



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعرييرج
كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers
قسم العلوم البيولوجية

Département des Sciences Biologiques

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine des Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Toxicologie

Intitulé :

Étude de la toxicité des nanoparticules d'oxyde de fer
(Fe₂O₃) sur un gastéropode bioaccumulateur/bioindicateur :

Helix aspersa

Présenté par :

SAIDI ikhlassa

Soutenu le 11 /06/2025, Devant le Jury :

	Nom & Prénom	Grade	Affiliation / institution
Président :	Mme. MEBARKI Radia	MCB	Université de Bordj Bou Arreridj
Encadrant :	Mme. MOUMENI Ouissem	MCB	Université de Bordj Bou Arreridj
Examineur :	M. DIAFAT Abdelouahab	Pr.	Université de Bordj Bou Arreridj

Année Universitaire 2024/2025

Remerciements

Louange à Allah, seigneur des mondes, le miséricordieux, qui m'a accordé la force, la patience et la sagesse nécessaires pour mener à bien ce travail.

Je souhaite adresser mes plus sincères remerciements à

MON ENCADRANTE Mme. MOUMENI Ouissem, pour son accompagnement attentif, ses conseils pertinents, sa disponibilité, et son soutien qui ont grandement contribué à la réussite de ce travail.

Je tiens également à exprimer ma profonde gratitude à Mr. DIAFET Abdelouahab et Mme. MEBARKI Radia pour le temps qu'ils ont consacré à l'évaluation de ce mémoire.

je tiens également à remercier chaleureusement Mr. MERZOUGI Youcef pour son aide précieuse

Je n'oublie pas l'ensemble des enseignants et personnel de l'Université de Bordj Bou Arreridj, qui ont contribué à enrichir ma formation et à développer mon esprit d'analyse tout au long de mon parcours.

Enfin, je remercie sincèrement tous ceux qui m'ont apporté leur aide, même à travers les gestes les plus modestes.

Dédicaces

Je dédie tout d'abord ce travail à dieu, source du tout.

Je dédie également ce mémoire à mes chers **parents**, pour leur amour inconditionnel, leur soutien sans faille et leurs sacrifices qui m'ont permis d'avancer chaque jour.

A ma **grand-mère**, ce cœur pur qui a toujours cru en mon succès, m'a soutenue et encouragée sans relâche, ces paroles demeurent pour toujours, Que dieu ait son âme en paix.

A ma grande sœur **Hadjer**, qui a été comme une deuxième mère pour moi, pensant à moi sans cesse, merci du fond du cœur pour ton amour et ton soutien constants.

A ma sœur **Sara**, dont la patience infinie et le soutien constant ont fait toute la différence dans les moments où j'en avais le plus besoin.

A ma cousine **Nardjesse**, pour son soutien précieux dans les moments difficiles, je t'en suis profondément reconnaissante.

A ma cousine **Racha**, qui a été toujours là pour me soutenir.

A ma tante **Saliha**, pour sa gentillesse et son appui, merci d'avoir toujours cru en moi.

A mes amies, **Loubna**, **Ismahan** et **Wissam**, c'est un véritable plaisir de vous avoir à mes côtés sur ce chemin.

Enfin, merci à toutes celles et ceux qui, par leurs mots ou leurs gestes, m'ont donné le courage et l'aide nécessaires durant toutes ces années universitaires. Votre présence a été une source de force inestimable.

Liste des tableaux

N°	Titres	Pages
1	Propriétés physicochimiques des nanoparticules d'oxyde de fer	15

Liste des figures

N°	Titres	Pages
1	Gamme de tailles des nanoparticules comparées à celles des principales structures chimiques et biologiques (Tomalia, 2004)	4
2	Cycle de vie des NMs manufacturés dans l'environnement (Sun et al., 2014)	10
3	Principaux effets des nanoparticules sur la santé humaine (Ostiguy et al., 2008)	11
4	Mécanisme d'action des nanoparticules (Francelyne et Guadagnini, 2013)	12
5	Caractérisation cristallographique des nanoparticules d'oxyde de fer : (a) l'hématite, (b) la magnétite, (c) la maghémite (Wu et al., 2015)	14
6	Schéma en coupe de l'anatomie d'un escargot (Quibik, 2007)	19
7	Reproduction de l'escargot <i>Helix aspersa</i> (Accouplement de deux partenaires) (Buron-Mousseau, 2014)	22
8	L'escargot <i>Helix aspersa</i> (Photo personnelle)	25
9	Les nanoparticules d'oxyde de fer (Fe ₂ O ₃) (Photo personnelle)	25
10	Elevage des escargots au sein du laboratoire (Photo personnelle)	26
11	Lot témoin et lots traités avec les trois concentrations de nanoparticules utilisées dans l'expérimentation (Photo personnelle)	27
12	Application topique des solutions de nanoparticules de Fe ₂ O ₃ sur les escargots <i>Helix aspersa</i> (Photo personnelle)	27
13	Accès au vaisseau antérieur situé à proximité du cœur chez <i>Helix aspersa</i> , selon la méthode de Letellier (2010)	28
14	Prélèvement de l'hémolymphe chez <i>Helix aspersa</i> par ouverture du côté postérieur gauche de la coquille (Photo personnelle)	28
15	Étapes de la dissection d' <i>Helix aspersa</i> (Photo personnelle). (a) Matériel utilisé pour la dissection : pinces, ciseaux, scalpel et boîtes de pétri ; (b) Ouverture de la coquille de l'escargot à l'aide de ciseaux ; (c) Extraction et séparation des organes internes dans une boîte de pétri.	29

Liste des figures

16	Organes isolés d' <i>Helix aspersa</i> (photo personnelle). (1) l'hépatopancréas ; (2) la glande albumen ; (3) le rein	30
17	Effet des nanoparticules de Fe ₂ O ₃ sur le taux de GSH au niveau de l'hépatopancréas, du rein et du lysat hémocytaire des escargots <i>Helix aspersa</i> (m ± SD ; n=3)	34
18	Variations de l'activité CAT au niveau de l'hépatopancréas, du rein et du lysat hémocytaire chez les escargots <i>Helix aspersa</i> témoins et exposés aux nanoparticules de Fe ₂ O ₃ (m ± SD ; n = 3)	34
19	Effets des nanoparticules d'oxyde de fer (Fe ₂ O ₃) sur le taux des protéines albuminiques chez <i>Helix aspersa</i> (m ± SD ; n = 3)	35

Liste des abréviations

Ag : Argent

AgNPs : Nanoparticules d'argent

ASS : Acide Sulfosalicylique

BBC : Bleu Brillant de Coomassie

CAT : Catalase

Ce : Cérium

DO : Densité Optique

DTNB : Acide 5,5'-Dithio-bis(2 Nitrobenzoïque)

EDTA : Éthylène Diamine Tétra-Acétique

ETMs : Éléments traces métalliques

Fe₂O₃ : Oxyde de fer(III) / Hématite

Fe₃O₄ : Magnétite

GSH : Glutathion réduit

H₂O₂ : Peroxyde d'Hydrogène

IBS : Irritable Bowel Syndrome

ISO : Organisation Internationale de Normalisation

Nm : Nanomètre

NMx : nanomatériaux.

μM : Micromole

NPs : Nanoparticules

nZVI : Fer zéro-valent nanométrique

rpm : Révolutions par minute

TiO₂ : Dioxyde de titane

Tris : Trométamol / Tris(hydroxyméthyl)amino

W-NPs : Nanoparticules de tungstène

ZnO : Oxyde de zinc

γ-Fe₂O₃ : Maghémite

Résumé

La présente étude vise à évaluer la toxicité des nanoparticules de Fe₂O₃ chez *Helix aspersa*, un gastéropode terrestre reconnu pour ses capacités de bioaccumulation et son rôle de bioindicateur en écotoxicologie.

Des escargots subadultes ont été exposés à trois concentrations croissantes de NPs de Fe₂O₃ (100, 1000 et 5000 mg/L) par voie topique pendant 14 jours. Les biomarqueurs du stress oxydatif (GSH, CAT) ont été analysés dans l'hépatopancréas, le rein et les hémocytes, tandis que la vitellogénine, indicateur de perturbation endocrinienne, a été évaluée au niveau de la glande albumen. Les résultats ont révélé une diminution dose-dépendante du taux de GSH, traduisant l'activation du système de détoxification. Parallèlement, une augmentation significative de l'activité CAT a été observée, suggérant une réponse adaptative au stress oxydatif. Une réduction notable des taux de protéines albuminiques (vitellogénine) a également été constatée, indiquant une altération de la fonction reproductrice.

Ces perturbations physiologiques confirment que les nanoparticules du Fe₂O₃ induisent un stress oxydatif et affectent la reproduction chez *Helix aspersa*, validant ainsi ce gastéropode comme un bioindicateur terrestre pertinent de la nanotoxicité.

Mots clés : Fe₂O₃, nanoparticules, *Helix aspersa*, GSH, CAT, bioaccumulation, stress oxydatif, vitellogénine, bioindicateur, nanotoxicité.

Abstract

This study aims to evaluate the toxicity of Fe₂O₃ nanoparticles in *Helix aspersa*, a terrestrial gastropod recognized for its bioaccumulation capacity and role as a bioindicator in ecotoxicology.

Subadult snails were topically exposed to three increasing concentrations of Fe₂O₃ NPs (100, 1000, and 5000 mg/L) for 14 days. Oxidative stress biomarkers (GSH, CAT) were analyzed in the hepatopancreas, kidney, and hemocytes, while vitellogenin, an indicator of endocrine disruption, was assessed in the albumen gland. The results revealed a dose-dependent decrease in GSH levels, indicating the activation of the detoxification system. At the same time, a significant increase in CAT activity was observed, suggesting an adaptive response to oxidative stress. A notable reduction in albumin protein levels (vitellogenin) was also recorded, indicating an alteration in reproductive function.

These physiological disturbances confirm that Fe₂O₃ nanoparticles induce oxidative stress and affect reproduction in *Helix aspersa*, validating this gastropod as a relevant terrestrial bioindicator for nanotoxicity assessment.

Keywords: Fe₂O₃, nanoparticles, *Helix aspersa*, GSH, CAT, bioaccumulation, oxidative stress, vitellogenin, bioindicator, nanotoxicity.

الملخص

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم سمية جزيئات أكسيد الحديد الثلاثي (Fe_2O_3) النانوية لدى الحلزون البري *Helix aspersa*، وهو حلزون معروف بقدرته على التراكم الحيوي ودوره كمؤشر حيوي في علم السموم البيئي.

تم تعريض الحلزونات شبه البالغة لثلاث تراكيز متزايدة من جزيئات Fe_2O_3 النانوية (100، 1000، و5000 ملغ/لتر) عن طريق التطبيق الموضعي لمدة 14 يوماً. تم تحليل مؤشرات الإجهاد التأكسدي (CAT، GSH) في الكبد البنكرياسي، الكلى، وخلايا الدم، في حين تم تقييم الفيتيلوجينين، وهو مؤشر على اضطراب الغدد الصماء، في الغدة البيضية. أظهرت النتائج انخفاضاً معتمداً على الجرعة في مستوى GSH، مما يعكس تنشيط نظام إزالة السموم. وبالمقابل، لوحظ ارتفاع ملحوظ في نشاط CAT، مما يشير إلى استجابة تكيفية للإجهاد التأكسدي. كما تم تسجيل انخفاض واضح في مستويات البروتينات البيضية (الفيتيلوجينين)، مما يدل على تأثير الوظيفة التناسلية.

تؤكد هذه الاضطرابات الفسيولوجية أن جزيئات Fe_2O_3 النانوية تسبب إجهاداً تأكسدياً وتؤثر على التكاثر لدى *Helix aspersa*، مما يثبت أن هذا الحلزون يشكل مؤشراً حيويًا برياً مناسباً لتقييم السمية النانوية.

الكلمات المفتاحية: Fe_2O_3 ، جزيئات نانوية، *Helix aspersa*، GSH، CAT، تراكم حيوي، إجهاد تأكسدي، فيتيلوجينين، مؤشر حيوي، سمية نانوية.

Remerciements

Dédicaces

Résumé

Abstract

المخلص

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction

Chapitre I : Synthèse bibliographique

1. Généralités sur les nanoparticules	03
1.1. Notions de nanosciences et nanotechnologies	03
1.2. Classification des nanoparticules	03
1.2.1. Classification des nanoparticules selon leur composition chimique.....	04
1.2.1.1. Les nanoparticules inorganiques.....	04
1.2.1.2. Les nanoparticules organiques.....	04
1.2.1.3. Les nanoparticules à base de carbone.....	05
1.2.2. Classification des nanoparticules selon leurs dimensions.....	05
1.2.2.1. Les matériaux de dimension 0	05
1.2.2.2. Les matériaux de dimensions 1.....	05
1.2.2.3. Les matériaux de dimensions 2.....	05
1.2.2.4. Matériaux de dimensions 3	05
1.2.3. Classification des nanoparticules selon leur origine	06
1.2.3.1. Origine humaine	06
1.2.3.2. Origine minérale ou environnementale	06
1.2.3.3. Origine biologique	06
1.3. Applications	06
1.3.1. Énergie et environnement	06
1.3.1.1. Décontamination de l'eau	06
1.3.1.2. Panneaux solaires avec structure de pérovskite	07
1.3.1.3. Batteries et supercondensateurs.....	07
1.3.2. Médecine et santé	07
1.3.2.1. Délivrance ciblée de médicaments	07
1.3.2.2. Thérapie anticancéreuses	07

1.3.2.3. Imagerie médicale	07
1.3.3.3. Electronique et informatique	08
1.3.3.1. Transistors haute performance	08
1.3.3.2. Mémoires nanométriques	08
1.4. Impact toxicologiques et écotoxicologiques des nanoparticules	08
1.4.1. Devenir des nanoparticules dans l'environnement	08
1.4.2. Effets des nanoparticules sur la santé humaine	10
1.4.3. Les effets des nanoparticules sur l'écosystème terrestre	12
2. les nanoparticules métalliques : cas de l'oxyde de fer (Fe ₂ O ₃)	13
2.1. Présentation et application	13
2.2. Propriétés physicochimiques	14
2.3. Données toxicologiques	15
3. L'escargot <i>Helix aspersa</i>	16
3.1. Présentation de l'espèce <i>Helix aspersa</i>	16
3.2. Anatomie générale	17
3.2.1. Anatomie externe	17
3.2.1.1. Le corps	17
3.2.1.2. La coquille	18
3.2.2. Anatomie interne	19
3.2.2.1. Le système nerveux	19
3.2.2.2. L'appareil respiratoire	20
3.2.2.3. L'appareil digestif	20
3.2.2.4. Le système circulatoire	20
3.3. Croissance	21
3.4. Reproduction	21
3.5. Rythme d'activité	23
3.6. Intérêt de l'utilisation l'escargot <i>Helix aspersa</i> en écotoxicologie	23

Chapitre II : Matériel et méthodes

1. Matériel biologique	25
2. Matériel chimique	25
3. Méthodes	26
3.1. Condition d'élevage	26
3.2. Mode de traitement	26
3.3. Prélèvement et conservation de l'hémolymphe	28

3.3.1. Prélèvement de l'hémolymphe	28
3.3.2. Centrifugation de l'hémolymphe et conservation des hémocytes	29
3.4. Dissection et prélèvement d'organe	29
4. Paramètres étudiés	30
4.1. Dosage des paramètres du stress oxydatif	30
4.1.1. Dosage du taux de glutathion (GSH)	30
4.1.2. Dosage de l'activité de catalase (CAT)	31
4.1.3. Dosage des protéines albuminiques (vitéllogénines)	31
5. Analyse statistique	32

Chapitre III : Résultats

6.1.1. Effets des nanoparticules de Fe ₂ O ₃ sur le taux de GSH	33
6.1.2. Effets des nanoparticules de Fe ₂ O ₃ sur l'activité de catalase	33
6.1.3. Effets des nanoparticules de Fe ₂ O ₃ sur le taux des protéines albuminiques	35

Chapitre IV : Discussion

Discussion	36
Conclusion et perspectives	38
Références bibliographiques	39



Introduction

Depuis une vingtaine d'années, les nanotechnologies connaissent un essor considérable, soutenu par des avancées scientifiques majeures dans la conception, la manipulation et l'exploitation des nanomatériaux (**Perreault, 2012 ; Commission européenne, 2022**). Parmi les différentes nanostructures, les nanoparticules occupent une place centrale grâce à leur structure tridimensionnelle confinée à l'échelle nanométrique, leur surface spécifique élevée et leurs propriétés physico-chimiques inédites (**Nel et al., 2006**).

