



République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة الشاذلي بن جديد الطارف

Université Chadli Bendjedid El-Tarf

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

Présenté en vue de l'obtention d'un Diplôme de Master 2 Recherche

« Toxicologie Fondamentale et appliquée »

THEME



Effet des nanoparticules sur l'escargot terrestre *Helix aspersa*

Présenté par : NOURI INAS

Devant le jury compose de:

Pr NASRI HICHEM	Pr	Président	Université Chadli Bendjedid d'El-Tarf
Dr Gheid Samira	MCA	Examinatrice	Université Chadli Bendjedid d'El-Tarf
Dr Amrani Amina	MCA	Promotrice	Université Chadli Bendjedid d'El-Tarf
Dr Zaidi Hadjer	Phd	Co-promotrice	Université Chadli Bendjedid d'El-Tarf



Remerciement


Je remercie dieu le tout puissant qui m'a permis d'arriver à ce seuil de recherches, pour la patience et de pouvoir mener à bout ce modeste travail.

Mes vifs remerciements vont au **Pr Nasri H.** Professeur multidisciplinaire, faculté science de la nature et de la vie, université Chadli Bendjedid -El Tarf, pour tous les conseils, remarques apportées à cette recherche. C'est un grand honneur pour nous d'avoir accepté de présider l'évaluation de cette étude.

Je tien à remercier, **Dr Gheid S.** Maitre de conférences, faculté science de la nature et de la vie, université Chadli Bendjedid -El Tarf, pour ses conseils majestueux, sa sympathie et sa bonne humeur permanentes. Merci d'avoir accepté de juger ce travail.

A mon encadreur **Dr Amrani A,** Maitre de conférences, faculté science de la nature et de la vie, université Chadli Bendjedid -El Tarf, c'est grâce à vous que j'en suis là aujourd'hui, Merci pour votre confiance, soutien, et votre investissement sans faille afin que je puisse arriver à ce stade.

Je désire aussi remercier **Dr Zaidi H.,** PhD faculté science de la nature et de la vie, université Chadli Bendjedid -El Tarf, qui m'a fourni tous les outils nécessaires à la réussite de mon étude universitaire, pour sa politesse, sa gentillesse, son aide, son encouragement.



Un grand merci à **Mr SEDRATI F.** PhD, université Souk-Ahras et **Mme MAZDOUR A.** ingénieur du laboratoire de recherche « Biodiversité et Pollution des Ecosystèmes » pour leurs conseils, pour les conditions et les moyens qu'ils ont mis à ma disposition pour réaliser ce travail, et les discussions et les débats qui m'ont fait « mûrir » scientifiquement... Merci

Mes parents, ma famille, pour leur soutien constant et leurs encouragements.

MERCI



Dédicace

*Je remercie **dieu** le tout puissant qui m'a permis d'arriver à ce seuil de recherches, pour la patience et le pouvoir mener à bout ce modeste travail*

je dédie ce modeste travail:

*A L'être le plus cher de ma vie, ma mère **NABILA***

*A celui qui m'a fait de moi une telle fille mon père **MASSOUD***

*A mes chers sœurs **IMEN ET ABIR***

*A mon chère frère **ISLEM***

*A mes anges **MOUSLIM ABD BARI, ANIS& TAKWA***

Toutes personnes qui occupent une place dans mon cœur

*A tous les membres de ma famille et tout personne qui porte le nom **NOURI**,*

JeDédie ce travail à tous ceux qui ont participé à ma réussite

Noussa

Liste des figures

Figure	Titre
01	Nanoparticule sous microscope
02	Les dimensions des particules élémentaires et Tableau des puissances de 10 utilisées en physique
03	Les principales voies d'exposition et de pénétration des nanoparticules (Boczkowski et Lanone, 2010)
04	Position de l'antimoine (Sb) dans le tableau périodique des éléments
05	La structure de (a)la sénarmontite(b) la valentinite
06	Le trioxyde d'antimoine sous forme de poudre (photo pers, 2022)
07	Escargot <i>Helix asprsa</i>
08	Elevage des escargots (photo pers. 2022)
09	Le gavage des escargots

Liste des tableaux

N° Tableau	Titre
Tableau 01	Fiche toxicologique de trioxyde antimoine
Tableau 02	Les composés chimiques de l'antimoine
Tableau 03	Les formules de trioxyde antimoine
Tableau 04	Exemples de produits dosés couramment pour la mise en évidence de l'oxydation d'une cible moléculaire donnée
Tableau 05	Variation du taux GSH au niveau de l'hépatopancréas d'escargots terrestre <i>H. aspersa</i> traite par Sb ₂ O ₃
Tableau 06	Variation du taux GST au niveau de l'hépatopancréas d'escargots terrestre <i>H. aspersa</i> traite par Sb ₂ O ₃
Tableau 07	Variation du taux GPx au niveau de l'hépatopancréas d'escargots terrestre <i>H. aspersa</i> traite par Sb ₂ O ₃
Tableau 08	Variation du taux SOD au niveau de l'hépatopancréas d'escargots terrestre <i>H. aspersa</i> traite par Sb ₂ O ₃

Liste d'abréviation

µg	Mico-gramme
CAT	Catalase
CDNB	1-chloro-2,4-dinitrobenzène, ou 2,4-dinitrochlorobenzène
DTNB	Ellman's Reagent; 5,5-dithio-bis (2-nitrobenzoic acid)
GPx	Glutathion peroxydase
GSH	Glutathion
GST	Glutathion-s-transférase
LPO	Peroxydation lipidique
SOD	Superoxyde dismutase
TBA	Acide Thiobarbiturique
TCA	Acide trichloroacétique
nm	Nanomètre
H2O2	Le peroxyde d'hydrogène
ROS	Espèce Réactive d'Oxygène
G	Gramme
BBC	Bleu Brillant De Coomassie

Résumé

Notre étude a porté sur l'évaluation de la toxicité des nanoparticules de dioxyde de l'antimoine (Sb_2O_3) sur un bio indicateur ; l'escargot terrestre *Helix aspersa*. Leurs effets ont été étudiés par une approche ciblée en laboratoire, consistant à évaluer l'effet de ces nanoparticules sur les bio marqueurs du stress oxydatif de l'hépatopancréas d'escargot (GSH, GST, GPx, et SOD). Les escargots ont été exposés à des concentrations croissantes (0.5, 1, 2.5 et 5 mg/kg) de Sb_2O_3 via une exposition aigue par voie orale. Nos résultats montrent que : les nanoparticules de Sb_2O_3 peuvent induire un stress oxydatif, en produisant des espèces réactives de l'oxygène (ROS), ce qui a été confirmé par la variation du GSH et la réduction de son enzyme métabolisant GST, et le déclenchement de système de détoxification entraînant une activité accrue des indices de peroxydation des enzymes de défense GPx et SOD au sein de l'hépatopancréas.

Mots clés : Nanoparticules, trioxyde de l'antimoine, Sb_2O_3 , *Helix aspersa*, hépatotoxicité, biomarqueurs du stress oxydatif

Abstract

Our study focused on the assessment of the toxicity of antimony dioxide (Sb_2O_3) nanoparticles on a bioindicator; the land snail *Helix aspersa*. Their effects were studied by a targeted laboratory approach, consisting in evaluating the effect of these nanoparticles on the biomarkers of oxidative stress in the snail hepatopancreas (GSH, GST, GPx, and SOD). Snails were exposed to increasing concentrations (0.5, 1, 2.5 and 5 mg/kg) of Sb_2O_3 via acute oral exposure. Our results show that: Sb_2O_3 nanoparticles can induce oxidative stress, by producing reactive oxygen species (ROS), which was confirmed by the variation of GSH and the reduction of its metabolizing enzyme GST, and the triggering detoxification system resulting in increased activity of the peroxidation indices of the defense enzymes GPx and SOD within the hepatopancreas.

Keywords: Nanoparticles, antimony trioxide, Sb_2O_3 , *Helix aspersa*, hepatotoxicity, biomarkers of oxidative stress.

Sommaire

Introduction	1
CHAPITRE I : synthèse bibliographique	
I. Généralité	3
I .1. Classification et propriétés des Nanoparticules	4
I.1.1.Origine	4
• Naturel	4
• Anthropique	4
I.1.2. Taille	4
I.1.3.Composition chimique	4
➤ Substances inorganiques	4
➤ Substances organiques	5
I .3. Les voies d'exposition	6
I .4. Toxicité des nanoparticules: le « risque nano »	7
II L'antimoine(Sb)	8
II .1 Les propriétés physicochimique de l'antimoine	8
a. Principe de production	10
II.3 Utilisations de l'antimoine	11
II.3.1 Usages industriels	11
II.3.2 Usages thérapeutiques	11
III. Le Trioxyde d'Antimoine	12
III.1 Caractéristiques générales de Sb_2O_3	12
III.2 La structure d'oxyde d'antimoine	12
Principe de production	13
III.3 Propriétés physicochimiques	14
III.3 La Toxicocinétique de trioxyde d'antimoine	15
III.3 Toxicité de trioxyde d'antimoine Sb_2O_3	15
III.3 .1 Toxicité aigüe	15
III.3 .2 Toxicité chronique	15
Chapitre 2 : matériels et méthodes	

Matériel	16
Matériels chimique	16
Matériels biologique	16
Conditions d'élevage	17
Traitement des escargots	17
Dosages des biomarqueurs du stress oxydant	19
Dosage du glutathion GSH	19
Dosage du GST	20
Dosagez du GPX	21
Dosage du SOD	22
Dosage de protéines	23
Résultats et Interprétation	24
Discussion	34
Conclusion	38
Référence bibliographique	40

Introduction

La nanotechnologie est un domaine scientifique moderne qui joue un rôle dominant dans les aspects de la vie quotidienne. Elle traite la production, la manipulation et l'utilisation de matériaux allant en nanomètres (**Kavitha et al., 2013**). Ainsi, elle concerne principalement les nanoparticules ayant une dimension de 1-100 nm (**Amudha Murugan et al., 2014**) qui sont largement utilisés dans les cosmétiques, aliments et médicaments pour de meilleures performances. (**Gojova et al., 2007**).

Une nanoparticule est définie comme étant une particule dont la dimension est inférieure à 100 nm, sa particularité réside dans le fait que la majorité des atomes qui la constituent se trouve en surface. Cela lui confère une surface d'échanges très importante de plusieurs centaines de mètres carrés par gramme de particule résultant dans des propriétés physiques et chimiques particulières (**LanoneetBoczkowski, 2010**). Cela peut être favorable et être utilisé dans des approches thérapeutiques (transporteurs de médicaments pour leur capacité à franchir les barrières biologiques) ou au contraire défavorable et engendrer une toxicité associée à leur capacité à générer un stress oxydant et à se disperser dans l'organisme (**Oberdorster et al., 2005**).

Les nanoparticules seront classées en quatre nanoparticules métalliques différentes : nanosystèmes, nanoparticules bimétalliques ou en alliage, nanoparticules d'oxyde métallique et nanoparticules magnétiques (**McNamara et Tofail, 2017**).

Les nanoparticules peuvent être selon **LanoneetBoczkowski, (2010)** :

- D'origine naturelle (poussières émises par combustion ou par les volcans, produites par érosion).
- Produites par l'homme de façon non intentionnelle (ou nanoparticules non manufacturées d'origine anthropique).
- Les nanoparticules produites par l'homme de façon intentionnelle (ou nanoparticules manufacturées).

Parmi eux, on trouve l'oxyde de Sb_2O_3 qui est parmi les oxydes métalliques largement trouvés dans la nature, et qui présente des propriétés très intéressantes, utilisé dans des domaines aussi divers et variés tels que les industries pharmaceutiques, électroniques, cosmétiques et médicales.

