



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

*Etude de l'impact des nanoparticules d'oxyde d'antimoine
Sur l'escargot HELIX aspersa*

Présenté Par :

HADEF Maissa et HACINI Roumaissa

Devant le jury composé de :

Dr Gheid Samira	MCA	Présidente	Université Chadli Bendjedid d'El-Tarf
Dr Nouri Nada	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

Année universitaire : 2021/2022

Remerciement

La réalisation de ce mémoire a été possible grâce au concours de plusieurs personnes à qui je voudrais témoigner toute ma gratitude.

Tout d'abord je tiens à remercier *Dieu*, le tout puissant et miséricordieux, qui m'a donné la force, l'intelligence et la patience d'accomplir ce modeste travail.

On remercie madame *Gheid Samira* Maitre de conférences à l'Université Chadli Bendjedid EL TARF pour avoir pris sur son temps et accepter d'être présidente de ce travail et participer à ce jury

On tient également à remercier Mme *Nourí Nada* Maitre de conférences à l'Université Chadli Bendjedid EL TARF, pour avoir pris sur son temps et accepter d'examiner et juger ce travail et participer à ce jury.

On exprime notre reconnaissance à madame *Amrani Amína* pour avoir accepté d'encadrer dans cette étude. On la remercie pour son implication, son soutien et ses encouragements tout au long de ce travail.

On adresse nos sincères remerciements à Melle *Zaidí Hadjer*, pour ses remarques, commentaires, recommandations et exigences m'ont guidé tout au long de mes recherches. Je lui exprime ma profonde gratitude. On la remercie vivement pour sa gentillesse, sa politesse, son aide, ses encouragements.

Enfin, on tient également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail, à mes amis, ma famille, Merci.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

*Mes chers parents **Djamel** et **Mounia**, pour leur patience, leur soutien, leur encouragement leur fatigue et leur amour durant mon parcours scolaire*

*A mes chères soeurs **Najla** et **Nada**
A mon unique frère **Abdou** que dieu le protège*

A toutes les membres de ma famille du coté paternel et maternel

*A mes chères amies **Roumaissa**, **Sihem**, **Imen**, **Manel**, **Chaima**, **Kouloud**, **Aya** Et je leur souhaite du succès dans leur vie*

*A tous mes professeurs qui nous ont suivis durant cette année
A tous mes professeurs depuis le début de ma vie scolaire, je les remercie de l'avoir encouragé à atteindre ce stade.
Et à tout ce qui m'aider de près ou de loin.*

H.Maissa

Dédicace Roumaïssa :

Merci Allah (dieu) de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire, la patience d'aller jusqu' au bout du rêve.

Je dédie ce modeste travail

A mes chers parents

Hacini mebarek et Fatiha

Pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études, Je vous dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Je vous souhaite une vie pleine de bonheur et aucun mot ne peut exprimer ce que je ressente pour eux, que dieu je les garde plus longtemps

A ma chère soeur ***Lina Hanine Yasmine***

Pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral

A mon chère frère ***Fares***

A mon chère frère ***yassine*** et sa petite famille ***Ibtehal*** et ***Hanen***

A tous les membres de ma famille, petits et grands.

A ma meilleurs amis : ***H .Maïssa , B.Manel, M .Sihem , L.Imen ,B .Chaima ,L .Khalida, A .KHOLOUD***

A tous mes amis et camarades

A tous les personnes que je n'ai pas nommées ici et à tous ce qui mon aidé

Roumaïssa H

Liste des tableaux

<i>N° Tableau</i>	Titre	Page
<i>Tableau 1</i>	les composés chimiques de l'antimoine	9
<i>Tableau 2</i>	les propriétés de certains composés chimiques de l'antimoine	9

Liste des figures

N°	Titre	Page
1	Gamme de tailles des nanoparticules comparée à celles des principales structures chimiques et biologiques	3
2	les principales voies d'exposition et de pénétration des nanoparticules	6
3	Position de l'antimoine (Sb) dans le tableau périodique des éléments	8
4	La structure de (a) sénarmontite, (b) valentinite, (c) cervantine	13
5	l'origine et les conséquences biologiques du stress oxydant	19
6	Oxydation des protéines	21
7	Mécanisme de la peroxydation des lipides	22
8	le trioxyde d'antimoine sous forme de poudre	26
9	l'escargot <i>Helix aspersa</i>	26
10	le nettoyage des escargots	28
11	le gavage des escargots	29
12	un escargot disséqué	29
13	les différents organes de l'escargot	29
14	Courbe D'étalonnage Du Glutathion.	31
15	Dosage des protéines	32
16	Courbe d'étalonnage des protéines	32

17	Taux de mortalité induit par le trioxyde d'antimoine chez l'escargot terrestre helix aspersa	33
18	Variation des taux de GSH au niveau de l'hépatopancréas de l'escargot terrestre helix aspersa traité par le trioxyde d'antimoine	34
19	Variation des taux de GSH au niveau de rein de l'escargot terrestre helix aspersa traité par le trioxyde d'antimoine	35
20	Variation des taux de GSH au niveau d'intestin de l'escargot terrestre helix aspersa traité par le trioxyde d'antimoine	36
21	Variation des taux de LPO au niveau De l'hépatopancréas de l'escargot terrestre helix aspersa traité par le trioxyde d'antimoine	37
22	Variation des taux de LPO au niveau de rein de l'escargot terrestre helix aspersa traité par le trioxyde d'antimoine	38
	Variation des taux de LPO au niveau d'intestin de l'escargot terrestre helix aspersa traité par le trioxyde d'antimoine	39

Liste d'abréviation

μg	Microgramme
BBC	Bleu Brilliant de Coomassie
B.S.A	Bovin serum albumine
CAT	Catalase
ERO	Espèce reactive oxygénées
GPX	Glutathion peroxydase
GSH	Glutathion réduit
GST	Glutathion - S –transférase
H_2O_2	Peroxyde d'hydrogène
Kg	Kilo gramme
Mg	Milli gramme
Nm	Nano- mètre
O_2	Oxygène moléculaire
$\text{O}_2^{\cdot-}$	Anion superoxide
OH^{\cdot}	Radical hydroxyle
SOD	Superoxide dismutase
Sb_2O_3	Trioxyde d'antimoine
TCA	Trichloroacétique

Résumé :

Dans le cadre de l'évaluation nano toxicologique des effets des oxydes métalliques sur le bio indicateur de pollution *Helix aspersa* qui est parfaitement adaptée aux études toxicologiques, et afin d'établir un profil toxicologique précis des atteintes biologiques induites par les nanoparticules de trioxyde d'antimoine nous avons évalué l'exposition aux nanoparticules par une approche ciblée au laboratoire, consistant à évaluer les effets d'un éventuel stress oxydatif au niveau du foie et des rein et intestin par le suivie de certains biomarqueurs enzymatiques : GSH et TBA. *Helix aspersa* est gavé par une dose unique (0,5 ; 1 ; 1,5 ; 5 mg) du trioxyde d'antimoine pendant 48h. Une diminution puis une augmentation significative de GSH suite à l'exposition à une dose unique de Sb_2O_3 , indique une condition de stress oxydatif dans les organes en question, et cela est due à la production des ROS et au système de défense antioxydant. Dans notre étude une augmentation significative du taux de LPO est notée dans les hépatopancréas des escargots traités. Les résultats obtenus montrent la sensibilité de *Helix aspersa* au trioxyde d'antimoine même à faible concentration.

Mots clé : NPs , Sb_2O_3 , GSH , LPO , stress oxydant

Abstract :

To evaluate the effects of metal oxides on the bio-indicator of pollution *Helix aspersa* ; perfectly suited to toxicological studies, and in order to establish a precise toxicological profile of the biological damage induced by the nanoparticles of trioxide of antimony we evaluated exposure to nanoparticles using a targeted laboratory approach, consisting in evaluating the effects of possible oxidative stress on the liver, kidneys and intestines by monitoring no-enzymatic biomarkers: GSH and TBA. *Helix aspersa* is gavaged with a single dose (0.5; 1; 1.5; 5 mg) of antimony trioxide for 48 hours. A decrease and then a significant increase in GSH following exposure to a single dose of Sb_2O_3 , indicates a condition of oxidative stress in the organs in question, and this is due to the production of ROS and the antioxidant defense system. In our study, a significant increase in the level of LPO is noted in the hepatopancreas of the treated snails. The results obtained show the sensitivity of *Helix aspersa* to antimony trioxide even at low concentration.

Keywords: NPs, Sb_2O_3 , GSH, LPO, oxidative stress

ملخص:

في إطار التقييم السمي النانوي لتأثيرات أكاسيد المعادن على المؤشر الحيوي للتلوث *Helix aspersa* الذي يتناسب تمامًا مع دراسات السمية ، ومن أجل إنشاء ملف تعريف دقيق للسموم للضرر البيولوجي الناجم عن الجسيمات النانوية لثالث أكسيد من الأنثيموان ، قمنا بتقييم آثار التعرض للجسيمات النانوية على الكبد والكلية والأمعاء من خلال مراقبة بعض المؤشرات الحيوية: GSH و TBA. يتم تغذية اللولب أسبيرسا بجرعة وحيدة (0.5 ، 1 ، 1.5 ، 5 مغ) من ثالث أكسيد الأنثيموان لمدة 48 ساعة. يشير الانخفاض ثم الزيادة الكبيرة في GSH بعد التعرض لجرعة واحدة من Sb_2O_3 إلى حالة الإجهاد التأكسدي في الأعضاء المعنية ، وهذا يرجع إلى إنتاج ROS ونظام الدفاع المضاد للأكسدة. في دراستنا ، لوحظ زيادة كبيرة في مستوى LPO في الكبد والبنكرياس في القواقع المعالجة. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها حساسية اللولب الاسبرسا لثالث أكسيد الأنثيموان حتى عند التركيز المنخفض.

الكلمات الرئيسية: NPs ، Sb_2O_3 ، GSH ، LPO ، الإجهاد التأكسدي

Sommaire

Remercîments	
Dédicace	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste d'abréviation	
Résumé	
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.2. Domaine d'utilisation des nanotechnologies et nanomatériaux	5
➤ La cosmétologie	5
➤ dans le domaine de la santé	5
➤ Médicaments, vaccins et thérapies	6
➤ Dans le diagnostic	6
I.3. Les voies d'exposition	6
I.4. Toxicité des nanoparticules: le « risque nano »	7
I.4.1 L'éconanotoxicologie	7
I.4.2. Toxicité pour la flore	7
II .1.3. Toxicité pour la faune	7
II L'antimoine(Sb)	8

II .1 Les propriétés physicochimique de l'antimoine	8
II.2 Les dérivés d'antimoine et ses origines	9
A. L'origine de l'antimoine	9
B. Principe de production	10
C. Source de l'antimoine	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 ₂ O ₃	12
III.2 La structure d'oxyde d'antimoine	12
III.3 Propriétés physicochimiques	13
III.3 La Toxicocinétique de trioxyde d'antimoine	14
l'absorption	14
Distribution	14
Métabolisation	15
Elimination	15
III.3 Toxicité de trioxyde d'antimoine Sb ₂ O ₃	15
III.3 .1 Toxicité aigüe	15
III.3 .2 Toxicité chronique	15
III.3 .2.1 Effets cancérigènes	16
III.3 .2.2 Effets génotoxique	16
III.3 .2.3 Effets sur la reproduction et le développement	17
III.3.2.4 Effets gastro-intestinaux	17
III.3.2.5 Effets sur le foie	17
IV. Le stress oxydatif	17
4.1 Généralité	17
4.2 Définition du stress oxydative	17
4.3 Origine du stress oxydant	18
4.5 Les conséquences du stress oxydant	18

4.6 Les radicaux libres	19
4.7 L'Espèce réactive d'oxygène (ROS ou EOA)	19
a) Les espèces réactives de l'oxygène (EROs)	20
b) Les espèces réactives de l'azote (ERNs)	20
4.8 Cible des radicaux libre	20
4.9 les bio-marqueurs du stress oxydatif	21
Chapitre 2 : matériels et méthodes	
Matériel	
Matériels chimique	26
Matériels biologique	26
Conditions d'élevage	27
Traitement des escargots	28
Dosages des biomarqueurs du stress oxydant	29
Dosage du glutathion GSH	29
Dosage de la peroxydation lipidique (TBARS)	31
Dosage de protéines	31
Résultats et Interprétation	33
Discussion	40
conclusion	42
Référence bibliographique	43

Introduction

Depuis plusieurs années, il y a eu un intérêt croissant dans la recherche en nanotechnologie, qui se concentre sur les particules qualifiées de particules ultrafines dont au moins une dimension est comprise entre 1 et 100 nanomètres encore appelé nanoparticules (NPs).