Leur taille extrêmement réduite induit des comportements radicalement différents de ceux observés à l'échelle macroscopique, modifiant notamment leur solubilité, leur réactivité chimique, leurs propriétés optiques, électroniques et magnétiques, ainsi que leur capacité à franchir les membranes biologiques (**Armarego, 2022**). Ces caractéristiques exceptionnelles élargissent considérablement leurs domaines d'application, qui s'étendent de la nanomédecine et des technologies énergétiques propres à des secteurs plus courants tels que l'alimentation, les textiles, les cosmétiques, l'électronique ou encore l'automobile (**Perreault, 2012 ; Commission européenne, 2023**).

L'essor rapide des nanotechnologies a conduit à l'introduction massive de nanomatériaux dans de nombreux produits de consommation, augmentant ainsi le risque d'exposition aux nanoparticules dans les milieux naturels. En raison de leur taille infime et de leur grande réactivité, ces particules peuvent facilement se disperser dans l'air, l'eau ou les sols, favorisant leur infiltration dans les écosystèmes (**Delay et Frimmel, 2012**). Cette diffusion, alimentée par des secteurs variés comme l'industrie, la médecine ou les cosmétiques, suscite des préoccupations croissantes quant à leur devenir environnemental et à leurs interactions biologiques. En effet, les nanoparticules peuvent induire des réponses cellulaires complexes, parfois associées à des effets cytotoxiques, dont les mécanismes restent encore partiellement compris (**Triboulet et al., 2014**). Malgré leur potentiel technologique, leur comportement dans les différents compartiments environnementaux, ainsi que leurs impacts à long terme, au niveau cellulaire et au sein des communautés biologiques, nécessitent des investigations approfondies (**Vindedahl et al., 2016 ; Yu et al., 2018**).

Parmi les nanoparticules les plus largement utilisées, celles à base de fer, notamment les nanoparticules d'oxyde de fer (Fe_2O_3), suscitent un intérêt croissant. Reconnues pour leur grande utilité en imagerie médicale, en traitement ciblé du cancer ou encore en dépollution, ces particules présentent également un risque potentiel pour les organismes vivants. Leur capacité à produire des espèces réactives de l'oxygène (ROS), à s'accumuler dans les tissus et à induire

des perturbations cellulaires soulève des préoccupations toxicologiques (**Wu et al., 2015 ; Zhang et al., 2023**). La toxicité de ces nanoparticules est fortement influencée par plusieurs paramètres, notamment leur taille, leur forme, leur charge de surface et la nature de leur enrobage.

Face à ces enjeux, l'utilisation de bioindicateurs s'impose comme une stratégie pertinente pour évaluer les impacts environnementaux des nanoparticules. L'escargot terrestre *Helix aspersa*, communément appelé petit-gris, est largement reconnu comme un modèle biologique pertinent en écotoxicologie. Sa sensibilité aux contaminants, sa capacité à bioaccumuler les métaux et son contact direct avec le sol, principal réservoir des nanoparticules, en font un indicateur efficace de la qualité de l'environnement (**Druille et al., 2016 ; Gomot-de Vaufleury et al., 2020**). De plus, en tant que maillon de la chaîne trophique, exposé à de nombreux prédateurs tels que les oiseaux ou les mammifères, il peut jouer un rôle important dans le transfert trophique des polluants (**Atailia, 2017**). Sa facilité d'élevage en laboratoire constitue par ailleurs un atout majeur pour la réalisation d'expériences reproductibles et contrôlées (**Regoli et al., 2019**).

C'est dans ce contexte que s'inscrit notre étude, qui vise à évaluer les effets toxiques des nanoparticules d'oxyde de fer (Fe_2O_3) sur certains biomarqueurs du stress oxydatif chez l'escargot terrestre *Helix aspersa*. L'objectif de cette recherche est de mieux comprendre les réponses biologiques de cet organisme suite à une exposition topique aux nanomatériaux.

Ce travail de recherche est structuré comme suit :

- Le premier chapitre propose une synthèse bibliographique sur les nanoparticules, avec un accent particulier sur l'oxyde de fer, ainsi qu'une présentation de l'espèce *Helix aspersa* et son intérêt en tant que bioindicateur de la pollution des sols ;
- Le deuxième chapitre décrit le matériel utilisé et détaille la méthodologie expérimentale mise en œuvre ;
- Le troisième chapitre est consacré à l'interprétation des résultats obtenus ;
- Le quatrième chapitre est dédié à la discussion des résultats à la lumière des données de la littérature scientifique ;
- Enfin, une conclusion générale viendra résumer les principaux apports de cette recherche, et proposera quelques perspectives pour des études futures.



Chapitre I

Synthèse bibliographique

1. Généralités sur les nanoparticules

1.1. Notions de nanosciences et nanotechnologies

Les nanosciences et les nanotechnologies, situées au carrefour de nombreuses disciplines telles que la physique, la chimie, la biologie ou la mécanique, connaissent aujourd'hui un développement spectaculaire, à tel point que l'on évoque une véritable « Révolution nanotechnologique » (Marcel et al., 2004 ; CNRS, 2023).

Le terme "nano" fait référence à une unité de mesure incroyablement petite, équivalente à un millionième de millimètre, ce qui la rend invisible à l'œil nu. La nanotechnologie, quant à elle, désigne l'ensemble des techniques et approches permettant de manipuler la matière à l'échelle nanométrique afin de concevoir des matériaux ou dispositifs innovants, aux propriétés nouvelles. Le concept fut évoqué dès 1959 par le physicien Richard Feynman à l'Institut Américain des Technologies, lors de sa conférence intitulée "*There's Plenty of Room at the Bottom*". Bien que ses idées aient été peu reconnues à l'époque, elles ont jeté les bases d'une réflexion sur l'ingénierie à l'échelle atomique (Drexler, 1986). Les nanosciences, pour leur part, se distinguent par l'étude des propriétés spécifiques de la matière à l'échelle nanométrique, où les lois de la physique classique et quantique interagissent simultanément, donnant lieu à de nouvelles caractéristiques (Buzea et al., 2007). A titre exemple, l'or, habituellement inerte à l'échelle macroscopique, devient hautement catalytique lorsqu'il est présent sous forme de nanoparticules (Zhang et al., 2012).

Le concept de nanosciences a émergé dans les années 1985, à la suite de la synthèse des fullerènes par Robert F. Curl, Harold W. Kroto et Richard E. Smalley. Cette avancée a marqué le point de départ d'une nouvelle discipline centrée sur l'étude de la matière à l'échelle nanométrique. Avec le développement des sciences de l'infiniment petit, l'attention s'est rapidement portée sur les nanoparticules, véritables éléments clés de cette révolution scientifique. Toutefois, malgré leurs nombreuses applications technologiques, leur toxicité potentielle soulève des préoccupations croissantes en matière de santé humaine (Hemmerlin, 2014).

1.2. Classification des nanoparticules

Une nanoparticule, parfois désignée sous le terme de particule ultrafine, correspond selon la norme ISO TS/27687, à un nano-objet dont les trois dimensions se situent à l'échelle nanométrique, c'est-à-dire inférieures à 100 nanomètres. Dans une acception plus large, le

terme peut également désigner un ensemble d'atomes ou de molécules présentant au moins une dimension nanométrique. Ainsi, le terme « nanoparticule » peut également s'appliquer à différentes classes de nano-objets, tels que les nanofils ou les feuilles minces, en fonction de leur géométrie et de leur comportement à l'échelle nanométrique (INRS, 2008 ; Ostiguy, 2008).

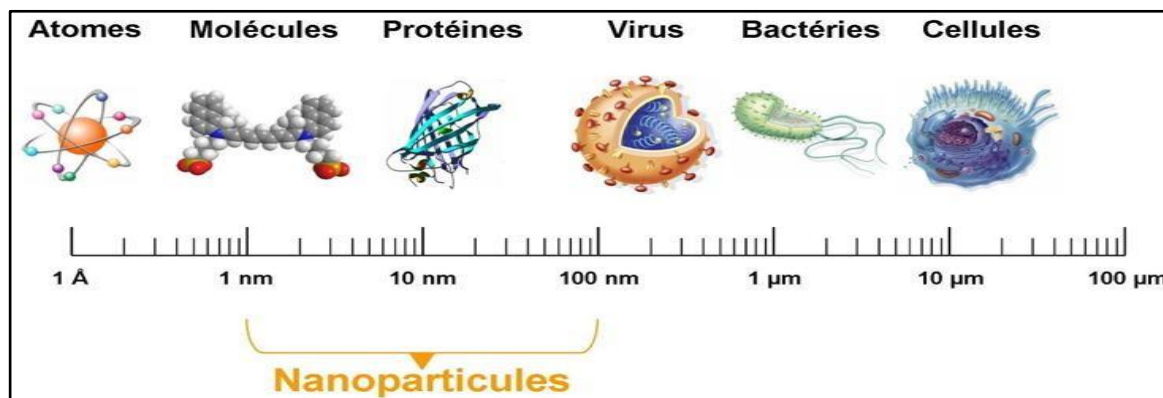


Figure 1 : Gamme de tailles des nanoparticules comparées à celles des principales structures chimiques et biologiques (Tomalia, 2004).

Les nanoparticules (NPs) peuvent être classées selon plusieurs critères fondamentaux qui influencent leurs propriétés et leurs interactions biologiques. Une classification rigoureuse s'appuie principalement sur leurs caractéristiques physico-chimiques et leur morphologie (Nel *et al.*, 2009).

1.2.1. Classification des nanoparticules selon leur composition chimique

1.2.1.1. Les nanoparticules inorganiques : La synthèse chimique des nanomatériaux inorganiques a connu un développement remarquable au cours des dernières années. Cette catégorie englobe notamment des nanocristaux et nanofils élaborés à partir de métaux (Matea, *et al.*, 2022), d'oxydes métalliques et de pnictides. Par ailleurs, d'autres structures inorganiques, telles que les nanotubes et les nanomurs, ont également fait l'objet de nombreuses recherches en raison de leurs propriétés uniques et de leurs multiples applications (Sanchez, 2013).

1.2.1.2. Les nanoparticules organiques : Les nanoparticules organiques sont reconnues pour leur caractère écologique, lié à leur biodégradabilité et à leur faible toxicité. Ces caractéristiques les rendent particulièrement adaptées aux applications biomédicales, notamment grâce à leur biocompatibilité élevée, leur stabilité chimique, la modulabilité de leur surface, ainsi que leur capacité à encapsuler et libérer efficacement des substances actives.

Parmi les principales formes de nanoparticules organiques, on retrouve les systèmes micellaires/lipidiques, des NPs à base de polymères, des NPs à base de carbone, etc... (**Chuto et Chaumet, 2010**).

1.2.1.3. Les nanoparticules à base de carbone : les atomes de carbone possèdent la capacité de former des liaisons covalentes stables avec trois ou quatre autres atomes de carbone, selon différentes configurations d'hybridation (sp^2 ou sp^3). Cela donne naissance à une multitude de structures, allant de petites molécules à de longues chaînes polymériques. C'est précisément cette richesse structurale et la variabilité de ses liaisons qui permettent au carbone de créer certaines des nanostructures les plus captivantes, notamment les nanotubes de carbone. Ces derniers suscitent un fort intérêt scientifique en raison de leur potentiel d'application exceptionnel, souvent considéré comme supérieur à celui de nombreuses autres nanostructures (**Poole et Owens, 2003**).

1.2.2. Classification des nanoparticules selon leurs dimensions

1.2.2.1. Les matériaux de dimension 0 : Ces nanomatériaux se présentent sous forme dispersée, aléatoire ou organisée, comme dans le cas des cristaux colloïdaux utilisés en optique ou dans les fluides magnétiques. Ils sont généralement constitués de quelques dizaines à plusieurs milliers d'atomes, confinés dans les trois dimensions de l'espace (**Bekhti. 2015**).

1.2.2.2. Les matériaux de dimension 1 : Les nanomatériaux unidimensionnels, quant à eux, prennent la forme de nanofils ou de nanotubes, dans lesquels une seule dimension, en général le diamètre, est à l'échelle nanométrique, tandis que les deux autres sont beaucoup plus grandes (**Bekhti. 2015**).

1.2.2.3. Les matériaux de dimension 2 : Ce groupe comprend principalement les couches minces, comme celles que l'on trouve dans les dépôts d'agrégats, ou les revêtements épais obtenus par des techniques comme la projection plasma ou la voie électrochimique. Deux dimensions sont nanométriques, la troisième étant macroscopique (**Bekhti. 2015**).

1.2.2.4. Les matériaux de dimension 3 : Il s'agit de matériaux à structure compacte, dans lesquels les trois dimensions sont nanométriques. On retrouve dans cette catégorie des céramiques et métaux nanostructurés, présentant des propriétés mécaniques ou thermiques modifiées à cette échelle (**Bekhti. 2015**).

1.2.3. Classification des nanoparticules selon leur origine

1.2.3.1. Origine humaine

Les « nanoparticules manufacturées », aussi appelées « engineered nanoparticles », sont des nanomatériaux synthétisés intentionnellement en vue d'applications technologiques précises (Matea et al., 2022). Cela inclut notamment des particules ultrafines comme le dioxyde de titane, certains métaux, ainsi que des pigments utilisés dans les peintures ou autres produits industriels (Hochella et al., 2019).

D'un autre côté, nous avons les « bulk nanoparticles », qui englobent des substances générées en grande quantité lors de divers procédés industriels ou de combustion. Parmi elles figurent le noir de carbone, la fumée de silice, la fumée d'huile, le smog ou encore les particules émises par les moteurs diesel, pour ne citer que quelques exemples (Kumar et al., 2010).

1.2.3.2. Origine minérale ou environnementale

Certaines nanoparticules d'origine naturelle proviennent de sources minérales ou environnementales. On peut citer, par exemple, la fraction fine du sable désertique, les aérosols émis lors d'éruptions volcaniques, les particules issues des feux de forêt, ou encore diverses poussières atmosphériques naturellement présentes dans l'environnement (Hochella et al., 2019).

1.2.3.3. Origine biologique

Les nanoparticules d'origine biologique sont des structures biologiques qui mesurent à l'échelle nanométrique. Parmi les exemples les plus connus, on trouve l'ADN, qui a un diamètre d'environ 2,5 nm, ainsi que les virus, dont la taille varie généralement entre 10 et 100 nm. On peut également mentionner certaines protéines ou complexes protéiques, comme les ferritines, qui mesurent environ 8 à 12 nm (Srikar et al., 2016 ; Matea et al., 2022).

1.3. Applications

1.3.1. Énergie et Environnement

1.3.1.1. Décontamination de l'eau

Les nanoparticules de dioxyde de titane (TiO₂) sont largement utilisées comme photocatalyseurs dans les procédés de traitement de l'eau. Sous l'action de la lumière, elles permettent de dégrader efficacement les polluants organiques, jouant ainsi un rôle clé dans les technologies de décontamination environnementale (Keller et al., 2021).

1.3.1.2. Panneaux solaires avec structure de pérovskite

Les nanomatériaux à base de pérovskite ont révolutionné le domaine des cellules solaires en atteignant plus de 25% d'efficacité dans leur conversion. De plus, ces matériaux sont utilisés dans des cellules solaires en tandem pour maximiser l'efficacité (**Zhang et al., 2021**).