Le trioxyde d'antimoine est une nanoparticule métallique présente naturellement dans les sols, l'eau et l'air en très petites quantités. La présence de cette molécule dans l'environnement provient des sources naturelles et des émissions liées aux activités humaines. Ses propriétés physiques intéressent de nombreux domaines comme : **le domaine de la santé, La cosmétologie ...**

Les escargots sont classés parmi les indicateurs utiles de la pollution de l'environnement (**Snyman et al., 2002**). Ils ont la capacité d'accumuler des substances toxiques dans leurs glandes digestives, parmi Les escargots de jardin, *Helix aspersa* est très utile pour la bio surveillance de la pollution (**Berger et Dallinger, 1993**). *Helix aspersa* a pas de régime alimentaire spécialisé. Son régime se compose de végétaux ; plantes herbacées, graminées, légumes cultivés,

Notre recherche scientifique a pour objectif d'étudier l'impact lié à l'exposition à une nanoparticule métallique ; le trioxyde d'antimoine sur un bio indicateur de pollution l'escargot *Helix Aspersa* en utilisant une batterie de biomarqueurs de stress oxydant ; le glutathion (GSH), le glutathion-s-transférase (GST), le Glutathion peroxydase (GPx) et la Super-Oxide Dismutase (SOD).

Ce mémoire comporte trois (03) chapitres :

Chapitre I: une synthèse bibliographique sur les nanoparticules et l'oxydes de trioxyde antimoine.

Chapitre II : présente les différentes conditions et techniques expérimentales utilisées dans cette étude.

Chapitre III : présente l'interprétation des résultats & la discussion

Enfin, dans une conclusion générale avec des perspectives.



*Chapitre 01 : synthèse
bibliographique*

Chapitre I ; Synthèse Bibliographique

1. Généralité

Les nanotechnologies est un sujet scientifique que l'on entend de plus en plus, que ce soit dans les revues scientifiques ou tout simplement dans les journaux télévisés. Les possibilités que peut offrir la recherche sur les nanotechnologies sont énormes, elles ont des applications dans divers domaines.

Les nanoparticules est un assemblage d'atomes dont au moins une des dimensions se situe à l'échelle nanométrique (ce qui correspond au « nano-objet » tel que défini par la norme ISO précitée) ou insistent sur leurs propriétés nouvelles (dues au confinement quantique et à leur surface spécifique) qui n'apparaissent que pour des tailles de moins d'une centaine de nanomètres (INRS, 2008). Cela peut être favorable et être utilisé dans des approches thérapeutiques (transporteurs de médicaments pour leur capacité à franchir les barrières biologiques) ou au contraire défavorable et engendrer une toxicité associée à leur capacité à générer un stress oxydant et à se disperser dans l'organisme. (Oberdorster et al., 2005).

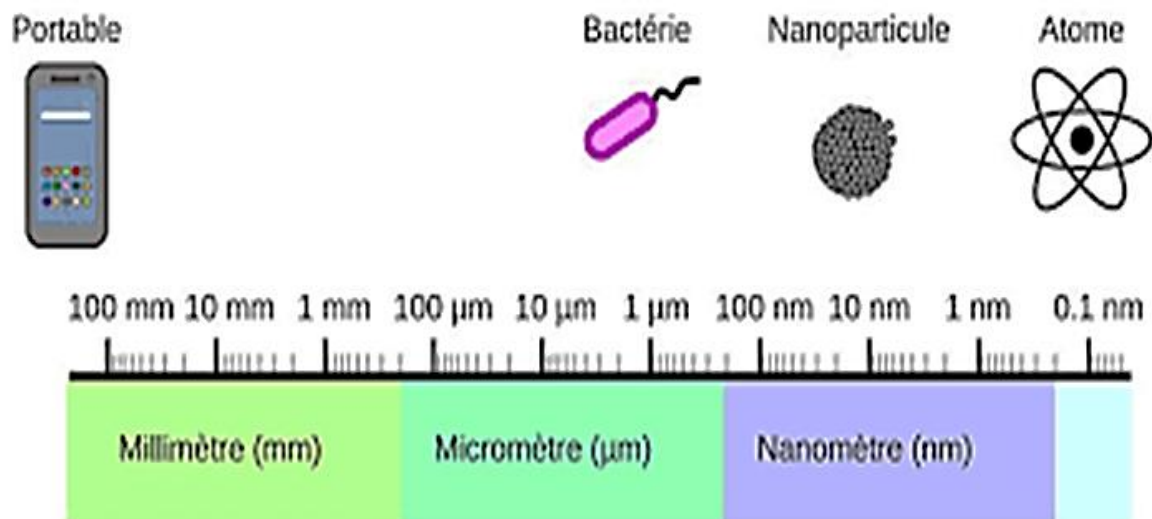


Figure 01 : nanoparticule sous microscope

I.1. Classification et propriétés des Nanoparticules

Les nanoparticules peuvent être classées selon les critères suivants :

I.1.1. Origine:

Nanoparticules (d'origine naturelle) : Particules qui ne sont pas fabriquées, par exemple les particules des cendres volcaniques, les particules émises lors des incendies de forêt ou les gouttelettes nanométriques (de l'océan, de la pluie, etc.).

Nanoparticules (d'origine anthropique) : Particules « de fond », produites de façon involontaire ou des produits dérivés des processus industriels, par exemple les gaz d'échappement des moteurs diesel ou d'autres moteurs ou les fumées de soudage.

I.1.2. Taille :

- Fullerènes, dendrimères, particules..... dont les 3 dimensions sont dans le domaine nanométrique (point)
- nanotubes, nano-filaments, fibres et fibrilles, qui ont 2 dimensions nanométriques (ligne)
- Films minces, surfaces organisées ou travaillées : une seule dimension nanométrique (**Braga& Griping,1994**)

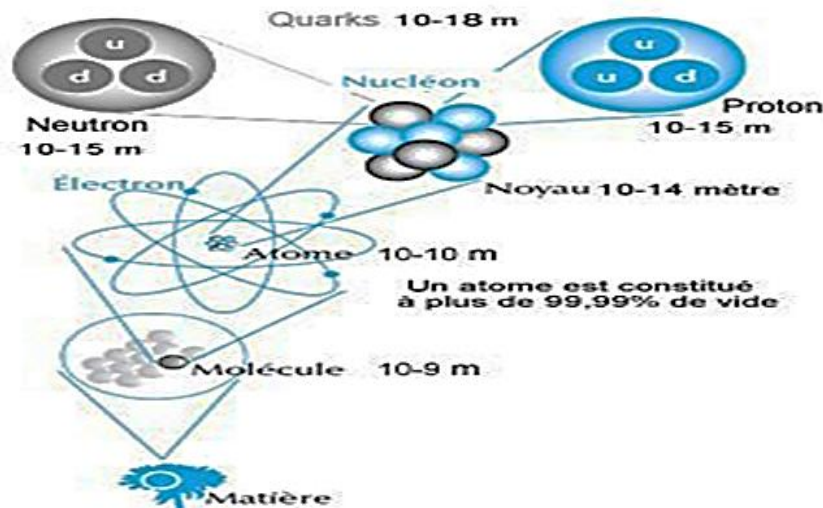


Figure2: Les dimensions des particules élémentaires et Tableau des puissances de 10 utilisées en physique.

I.1.3.Composition chimique:

➤ **Substances organiques** : sont majoritairement commercialisés sous forme de nanotubes de carbone ou de fullerènes.

➤ **Substances inorganiques** : sont divisés en 3 classes selon (Simonin, 2015) :

Les quantum-dots (séléniure de cadmium)

Les nanomatériaux métalliques (argent, or...)

Les oxydes métalliques (titane, fer, cérium, cuivre...) (Simonin, 2015)

I.3. Les voies d'exposition :

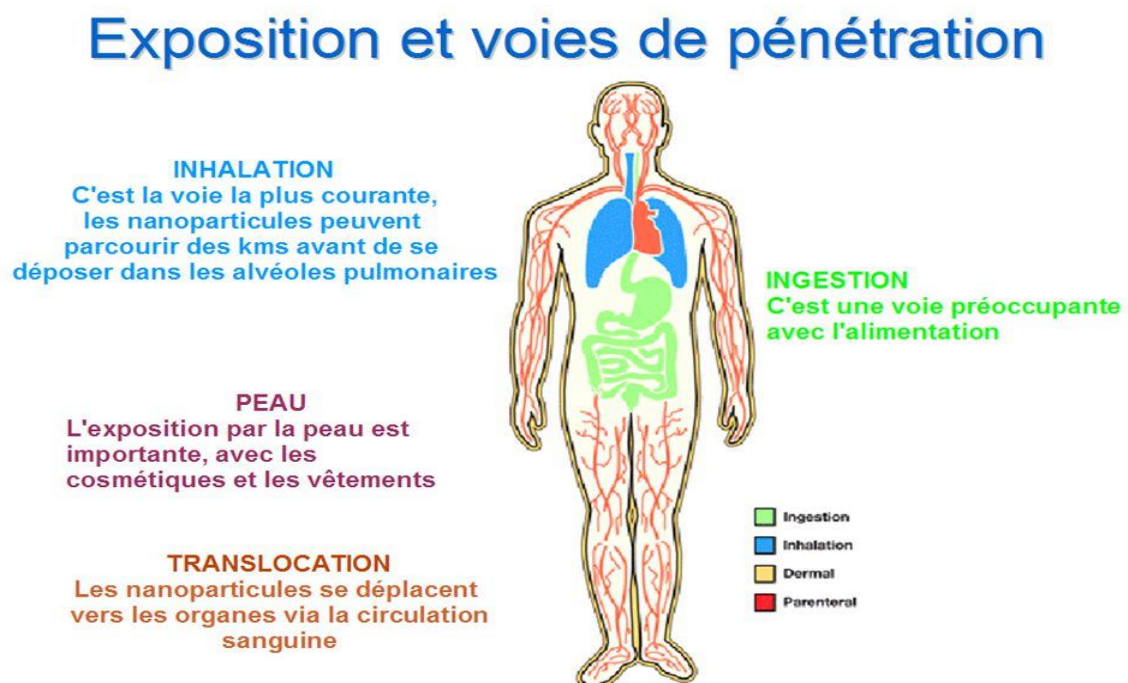


Figure 3: les principales voies d'exposition et de pénétration des nanoparticules (Boczkowski et Lanone, 2010)

- La voie **respiratoire**, probablement majoritaire via l'inhalation des aérosols de particules dispersées dans l'air ambiant,
- La voie **digestive** serait le résultat d'une contamination par la chaîne alimentaire, d'une interaction avec la voie respiratoire ou d'un manque d'hygiène personnelle,

- L'exposition **cutanée** pourrait se produire lors d'opérations de nettoyage, de maintenance ou lors de l'utilisation de produits contenant des nanoparticules comme les crèmes solaires. La potentialité d'une exposition via le système sanguin en cas de blessure n'est toutefois pas à exclure (**Boczkowski et Lanone, 2010**).

II. L'antimoine(Sb) :

L'antimoine est l'élément chimique de symbole Sb (du latin stibium, lui-même issu de stibine, Sb_2S_3 , le nom du minerai le plus abondant, qu'on trouve sous forme de magnifiques cristaux orthorhombiques), de numéro atomique 51. Solide brillant de couleur argentée, c'est un métalloïde de couleur métallique.

