanée	34

LISTE DES ABREVIATIONS

Cd : Cadmium

Cr : Chrome

Cu : Cuivre

ETM : Élément traces métalliques

HNO₃: acide nitrique

HP : hépatopancréas

P : pied

Pb : Plomb

SAA : Spectrométrie d'absorption atomique

Zn : Zinc

Introduction

Les problèmes posés par la dispersion de polluants dans l'environnement ont suscité l'intérêt de la communauté scientifique depuis maintenant de nombreuses décennies. La prise de conscience de la nécessité de préserver les écosystèmes terrestres et aquatiques a ainsi fait émerger certaines questions, notamment celles du devenir de ces polluants dans l'environnement ainsi que de leurs effets sur les communautés animales et végétales. Parmi les contaminants majeurs de l'environnement, les métaux lourds posent de sérieux problèmes écologiques, tant par le caractère ubiquiste de leur présence au sein de la biosphère que par leur forte rémanence et leur toxicité élevée

L'augmentation des concentrations en éléments traces métalliques dans les sols est principalement due à la pollution urbaine liée aux activités humaines (**Nriagu et Pacyna, 1988**), a fait l'objet de nombreuses études sur les risques de leurs transferts, ces risques paraissent d'autant plus grands que les ETM, contrairement à la plupart des composés organiques, ne sont pas dégradés dans l'environnement

La toxicité des métaux lourds dépend de la bioaccumulation et la bio magnification. Donc ils peuvent provoquer des risques sur la santé des êtres vivants et l'environnement même à de petites quantités. Les effets de l'exposition aux ces éléments peuvent être très variables selon le métal et l'organisme considéré ainsi que les doses mises en jeu. Il est cependant important de noter que des effets délétères peuvent intervenir à différents niveaux d'organisation biologique : effets subcellulaires, cellulaires, tissulaires, individuels, populationnels et communautaires (**Albers *et al.*, 2000; Gomot-de Vaufleury et Kerhoas, 2000; Kammenga et Laskowski, 2000; Shore et Rattner, 2001; Peplow et Edmonds, 2005; Bertin et Averbeck, 2006; Walker et al., 2006; Fairbrother *et al.*, 2007**). Les effets individuels peuvent être des perturbations de la physiologie cellulaire qui peuvent se traduire par la manifestation d'effets sur le comportement, la survie, la croissance et la reproduction, la façon dont la présence de contaminants, dans les tissus se répercute sur ces variables individuelles dépend des caractéristiques biologiques et écologiques des espèces (**Koeman, 1991**), ces caractéristiques interviennent dans le niveau d'exposition des individus au contaminant, et dans sa cinétique dans l'organisme (**Escher et Hermens, 2002**), ainsi que leur capacité d'élimination ou de stockage sous forme moins toxique.

Pendant de nombreuses années, les méthodes d'évaluation de la qualité de l'environnement reposaient presque exclusivement sur des mesures de paramètres chimiques

(Munawar *et al.*, 1995). Cependant, ces méthodes traditionnelles basées sur les caractéristiques chimiques des écosystèmes ne permettent pas de mesurer l'impact des contaminants sur les différents organismes, populations et communautés peuplant un milieu donné (Kaiser, 2001). D'autres méthodes plus récentes utilisant les paramètres biologiques, physiologiques et biochimiques des organismes vivants, tant à l'échelle du simple individu que des écosystèmes entiers, sont venues combler les lacunes inhérentes aux analyses strictement chimiques (Kaiser, 2001; Markert *et al.*, 2003 ; Daby, 2006). En réalité, c'est plutôt la complémentarité des résultats obtenus par les analyses chimiques et biochimiques qui permet alors d'effectuer un diagnostic complet sur la source et l'impact d'une pollution sur un écosystème, (Oros *et al.*, 2007). Actuellement la collaboration entre les scientifiques et les gestionnaires de l'environnement a permis le développement d'outils d'évaluation éco toxicologique plus spécifiques basés sur deux approches complémentaires, les bio indicateurs et les bio marqueurs (Viareggio *et al.*, 2007).

Les biomarqueurs, outils fondamentaux de bio surveillance, sont définis comme étant des variations (biochimiques, cellulaires, physiologiques ou comportemental) qui, dans un tissu, un liquide corporel ou un organisme entier, permettent de mettre en évidence l'exposition et/ou les effets d'un ou plusieurs contaminants (Lagadic *et al.*, 1997; Galloway et Depledge, 2001; Vander Oost *et al.* , 2003). Ce sont des outils complémentaires dans le domaine de l'évaluation de la qualité des écosystèmes (MC Crthy, et Shugar, 1990; Peakall, 1994).

Pour évaluer les effets toxicologiques causés par un xénobiotique, il est nécessaire de disposer de modèle biologique représentatif du milieu étudié. Au sens écologique général, un bio indicateur peut être défini comme un organisme ou un groupe d'organismes pertinents pour déterminer qualitativement et quantitativement l'état de l'environnement (Fränzle, 2006). Plus récemment on s'est intéressé en milieu terrestre à la faune du sol et notamment aux escargots (mollusques, Gastéropodes, Pulmonés), ils sont reconnus comme les indicateurs écologiques pertinents (Berger et Dallinger 1993; Cortet *et al.*, 1999), car :

- Ils représentent une bio masse significative au sein de la communauté des invertébrées des sols (Dallinger *et al.*, 2001).
- Ils occupent une situation privilégiée à l'interface sol-plante-atmosphère, et ils intègrent des sources et voies de contaminations multiples (Barker, 2001).

Ils possèdent des capacités de bioaccumulation importantes pour de nombreux polluants métalliques (**Viard et al., 2004**), et organiques (**Sverdrup et al., 2006**). Ils présentent des réponses physiologiques (inhibition de croissance et de reproduction, mortalité) (**Martje, 2005**) et biochimiques (**Regoli et al., 2006**) quand ils sont exposés aux contaminants.

- Ils constituent un élément de réseaux trophique qui contribue au transfert des polluants du sol et/ou des plants aux prédateurs (**Beeby, 1985; Laskowski et Hopkin, 1996; Scheifler et al., 2002**).

- Le choix préférentiel de cette espèce est principalement lié à sa distribution mondiale, traduisant ses capacités d'adaptation à des biotopes des sols et des climats variés et à sa facilité d'élevage (**Gomot et Deray, 1987**).

Helix aspersa a ainsi été largement utilisé comme model biologique dans les tests d'écotoxicité afin d'évaluer les effets toxiques des ETM des sols (**Dallinger et al., 1993 ; Laskowski et Hopkin, 1996 ; Coeurdassier et al., 2001; De Vaufleury et al., 2006 ; Gimbert et al., 2006; Druart et al., 2011**). C'est dans cette optique que s'inscrit le présent travail dont l'objectif est:

- D'évaluer dans les conditions de laboratoire l'accumulation de deux éléments traces métalliques (**Pb et Cr**) après contamination des escargots par deux voies: complémentaires: digestive et cutanée (contamination du substrat) durant. 6 semaines d'exposition, cette étude a été compléter par une analyse histopathologiques de deux organes cibles le pied et l'hépatopancréas.

1. MATRIELS ET METHODES :

2.1. Matériel biologique :

Présentation et classification de l'espèce :

- *Helix aspersa*.

Le matériel biologique utilisé dans notre travail est un organisme pluricellulaire un gastéropode pulmoné l'escargot petit gris *Helix aspersa*. Ou le petit gris, est un escargot appartient à viscérale présente une torsion de 180° par rapport au pied d'où une asymétrie de certain de ses organes (Bonnet et Vrillo., 1990), Il possède un poumon (ou cavité palléale), ce qui le situe dans le super ordre des Pulmonés. Il appartient à l'ordre des Stylomatophores, caractérisés par des yeux à l'extrémité des tentacules oculaires. Son corps entier peut se loger à l'intérieur de la coquille enroulé en spires ce qui caractérise la famille des Hélicidés (Daguzan., 1981), C'est un gastropode, pulmoné terrestre, aussi Nommé Criptomphalus aspersus dans la nomenclature récente (Barker., 2001) ou le petit gris.

Selon (Bonnet et Vrillons., 1990) sa position systématique est citée dans la figure 1 ci-dessous : l'embranchement des mollusques, animaux à corps mou dépourvu de squelette, sa masse.

<p>Règne: Animalia</p> <p>Embranchement : Mollusca</p> <p>Classe : Gastéropoda</p> <p>Sous-classe : Pulmonés</p> <p>Ordre : Stylomatophora</p> <p>Super-famille : Helicacea</p> <p>Famille: Helicidae</p> <p>Genre : <i>Helix aspersa</i></p> <p>Sous-espèce : <i>aspersa</i> (Müller, 1774)</p>	
---	--

Figure 01: Classification d'*Helix aspersa*

2.1.1. Anatomie général de l'escargot :

L'escargot *Hélix aspersa*, plus connu sous le nom d'escargot des jardins ou Petit-gris, utilisé au cours de nos expériences, c'est un mollusque gastéropode pulmoné stylomatophore appartenant à la famille des Helicidae. Adulte (Fig.02), sa taille varie entre 25-35 X 25-40 mm, avec une coquille globuleuse brun pâle de 4,5 à 5 tours et un ombilic complètement fermé, c'est l'un des gastéropodes terrestres les plus fréquents. Il appartient aux mollusques pulmonés chez lesquels la cavité palléale joue le rôle d'un poumon et permet de respirer l'oxygène gazeux chez des représentants de ce groupe d'origine marine (**Beaumont et cassier., 1998**).

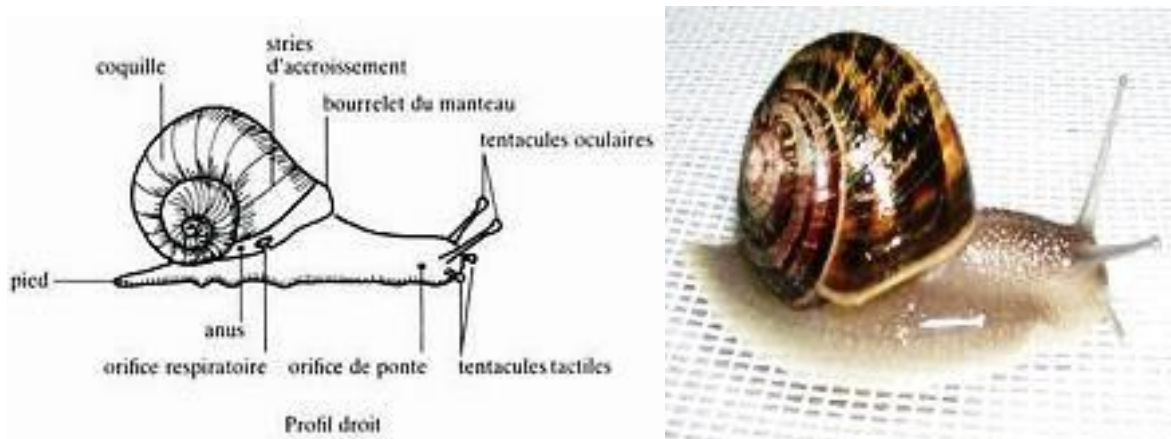


Figure 02: Morphologie externe de l'escargot *Hélix aspersa* adulte (d'après Kerney *et al.*, 2006)

2.1.1.1..Anatomie externe :

La morphologie externe des escargots est caractérisée par la présence de la tête, du pied et de la masse viscérale.

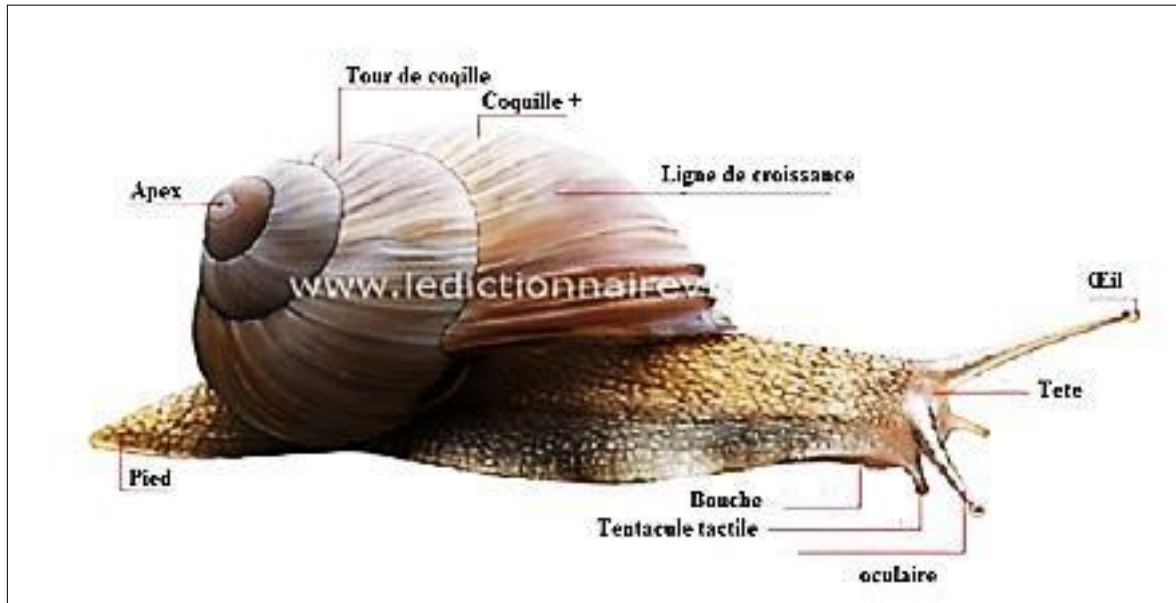


Figure 03: Anatomie externe de l'escargot *Helix aspersa* (www.naturaescentia.com)

a) Le corps

Helix aspersa possède un corps mou en absence d'un axe squelettique; visqueux en raison de la présence du mucus ; son corps subdivise en trois parties (Figure04) : la tête, le pied et la masse viscérale (**Bonnet et al., 1990**).

- **La tête** : est considéré comme une région céphalique de l'escargot. il comporte la bouche qui s'ouvre vers le bas et les organes des sens constitués de deux paires de tentacules. Les tentacules inférieurs, tactiles, sont dirigés vers le bas, les tentacules supérieurs, Oculaires, portant un œil simple et un organe olfactif, qui sont dirigés vers le haut (**Bonnet et al, 1990**).

- **Le pied** : c'est un organe musculueux, large et plat, il supporte une coquille calcaire formée d'une seule Pièce en forme de spirale. Sa face inférieure, en contact avec le sol, forme une sole de reptation, lorsque l'escargot se déplace, elle laisse une trace brillante formée de mucus. Il représente la grande partie de la masse charnue, très développé, le rampement est effectué par sa face ventrale.



Figure 04: Ondes de contraction sur la face ventrale des pieds d'escargots (Pole., 2001)

•**La masse viscérale:** constituée de l'appareil digestif, circulatoire, génital, excréteur et respiratoire avec leurs complémentarités. Elle se trouve à l'intérieur de la coquille dans un sac hélicoïdal (Beaumont A., Cassier P., 1970) , dont la plus grande partie est enfermée dans la coquille (Chevalier., 1987), contenant presque tous les organes : poumon, glande digestive, cœur..., elle est richement vascularisée. Quatre orifices impaire : se sont bien visible sur le corps de l'animal sont :

- L'orifice respiratoire située sur le côté droit du bourrelet qui s'ouvre et se ferme rythmiquement.
- L'orifice génital situé en arrière du tentacule de l'oculaire droit.
- L'anus situé à proximité de l'orifice respiratoire qui se relève par l'apparition d'un petit cordon d'excrément verdâtre.
- L'orifice urinaire situé à proximité de l'anus est généralement indétectable en raison de sa petite taille (vallardi., 1971).

b) La coquille

Elle est sous forme d'un cône calcaire, enroulé autour d'une columelle pleine chez l'eobania, l'ouverture de la coquille constitue le péristome (Figure05) 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 A., Cassier P., 1970).

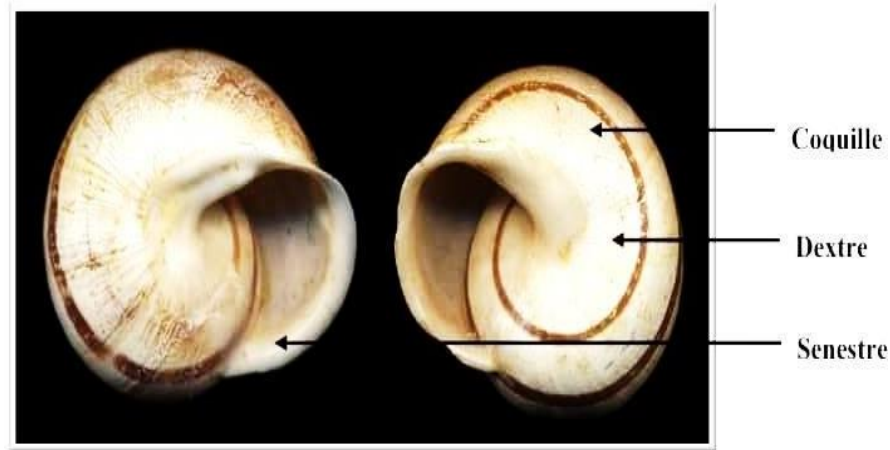


Figure 05: Coquille d'escargot (Bouaziz., 2017)

Rôle protecteur de la coquille :

Rétracté, le corps de l'escargot est entièrement inclus dans la coquille ; cette rétraction est effectuée grâce à plusieurs muscles dont le plus important est le muscle columellaire. En extension, seule la partie postérieure de sa masse viscérale se trouve protégée. Rétractée dans sa coquille, l'escargot est l'abri des animaux, des chocs, de la chaleur, du froid, du vent, de la lumière. L'escargot étant excessivement sensible à l'état hygrométrique ambiant et à ses fluctuations, ce phénomène d'encapsulation est voisin de 86%, en s'écartant de cette valeur on s'éloigne des conditions favorables à la vie active, les mouvements et les oxydations diminuent, l'animal ne mange plus, ce qui en cas extrême peut entraîner la mort (Michel Rousselet., 1979). L'humidité rendrait la coquille plus foncée et plus fragile, alors que la sécheresse l'éclaircirait et l'épaissirait. Cependant, une chose est sûre, c'est l'importance de la nourriture, et des apports calciques dans la formation et l'intégrité de cette coquille. Il conviendra donc d'en tenir compte pour l'élevage. (Michel Rousselet., 1979).