L'importance de ces matériaux a été réalisée lorsque les chercheurs ont découvert que la taille pouvait influencer les propriétés physicochimiques d'une substance. La libération de nanoparticules dans l'environnement s'effectue de façon non-intentionnelle au niveau des sites de synthèse ou au cours du transport de ces produits, ainsi que par des mécanismes rejetant des nanoparticules, tels que la combustion des moteurs à explosion ou le fonctionnement des centrales thermiques visant à produire de l'électricité.

Ces nanoparticules se retrouvent directement dans l'air, l'eau et le sol, ce qui implique leur contact immédiat avec de nombreuses espèces animales

Les recherches approfondies sont en cours pour évaluer la nanotoxicité de différents nanomatériaux dans diverses expositions et de définir les facteurs de risque (**Bettazzi et Palchetti., 2019**). Pour ce là, les nanoparticules constituent un problème toxicologique émergent indiscutable (**Massea et Boudéne., 2008**).

Le trioxyde d'antimoine est une nanoparticule métallique présente naturellement dans l'environnement En effet peut être trouvé 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 nombreuses domaine comme : **le domaine de la santé , La cosmétologie ...**

Plusieurs études toxicologiques menées *in vivo* et *in vitro* ont reportées que le trioxyde d'antimoine peut avoir un potentielle toxique important, ce type de nanoparticule aurait tendance a s'accumulé dans plusieurs organes y compris principalement le foie, les reins et l'intestin.

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 des biomarqueurs de stress oxydant ; le glutathion, et la peroxydation lipidique.

Chapitre 01 :
synthèse
bibliographique

I. Généralité

La nanotechnologie fait grand partie dans notre vie quotidienne. Impliquant la création et l'utilisation de matériaux, d'instruments et de systèmes portant sur des dimensions de l'ordre de 1 à 100 nanomètres (*National Science and Technology Council*). Un nanomètre est égal à un milliardième de mètre (10⁻⁹m). En comparaison, un nanomètre est environ 100.000 plus fin qu'un cheveu humain et un atome a un diamètre de l'ordre d'un dixième de nanomètre. (**Aitken et al., 2004**)

La Figure 01 compare les nanostructures avec les structures organiques naturelles

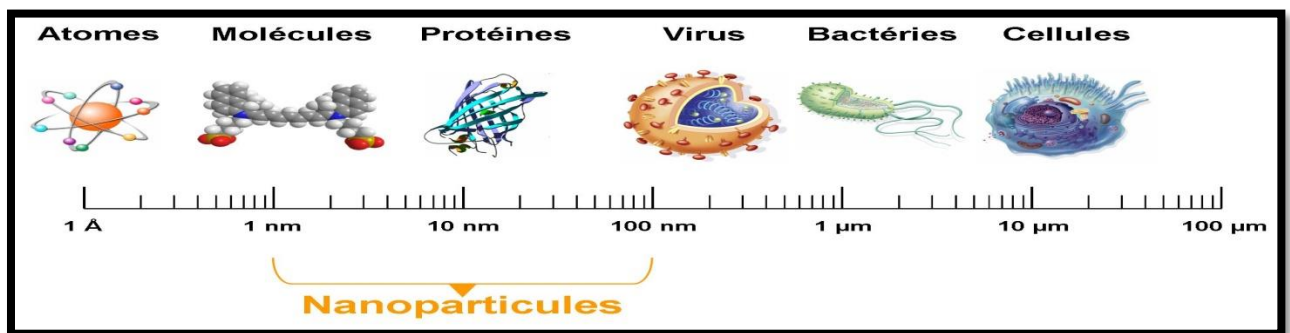


Figure 01 : Gamme de tailles des nanoparticules comparée à celles des principales structures chimiques et biologiques. (**TOUZANI R ,2016**)

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**).

I.1. Classification et propriétés des Nanoparticules :

Les nanoparticules peuvent être classées selon les critères suivants :

I.1.1. Origine:

- **Naturel** : sont toutes les particules issues des activités terrigènes (érosion), des activités volcaniques, des feux de forêt, des activités marines (aérosols de sel) et des composés organiques (transformations gaz/particules)
- **Anthropique** : sont le résultat des activités industrielles humaines. Elles sont issues plus particulièrement des secteurs de l'automobile, l'agriculture et l'industrie (combustion, aérosols...) (**Delphine ,2015**)

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**)

I.1.3. Composition chimique:

- **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**)

Les nanoparticules, jonction entre l'échelle atomique et le matériau, ont des particularités structurales très spécifiques. En effet, contrairement aux matériaux classiques, les nanoparticules voient leurs propriétés changer en fonction de leur taille. Elles sont soumises à la fois aux phénomènes de la physique classique et à ceux de la physique quantique lorsqu'elles sont de très petite taille. Les principales propriétés des nanoparticules sont : optiques, électriques, catalytiques, thermiques, magnétiques, mécaniques ou encore biologiques. (**Simonin, 2015**)

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

I.2. Domaine d'utilisation des nanotechnologies et nanomatériaux :

Les domaines d'utilisation des NPs dans notre vie quotidienne sont nombreux et extrêmement divers et cela grâce à leurs propriétés particulières.

Parmi les plus grands domaines, on a :

- **La cosmétologie :**

Aujourd'hui, on les trouve dans plusieurs produits ; des crèmes anti-âge aux crèmes antisolaires, etc. On utilise le plus souvent des nanoparticules lipophiles qui vont permettre la pénétration des principes actifs dans la peau pour tout ce qui est crème. **(Badri., 12 octobre 2018)**

- Par exemple dans les crèmes antisolaires minéraux, on utilise le Dioxyde de titane (TiO₂-np) et d'Oxyde de zinc (ZnO-np) afin de limiter l'aspect blanchâtre de la peau, après utilisation.

- Dans les rouges à lèvres, il y a des Nanoparticules d'Oxyde de fer (FeO-np) pour un effet « longue durée ».

- **dans le domaine de la santé :**

L'utilisation des Nanoparticules dans le domaine de la santé a des perspectives qui semblent infinies. Les Nanoparticules sont de plus en plus utilisées en médecine, soit à des fins diagnostiques ou entres autres à des fins thérapeutiques. **(Badri., 2018).**

Il existe différents secteurs de la médecine et la santé dans lesquels les Nanoparticules sont exploitées. Parmi les principaux secteurs, on trouve :

- **Médicaments, vaccins et thérapies :**

Il y a quelques années, l'utilisation des nano dans les médicaments a commencé. C'est ce qu'on appelle « les nanomédicaments ». Ils sont encore peu nombreux aujourd'hui mais leur efficacité est prouvée. Grâce à la vectorisation, qui a permis de contrôler la distribution du médicament via les nanovecteurs, il y a eu l'invention des médicaments qui ont la capacité de protéger le principe actif et d'affranchir certaines barrières biologiques afin d'apporter le principe actif aux

cellules cibles avec la plus grande précision. Cela permet également de diminuer la dose des médicaments qui peuvent être toxiques. (Badri, 2018).

➤ **Dans le diagnostic :**

L'évolution des nanotechnologies dans le domaine médical a permis d'envisager une révolution dans le domaine du diagnostic des maladies et des analyses, et notamment en imagerie médicale pour la détection des cancers.(Badri, 2018)

I.3. Les voies d'exposition :

Les voies d'exposition de l'homme aux nanoparticules sont les voies respiratoire, cutanée et digestive. La voie principale est la voie respiratoire ; le lieu de dépôt dans l'arbre respiratoire dépend de la taille des particules. La pénétration cutanée est encore une hypothèse car les études réalisées à ce jour ne permettent pas de conclure ; on sait pourtant que les mouvements répétés de la peau pourraient faciliter la pénétration. Bien que les connaissances soient encore limitées, des données montrent que certaines nanoparticules peuvent traverser les barrières de l'organisme pour venir s'accumuler dans divers organes. Elles pourraient ainsi créer des dommages et jouer un rôle dans le développement de pathologies. Le caractère récent des nanotechnologies fait qu'il n'existe pas, à l'heure actuelle, d'étude épidémiologique ni sur la population des travailleurs ni sur la population générale. (INEIR,2007)

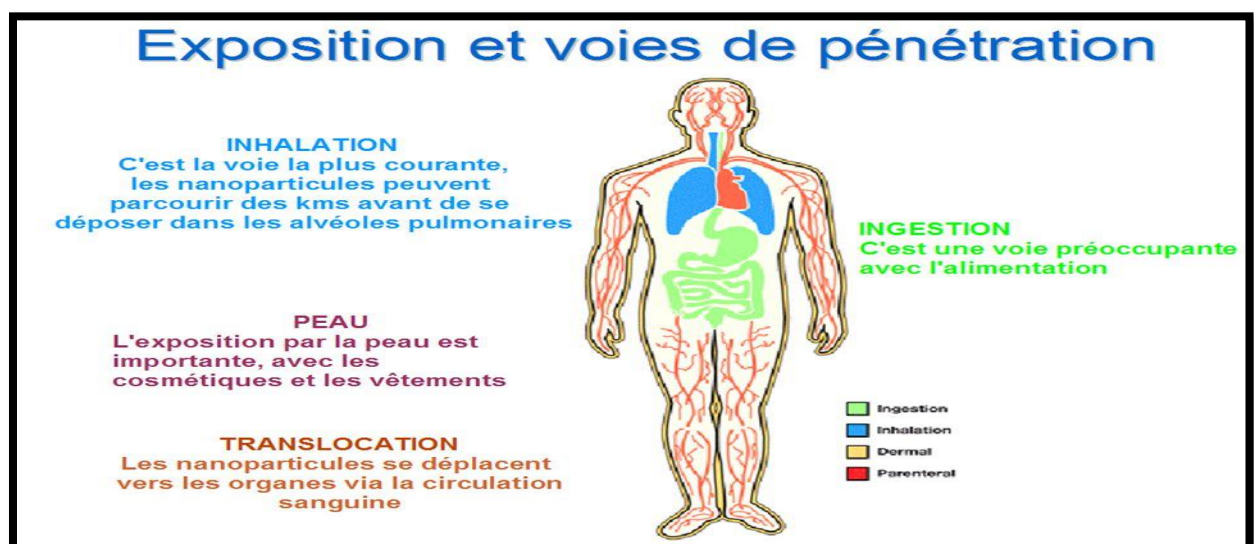


Figure 2 : les principaux voies d'exposition et de pénétration des nanoparticules (HELA,2007).

I .4. Toxicité des nanoparticules: le « risque nano » :

I .4. 1 L'éconanotoxicologie :

Pour évaluer l'impact des nanoparticules sur l'environnement, premièrement il faut déterminer les quantités de nanoparticules qui sont rejetées dans l'environnement, les localiser (air, eau, sol), et déterminer leurs lieux d'accumulation préférentiels, ainsi que leurs conditions de persistance ou de dégradation. On pourra ensuite rechercher à déterminer l'écotoxicité des nanoparticules. Actuellement, il n'existe que peu de données traitant du comportement et de la toxicité des nanoparticules dans l'environnement. Les fullerènes sont pratiquement les seuls à être documentés (Maurice ., LefebvreE.,2008).

I .4.2.Toxicité pour la flore :

Il n'existe à notre connaissance aucune donnée portant sur les toxicités des nanoparticules sur la flore. Nous pouvons cependant avancer que les différentes plantes peuvent absorber, par leurs racines, les nanoparticules transportées par le sol, ainsi que les nanoparticules présentes dans l'air, par leurs stomates. La flore pourrait donc être indirectement contaminée par les nanoparticules transportant des polluants . (AFSSET., juillet 2006., LM., 2007., Witschger, O., Fabries, JF., 2005)

II .1.3.Toxicité pour la faune :

La toxicité des nanoparticules vis-à-vis de la faune est de nouveau mal connue et peu documentée. Plusieurs études ont été réalisées sur des organismes aquatiques, comme sur 28 le bar *Micropterus salmoides* (en 2004, Oberdörster) que l'on a exposé à 0,5 mg/l de fullerène pendant 48 heures, sans que cela provoque de mortalité. Que peut-on en conclure sur les effets des nanoparticules de fullerène ? Beaucoup critique le protocole expérimental pour son absence de répliquas et l'utilisation d'un solvant sur le fullerène, qui pourraient modifier les propriétés et la toxicité des nanoparticules considérées. D'autant plus que d'autres études tentent à prouver que le solvant utilisé n'est pas neutre, et fausse donc les résultats. On ne peut ainsi rien conclure, mais les études sur le sujet tendent à se multiplier (AFSSET., 2006., LM., 2007., Witschger & Fabries, 2005).

II L'antimoine(Sb)

L'antimoine est l'élément chimique de la famille des pnictogènes (Les pnictogènes sont les éléments de la quinzième colonne de la classification périodique des éléments et incluent, entre autres, l'azote (N) et l'arsenic (As) de symbole Sb (FITE, J et *al.*, avril 2004) l'antimoine est le 51eme élément du tableau périodique de Mendeleïev (Figure02).