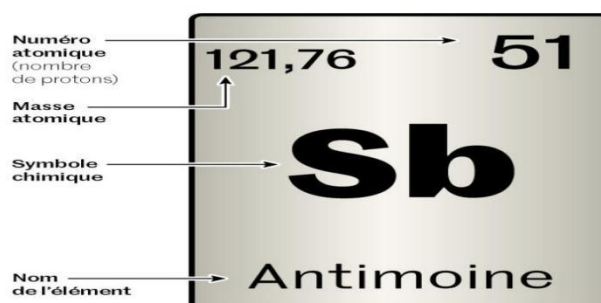


Figure 4 : Position de l'antimoine (Sb) dans le tableau périodique des éléments

II .1 Les propriétés physicochimique de l'antimoine :

Tableau2 : les composés chimiques de l'antimoine

Numéro atomique	51
Masse atomique /Electronégativité de Pauling	121 ,75g.mol / 1,9
Masse volumique	g.cm-3 à 20°C
Température de Fusion /Température d'ébullition	631 °C / 1587 °C
Rayon atomique (Van der Waals)	0 ,159 nm
Configuration électronique	[Kr] 4d10 5s25p3
Potentiel standard	0,21 V (Sb3+ / Sb)
Découverte :	Longtemps confondu avec ses composés, il est possible que le moine bénédictin

1.2 Principes de production et utilisations

Dans la nature, on trouve l'antimoine en combinaison avec de nombreux éléments, les minerais les plus communément rencontrés étant la stibnite (SbS_3), la valentinite (Sb_2O_3), la kermésite ($\text{Sb}_2\text{S}_2\text{O}$) et la sénarmontite (Sb_2O_3).

L'antimoine de haute pureté est employé dans l'industrie des semi-conducteurs. L'antimoine de pureté normale est largement utilisé dans la production des alliages dont il augmente la dureté, la résistance mécanique et la résistance à la corrosion et auxquels il confère un faible coefficient de friction ; les alliages qui combinent l'étain, le plomb et l'antimoine servent dans l'industrie électrique. Parmi les plus importants alliages de l'antimoine, il faut citer le régule, l'alliage d'étain, le métal blanc, le métal anglais et les alliages antifriction. Ces divers alliages entrent dans la fabrication des coussinets, des plaques d'accumulateurs et des gaines de câbles, ainsi que dans la brasure, la fonderie ornementale et les munitions (**Alessio et al., 1995**).

La résistance de l'antimoine métallique vis-à-vis des acides et des bases est mise à profit dans les usines chimiques. Il est également employé comme pesticide contre les limaces et les escargots, comme insecticide utilisé en spray sur les agrumes et les glaïeuls, et comme émétique en cas d'ingestion accidentelle de certains rodenticides (**Bisson et al., 2007**).

Le trioxyde d'antimoine est employé comme ignifugeant pour les textiles et les matières plastiques, comme opacifiant pour les verres, les céramiques et les émaux, comme pigment pour les peintures et comme catalyseur chimique. Il est également utilisé dans la fabrication de sels d'antimoine (**Bisson et al., 2007**).

II.2.1 Usages industriels

C'est le plus souvent un sous-produit du raffinage ou de la métallurgie du plomb, du cuivre et de l'argent. Mais une partie non négligeable de l'antimoine peut également être récupérée au cours du traitement des ordures. Sa principale application reste la production d'alliages, en particulier avec le plomb, auquel il confère de la dureté (plaques d'accumulateurs,

tubes résistants à la corrosion), l'étain (ustensiles dits « en métal anglais »), ou les deux (caractères d'imprimerie, alliages antifriction avec le cuivre en plus). Ces alliages sont aussi utilisés pour la production de tissus ignifuges, de caoutchouc et de matières plastiques, de verre et de céramique, d'allumettes, d'explosifs, de compositions pyrotechniques et de produits pharmaceutiques (Fite et al., 2004)

II.2.2 Usages thérapeutiques

Les propriétés thérapeutiques de l'antimoine sont connues depuis très longtemps. Du XVIIe siècle date « le char triomphal de l'antimoine du frère Basile Valentin », et Glauber, vers la même époque, parle de « panacéeantimoniale ». L'antimoine et la plupart de ses composés étant toxiques, ce « poison » abusivement utilisé fut interdit dès 1603 par la Faculté de médecine de Paris. Actuellement les dérivés minéraux de l'antimoine sont utilisés comme expectorants. Les sels organiques sont efficaces dans le traitement des leishmanioses et des bilharzioses (Fite et al., 2004). Ce même composé antimoniaux est utilisé dans le traitement de maux d'estomac et de la leishmaniose (parasitose cutanée ou viscérale transmise par certaines mouches) (Audion., CEIS., 2012).

III. Le Trioxyde d'Antimoine :

Le trioxyde d'antimoine ou l'oxyde d'antimoine (III), est un composé inorganique de formule Sb_2O_3 . Il s'agit d'un oxyde d'antimoine se présentant au laboratoire sous la forme d'une poudre blanche, sa forme minérale étant la sénarmontite (cristaux cubiques incolores) ou la valentinite (cristaux orthorhombiques blancs) (Greenwood et Earnshaw, 1997)

Tableau 01: Quelques détails de trioxyde

Formule	Détails	
Sb_2O_3	Nom	Trioxyde de diantimoine
	Numéro CAS	1309-64-4
	Numéro CE	215-175-0
	Numéro index	051-005-00-X

	Synonymes	Oxyde d'antimoine (III), Oxyde antimonieux , sesquioxyde d'antimoine , trioxyde d'antimoine
--	-----------	--

III.1 Caractéristiques générales de Sb₂O₃

L'oxyde d'antimoine peut exister sous la forme de Sb₂O₃ ou Sb₂O₅, il est de couleur blanche, et largement utilisé comme retardateur synergique de flamme pour les produits d'usage courants, comme agent de finition dans les usines de verres et comme catalyseur dans les usines des différents types de polystères et plastiques. Un autre intérêt est qu'il permet de solubiliser les oxydes de terres rares dans les verres. Le trioxyde d'antimoine Sb₂O₃ est un oxyde très stable, il est insoluble dans l'eau, dans les acides nitriques et sulfuriques

III.2 La structure d'oxyde d'antimoine :

Les études cristallographiques ont montré que l'oxyde d'antimoine Sb₂O₃, existe sous deux variétés cristallines : la sénarmontite, variété cubique qui est stable jusqu'à 570°C ; et la valentinite, variété orthorhombique, qui est la phase de haute température avec un point de fusion de 650°C . Ces deux structures sont schématisées sur la figure :

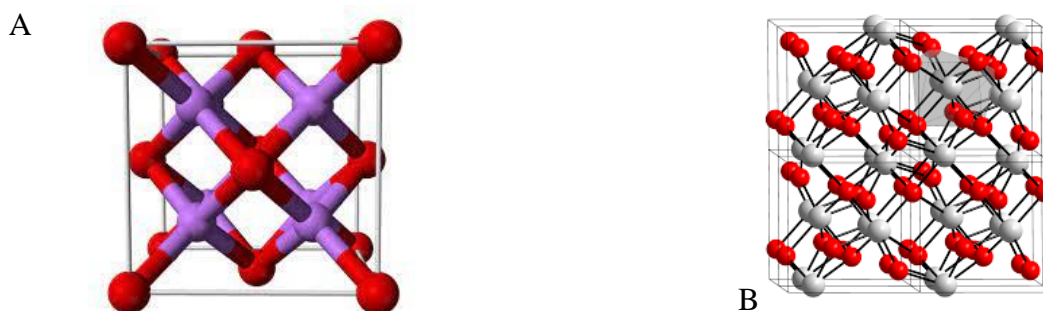


Figure 4 : La structure de (a)la sénarmontite(b) la valentinite

III.3. Les propriétés physiques et chimiques d'oxyde d'antimoine :

Les propriétés physiques:

Le trioxyde d'antimoine se présente sous la forme d'une poudre blanche très fine sans odeur. Le produit commercial contient comme impuretés des traces d'arsenic (moins de 1 %, pouvant être ramené à moins de 0,1 % dans certaines qualités). Le trioxyde d'antimoine est insoluble dans

les solvants organiques et très faiblement solubles dans l'eau (0,014 g/l à 30 °C).

Propriétés chimiques:

Le verre s'altère au contact d'une solution aqueuse. L'altération dépend de la composition du verre et de la solution altérante. Ce mécanisme est lent à température ambiante. Le trioxyde d'antimoine est amphotère. Dans les solutions acides il se dissout en donnant des acides polyantimoniés complexes ; dans les solutions basiques, il se dissout avec formation d'antimoniates. C'est un réducteur, il est cependant facilement réductible en antimoine ; et en trihydrure d'antimoine SbH_3 , gaz très toxique.

Principes de production

Le trioxyde d'antimoine peut être produit par grillage de trisulfure d'antimoine, par Combustion d'antimoine dans l'air ou dans l'oxygène, par hydrolyse alcaline de composés halogénés d'antimoine (trichlorure, tribromure ou triiodure), ou par hydrolyse du trisulfure d'antimoine avec de la vapeur surchauffée. Le trisulfure d'antimoine peut être préparé par traitement d'une solution de trichlorure d'antimoine avec du sulfure d'hydrogène ou du thiosulfate de sodium, ou en chauffant de l'antimoine métal ou du trioxyde d'antimoine en présence de soufre. (BISSON et al., 2007)

III.3 La Toxicocinétique de trioxyde d'antimoine :

Le trioxyde de di-antimoine est principalement absorbé par voie pulmonaire et, très faiblement, par voie digestive. Il est largement distribué dans l'organisme puis lentement éliminé, essentiellement dans les selles et plus faiblement dans l'urine. Chez l'homme, il existe un passage transplacentaire et dans le lait maternel

Chez l'animal:

1-Absorption:

Aucune donnée quantitative n'est disponible par inhalation. L'utilisation d'un modèle mathématique de déposition des particules estime l'absorption pulmonaire à 6,8 %. Par voie orale, l'absorption gastro-intestinale est très faible.

2-Distribution

a la suite de l'instillation intra-trachéale de particules de trioxyde de diantimoine, 60, 49 et 45% du trioxyde de diantimoine sont respectivement retrouvés dans les poumons après 190 heures ; environ 10 % de la dose instillée est détectée dans le foie et moins de 1 % dans les reins, la trachée et l'estomac, seuls organes étudiés . Il en est de même suite à des expositions répétées par inhalation

3-Elimination:

L'élimination pulmonaire du trioxyde de di-antimoine est biphasique avec une demi-vie pour la 1 phase de 40 heures et une $\frac{1}{2}$ vie pour la 2 phase comprise entre 20 et 40 jours. Le trioxyde de di-antimoine est ensuite éliminé principalement dans les fèces

III.3 Toxicité de trioxyde d'antimoine Sb_2O_3 :

III.3 .1 Toxicité aigüe :

L'ingestion accidentelle de trioxyde d'antimoine a entraîné des sensations de brûlures gastriques, des douleurs abdominales, des nausées, des vomissements, pouvant aller jusqu'aux collapsus cardiovasculaires. Lors d'inhalation de poussières ou de fumées de trioxyde d'antimoine, des signes d'irritation gastro-intestinale, d'irritation oculaire ainsi que des voies aériennes supérieures et inférieures, ont été signalés chez des travailleurs (fondeurs,...) ; mais les expositions sont peu documentées (niveaux, co-expositions,...) et le rôle exclusif du trioxyde d'antimoine dans ces irritations ne peut être affirmé

III.3 .2 Toxicité chronique :

L'exposition professionnelle par inhalation à du trioxyde d'antimoine et/ou des poussières de pentoxyde d'antimoine a entraîné des effets respiratoires incluant une stibiose, de la bronchite chronique, de l'emphysème chronique, des adhésions pleurales et des effets pulmonaires obstructifs (**Cooper et al., 1968 ; Potkonjak et Pavlovich, 1983**) Des travailleurs exposés à 0,58 à 5,5 mg d'antimoine/m sous forme de trisulfure d'antimoine pendant 8 mois à deux ans ont présenté une augmentation de la pression sanguine (10 %) et des altérations de l'électrocardiogramme chez 5 % des sujets (**Brieger et al., 1954**). Cependant ces travailleurs étaient également exposés à une résine à base de phénol et de formaldéhyde. Des travailleurs exposés moins de cinq mois à des fumées d'oxyde d'antimoine à des concentrations de 4,69 à

11,82 mg/m³ ont présenté des rhinites, dermatites, laryngites, bronchites, pneumonites et conjonctivites (**Renes, 1953**). Cependant ces travailleurs étaient également exposés à de faibles concentrations d'arsenic (0,39 à 1,10 mg/m³). Le contact cutané avec des particules aéroportées de trioxyde d'antimoine a été associé à l'apparition d'une dermatite chez des ouvriers (**Stevenson, 1965**). Celle-ci est caractérisée par une nécrose cellulaire épidermique avec des réactions cellulaires inflammatoires aiguës, et résulte de l'action du trioxyde d'antimoine sur le derme après sa dissolution dans la sueur et sa pénétration dans les glandes sudoripares.