2.1.1.2. Anatomie interne de l'escargot :

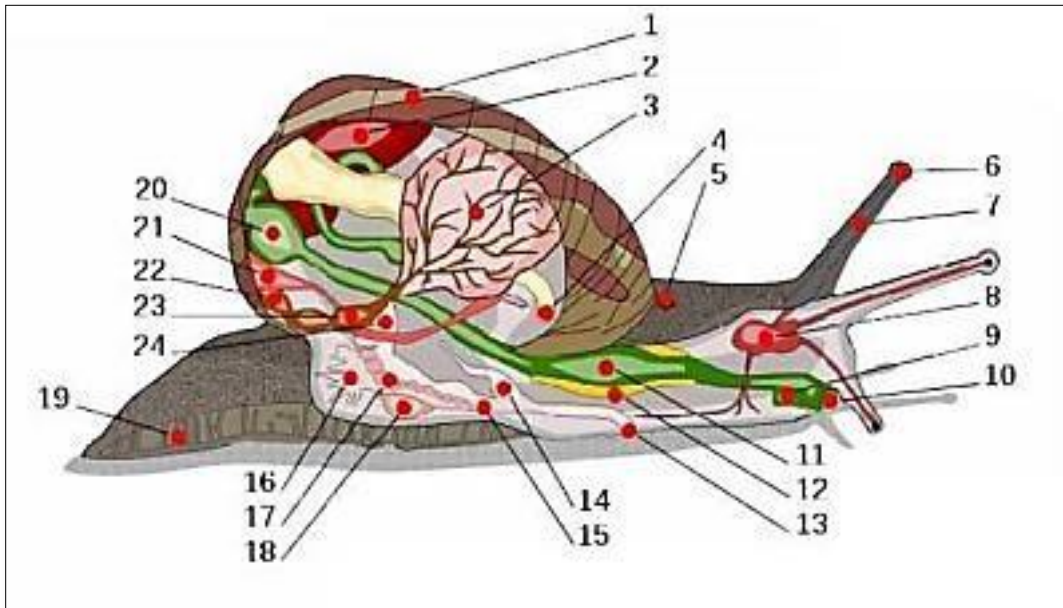


Figure 06: schéma en coupe de l'anatomie d'un escargot (Quibik., 2007)

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

a) Appareil digestif :

En raison de la torsion 180 du corps de l'escargot, le tube digestif forme une boucle ramenant l'anus vers l'avant. La bouche se prolonge par ce qu'on appelle le bulbe buccal en formant l'œsophage. Ce dernier se termine par l'estomac. L'estomac se prolonge à son tour et forme l'intestin (Pirame., 2003).

Le bulbe buccal à l'intérieur duquel se trouve une langue musculaire recouverte d'une lame cornée : la radula, son rôle est de broyer les aliments. Dans la partie postérieure du bulbe buccal on trouve deux glandes salivaires. Ce bulbe se prolonge par un œsophage qui se ronfle en un lui-même prolongé par un intestin formant une double circonvolution autour d'hépatopancréas et aboutissant à l'anus.

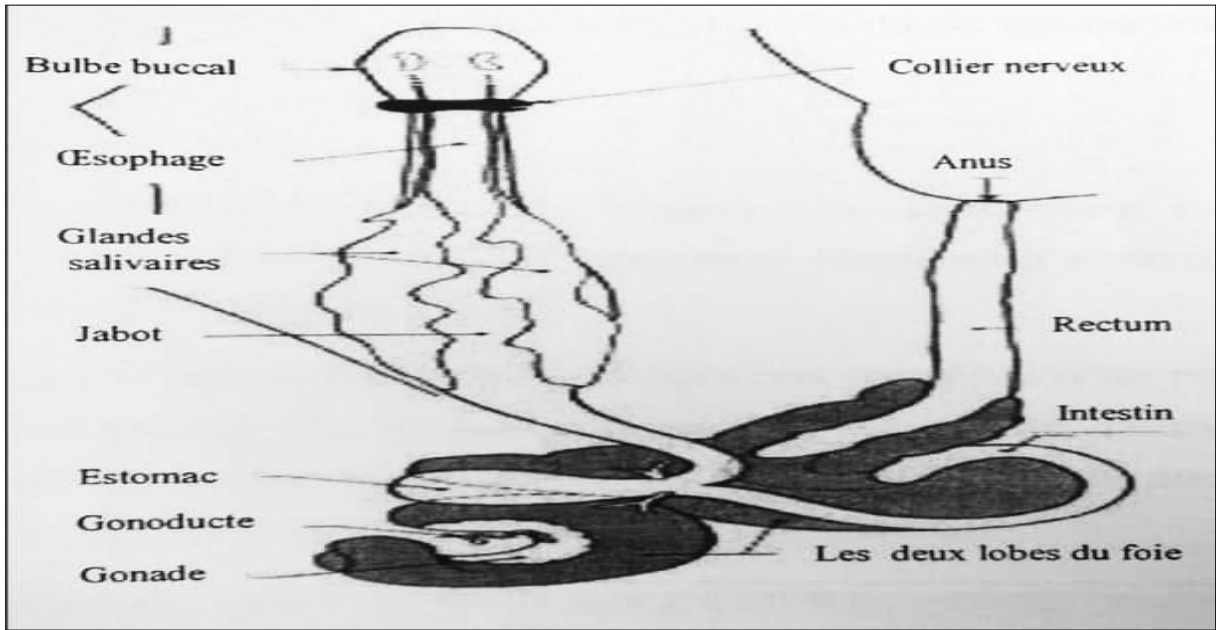


Figure 07: Appareil digestif de l'escargot (Boué et Chaton., 1958)

b) Système nerveux :

Le système nerveux d'*Hélix aspersa* est constitué de deux systèmes (Pirame., 2003).

- Un Système nerveux sympathique : constitué d'une paire de ganglions buccaux qui se trouve sous le bulbe buccal et une paire de ganglions cérébroïdes qui sont reliés entre eux par deux cordons nerveux.
- Un Système nerveux central : il se localise dans la région céphalique est constitué d'une chaîne de ganglions formant un double collier péri Œsophagien complexe.

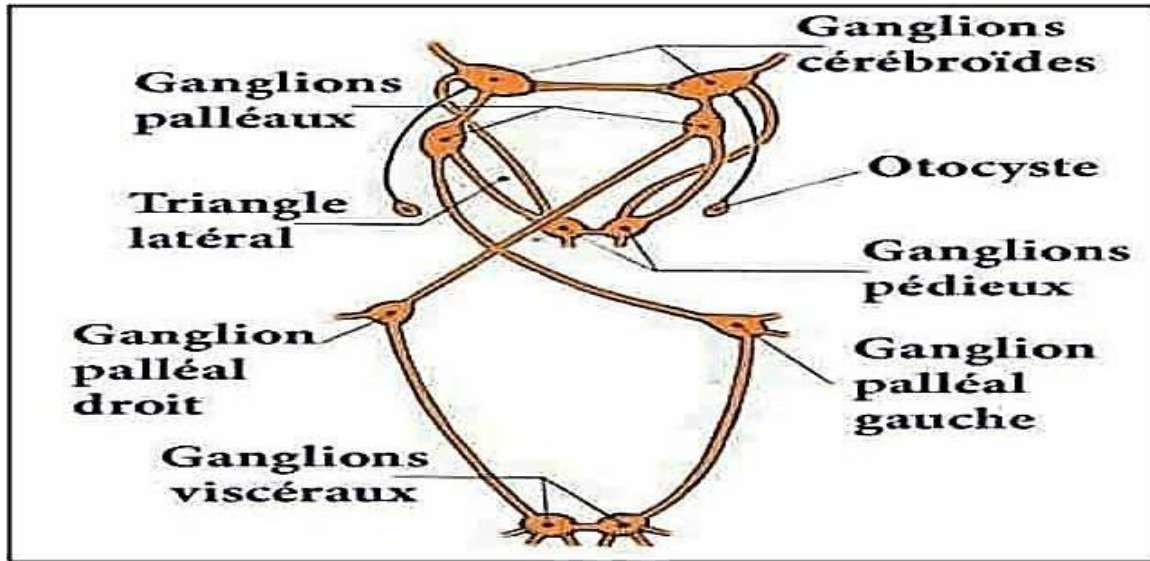


Figure 08: Système nerveux d'un escargot (Meglitsch., 1974)

c) Appareil respiratoire :

Le poumon est une poche formée de l'épithélium palléal, irrigué par les vaisseaux Pulmonaires (Bonnet *et al.*, 1990), situé entre la masse viscérale et le manteau qui recouvre l'intérieur de la coquille. Il s'ouvre à l'extérieur par l'orifice respiratoire dont on peut observer aisément les mouvements rythmiques d'ouverture et de fermeture (Bonnet *et al.*, 1990). L'air y circule au travers du pneumostome par des mouvements contraction de son ouverture.

d) Le système circulatoire :

Son système circulatoire est constitué :

- **D'un cœur** : constitué d'une seule oreillette et un ventricule (Pirame., 2003).
- **De l'hémolymphe** : c'est le liquide physiologique d'*Helix aspersa* ainsi que d'autres mollusques terrestres et marins. L'hémolymphe circule dans un système veineux et un autre artériel. Il est propulsé dans le réseau artériel via deux aortes. Il contient un pigment appelé l'hémocyanine et des cellules appelées " hémocytes" (Van Holde et Miller., 1995 ; Sanchez *et al.*, 1998 ; Adamowicz et Bolaczek., 2003).
- **L'hémocyanine** : c'est une molécule de nature protéique de la famille des métalloprotéines dont le rôle est de transporter l'oxygène (Markl., 2013).

e) L'Appareil génital:

Il faut rappeler que l'escargot est un animal hermaphrodite ; son appareil génital est formé de **(Pirame., 2003)** :- une gonade (ovotestis) : un lieu de formation des cellules sexuelles mâles et femelles (ovule et spermatozoïde) ;

- un canal hermaphrodite : dont le rôle est l'évacuation des gamètes.
- l'albumine : une glande blanchâtre dont le rôle est l'élaboration des réserves vitelline ;
- un ovospermiducte **(Pirame., 2003)**

La portion hermaphrodite de l'escargot (ovotestis, canal hermaphrodite) est débouchant sur un carrefour ou s'ouvre la glande de l'albumine et d'où partent un spermiducte et un oviducte incomplètement séparés, une portion femelle qui communique avec la poche du dard et une portion mâle. Le vagin et le pénis s'ouvrent dans un vestibule génital commun muni d'un seul orifice. La reproduction fait intervenir un accouplement au cours duquel sont échangés les spermatozoïdes, assurant une fécondation croisée **(Heusser et Dupuy., 1998)**.

f) Tégument :

Le tégument est formé par un épiderme simple, caractérisé par l'abondance des glandes à mucus, et un derme à muscles lisse bien développés, notamment pour former les muscles de la reptation et le muscle columellaire, celui-ci s'attache d'une part sur la columelle et d'autre part s'irradie dans la tête et le pied, permettant leur rétraction à l'extérieur de la coquille **(Heusser et Dupuy., 2011)**.

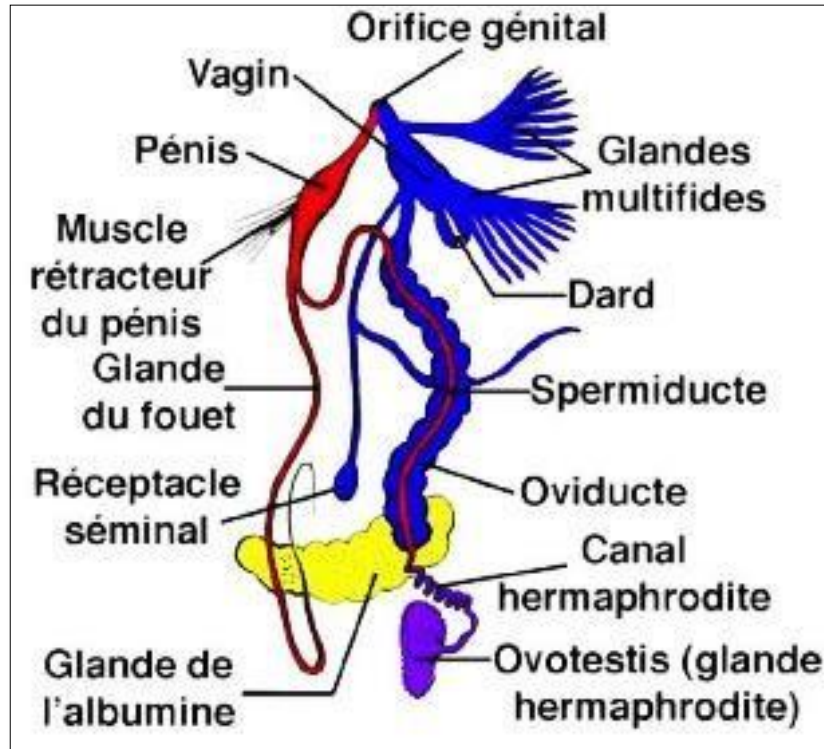


Figure 09: Schéma de l'appareil génital de l'escargot (Guyard., 2009)

g) Appareil excréteurs

Les escargots ont dans leur sang plus de sel que les espèces dulcicoles, mais les mécanismes contrôlant leur concentration sont assez faibles. Une forte pluie peut réduire de plus de la moitié la concentration de leur sang en sels. La déperdition d'eau résultant de l'excrétion est réduite au minimum grâce à l'excrétion d'acide urique et à quelques adaptations permettant de diminuer l'évaporation à la surface du corps.

Les *Helix aspersa* hibernant ou estivant par exemple, secrètent une cloison au-dessus de l'ouverture de leur coquille, ce qui réduit la perte d'eau pendant les périodes d'inactivité (Meglish., 1974) A l'inverse des autres mollusques, l'appareil excréteur des gastéropodes est asymétrique (André., 1968). L'enroulement de la masse viscérale a fait disparaître un rein, il ne subsiste qu'un appliqué contre le péricarde. Il débute dans cette cavité péricardique et le canal présente une paroi très plissée et glandulaire, richement irriguée par des sinus veineux. L'orifice excréteur est situé près de l'anus et le pneumostome (Grassé et Doumenc., 1995).

2.1.2. Distribution géographique :

Grace à ses pouvoirs adaptatifs aux variations climatiques l'escargot *Hélix aspersa* se trouve généralement dans ses zones habituelles de répartition : jardin, haies, buissons, mais également dans les zones cultivées (Kerney et al., 2006). Ils vivent dans la région méditerranéenne et dans la région atlantique européenne sa répartition géographique est la suivante ; pour la région méditerranéenne se distribue selon l'université de la Méditerranée 2009 : Afrique le nord de l'Afrique (Algérie) et l'Afrique du sud ; Asie : Turquie, rivage de la mer Noire (Crowell ; H ; H., 1973) , on trouve aussi à la Nouvelle Zélande et en Australie (Kerney et Cameron., 1979 ; Schulz., 2001), ainsi dans le nord-ouest de l'ex-Yougoslavie, la Grèce, l'Anatolie occidentale, Chypre, la côte méditerranéenne du Proche Orient, l'Égypte et la Libye, enfin dans le centre et l'est de la France et dans l'Europe moyenne. Les escargots sont interdits dans les zones urbaines ou sub-urbaines.

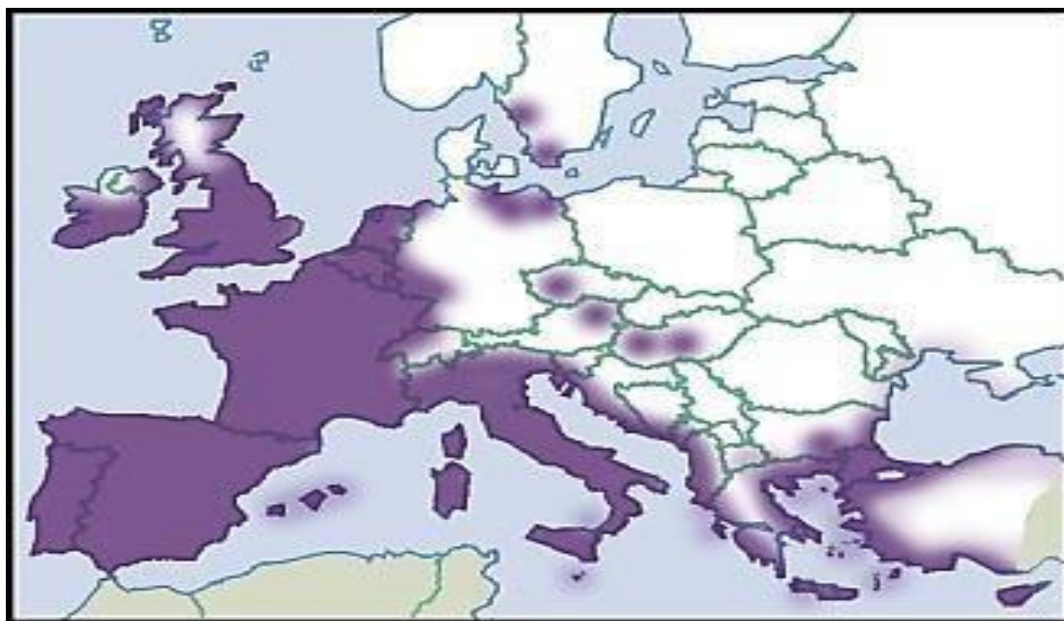


Figure 10: Carte géographique de la distribution d'*Hélix aspersa* (www.wikimedia.org).