H																	He																												
Li	Be											B	C	N	O	F	Ne																												
Na	Mg											Al	Si	P	S	Cl	Ar																												
K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr																												
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I	Xe																												
Cs	Ba	La	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At	Rn																												
Fr	Ra	Ac	Rf	Db	Sg	Bh	Hs	Mt	Ds	Rg	Cn																																		
<table border="1" style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <tbody> <tr> <td>Ce</td><td>Pr</td><td>Nd</td><td>Pm</td><td>Sm</td><td>Eu</td><td>Gd</td><td>Tb</td><td>Dy</td><td>Ho</td><td>Er</td><td>Tm</td><td>Yb</td><td>Lu</td> </tr> <tr> <td>Th</td><td>Pa</td><td>U</td><td>Np</td><td>Pu</td><td>Am</td><td>Cm</td><td>Bk</td><td>Cf</td><td>Es</td><td>Fm</td><td>Md</td><td>No</td><td>Lr</td> </tr> </tbody> </table>																		Ce	Pr	Nd	Pm	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu	Th	Pa	U	Np	Pu	Am	Cm	Bk	Cf	Es	Fm	Md	No	Lr
Ce	Pr	Nd	Pm	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu																																
Th	Pa	U	Np	Pu	Am	Cm	Bk	Cf	Es	Fm	Md	No	Lr																																

Figure 3 : Position de l'antimoine (Sb) dans le tableau périodique des éléments (Licence Freepik Premium-fr.freepik.com)

Ce solide à l'aspect semi-métallique c'est dire intermédiaires entre celles des métaux et des non-métaux. (Zylberberg, 2014)

II .1 Les propriétés physicochimique de l'antimoine :

L'antimoine a pour symbole Sb. Cet élément, de numéro atomique $Z= 51$, de masse atomique $M = 121,76$, qui appartient au groupe Vb du tableau périodique, est, en tant que corps simple, intermédiaire entre les métaux et les non-métaux. En effet, l'antimoine est considéré comme un corps semi-métallique ou métalloïdique de valence 3 ou 5, qui existe sous plusieurs formes allotropiques. Sous sa forme stable, il se présente comme un solide gris argenté à l'éclat métallique, facilement pulvérisable, de densité 6,69, dont le point de fusion est situé à 631 °C, celui d'ébullition à 1 380 °C. C'est un mauvais conducteur de chaleur et d'électricité. Soluble dans l'acide chlorhydrique à froid et dans l'eau régale, il se combine facilement avec les halogènes. Du point de vue chimique, l'antimoine est très stable au contact de l'air et n'est attaqué ni par les acides ni par les bases. (FITE et *al.*, 2004)

Tableau1 : les composés chimiques de l'antimoine (Masson et Ney,2004)

Nom	Valence	Organique ou inorganique	Formule chimique
Antimoine	-	Inorganique	Sb
Tartrate potassique d'antimoine (APT)	Pentavalent	Organique	KSbOC ₄ H ₄ O ₆
Tartrate sodique d'antimoine (AST)	Pentavalent	Organique	NaSbOC ₄ H ₄ O ₆
Trioxyde d'antimoine (ATO)	Trivalent	Inorganique	Sb ₂ O ₃
Stibine (hydrure d'antimoine)	Trivalent	Inorganique	SbH ₃
Chlorure d'antimoine	Trivalent	Inorganique	SbCl ₃
Antimonite	Trivalent	Inorganique	Sb(OH) ₃
Antimoniate	Pentavalent	Inorganique	Sb(OH) ₆ ⁻

Tableau 2 : les propriétés de certains composés chimiques de l'antimoine (Masson et Ney,2004)

<i>Nom de la substance:</i>	Hydrure d'antimoine ou stibine	Trioxyde d'antimoine
<i>Description générale:</i>	Gaz incolore d'odeur nauséabonde	Poudre cristalline blanche
<i>Formule empirique:</i>	SbH ₃	Sb ₂ O ₃
<i>Masse atomique relative:</i>	124,8 g	291,5 g
<i>Masse volumique:</i>	5,68 g/L	5,2-5.8 g/cm ³
<i>Densité de gaz:</i>	4,3	
<i>Point d'ébullition:</i>	-18°C	1456°C
<i>Point de fusion:</i>	- 88°C	656°C
<i>Solubilité dans l'eau:</i>	200 mL/L	0,014 g/L

II.2 Les dérivés d'antimoine et ses origines :

A. L'origine de l'antimoine :

L'antimoine est un produit qui se trouve naturellement dans les sols : il entre pour 0,001 % dans la composition de l'écorce terrestre et plus précisément, sa concentration dans la croûte terrestre est entre 0,2 et 0,5 mg/kg. La charge naturelle d'antimoine est de 0,0005-1,1 mg/kg dans les sols et de 0,04-3 µg/L dans les eaux superficielles et souterraines (DVGW., 1985). On a observé une baisse de la fertilité des sols ayant été contaminés par de l'antimoine lors de précipitations.

Dans l'atmosphère, les émissions d'antimoine peuvent être transportées sur de longues distances (FITE et al., avril 2004).

B. Principe de production :

L'antimoine est préparé à partir de son principal minerai, le sulfure Sb_2S_3 appelé stibine, nom à partir duquel a été formé le symbole de l'antimoine Sb. Les principaux producteurs sont la Chine, la Bolivie, la Russie, l'Afrique du Sud, l'Australie, le Canada et la Turquie. Le minerai est grillé à l'air et l'oxyde Sb_2O_3 formé est réduit par le carbone (FITE et al., 2004).

L'antimoine est un sous-produit de fabrication des minerais de plomb et de zinc notamment. Il est extrait principalement par des techniques pyrométallurgiques : conversion du sulfure d'antimoine présent dans le minerai en oxyde, puis réduction, ou grillage partiel du minerai conduisant à la formation d'antimoine métal et de dioxyde de soufre (BISSON et al., 2007).

L'hydruure d'antimoine est formé soit par l'action d'acides sur des alliages d'antimoine, soit par réduction de composés d'antimoine, soit par électrolyse de solutions acides ou basiques en utilisant une cathode renfermant de l'antimoine (BISSON et al., 2007).

Le trichlorure d'antimoine est obtenu par réaction du chlore avec l'antimoine métal ou par dissolution d'oxydes d'antimoine dans de l'acide chlorhydrique concentré, chaud (BISSON et al., 2007).

Le tartrate de potassium et d'antimoine est fabriqué à partir de bitartrate de potassium et d'antimoine métal, en présence d'acide nitrique ou d'oxyde d'antimoine (BISSON et al., 2007).

C. Source de l'antimoine :

L'antimoine est présent naturellement dans la croûte terrestre et les rejets dans l'atmosphère proviennent aussi bien des sources naturelles que des sources anthropiques. 41 % des émissions dans l'air proviennent de sources naturelles : particules de sol transportées par le vent, volcans, aérosols marins, feux de forêts, sources biogéniques (ATSDR., 1992).

II.3 Utilisations de l'antimoine :

L'antimoine est utilisé dans la fabrication d'alliages avec le plomb, l'étain et le cuivre (il augmente la dureté du plomb). Avec l'étain, il est utilisé dans la fabrication du "métal anglais". Avec le plomb et l'étain, il est utilisé dans la fabrication d'alliages antifriction. (BISSON et al., 2007)

Il est également employé dans la fabrication des plaques de plomb des batteries, des plombs de chasse, des semi-conducteurs, des piles thermoélectriques, pour le traitement de surface des métaux et pour le noircissement du fer. **(BISSON et al., 2007)**

Les utilisations de l'antimoine et de ses dérivés sont requises dans différents domaines qui ne correspondent pas à des tonnages de production identique. L'HSDB., 2005 donne une répartition type, de l'utilisation de l'antimoine, sur le marché des USA, pour l'année 1985 : les retardateurs de flamme représentent 85 % de la production, les transports (batteries incluses) 10 %, la fabrication des verres et céramiques 10%, la synthèse de produits chimiques 10 % et autres 10 **(BISSON et al., 2007)**.

II.3.1 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.3.2 Usages thérapeutiques :

Les propriétés thérapeutiques de l'antimoine sont connues depuis très longtemps. Du XVIIIe siècle date «le char triomphal de l'antimoine du frère Basile Valentin», et Glauber, vers la même époque, parle de «panacée antimoniale». 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)**.

Produits pharmaceutiques : Ce même composé antimonieux 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 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 & Earnshaw, 1997)

III.1 Caractéristiques générales de Sb_2O_3 :

Le trioxyde d'antimoine. Il est de couleur blanche largement utilisé comme retardateur synergique de flamme pour les produits d'usage courants, agent de finition dans les usines de verres et catalyseur dans les usines des différents types de polymères et plastiques. Un autre intérêt est qu'il permet de solubiliser les oxydes de terres rares dans les verres. (Gimeno et al., 2005)

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

Les études cristallographiques ont montré que le trioxyde d'antimoine Sb_2O_3 , 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 . (ORMAN, 2005).

Ces deux structures sont schématisées sur la figure 04

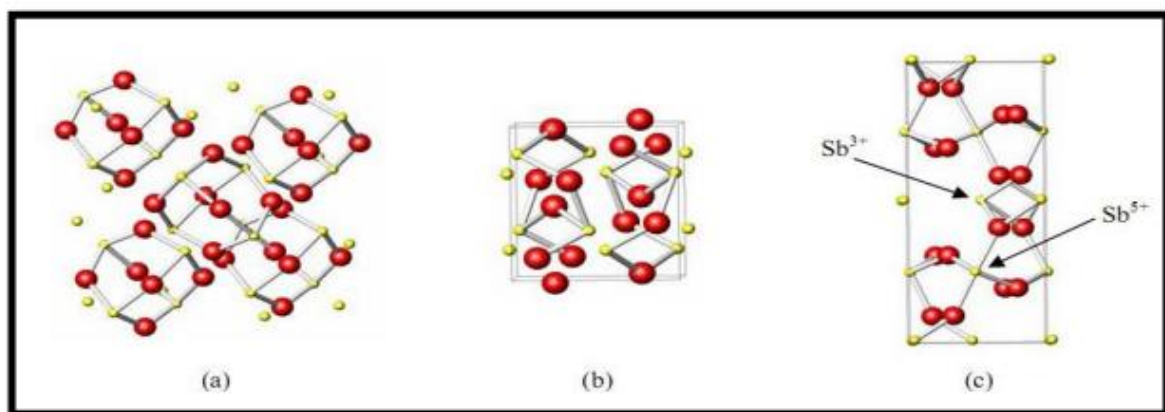


Figure 4 : La structure de (a) sénarmontite, (b) valentinite, (c) cervantite.

III.3 Propriétés physicochimiques :

Le trioxyde d'antimoine est amphotère. Il se dissout dans les solutions acides ainsi que dans les solutions basiques pour former des antimoniates.

C'est un réducteur ; il est cependant facilement réductible en antimoine et, en présence d'hydrogène et sous pression, en trihydrure d'antimoine ou stibine, de formule SbH_3 , gaz toxique.

Il peut réagir violemment au contact du trifluorure de brome, des métaux en poudre (dont l'aluminium), de l'acide perchlorique...

Il réagit également avec le caoutchouc chloré. (**Pascal ,1958**)

Le trioxyde de d'antimoine se présente sous la forme d'une poudre blanche très fine sans odeur. Il existe deux formes cristallines : une forme octaédrique cubique (sénarmontite - CAS 12412-52-1), stable à température ordinaire, qui se transforme à 570 °C et en une forme prismatique orthorhombique (valentinite - CAS 1317-98-2), métastable en dessous de cette température

Le produit commercial peut contenir comme impuretés des traces d'arsenic et de plomb.

Le trioxyde d'antimoine est insoluble dans les solvants organiques et très faiblement solubles dans l'eau (de l'ordre de 20 mg/L à 20 °C) (**Pascal ,1958**)

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 :

Devenir dans l'organisme : (étude chez l'homme)

➤ l'absorption

Généralement L'absorption influencé par nombreux facteurs, comme la forme chimique ,la taille des particules, la solubilité, l'âge et le régime alimentaire

L'absorption de trioxyde d'antimoine et de ses composants par inhalation ou voie cutané chez l'homme n'pas connu (ATSDR, 1992). L'International Commission on Radiological Protection (ICRP, 1981) recommande de prendre des valeurs d'absorption gastro-intestinale de 10 % pour le tartrate d'antimoine et de 1 % pour toutes les autres formes d'antimoine.