Matériels et méthodes



Objectif de travail :

Notre travail de recherche a pour objectif d'évaluer la toxicité d'une molécule nanométrique (Trioxyde d'Antimoine) chez les escargots.

Notre étude a été réalisée au niveau du laboratoire de biodiversité et pollution des écosystèmes dirigé par Pr NASRI HICHEM, professeur en biologie, université Chadli Ben DJEDID EL-TAREF.

I. Matériels :

1. Matériel chimique :

Le matériel chimique utilisé dans notre étude est une préparation commerciale de nanoparticules d'oxyde d'antimoine Sb_2O_3 . Le produit est sous forme d'une poudre blanche.



Figure 06: le trioxyde d'antimoine sous forme de poudre (photo pers, 2022)

2. Matériel biologique :

Le matériel biologique utilisé dans notre travail est l'escargot petit gris : *Helix aspersa* dont la position systématique est la suivante (**Bonnet et Vrillon, 1990**)



Figure07 : Escargot *Helix asprsa*

Règne:Animalia

Embranchement:Mollucsa

Classe:Gasteropoda

Ordre:Stylommatophora

Sous ordre:Helicina

Infra ordre:Hellcoidei

Super famille : Helicodea

Famille:*Helicidae*

Genre:*Helix*

Espèce:*aspersa*

Sous-espèce:*aspersa*(muller,1774)

L'escargot *Helix aspersa*, a été choisi en raison de sa sédentarité, de son abondance dans la région d'étude et surtout en tant que bio indicateur de la pollution des sols. L'escargot Petit-gris est un mollusque mesurant entre 28 et 35mm pour un poids adulte de 7 à 15g. Il est sourd et quasiment aveugle mais ses tentacules sont équipés de deux « nez » (épithéliums olfactifs) très puissants. Simplement en balançant ses tentacules pour détecter les odeurs qui l'entourent, l'escargot peut repérer une cible à plus d'une centaine de mètres. (Stiévenart,1990). Il est un adulte à 2 ans mais peut vivre plus de 5 ans s'il n'est pas dévoré par un prédateur. Dans la nature, il se nourrit tout particulièrement de feuilles d'ortie (Iglesias & Castillejo, 1998)

1. Conditions d'élevage :

Les escargots de notre expérimentation sont des adultes de poids de (7-15g) sont collecté de la région de Guelma (le nord-est algérien). Les escargots sont élevés dans des conditions de laboratoire, 20-23°C de température moyenne le jour, 18 heures de photopériode et 80 à 90 % d'humidité relative (Gomot de vaufleury, 2000).

Ils sont répartis dans des boites de plastiques avec un couvercle perforé, chaque boîte contient une éponge mouillée pour maintenir l'humidité et une boîte de pétri contenues la nourriture. Toutes les boites ont été nettoyées quotidiennement.



Figure 08: élevage des escargots (photo pers. 2022)

2. Traitement des escargots :

Après une période d'adaptation les escargots ont été traités comme suit

Lot 1 : 10 individus d'un poids corporel : 11,27g gavé par 35ul/ind d'eau physiologique contenant 0,5mg de Sb_2O_3

Lot 2 : 10 individus d'un poids corporel : 11,84g gavé par 35ul/ind d'eau physiologique contenant 1mg de Sb_2O_3

Lot 3 : 10 individus d'un poids corporel : 11,19 g gavé par 35ul/ind d'eau physiologique contenant 1,5mg de Sb_2O_3

Lot 4 : 10 individus d'un poids corporel : 12,08 gavé par 35ul/ind d'eau physiologique contenant 5 mg de Sb_2O_3

Lot 5 : 10 individus témoin d'un poids corporel : 11,50 gavés par 35ul/ind de l'eau physiologique.



Figure 09 : le gavage des escargots

Après 48 heures les escargots ont été sacrifiés par congélation à $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ puis disséqués. L'hépatopancréas et les reins et les intestins ont été élevés et fixé dans des solutions tampons pour l'étude histopathologique et le dosage de biomarqueurs de stress oxydant.

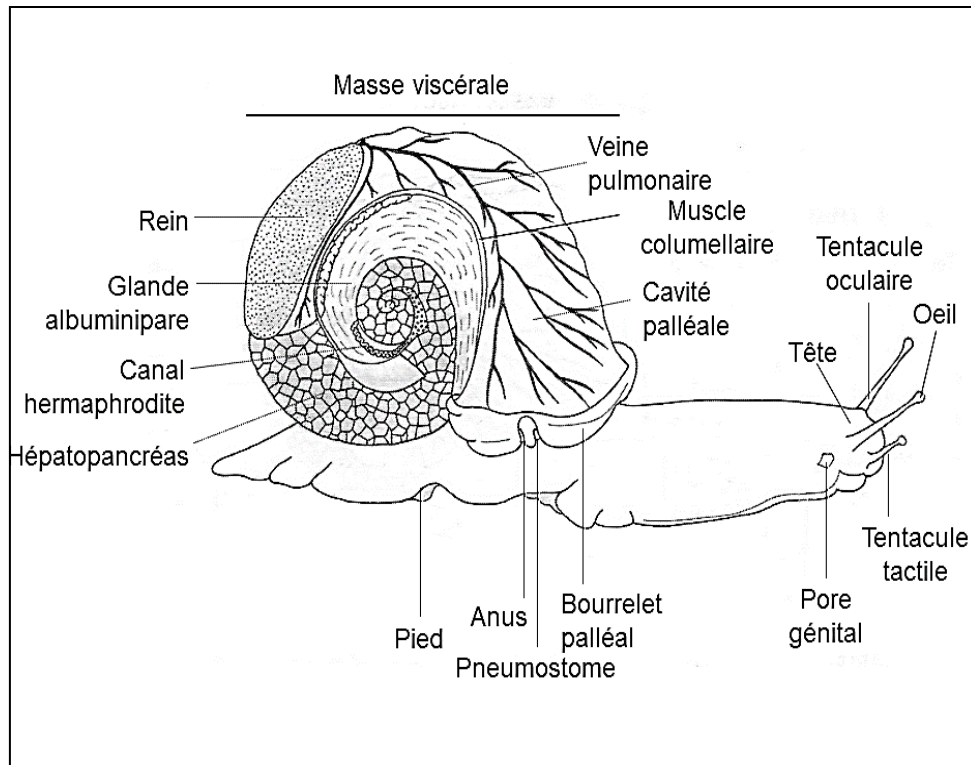


Figure 10 : Morphologie interne et externe de l'escargot

3. Dosages des bi marqueurs du stress oxydant :

3.1. Dosage du glutathion (GSH)

❖ **Principe** : le dosage du glutathion a été réalisé selon la méthode de **Weckbecker et Cory (1988)**. Le principe de ce dosage repose sur la mesure de l'absorbance optique de l'acide 2-nitro-5-mercapturique. Ce dernier résulte de la réduction de l'acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (réactif d'Ellman, DTNB) par les groupements (-SH) du glutathion. Pour cela une déprotéinisation de l'homogénat est indispensable afin de garder uniquement les groupements thiol spécifiques du glutathion.

❖ **Préparation de l'homogénat** : le dosage du glutathion a été fait au niveau du l'hépatopancréas, de *Helix aspersa* suite à l'exposition à l'oxyde de l'antimoine. 10 mg de tissu a été mis en présence de 1 ml d'une solution d'acide éthylène diamine tétra acétique (EDTA) à 0,02 M, puis ont été broyés à froid en utilisant un broyeur ultra son (4 °C) pour obtenir un homogénat.

❖ **Mode opératoire** :

1. Prélever 0,8 ml de l'homogénat.
2. Déprotéiniser en ajoutant 0,2 ml d'une solution d'acide sulfosalicylique (SSA) 0,25 %.
3. Agiter le mélange et laisser pendant 15 minutes dans un bain de glace.
4. Centrifuger à 1000 tours/min pendant 5 min.
5. Prélever 0,5 ml du surnagent.
6. Ajouter 1 ml du tampon Tris + EDTA (0.02 M d'EDTA), pH 9,6.
7. Mélanger et ajouter 0,025 ml de DTNB à 0,01 M (dissous dans le méthanol absolu).
8. Laisser pendant 5 min à température ambiante pour la stabilisation de la couleur qui se développé instantanément.
9. Lire les densités optiques à 412 nm contre le blanc.

❖ La concentration du glutathion est obtenue par la courbe d'étalonnage du glutathion.

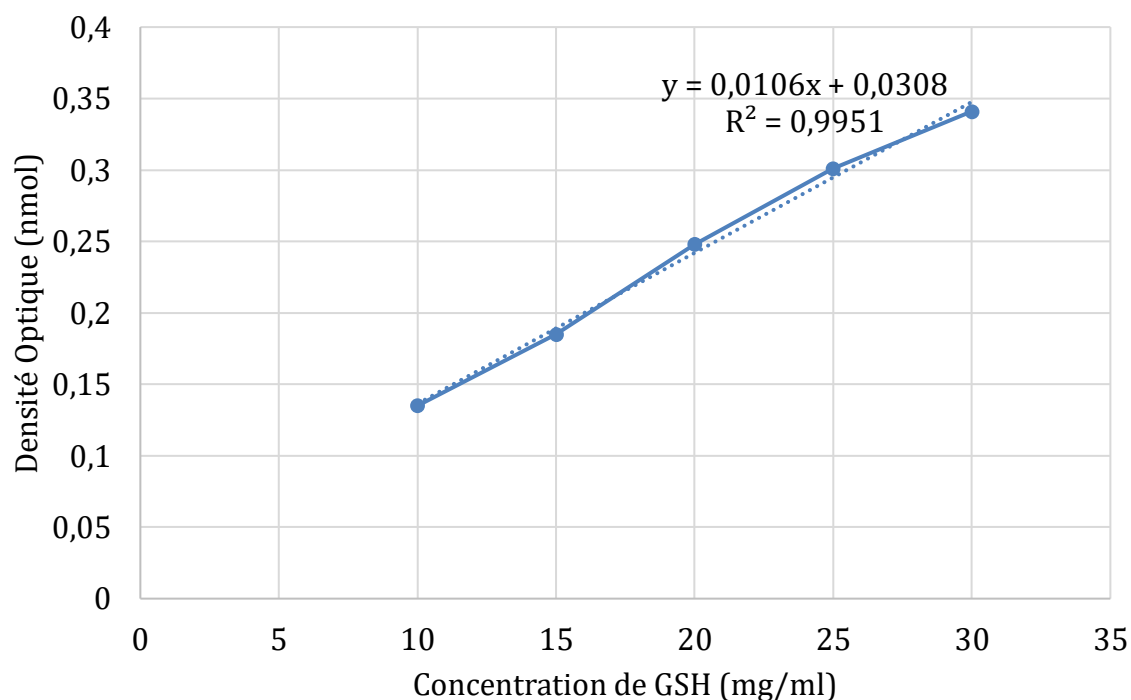


Figure 12 : courbe d'étalonnage du glutathion.