2.1.3. Le cycle de vie d'*Hélix aspersa* :

L'accouplement :

En général les escargots matures sont trouvés dans la nature, puis âgés de 2 à 3 ans (Aupinel., 1984). *Hélix aspersa* est hermaphrodite c'est-à-dire il possède une seule gonade qui produit simultanément les spermatozoïdes et des ovules. Ces derniers atteignent l'ouverture génitale par des conduits séparés. Les deux escargots se positionnent tête à tête pour échanger

leur sperme (**Lecalve., 1989**). Le sperme ainsi recueilli peut être conservé plusieurs mois ou années avant utilisé pour féconder les ovaires. Lors de la copulation, l'escargot enfonce un dard calcaire dans son partenaire pour favoriser la survie des millions de spermatozoïdes transmis. En fait, seuls 0,025% d'entre eux survivent (**Popple et Tribune., 2002**).



Figure 11: Accouplement de petit-gris (**Buron-Mousseau., 2014**)

La ponte :

Dans les climats chauds et humides (20°C, 90%), *Hélix aspersa* pond en moyenne 850œufs dans des petits trous creusés (4 à 8 cm) dans le sol. Il peut pondre jusqu'à 3 fois entre mars et octobre (**Baily., 1981**). Les œufs sont des petites sphères blanches expulsés un à un par le port génitale. Ils ont un diamètre de 4 mm et pesant 30 à 40 mg (**Bonnet., 1990**).



Figure 12: œufs d'escargot (Astrid., 2011)

L'incubation :

Après avoir pondu des œufs les premiers jours d'incubation, l'embryon développe une coquille protéique qui se calcifie au fur et à mesure de son développement. Il se calcifie à l'automne et il éclot par rupture de la membrane externe des œufs qu'il consomme. Les jeunes escargots mûrissent à partir du mois de juin suivant et leur maturité dépend, la concentration de calcaire dans l'environnement, la lumière, l'humidité et la température qu'a un rôle très important dans le déterminisme reproductif (Bertrand et Renaud., 2004) .



Figure 13: Naissains escargots (Bacquet., 2014)

2.1.4. Le site de prélèvement :

L'espèce utilisée dans notre expérimentation ont un poids de **4g** à **6g**, ont été prélevés à partir d'un endroit localisé au niveau de la wilaya de Skikda. Cet endroit est loin de toute activité industrielle.

Béni Oulbane : Cette commune est localisée entre Skikda et Constantine près de semendou, proche du jabal segaou et du jabal sidi Driss. Elle située géographiquement entre 36° 37' 36'' Nord, 6° 38' 20'' Est. Elle est considérée comme une région agricole 100% autrement dit-elle est riche par la présence de notre espèce *Hélix aspersa*.

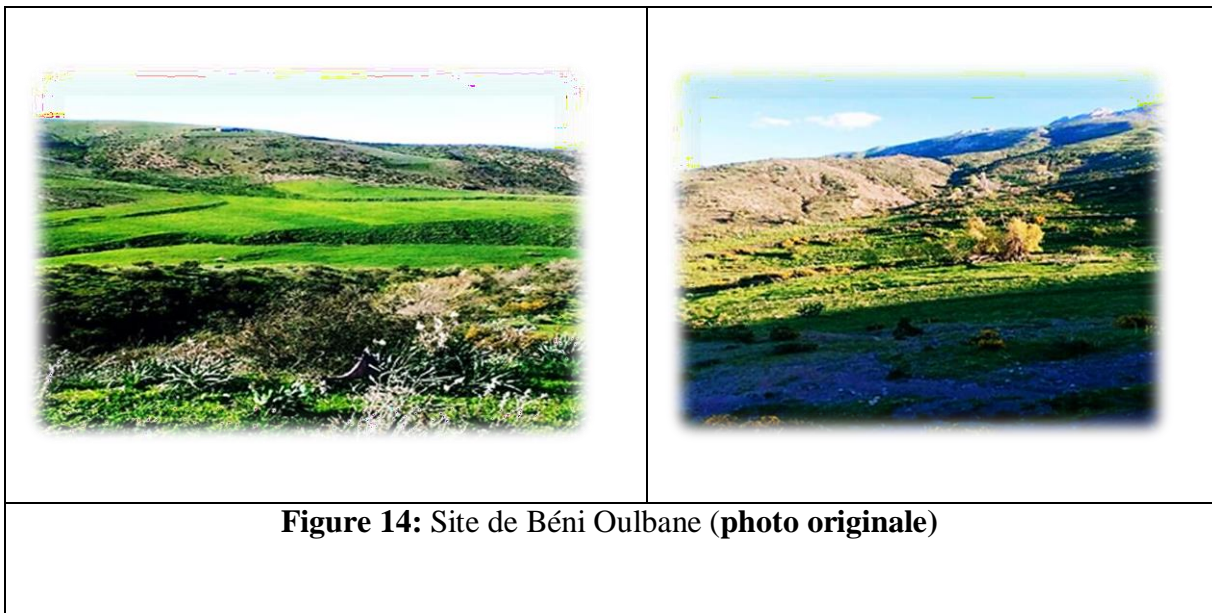


Figure 15: Carte géographique de site de prélèvement (Google maps)

2 1.5. Technique d'échantillonnage et condition d'élevage :

Des individus adultes (ceux qui ont une coquille bordée) de l'espèce *Helix aspersa* ont été récoltés au hasard, sans suivre une méthode de prospection précise. Les escargots sont élevés dans des conditions d'environnement optimales suivantes: photopériode de 18h de lumière/24h, température $20 \pm 20C$. Ils sont répartis dans des boites en plastiques transparents, recouvertes avec des tulles maintenues par des élastiques (pour l'oxygénation), et chaque boite contient une éponge humide pour maintenir d'humidité, l'alimentation (farine de blé) est fournie dans des boites de pétrie. Les boites sont nettoyées régulièrement tous les trois jours (Gomot, 1997; Coeurdassier *et al*, 2001).



Figure 16: Les boites d'élevage des escargots sous des conditions contrôlées

2.2. Présentation des deux xénobiotiques :

Les « métaux lourds » désignent les éléments métalliques naturels (environ 65éléments), caractérisés par une forte masse volumique supérieure à 5 g.cm^3 (Adriano, 2001). Le terme «Éléments traces métalliques » est aussi utilisé pour décrire ces mêmes éléments, car ils se retrouvent souvent en très faible quantité dans l'environnement (Bakeret Walker, 1989), le devenir des xénobiotiques métallique diffère de celui d'autre xénobiotique, ils peuvent interagit avec le métabolisme par stockage, action, excrétion.

2.2.1. Chrome Cr

a. Généralité et sources :

Le chrome est un élément chimique de numéro atomique $Z=24$ c'est un métal gris argenté, dur et ductile.

La concentration moyenne en chrome dans la croûte terrestre est de 125 mg/kg , le chrome est plus souvent extrait d'un minerai de type oxyde mixte FeCr_2O_4 la chromite, les traces de chrome sont souvent responsables de la couleur de minéraux comme le vert de l'émeraude et le rouge de rubis. Les utilisations industriels de ce métal sont nombreuses et par conséquent ils conduisent à des graves pollutions.

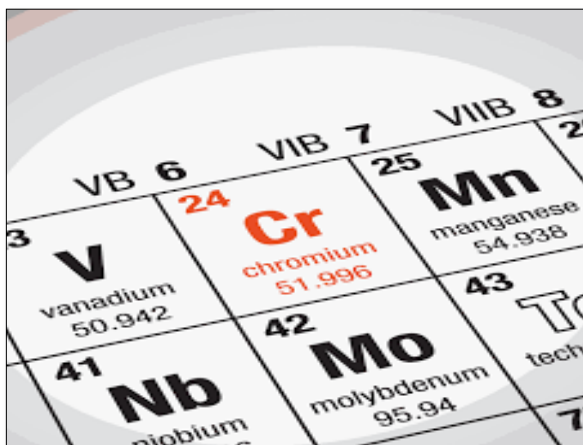


Figure 17: Elément chimique de chrome



Figure 18: Chrome (photo original)

b. Les propriétés physico-chimiques du chrome

. **Tableau 01** : Principales propriétés physico-chimiques du chrome

N° Atomique	24
Masse molaire	52 g.mol⁻¹
Masse volumique	7.19 g.cm⁻³
Point de fusion	1857°C
Point d'ébullition	2672°C

c. Toxicité :

La toxicité du chrome dépend de sa concentration mais aussi de son degré d'oxydation, en effet le chrome est beaucoup plus toxique même à très faible dose, est un élément essentiels aux êtres vivant puisque il joue un rôle indispensable dans le métabolisme glucidique comme l'activateur de l'insuline, les divers composés du chrome représentent un risque majeur l'effet cancérigène de ces composés du chrome a été démontré par les résultat d'étude d'épidémiologique sur une population exposé, l'intoxication chronique peut entrainer des accumulation dans le fois le rein, le pancréas, la moelle osseuse. Le chrome peut être un contaminant des atmosphères urbaines.

2.2.2. Plomb (Pb) :

a. Généralité :

Dans son état naturel le plomb est un métal gris bleuâtre, dense, et malléable (**bure, 2008**), c'est élément chimique de numéro atomique $Z= 82$, il est assez abondant dans la croute terrestre ou sa concentration moyenne est comprise entre 10et 20ug.g-1 , dans le minéral , le plomb est souvent associé à l'argent et au zinc (**Aakame, 2015**) , le principale application industrielle du plomb est la fabrication de batterie d'accumulateurs (**Goyer, 2001**) ainsi il est retrouvé dans les pigments, les munitions, les céramique (**Amara et al., 2016**), la production mondial du plomb servait à la préparation de ces additifs (**ipcs., 1995 ; Aakame., 2015**).

b. les propriétés physico-chimiques du plomb

Tableau 02 : Principales propriétés physico-chimique du plomb

N° Atomique	82
Masse molaire	270 g.mol-1
Masse volumique	11,35 g/cm³
Point de fusion	327.5°C
Point d'ébullition	1749°C

C. Toxicité :

Le plomb ne joue aucun rôle biologique c'est un poison fort, cumulatif, et toxique pour les êtres vivants (**Bliefert et perraud, 2008**) , sa présence dans l'organisme peut se faire à travers trois principales voies : orale, pulmonaire, cutanée (**Miquel, 2001**). La principale voie d'excrétion est urinaire à 75% du plomb absorbé (**Niragu., 1978**). Les études de toxicité aiguë de plomb et de ses dérivés est très rare caractérisé par des troubles digestifs et des divers symptômes relatifs au système nerveux (**Awad El Karim et al., 1986**). Après des expositions sub-chronique ou chronique, des effets hématologique, neurologique, rénaux, cardiaque vasculaire peuvent être observés (**INRS., 2018**).

Les données disponibles ne permettent pas de conclure à des effets génotoxiques du plomb et de ses composés minéraux (**INRS., 2018**) cependant les effets cancérogènes et les effets de reproduction (**Hu et al., 2002 ; Wigr et lanphear., 2005 ; Amara et al., 2016 ; INRS., 2018**).

VIII B	IB	II B	Aluminium 26.982	Silicon 28.086	Phosphore 30.974	Soufre 32.065	Brome 35.453	Krypton 39.948
28 Ni Nickel 58.693	29 Cu Copper 63.546	30 Zn Zinc 65.38	50 Sn Tin 118.71	52 Se Selenium 78.96	53 Br Bromine 79.904	54 Kr Krypton 83.8		
46 Pd Palladium 106.42	47 Ag Silver 107.87	48 Au Gold 196.97	82 Pb Lead 207.2	83 Bi Bismuth 208.98	53 I Iodine 126.9	54 Xe Xenon 131.29		
78 Pt Platinum 195.08	79 Au Gold 196.97				85 At Astatine (210)	86 Rn Radon (222)		
110 Ds Darmstadtium (281)	111 Rg Roentgenium (272)				117 Uus Ununseptium (294)	118 Uuo Ununoctium (294)		
63 Eu Europium 151.964	64 Gd Gadolinium 157.25	65 Tb Terbium 158.925	66 Dy Dysprosium 162.50	69 Er Erbium 167.259	70 Yb Ytterbium 173.054			

Figure 19: Élément chimique plomb



Figure 20: Acétate de plomb

2.2.3. Protocole de contamination des escargots:

La contamination des escargots a été effectuée dans des conditions contrôlées pendant 6 semaines par deux voies complémentaires:

La contamination par l'aliment permet de tester les effets d'une intoxication par la **voie digestive**. Les escargots reçoivent de la nourriture contaminée par deux éléments métalliques (**Pb et Cr**) à des concentrations croissantes: **400 µg, 800 µg et 1200 µg**. Les escargots sont

répartis en 7 lots de 8 escargots pour chaque traitement; en plus d'un lot témoin. Le renouvellement de la nourriture s'effectue trois fois par semaine.

La contamination du sol permet de tester les effets d'une intoxication par la **voie cutanée**. Un test semi-statique selon les directives de la norme ISO 15952 (2006) par l'exposition des escargots à un sol contaminé par les mêmes concentrations croissantes en plomb et en chrome. Le sol est renouvelé une fois par semaine. Les escargots sont placés dans des boîtes en plastique. Ils sont répartis en deux lots témoins et deux lots de 5 individus par concentration testée.



Figure 21: Le traitement des escargots (photo originale)

2.2.4. Dissection et prélèvement des organes:

A la fin de la 6^{ème} semaine de traitement, Les escargots sont décoquillés avec les ciseaux en suivant le bord d'enroulement de la coquille, les escargots sont disséqués à l'aide de ciseaux et de pinces. La dissection est faite dans le but de séparer et prélever les organes pied et hépatopancréas de chaque individu. Découper lentement la coquille par petits morceaux et les enlever délicatement avec une pince.

Après la dissection des escargots, La moitié des glandes digestives et des pieds retirés ont été préalablement séchées à 80 °C. Puis 1 à 2 g de chaque organe a été extraite comme prise d'essai pour le dosage des métaux lourds et l'autre moitié conservée dans le formol dilué à 10% destinée pour l'étude histologique.

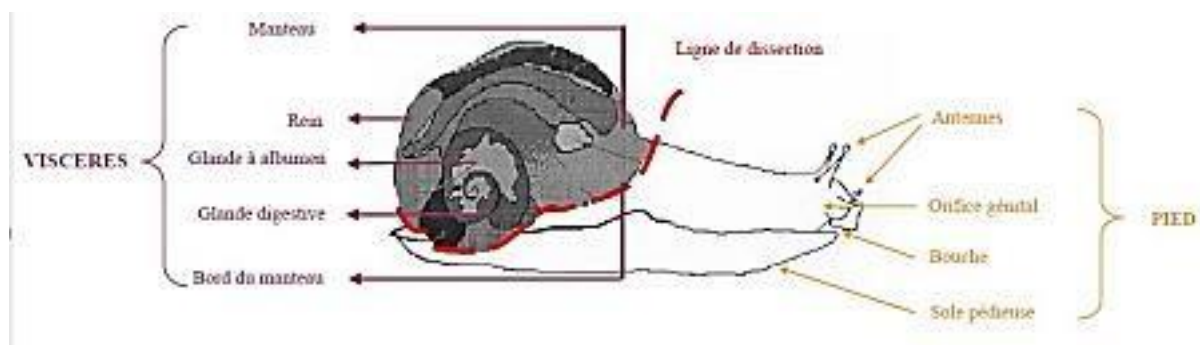


Figure 22: Anatomie d'*Hélix aspersa* sorti de sa coquille, avec représentation de la ligne de dissection séparant le pied des viscères (Viard., 2004)



L'hépatopancréas

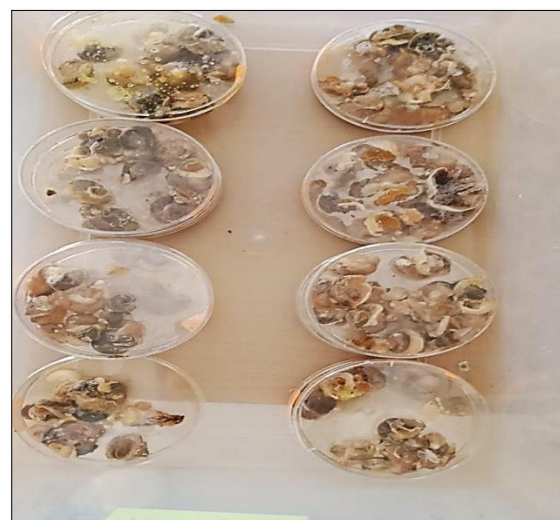


Figure 23: Echantillons de pieds et l'hépatopancréas après dissection (photo originale)

2. Paramètres étudiés

2.1. Analyse des métaux

Préparation des échantillons :

Pour notre travail nous avons utilisé :

- Des Boîtes pétries
- Eau distille
- Acide nitrique HNO₃ 65%
- Étuve, broyeur, éprouvettes, entonnoirs, pipettes en verre jaugées
- Tubes à Essais, tubes de minéralisation
- Balance électrique, papier absorbant, papier filtre, papier aluminium, spatule
- Appareil de dosage de métaux lourds spectrophotomètre d'absorption atomique à flamme (SAA /F.E)

2.1. 1. Le séchage :

Les parties ainsi prélevées (pieds et hépatopancréas) sont étalées sur des boîtes de Pétris et placées dans une étuve à une température de 80°C pour le séchage pendant 24h (**Figure 25**). le poids de chaque échantillon est noté



Figure 24: Echantillons d'hépatopancréas et du pieds après séchage

2.1. 2. Le broyage :

Une fois séchés, les échantillons de pieds et de l'hépatopancréas, de chaque échantillon, sont finement broyés à l'aide d'un mortier jusqu'à l'obtention d'une poudre fine dans le but de l'homogénéisation.