➤ Distribution

Après absorption par voie pulmonaire, l'antimoine se concentre au niveau des poumons et du foie, mais aussi dans la rate, , le squelette, les reins et le cerveau (INRS, 2000). De faibles concentrations d'antimoine sont retrouvés chez des personnes non exposées. (Sumino et al., 1975)

Après une exposition unique par voie orale, le trioxyde de d'antimoine se lie aux globules rouges et est ainsi distribué dans la plupart des tissus des rats : les concentrations les plus importantes sont mesurées dans la moelle osseuse et la thyroïde, viennent ensuite la rate, les poumons, le foie, les ovaires, le cœur, les reins, le Fémur et la peau

➤ Métabolisation

L'antimoine ne subit pas de biotransformation. Il peut interagir de façon covalente avec des groupes sulfhydryl, phosphates, et former des interactions réversibles avec des ligands endogènes comme les protéines (ATSDR, 1992)

• Élimination

L'antimoine absorbé est éliminé par l'urine et les fèces, dans des proportions variables en fonction de la forme chimique (ATSDR, 1992)

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 cardio-vasculaires. 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 (8,87 mg d'antimoine/m³ ou plus) a entraîné des effets respiratoires incluant une stibiose (pneumoconiose stibiée), 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 (anomalies de l'onde T) (**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.

III.3 .2.1 Effets cancérigènes

L'exposition par inhalation à 8,87 mg d'antimoine/m³ sous forme d'oxyde pendant 9 à 31 ans n'a pas affecté l'incidence des cancers chez des travailleurs (**Potkonjak et Pavlovich, 1983**).

III.3 .2.2 Effets génotoxique

Les informations concernant les effets génotoxiques chez l'homme sont rares. Des tests d'échanges de chromatides sœurs et du micronoyau réalisés sur les lymphocytes de 23 salariés exposés à du trioxyde d'antimoine (comparés à un groupe témoin) se sont révélés négatifs

Sur ces mêmes salariés, un test des comètes modifié réalisé sur lymphocytes a montré une augmentation significative des dommages oxydatifs à l'ADN chez les sujets les plus exposés comparés aux contrôles. Cependant, les niveaux d'exposition du groupe « considéré comme fortement exposé » étaient très faibles (concentration moyenne de Sb₂O₃ de 0,12 µg/m³), ceux du groupe témoin non connus et des co-expositions probables.(**INRS,2017**)

III.3 .2.3 Effets sur la reproduction et le développement

Dans une étude russe ancienne, une plus grande fréquence des troubles menstruels, des avortements spontanés tardifs et des accouchements prématurés a été constatée chez les ouvrières d'une usine de métallurgie. Les femmes avaient été exposées pendant deux ans à un mélange de trioxyde de diantimoine, de pentasulfure d'antimoine et d'antimoine métallique (voire à d'autres métaux) ; les niveaux d'exposition atmosphérique en antimoine n'étaient pas connus mais les taux d'antimoine sanguin des femmes exposées étaient 12 à 16 fois plus élevés que ceux des témoins. En raison de ses nombreuses limites (manque d'informations sur le groupe témoin, sur les niveaux d'exposition, les co-expositions, les facteurs confondants), cette étude ne permet pas de conclure sur les effets du trioxyde d'antimoine sur la reproduction(**INRS,2017**)

III.3.2.4 Effets gastro-intestinaux

Une exposition prolongée répétée au trichlorure d'antimoine en suspension dans l'air au trisulfure d'antimoine ou à l'oxyde d'antimoine a provoqué des douleurs abdominales, de la diarrhée, des vomissements et des ulcères. Une relation de cause à effet avec l'exposition à l'antimoine n'a pas été définitivement établie parce que les travailleurs ont été exposés à divers

autres agents en plus de l'antimoine qui pourraient causer ou contribuer à des effets gastro-intestinaux (p. ex. chlorure d'hydrogène, hydroxyde de sodium). (shayam & Jaya ,2010)

III.3.2.5 Effets sur le foie

L'évaluation histopathologique du foie a indiqué certains troubles (non statistiquement significatifs) des lames hépatiques, un gonflement trouble des cordons hépatiques et une dégénérescence vacuolaire des cellules hépatiques. Sur la base de la suggestion d'une toxicité hépatique et de la diminution du nombre de globules rouges, une LOAEL de 500 mg de trioxyde de diantimoine/kg pc-j a été identifiée à partir de cette étude. (National Academy of Sciences ;2000)

IV. Le stress oxydatif :

4.1 Généralité :

Radicaux libres, espèces oxygénées activées (EOA), stress oxydant et antioxydants sont devenus des termes familiers tant dans le monde médical que dans le grand public. Au début des années 2000, ces notions n'étaient généralement évoquées que dans les congrès scientifiques. Mais ces dernières années, l'industrie pharmaceutique, les laboratoires d'analyses médicales et la presse grand public ont massivement diffusé des informations relatives aux antioxydants, sans parfois l'esprit critique nécessaire (Efraigne et al., 2008).

4.2 Définition du stress oxydative :

Au sein de l'organisme, il existe un équilibre entre d'une part les espèces réactives (ER) qui sont présentes à l'état basal en faible concentration et d'autre part le système antioxydant qui contient notamment des enzymes, des vitamines, des oligoéléments, le glutathion. Ce système est un moyen de défense en cas de production excessive.

Le stress oxydant se définit comme un déséquilibre entre la production d'espèces radicalaires (ou réactives) de l'oxygène (ERO) et les capacités cellulaires antioxydantes. Les ERO ont longtemps été considérées comme des sous-produits toxiques du métabolisme normal de l'oxygène et impliquées dans de nombreuses pathologies. Cependant, depuis plusieurs années, la production contrôlée de radicaux apparaît comme un mécanisme essentiel de la signalisation cellulaire qui participe au maintien de l'homéostasie de la cellule (Migdal et al ,2011).

4.3 Origine du stress oxydant

On peut résumer l'origine du stress oxydant par multiples éléments :

- Intoxications aux métaux lourds (mercure, plomb, cadmium).
- Irradiations (UV, rayons X...).
- Carences nutritionnelles (vitamines, oligo-éléments).
- Anomalies génétiques (mauvais codage pour une protéine) (pincemail et al.,2002).

4.5 Les conséquences du stress oxydant :

Les conséquences biologiques du stress oxydant seront extrêmement variables selon la dose et le type cellulaire. De légers stress augmenteront la prolifération cellulaire et l'expression de protéines d'adhésion, des stress moyens faciliteront l'apoptose, alors que de forts stress provoqueront l'oxydation des protéines, l'ADN et les membranes des cellules, une nécrose et des stress violents désorganiseront la membrane cellulaire, entraînant des lyses immédiates. De nombreuses autres anomalies biologiques sont induites par le stress oxydant: mutation, carcinogénèse, malformation des fœtus, dépôt de protéines anormales, fibrose, formation d'auto-anticorps, dépôt de lipides oxydés, immunosuppression, c'est une des théories actuelles du vieillissement (sénescence) (Favier, 2003).

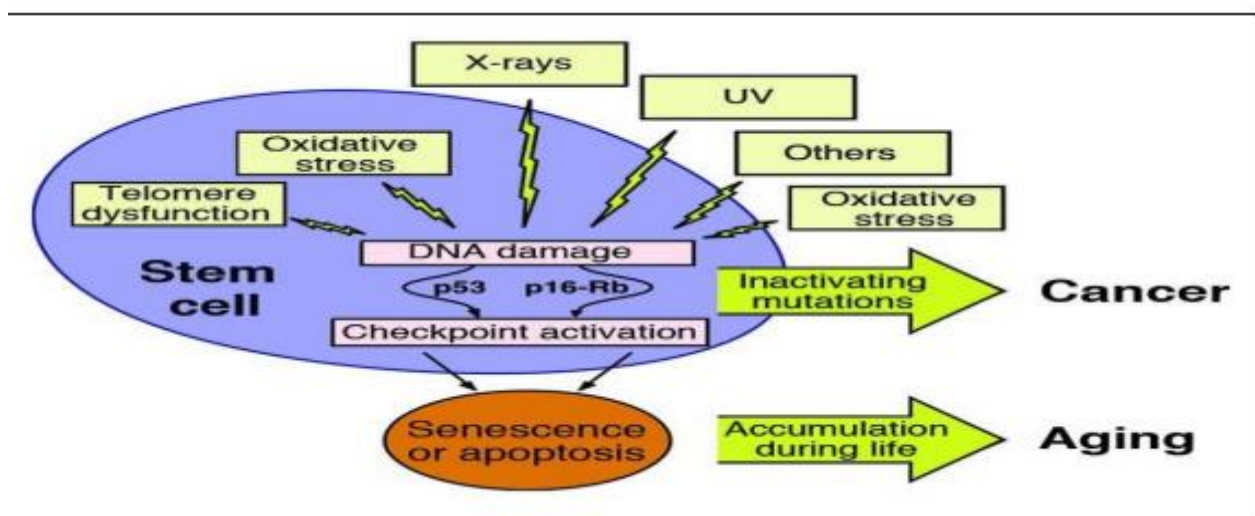


Figure 05 : l'origine et les conséquences biologiques du stress oxydant (Jclin, 2004).

4.6 Les radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique « libre », contenant un ou plusieurs électrons non appariés (célibataires) dans son orbitale atomique sur la couche électronique la plus externe. Les électrons sont des corpuscules chargés électriquement et qui par un mouvement de rotation sur eux-mêmes, induisent un champ magnétique appelé « SPIN », cet état leur confère une instabilité énergétique et cinétique (Pillou, 2014).

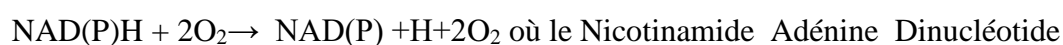
4.7 L'Espèce réactive d'oxygène (ROS ou EOA)

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) sont des radicaux libres issus de l'oxygène moléculaire. Elles représentent la plus importante classe d'espèces réactives générées dans les organismes vivants à cause de l'importance du métabolisme aérobie (Valko et al., 2007). L'appellation ERO inclut les radicaux libres de l'oxygène : anion super oxyde ($O_2\cdot^-$), radical hydroxyle ($OH\cdot$), mais aussi certains dérivés oxygénés non radicalaires dont la toxicité est importante tels que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) (Wuet al., 2003).

Les ER se divisent en deux familles :

a) Les espèces réactives de l'oxygène (EROs)

Les EROs sont majoritairement produites par la NADPH oxydase (NOX) membranaire et les enzymes du complexe de la chaîne respiratoire mitochondriale. Plusieurs étapes réactionnelles successives conduisent à la formation d'une molécule d'eau à partir d'oxygène : La première étape conduit à la formation d'anion superoxyde ($O_2^{\circ-}$). Au niveau mitochondrial, près de 2% de l'oxygène consommé est transformé en O_2 . A partir de ce radical dit primaire, d'autres EROs sont formées telles que le radical hydroxyle HO le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 . Ce dernier réagit avec le fer, sous forme Fe^{2+} pour former du HO et du fer ferrique (Fe^{3+}) : c'est la réaction de Fenton. Puis le fer ferrique est réduit en fer ferreux par O_2 L'ensemble de ces réactions forme la réaction d'Haber Weiss. Il existe une autre source de production d'EROs via la NOX qui est une enzyme catalysant la réaction suivante :



Phosphate NAD(P)H sert de donneur d'électrons

La xanthine oxydase, enzyme cytosolique qui catalyse l'oxydation de la xanthine et de l'hypoxanthine lors du métabolisme des purines, ainsi que les enzymes de la cascade de l'acide arachidonique. Les enzymes présentes dans le noyau et différentes organites (réticulum endoplasmique, lysosomes...) peuvent également être source d'EROs (Migdal et al. 2011).

b) Les espèces réactives de l'azote (ERNs)

Le monoxyde d'azote NO est produit au niveau cellulaire à partir d'arginine et d'oxygène. Cette réaction est catalysée par une famille d'enzymes : les NO synthases (NOS). Il existe trois types de NOS : la NOS neuronale, la NOS endothéliale et la NOS inducible présente dans de nombreux tissus et organes. Les deux premières sont constitutives ; leur activité est régulée par la concentration intracellulaire de calcium. Le NO peut être converti en ion nitrosium (NO⁺), en anion nitroxyl (NO⁻) ou en peroxy-nitrite (ONOO⁻). (Migdal et al. 2011).

4.8 Cible des radicaux libre

Les ERO peuvent attaquer à de multiples cibles dans l'organisme comme l'ADN, les protéines et ou encore les lipides.

- **Acides nucléiques**

Les espèces réactives, et plus particulièrement le radical hydroxyle (HO●), peuvent induire des cassures de l'ADN, des mutations ponctuelles (simple ou double brins) ou bien altérer les systèmes de réparation. Les ERO peuvent induire notamment des oxydations, des nitrations ou des méthylations des bases. Ces modifications vont ainsi perturber la transcription et la traduction par la suite, aboutissant à la formation d'une protéine tronquée et/ou non fonctionnelle. Ces altérations sont souvent à l'origine des phénomènes de mutagenèse, carcinogénèse ou encore de vieillissement prématuré (Valko et al., 2006).