3.2. Dosage de l'activité du glutathion-S-transférase (GST)

❖ **Préparation de l'homogénat** : le dosage de la glutathion S-transférase a été fait au niveau du l'hépatopancréas du *H. aspersa*. 10 mg de tissu a été mis en présence de 1 ml d'une solution Tris Hcl à 10mM, pH 7.4, puis ont été broyés à froid (4 °C) en utilisant un broyeur ultra son et centrifugés à 10 000g pendant 10min à 4°C.

❖ **Principe** : la mesure de l'activité des GSTs a été réalisée par la méthode de **Habig et al. (1974)**, celle-ci consiste à fournir à l'enzyme un substrat en général du 1-chloro,2,4-dinitrobenzène (CDNB), qui se conjugué facilement avec glutathion sous l'action de nombreuses formes de GST. La réaction de conjugaison de ces deux produits entraîne la formation d'une molécule nouvelle qui absorbe la lumière à 340 nm de longueur d'onde.

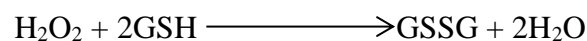
Mode opératoire :

1. Prélever 50 µl de l'homogénat.

2. Ajouter 1.05 ml du tampon tris 100 mM (pH 7.4)
3. Ajouter 50µl de CDNB à 1mM.
4. Ajouter 50µl du GSH à 1mM.
5. Agiter bien le mélange.
6. L'activité enzymatique a été déterminée en surveillant les changements d'absorbance à 340 nm pendant deux (02) minutes.
7. Le taux du GST est déterminé avec le coefficient d'absorbance $\epsilon = 9.6 \text{ mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$

3.3. Dosage de l'activité du glutathion peroxydase (GPx)

❖ **Principe** : l'activité enzymatique du glutathion peroxydase (GPx) a été mesurée par la méthode de **Flohé et Günzler (1984)**. Cette méthode est basée sur la réduction de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en présence de glutathion réduit (GSH), ce dernier est transformé en (GSSG) sous l'influence de la GPx selon la réaction suivante :



❖ **Préparation de l'homogénat** : le dosage de la glutathion peroxydase a été fait au niveau du l'hépatopancréas de *Helix aspersa*. 10 mg de tissu a été mis en présence de 1 ml d'une solution Tris-Hcl (10 mM, pH 7.4), puis broyés en utilisant un broyeur ultrason pendant 5 min et centrifugé à froid (4 °C) (10.000 trs/ 10min) pour obtenir un homogénat.

❖ **Mode opératoire** :

1. Prélever 0.2 ml de l'homogénat.
2. Ajouter 0.4 ml de GSH (0.1 mM).
3. Ajouter 0.2 ml de la solution tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7.4).
4. Incuber au bain marie à 25°C, pendant 5 min.
5. Ajouter 0.2ml de H_2O_2 (1,3 mM) pour initier la réaction, laisser agir pendant 10 minutes.
6. Ajouter 1 ml de TCA (1 %) pour arrêter la réaction.
7. Mettre le mélange dans la glace pendant 30 minutes.
8. Centrifuger durant 10 minutes à 3000 tours /minutes.
9. Prélever 0,48 ml du surnageant.
10. Ajouter 2,2 ml de la solution tampon TBS.

11. Ajouter 0,32 ml de DTNB (1 mM)
12. Mélanger et après 5 minutes lire les densités optiques à 412 nm contre le blanc.

3.4. Dosage de la superoxyde dismutase

La méthode de **Marklund et Marklund (1974)**, est basée sur la capacité à inhiber l'autoxydation du pyrogallol en présence d'EDTA par la SOD. Le dosage a été réalisé dans un volume final de 1 ml. A 850 µl de tampon Tris HCl (50 mM, pH : 8,2) ont été ajoutés 20 µl de l'échantillon, 100 µl d'EDTA et 50 µl de pyrogallol (2,5 mM préparés dans 10 mM de HCl). Le changement d'absorbance a été mesuré à 420 nm après chaque minute sur un intervalle de temps de 5 minutes. L'activité enzymatique a été exprimée en unité / mg de protéine.

II.1.1.1. Dosage des protéines

❖ **Principe:** la concentration de protéines est déterminée selon la méthode de **Bradford (1976)** qui utilise le bleu de Coomassie (G 250) comme réactif. Ce dernier réagit avec les groupements amine (-NH₂) des protéines pour former un complexe de couleur bleu. (L'apparition de la couleur bleue reflète le degré d'ionisation du milieu acide et l'intensité correspond à la concentration des protéines).

❖ **Mode opératoire :**

1. Prélever 0.1 ml de l'homogénat
2. Ajouter 5 ml du réactif de Bradford
3. Agiter et laisser reposer 5 min
4. Lire la densité optique à 595 nm, contre le blanc

❖ **Calcul de la concentration des protéines :** la densité optique obtenue est rapportée sur une courbe d'étalonnage préalablement tracée. La concentration des protéines est déterminée par comparaison à une gamme étalon d'albumine sérique bovine (1 mg/mL) réalisée dans les mêmes conditions.

II.2. Analyse statistique

Toutes les analyses ont été effectuées à l'aide d'IBM SPSS Statistics 25. Le test de

Shapiro-Wilk a été utilisé pour vérifier si les variables suivaient une distribution normale et étaient affichées sous forme de moyenne \pm SE. Les moyennes des groupes ont été comparées en utilisant une ANOVA à un facteur ; lorsque l'ANOVA était significative, de multiples comparaisons des valeurs moyennes étaient séparées par le test de Tukey. Les différences statistiques ont été déterminées à $P < 0,05$ et $P < 0,001$ pour toutes les analyses.



Chapitre 03:
Résultats et interprétation

Résultats et interprétation

III.1. Evaluation de l'effet du trioxyde d'antimoine sur le taux de glutathion (GSH) :

III.1.1. Evaluation de taux de glutathion au niveau de l'hépatopancréas de *H. aspersa* :

-La figure N°13 montre les concentrations du glutathion détectées dans l'hépatopancréas du *Helix aspersa* (N=05), suite au gavage par quatre doses sublétales du Sb₂O₃.

-Une fluctuation très hautement significative du thiol intracellulaire majoritaire GSH ($p \leq 0.000$) est observée au niveau de l'hépatopancréas de *H. aspersa*. Une légère augmentation du glutathion au niveau des deux premiers doses 0.5 mg et 1 mg/ind est notée avec respectivement 4.9 ± 1.99 nmol/mg de protéine et 3.47 ± 1.76 nmol/mg de protéine. La plus forte concentration détectée était 9.81 ± 1.9 nmol/mg de protéine au niveau des hépatopancréas de *H. aspersa* traités par la forte dose 5 mg/ind de Sb₂O₃.

Tableau N° 2: Variations du taux de GSH au niveau de l'hépatopancréas de l'escargots terrestre *H. aspersa* traité par le trioxyde d'antimoine (Sb₂O₃; N=05) .

GSH nmol/mg de protéine	Moyenne	Signification
control	3,680±1,105	
Dose 1 (0.5 mg)	4,900±1,997	
Dose 2 (1 mg)	3,468±1,763	
Dose 3 (1.5 mg)	7,604±1,567	P ≤ 0.01
Dose 4 (5 mg)	9,815±1,901	P=0.000

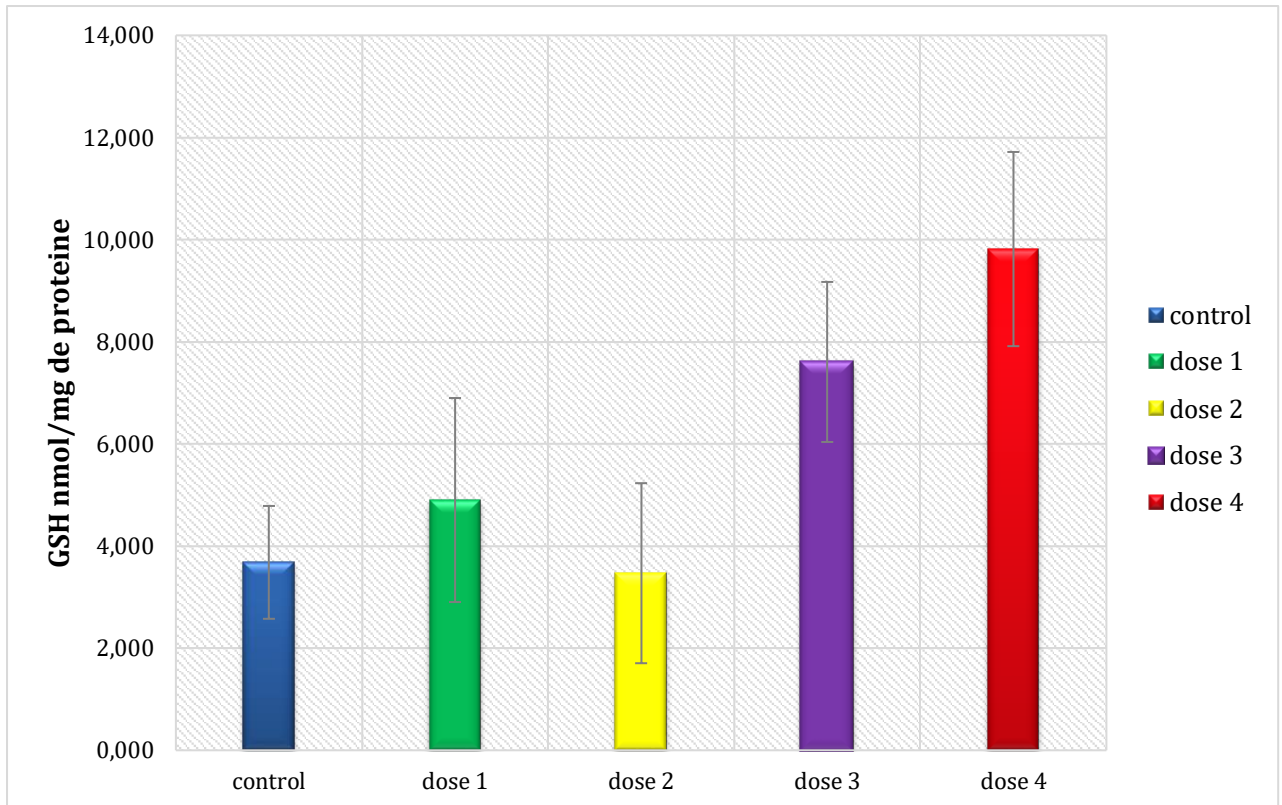


Figure N°13 : Variations du taux de GSH au niveau de l'hépatopancréas de l'escargots terrestre *H. aspersa* traité par le trioxyde d'antimoine (Sb_2O_3 ; N=05) .

III.1.2. Evaluation de taux de glutathion-s- transférase au niveau de l'hépatopancréas de *H. aspersa*

-La **figure 14** illustre les variations du taux de GST au niveau de l'hépatopancréas de *H. aspersa* gavés par 04 doses de Sb_2O_3 .