Figure 25: Echantillons des pieds et de l'hépatopancréas après broyage.

2.1. 3. La minéralisation :

La minéralisation est une étape importante pour la détermination des éléments de traces métallique MTE dans les différents échantillons, elle permet une destruction de la matière organique.

L'étape de minéralisation est réalisée avec la méthode «attaque à acide chaud» en utilisant l'acide nitrique HNO_3 65%. Dans un flacon on prélève 200 mg de matière organique broyée, (HP) pour Chaque réplique, on ajoute 4 ml d' HNO_3 , on laisse le mélange dans température Ambiante tout la nuit, ensuite le lendemain on les places dans une étuve à une température de 90°C pendant une durée de trois heures.

Les minéraliste sont ensuite filtré avec du papier filtre Wattman. Et on met chaque dose dans un tube a Essai jusqu'a l'analyse.

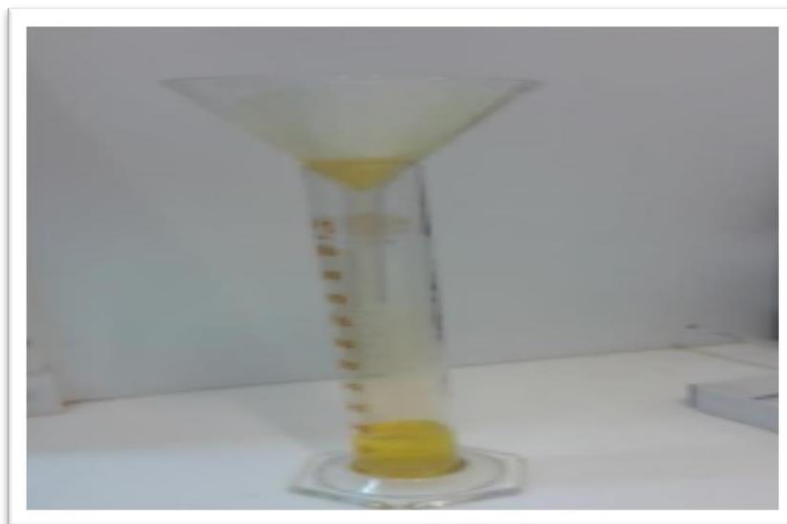


Figure 26: Echantillons de la solution (matière organique + HNO₃) après minéralisation
(Photo originale)

Tous les échantillons minéralisés et filtrés sont transférés dans des flacons en verre puis transportés jusqu'au laboratoire de chimie industriel Raffinerie Sonatrach Skikda où le dosage des métaux étudiés (**Pb, Cr**) est effectué par la spectrométrie d'absorption atomique (SAA).

2.1. 4 Dosage des métaux traces

- **La Spectrométrie d'Absorption Atomique (SAA)**

La spectrophotométrie d'absorption atomique est une technique d'analyse quantitative fondée sur le phénomène d'absorption de radiations lumineuses par des atomes libres. Elle est largement appliquée et recommandée pour l'analyse des métaux traces (AIEA, 2001). Elle permet la détection de faibles teneurs en métaux éléments et éléments minéraux en solution.

- **Principe**

Proposé par WALCH en 1995, la spectrophotométrie d'absorption atomique (S.A.A.) est une méthode d'analyse quantitative s'adressant essentiellement aux métaux lourds. Elle est basée sur la propriété des atomes de l'élément à doser, qui peuvent absorber des radiations de longueurs d'ondes déterminées. La solution de l'élément à analyser est nébulisée dans une flamme, ce qui provoque successivement, l'évaporation du solvant, la vaporisation de l'élément sous forme de combinaison chimique, et enfin, la dissociation de ces combinaisons avec production d'atomes libres à l'état fondamental.

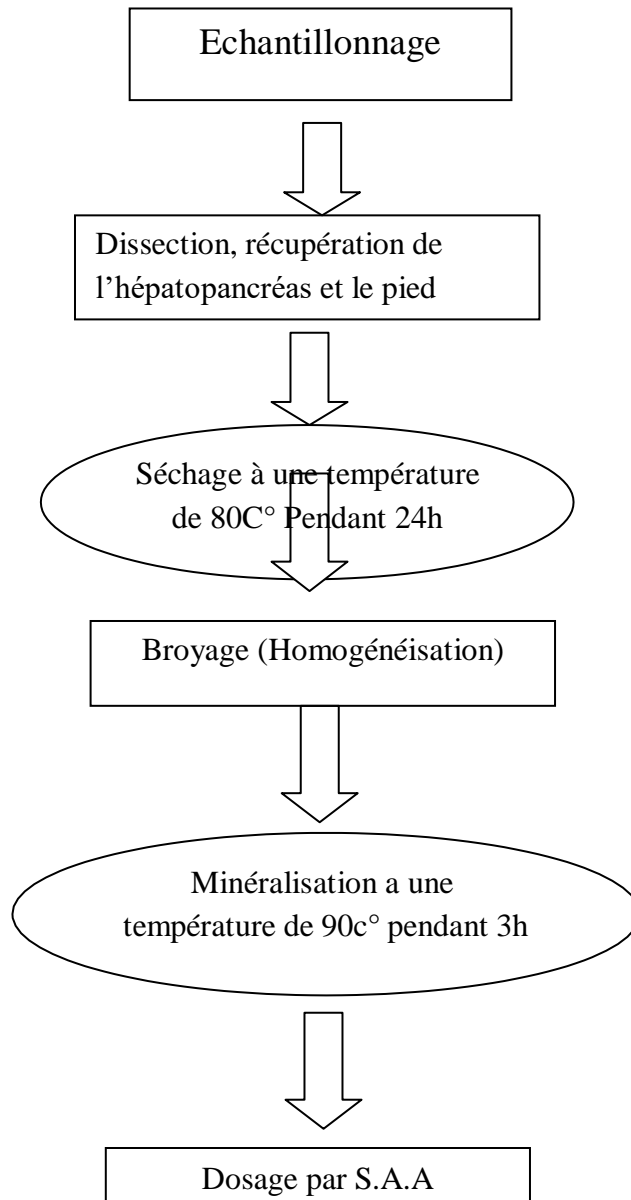


Figure 27 : Protocole expérimental d'extraction des métaux lourds

2. Analyse histologique :

2.1. Fixation :

Après le prélèvement de l'hépatopancréas et du pied des escargots on les coupe en deux et on les place à l'intérieur de piluliers en verre de 50 ml remplis de formol dilué à 10%. La fixation permet la conservation des structures et le durcissement des pièces. Elle doit impérativement être réalisée après la dissection de l'escargot (séparation du pied et des viscères quand les escargots sont encore vivants), par immersion de l'échantillon dans un

grand volume de liquide fixateur, dans notre cas le liquide est le formol (**Preece, 1972**) compte tenu de leur taille, les échantillons séjournent trois jours dans ce fixateur.

2.2. Inclusion

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

Ensuite, l'alcool est remplacé par du toluène (trois bains de 15 minutes chacun) afin d'imprégner les échantillons par le solvant de la paraffine. Dans un deuxième temps, les échantillons sont placés à l'étuve dans un bain de paraffine liquide (étuve de 56 à 58°C) afin qu'elle les imprègne totalement. Après une nuit, les échantillons sont inclus dans la paraffine à l'aide de moules (**barres de Leuckart**) : après refroidissement, on obtient des blocs de paraffine durs, à l'intérieur des quels se trouvent les échantillons inclus et orientés selon le plan de coupe choisi.

2.3. Coupe

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

2.4. Coloration

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

2.5. Montage

Après avoir subi une nouvelle déshydratation (deux bains d'alcool à 95°C puis à 100°, trois bains de toluène), les lames colorées sont montées entre lames et lamelles avec une résine

synthétique, le baume de Canada (Martoja et Martoja-Pierson, 1967) Les lames sont alors prêtes pour être observées au microscope optique.

2.6. Observation

L'observation des coupes histologiques des organes est réalisée avec un microscope (Zeiss Axio Imager 2) équipé d'une caméra (Zeiss AxioCam MRc5) permettant la prise d'images avec un logiciel d'imagerie numérique (Axio Vision release 4.8.2).

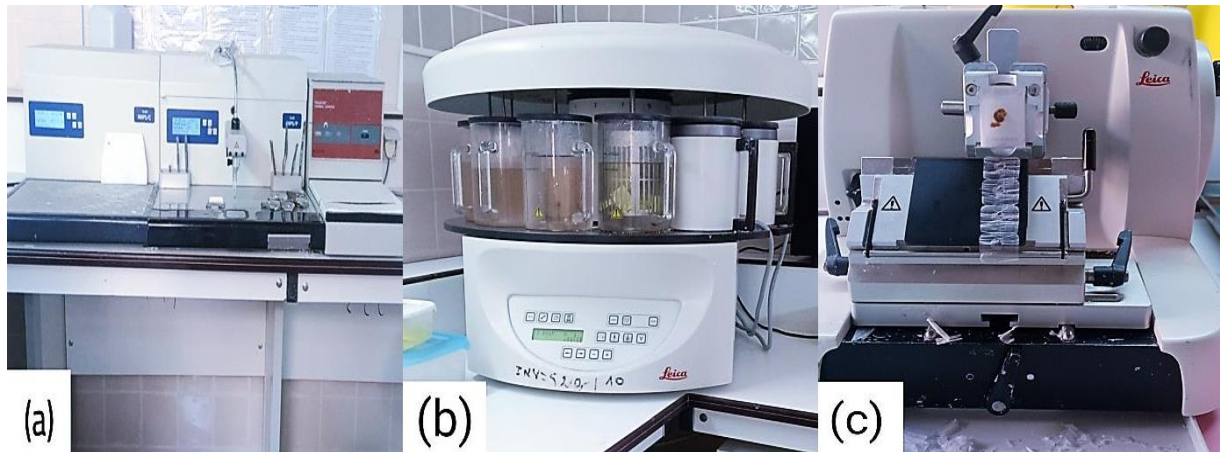


Figure 28: Appareillage utilisé dans la réalisation des coupes histologiques : a) réservoir de paraffine d'inclusion, b) automate, c) microtome (photo originale)



Figure 29: L'étuve (photo originale)

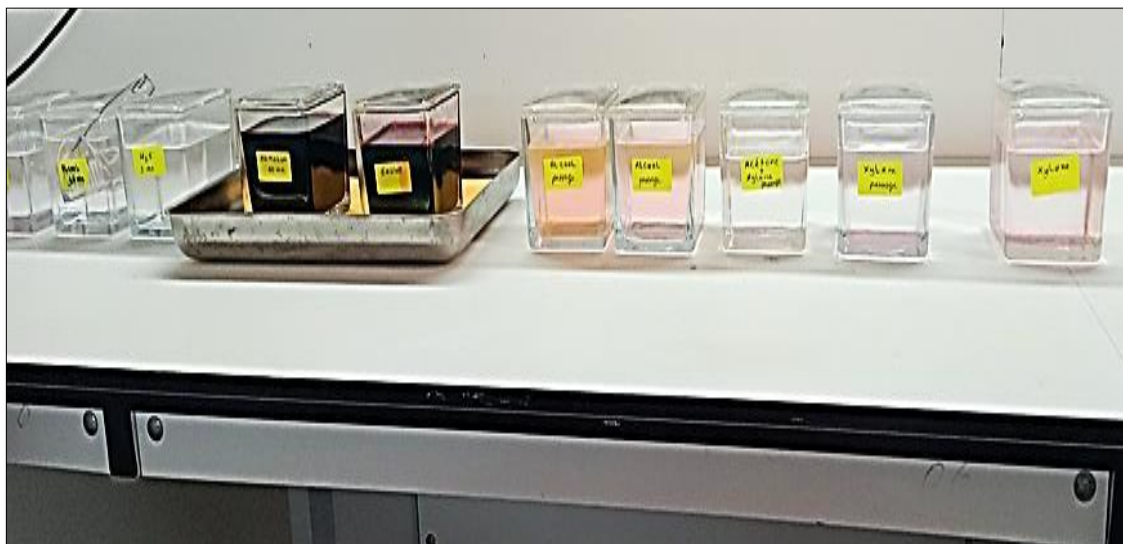


Figure 30: Les bacs de coloration (photo originale)

2. Analyse statistique des données :

L'analyse statistique des données est effectuée par le test de student qui sert à comparer entre deux échantillons (**témoin et traité**) ce test est réalisé à l'aide d'un logiciel des données Minitab (version 14.0) (Dagnelie ,1999).

3. Résultats :

3.1. Analyses des métaux au niveau de l'hépatopancréas et du pied chez *Hélix aspersa* :

Les résultats sont exprimés par la moyenne \pm (écart type) de n expériences (où n représente le nombre d'animaux utilisés avec n=3), les différences sont considérées significatives quand $P \leq 0,05$.

Le tableau 3 et 4 et les Figures 31 à 34 montrent l'évolution des concentrations de Pb et Cr au niveau de l'hépatopancréas et du pied chez les escargots au cours d'un traitement de 6 semaines par voie digestive et cutanée. Chez les individus traités, les concentrations des deux métaux au niveau des deux organes tendent à augmenter de manière dose-dépendante et ceux pour les traités par les deux voies cependant l'accumulation des deux métaux est plus importante chez les traités par voie digestive et que les concentration les plus élevés sont enregistrées au niveaux de l'hépatopancréas par rapport au pied et ceux pour les traités par les deux métaux.

3.1.1. Accumulation du Pb et Cr au niveau du pied et de l'hépatopancréas chez les traités par la voie digestive :

3.1.1.1. Accumulation du plomb

On constate une augmentation dose dépendante chez les escargots exposés aux différentes concentrations des éléments métalliques. Ainsi nos résultats met en évidence une augmentation hautement significative de particules de plomb accumulés dans l'hépatopancréas et le pied chez les traités par les concentrations **400ug** et **1200ug** avec ($p \leq 0.001$) alors que chez les traités par la concentration **800ug** avec ($p \leq 0.01$) l'augmentation est très hautemet significative par rapport aux témoins.

3.1.1.2. Accumulation du chrome

Concernant le chrome, l'augmentation est très hautement significative dans l'hépatopancréas pour les traités par les concentrations **400ug** et **1200ug** avec ($p \leq 0.001$) par rapport au témoin. D'un autre coté on note une augmentation très significative du chrome dans le pied des traités par les concentrations **400ug**, **800ug**, et **1200ug** avec ($p \leq 0.01$) par rapport au témoin.