1.3.1.3. Batteries et supercondensateurs

Certains nanomatériaux sont employés pour améliorer les performances des batteries lithium-ion en augmentant leur capacité de stockage, leur longévité et leur efficacité énergétique. Des matériaux comme les nanotubes de carbone ou le graphène offrent une excellente conductivité et une grande surface spécifique, favorisant ainsi des échanges ioniques rapides. Par ailleurs, l'emploi d'anodes en silicium nanostructuré permet d'augmenter significativement la capacité de stockage, grâce à la forte densité énergétique de ce matériau (**Liu et al., 2021**).

1.3.2. Médecine et santé

1.3.2.1. Délivrance ciblée de médicaments

Les nanoparticules polymériques et lipidiques jouent un rôle central dans l'administration ciblée de médicaments. Elles permettent d'encapsuler des principes actifs et de les acheminer sélectivement vers les cellules cibles, limitant ainsi leur diffusion systémique et réduisant les effets indésirables. Un exemple marquant de cette technologie est l'utilisation des nanoparticules lipidiques comme vecteurs dans les vaccins à ARNm contre la COVID-19, où elles assurent la protection et la livraison efficace de l'ARNm dans les cellules hôtes (**Shi et al., 2021**).

1.3.2.2. Thérapies anticancéreuses

Les nanotechnologies ont ouvert la voie à des traitements photothermiques fascinants. Ce procédé consiste à utiliser des nanoparticules capables d'absorber la lumière pour générer localement de la chaleur, induisant ainsi la destruction sélective des cellules tumorales (**Huang et al., 2021**).

1.3.2.3. Imagerie médicale

Les nanoparticules d'or et les points quantiques sont largement utilisés pour rehausser la résolution et la précision des techniques d'imagerie médicale. Leur capacité à se fixer sélectivement sur certaines structures cellulaires permet une visualisation plus précise des tissus, ce qui joue un rôle déterminant dans le diagnostic précoce du cancer (**Zhang et al., 2021**).

1.3.3. Électronique et informatique

1.3.3.1. Transistors haute performance

L'intégration de nanofils et de nanotubes de carbone dans les transistors a vraiment boosté leurs performances, notamment en ce qui concerne la vitesse de traitement et l'efficacité énergétique. Par exemple, les transistors fabriqués à partir de nanofils de silicium sont actuellement étudiés pour leur intégration dans les microprocesseurs de nouvelle génération (Akinwande et al., 2021).

1.3.3.2. Mémoires nanométriques

Des dispositifs de mémoire utilisant des nanofils et des points quantiques ont été développés pour stocker des données à des densités incroyablement élevées. Prenons les mémoires RRAM (Resistive Random-Access Memory) par exemple, qui exploitent les propriétés des nanomatériaux pour atteindre des capacités de stockage inédites, tant en termes de vitesse que de capacité (Zhang et al., 2021).

1.4. Impact toxicologiques et écotoxicologiques des nanoparticules

1.4.1. Devenir des nanoparticules dans l'environnement

Le développement rapide des nanotechnologies entraîne une augmentation notable de la présence et de la diversité des nanomatériaux dans l'environnement. Pour évaluer leurs impacts, il est essentiel de prendre en compte la nature et l'ampleur des sources, les mécanismes de transfert (comme l'air, les eaux de ruissellement, et les rejets directs), les compartiments de stockage (eau, sols, sédiments), ainsi que les espèces cibles, leurs interactions (comme la relation proie-prédateur) et les effets sur les populations exposées (Colvin, 2003).

Afin de garantir une évaluation fiable des risques, l'analyse du cycle de vie des nanomatériaux est primordiale (Som et al., 2010) (Figure 2). La forme sous laquelle ces rejets se présentent varie selon l'étape du cycle de vie : (i) ils sont purs lors de la production, (ii) ils se mélangent à d'autres composés pendant l'utilisation, et (iii) ils s'associent à des substances environnementales lorsqu'ils pénètrent dans les écosystèmes (Nowack et al., 2012).

De nombreuses recherches ont examiné le vieillissement et les transformations des nanomatériaux tout au long de leur cycle de vie (Mitrano et al., 2015). Par exemple, Kaegi et al. (2008) ont révélé un transfert significatif de nanoparticules de TiO₂ des peintures de façade vers les eaux de surface, sous l'effet des conditions météorologiques. Il est également estimé que 75 à 95 % des nanomatériaux présents dans les cosmétiques et les crèmes solaires (comme le TiO₂ et le ZnO) sont libérés dans l'environnement après une douche ou une baignade (Keller

et al., 2013). Ces exemples montrent comment les nanomatériaux, souvent émis de manière involontaire, peuvent se disperser, s'accumuler dans certains compartiments de l'environnement, et exposer ainsi la population générale (**CEA, 2005**).

Les nanomatériaux se retrouvent également dans les sols, principalement par l'irrigation avec des eaux usées et l'épandage de boues provenant des stations d'épuration, utilisées comme fertilisants agricoles. D'après les travaux de **Sun et al. (2014)** et **Yang et al. (2014)**, environ 90 % des nanoparticules (NPs) d'argent (Ag), d'oxyde de zinc (ZnO), de dioxyde de titane (TiO₂) et de cérium (Ce) sont retenues dans les boues lors du traitement des eaux usées, pour ensuite être dispersées dans les champs (**Cornelis et al., 2014**).

Les propriétés physico-chimiques des nanoparticules influencent fortement leur comportement environnemental. Elles se caractérisent par un rapport surface/volume élevé, leur conférant une grande réactivité et des transformations chimiques, physiques et biologiques qui modifient leur devenir, leur mobilité et leur toxicité (**Lowry et al., 2012**). En milieu aqueux, bien que très mobiles, les NPs tendent à s'agglutiner en agrégats ou agglomérats, ce qui diminue leur mobilité. Ce phénomène dépend notamment de leur charge de surface, modulée par les interactions avec des composés humiques. Un enrobage spécifique peut stabiliser les NPs, limitant leur agrégation et augmentant leur dispersion (**Praetorius et al., 2012**).

Une fois libérées dans les écosystèmes terrestres, les nanoparticules (NPs) peuvent interagir avec divers organismes et perturber les fonctions écologiques. Leur impact commence dès leur absorption par les plantes via les racines. Certaines NPs, telles que celles d'argent (Ag), de dioxyde de titane (TiO₂) ou d'oxyde de zinc (ZnO), ont été détectées dans les tissus végétaux, s'accumulant dans les feuilles ou les fruits, et devenant ainsi accessibles aux herbivores (**Ma et al., 2010 ; Larue et al., 2012**). Une fois ingérées, elles peuvent être transférées aux organismes supérieurs, y compris les humains. Ce transfert trophique, dépendant de leurs caractéristiques physico-chimiques (taille, solubilité, surface), a été confirmé par plusieurs études, révélant des risques de toxicité chronique et de perturbation de la biodiversité (**Rico et al., 2011 ; Judy et al., 2012**).

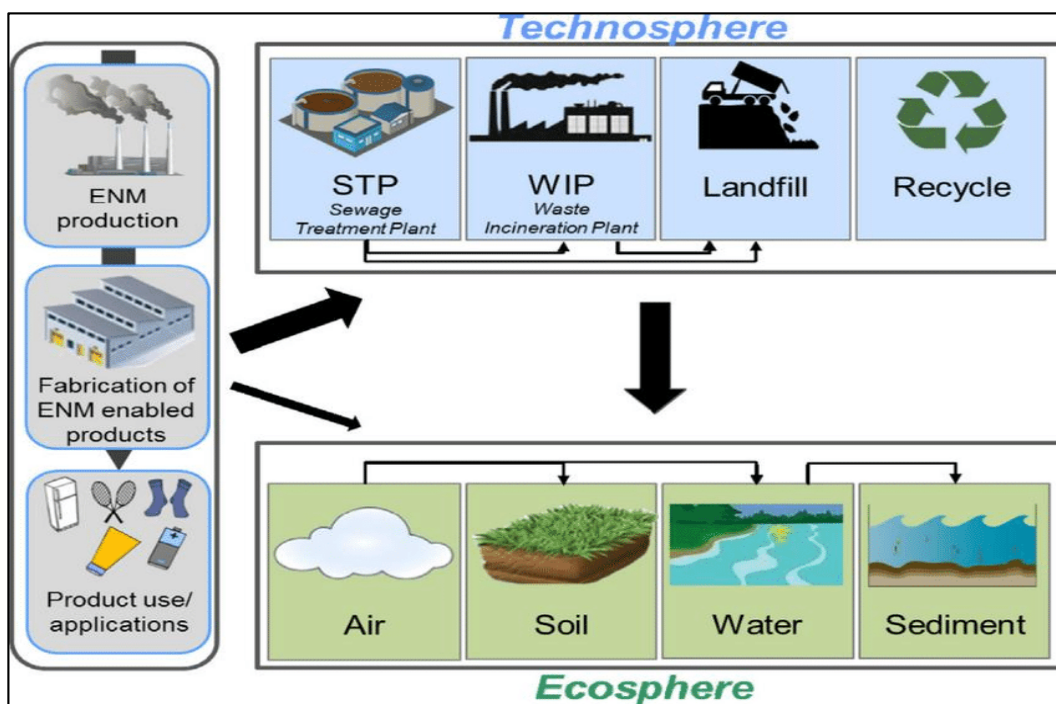


Figure 2 : Cycle de vie des NMs manufacturés dans l'environnement (Sun et al., 2014).

1.4.2. Effet des nanoparticules sur la santé humaine

Les nanoparticules (NPs) peuvent pénétrer dans l'organisme humain par trois principales voies : respiratoire, cutanée et digestive (**Figure 3**). Parmi celles-ci, l'inhalation est considérée comme la voie d'exposition la plus critique, en particulier en milieu professionnel (**Siron, 2009**). Dans le système respiratoire, la taille, la forme et l'état d'agglomération des NPs influencent leur lieu de dépôt, que ce soit dans les régions extra-thoracique, trachéo-bronchique ou alvéolaire (**Witschger et Fabries, 2005**). Une fois déposées, des mécanismes d'élimination, tels que l'action des macrophages alvéolaires, interviennent pour limiter leur pénétration systémique (**Buzea et al., 2007 ; Yang et al., 2008**). Toutefois, certaines particules échappent aux mécanismes de clairance et peuvent induire divers effets toxiques, tels qu'une inflammation pulmonaire, des altérations des fonctions cardio-respiratoires, voire une fibrose ou un risque accru de cancer du poumon en cas d'exposition chronique (**Figure 3**) (**Kahru et al., 2008 ; Zhou et al., 2023**).

L'exposition cutanée est généralement moins significative, mais elle peut devenir préoccupante lors de contacts répétés, notamment par l'usage de cosmétiques ou dans les milieux industriels. Certaines nanoparticules, comme le TiO_2 ou le ZnO , peuvent traverser l'épiderme et atteindre le derme vascularisé, où elles sont susceptibles d'interagir avec des cellules immunitaires ou d'être absorbées dans la circulation (**Lademann et al., 1999 ; Xie et al., 2024**).

La voie digestive constitue également une porte d'entrée importante. L'ingestion peut être directe (par l'eau, les aliments ou des médicaments contenant des NPs) ou indirecte, via la déglutition de particules inhalées, éliminées par clairance mucociliaire. Bien que leur perméabilité intestinale soit globalement faible, certaines NPs peuvent traverser la barrière intestinale et atteindre la circulation systémique. Des effets tels que l'altération du microbiote intestinal, des inflammations locales ou une translocation vers le foie et d'autres organes ont été rapportés (**Figure 3**) (Jani *et al.*, 1994 ; Yamago *et al.*, 1995 ; Qiao *et al.*, 2024).

Au-delà des voies d'entrée, la toxicité des nanoparticules dépend fortement de leur taille, forme, solubilité, composition chimique et surface spécifique. Une fois dans l'organisme, elles peuvent provoquer du stress oxydatif, des altérations mitochondriales, des perturbations immunitaires ou des effets génotoxiques (**Figure 4**). Ces mécanismes sont à l'origine de nombreuses préoccupations quant à leur impact potentiel sur la santé humaine, en particulier pour les populations vulnérables (Nel *et al.*, 2006 ; Sharma *et al.*, 2012).

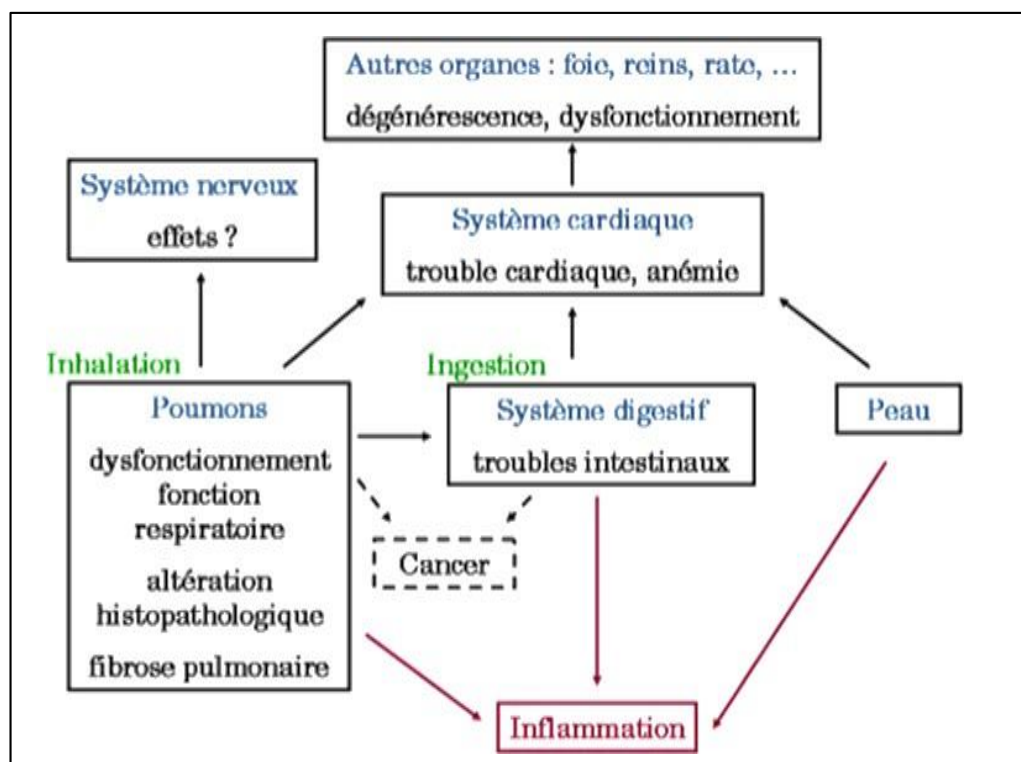


Figure 3 : Principaux effets des nanoparticules sur la santé humaine (Ostiguy *et al.*, 2008).

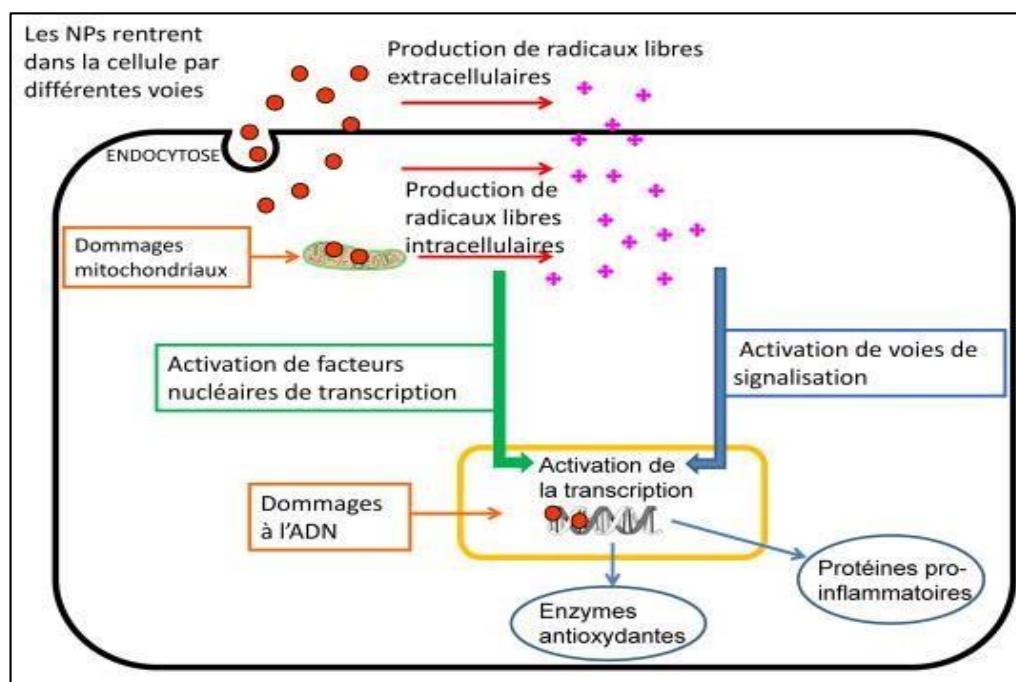


Figure 4 : Mécanisme d'action des nanoparticules (Francelyne et Guadagnini, 2013).