-Une diminution très hautement significative de taux de GST ($p \leq 0.000$) est notée entre les quatre doses (0.5, 1, 2.5 et 5 mg/individus) et le témoin ; dont la plus forte réduction est noté chez les escargots traités par la dose 2.5 mg/ind avec 17.74 ± 4.62 par rapport, au témoin 80.98 ± 4.56 nmol/mg de protéine.

Tableau N°3 : Variations du taux de GST au niveau de l'hépatopancréas de l'escargot terrestre *H. aspersa* traité par le trioxyde d'antimoine (Sb_2O_3 ; N=05).

GSTnmol/min/mg de protéine	Moyenne	Signification
Control	80.98 ± 4.56	
Dose 1 (0.5 mg)	25.85 ± 11.48	P=0.000
Dose 2 (1 mg)	22.00 ± 8.61	P=0.000
Dose 3 (1.5 mg)	17.74 ± 4.62	P=0.000
Dose 4 (5 mg)	23.59 ± 8.15	P=0.000

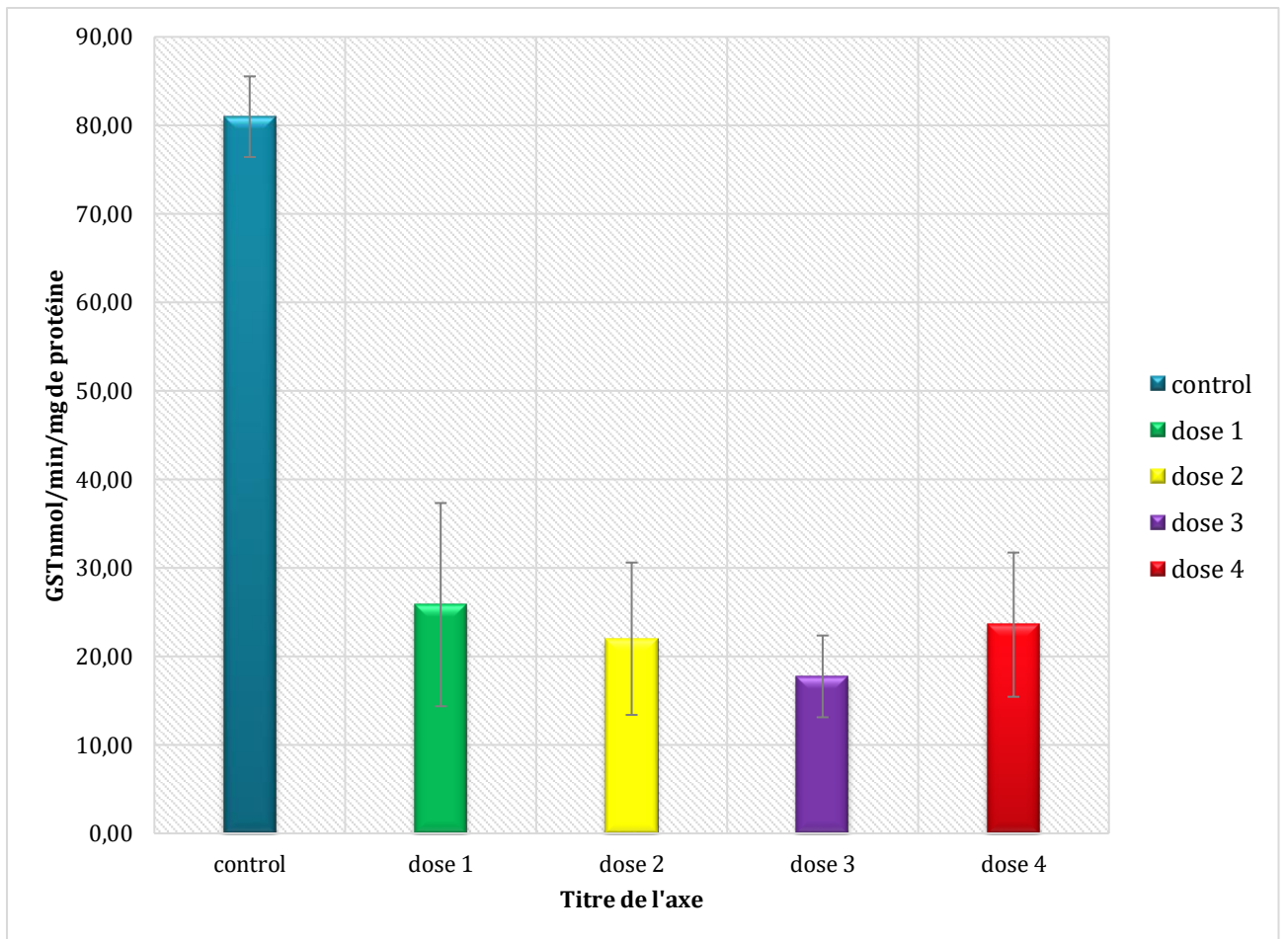


Figure N° 14: Variations du taux de GST au niveau de l'hépatopancreas de l'escargots terrestre *H. aspersa* traité par le trioxyde d'antimoine (Sb_2O_3 ; N=05) .

III.1.3. Evaluation de taux de glutathion peroxydase au niveau de l'hépatopancréas de *H. aspersa* :

-La **Figure 15** montre l'effet du trioxyde d'antimoine sur l'hépatopancréas de *H. aspersa* après 48h de gavage.

-Les résultats obtenus montrent une augmentation hautement significative de GPx ($p \leq 0.01$). la plus forte concentration est détectée chez les individus du troisième groupe (1.5 mg/ind) avec 7.21 ± 1.85 nmol GSH/mg de protéine., suivi par les escargots de deuxième groupe avec 6.93 ± 2.67 nmol GSH/mg de protéine, par rapport à leur témoin., qui a montré 2.74 ± 1.4 nmol/mg de prot.

Tableau N° 4: Variations du taux de GPx au niveau de l'hépatopancréas de l'escargots terrestre *H. aspersa* traité par le trioxyde d'antimoine (Sb_2O_3 ; N=05).

GPx nmol/min/mg de protéine	Moyenne	Signification
Control	2.74 ± 1.4	
Dose 1 (0.5 mg)	6.93 ± 2.67	$P \leq 0.05$
Dose 2 (1 mg)	3.93 ± 1.57	
Dose 3 (1.5 mg)	7.21 ± 1.85	$P \leq 0.01$
Dose 4 (5 mg)	3.72 ± 1.45	

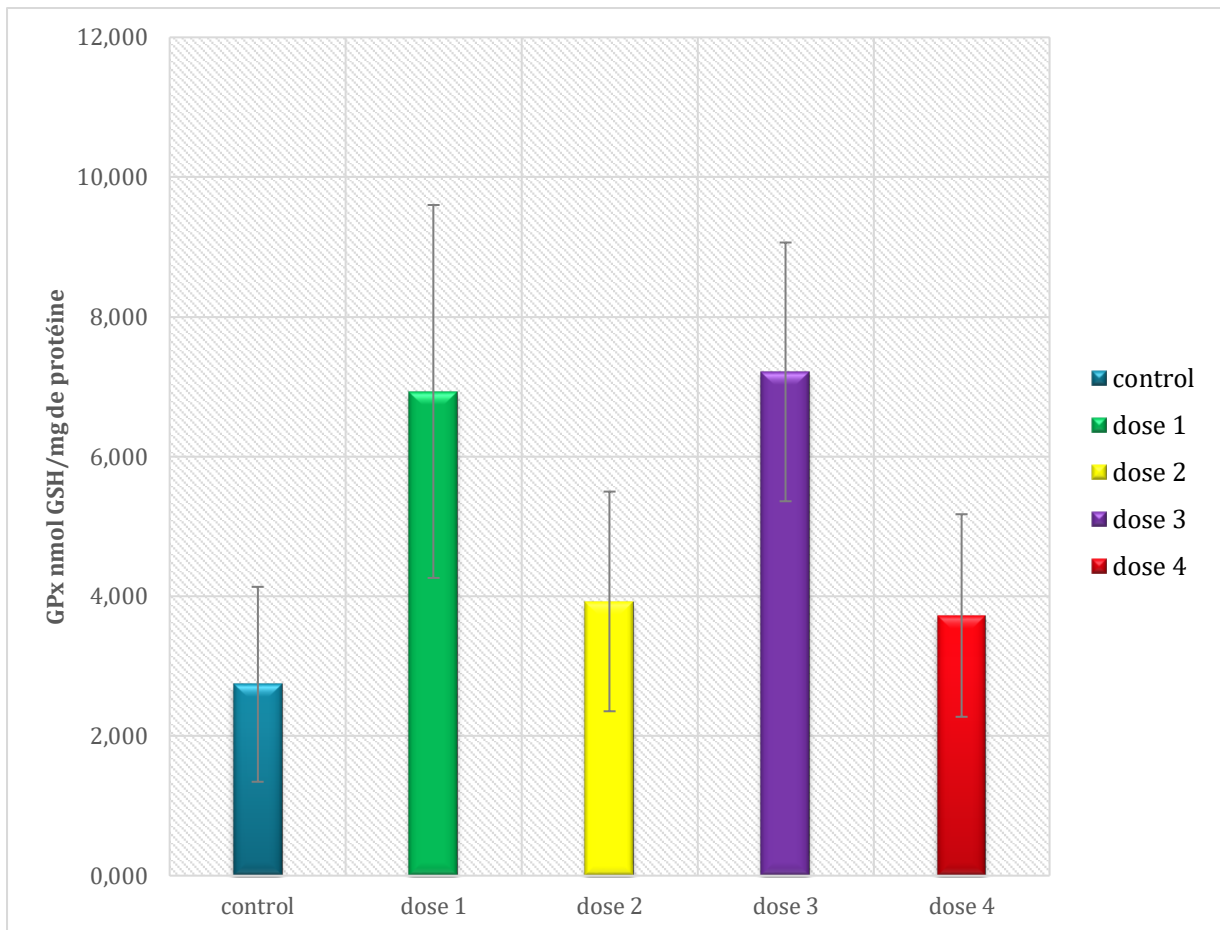


Figure N° 15: Variations du taux de GPx au niveau de l'hépatopancréas de l'escargots terrestre *H. aspersa* traité par le trioxyde d'antimoine (Sb₂O₃ ; N=05) .

III.1.4. Evaluation de taux de superoxyde dismutase au niveau de l'hépatopancréas de *H. aspersa*

Une variabilité de taux de la superoxyde dismutase (SOD) est observée au niveau de l'hépatopancréas des *H. aspersa* (Figure 16) suite au gavage avec 04 doses de Sb_2O_3 . Ce déclenchement de l'enzyme de défense est statistiquement significative ($p \leq 0.001$)

Le taux des SOD dans l'hépatopancréas témoin équivalent à 0.061 ± 0.038 U de sod/mg de protéine., cette concentration a été variée d'un groupe à un autre, le pic a été signalé au niveau de l'hépatopancréas des *H. aspersa* de la dose N°3 : 0.246 ± 0.05 U de sod/mg de protéine ; et la plus faible valeur est notée chez *H. aspersa* appartenant au 4^{ème} groupe (5 mg de Sb_2O_3) avec 0.159 ± 0.044 U de sod/mg de protéine

Tableau N° 5: Variations du taux de SOD au niveau de l'hépatopancréas de l'escargots terrestre *H. aspersa* traité par le trioxyde d'antimoine (Sb_2O_3 ; N=05).