Tableau 03: Accumulation du plomb et du chrome au niveau du pied et de l’hépatopancréas par voie digestive

		Concentration du chrome et du plomb			
métal	organe	témoin	400 ug	800 ug	1200 ug
Pb	Hépatopancréas	0.483/0.073	107.4/6.437 ***	298.5/6.982 **	438.33/52.214 ***
	pied	0.493/0.086	45.516/2.362 ***	58.973/1.764 **	61.46/3.464 ***
Cr	Hépatopancréas	1.056/0.476	95.4/4.371 ***	280.86/9.300	398.58/7.872 ***
	pied	0.956/0.166	9.306/1.142 **	14.84/1.360 **	29.63/3.091 **

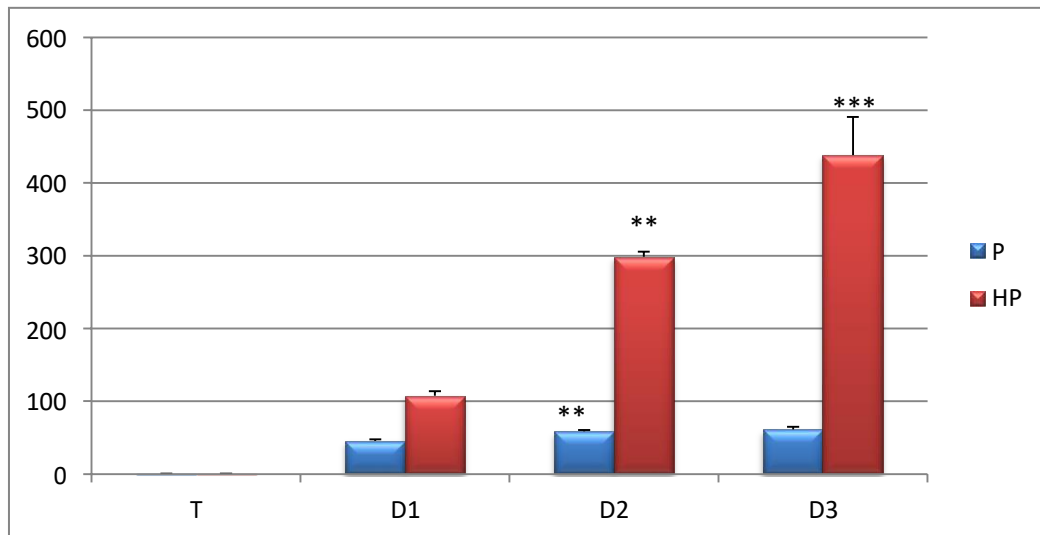


Figure 31: Evolution des concentrations en Pb au niveau de l’hépatopancréas et du pied chez *H. aspersa* par voie digestive

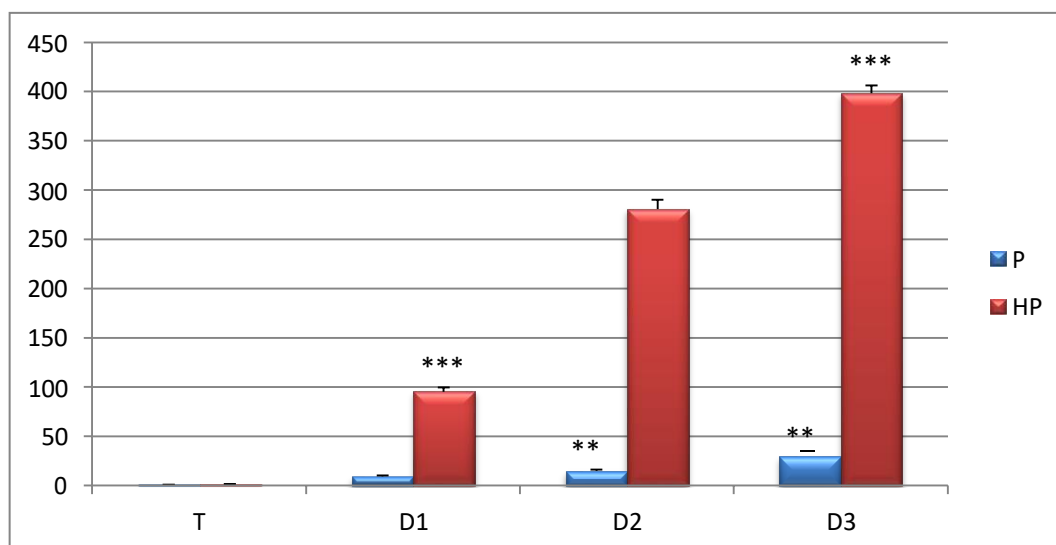


Figure 32: Evolution des concentrations en Cr au niveau de l'hépatopancreas et du pied chez *H. aspersa* par voie digestive

3.1.2. Accumulation du Pb et Cr au niveau du pied et de l'hépatopancreas chez les traités par la voie cutanée:

3.1.2.1. Accumulation du plomb

Nos résultats mettent en évidence une augmentation très hautement significative de particules de plomb accumulés dans l'hépatopancreas chez les traités par les concentrations **400ug**, **800ug** et **1200ug/g** avec ($p \leq 0.001$) comparativement aux témoins. Alors que dans le pied des traités par le plomb l'augmentation des concentrations est hautement significative pour les traités par rapport aux témoin.

3.1.2.2. Accumulation du chrome

Concernant le chrome, l'augmentation est hautement significative dans l'hépatopancreas pour les traités par la concentration **400ug** avec ($p \leq 0.001$) est très hautement significative pour les traités par la concentration **800ug** avec ($p \leq 0.01$) par rapport au témoin. D'un autre coté on note également une augmentation très significative dans le pied des traités par les concentrations **800ug** et **1200ug** avec ($p \leq 0.01$).

Tableau 04: Accumulation du plomb et du chrome au niveau du pied et de l'hépatopancréas par la voie cutanée

		Concentration du chrome et du plomb			
métal	organe	témoin	400 ug	800 ug	1200 ug
Pb	Hépatopancréas	0.483/0.073	86.97/3.618 ***	100.5/3.774 ***	120.9/2.364 ***
	pied	0.493/0.086	38.793/3.721 **	44.633/3.453 **	65.773/4.024 ***
Cr	Hépatopancréas	1.056/0.476	82.033/5.688 ***	73.146/53.793	125.713/6.231 **
	pied	0.956/0.166	6.373/1.825	13.733/1.882 **	23.62/3.397 **

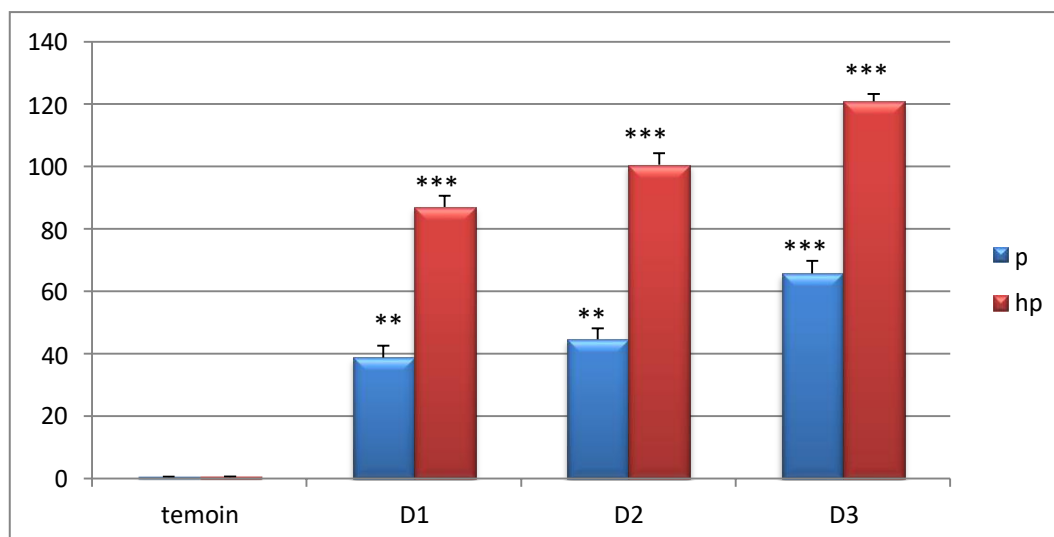


Figure 33: Evolution des concentrations en Pb au niveau de l'hépatopancréas et du pied chez *H. aspersa* par voie cutanée

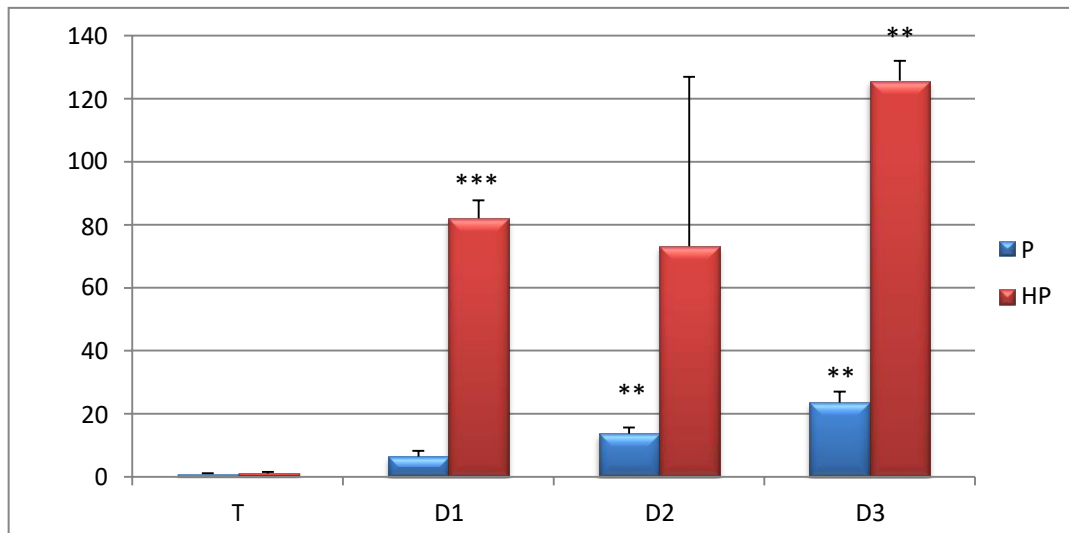


Figure 34: Evolution des concentrations en Cr au niveau de l'hépatopancréas et du pied chez *H. aspersa* par voie cutanée

3.2. Etude histologique

3.2.1. Effets du plomb et du chrome sur l'histologie de l'hépatopancréas:

Les figures présentent des coupes histologiques effectuées au niveau de l'hépatopancréas témoin et traité aux différentes concentrations de plomb et chrome.

L'hépatopancréas normal des escargots témoin est constitué d'un épithélium digestif composé des lobules formant un ensemble d'acini maintenus cohérent par un tissu conjonctif l'épithélium renferment trois types de cellules et chaque cellule présente les constituants essentiels noyaux et membrane : les cellules digestives CD les plus abondantes (Zaldibaret *al.*, 2008), les cellules excrétrices CE, et les cellules à calcium CC.

L'examen histologique des tissus contaminés par le plomb et le chrome a montré quelques altérations visibles en réponse à tous les traitements et pour les deux voies (digestive et cutanée) d'une manière dose dépendante.

3.2.1.1. Effet du plomb sur l'histologie de L'hépatopancréas:

Concernant l'effet du plomb sur l'histologie de l'hépatopancréas les observations microscopiques sont les suivantes :

L'hépatopancréas des escargots traités par la dose 01 (400ug) pour les deux voies montre qu'il n'y a pas des effets observables par contre chez les traités par la dose 02 (800ug) il y a quelques altérations représentées par l'augmentation de nombre des cellules digestives, diminution de l'espace inter-lobulaire et l'apparition des débris cellulaires pour les deux voies, digestive et cutanée et une rupture dans la membrane basale uniquement chez les traités par la voie digestive. Alors que l'hépatopancréas des traités par la dose 03 (1200ug/g) quelle que soit la voie enregistre une diminution de l'espace inter lobulaire, une dégénérescence partielle des cellules digestives et augmentation des nombres des cellules excrétrices, l'existence d'une rupture de la membrane basale et l'apparition des débris cellulaires en plus nous notons une inflammation chez les traités par voie digestive.

3.2.1.2. Effet du Chrome sur l'histologie de L'hépatopancréas:

En ce qui concerne les effets de chrome sur l'histologie de l'hépatopancréas les observations microscopiques sont les suivantes :

L'hépatopancréas des traités par la dose 01 (**400ug**) quelle que soit la voie présente un aspect normal. Par contre chez les traités par la dose 02 (**800ug**) il y a quelques altérations se manifestés par une diminution de l'espace inter-lobulaire, l'augmentation de nombre des cellules excrétrices et une forte congestion pour les deux voies et l'apparition des infiltrats inflammatoires uniquement pour la voie digestive. Tandis que l'hépatopancréas des traités par la dose 03 (**1200ug**) pour la voie cutanée présente un aspect inflammatoire et une diminution de l'espace inter-lobulaire , une dégénérescence très avancée des cellules digestives et de cellules à calcium pa contre le nombre des cellules excrétrices es augmenté. pour la voie digestive les mêmes changemenparts ont été observés accompagnés par des débris cellulaires.



Figure 35: Coupe histologique de l'hépatopancréas des escargots témoins (G×10×10)

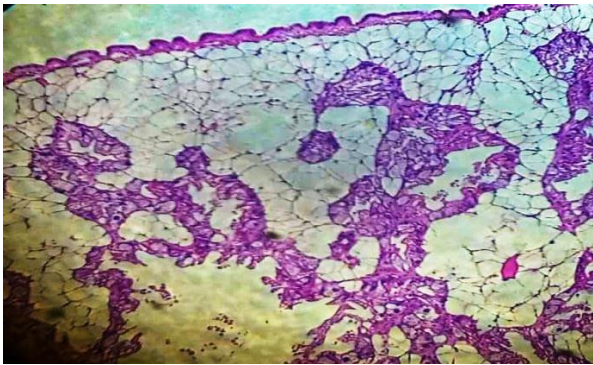


Figure 36: Coupe histologique de l'hépatopancreas des escargots traités par dose 01 de plomb voie cutanée (G×10×10)

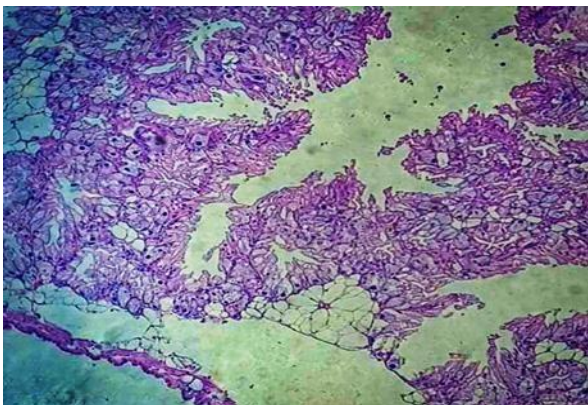


Figure 38: Coupe histologique l'hépatopancreas des escargots traités par dose 02 de plomb voie cutanée (G×10×10)

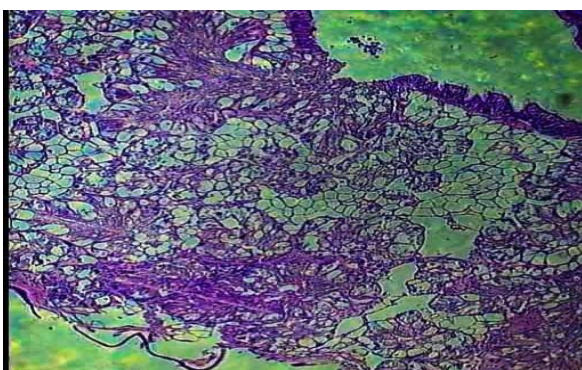


Figure 40: Coupe histologique du l'hépatopancreas des escargots traités par dose 03 de plomb voie cutanée (G×10×10)

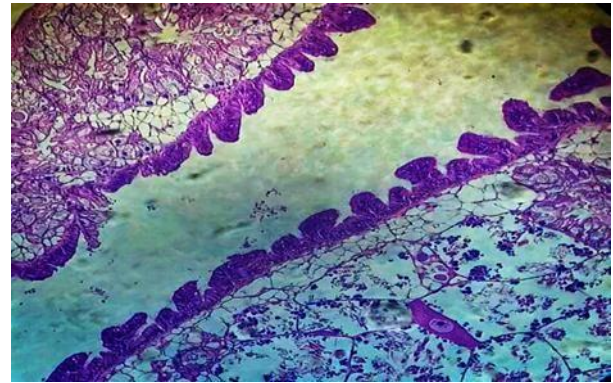


Figure 37: Coupe histologique de l'hépatopancreas des escargots traités par dose 01 de plomb voie digestive (G×10×10)

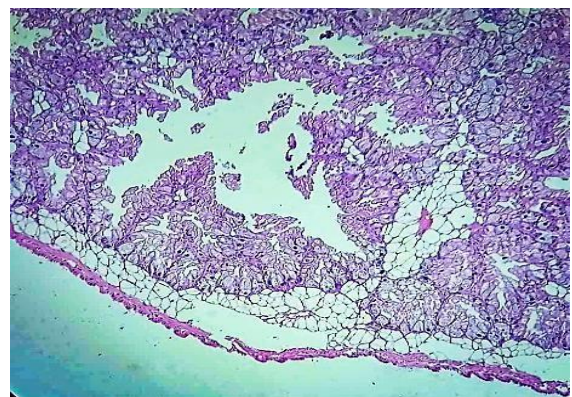


Figure 39: Coupe histologique de l'hépatopancreas des escargots traités par dose 02 de plomb voie digestive (G×10×10)

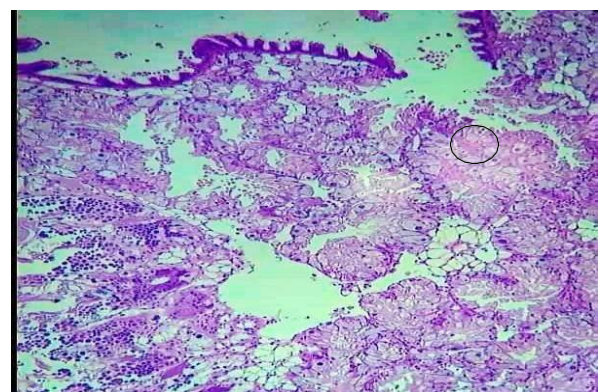


Figure 41: Coupe histologique de l'hépatopancreas des escargots traités par dose 03 de plomb voie digestive (G×10×10)

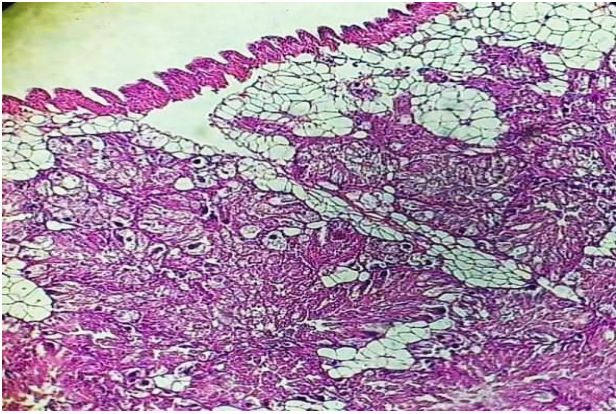


Figure 42: Coupe histologique de l'hépatopancreas des escargots traités par dose 01 de chrome voie cutanée (G×10×10)