1.4.3. Les effets des nanoparticules sur l'écosystème terrestre

Une des principales voies de toxicité des NPs repose sur la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ERO), responsables de stress oxydatif (Oberdorster *et al.*, 2007). Chez les végétaux, les NPs interagissent avec les membranes cellulaires, altèrent l'équilibre redox et provoquent divers effets : mécaniques, catalytiques, chimiques ou liés à des modifications de surface, incluant des variations locales de pH (Schützendübel et Polle, 2002 ; Zeyons, 2008 ; Sharma et Dietz, 2009 ; Dietz et Herth, 2011).

Dans le sol, les NPs, notamment les AgNPs, affectent l'activité enzymatique en inhibant des enzymes clés comme la β -D-glucosidase et la phosphatase acide, même à de très faibles concentrations. Cela perturbe les cycles biogéochimiques du carbone, de l'azote, du phosphore et du soufre, en ralentissant la dégradation de la matière organique (Carrière, 2023 ; Colman *et al.*, 2013 ; Peyrot *et al.*, 2014). Ce blocage enzymatique serait dû à la fixation des AgNPs sur les groupes thiols des enzymes, modifiant leur structure et leur fonction (Jiang *et al.*, 2019).

Les micro-organismes du sol sont également affectés. Les nanoparticules de tungstène (W-NPs), peuvent être confondues avec des nutriments essentiels comme le molybdène, entraînant leur absorption et accumulation intracellulaire. Cela provoque une forte mortalité

bactérienne, une inhibition de la fixation de l'azote et une réduction de la croissance (**Bellenger et al., 2013**).

La bioaccumulation des NPs constitue un risque écologique majeur. Les AgNPs, par exemple, s'accumulent dans les tissus digestifs et les chloragocytes d'invertébrés du sol comme les annélides. Cette accumulation, associée à une libération progressive d'ions Ag^+ , provoque une toxicité différée, une baisse de la reproduction et des dommages à l'ADN. Ces effets sublétaux augmentent le risque de transfert trophique vers les prédateurs supérieurs, y compris les oiseaux, les mammifères, voire l'être humain (**Diez-Ortiz et al., 2013**).

2. Les nanoparticules métalliques : Cas de l'oxyde de fer

2.1. Présentation et applications

Les nanoparticules d'oxyde de fer (NPs) occupent une place centrale dans le domaine de la nanotechnologie en raison de leurs propriétés physiques, chimiques et magnétiques exceptionnelles. Naturellement présentes dans l'environnement, elles peuvent également être synthétisées de manière simple, économique et en grande quantité, ce qui en fait l'un des types de nanoparticules les plus étudiés à l'échelle mondiale (**Charles et al., 1980 ; Auffan, 2008**).

Leur taille nanométrique, généralement comprise entre 2,5 nm et 800 nm, leur permet d'interagir facilement avec les structures biologiques, ce qui les rend particulièrement intéressantes pour des applications dans des domaines aussi variés que la biomédecine, la dépollution de l'environnement, la cosmétique, l'électronique et d'autres technologies de pointe (**Auffan, 2007 ; Canivet, 2013**).

On distingue plusieurs types courants de ces particules, selon leur structure cristalline et leur état d'oxydation (**Figure 5**) :

- **L'hématite ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$)**, à structure hexagonale, est appréciée pour sa grande stabilité chimique (**Demangeate, 2018**).
- **La maghémite ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$)**, issue de l'oxydation de la magnétite, possède de bonnes propriétés magnétiques et une bonne stabilité (**Demangeate, 2018**).
- **La magnétite (Fe_3O_4)**, riche en Fe^{2+} et Fe^{3+} , est la forme la plus étudiée dans le domaine de la nanotechnologie (**Jérémy, 2013**).

Outre leur production en laboratoire, ces NPs peuvent provenir de sources anthropiques, notamment les rejets industriels, en particulier ceux des industries métallurgiques. Elles peuvent être émises dans l'environnement via les eaux usées, les boues d'épuration, ou l'air, à la suite de rejets directs ou d'accidents industriels (**Hervé-Bazin, 2007 ; Canivet, 2013**). Certaines formes comme les nano-magnétites et nano-maghémites peuvent également être retrouvées naturellement dans l'atmosphère, notamment à la suite d'éruptions volcaniques (**Canivet, 2013**).

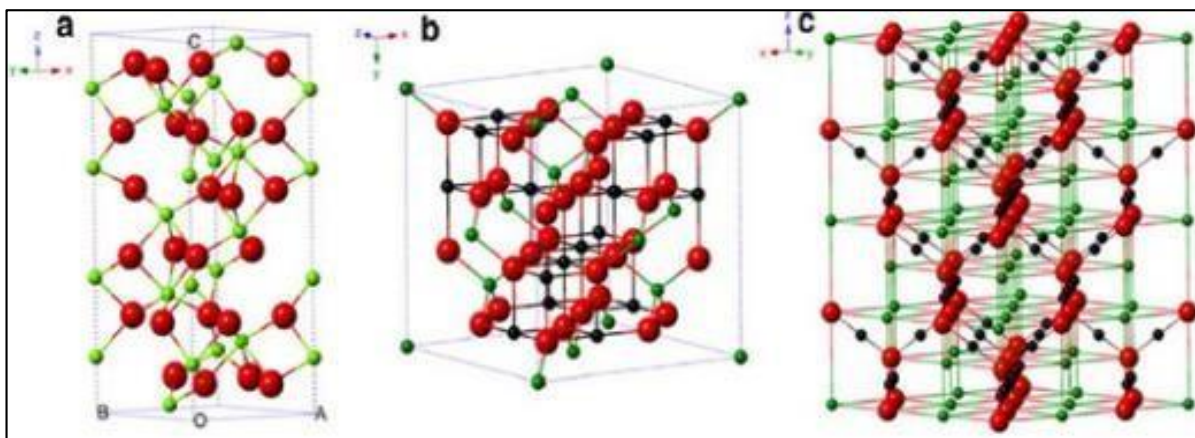


Figure 5 : Caractérisation cristallographique des nanoparticules d'oxyde de fer : (a) l'hématite, (b) la magnétite, (c) la maghémite (**Wu et al., 2015**).

2.2. Propriétés physico-chimiques

Les propriétés physico-chimiques des nanoparticules d'oxyde de fer sont résumées dans le **tableau (I)**.

Tableau I : Propriétés physicochimiques des nanoparticules d'oxyde de fer.

Propriété	Description	Références
1. Propriétés magnétiques	Les nanoparticules de Fe_3O_4 et $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ (< 20 nm) deviennent superparamagnétiques, évitant agrégation grâce à la relaxation de Néel. La saturation magnétique est élevée ($90\text{--}98 \text{ emu}\cdot\text{g}^{-1}$ pour Fe_3O_4 , $60\text{--}80 \text{ emu}\cdot\text{g}^{-1}$ pour $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$)	Auffan et al., 2007 ; Laurent et al., 2008 ; Goya et al., 2013 ; Correl et al., 2017 ; Frandsen et al., 2021

2. Propriétés optiques	Le polymorphisme et la taille influencent l'absorption lumineuse. Exemple : l'hématite ($\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$) absorbe dans le rouge grâce à une bande interdite ($E_g \approx 2,1$ eV)	El Mendili, 2011
3. Champ électromagnétique	Chaque nanoparticule génère un champ magnétique local intense, proportionnel à son moment magnétique, utile pour des applications de détection et d'échange d'énergie	Frandsen et al., 2021
4. Capacité de régénération	Les $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ et $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ supportent plusieurs cycles d'adsorption/désorption. Le pH acide facilite la désorption. La robustesse dépend du revêtement de surface	Matthias et al., 2010 ; Aitken et al., 2012 ; Demangeat, 2018
5. Capacité d'adsorption	Surface spécifique élevée (100–300 $\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$, pour 5–16 nm). Les groupes –OH coordonnent les polluants. La charge de surface varie avec le pH. Les ligands (polymères, silice) améliorent la stabilité et la sélectivité	Auffan et al., 2007 ; Aitken et al., 2012 ; Matthias et al., 2010

2.3. Données toxicologiques

Les nanoparticules d'oxyde de fer, qu'il s'agisse de Fe_2O_3 (hématite) ou de Fe_3O_4 (magnétite), sont issues d'un oligoélément essentiel, mais peuvent devenir potentiellement toxiques. Leur dangerosité repose en grande partie sur leur capacité à générer des espèces réactives de l'oxygène (ROS) via des réactions de Fenton et Haber-Weiss au sein des cellules (Alberts et al., 1983 ; Alberts et al., 2002). Ce stress oxydatif peut perturber les membranes cellulaires et affecter divers organismes.

Des études in vitro menées sur des lignées cellulaires humaines ont révélé que les nanoparticules de Fe_3O_4 et Fe_2O_3 peuvent être cytotoxiques. Toutefois, la fonctionnalisation de

surface (avec des polymères ou ligands organiques) réduit considérablement leur réactivité et leur toxicité (Kim *et al.*, 2001 ; Berry *et al.*, 2003 ; Berry *et al.*, 2004 ; Gupta *et al.*, 2005). In vivo, l'injection intrapéritonéale de Fe₂O₃ provoque une inflammation chez les souris, tandis que l'administration intraveineuse de Fe₃O₄ a montré des effets génotoxiques une semaine après traitement (Lacava *et al.*, 2002 ; Sadeghiani *et al.*, 2005). Malgré cela, des applications prometteuses ont été observées en nanomédecine, notamment pour le ciblage de tumeurs cérébrales chez le rat (Kreuter *et al.*, 2001).

Chez les microorganismes, la toxicité dépend de l'état d'oxydation du fer. Les nanomaghémites (Fe³⁺) sont considérées comme stables et peu toxiques, contrairement aux nanomagnétites (Fe²⁺/Fe³⁺) et aux nanoparticules de fer zéro-valent (nZVI, Fe⁰), qui montrent une cytotoxicité importante à partir de 0,7 g/L et 0,07 g/L respectivement. Cela est attribué à la formation de ROS, notamment du H₂O₂, entraînant des perturbations membranaires (Auffan *et al.*, 2008).

Chez les plantes, l'exposition aux nanoparticules de Fe₂O₃ et Fe₃O₄ entraîne une diminution des niveaux de chlorophylle a et b, perturbant ainsi la photosynthèse chez des espèces telles que le maïs et la courgette. Elles altèrent également les microtubules d'*Arabidopsis thaliana* et réduisent la viabilité du pollen, bien qu'une accumulation relativement faible ait été observée dans les plantules de citrouille (Cotae et Creanga, 2005 ; Racuciu et Creanga, 2007a, 2007b, 2009 ; Speranza *et al.*, 2010 ; Wang *et al.*, 2011). Certains travaux indiquent cependant des effets positifs, comme une augmentation de la biomasse végétale, suggérant que l'impact dépend du type de plante et des conditions environnementales (Zhu *et al.*, 2008 ; Salama *et al.*, 2011).

3. L'escargot *Helix aspersa*

3.1. Présentation de l'espèce *Helix aspersa*

L'espèce *Helix aspersa*, que l'on appelle souvent Petit-Gris, est un mollusque gastéropode terrestre qui se distingue par sa coquille en spirale et son corps mou, sans squelette, une caractéristique typique des escargots de la famille des *Helicidae* (Müller, 1774). Décrite pour la première fois en 1774 par le zoologue danois Otto Friedrich Müller, elle est aussi connue sous d'autres noms scientifiques tels que *Cantareus aspersus*, *Cornu aspersum* ou *Cryptomphalus aspersus*, témoignant de la complexité de sa classification (Müller, 1774 ; Barker, 2001).

Originnaire des pays méditerranéens, cette espèce s'est largement répandue à travers l'Europe et l'Afrique du Nord, colonisant avec succès des zones à climat méditerranéen ou océanique grâce à sa remarquable capacité d'adaptation (**Chevallier, 1998 ; Barker, 2001**). En Algérie, elle est particulièrement fréquente le long de la côte méditerranéenne, où elle porte des noms vernaculaires comme « Z'gargou », « Boujaghlel » ou « Boujèghlelou », illustrant son ancrage dans la culture populaire (**Chevallier, 1977**).

La capacité de cette espèce à s'adapter à différents types de sols, de climats et d'environnements, que ce soit dans des prairies ouvertes, des champs cultivés ou même dans des zones urbaines très peuplées, en fait un organisme particulièrement résilient (**Kerney et al., 2006**). Bien qu'elle semble avoir une préférence pour les milieux ouverts, *Helix aspersa* réussit également à s'épanouir dans des environnements modifiés par l'activité humaine, ce qui explique sa présence notable dans le Nord-Est algérien et au-delà (**Chevallier, 1977 ; Kerney et al., 2006**).

Cette adaptabilité, associée à son large éventail de répartition écobiogéographique, en fait un sujet d'étude de choix en écologie et en biologie, surtout pour explorer les mécanismes de colonisation et de survie dans des écosystèmes variés (**Barker, 2001**). En plus de son intérêt scientifique, le Petit-Gris a aussi une importance culturelle et économique en Algérie, où il trouve parfois sa place dans la cuisine traditionnelle, soulignant ainsi son rôle dans les pratiques locales (**Chevallier, 1998**).

3.2. Anatomie générale

3.2.1. Anatomie externe

L'anatomie externe d'*Helix aspersa* se compose principalement du corps mou de l'animal, protégé par une coquille calcaire, chacun présentant des caractéristiques morphologiques spécifiques :

3.2.1.1. Le corps

Le corps de l'escargot *Helix aspersa*, à la fois tendre et fragile, est protégé par une coquille robuste. Cette dernière se forme grâce à un repli de la peau appelé manteau, qui sécrète la coquille et délimite une cavité palléale. Cette cavité communique avec l'extérieur et abrite plusieurs orifices essentiels : les ouvertures du système digestif, les pores d'excrétion, les orifices génitaux, ainsi que le poumon, permettant les échanges respiratoires (**Heusser et Dupuy, 2011**) (**Figure 6**).

L'anatomie externe comprend également :

- **Une tête** située à l'avant, portant les organes sensoriels et les centres nerveux.
- **Une bouche** ventrale, dotée d'une radula, structure chitineuse servant à râper les aliments.
- **Un pied** musclé, organe de locomotion sur lequel repose l'animal.
- **Une masse viscérale** dorsale, contenant la plupart des organes internes (**Figure 6**).

Bien que le cœlome soit réduit chez les gastéropodes, il persiste sous trois formes principales :

- Le **cardiocœle**, entourant le cœur.
- Le **néphrocœle**, lié au rein.
- Le **gonocœle**, entourant la gonade.

3.2.1.2. La coquille

La coquille d'*Helix aspersa* est une structure calcaire en spirale, servant de protection au corps. Elle présente une forme arrondie, mesurant entre 25 et 35 mm de hauteur et 25 à 40 mm de diamètre, avec environ 4,5 à 5 spires. Elle se distingue par ses lignes de croissance irrégulières et sa coloration variant du brun clair au brun foncé, souvent ornée de cinq bandes tachetées (**Annegret, 2010**).