- **Protéines et acides aminés**

Les protéines sont les constituants cellulaires les plus abondants et sont par conséquent des cibles importantes du stress. La modification structurale mineure d'une protéine peut induire une modification dans le fonctionnement de celle-ci. C'est le radical hydroxyle qui est le plus réactif responsable des altérations oxydatives des protéines introduisant de nouveaux groupes fonctionnels telles que les fonctions hydroxyles ou carbonyles qui contribuent aux altérations

de la fonction des protéines, la modification de leur conformation et de leur fragmentation. L'oxydation des protéines peut également induire des réticulations inter- et intra-protéines par addition d'un groupement lysine sur le groupement carbonyle d'une protéine oxydée, peroxydation d'un groupement sulfhydryle des résidus cystéine formant ainsi des ponts disulfures ou par oxydation des résidus tyrosine formant des ponts Tyr-Tyr (Pearlet al., 2007)

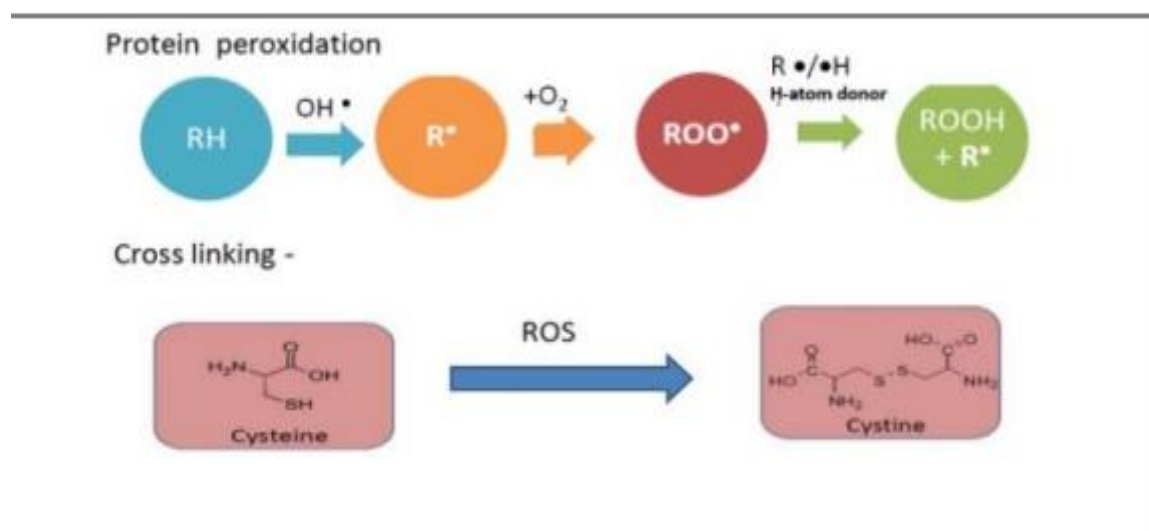


Figure 06: Oxydation des protéines (Pearl et al., 2007).

- **Lipides**

La peroxydation lipidique est une réaction en chaîne des lipides par des ERO. Cette réaction en chaîne est l'une des plus grandes sources de radicaux libres au sein de l'organisme et elle aboutit à l'altération irréversible de la membrane cellulaire entraînant la mort cellulaire (Valko, 2007).

La peroxydation lipidique se produit sur des acides gras polyinsaturés (LH) situés sur les membranes cellulaires, en présence d'oxygène (Cillard et Cillard, 2006), par une réaction radicalaire en chaîne, qui se décompose en trois étapes: l'initiation, la propagation et la terminaison. La phase d'initiation est due à l'attaque d'une espèce radicalaire (R•) suffisamment réactive pour arracher un hydrogène d'une double liaison afin de former un radical lipidique (L•) capable de réagir facilement avec l'oxygène pour donner un radical peroxyde (LOO•). (Cillard et Cillard, 2006).

Ce radical hautement réactif attaque d'autres acides gras (L'H) formant des Hydroperoxydes lipidiques (LOOH), créant ainsi une réaction en chaîne (propagation), les LOOH sous l'action des métaux (Fe^{2+} ou Cu^+), formeront des radicaux alkoxydes ($\text{LO}\cdot$) et Hydroxydes ($\text{HO}\cdot$) (Michel et al., 2008).

Enfin, des phases terminales de dégradation conduiront à des aldéhydes, parmi lesquels on peut citer le malondialdéhyde (MDA), le 4-hydroxynonéal (4-HNE), ou aux isoprostanes (phase de terminaison), ces composés sont utilisés en tant que marqueurs dans les tests de la peroxydation lipidique. Le dosage de MDA est souvent développé sur la base de sa dérivatisation avec l'acide thiobarbiturique (ATB) (Michel et al., 2008).

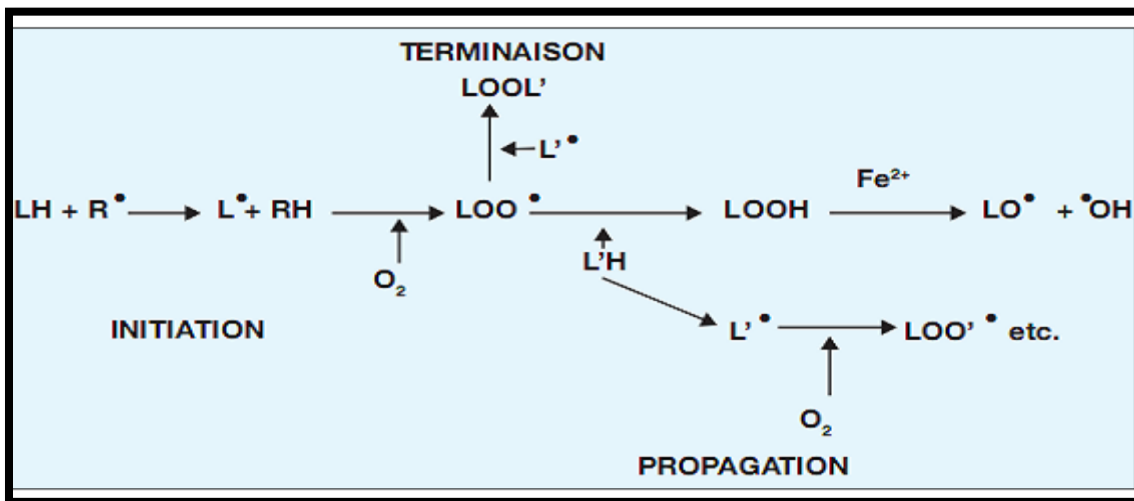


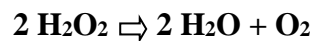
Figure 07: Mécanisme de la peroxydation des lipides (Michel et al., 2008).

4.9 Les bio-marqueurs du stress oxydatif

Les marqueurs biologiques du stress oxydant qui permettent de mettre en évidence la réalité du stress oxydant chez un patient et les dégâts causés par les EOA

a. La catalase

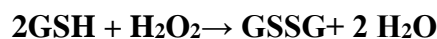
Cette enzyme, localisée dans les peroxysomes, catalyse la dismutation de H_2O_2 en eau et en oxygène moléculaire



La catalase (CAT) est une enzyme héminique, c'est-à-dire qu'elle possède un atome de fer qui participe à la fabrication de l'hème. Sa masse molaire moléculaire est de 220 000 Da. La CAT possède 4 sous unités comprenant chacune un atome de fer sous forme Fe³⁺. Elle est majoritairement retrouvée dans les hépatocytes, les érythrocytes et les cellules rénales. C'est une enzyme qui possède un turnover important : une molécule de CAT peut convertir en une minute environ 6 millions de molécules de peroxyde d'hydrogène en eau et oxygène (**Valko et al. 2006**).

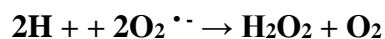
b. La Glutathion Peroxydase (GPx)

Les principales enzymes capables de détruire le peroxyde d'hydrogène sont les catalases a cofacteur fer et les glutathion peroxydases a cofacteur sélénium (**Favier, 2003**). La glutathion peroxydase (GPx) agit en synergie avec la SOD puisque son rôle est d'accélérer la dismutation du H₂O₂ en H₂O et O₂. Lors de cette réaction deux molécules de glutathion réduit (GSH) sont oxydées en glutathion-disulfure (GSSG) (**Mates et al., 1999**).



c. Les super oxydes dismutase (SOD)

La SOD est une métalloprotéine capable d'éliminer l'anion superoxyde par une action de dismutation. Cette réaction aboutit, à partir de deux molécules superoxydes, à la formation d'une molécule d'oxygène et d'une molécule de peroxyde d'hydrogène (**Garrel et al., 2007**).



d. La Glutathion-S-Transférase (GST)

Les GST sont des enzymes cytosoliques présentes dans de nombreux tissus (muscle, intestin, foie, rein), dont l'expression varie en fonction de la localisation, du sexe, de l'âge et de facteurs génétiques et physiopathologiques. Elles catalysent la réaction de conjugaison du GSH réduit avec des xénobiotiques électrophiles afin de les rendre plus hydrosolubles. (**Desmots et al. 2001**)

e. Le glutathion (GSH)

Le glutathion (GSH) est un tripeptide qui se trouve dans le cytosol, le noyau et la mitochondrie. Il est synthétisé dans le cytosol. Sa forme oxydée est le glutathion disulphure (GSSG). Tel qu'expliqué avant, le ratio GSH/GSSG est un bon marqueur du stress oxydant intracellulaire (**Ji et al., 1992**). GSH est un cofacteur d'enzymes antioxydantes comme GPx. Il protège la cellule en éliminant directement le radical hydroxyle et l'anion superoxyde. De plus, il détoxifie le peroxyde d'hydrogène et les lipides peroxydés par l'action de la glutathione peroxydase. Il peut aussi réduire les radicaux formés par l'oxydation des vitamines E et C (**Packer et al., 1997**). En fait, il est capable de régénérer la vitamine C et E en restituant leur forme active.

Chapitre

02 :

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, avec une approche histologique et biochimique.

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 08 : le trioxyde d'antimoine sous forme de poudre

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**)



Figure 09: l'escargot *Helix aspersa*

Règne: Animalia

Embranchement: Mollusca

Classe: Gasteropoda

Ordre: Stylommatophora

Sous ordre: Helicina

Infra ordre: Helicoidei

Super famille : Helicoidea

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)

3. 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 boîtes 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 boîtes ont été nettoyées quotidiennement.



Figure 10: le nettoyage des escargots

4. 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 sb2o3

Lot 2 : 10 individus d'un poids corporel : 11,84g gavé par 35ul/ind d'eau physiologique contenant 1mg de sb2o3

Lot 3 : 10 individus d'un poids corporel : 11,19 g gavé par 35ul/ind d'eau physiologique contenant 1,5mg de sb2o3

Lot 4 : 10 individus d'un poids corporel : 12,08 gavé par 35ul/ind d'eau physiologique contenant 5 mg de sb2o3

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

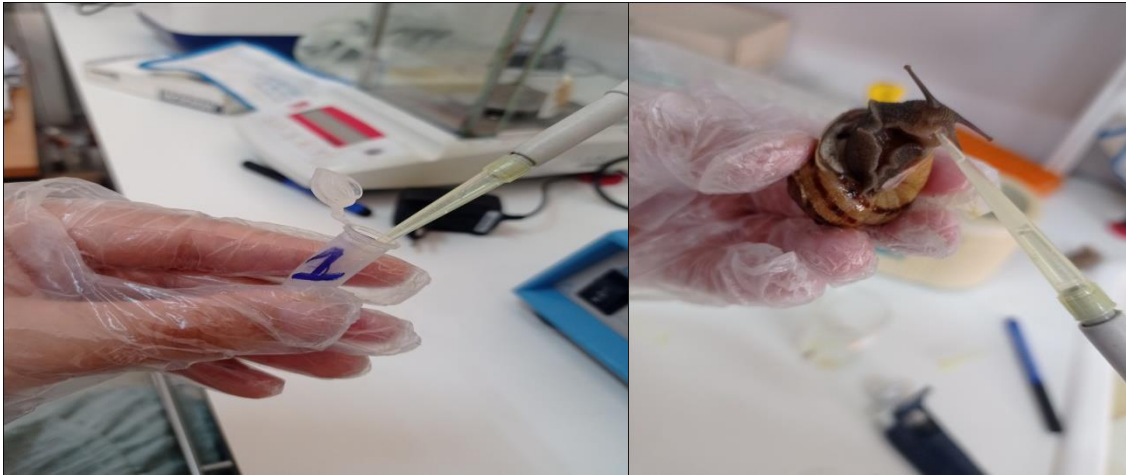


Figure 11 : le gavage des escargots

Après 48 heures les escargots ont été sacrifiés par congélation à -80°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 12 : un escargot disséqué

Figure 13: les différents organes de l'escargot

5. Dosages des biomarqueurs du stress oxydant

5.1 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 foie, des reins, des poumons, des branchies et des intestins des 04 groupes d'animaux exposés aux différentes doses de microcystine. 100 mg de chaque tissu ont 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.