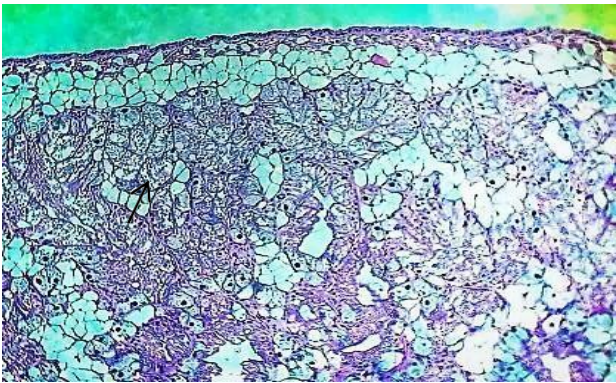


Figure 44: Coupe histologique l'hépatopancreas des escargots traités par dose 02 de chrome voie cutanée (G×10×10)

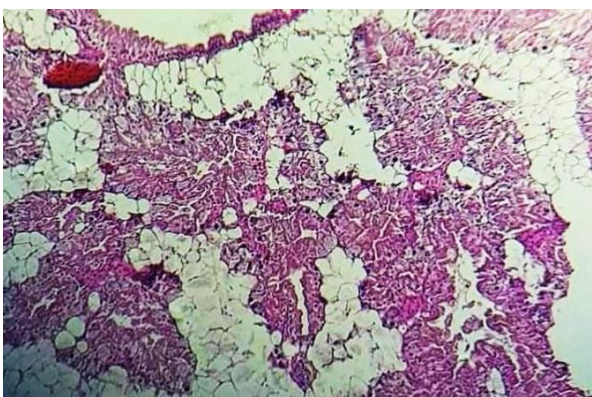


Figure 46: Coupe histologique de l'hépatopancreas des escargots traités par dose 03 de chrome voie cutanée (G×10×10)

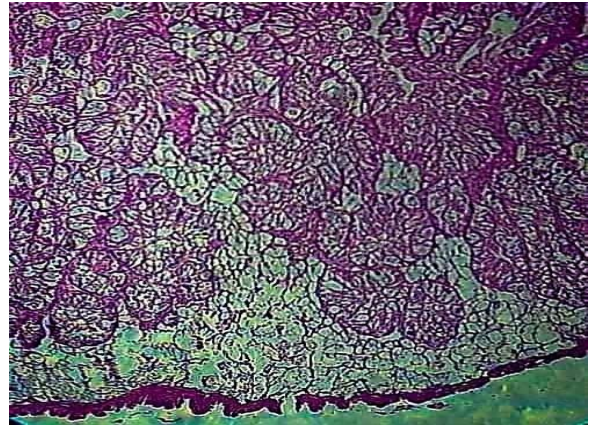


Figure 43: Coupe histologique de l'hépatopancreas des escargots traités par dose 01 de chrome voie digestive (G×10×10)

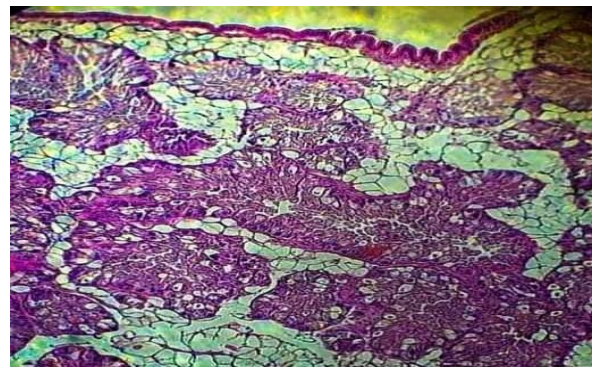


Figure 45: Coupe histologique l'hépatopancreas des escargots traités par dose 02 de chrome voie digestive (G×10×10)

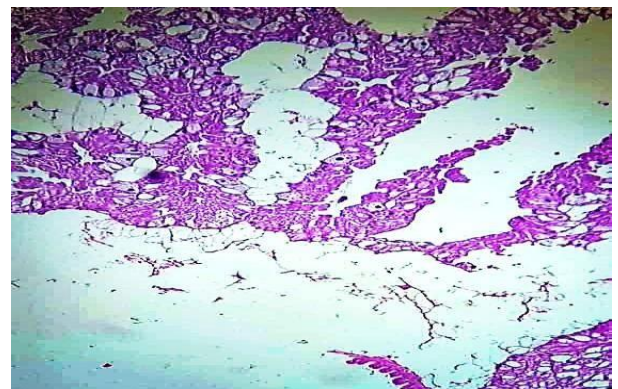








Figure 47: Coupe histologique de l'hépatopancreas des escargots traités par dose 03 de chrome voie digestive (G×10×10)

Légende :

	:	Rupture de la membrane basale
	:	Diminution de l'espace interlobulaire
	:	Débris cellulaire
	:	Augmentation des cellules excrétrice
	:	Inflammation
	:	Augmentation des cellules digestives

3.2.2. Effets du plomb et du chrome sur l'histologie du pied :

Les figures représentent les observations microscopiques des coupes histologiques effectuées au niveau du pied, témoins et traités.

Chez les témoins le pied est recouvert d'un tégument, dont le tégument de la région antérieure de l'escargot est formé d'un épithélium simple cubique à prismatique, soutenu par un tissu conjonctif épais contenant des fibres musculaires lisses nombreuses. Les cellules épithéliales portent une ciliature apicale irrégulière et des cellules glandulaires profondes sont observées (mucocytes et cellules sécrétoires) (Heusser et Dupuy., 2011).

3.2.2.1. Effet du plomb sur l'histologie du pied

En ce qui concerne les tissus des escargots traités par le plomb les observations microscopiques sont comme suite :

Chez les escargots traités par la dose 01 (**400ug**) quel que soit la voie cutanée ou digestive le pied est dans son état normal. Il n'est pas atteint à cette dose. Par contre chez les traités par la dose 02 (**800ug**) par voie cutanée on remarque l'existence d'une rupture de la membrane basale et une augmentation de volume des mucocytes par contre on remarque uniquement une rupture de la membrane basale chez les traités par la voie digestive. Alors que l'examen histologique des traités par la dose 03 (**1200ug**) met en évidence des altérations plus marquées représentent par des

ruptures de la membrane basale ; une augmentation de volume des mucocytes, augmentation des cellules sécrétoires chez les traités par la voie cutanée et seulement une rupture de la membrane basale chez les traités par la voie digestive.

3.2.2.2. Effet du chrome sur l'histologie du pied

Concernant les tissus des escargots traités par le chrome les observations microscopiques sont comme suite :

Les traités par la dose 01 (**400 ug**) quelle que soit la voie cutanée ou digestive le pied est dans son état normal, Tandis que les traités par la deuxième dose (**800 ug**) pour les deux voies il y a une augmentation de volume des mucocytes. Pour ce qui est des traités par la troisième dose (**1200 ug**) on observe les mêmes altérations tissulaires que dans la deuxième dose accompagnées par une augmentation des cellules sécrétoires pour les deux voies et une rupture de la membrane basale notamment chez les traités par la voie cutanée.

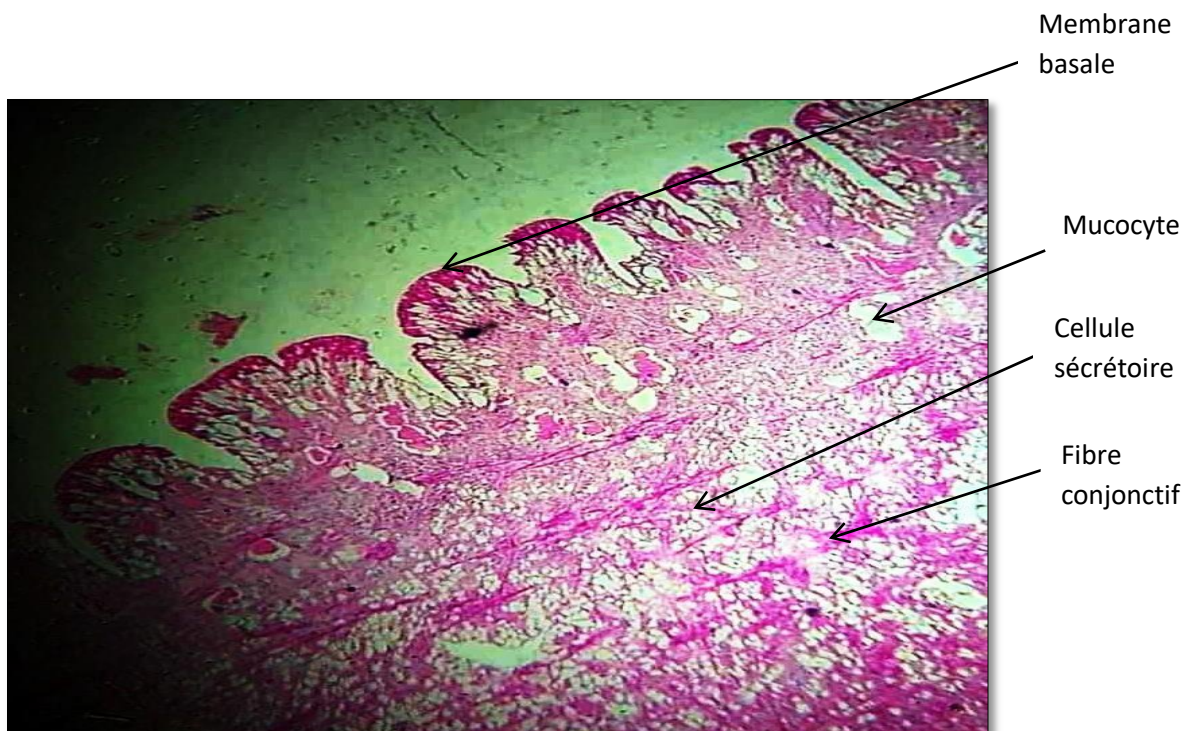


Figure 48: Coupe histologique du pied des escargots témoins (G×10×10)

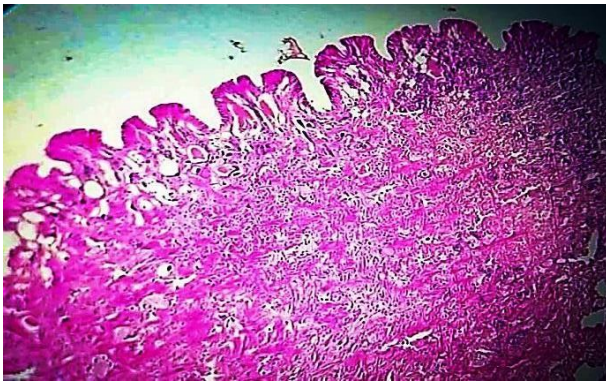


Figure 49: Coupe histologique du pied des escargots traités par dose 01 de plomb voie cutanée (G×10×10)

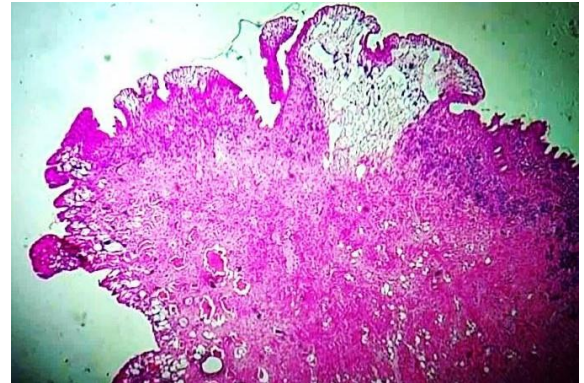


Figure 50: Coupe histologique du pied des escargots traités par dose 01 de plomb voie digestive (G×10×10)

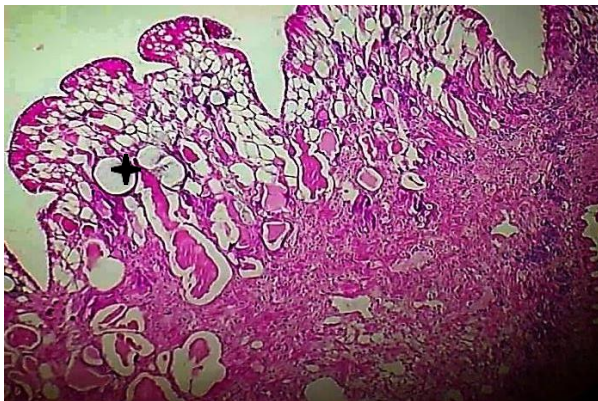


Figure 51: Coupe histologique du pied des escargots traités par dose 02 de plomb voie cutanée (G×10×10)

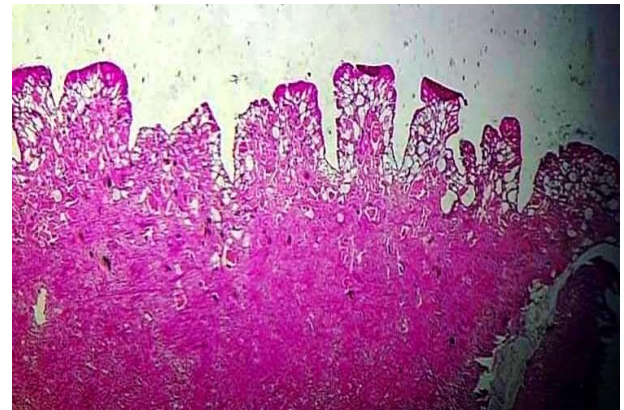


Figure 52: Coupe histologique du pied des escargots traités par dose 02 de plomb voie digestive (G×10×10)

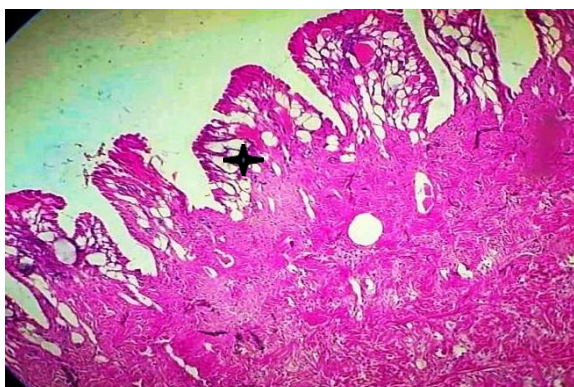


Figure 53: Coupe histologique du pied des escargots traités par dose 03 de plomb voie cutanée (G×10×10)

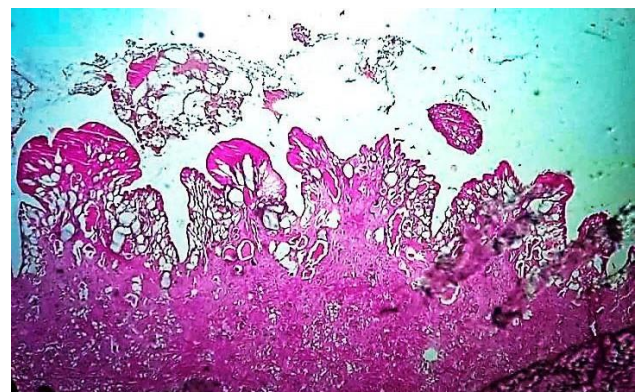


Figure 54: Coupe histologique du pied des escargots traités par dose 03 de plomb voie digestive (G×10×10)

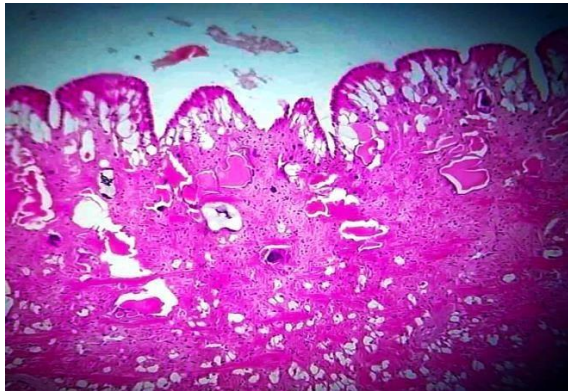


Figure 55: Coupe histologique du pied des escargots traités par dose 01 de chrome voie cutanée (G×10×10)

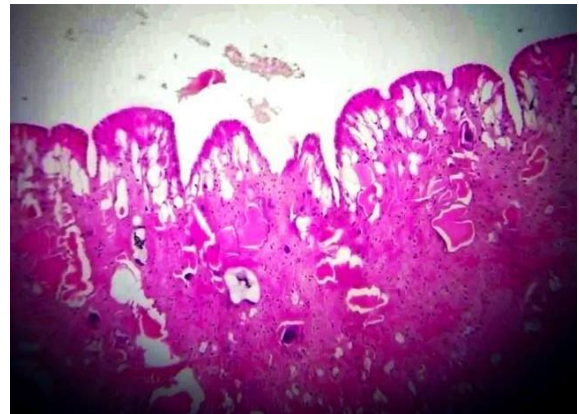


Figure 56: Coupe histologique du pied des escargots traités par dose 01 de chrome voie digestive (G×10×10)

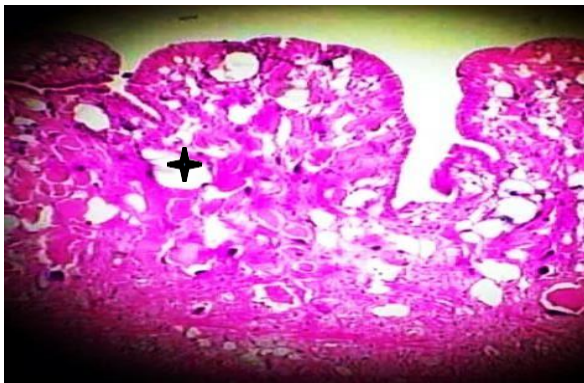


Figure 57: Coupe histologique du pied des escargots traités par dose 02 de chrome voie cutanée (G×10×10)