Cette coquille est :

- Univalve (d'une seule pièce), enroulée de manière dextre (dans le sens des aiguilles d'une montre).
- Enroulée autour d'un axe creux central appelé columelle, sur lequel s'attache le muscle columellaire. Ce muscle permet à l'escargot de rétracter son pied à l'intérieur de la coquille pour se protéger en cas de danger.
- Constituée d'un apex (sommet de l'enroulement) et d'un ombilic, orifice inférieur partiellement visible entouré par le dernier tour (**Boue & Chanton, 1978**).

Selon **Heusser et Dupuy (2011)**, la coquille comprend trois couches distinctes :

- **Le périostracum** : couche externe organique et résistante, faite de conchyoline tannée, produite par le bord externe du manteau.
- **L'ostracum** : couche intermédiaire, épaisse, composée de prismes en surface et de lamelles entrecroisées en profondeur, contenant du carbonate de calcium dans une matrice de conchyoline.

- **L'hypostracum** : couche interne plus fine, à l'aspect nacré ou porcelaine, sécrétée par l'ensemble du manteau.

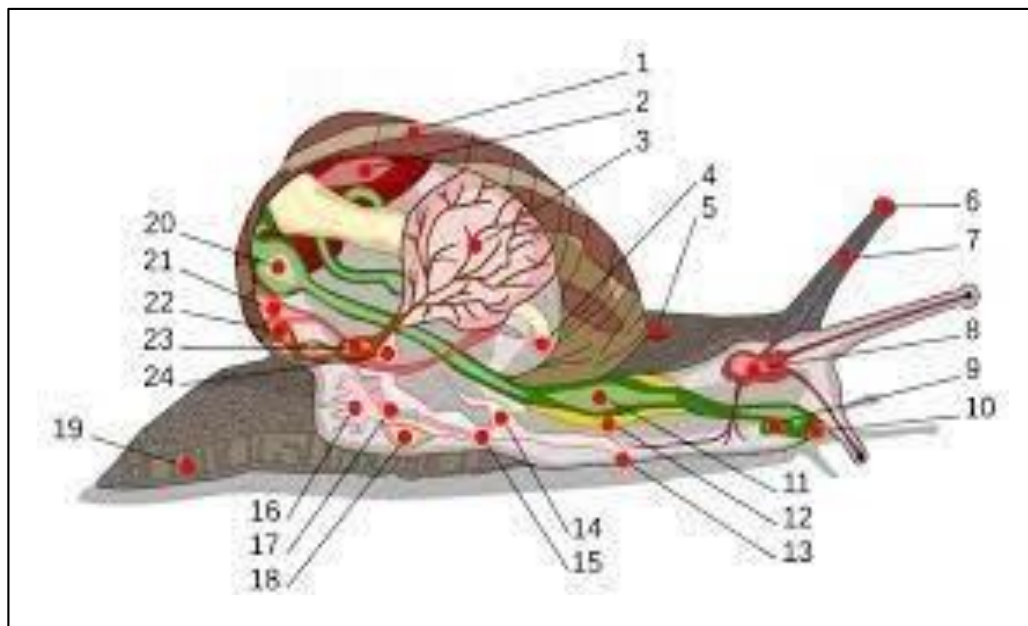


Figure 6 : Schéma en coupe de l'anatomie d'un escargot (Quibik, 2007).

1: Coquille. **2:** Foie. **3:** Poumon. **4:** Anus. **5:** Pore respiratoire. **6:** Œil. **7:** Tentacule. **8:** Cerveau. **9:** Conduit salivaire. **10:** Bouche. **11:** Panse. **12:** Glande salivaire. **13:** Orifice génital. **14:** Pénis. **15:** Vagin. **16:** Glande muqueuse. **17:** Oviducte. **18:** Sac de dards. **19:** Pied. **20:** Estomac. **21:** Rein. **22:** Manteau. **23:** Cœur. **24:** Canal déférent.

3.2.2. Anatomie interne

3.2.2.1. Le système nerveux

Bien que plus simple que celui des vertébrés, est étonnamment efficace pour répondre aux besoins physiologiques et comportementaux de ce mollusque gastéropode. Il se divise en deux grandes parties, chacune ayant des fonctions essentielles :

Le système stomatogastrique, aussi connu sous le nom de système sympathique, est chargé de l'innervation du tube digestif et joue un rôle clé dans la régulation des processus digestifs. Au centre de ce système, on trouve une paire de petits ganglions buccaux, situés juste en dessous du bulbe buccal, qui fonctionnent comme un centre de contrôle local. Ces ganglions sont reliés par deux cordons nerveux fins, formant un réseau qui transmet les signaux nécessaires pour que l'appareil digestif fonctionne harmonieusement (Rousslet, 1979).

D'autre part, le système nerveux central est le noyau de coordination des activités de l'escargot, intégrant perception, mouvement et fonctions viscérales. Il est constitué des ganglions cérébroïdes, qui traitent les informations sensorielles, des ganglions pédieux, qui

contrôlent la locomotion, et du système viscéral, qui régule les organes internes. Cette structure centralisée, bien que compacte, permet à l'escargot de réagir avec précision aux stimuli externes et de maintenir une cohérence fonctionnelle dans ses comportements (**Rousslet, 1979**).

3.2.2.2. L'appareil respiratoire

Le poumon se trouve en position dorsale et antérieure par rapport à la masse viscérale. Cette dernière est délimitée en haut par un repli de l'épiderme et en bas par l'enveloppe de la masse viscérale. L'espace ainsi créé forme la cavité pulmonaire, qui s'ouvre vers l'extérieur par un orifice antérieur connu sous le nom de pneumostome (**Heusser & Dupuy, 2011**).

3.2.2.3. L'appareil digestif

Chez *Helix aspersa*, l'appareil digestif s'étend de la bouche jusqu'à l'anus et comprend la cavité buccale, le pharynx, l'œsophage, l'estomac, l'intestin et le rectum (**Grassé, 1968**). À l'avant, le complexe buccal regroupe la mâchoire dorsale, qui broie les aliments, la radula dentée, soutenue par l'odontophore, qui râpe les aliments par des mouvements de va-et-vient, et le stomodéum, un ensemble musculaire muni de récepteurs chimiques sensibles à la composition des aliments (**Heusser & Dupuy, 2011**). L'estomac reçoit les enzymes digestives via les canaux d'un organe clé : l'hépatopancréas. Cet organe volumineux, formé de deux lobes reliés au mésentéron, est constitué de nombreux tubules tapissés d'un épithélium simple abritant des cellules sécrétrices (enzymes digestives), absorbantes (digestion intracellulaire) et indifférenciées (renouvellement cellulaire). Sa ciliature favorise le transport des particules alimentaires et l'élimination des résidus, assurant une digestion combinée extracellulaire et intracellulaire. L'hépatopancréas joue ainsi un rôle central dans l'assimilation des nutriments et le maintien de l'équilibre physiologique de l'escargot (**Heusser & Dupuy, 2010**).

3.2.2.4. Le système circulatoire

Il est constitué d'un cœur situé dans une cavité péricardique, qui se divise en deux parties : une oreillette qui reçoit le sang des organes, et un ventricule qui le propulse à travers le corps. Le ventricule alimente deux artères principales : l'aorte antérieure, chargé d'irriguer le pied et la tête, et l'aorte postérieure, qui assure l'irrigation des organes internes dans la masse viscérale. Ces artères se ramifient ensuite en un réseau secondaire, garantissant l'apport en oxygène et en nutriments à tout le corps (**Rousslet, 1979**). Le sang retourne au cœur par un système de veines et de sinus veineux. Il se réoxygène au niveau des surfaces respiratoires, notamment le manteau, avant de revenir dans l'oreillette. Bien que ce système soit moins

complexe que celui des vertébrés, il est parfaitement adapté au mode de vie et aux besoins métaboliques de l'escargot (**Rousslet, 1979**).

3.3. Croissance

La croissance de l'escargot se déroule en quatre étapes bien distinctes, qui sont déterminées par le poids corporel, le niveau de différenciation sexuelle et le développement de leur système reproducteur (**Gomot, 1997**) :

- **Phase infantile** : à ce stade, le tractus génital est indifférencié. Cela concerne les jeunes escargots qui pèsent entre 0,02 et 0,6 gramme.

- **Phase juvénile** : à ce stade, l'organisation du tractus génital devient progressivement visible et l'activité gamétogénique débute. Les escargots présentent alors un poids compris entre 0,6 et 6,0 grammes.

- **Phase de maturation sexuelle (pré-adulte)** : durant cette phase, les glandes annexes femelles commencent à se développer. Cela concerne les escargots pesant plus de 6 grammes, qui ne sont pas encore bordés, c'est-à-dire que leur péristome n'a pas encore épaissi.

- **Phase adulte** : à ce stade, la croissance s'arrête. Les escargots sont maintenant bordés, ce qui indique qu'ils sont prêts à se reproduire. Leur poids varie généralement entre 6 et 14 grammes. La croissance naturelle jusqu'à l'âge adulte prend environ deux ans. Les escargots atteignent leur maturité sexuelle durant leur deuxième ou troisième été après leur naissance. Ce processus de croissance n'est pas continu, il est rythmé par des périodes d'estivation et d'hibernation (**Chevallier, 1992**).

De plus, plusieurs facteurs environnementaux influencent cette croissance : la température, l'humidité, la photopériode, l'intensité lumineuse, ainsi que la qualité du sol et de l'alimentation (**Gomot, 1997**). Dans la nature, la durée de vie moyenne d'un escargot est estimée entre 6 et 7 ans (**Gomot & Gomot, 1995**).

3.4. Reproduction

L'escargot *Helix aspersa* est un animal hermaphrodite, ce qui signifie qu'il possède à la fois des organes reproducteurs mâles et femelles. Il dispose d'une gonade unique, appelée

ovotestis, qui se trouve à l'extrémité postérieure de l'hépatopancréas, où les ovules et les spermatozoïdes sont produits (**Aupinel et al., 1990**). Le système reproducteur se compose de :

- un canal hermaphrodite pour l'évacuation des gamètes.
- une glande albumineuse, qui fournit les nutriments nécessaires aux œufs ;
- un ovispermiducte, un canal mixte pour le transport des spermatozoïdes et des ovules.

Ce système se divise ensuite en deux voies :

La voie mâle, composée du spermiducte, d'un long flagelle et du pénis, assure la formation et l'émission des spermatophores (**Aupinel et al., 1990**).

La voie femelle, comprenant le vagin, la poche du dard, l'oviducte et la spermathèque, permet la réception et le stockage des spermatozoïdes (**Aupinel et al., 1990 ; Pople et Tribune, 2002**).

Avant la copulation, les escargots réalisent une cour nuptiale qui peut durer entre 2 et 12 heures (**Flari et Edwards, 2003**). Pendant cette phase, un dard calcaire est projeté par une poche musculaire située près de la tête. Ce dard, en se plantant dans le partenaire, injecte un mucus qui augmente les chances de survie des spermatozoïdes en provoquant une contraction temporaire de l'appareil reproducteur du récepteur (**Pople et Tribune, 2002**). Les deux partenaires extrudent ensuite leurs organes reproducteurs (près du tentacule droit) et échangent leurs spermatozoïdes sous forme de spermatophores (**Figure 7**). Ces spermatozoïdes peuvent rester dans la spermathèque pendant plusieurs mois, prêts à être utilisés pour la fécondation plus tard (**Aupinel et al., 1990**)

Un escargot peut pondre jusqu'à 100 œufs chaque mois, qu'il enterre à une profondeur de 5 à 10 cm dans un sol tiède et humide (**Aupinel et al., 1990**). Les œufs, d'environ 3 mm de diamètre, éclosent après 2 à 4 semaines. En général, ils atteignent leur maturité en deux ans, mais dans des conditions de laboratoire, certains peuvent y arriver en seulement 6 à 8 mois (**Flari et Edwards, 2003**).



Figure 7 : Reproduction de l'escargot *Helix aspersa* (Accouplement de deux partenaires) (Buron-Mousseau, 2014).

3.5. Rythme d'activité

Chez les escargots, le rythme d'activité est étroitement influencé par la photopériode et les conditions climatiques. Dans des conditions optimales (température nocturne ≥ 9 °C et humidité ≥ 80 %), ils deviennent généralement actifs au crépuscule, et cette phase, qui dure environ six heures, est principalement consacrée à l'alimentation et aux déplacements. La phase d'inactivité est relative à une durée inférieure à 18 heures, durant laquelle l'escargot est au repos et ne manifeste que peu d'activité locomotrice, sexuelle et alimentaire (Chevalier, 1992 ; Agro-Service, 2004).

En tant qu'animaux poïkilothermes, les escargots adaptent leur métabolisme aux variations de température. Leur rythme biologique suit les cycles saisonniers, s'ajustant aux fluctuations de lumière et de climat. Pour survivre aux conditions extrêmes, ils ont développé deux stratégies majeures : l'estivation et l'hibernation.

- L'estivation se produit en été, lorsque les températures deviennent élevées et que l'air devient sec. Pour limiter la perte d'eau et réduire leur métabolisme, les escargots se réfugient dans des lieux ombragés, se fixent à des surfaces et cessent leur activité. Ils produisent alors un épiphragme, une mince membrane calcaire ou muqueuse qui obstrue l'ouverture de la coquille. Cet épiphragme joue un rôle crucial dans la rétention de l'humidité interne et la protection contre la chaleur (Pirame, 2003).
- L'hibernation, quant à elle, intervient en hiver lorsque les températures chutent. Les escargots s'enfouissent dans le sol ou sous la litière végétale, où ils entrent dans un état

de dormance prolongée. Là encore, l'épiphragme est formé, mais il est souvent plus épais que celui de l'estivation, assurant une meilleure isolation contre le froid. Durant ces périodes, les fonctions physiologiques sont considérablement ralenties pour économiser l'énergie jusqu'au retour des conditions favorables (**Pirame, 2003**).

3.6. Intérêt de l'utilisation de l'escargot *Helix aspersa* en écotoxicologie

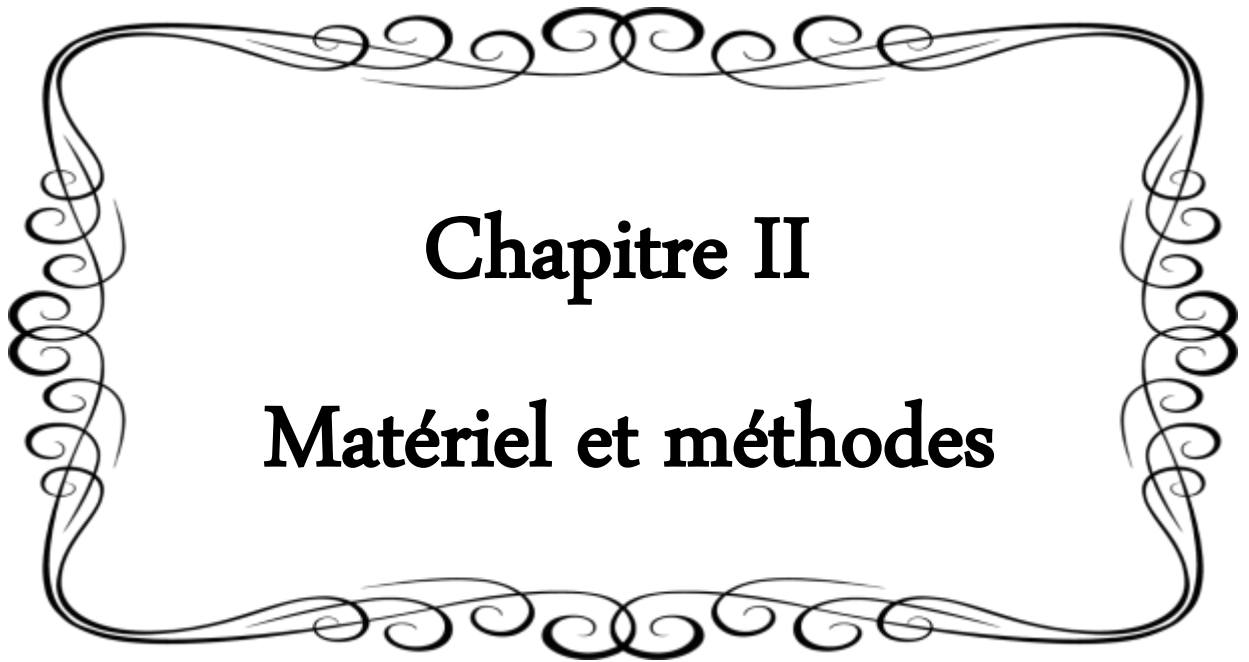
L'escargot *Helix aspersa*, mollusque terrestre largement répandu, est aujourd'hui considéré comme un excellent indicateur biologique pour les études écotoxicologiques. En tant qu'espèce sentinelle, ses caractéristiques biologiques, écologiques et physiologiques permettent d'évaluer de manière fiable l'état des milieux naturels soumis à des pressions anthropiques (**Cœurdaissier et al., 2001 ; Beeby et Richmond., 2002 ; Bairi, et al., 2018 ; Abdel-Halim et al., 2021**).