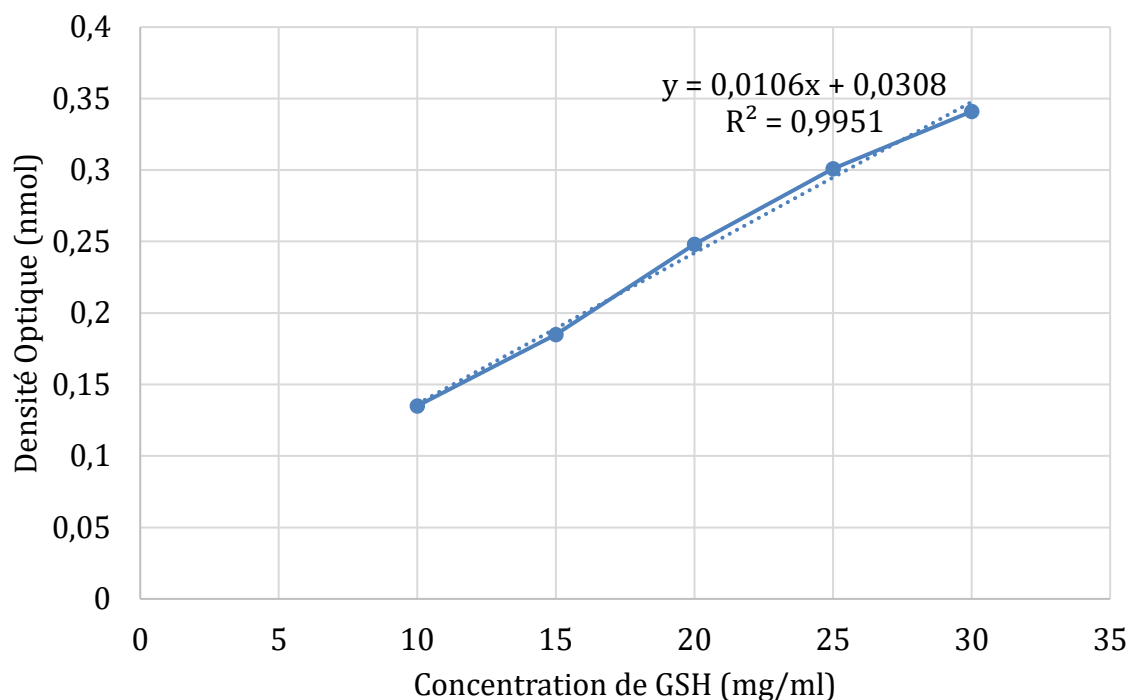


Figure 14 : Courbe D'étalonnage Du Glutathion.

5.2 Dosage du la peroxydation lipidique (TBARS)

La méthode de l'acide thiobarbaturique (TBA) décrite par **Fatima et al., (2000)** a été utilisée pour évaluer la peroxydation des lipides (LPO) dans le foie, les reins, l'intestin et le poumons (branchies chez la carpe) des spécimens exposés aux toxines et témoins. On a incubé 1,0 ml d'homogénat pendant 1 h à 37 ° C avec un tremblement continu. Ensuite, 1,0 ml d'acide trichloroacétique à 5% et 1,0 ml d'acide thiobarbiturique à 0,67% ont été ajoutés à chaque échantillon et mélangés. Ensuite, chaque flacon a été centrifugé à 3000 tr / min pendant 10 min. Le surnageant a été séparé et placé dans un bain d'eau bouillante pendant 40 minutes, refroidi à température ambiante et mesuré à 532 nm. Le taux de peroxydation lipidique a été exprimé en nanomoles de substances réactives à l'acide thiobarbiturique (TBA) formé par heure, par milligramme de protéines (nmol TBA / (mg prot)).

5.2 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.



Figure15 : Dosage des protéines

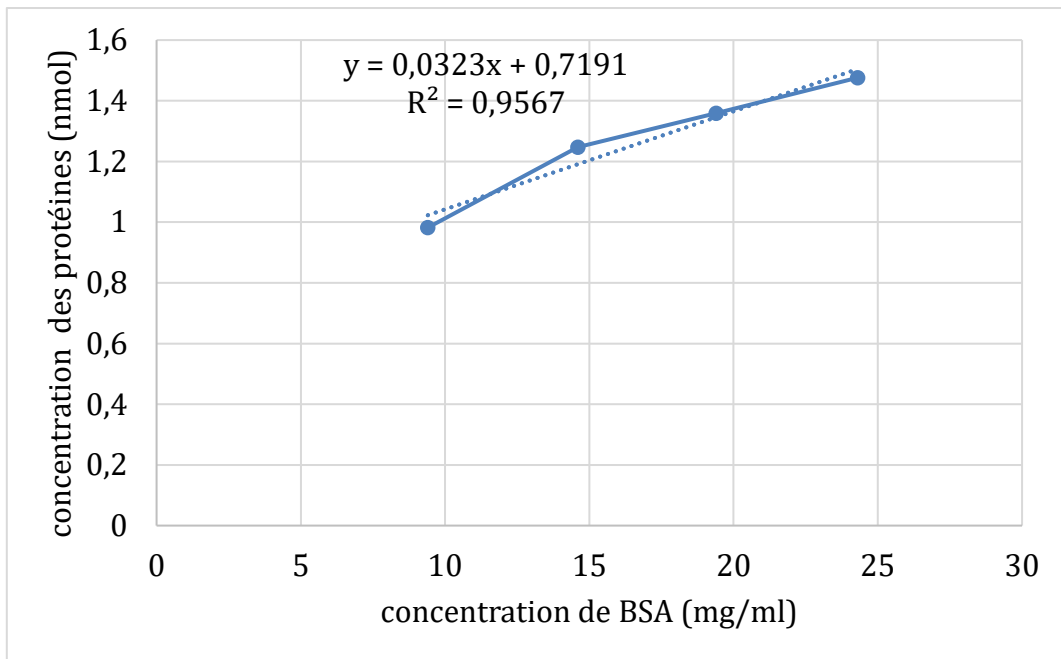


Figure 16 : Courbe D'étalonnage Des Protéines

Chapitre 03 :
Résultats &
Interprétation

Résultats et Interprétation

III.1. Impact de trioxyde d'antimoine sur le taux de mortalité

Une dose sublétalement unique de trioxyde d'antimoine par gavage de *Helix aspersa* (N=10) (0.5, 1, 2.5 et 5 mg/individus) a provoqué une mortalité au sein de la forte dose (5 mg/ind) après 24h de gavage, et les deux doses 0.5 et 1 mg/ ind de Sb₂O₃ avec 2 et 1 individus respectivement (figure N). Aucune mortalité a été signalée dans le lot gavé par 2.5 mg/ind.

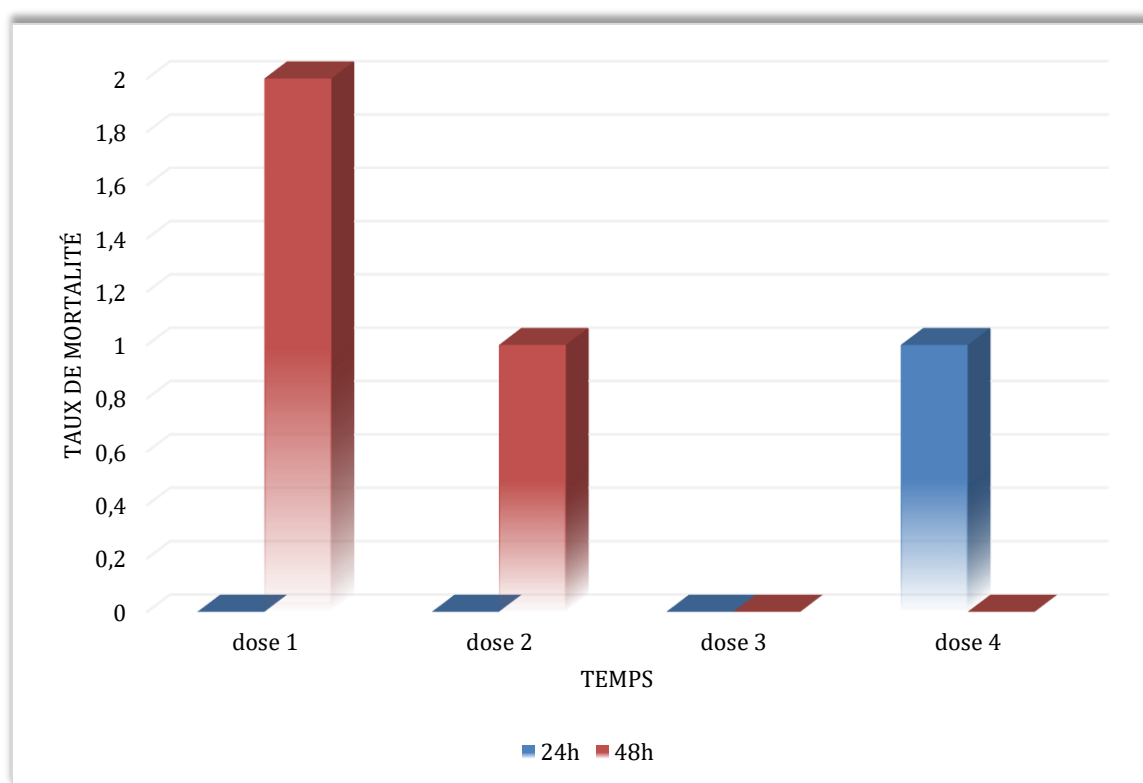


Figure N°17 : Taux de mortalité induit par le trioxyde d'antimoine chez l'escargot terrestre *H. aspersa* (N=10).

III.2. Evaluation de l'effet du trioxyde d'antimoine sur le taux de glutathion (GSH)

III.2.1. Evaluation de taux de glutathion au niveau de l'hépatopancréas de *H. aspersa*

La figure N° montre les concentrations du glutathion détectées dans l'hépatopancréas du *Helix aspersa* (N=10), suite au gavage par quatre doses sublétales du Sb_2O_3 .

Une fluctuation significative du thiol intracellulaire majoritaire GSH ($p \leq 0.01$) est observée au niveau de l'hépatopancréas de *H. aspersa*. une réduction du glutathion au niveau des deux premiers doses 0.5 mg et 1 mg/ind est notée avec respectivement 1.789 ± 0.89 nmol/mg de protéine et 1.376 ± 0.8 nmol/mg de protéine. La plus forte concentration détectée était 4.97 ± 2.94 nmol/mg de protéine au niveau des hépatopancréas de *H. aspersa* traités par la forte dose 5 mg/ind de Sb_2O_3 .

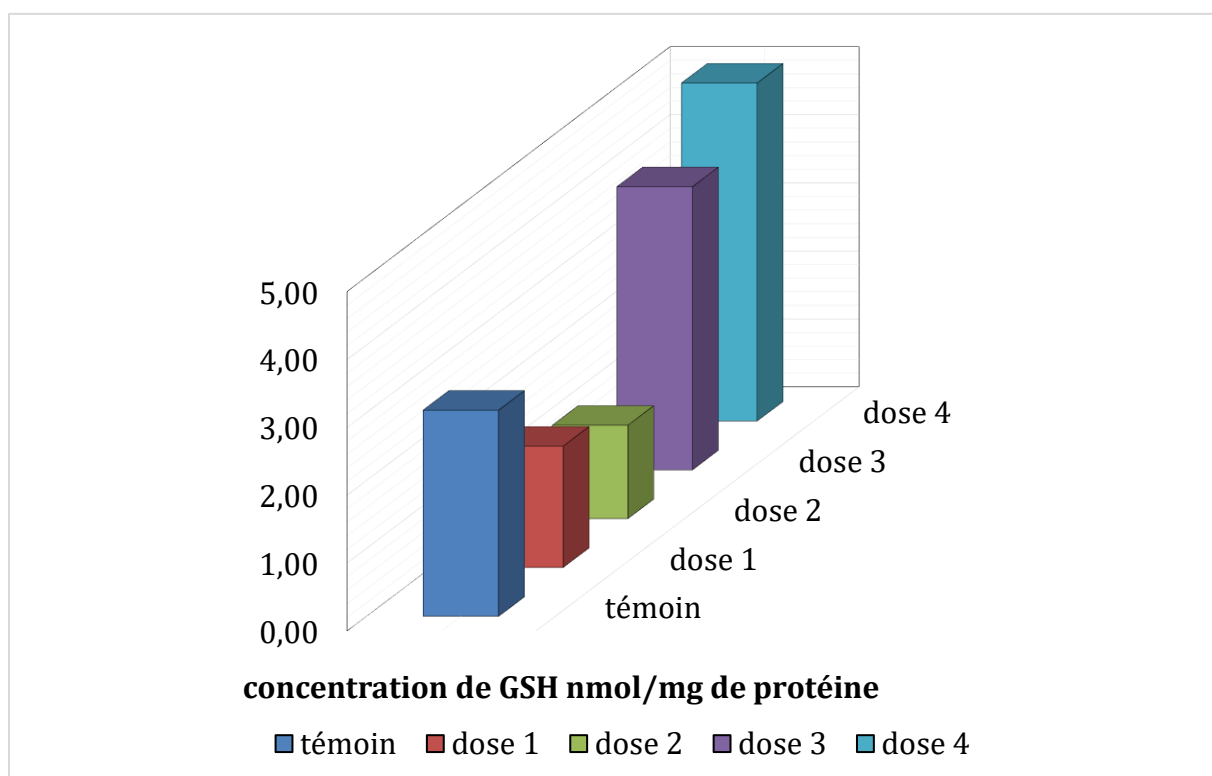


Figure N°18 : Variations du taux de GSH au niveau de l'hépatopancréas de l'escargot terrestre *H. aspersa* traité par le trioxyde d'antimoine (Sb_2O_3 ; N=10).