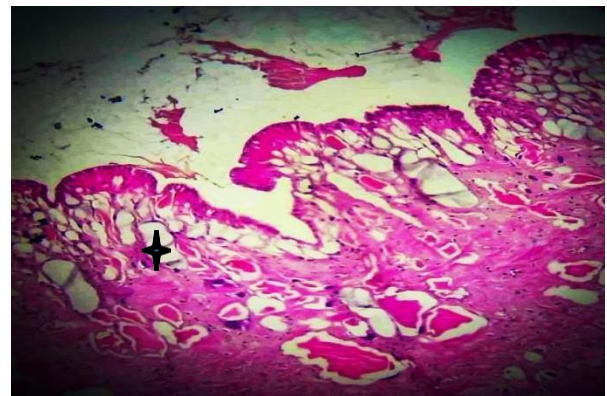


Figure 58: Coupe histologique du pied des escargots traités par dose 02 de chrome voie digestive (G×10×10)



Figure 59: Coupe histologique du pied des escargots traités par dose 03 de chrome voie cutanée (G×10×10)

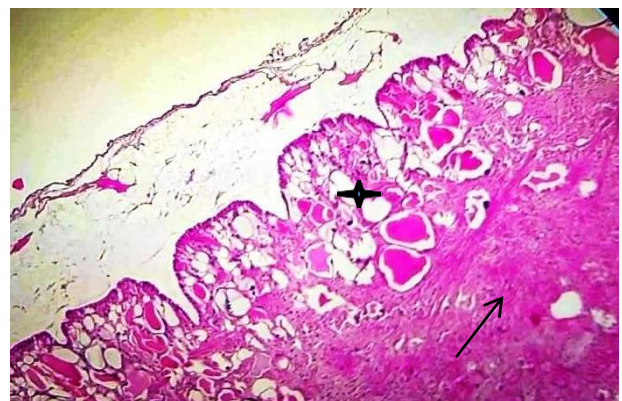





Figure 60: Coupe histologique du pied des escargots traités par dose 03 de chrome voie digestif (G×10×10)

Légende :

	: Rupture de la membrane basale
	: Augmentation de volume des mucocyte
	: Augmentation des cellules sécrétrices

4. Discussion :

4.1. Accumulation du plomb et du chrome au niveau de l'hépatopancréas et le pied d'*Hélix aspersa*

L'accumulation des métaux par les organismes invertébrés est le résultat des processus d'absorption-et assimilation, de distribution, de stockage et d'excrétion (Dallinger., 1993). Lorsque les métaux sont absorbés, les gastéropodes terrestres ont une stratégie de non-régulation qui serait conditionnée, d'une part, par le métabolisme du calcium un constituant majeur du corps des escargots (Notten *et al.*, 2005), et d'autre part, par la nécessité d'éviter les pertes excessives d'eau (Dallinger *et al.*, 2001).

L'évaluation de l'accumulation des ETM de *Hélix aspersa* repose sur la mesure des concentrations internes après une durée d'exposition donnée, généralement à moyen ou à long terme a permis d'évaluer les capacités d'accumulation de *H. aspersa*, l'intensité du transfert des ETM depuis l'environnement (nourriture et/ou sol) et d'estimer, dans une première approche, leur biodisponibilité (Gimbert., 2006).

Les métaux considérés dans notre étude (**plomb et chrome**), sont dosés dans l'hépatopancréas et le pied des *H aspersa* après traitement à des concentrations croissantes en **Pb** et **Cr** par deux voies complémentaires (digestive et cutanée) durant 6 semaines.

Dans notre travail, nous avons montré que la concentration des deux métaux au niveau des deux organes analysés (hépatopancréas et pied) et pour les deux voies de contamination (digestive et cutanée) augmente de manière dose-dépendante en présence de plomb et chrome. L'accumulation de ces deux métaux par les mollusques gastéropodes est liée à leurs concentrations environnementales et à leur biodisponibilité à l'intérieur de l'organisme (Coeurdassier., 2001), comme l'indiquent (Viard *et al.*, 2004) qui ont mis en évidence une grande capacité d'accumulation des ETM, les plus fréquents (Cd, Cu, Zn, Pb et Cr) chez les mollusques gastéropodes.

En effets la concentration élevée en plomb et en chrome retrouvé dans les tissu des escargots indique une accumulation importante de ces métaux du a la prise de la nourriture contaminé par les ETM ainsi que l'exposition de ces derniers au sol contaminé au cours de l'expérience, cette accumulation se fait par ingestion direct de particules du sol ou par diffusion cutané à travers l'épithélium du pied (Gomot *et al.*, 1989; Vaufleury et Pihan., 2002).

Selon **Chabicovsky et al., 2003** la grande affinité de la glande digestive vis-à-vis des métaux lourds est probablement liée à la capacité d'absorption et la phagocytose possible des particules qui se produit dans la glande digestive. Après l'absorption, les gastropodes terrestres accumulent d'importantes quantités des ETM en les séquestrant dans des structures intercellulaires spécifiques dans la synthèse et induite par la présence des métaux, cependant (**Grara., 2011**) dans une étude sur les escargots traités par les poussières métalliques a mis en évidence une accumulation importante du Pb au niveau de l'hépatopancréas et du pied par la voie digestive. Le Pb stimule l'activité lysosomale de plusieurs espèces de gastéropodes et s'accumule dans des granules de lipofuscine des cellules digestives de l'hépatopancréas (**Coeurdassier., 2001**).

Selon **Gomot., 1998**, pour l'ensemble des espèces des gastéropodes qu'il a étudié (*Hélix pomatia*, *Arianta arbustorum*, *Arion ater*, *Cepaea hortensis* et *Arion subfuscus*), le principal organe d'accumulation de Cd, Pb et Zn est l'hépatopancréas. En situation contaminée, il contient 70 à 90% de la quantité totale accumulée. D'autres tissus participent au stockage de ces métaux soit de façon temporaire, les métaux étant redirigés ensuite vers l'hépatopancréas, soit de façon définitive pour être excrétés à plus ou moins long terme.

Le pied et l'intestin dit organe secondaires jouent un rôle important dans le stockage de ces ETM, soit de façon définitive pour être excrétés soit d'une façon temporaire.

Enfin les travaux sur l'accumulation et la toxicité du chrome sont nombreux on peut citer celle de **Boumaaza., 2015** qu'elle a évalué des concentrations importantes en chrome dans des sites pollués.

Les mollusques gastropodes en particulier sont connus par leur capacité d'accumulation des métaux lourds les plus fréquents à savoir le Pb, ainsi toutes les études sur les bio-indicateurs convergent vers l'idée que l'espèce *hélix aspersa* est un excellent modèle biologique pour toutes les études éco-toxicologiques, toxicologiques et pour la compréhension des mécanismes d'action des xénobiotiques (**Ait Hamlet et al., 2012 ; Gara., 2011**). Ils sont également sensibles vis-à-vis des xénobiotiques variés tel que les ETM (**Gomot., 1997**), ou encore les nanoparticules (**Boucenna., 2016**).

4.2. Effets du plomb et du chrome sur l'histologie de l'hépatopancréas et du pied d'*Helix aspersa* :

L'examen histologique de l'hépatopancréas d'*Helix aspersa* traité par deux éléments métalliques (**Chrome et Plomb**) à des concentrations croissantes et par deux voies (digestive et cutanée) a mis en évidence des altérations qualitatives importantes dès la faible concentration testée, ce qui confirme la pénétration des deux xénobiotiques (**Chrome et Plomb**) à travers les tissus et les organes de l'escargot, indiquant ainsi une accumulation importante des ETM sous forme de petites vésicules de 2 à 4 µm au niveau des cellules à calcium de la glande digestive.

L'hépatopancréas est l'organe le plus important dans la détoxification des xénobiotiques chez les mollusques. Cet organe est responsable de la production d'enzymes digestives, l'absorption des nutriments et la digestion par endocytose de substances alimentaires, et de l'excrétion (**Owen., 1996**). L'exposition aux métaux lourds peut causer des altérations cytologiques et ultra structurales très importantes au niveau de l'hépatopancréas (**Frias et al., 2008**). Ces altérations peuvent être utilisées en tant que bio marqueurs d'exposition aux métaux (**Amaral et al., 2004**).

Dans notre étude, nous avons mis en évidence au niveau de l'hépatopancréas des nécroses cellulaires ainsi qu'une prolifération des cellules excrétrices et une dégénérescence des cellules digestives chez les escargots exposés aux différentes concentrations de **Pb** et **Cr**. Selon (**Yager et Harry., 1963**), les ETM détériorent la dynamique des cellules et endommagent leurs membranes. De ce fait, l'échange intercellulaire et la fluidité sont perturbés. En conséquence, la diffusion des ETM augmente dans les cellules causant ainsi une nécrose cellulaire. La perte des cellules digestives semble être une réponse générale après une exposition aux métaux lourds chez les gastéropodes terrestres et elle est reliée principalement à la détérioration du processus digestif provoqué par la présence des particules métalliques (**Zaldibar et al., 2008; 200**), ainsi la prolifération des cellules excrétrices et les changements dans leur proportion après exposition chronique à des polluants semblent être une réponse générale chez les mollusques. (**Marigomez et al., 1996 a; 1998 b**). Plus récemment, des études ont également permis de révéler la présence d'altérations au niveau du tissu hépatopancréatique chez les escargots exposés à différents contaminants. On peut ainsi citer l'étude de (**Boucenna., 2015 et Amez., 2021**) menée sur les escargots *Helix aspersa* exposés aux métaux lourds.

Le pied est un organe important du métabolisme, de l'accumulation, de la biotransformation, et de l'excrétion de nombreux xénobiotiques, il fait partie des organes les plus étudiés (**Zaldibar et al., 2008**).

Les résultats obtenus concernant l'examen histologique du pied montrent des altérations cytologiques et ultrastructurales importantes au niveau de cet organe chez *Hélix aspersa*.

Notre étude histologique montre que les éléments traces métalliques provoquent des atteintes tissulaires sans équivoque. En effet l'examen histologique de l'épithélium pédieux met en évidence l'apparition d'infiltrats inflammatoires, lymphoplasmocytaires ainsi que des ruptures au niveau de la membrane basale d'une façon dose dépendante et ceux pour les traités par les deux métaux et les deux voies ces altérations sont plus marquées chez les traités par voie cutanée, ceci pourrait être une première réponse biologique due à la présence des xénobiotiques, ces observations sont en accord avec les travaux de (**Tadjine., 2007**), de (**Russell et al., 1981**) et de (**Chabicovsky et al., 2004**).

Conclusion et perspectives

La présente étude vise à évaluer l'accumulation de deux métaux toxiques (Plomb, Chrome) chez un modèle d'organisme bio accumulateur/ bio indicateur *Helix aspersa*, utilisées comme espèces sentinelles de la contamination des écosystèmes, et ce à travers la contamination en conditions contrôlées des individus adultes d'*H.aspersa* par des concentrations croissantes en Pb et Cr par deux voies: cutanée et digestive.

Dans le cadre de notre travail, nous avons étudié deux aspects possibles de l'expression de la toxicité des métaux :

- ✓ La bioaccumulation du Pb et du Cr au niveau de deux organes (hépatopancréas et pied)
- ✓ les altérations histologiques, provoquées par ces métaux

L'analyse des données concernant la bioaccumulation confirme le fort potentiel bio indicateur d'*Helix aspersa* en ce qui concerne les éléments métalliques :

Les résultats ont montré une forte accumulation du chrome et du plomb dans les deux organes (hépatopancréas et pied) mais majoritairement au niveau de l'hépatopancréas, et ce pour les deux voies de contamination des escargots. Cette accumulation de particules métalliques est accompagnée d'atteintes histologiques sur les deux organes cibles.

Les résultats obtenus dans le cadre de cet étude ouvrent certaines perspectives d'étude qu'il serait judicieux d'entreprendre :

- L'étude de la contamination des sols avec d'autres ETM tels que : le mercure et le cadmium qui sont très nocifs pour les êtres vivants.
- Poursuivre cette étude en prenant compte des paramètres physico chimique et faire plusieurs prélèvements afin de réunir le maximum d'information sur les niveaux de contamination
- Associé les études sur le dosage des métaux lourds dans les organismes vivants à ceux des bio-marqueurs.
- Mettre en place un réseau de surveillance des écosystèmes terrestres par dosage des métaux lourds dans des organismes bio indicateurs spécialement ceux qui se situent à la base de la chaîne alimentaire et qui sont responsables de la contamination du réseau trophique

Références bibliographique :

- **Aakrame, R. B., 2015.** Caractérisations hydro-chimiques toxicologiques et évaluation des risques sanitaires des eaux souterraines de la région de Sidi-Kacem (MAROC). Thèse de doctorat de l'université Mohamed V (MAROC) .224p.
- *Air. Soi lPollut.* 174: 63-91.
- **Ait-Hamlet S., Bensoltane S., Djekoun M., Yassi F., Berrebbah H., 2012.** Histological changes and biochemical parameters in the hepatopancreas of terrestrial gastropod *Helix aspersa* as biomarker of neonicotinoid insecticide exposure. *African Journal of Biotechnology*. 11 (96):16277-16283.
- **Albers, P., Heinz, G.H., Ohlendorf, H.M., 2000.** Environmental contaminants and terrestrial vertebrates: effects on populations, communities, and ecosystems. *Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC)*, Pensacola, Florida.
- **Amara, A., Bisson, M., Hulot, C., et Marescaux, N., 2016.** Fiche de données toxicologie.
- **André F., 1968.** Zoologie des invertébrés. Tome 1. Ed. Masson et Cie, Paris : 798p
- **Aupinel, P., 1984.** Etude d'*Helix aspersa*. l'importance de l'hibernation pour la reproduction de l'escargot « Petit-gris » D.E.A de l'université de Rennes.
- **Awad El kari, M.A, A.S.Hamed, y A.Elhaimi, Y. Osman, et M.A.El Karim., 1986.** Effect of exposure to lead among lead acid battery factory workers insudan. *Arch environ Heath*, 41, (4) ,265.
- **Bailey S.E.R., 1981.** Circannual and circadian rhythms in the snail *Helix aspersa* Müller and the photoperiodic control of annual activity and reproduction. *Journal of Comparative Physiology*, 142: 89-94.
- **Barker G.M. 2001.** The Biology of Terrestrial Molluscs. *CAB International, Oxon, Wallingford, UK.* 567p.
- **Barker, G.M., 2001.** The Biology of Terrestrial Molluscs. CAB International, Oxon, Wallingford, UK, 567 pages.
- **Beaumont A, Cassier P., 1970.** Travaux pratique de biologie animale : *Zoologie, embryologie, histologie, Dunod, PARIS*, pp : 472.
- **Beaumont A., Cassier P., 1998.** Travaux pratique de biologie animale, *Zoologie, Embriology Histologie, Dunod, Paris.* 502P
- **Beeby, A., 1985.** The rôle of *Helix aspersa* as a major herbivore in the transfer of lead through a polluted ecosystem. *Journal of Applied Ecology*, 22, 267-275.
- **Berger B. et Dallinger R., 1993.** Terrestrial snails as quantitative indicators of environmental pollution. *Environmental Monitoring and Assessment*, 25: 6584.

- **Bertin, G., Averbek, D., 2006.** Cadmium: cellular effects, modifications of a biomolecules, modulation of DNA repair and a genotoxic consequences (a review). *Biochimie* 88, 15491559.
- **Bertrand, S., et Renaud, J.M., 2004.** Je construis mes apprentissages en sciences en premier degré. PP.1-43.
 - biomarkers in biomonitoring: a 2-tier approach assessing the level of pollutant-induced
- **Bliefert, C., et R., 1986.** Chimie de l'environnement, Air, Eau, Sols, Déchets 2^e édition de Boeck., Bruxelles 478p.
- **Bonnet J.C., Vrillon J.L. 1990.** L'escargot *Helix aspersa* biologie – élevage. Edition INRA. 14-15p.
- **Bonnet J.C., Vrillon J.L., 1990.** L'escargot *Helix aspersa*, biologie, élevage. Du labo au terrain, INRA, 1-5. Born de sites tunisiens en conditions contrôlées : influence de la photopériode.
- **Bonnet, A P., 1990.** L'escargot, Quae, Paris, pp 124
- **Bouaziz-Yahiatene H., 2017.** Diversité et bio écologie des gastéropodes terrestres dans la région de Tizi-Ouzou. Thèse UMMTO, 138P
- **Boucenna, M., Berrebach, H., Atailia, A., Gara N., Djebbar M.R., 2015.** *Global Veterinaria*.14(2) 189-198.
- **Boucenna, M., 2016.** Etude de la toxicité des particules métalliques d'origine industrielle chez *Helix aspersa*. Evaluation nanotoxicologique du Fe₂O₃ et Al₂O₃. Thèse de Doctorat Université Badji Mokhtar-Annaba. 193p.
- **Boué H., Chanton R., 1958.** Zoologie I. Invertébrés 2. Doin. Ed. Paris, 542p
- **Boumaaza F., 2015.** Evaluation de l'état de santé des eaux du golfe d'Annaba à travers un Mollusque Gastéropode *Pattella caerulea* (L., 1758): paramètres écologiques et biochimiques.
- **Bur, T., 2008.** Imacp anthropique sur les éléments traces métalliques dans les Sols agricoles de Midi-Pyrénées Implication en termes de limites et de charges critiques, Thèse de doctorat de l'institut National poly technique de Toulouse (INPT), Toulouse, France, 399P.
- **Chabicovsky, M., Klepal, W., Dallinger, R., 2004.** Mechanisms of cadmium Toxicity in terrestrial pulmonates programmed cell death and metallothioneins overload. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 23,648- 655.
- **Chabicovsky, M., Niederstatter, H., Thaler, R., Hodl, E., Parson, W., Rossmanith, W., Dallinger, R., 2003.** Localisation and quantification of Cd and Cu-specific metallothionein

is form mRNA in cells and organs of the terrestrial gastropod *Helix pomatia*. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 190:25-36.