Selon les critères définis par **Hopkin (1993)** et **Edwards et al. (1996)**, l'utilisation d'un bioindicateur efficace repose sur plusieurs exigences fondamentales qu'*Helix aspersa* remplit largement :

- Cet escargot joue un rôle actif dans les processus de décomposition de la matière organique et dans les cycles des éléments nutritifs. Sa place dans la chaîne trophique et son interaction avec le sol en font un témoin sensible des altérations environnementales (**Bairi, et al., 2018**).
- *H. aspersa* présente une grande fidélité à son habitat, ce qui permet de relier directement les niveaux de contaminants à une zone géographique précise. De plus, sa large répartition géographique en Europe et dans d'autres régions facilite son utilisation comparée entre différents sites (**Bairi, et al., 2018**).
- Facilement reconnaissable et accessible, il peut être collecté sans difficulté dans de nombreux habitats, ce qui réduit les biais liés au prélèvement (**Bairi, et al., 2018**).
- L'espèce est capable d'absorber et de concentrer dans ses tissus divers contaminants (métaux lourds, pesticides, etc.), notamment via son alimentation et son contact avec le sol. Cette propriété permet une évaluation cumulative de la pollution (**Abdel-Halim et al., 2021**).
- *Helix aspersa* peut survivre dans des environnements pollués, sans altération immédiate de ses fonctions vitales, ce qui permet de le suivre même en conditions de stress environnemental élevé (**Grara et al., 2012**).

- Son cycle de vie, sa reproduction, son métabolisme ainsi que ses réponses physiologiques aux polluants sont bien documentés, ce qui permet une interprétation fiable des données expérimentales (**Abdel-Halim et al., 2021**).

Grâce à cette combinaison de caractéristiques, *Helix aspersa* constitue un modèle de choix pour les études en écotoxicologie, tant en conditions de laboratoire qu'en milieu naturel. Il est utilisé pour évaluer l'impact de divers contaminants sur la santé des écosystèmes terrestres, notamment dans les sols agricoles ou les zones industrielles exposées (**Cœurdassier et al., 2001 ; Beeby et Richmond., 2002 ; Bairi, et al., 2018 ; Abdel-Halim et al., 2021**).



Chapitre II
Matériel et méthodes

Notre étude a été réalisée au niveau du département des Sciences Biologiques de l'Université de Bordj Bou Arreridj.

1. Matériel biologique

Dans le cadre de notre étude, nous avons choisi l'espèce *Helix aspersa* (**Figure 8**), dont la classification systématiquement est la suivante, selon **Bonnet & Vrillon (1990)** :

Règne : Animalia

Embranchement : Mollusca

Classe : Gastropoda

Ordre : Stylommatophora

Famille : Helicidae

Genre : *Helix*

Espèce : *aspersa*

Sous-espèce : *aspersa*



Figure 8 : L'escargot *Helix aspersa* (Photo personnelle).

2. Matériel chimique

Les nanoparticules d'oxyde de fer (Fe_2O_3) utilisées dans cette étude ont été fournies par le Laboratoire de Chimie des Matériaux de l'Université Badji Mokhtar Annaba. Elles ont une taille moyenne de 30 nm (**Figure 9**).

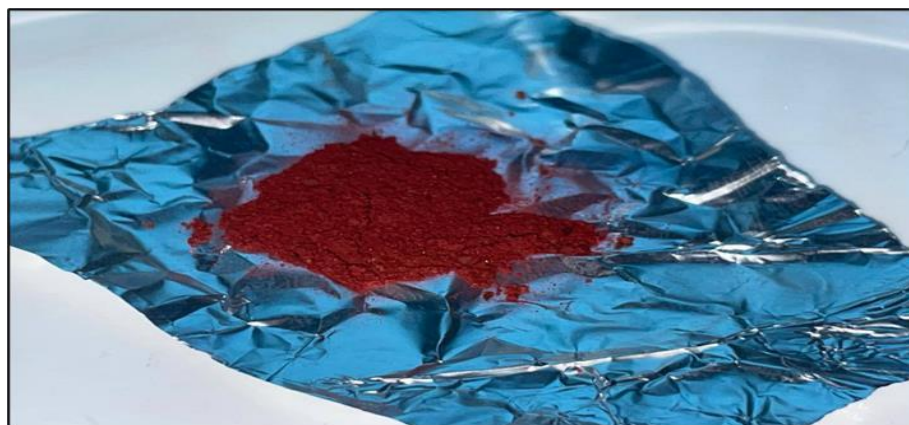


Figure 9 : Les nanoparticules d'oxyde de fer (Fe_2O_3) (Photo personnelle).

3. Méthodes

3.1. Condition d'élevage

Les escargots utilisés dans ce travail ont été collectés dans la région de Djaafra, wilaya de Bordj Bou Arreridj, puis transférés au laboratoire. Ils ont été maintenus dans des conditions environnementales optimales, avec une photopériode de 12 heures de lumière par cycle de 24 heures et une température de 20 ± 2 °C, conformément à **Coeurdassier et al. (2001)**.

Les escargots ont été placés dans des boîtes en plastique transparentes dotées de couvercles perforés pour garantir une aération adéquate et nourris quotidiennement avec des feuilles de laitue fraîches. L'humidité a été maintenue grâce à une éponge humidifiée, et les boîtes ont été nettoyées tous les deux jours (**Figure 10**). Après une période d'acclimatation de 15 jours aux conditions du laboratoire, les escargots ont été triés selon leur poids, puis soumis à une exposition aux nanoparticules de Fe_2O_3 .



Figure 10 : Elevage des escargots au sein du laboratoire (**Photo personnelle**).

3.2. Mode de traitement

Les expérimentations ont été menées dans des conditions environnementales identiques à celles de l'élevage. 40 escargots subadultes, d'un poids moyen compris entre 5 et 6 g, ont été sélectionnés et répartis en quatre groupes de 10 individus chacun. Trois concentrations de nanoparticules de Fe_2O_3 ont été utilisées : 100, 1000 et 5000 mg/L (**Figure 11**).

Une exposition topique quotidienne a été réalisée pendant 14 jours, conformément à la méthode décrite par **Belhaouchet et al. (2012)** et **Abdel-Halim et al. (2021)**. Un volume de 60

μL de solution de nanoparticules a été appliqué délicatement à l'aide d'une micropipette, directement sur la surface du corps de l'escargot et à l'intérieur de la coquille. Les escargots du groupe témoin ont reçu la même quantité d'eau distillée (**Figure 12**). Pendant toute la durée du traitement, les escargots ont été nourris quotidiennement avec des feuilles de laitue fraîches, et les boîtes ont été nettoyées tous les deux jours.

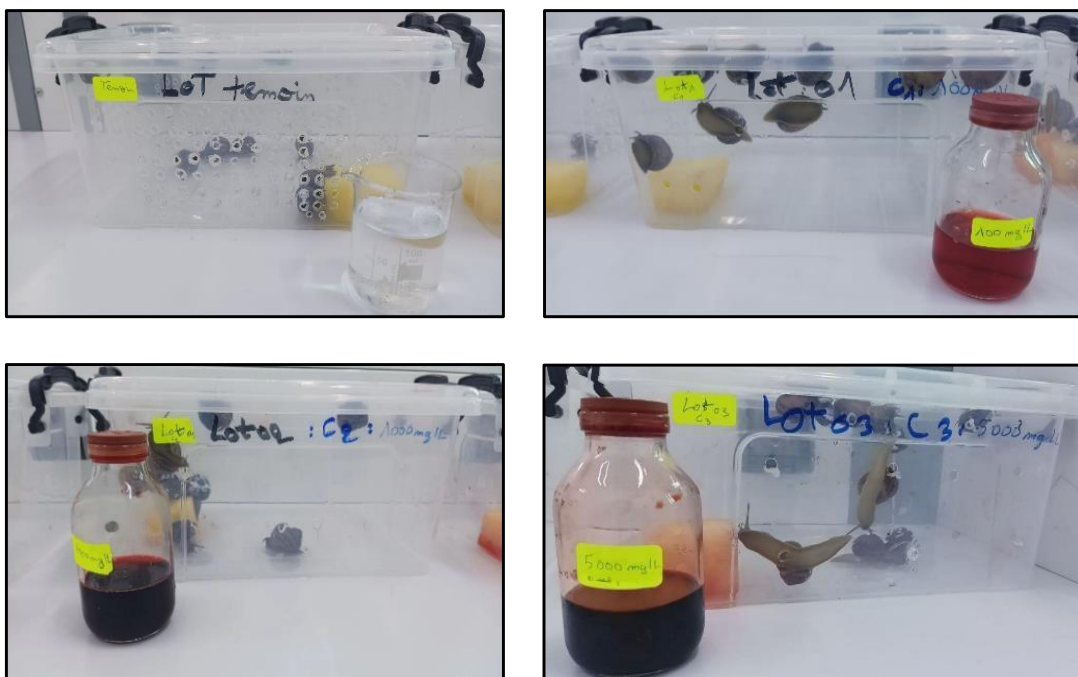


Figure 11 : Lot témoin et lots traités avec les trois concentrations de nanoparticules utilisées dans l'expérimentation (**Photo personnelle**).

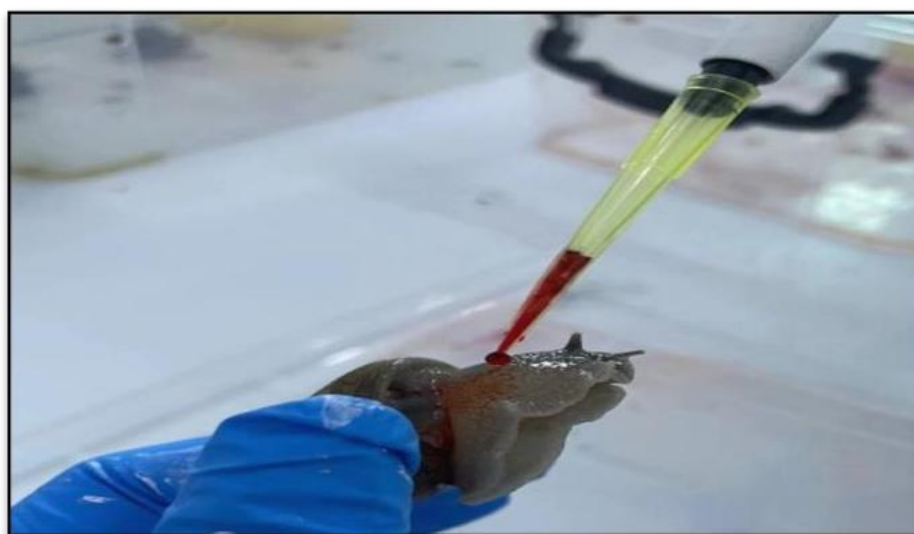


Figure 12 : Application topique des solutions de nanoparticules de Fe_2O_3 sur les escargots *Helix aspersa* (**Photo personnelle**).

3.3. Prélèvement et conservation de l'hémolymphe

3.3.1. Prélèvement de l'hémolymphe

Après 14 jours d'exposition aux nanoparticules de Fe_2O_3 , un prélèvement de l'hémolymphe a été effectué. Après avoir nettoyé la coquille à l'eau distillée, une ouverture a été pratiquée sur le côté postérieur gauche de la coquille afin d'accéder au vaisseau antérieur, situé à proximité du cœur (**Figure 13**). L'hémolymphe a ensuite été prélevée à l'aide d'une seringue stérile, selon la méthode décrite par **Letellier (2010)**. Environ 200 μL d'hémolymphe ont été collectés par escargot (**Figure 14**). Le prélèvement a été immédiatement transféré dans des tubes Eppendorf contenant une solution anticoagulante (EDTA, 1,5 mg/mL).



Figure 13 : Accès au vaisseau antérieur situé à proximité du cœur chez *Helix aspersa*, selon la méthode de **Letellier (2010)**.

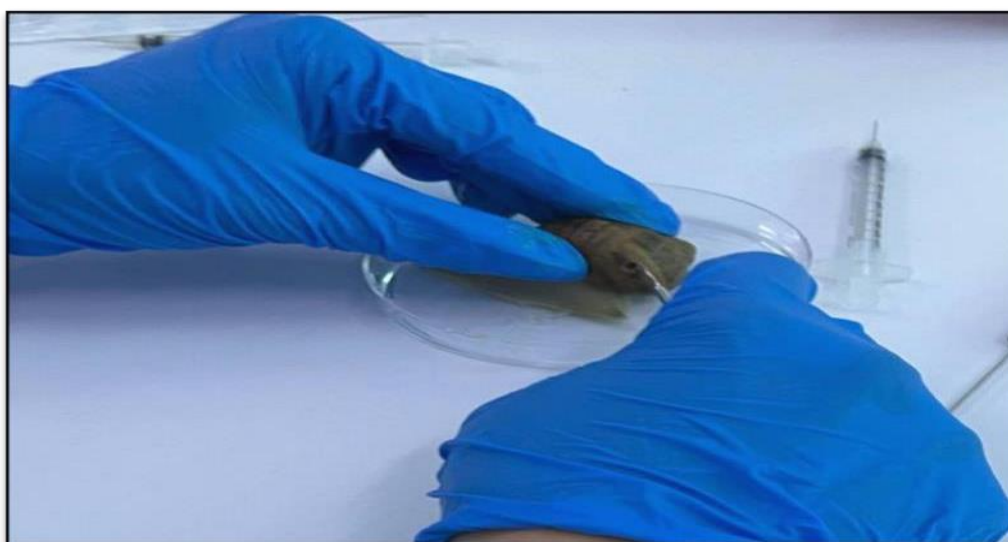


Figure 14 : Prélèvement de l'hémolymphe chez *Helix aspersa* par ouverture du côté postérieur gauche de la coquille (**Photo personnelle**).

3.3.2. Centrifugation de l'hémolymphe et conservation des hémocytes

Après le prélèvement, l'hémolymphe a été centrifugée à 4000 g pendant 30 minutes à 4 °C. Le culot cellulaire (hémocytes) a été récupéré, homogénéisé, puis réparti équitablement dans des tubes Eppendorf contenant chacun 1 mL de tampon de conservation. Ces échantillons, destinés au dosage des biomarqueurs de stress oxydatif (GSH et CAT), ont ensuite été congelés afin d'assurer une conservation optimale.

3.4. Dissection et prélèvement des organes

Après le prélèvement de l'hémolymphe, les escargots ont été soumis à un jeûne de 48 h afin de vider leur tube digestif. Ils ont ensuite été sacrifiés par congélation, puis disséqués (**Figure 15**). Les organes suivants ont été prélevés : l'hépatopancréas, le rein et la glande albumen (**Figure 16**).

L'hépatopancréas et le rein ont été divisés en deux fragments :

- Un fragment destiné au dosage du glutathion réduit (GSH).
- Un fragment utilisé pour mesurer l'activité catalase (CAT).

Les glandes albumen, quant à elles, ont été entièrement utilisées pour le dosage des protéines albuminiques (vitellogénines).