III.2.2. Evaluation de taux de glutathion au niveau du rein de *H. aspersa*

La **figure** illustre les variations du taux de GSH au niveau des reins de *H. aspersa* gavés par 04 doses de Sb_2O_3 .

Une augmentation hautement significative de taux de GSH ($p \leq 0.001$) est notée entre les quatre doses (0.5, 1, 2.5 et 5 mg/individus) et le témoin ; dont la plus forte production est noté chez les escargots traités par la forte dose 5 mg/ind avec $2,32 \pm 1.66$ par rapport, au témoin $0,27 \pm 0,168$ nmol/mg de protéine.

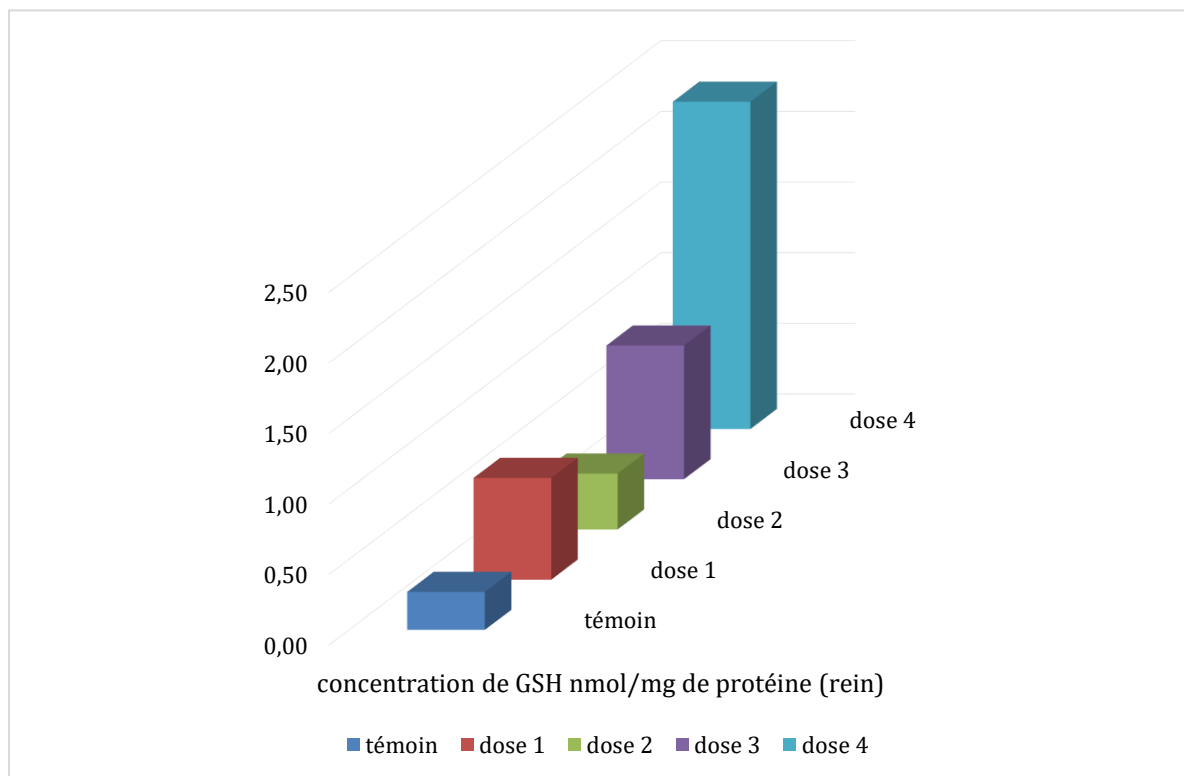


Figure N°19: Variations du taux de GSH au niveau des reins de l'escargot terrestre *H. aspersa* traité par le trioxyde d'antimoine (Sb_2O_3 ; N=10).

III.2.3. Evaluation de taux de glutathion au niveau de l'intestin de *H. aspersa*

La **Figure** montre l'effet de la trioxyde d'antimoine sur les intestins de *H. aspersa* après 48h de gavage. Les résultats obtenus montrent une forte augmentation de GSH chez les individus du premier groupe (0.5 mg/ind) avec 1.25 ± 0.6 nmol/mg de prot., suivi par une variabilité chez les trois autres groupes par rapport à leur témoin., qui a montré 0.2 ± 0.12 nmol/mg de prot.

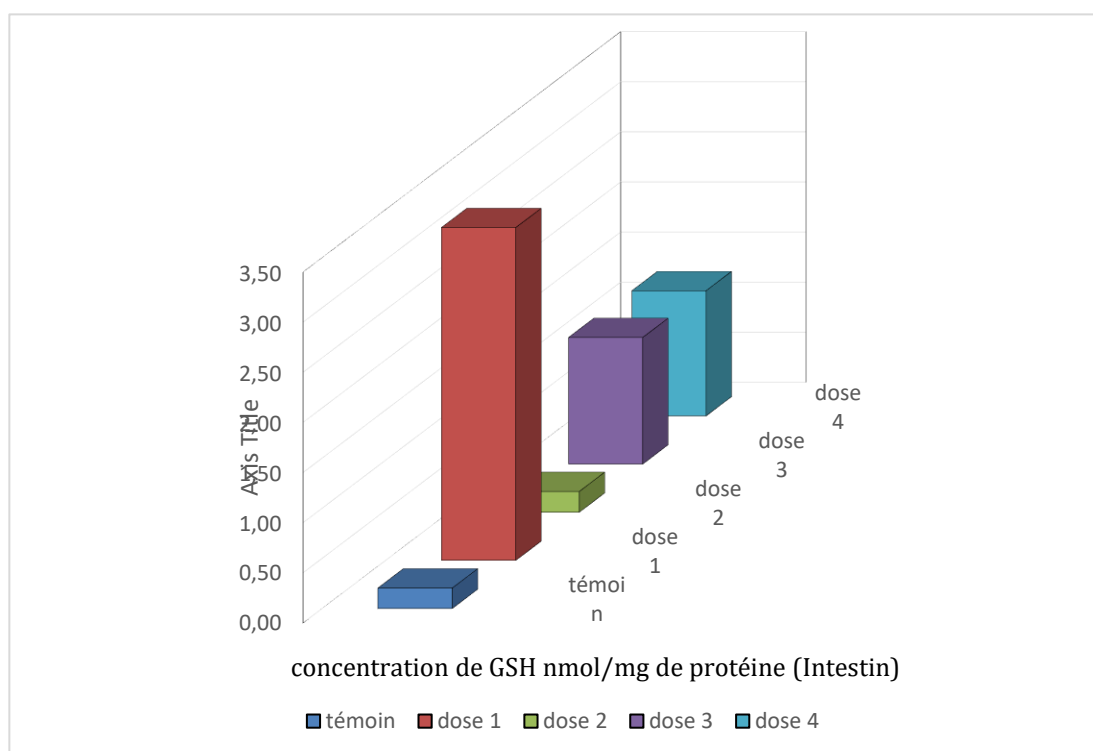


Figure N°20 : Variations du taux de GSH au niveau des intestin de l'escargots terrestre *H. aspersa* traité parle trioxyde d'antimoine (Sb_2O_3 ; N=10).

III.3. Evaluation de l'effet dul'oxyde de bismuth (III) sur le taux de la peroxydation lipidique (LPO)

III.3.1. Evaluation de taux de la peroxydation lipidique au niveau de l'hépatopancréas de *H. aspersa*

une variabilité de taux de la peroxydation lipidique (LPO) au niveau de l'hépatopancréas des *H. aspersa* (Figure).

Le taux des LPO dans l'hépatopancréas témoin équivalent à 0.097 ± 0.05 nmol/mg de prot., 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 : 0.144 ± 0.05 nmol/mg de prot.

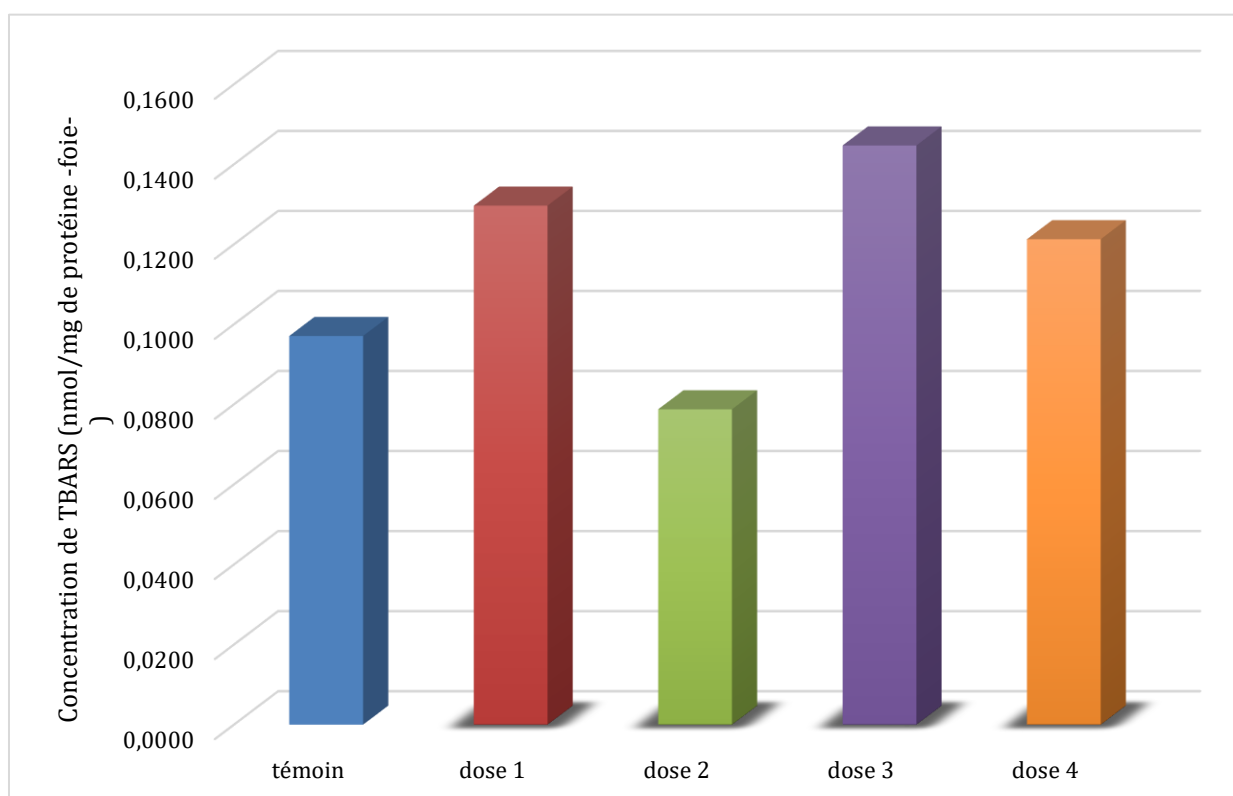


Figure N°21 : Variations du taux des LPO au niveau de l'hépatopancréasde l'escargots terrestre *H. aspersa* traité parle trioxyde d'antimoine (Sb_2O_3 ; N=10).

III.3.2. Evaluation de taux de la peroxydation lipidique au niveau des reins de *H. aspersa*

La figure , illustre les variations des LPO au niveau des reins de *H. aspersa*, gavé par 04 doses de le trioxyde d’antimoine.

48h de gavage a induit une réduction de la peroxydation lipidique au niveau des reins. la plus faible concentration était 0.0497 ± 0.01 nmol/mg de prot. chez la troisième dose (2.5 mg/ind) par rapport à leur témoin ; 0.092 ± 0.05 nmol/mg de prot.