SOD U de sod/mg de protéine	Moyenne	Signification
Control	0.061 ± 0.038	
Dose 1 (0.5 mg)	0.163 ± 0.063	
Dose 2 (1 mg)	0.245 ± 0.093	P=0.001
Dose 3 (1.5 mg)	0.246 ± 0.051	P=0.001
Dose 4 (5 mg)	0.159 ± 0.044	

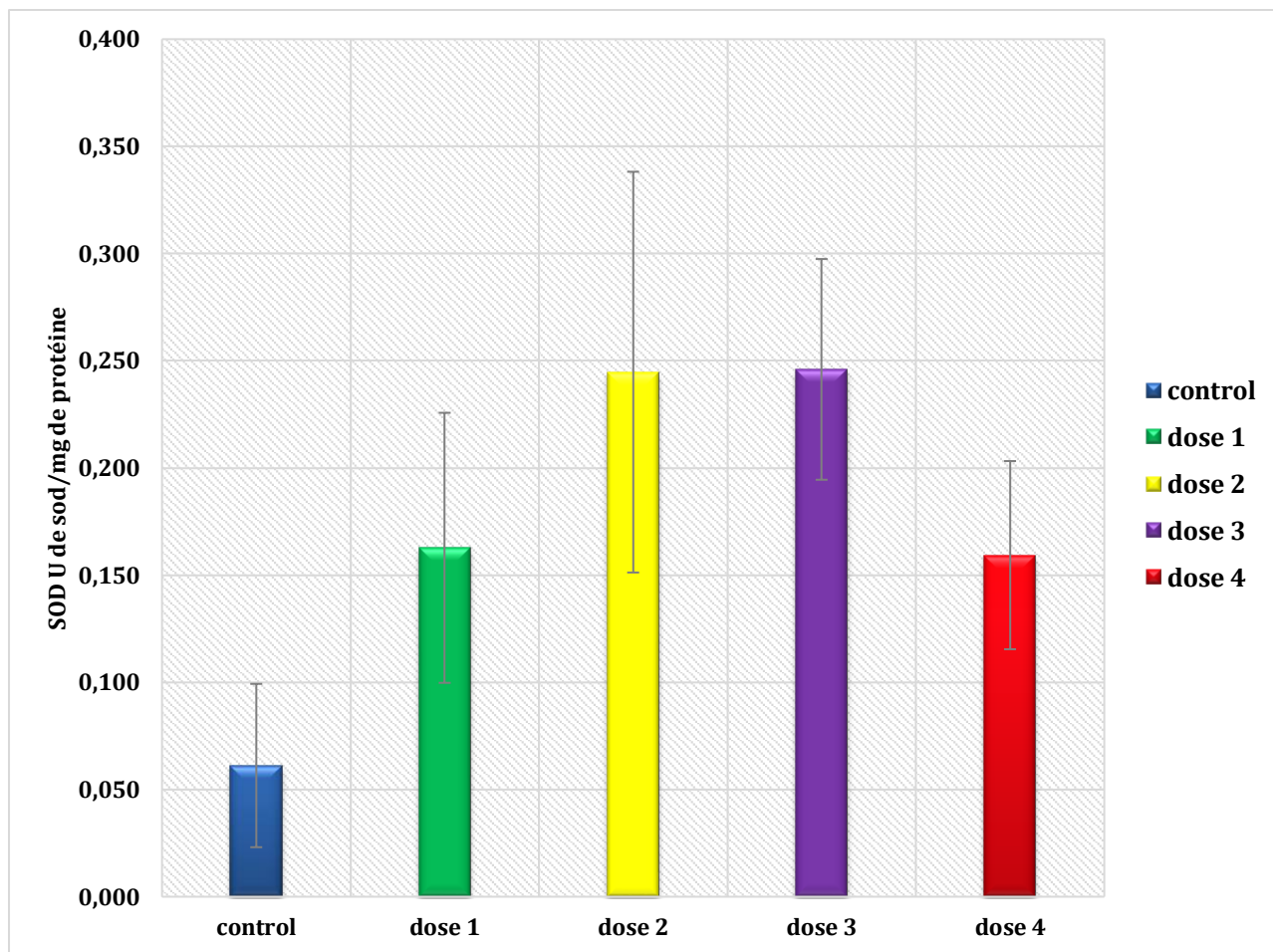


Figure N° 16: Variations du taux de SOD au niveau de l'hépatopancréas de l'escargots terrestre *H. aspersa* traité par le trioxyde d'antimoine (Sb_2O_3 ; N=05) .



Discussion

Les nanoparticules (NP) peuvent être définies comme des matériaux qui ont au moins une dimension inférieure à 100 nm (**Balasu-bramanyam et al., 2009**). En raison de leurs propriétés chimiques, mécaniques et biologiques uniques, ils sont souhaitables pour les applications industrielles et médicales (**Oberdorster et al., 2005**). Cependant, l'augmentation de la surface spécifique des NP peut présenter une plus grande activité biologique, comme une génération accrue d'espèces réactives d'oxygène (ROS) par rapport aux grosses particules à masse équivalente (**Liu et al., 2010**).

Le stress oxydatif est considéré comme le mécanisme de toxicité le plus courant lié à l'exposition aux nanoparticules (**Yang et al., 2009**). Le stress oxydatif induit par les nanoparticules entraînant la production des radicaux libres et entraînant une altération des antioxydants. Différentes nanoparticules sont impliquées dans la perturbation de la fonction mitochondriale par la formation d'espèces réactives d'oxygène (ROS) dans un certain nombre de lignées cellulaires (**Long et al., 2007; Kang et al., 2008; Park et al., 2008**). Les ROS provoquent un certain nombre de lésions, notamment l'oxydation des protéines, des lipides et de l'ADN (**Shigenaga et Ames, 1991 ;Srikanth et al., 2014**).

L'utilisation croissante des composés de l'antimoine (Sb) dans l'industrie et l'augmentation conséquente du nombre de travailleurs exposés rendent importante la réalisation d'une évaluation des risques pour la santé humaine et environnementale. **Cavallo et al. (2002)** ont évalué la génotoxicité du Sb_2O_3 chez les travailleurs exposés professionnellement. La génotoxicité a été évaluée par les tests d'échange de chromatides sœurs (SCE) et de micronoyaux, et le test de comète modifié par l'enzyme (Fpg). Le test de comète modifié par enzyme a montré une relation probable entre des niveaux modérés de dommages oxydatifs à

l'ADN et l'exposition à l'antimoine, les résultats soutiennent la théorie selon laquelle les dommages oxydatifs de l'ADN sont impliqués dans la génotoxicité de l'antimoine et indiquent la nécessité de poursuivre les recherches dans ce domaine.

Cette étude nous a encouragé à évaluer l'impact oxydative du trioxyde de l'antimoine sur un bioindicateur environnemental l'escargot terrestre *Helix aspersa*. Les spécimens ont été gavés par quatre doses de Sb_2O_3 . Cette toxicité est détectée par quatre biomarqueurs de stress oxydants ; le glutathion (GSH), le glutathion-s-transférase (GST), le Glutathion peroxydase (GPx) et la Super-Oxide Dismutase (SOD), et cela au niveau de l'hépatopancréas.

Dans la présente étude, les teneurs en GSH dans l'hépatopancréas d'*Helix aspersa* exposés à Sb_2O_3 ont montré une variation significative, par rapport aux groupes témoins, après 48h d'exposition.

Ces résultats sont signalés par d'autres travaux de recherches sur différents types de nanoparticules, **Xiong et al. (2011)** qui ont étudié l'impact du ZnO sur le poisson zèbre, **Abdel-Khalek et al. (2015)** qui ont exposé *Oreochromis niloticus* à une série de concentrations de CuO, **Anreddy et al. (2018)**, qui ont traité le rat Wistar par CuO, et **Benamara et al. (2022)** qui ont exposé *H. aspersa* à l'oxyde de cuivre.

Toutes ces équipes ont constaté que la suspension des NPs provoquait une variabilité du contenu en GSH dans le tissu hépatopancréatique. Les ions métalliques redox-actifs tels que Sb catalysent facilement l'oxydation du GSH en donnant naissance à des radicaux thiol et hydroxyle (**Stohs et Bagchi, 1995**).

Cet épuisement peut être le résultat d'une liaison accrue du Sb, d'une utilisation accrue de la capacité oxydante du GSH (conversion en GSSG, la forme oxydée du glutathion) ou d'une régénération inefficace du GSH (**Pandey et al., 2001 ; Parvez et al., 2003 ; Ahmad et al., 2005 ; Parvez et Raisuddin, 2006**). Cet épuisement du niveau de GSH réduit la disponibilité cellulaire pour piéger les radicaux libres et peut entraîner davantage de dommages liés au stress oxydatif (**Elia et al., 2003**).

Le maintien de du système redox nécessite un équilibre entre les oxydants et les

antioxydants. Sous stress oxydatif, la perte de désintoxication et l'accumulation d'espèces réactives d'oxygènes en excès (ERO) entraînent la mort cellulaire par des perturbations de l'équilibre redox, de la signalisation ultérieure et des systèmes de sauvetage cellulaire (**Boyer, 1982; Owens, 2001; Rouhier et al., 2008**). Dans les cellules aérobies, la dégradation des ERO se produit à travers les pools de GSH, qui est catalysée par une série d'enzymes antioxydantes localisées principalement dans les zones intracellulaires et extracellulaires à forte production de ROS (**Potters et al., 2002**).

Tous les organismes vivants possèdent des systèmes de protection contre les réactions des radicaux libres, notamment des enzymes antioxydantes et de stress oxydatif. L'activité de ces enzymes antioxydantes dépend de la concentration et de la durée d'exposition aux polluants, ainsi que de la sensibilité des espèces étudiées (**Ballesteros et al., 2009**).

La GPx a un rôle crucial dans la protection intracellulaire contre les composés toxiques tels que Cu et Zn (**Anderson, 1997 ; Anderson et Luo, 1998 ; Mosleh et al., 2005**). GPx est responsable de la défense enzymatique contre le peroxyde d'hydrogène et strictement lié à la concentration de GSH, il catalyse la réaction entre le glutathion et le peroxyde d'hydrogène, entraînant la formation de disulfure de glutathion (GSSG) (**Alkaladi et al., 2013**). Dans le présent résultat, l'activité GPx dans les tissus de l'hépatopancréas *d'Helix aspersa* traité par l'oxyde de cuivre l'antimoine a montré une réduction significative par rapport au témoin après 48h.

Plusieurs études montrent que les nanoparticules (NPs) peuvent pénétrer dans l'organisme par plusieurs voies et avoir des effets toxiques systémiques sur la santé humaine. **Besnaci et al. (2019)** ont étudié l'effet de Fe₂O₃ sur une espèce bioaccumulatrice et bioindicatrice, l'escargot terrestre *Helix aspersa*. Leurs résultats révèlent un stress oxydatif déclenché et une induction du système de détoxification, avec une augmentation des taux de GSH, GST, GPx et MDA (LPO) avec une diminution de l'activité de la catalase. Des lésions tissulaires rénales très nettes confirment les résultats obtenus aux premières doses.

L'étude de **Besnaci et al., 2022** est intéressée à l'évaluation de l'impact des nanoparticules de silicefumée (SiO₂) sur un organisme bioaccumulateur, bioindicateur de pollution de l'environnement et un indicateur d'état sanitaire des sols, le gastéropode *Helix aspersa* suite à une exposition via la nourriture. Les résultats obtenus montrent que la présence

des nanoparticules de silice dans la nourriture de *H. aspersa* provoque des modifications des paramètres testés dont une augmentation du taux des protéines totales. Ces données révèlent une diminution du taux du GSH ainsi que de l'activité de la CAT et de la GPx, parallèlement à l'observation d'une augmentation de l'activité de la GST au niveau de l'hépatopancréas et du rein. Les perturbations notées sont relativement plus significatives au niveau de l'hépatopancréas qu'au niveau du rein, ce qui montrent un état de stress oxydatif chez *H. aspersa* exprimé par le déclenchement du système de lutte contre le stress oxydatif à travers les biomarqueurs de cette réaction métabolique.