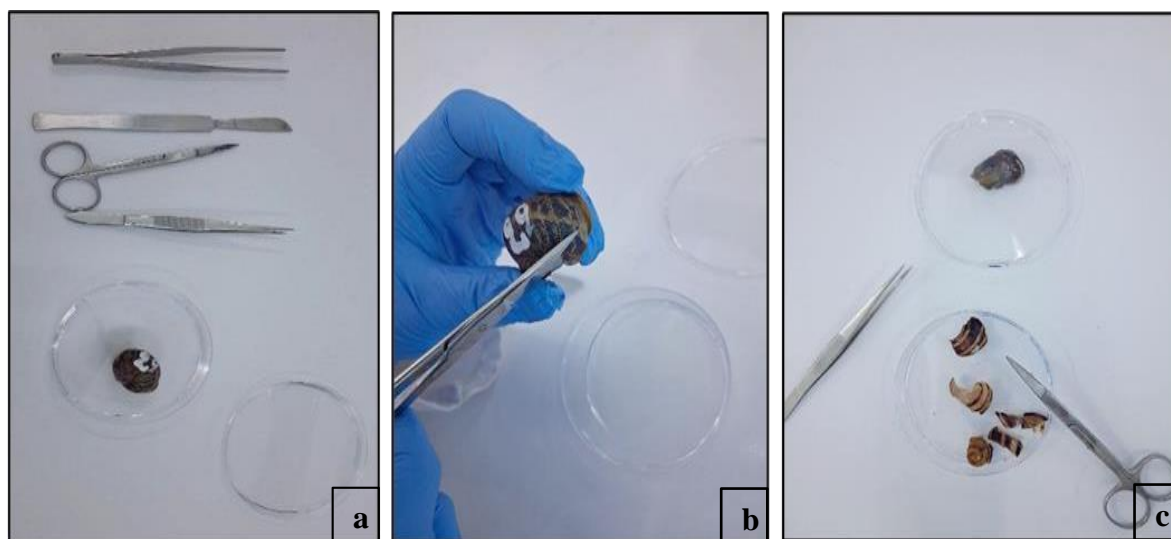


Figure 15 : Étapes de la dissection d'*Helix aspersa* (**Photo personnelle**). **(a)** Matériel utilisé pour la dissection : pincettes, ciseaux, scalpel et boîtes de pétri ; **(b)** Ouverture de la coquille de l'escargot à l'aide de ciseaux ; **(c)** Extraction et séparation des organes internes dans une boîte de pétri.

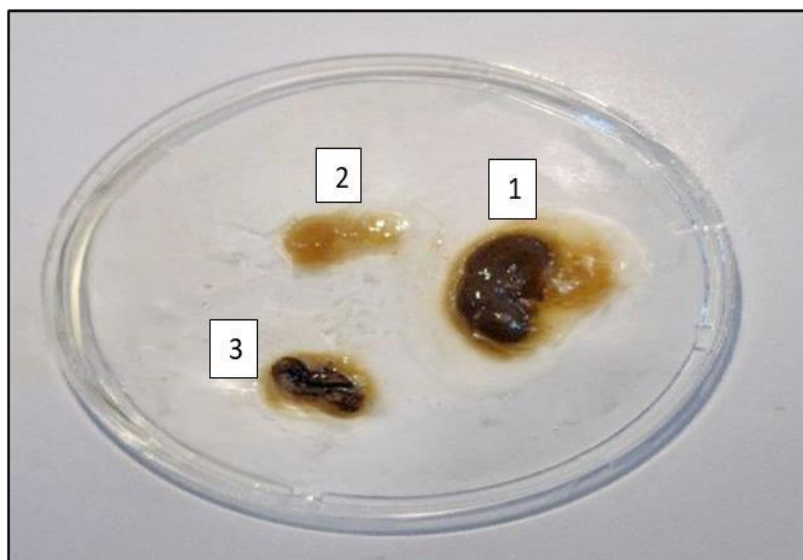


Figure 16 : Organes isolés d'*Helix aspersa* (photo personnelle). (1) l'hépatopancréas ; (2) la glande albumen ; (3) le rein.

4. Paramètres étudiés

4.1. Dosage des paramètres du stress oxydatif

4.1.1. Dosage du taux de glutathion (GSH)

Le dosage du glutathion (GSH) est réalisé selon la méthode décrite par **Weckbecker et Cory (1988)**, reposant sur une mesure colorimétrique de l'acide 2-nitro-5-mercapturique. Ce composé résulte de la réduction de l'acide 5,5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) par les groupements thiol (-SH) du glutathion.

1 ml d'éthylène diamine tétra-acétique (EDTA) à 0,02 M est ajouté aux échantillons. Après avoir homogénéisé le tout dans un bain de glace, on déprotéinise l'homogénat en mélangeant 0,8 ml d'homogénat avec 0,2 ml d'acide sulfosalicylique (ASS) à 0,25 %. Ce mélange est ensuite agité au vortex, puis centrifugé à 1000 rpm pendant 5 minutes. À 500 µl du surnageant, on ajoute 1 ml de tampon Tris/EDTA et 25 µl de DTNB (0,01 M). Les absorbances sont mesurées à 412 nm après une incubation de 5 minutes à température ambiante pour stabiliser la couleur. La concentration du glutathion est ensuite déterminée à l'aide de la formule suivante :

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

DO : Densité optique

1 : volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation (0,2 ml ASS + 0,8 ml homogénat).

1,525 : volume total des solutions utilisées dans le GSH (0,025 ml DTNB + 0,5 ml surnageant + 1 ml Tris-EDTA).

13,1 : coefficient d'absorbance (concernant le groupement –SH à 412 nm).

0,8 : volume de l'homogénat utilisé en ml.

0,5 : volume de surnageant utilisé en ml.

mg de protéines : quantité de protéines exprimée en mg.

4.1.2. Dosage de l'activité catalase (CAT)

Le dosage de l'activité de la catalase (CAT) est réalisé selon la méthode de **Regoli et Principato (1995)**. Cette méthode mesure la variation de l'absorbance à 240 nm, qui résulte de la décomposition du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) par la catalase.

Pour le dosage, un mélange réactionnel est préparé contenant 750 µL de tampon phosphate (100 mM, pH 7,5), 200 µL de H₂O₂ (500 mM) et 50 µL d'homogénat, à une température d'incubation de 25 °C. L'absorbance est mesurée pendant 1 minute, avec un intervalle de lecture toutes les 15 secondes.

L'activité de la catalase est exprimée en µmol de H₂O₂ dégradé par minute et par mg de protéines, et calculée à l'aide de la formule suivante :

$$\text{Activité CAT } (\mu\text{g/min/mg de protéines}) = \frac{\Delta \text{DO}}{\varepsilon \times L \times \text{mg de protéine}}$$

CAT : µ moles de H₂O₂ consommées par minute et par mg de protéines.

ε : coefficient d'extinction (0,040 mM⁻¹. cm¹).

L : longueur de la cuve utilisée (1cm).

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

mg de protéines : quantité de protéines exprimée en mg.

4.1.3. Dosage des protéines albuminiques (vitéllogénines)

Selon la méthode de **Fabre et al. (1990)**, le dosage des protéines albuminiques (vitéllogénines) a été réalisé comme suit :

1. Les glandes albumen ont été placées dans un tube Eppendorf contenant 500 µl de tampon Tris-HCl-NaCl (pH 7,4).
2. Les échantillons ont été broyés dans un bain de glace.

3. L'homogénat a été centrifugé à 5000 tours/min pendant 10 minutes, ce qui a permis la séparation de trois phases distinctes :
 - une couche surnageante contenant principalement les lipides,
 - un culot riche en glycoprotéines,
 - et une couche intermédiaire renfermant les vitéllogénines.
4. Cette dernière a été prélevée à l'aide d'une seringue, puis transférée dans un nouveau tube Eppendorf.
5. Pour le dosage, 100 μ l de cette fraction ont été mélangés avec 4 ml du réactif Bleu Brillant de Coomassie G-250 (BBC). Après 5 minutes d'incubation à l'obscurité, l'absorbance a été mesurée à 595 nm.

4. Analyse statistique

Les résultats obtenus ont fait l'objet d'une analyse statistique grâce au logiciel Minitab (Version 14.0). Les moyennes des groupes témoins et traités ont été comparées deux à deux en utilisant le test t de Student. Les différences sont considérées comme significatives lorsque $p \leq 0,05$ (*); hautement significatives lorsque $p \leq 0,01$ (**), et très hautement significatives lorsque $p \leq 0,001$ (***) (Dagnelie, 1999).



Chapitre III

Résultats

1. Effets des nanoparticules de d'oxyde de fer (Fe_2O_3) sur les biomarqueurs de stress chez *Helix aspersa*

1.1. Effet des nanoparticules de Fe_2O_3 sur le taux de GSH

La **figure (17)** illustre l'évolution des niveaux de GSH dans l'hépatopancréas, le rein et le lysat hémostytaire d'*Helix aspersa* en réponse à des concentrations croissantes de nanoparticules d'oxyde de fer.

Les résultats révèlent une diminution marquée et dose-dépendante des niveaux de GSH dans les trois matrices biologiques analysées. Cette déplétion est hautement significative ($p \leq 0,01$) chez les escargots exposés aux deux plus fortes concentrations, notamment au niveau de l'hépatopancréas et du rein.

Ainsi, la teneur en GSH hépatopancréatique, qui est de 6,098 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ de protéines chez les témoins, chute à 2,177 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ et 0,483 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ chez les individus exposés aux concentrations de 1000 et 5000 mg/L, correspondant à des diminutions respectives d'environ 64 % et 92 %.

Concernant le GSH rénal, une baisse significative est également observée. Les niveaux passent de 5,373 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ chez les témoins à 1,428 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ à 1000 mg/L, puis à 0,637 $\mu\text{mol}/\text{mg}$ à 5000 mg/L.

En revanche, les diminutions observées dans le lysat hémostytaire ne sont pas statistiquement significatives ($p > 0,05$).

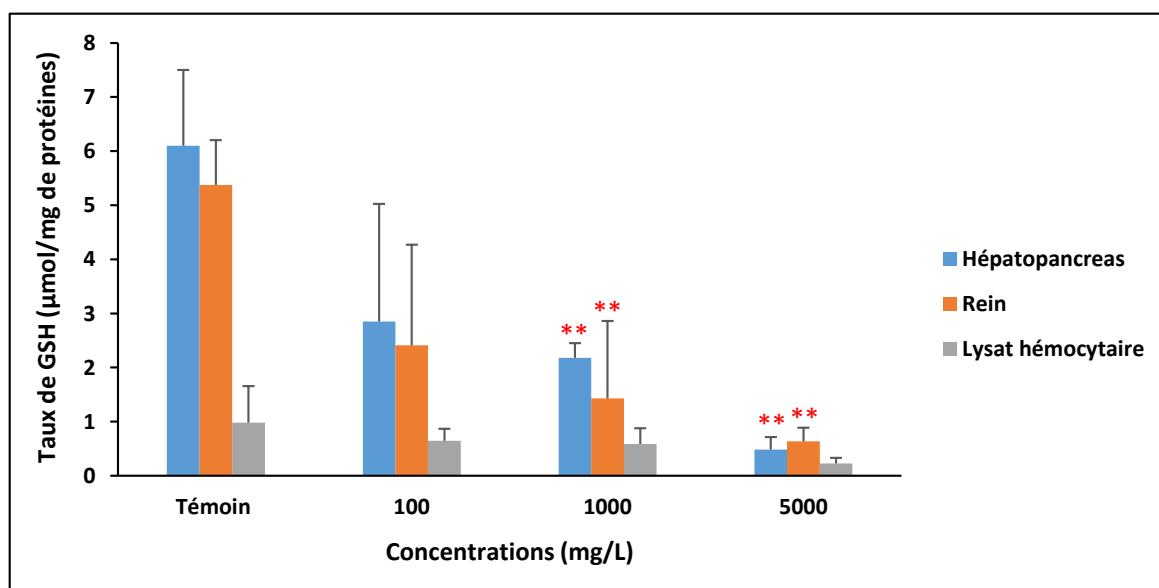


Figure 17 : Effet des nanoparticules de Fe_2O_3 sur le taux de GSH au niveau de l'hépatopancréas, du rein et du lysat hémostytaire des escargots *Helix aspersa* ($m \pm SD$; $n=3$).

1.2. Effet des nanoparticules de Fe₂O₃ sur l'activité CAT

Les résultats concernant la variation de l'activité CAT au niveau de l'hépatopancréas, du rein et du lysat hémoducal des escargots exposés aux nanoparticules de Fe₂O₃ sont illustrés dans la **figure (18)**.

Les résultats montrent une augmentation dose-dépendante de l'activité catalase (CAT) dans les trois matrices biologiques analysées. Des effets significatifs sont observés dès 100 mg/L au niveau de l'hépatopancréas, avec une activité CAT passant de 0,479 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ chez les témoins à 4,820, puis 6,191 et 6,712 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ respectivement aux concentrations de 100, 1000 et 5000 mg/L. Cette augmentation est hautement significative pour les deux plus fortes concentrations ($p \leq 0,01$).

Au niveau rénal, l'activité CAT augmente également de manière significative ($p \leq 0,05$) dès 100 mg/L, avec une valeur de 0,618 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$, contre 0,343 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ chez les témoins. Elle s'amplifie ensuite à 4,140 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ à 1000 mg/L, pour atteindre 5,613 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ à 5000 mg/L, reflétant une hausse hautement significative ($p = 0,028$).

Au niveau du lysat hémoducal, une augmentation significative ($p = 0,05$) de l'activité CAT n'est observée qu'à la concentration la plus élevée (5000 mg/L), avec une valeur de 0,665 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$, contre 0,159 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ chez les témoins.

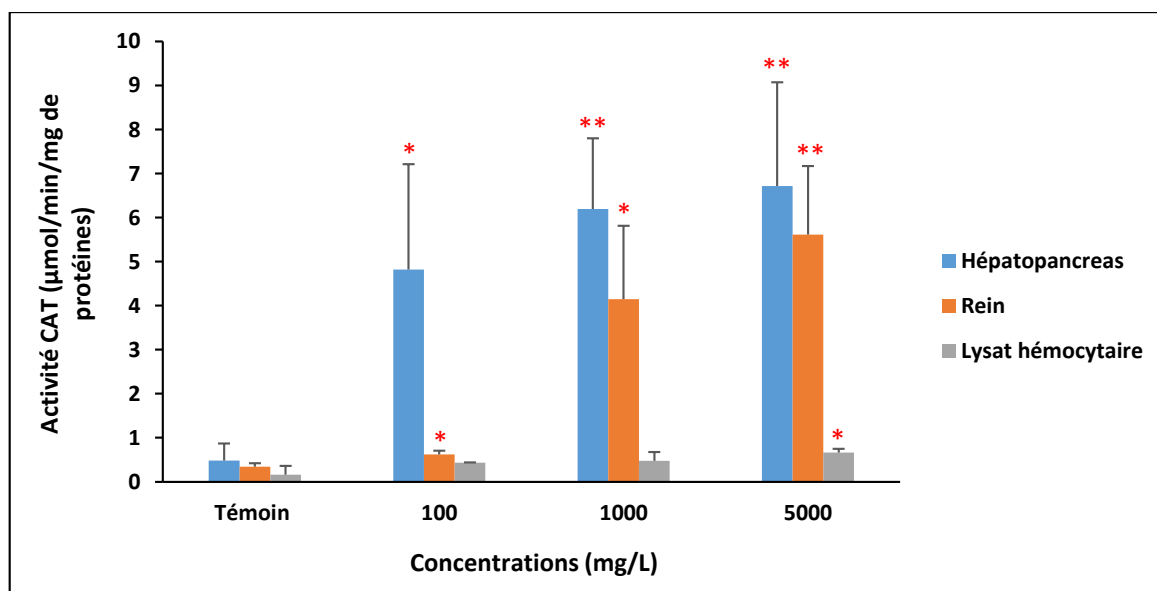


Figure 18 : Variations de l'activité CAT au niveau de l'hépatopancréas, du rein et du lysat hémoducal chez les escargots *Helix aspersa* témoins et exposés aux nanoparticules de Fe₂O₃ ($m \pm SD$; $n = 3$).

2. Effets des nanoparticules de dioxyde de titane (Fe_2O_3) sur le taux des protéines albuminiques

Les résultats relatifs à l'effet des nanoparticules de Fe_2O_3 sur la teneur en protéines albuminiques sont présentés dans la **figure (19)**.