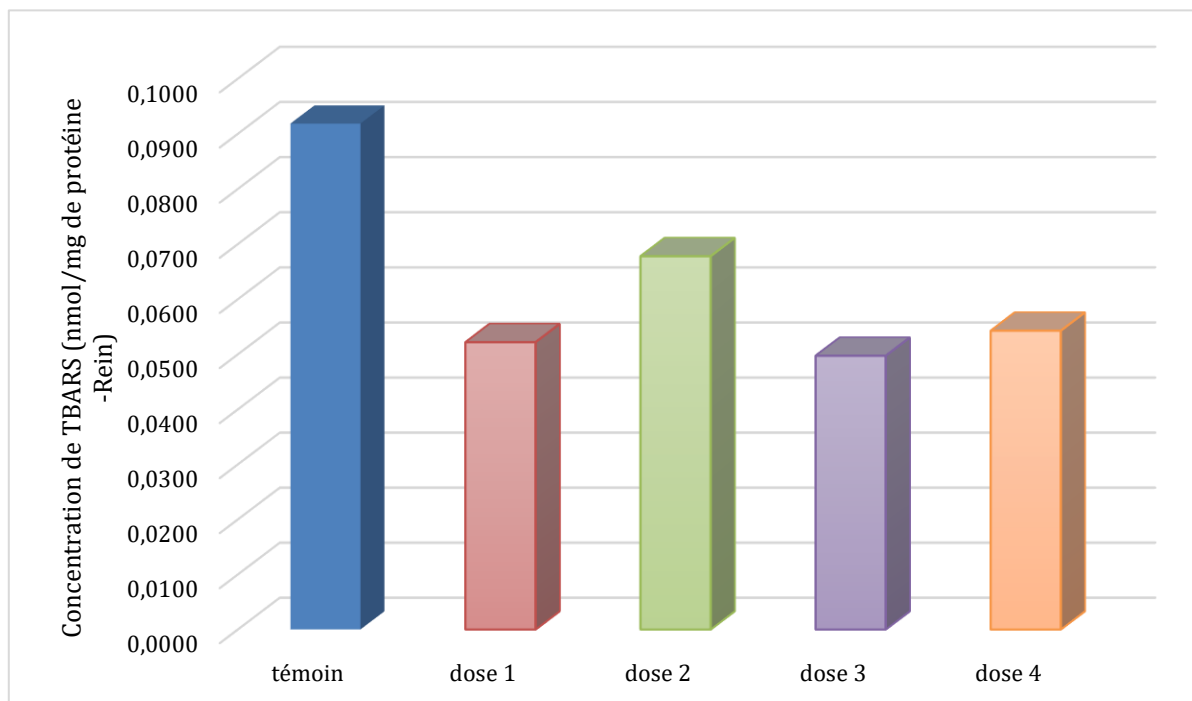


Figure N°22 : Variations du taux des LPO au niveau des reinsde l’escargots terrestre *H. aspersa* traité parle trioxyde d’antimoine (Sb_2O_3 ; N=10).

III.3.3. Evaluation de taux de la peroxydation lipidique au niveau des intestins de *H. aspersa*

Les résultats de l'exposition des *Helix aspersa* à la trioxyde d'antimoine, sont présentés dans la figure .

Le taux des LPO sont variés de manière significative d'un groupe à l'autre ($p = 0.000$). La concentration chez les témoins gavés par de l'eau physiologique était équivalente à 0.189 ± 0.076 nmol/mg de prot., la plus faible concentration était 0.0314 ± 0.009 nmol/mg de prot. chez le groupe gavé par 2.5 mg/ind de Sb_2O_3 ,

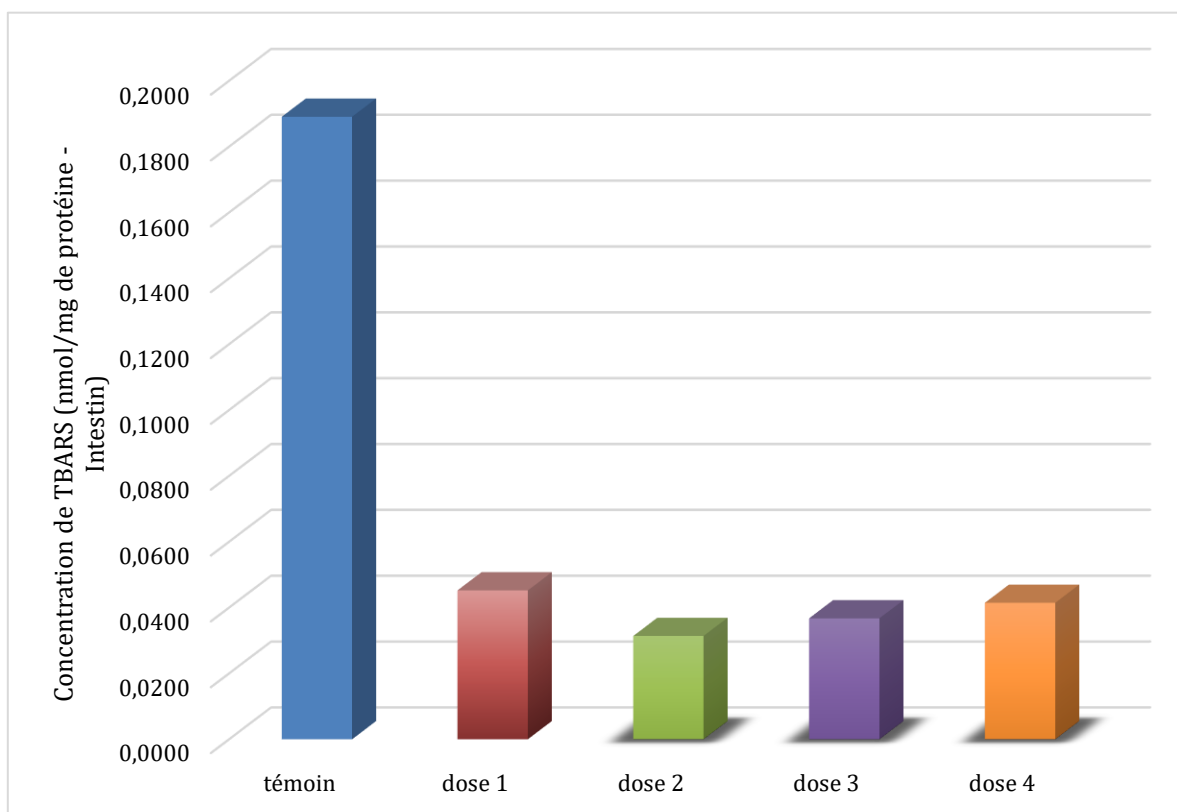


Figure N°23 : Variations du taux des LPO au niveau des intestins de l'escargots terrestre *H. aspersa* traité par le trioxyde d'antimoine (Sb_2O_3 ; N=10).

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 deux biomarqueurs de stress

oxydants ; le glutathion réduit et la peroxydation lipidique, et cela au niveau de l'hépatopancréas, les reins et les intestins.

Une diminution puis une augmentation significative de GSH suite à l'exposition à une dose unique de Sb_2O_3 , indique une condition de stress oxydatif dans les organes en question, et cela est due à la production des ROS et au système de défense antioxydant (**Alshatwi et al., 2013**).

Le glutathion (GSH) est un tripeptide de cystéine, de glycine et d'acide glutamique, possède une puissante capacité antioxydante. Il joue un rôle important non seulement dans la protection des tissus contre les effets dégénératifs des dommages oxydatifs en éliminant les radicaux libres des composés endogènes ou exogènes (**Reed, 1986**), mais aussi en détoxifiant directement de nombreux composés exogènes (**Lee et al., 1996 ; Mizutani et al., 1999**).

Les concentrations de GSH dans les reins sont les plus élevées que celles dans les autres organes étudiés, ce qui indique que les reins ont le pouvoir à surmonter la toxicité des Sb_2O_3 . Cela peut être la raison pour laquelle la peroxydation lipidique s'est produite dans l'hépatopancréas et non dans le rein.

Le stress oxydant peut endommager les tissus ou les cellules par l'augmentation des LPO. Plusieurs études ont rapporté l'effet de la microcystine sur les LPO chez les rats et les souris (**Ding et al., 1998; Weng et al., 2007**).

La peroxydation lipidique a été largement étudiée dans le cadre des programmes de surveillance environnementale. Des niveaux accrus de dommages oxydatifs en termes de peroxydation lipidique ont été signalés chez diverses espèces d'escargots exposées à des contaminants de laboratoire ou environnementaux (**Al-Daihan et al., 2010 ; Barky et al., 2012; El-Shenawy et al., 2012 ; Ma et al., 2014 a ; b ; Ali et al., 2015**).

Dans notre étude une augmentation significative du taux de LPO est notée dans les hépatopancréas des escargots traités. Les résultats de Boucenna(2016) de l'évaluation toxicologique des NPs de Fe_2O_3 sur *Helix aspersa* soutient nos résultats. L'étude d'Utkarsh et al. [2015] montre que le taux de LPO a été augmenté dans les tissus d'une manière dépendante de la dose des IONPs des rats traités, ils ont expliqués ces niveaux élevés de LPO par la formation des radicaux hydroxyle qui à son tour associé aux lipides peroxydés des tissus. Dans les hépatocytes des rats traités avec le Fe_2O_3 nanométrique, un taux élevé des LPO a été enregistré (**Sarkar et al., 2014**).

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 Fe_2O_3 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 (SiO_2) 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 d' Sb_2O_3 sur les escargots *Helix aspersa* , après une exposition orale aigüe, en évaluant les effets induits sur trois bio marqueurs : GSH, et TBA , au niveau du hépatopancréas, des reins et intestin ; les résultats obtenus montrent que :

- ✚ Une réduction des taux de GSH dans le foie des escargots traité des deux premières doses alors qu'une induction au niveau des deux autres groupes.
- ✚ Une augmentation hautement significative de taux de GSH dans les reins est notée entre les quatre doses et le témoin ;dont la plus forte production est noté chez les escargots traités par la forte dose par rapport, au témoin.
- ✚ Les résultats obtenus montrent une forte augmentation de GSH dans l'intestin chez les individus du premier groupe suivi par une variabilité chez les trois autres groupes par rapport à leur témoin.
- ✚ une variabilité de taux de la peroxydation lipidique (LPO) au niveau de l'hépatopancréas des *H. aspersa*
- ✚ une réduction de la peroxydation lipidique au niveau des reins.
- ✚ Le taux des LPO sont variés de manière significative d'un groupe à l'autre au niveau de l'intestin

Les références bibliographiques

A.

- 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
- Antimony trioxide. In : HSDB. NLM, 2013 (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)
- 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>.
- 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 stratigiene..

B.

- Bettazzi et palchetti., 2019. Bettazzi, F., Palchetti, I., 2019.Nanotoxicityassessment: A challenging application for cuttingedgeelectroanalyticaltools. Università degli Studi di Firenze, Dipartimento di Chimica Ugo Schiff, Via dellaLastruccia, Sesto Fiorentino, Fi, Italy. Analyticachimica 1072: P 61-74.
- Bonnet, J. C., Vrillon, J. L. 1990. L'escargot *Helix aspersa* biologie-élevage. Edition INRA.14-15.
- 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
- 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

C.

- Cillard, O et Cillard, P (2006). « Mécanismes de la peroxydation lipidique et des anti-oxydations», OCL, vol. 13 n° 1, p.24-29.

D.

- delphine chareyron, 2015 : NANO-OBJETS NATURELS, ANTHROPIQUES OU PRODUITS INTENTIONNELLEMENT - QUELS SONT LES RISQUES ?
- 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.
- 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.

I.

- ICRP., 1981. Limits for Inhalation of Radon Daughters by Workers. ICRP Publication 32. Ann. ICRP 6 (1).
- Institut national de l'environnement industriel et des risques (INEIR), 2007 . Nanotechnologies Nanomatériaux Nanoparticules Quels impacts ? sur l'homme et l'environnement

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

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 toxiques environnementaux ? Académie nationale de médecine. Paris (France)

Mésson Elsevier. P 319

- 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
- 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>.
- Pincemail, J et Bonjean, K (2002).«Mécanismes physiologiques de la défense antioxydante» , Nutrition clinique et métabolisme, vol. 16, n° 4, p.233-239.
- Pillou (2014). « Radicaux libres – Définition», Journal des Femmes.
- Potkonjak V. and Pavlovich M. (1983) – Antimoniosis : a particular form of pneumoconiosis. I. Etiology, clinical and X-ray findings. Int Arch Occup Environ Health, 51, 3, 199-207
- **R**
- Renes L.E. (1953) - Antimony poisoning in industry. Arch Ind Hyg, 7, 99-108.
- **S**
- 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 dermatology society, 51, 40-42.
- 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**
- Trioxyde d'antimoine – Evaluation préalable pour le Défi concernant le trioxyde 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/>)