- **Chevallier, H., 1980.** L'escargot du genre *Helix aspersa* commercialisées en France Haliotis. 10
- **Coeurdassier M., Saint-Denis M., Gomot-de Vaufleury A., Ribera D., Badot P.M., 2001.** The garden snail (*Hélix aspersa*) as 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.
- **Coeurdassier, M., Gomot-de Vaufleury, A., Lovy, C., BADOT P M., 2002.** *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 53, 425-431.
- **Coeurdassier, M., Saint Denis, M., Gomot-de Vaufleury, A., Ribera, D., Badot, P.M., 2001.** *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20, 1991-1957.
- **Cooke, M., Jackson A., Nickels, G., Roberts D J., 1979.** *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*.23.445-451.
- **Cortet J., Gomot de Vauflery A., Poinot-Balaguer N., Gomot L., Texier C. & Cluzeau D., 1999.** The use of invertebrate soil fauna in monitoring pollutant effects. *European Journal of Soil Biology*, 35 (3): 115-134.
- **Crowell, H. H., 1973.** Laboratory study of calcium requirement of the brown.
- **Daby, D., 2006.** Coastal pollution and potential biomonitors of metals in Mauritius. *Water*.
- **Daguzan, J., 1981.** Contribution à l'élevage de l'escargot petit-gris *Hélix aspersa* Müller. Reproduction et éclosion des jeunes en bâtiment et en conditions thermographique contrôlées. *Ann Zootech* 30, p249-272.
- **Dallinger, R., 1993.** Stratégies of métal détoxification in terrestrial invertebrates. In *Ecotoxicology of metals in Invertebrates* (edited by Dallinger E. et Rainbow R), pp. 245-289. Lewis Publisher, Boca Raton, FL, USA.
- **Dallinger, R., Berger, B., Tribskorn, R., Köhler, H., 2001.** Soil biology and ecotoxicology. In: Barker, G.M. (Ed.). *The biology of terrestrial molluscs*. CAB International, Oxon, Wallingford, UK, 489-525.
- **Dallinger, R., Berger., Tribskom R., Köhler H., 2001.** CAB International, Oxon, Wallingford, Uk, 489-525.
- **Dallinger, R., Rainbow, P.S. (Eds.) , 1993.** *Ecotoxicology of metals in invertebrates*. Lewis publishers, Boca raton, Florida, USA
- **Dangelie., P.1999.** Statistique théorique et appliqué .Tome 2.Université De Boeck and larcier, Belgium, 659p.

- **De Vaufleury, A., Coeurdassier, M., Pandard, P., Scheifler, R., Lovy, C., Crini, N., Badot, P.-M., 2006.** How terrestrial snails can be used in risk assessment of soils. *Environmental Toxicology and Chemistry* .25, 797–806.
- **Druart, C., Millet, M., Scheifler, R., Delhomme, O., Rappel, C., De Vaufleury, A., 2011.** Snails as indicators of pesticide drift, deposit, transfer and effects in the vineyard. *Sci. Total Environ.* 409, 4280–4288.
- *Ecological Indicators.* 6(1):114-136.
- **Escher B.I. et Hermens J.L.M., 2002.** Modes of action in ecotoxicology: their role in body burdens, species sensitivity, QSARs, and mixture effects, *Environmental Science and Technology*, 36, 4201-4217.
- **Fairbrother, A., Wenstel, R., Sappington, K., Wood,W., 2007.** Frame work for metals risk assessment. *Ecotoxicology and Environmental Safety.* 68, 145-227.
- food chain in polluted ecosystems of Biesboch National Park. Amsterdam, Pays-Bas.
- **Fränze, O., 2006.** Complex bioindication and environmental stress assessment.
- **Gabe, M., 1968.** Techniques histologiques, Masson et Cie Editeurs, Paris., 1113 p.
- **Galloway., TS., Depledge, M.H., 2001.** Immunotoxicity in invertebrates: measurement and ecotoxicological relevance. *Ecotoxicology.* 10: 5-23.
- **Gara N., Berrebah H., Rouabhi R., Atilia A., et Djebbar M.R., Global Veterinaria 2009** 276-280.
- **Gimbert F., 2006.** Cinétique de transfert de polluants métalliques de sol à l’escargot. Thèse de Doctorat de l’université de franche –comité. France .192p.
- **Gimbert, F., De Vaufleury, A., Douay, F., Scheifler, R., Coeurdassier, M., & Badot, P.M., 2006.** Modelling chronic exposure to contaminated soil: A toxicokinetic approach with the terrestrial snail *Helix aspersa*. *Environ. Int.*, 32, 866–875.
- **Gomot A., 1998.** Toxic effects of cadmium on reproduction, development, and hatching in the freshwater snail *Lymnaea stagnalis* for water quality monitoring. *Ecotoxicology and Environmental Safety.* 41(3):288-297.
- **Gomot A., Gomot L., Boukraa S., Bruchert S., 1989.** Influence of soil on the growth of the land snail *Helix aspersa* .An experimental study of the route for the stimulating factors. *Jornal of Molluscan studies.* 55:1-7
- **Gomot de Vaufleury A., 2000.** Standardized growth toxicity testing (Cu, Zn, Pb, and Pentachlorophenol) with *Helix aspersa*. *Ecotoxicology and Environmental Safety.* 46:41-50.
- **Gomot L., Deray A., 1987.** Les escargots. *La Recherche.* 186:302-311.
- **Gomot, A., 1997.** *Bull. Acad. Natle.Med,* 181, 59-75.

- **Gomot, A., 1997.** Dose-dépendent effects of cadmium on the growth of snails in toxicity bioassays. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 33:209-216.
- **Gomot-de Vaufleury, A., Kerhoas, I., 2000.** Effects of cadmium on the reproductive system of the land snail *Helix aspersa*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 64, 434-442.
- **GOYER, R, Lead In., 1977.** Bingham, cohrrsen B., Powell c, *editors.pattys toxicology.*
- **Grara N., 2011.** Evaluation de la toxicité de certains polluants industriels sur un animal bioaccumulateur (gastéropode *Helix aspersa*) : Cas des métaux .Thèse de Doctorat Université Badji Mokhtar-Annaba. 280p.
- **Grasse P.P., et Doumenc D., 1995.** Zoologie I. Invertébrés. Masson, Paris. *5eme édition*, 263p.
- **Guyard A., 2009.** Cours de zoologie-étude de la différenciation de l'ovistes et des facteurs contrôlant l'orientation des gonocytes de l'escargot *Helix aspersa Muller*. Thèse d'état soutenue à la faculté des sciences de l'Université de Franche-Comté, 117p
- **Heusser S. et Dupuy H. G., 2011.** Synthèse de la structure tissulaire à la réalisation des fonctions chez les gastéropodes pulmonés (I), éléments d'histologie et de physiologie des espèces *Helix aspersa* et *Helix pomatia*. *Folia conchyliologica* N°10, 26 p.
- **Heusser S., et Dupuy H.G., 2011.** Synthèse de la structure tissulaire à la réalisation des fonctions chez les gastéropodes pulmonés (1), éléments d'histologie et de physiologie des espèces *Helix aspersa* et *Helix pomatia*. *F. conchylio.*, 10-26.
- **Huj, Y., Mao et K.Whith., 2002.** Rénal cell carcinoma and occupational exposur to chemical in canada. *occupayional Medicine*,52,157-64.
 - hydrocarbon (PAH) contamination in San Francisco Bay: A 10-year retrospective of
- **INRS., 2018.** Base de donné fiche toxicologiques Plomb et composé minéraux n59.Fiche toxicologique. France : INRS.WWW.INRS.FR/Fichetox.
- **IPCS., 1995.** Inorganique lead.165. *Envirommentale Heath citerai*. Genève OMS
- **Kaiser, J., 2001.** Bioindicators and Biomarkers of Environnemental Pollution and Risk, Assessment (Enfield: Sciences Publisher inc.).
- **Kammenga, J., Laskowski, R. (Eds.), 2000.** Demography in ecotoxicology. John Wiley & Sons Chichester, UK.
- **Kerney M.P., et Cameron R.A.D., 2006.** Guide des escargots et limaces d'Europe, identification et biologie de plus de 300 espèces, Delachaux et Niestle, Lausanne-Paris, 386p
- **Kerney, M., cameroun, R., et Bertrand, A., 2006.** Afied guide to the land snails of Britain and north-West Europe, frenched.paris Delachaux ET Niestlé SA.97P.

- **Kerney, M.p et camroun, R.A.D., 1979.** Afield to the land snails of Britain and NW Europe, *William Collins sons and co.LTD.*, London
- **Koeman, J.H., 1991.** From comparative physiology to toxicological risk assessment, *Comparative Biochemistry and physiology*, 100, 7-10.
- **Lagadic, L., Caquet, T., Amiard, J.C., 1997.** Biomarqueurs en écotoxicologie : principes et définitions (introduction). In: L. Lagadic, T. Caquet, J.C. Amiard, *Biomarqueurs en écotoxicologie, aspects fondamentaux.* Masson, Londrs, Paris, New York, pp. 1-9.
- **Laskowski R., Hopkin S.P., 1996.** Effect of Zn, Cu, Pb, and Cd on fitness in snails (*Hélix aspersa*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 34: 59-69.
- **Lecalve, D., 1989.** Influence of incubation conditions of eggs on the 1st 6 weeks of the growth of snails *Hélix aspersa* Muller (gastropoda, Pulmonata, Stylommatophora). *Bull. Soc. Zool. Fr. Evol. Zool.* 114, 101-110.
- **Malaker, A, Shah, A.L.A., 2013.** Therapeutic potency of anti cancer peptides derved from marine organism. *Int J Eng Appl Sci* 2,35-65.
- **Markert, B.A., Breure, A.M. et Zechmeister, H.G., 2003.** Définitions, stratégies and
- **Martje, J.M.N., 2005.** Origin, transfer and effects of heavy metals in a soil-plant-snail
- **Martoja, R., Martoja P.M., 1967.** Initiation aux techniques de l'histologie animale. Masson et Cie, Paris VI. 345p.
- **MC Carthy J.F., Shugar, L.R., 1990.** Biomarkers of environmental contamination. *Boca Raton Floride, lewis* (Eds).
- **Meglitsch P.A., 1974.** Zoologie des invertébrés, Tome 2, des vers aux arthropodes (Annelides, mollusques, chélicerates). Ed. Dion, Paris, 306p.
- **Michel Rousselet., 1979.** Docteur vétérinaire .L'élevage des escargots 2^e édition du point vétérinaire ISBN : 2-86326-08-5.
- **Miguel, M.G., 2001.** .Les effets de métaux lourds sur l'environnement et la santé office parlementaire évaluation choix scientifique et technologiques. **Rapport 261.paris.** France.265p
 - monitoring in an urbanized estuary. *Environ. Res.*, 105: 1–118.
- **Munawar, M., Hänninen, O., Roy S., Munawar, N., Kärenlampi, L. et Brown, D., 1995.** *Bioindicators of Environmental Health* (New York: SPB Academic Pub).
- **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.
- **Nriagu, 1978.,** The biochemistry of lead inNriagu, Jo.1978, The environnement ; part A. *Ecological cycles, leads in soils, sédiments and major rocktyps.*

- **Nriagu, J.O. et Pacyna, J.M., 1988.** Quantitative Assessment of World wide Contamination of Air, *Water and Soils by Trace Metals*. *Nature*, 333, 134-199
- **Oros, D.R., Ross, J.R.M., Spies, R.B. et Mumley, T., 2007.** Polycyclic aromatic
- **Peakall D., 1994.** Biomarkers: the way forward in environmental assessment. *Toxicol. Ecotoxicol. News.*, 1: 55-60.
- **Peakall, D.W., 1994.** Biomarkers; the way forward in environmental assessment. *toxicology and Ecotoxicology News*. 1: 55-60.
- **Peplow, D., Edmonds, R., 2005.** The effects of mine waste contamination at multiple levels of biological organization. *Ecological Engineering* .24, 101-119.
- **Pirame, S.S.L., 2003.** Contribution à l'étude de la pathologie estivale de l'escargot petit gris (*Hélix aspersa*) : Reproduction expérimentale, Thèse pour l'obtention de garde de docteur vétérinaire, Ecole National Vétérinaire de Toulouse. 99 P
- **Pol D., 2001.** Onde de contraction sur la face ventrale des pieds d'escargots dans biologie animale respiration.
- **Popple I. et Tribune M.G., 2002.** Are snails “Love Darts” Source of Cupid Lore, *National Geographic News*, 63: 211-243.
- **Preece A., 1972.** A manual for histologic technicians. Little, Brown and Company, Boston.
- principles for bioindication/biomonitoring of the environment. *Bioindicators and biomonitors: principles, concepts and applications*, B.A. Markert, A.M. Breure, H.G., Zechmeiter, editors. (*Oxford: Elsevier Science Limited*), pp. 3-39.
- **Quibik., 2007.** Schéma en coupe de l'anatomie d'un escargot. [http:// www.ac-acean.fr](http://www.ac-acean.fr) > circo > IMG > Pdf.org/Escargot#mediaviewer/Fichier :Schéma_Snail_anat 1 Omy-nemebers.Svg.
- **Regoli, F., Gorbi, S., Fattorini, D., Tedesco, S., Notti, A., Machella, N., Bocchetti, R., Benedetti, M., Piva, F., 2006.** Use of the land snail *Hélix aspersa* as sentinel organism for monitoring ecotoxicologic effects of urban pollution: an integrated approach. *Environmental Health Perspectives* .114, 63-69.
- **Russell, L.K., DeHaven, J.I., Botts, R.P., 1981.** Toxic effects of cadmium on the garden snail (*Hélix aspersa*). *Bull. Environm. Contam. Toxicol*, 26, 634-640.
- **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 *Hélix aspersa* and the predatory carabid beetle *Chrysocarabus splendens*. *Chemosphere*. 48, 571-579
- **Shibko S., koivistoinen P., Tratyneck C., Newhall A., Freidman L., *Analyt.Biochem*, 19, 1966. 415-428.**

- **Shore, R.F., Rattner, B.A. Eds. , 2001.** Ecotoxicology of Wild Mammals. *John Wiley et Sons*, London, UK.
 - stress syndrome in sentinel organisms. *Comp. Biochem. Physiol.*, 146 C: 281-300.
- **Sverdrup, L.E., de Vaufleury, A., Hartnik, T., Hagen, S.B., Loibner, A.P., Jensen, J., 2006.** Effects dans uptake of polycyclic aromatic compounds in snails (*Hélix aspersa*). *Environmental Toxicology and Chemistry* 25, 1941-1945.
- **Tadjine, A., 2007.** Impact de la pollution atmosphérique d'origine particulaire sur deux modèles (le rat et le lapin). Approche histologique, biochimique, hématologique et toxicologique. Thèse de doctorat. Université d'Annaba .104 p.
- **Vallardi, F., 1971** La grande encyclopédie du monde animal (Poissons, invertébrés). Tome III : 455-459.
- **Van der Oost R., Beyer J. et Vermeulen N.P.E., 2003.** Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 13(2): 57-149.
- **Van Holde, K.F., et Miller, K.I., 1995.** Hemocyanin. *Adv. Protein Chem* 47, 1-81.
- **Viard B., Maul A., Pihan J-C. 2004.** Standard use conditions of terrestrial gastropods in active biomonitoring of soil contamination. *Journal of Environmental Monitoring*. 6:103-107.
- **Viard, B., Maul, A., Pihan, J.C., 2004 a.** Standard use conditions of terrestrial gastropods in active biomonitoring of soil contamination. *Journal of Environmental Monitoring* 6, 103-107.
- **Viard, B., Maul, A., Pihan, J.C., 2004.** Standard use conditions of terrestrial gastropods in active biomonitoring of soil contamination. *Journal of Environmental Monitoring*, 6, 103-107.
- **Viarengo, A., Lowe, D., Bolognesi, C., Fabbri, E. & Koehler, A., 2007.** The use of
- **Walker, C.H., Hopkin, S.P., Sibly, R.M., Peakall, D.B., 2006.** Principles of ecotoxicology, Third ed. CRC Press Taylor et Francis Group, Boca Raton, FL, USA Wallingford, 489–525
- **Walsh, 1995.** The application for atomic absorption spectra to chemical analysis.
- **Zaldibar B., Cancio I., Soto M., Marigomez I., 2008.** Changes in cell-type composition in digestive gland of slugs and its influence in biomarkers following transplantation.
- **Zaldibar, B., Cancio, I., Soto. M., Marigomez I., 2007.** *Chemosphere*. 70-144-154.
- **Zaldibar, B., Cancio, I., Soto. M., Marigomez I., 2008.** *Environmental pollution*. 156. 367-379.
- Les sites internet :

<http://www.naturaescientia.com>

<http://www.wikimedia.org.B>.



CHAPITRE I :
Matériel & Méthodes



CHAPITRE II :
Résultats



CHAPITRE III :

Discussions



Introduction



Conclusion