Conclusion

Le trioxyde d'antimoine fait partie des nanoparticules présentant des caractéristiques physicochimiques très intéressantes et utilisés dans multiples domaines, les nanoparticules de Sb_2O_3 sont en interaction continue avec l'Homme et l'environnement du fait de leurs utilisations massive et souvent non contrôlé; ces nanoparticules sont utilisées dans divers industries

Notre étude a pour but ultime de déterminer la toxicité des nanoparticules de la Sb_2O_3 sur les escargots *Helix aspersa*, après une exposition orale aigue, en évaluant les effets induits sur les bio marqueurs du stress oxydant: GSH, GST, GPx et SOD au niveau du l'hépatopancréas.

Les résultats obtenus montrent que :

- Une fluctuation très hautement significative du thiol intracellulaire majoritaire GSH est observée au niveau de l'hépatopancréas de *H. aspersa*. La plus forte concentration détectée était au niveau des hépatopancréas de *H. aspersa* traités par la forte dose 5 mg/ind de Sb_2O_3 .
 - Une diminution très hautement significative de taux de GST est notée entre les quatre doses (0.5, 1, 2.5 et 5 mg/individus) et le témoin ; dont la plus forte réduction est noté chez les escargots traités par la dose 2.5 mg/ind.
 - Une augmentation hautement significative de GPx, indiquant le déclenchement du système de défense cellulaire.
 - Une variabilité de taux de la superoxyde dismutase (SOD) est observée au niveau de l'hépatopancréas des *H. aspersa* dont le pic a été signalé au niveau de l'hépatopancréas des *H. aspersa* de la dose N°3 (2.5 mg) signifiant les efforts fournis par la cellule pour rétablir l'équilibre de sa système REDOX.

Perspective :

- Conduire cette recherche sur d'autres modèles biologiques.
- La réalisation d'autres approches toxicologiques sur ce type des nanoparticules afin d'élargir les connaissances sur leurs mécanismes de toxicité.

- Une législation nationale sur les nanoparticules en général et spécifique sur le dioxyde d'antimoine, avec des lignes directives, limitation d'usage et restriction.
- Un control sévère et efficace des utilisations industrielles et médicales de Sb_2O_3 , avec limitation d'usage massive.

Référence bibliographique :

- AFSSET.,2006. Les nanomatériaux : effets sur la santé de l'homme et sur l'environnement, Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail, Juillet 2006, Paris, 248 p
- Aitken RJ, Creely KS, Tran CL, 2004. Nanoparticles: an occupational hygiene review. Sudbury, Suffolk, Grande-Bretagne. HSE, 100p. Page d'accueil visionnée le 2/11/2004. <http://www.hse.gov.uk/research/rrpdf/rr274.pdf>.
- Antimony trioxide. In : HSDB. NLM, 2013 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)
- ATSDR., 1992. Toxicological Profiles for antimony and compounds. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Atlanta, GA: U.S department of Health and Human Services, Public Health Services. <http://www.atsdr.cdc.gov/toxpro2.html>.
- Audion et CEIS., juillet 2012. Panorama 2011 du marché de l'antimoine BRGM/ RP-61342-FR ; A.S.Audion avec la collaboration extérieure de la compagnie européenne d'intelligence stratégique..
- Besnaci, S., Bensoltane, S., & Djekoun, M. (2019). Oxidative stress and histological changes Induced by the nano-Fe₂O₃ in *Helix aspersa*. Scientific Study & Research. Chemistry & Chemical Engineering, Biotechnology, Food Industry, 20(2), 119-133.
- Bettazzi et palchetti., 2019. Bettazzi, F., Palchetti, I., 2019.Nanotoxicityassessment:
- Bisson.M ,Bonnomet.V ,Bigne-fouillen.V, Jolibois.B,Gay j.p.G lef,vre ,Tack.K, 2007. Antimoine et ses dérivés, michele.bisson@ineris.fr
- Bonnet, J. C., Vrillon, J. L. 1990. L'escargot *Helix aspersa* biologie-élevage. Edition INRA.14-15.
- Boucenna, M. : 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 Algérie, 2016, 193;
- Braga D, Griping F (1994) From molecule to molecular aggregation: clusters and crystals of clusters. Acc Chem Res 27:51
- Brieger, H., Semisch, C.W., Stasney, J. et Piatnek, D.A. (1954). Industrial antimony poisoning. Ind. Med. Surg., 23: 521-523

- Cavallo, D., Iavicoli, I., Setini, A., Marinaccio, A., Perniconi, B., Carelli, G., & Iavicoli, S. (2002). Genotoxic risk and oxidative DNA damage in workers exposed to antimony trioxide. *Environmental and molecular mutagenesis*, 40(3), 184-189.
- Cillard, O et Cillard, P (2006). « Mécanismes de la peroxydation lipidique et des anti-
- Desmots, F., Rissel, M., Loyer, P., Turlin, B. and Guillouzo, A. (2001). "Immunohistological analysis of glutathione transferase A4 distribution in several human tissues using a specific polyclonal antibody." *J Histochem Cytochem* 49(12): 1573-158

F.

- Favier A. (2003). Le stress oxydant Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *L'actualité Chimique*, pp. 108-115.
Fiorentino, Fi, Italy. *Analyticachimica* 1072: P 61-74
- Fite., 2004. Atelier santé-environnement évaluation et gestion des risques liées à l'exposition à l'antimoine.

G.

- Gimeno.O, Carbajo.M, Beltrn.F.J ,Javier Rivas.F, "Phenol and substituted phenols AOP remediation", *Journal of Hazardous Materials B* 119 (2005) 99-108.
- Gomot-De Vaufleury, A., 2000. Standardized growth toxicity testing (Cu, Zn, Pb, pentachlorophenol) with *Helix aspersa*. *Ecotox Environ Safety* 46:41-50. <https://doi.org/10.1006/eesa.1999.1872>
- Greenwood, N. N.; & Earnshaw, A. (1997). *Chemistry of the Elements* (2nd Edn.), Oxford:Butterworth-Heinemann. [ISBN 0-7506-3365-4](https://www.isbn-international.org/product/0-7506-3365-4).

I.

- ICRP., 1981. Limits for Inhalation of Radon Daughters by Workers. ICRP Publication 32. *Ann. ICRP* 6 (1).
- Iglesias J. & Castillejo J., 1998. Field observations on feeding of the land snail *Helix aspersa* Müller. *Journal of Molluscan Studies*, Oxford Journals, Life Sciences, 65 (4), 411 – 423.
- Institut national de l'environnement industriel et des risques(INEIR),2007 .
Nanotechnologies Nanomariaux Nanoparticules Quels impacts ? sur l'homme et l'environnement

- Institut national de recherche et de sécurité (INRS), *Les nanomatériaux*, Paris, juin 2008.

J.

- Jclin, I (2004). « Do tumor-suppressive mechanisms contribute to organism aging by inducing stem cell senescence», vol.13, p.4-7.
- Ji, Li Li, Ronggen Fu. "Responses of glutathione system and antioxidant enzymes to exhaustive exercise and hydroperoxide." *Journal of Applied Physiology* 72.2 (1992): 549-554.

M.

- Masea., Boudéne., 2008. Les nanoparticules constituent-elles une nouvelle classe de
- Matés, J. Perez-Gomez, C. Nunez Castro, I. (1999). Antioxidant enzymes and human diseases. *Clinical Biochemistry Journal*, Vol 32, pp. 595-603
- Maurice., Lefebvre., 2008. Nanoparticules santé et environnement-Mésson Elsevier. P 319
- Michel, F, et al. (2008).«Biomarqueurs de la peroxydation lipidique : aspects analytiques», *AnnBiolClin*, n° 66, p. 605-620.
- Migdal, C. and Serres, M. (2011). "[Reactive oxygen species and oxidative stress]." (*Med Sci Paris*) 27(4): 405-412

N

- National Research Council (US) Subcommittee on Flame-Retardant Chemicals. *Toxicological Risks of Selected Flame-Retardant Chemicals*. Washington (DC): National Academies Press (US); 2000. 10, Antimony Trioxide.

O

- ORMANR.G(2005). These Master de l'universite de Warwick

P

- Packer, Lester. "Oxidants, antioxidant nutrients and the athlete." *Journal of sports sciences* 15.3 (1997): 353-363.
- Pascal P. - *Nouveau traité de chimie minérale*. Paris, Masson et Cie, 1958, pp. 592-597.

- Pearl, P. L., Taylor, J. L., Trzcinski, S. and Sokohl, A. (2007). "The pediatric neurotransmitter disorders." J Child Neurol 22(5): 606-616.
 - Pichard, m. Bisson, r. Diderich, g. Lacroix, j.p. lefevre, s. Leveque, h. Magaud et c. Villey, ineris - fiche de données toxicologiques et Environnementales des substances chimiques : antimoine et ses dérivés, <http://www.ineris.fr>.
 - Pillou (2014). « Radicaux libres – Définition», Journal des Femmes.
 - Pincemail, J et Bonjean, K (2002).«Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante» , Nutrition clinique et métabolisme, vol. 16, n° 4, p.233-239
 - Potkonjak V. and Pavlovich M. (1983) – Antimoniosis : a particular form of
 - **R**
 - Reddy, U.A., Prabhakar, P.V., Mahboob, M.: Biomarkers of oxidative stress for in vivo assessment of toxicological effects of iron oxide nanoparticles, Saudi Journal of Biological Sciences, 2015, 24 (6), 1172-1180;
 - Renes L.E. (1953) - Antimony poisoning in industry. Arch Ind Hyg, 7, 99-108.
 - **S**
 - Sarkar, A., Sil, P.C.: Iron oxide nanoparticles mediated cytotoxicity via PI3K/AKT pathway: role of quercetin, Food and Chemical Toxicology, 2014, 71, 106-115;
 - Shayam S ; Jaya CH,2010, Antimony Toxicity, INT Environ Res Public Health, 7(12), 4267-4277.
 - Simonin, M. 2015.Dynamique, réactivité et écotoxicité des nanoparticules d'oxydes métalliques dans les sols : impact sur les fonctions et la diversité des communautés microbiennes. Ecotoxicologie. Université Claude Bernard -Lyon I.
 - Stevenson C.J. (1965) - Antimony spots. Transactions of the St John's hospital
 - Stiévenart C., 1990. Importance de la combinaison des paramètres poids vif et longueur de coquille pour l'appréciation de la croissance chez les escargots géants africains. Service de Production Animale Tropicale, Institut de Médecine Tropicale d'Anvers, Belgique, Livestock Research for rural Development, 2, 1 – 12
 - **T**
- toxiques environnementaux ? Académie nationale de médecine. Paris (France)

- Trioxyde d'antimoine – Evaluation préalable pour le Défi concernant le trioxide de diantimoine. Environnement Canada. Santé Canada. 2010, (<https://www.ec.gc.ca/ese-ees/>).
- **V**
- VALCO M, J.C. PIHODES, J. MONCOL, M. IZATOVIC et M. MAZUR (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress induced cancer. Chem.-Biol. Interact., 160, 1-40.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M. and Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. International Journal of Biochemistry & Cell Biology, Vol 39(1), pp 44-84.
- **W**
- Wu, S., Huang, J., Dong, J., Pan, D. (2003). hippo encodes a Ste-20 family protein kinase that restricts cell proliferation and promotes apoptosis in conjunction with salvador and warts.
- **Z**
- Zylberberg S.2014. Symbole chimique de l'Antimoine (<https://jeretiens.net/symbole-chimique-de-lantimoine/>)