Ils révèlent une réduction progressive du taux de protéines albuminiques chez *Helix aspersa* en fonction des concentrations croissantes de nanoparticules. Chez les individus témoins, le taux moyen des protéines albuminiques est de $103,98 \mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu. Il diminue significativement ($p \leq 0,05$) à $45,964 \mu\text{g}/\text{mg}$ à la concentration de $1000 \text{ mg}/\text{L}$, ce qui représente une réduction d'environ 56 %. Cette diminution s'accroît à $5000 \text{ mg}/\text{L}$, où la teneur atteint $38,725 \mu\text{g}/\text{mg}$, soit une baisse de 62,7 % par rapport au groupe témoin.

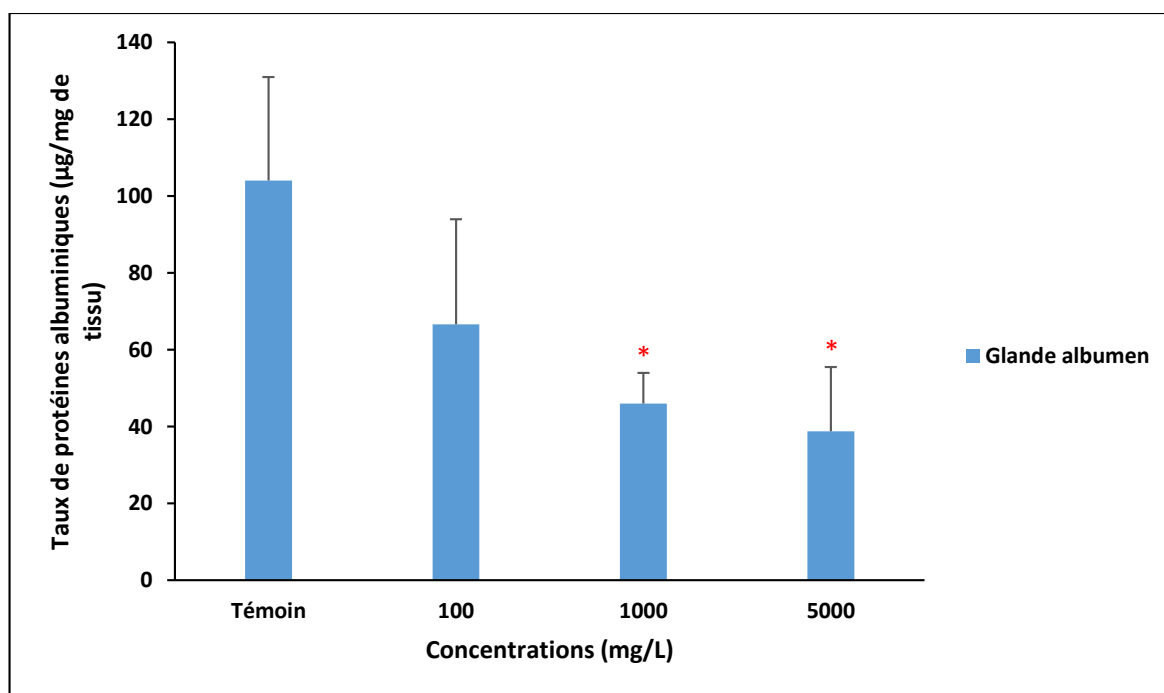
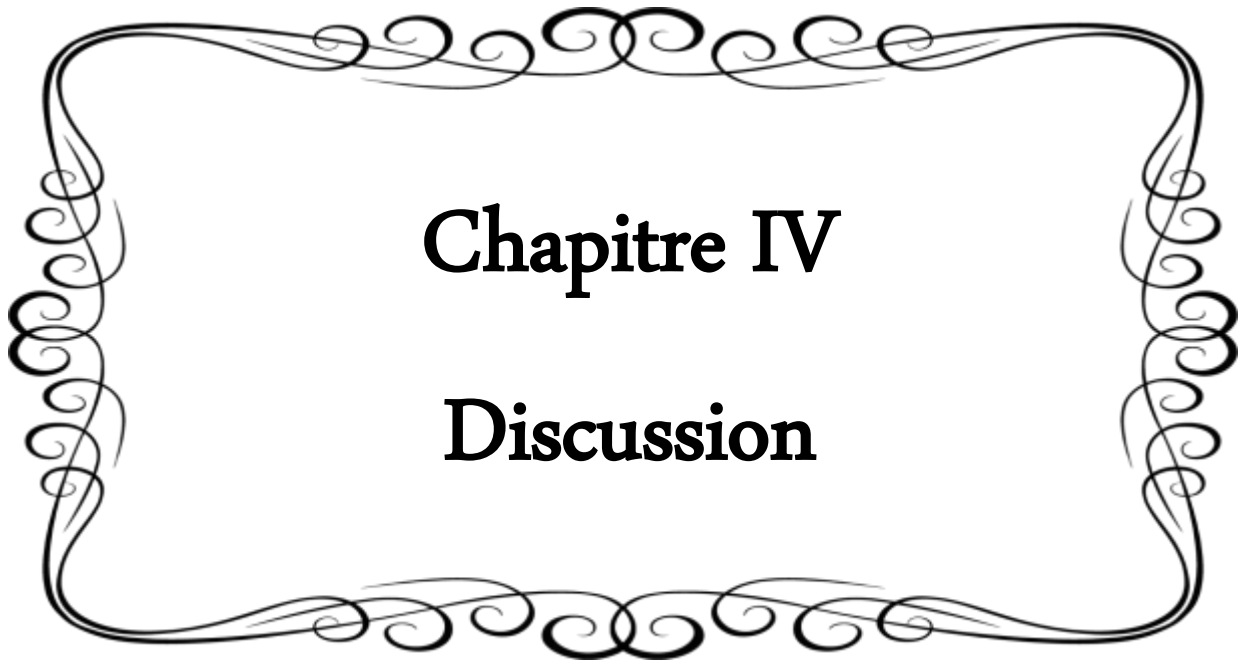


Figure 19 : Effets des nanoparticules d'oxyde de fer (Fe_2O_3) sur le taux des protéines albuminiques chez *Helix aspersa* ($m \pm SD$; $n = 3$).



Chapitre IV

Discussion

Les nanoparticules (NPs), en particulier les métaux ultrafins comme TiO_2 , ZnO ou Fe_2O_3 , sont aujourd'hui reconnues comme des polluants émergents majeurs en raison de leur capacité à induire un stress oxydatif chez les organismes vivants. Celui-ci résulte d'un déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) et les mécanismes de défense antioxydants, menant à des dommages importants sur les lipides, protéines, glucides et acides nucléiques (**El-Demerdash, 2007**). Ce stress oxydatif est généralement provoqué soit par la production excessive de ROS, soit par l'interaction directe des NPs avec les biomolécules, altérant leur structure et leur fonction (**Ma et al., 2013**). De telles altérations peuvent entraîner divers dysfonctionnements cellulaires et tissulaires, constituant ainsi un indicateur clé de la toxicité des NPs (**Khene et al., 2017**).

Compte tenu des effets toxiques étendus des nanoparticules, notamment via la production de ROS et la perturbation des processus cellulaires, il devient indispensable de recourir à des organismes bioindicateurs capables de refléter les déséquilibres physiologiques induits par ces polluants émergents. Parmi eux, les gastéropodes terrestres comme *Helix aspersa* occupent une place privilégiée en écotoxicologie. Leur mode de vie au contact direct du sol, leur faible mobilité et leur aptitude à bioaccumuler divers xénobiotiques, notamment les métaux lourds (**Gomot, 1997**), les pesticides (**Coeurdassier et al., 2001 ; Vidal, 2001**), les hydrocarbures (**Ismart et al., 2002**) et plus récemment les nanoparticules (**Grara et al., 2015 ; Boucenna, 2016**) les rendent particulièrement sensibles aux contaminations environnementales. De plus, leur réponse biologique, notamment via des biomarqueurs du stress oxydatif (**Regoli et al., 2006**), permet de détecter précocement les perturbations physiologiques causées par les nanoparticules métalliques.

C'est dans ce contexte que s'inscrit la présente étude, visant à évaluer les effets des nanoparticules d'oxyde de fer (Fe_2O_3) chez *Helix aspersa* en s'appuyant sur l'analyse de biomarqueurs du stress oxydatif, plus précisément le glutathion (GSH) et l'activité catalase (CAT), ainsi que sur les protéines albuminiques, en particulier la vitellogénine, une glycoprotéine clé dans le processus de reproduction.

Le choix du glutathion comme biomarqueur repose sur son rôle central dans le maintien de l'équilibre redox cellulaire et sa grande sensibilité face aux perturbations oxydatives induites par les xénobiotiques, en particulier les nanoparticules métalliques (**Barillet, 2007 ; Zhao et al., 2013**). Il s'agit du thiol le plus abondant dans le compartiment intracellulaire. Outre son rôle essentiel d'agent réducteur, le glutathion intervient également à un second niveau dans la défense antiradicalaire par son implication dans les réactions de détoxification catalysées par la

glutathion-S-transférase. Grâce à son caractère nucléophile, le GSH se lie aux composés électrophiles, les rendant plus hydrosolubles, ce qui facilite leur élimination. Sa concentration reflète donc fidèlement l'état antioxydant de la cellule, ce qui en fait un indicateur précoce du stress oxydatif (**Barillet, 2007**).

Nos résultats révèlent une réduction importante du taux de GSH dans l'hépatopancréas, le rein et le lysat hémocytaire d'*Helix aspersa* exposé aux nanoparticules de fer (Fe_2O_3). Cette déplétion reflète une mobilisation intensive de ce tripeptide pour neutraliser les espèces réactives de l'oxygène (ROS), conduisant à un déséquilibre du système redox cellulaire caractéristique d'un stress oxydatif. Ce phénomène a été rapporté dans plusieurs études sur d'autres types de nanoparticules métalliques. Par exemple, **Bensaci et al. (2022)** ont montré que les nanoparticules de silice (SiO_2), entraînent une diminution significative du taux de GSH dans l'hépatopancréas et le rein d'*Helix aspersa*, traduisant un stress oxydatif provoqué par une surproduction de ROS.

Des études *in vitro* sur des macrophages ont également mis en évidence une production dose-dépendante de ROS suite à une exposition aux NPs de Fe_2O_3 , accompagnée d'un épuisement du GSH et de perturbations cellulaires notables (**Naqvi et al., 2010**). De plus, l'exposition combinée à des NPs de ZnO et Fe_2O_3 intensifie cette toxicité, entraînant une inhibition des enzymes clés telles que la glutathion-S-transférase (GST) et la glutathion peroxydase (GPx), révélant une défaillance globale du système antioxydant (**Bensaci et al., 2022**).

Il est important de noter que la baisse du GSH est particulièrement significative dans l'hépatopancréas et le rein, surtout à fortes concentrations, ce qui reflète leur rôle central dans les processus de détoxification et d'élimination des toxiques et leur susceptibilité accrue à l'accumulation de nanoparticules. Ces organes métaboliquement actifs constituent des cibles privilégiées du stress oxydatif, comme en témoignent les altérations histopathologiques telles que la nécrose et la dégénérescence cellulaire observées par **Bensaci et al. (2022)**.

En revanche, la diminution du taux de GSH observée au niveau des hémocytes reste non significative, ce qui pourrait s'expliquer par une moindre exposition directe aux nanoparticules ou par une capacité métabolique réduite. Bien qu'impliqués dans l'immunité, les hémocytes disposent d'un potentiel antioxydant enzymatique plus restreint que les tissus métaboliquement actifs, ce qui limite leur réaction face au stress oxydatif (**Abd El-Azzem et al., 2023**). Ces observations sont cohérentes avec celles d'**Abdel-Halim et al. (2021)**, qui ont rapporté une

baisse non significative du taux de GSH au niveau de l'hémolymph de *Helix aspersa* exposé aux NPs de TiO₂, contrairement à l'hépatopancréas, où la diminution était significative. De même, **Atailia (2017)** a constaté une diminution plus prononcée du GSH dans l'hépatopancréas que dans le sérum ou les hémocytes, chez des escargots exposés à des métaux lourds. Des résultats similaires ont été rapportés par **Kahli (2015)** et **Khen et al. (2017)** concernant l'effet des nano- et microparticules de TiO₂ sur *Helix aspersa*.

La catalase (CAT) est une enzyme antioxydante majeure localisée dans les peroxyosomes des cellules eucaryotes. Sa fonction principale est de catalyser la décomposition du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en eau et en oxygène, jouant ainsi un rôle central dans la protection cellulaire contre les effets délétères du stress oxydatif. En limitant l'accumulation de H₂O₂, un puissant agent pro-oxydant, elle contribue activement au maintien de l'homéostasie redox (**Chelikani et al., 2004**).

Dans un contexte d'exposition aux nanoparticules d'oxyde de fer (Fe₂O₃), la catalase intervient comme un régulateur essentiel de la réponse antioxydante. Son rôle crucial dans la neutralisation du stress oxydatif justifie son inclusion comme biomarqueur dans la présente étude. En effet, l'augmentation significative de l'activité catalase observée dans l'hépatopancréas, le rein et le lysat hémocytaire d'*Helix aspersa* reflète une réponse adaptative face à la production accrue d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), notamment générées par la réaction de Fenton catalysée par le fer (**Sidiropoulou et al., 2018**).

Cette réponse dose-dépendante traduit l'activation des mécanismes de défense cellulaire. Elle corrobore les résultats de **Besnaci et al. (2019)**, qui ont également observé une induction marquée de l'activité CAT sous l'effet des microparticules et nanoparticules de Fe₂O₃, accompagnée d'une réduction concomitante du glutathion. Selon **Sidiropoulou et al. (2018)**, l'induction rapide de la CAT souligne son rôle en tant que première ligne de défense métabolique. Toutefois, à des concentrations élevées, la saturation fonctionnelle des peroxyosomes pourrait limiter cette réponse adaptative.

D'autres types de nanoparticules induisent également une réponse similaire. **Benziane et Mendoud (2024)** ont rapporté une augmentation marquée de l'activité CAT dans l'hépatopancréas et le rein d'*H. aspersa*, associée à une hypertrophie des organes due à l'accumulation de nanoparticules de TiO₂. Des résultats similaires ont été obtenus par **Benamara et al. (2021)** et **Ben Belouaer et Beurghoul (2022)** suite à l'exposition à des nanoparticules de cuivre (CuO), et par **Ali et al. (2015)** chez *Lymnaea luteola* exposé aux

nanoparticules de TiO₂. De même, **Guasmia et al. (2024)** ont constaté une élévation de l'activité CAT dans l'hépatopancréas et le rein d'escargots exposés aux nanoparticules de ZnO.

Cependant, cette induction enzymatique n'est pas systématique. **Abdel Azeem et al. (2023)** ont observé une réduction de l'activité CAT dans l'hépatopancréas d'*H. aspersa* après deux semaines d'exposition aux NPs de TiO₂. Selon ces auteurs, les réponses enzymatiques varient selon la durée d'exposition, la concentration des polluants, et la sensibilité des espèces (**Ballesteros et al., 2009**). Une production excessive de ROS peut en effet saturer les systèmes de défense antioxydants, menant à une inhibition de l'activité CAT.

En parallèle, **Atailia (2017)** a mis en évidence une induction significative de la CAT dans le lysat hémocytaire d'escargots exposés à des poussières métalliques, suggérant une implication active des hémocytes dans la réponse immunitaire (**Gopalakrishnan et al., 2013**). Cette diversité de réponses témoigne de la complexité des mécanismes de régulation du stress oxydatif en fonction du type de nanoparticule, du tissu concerné et du contexte d'exposition.

Comparativement à d'autres invertébrés terrestres, *Helix aspersa* présente une induction de l'activité catalase nettement supérieure. Par exemple, le ver de terre *Eisenia fetida* exposé à des nanoparticules de Fe₂O₃ à 0,3 g/kg de sol ne montre aucune variation significative de l'activité CAT, alors qu'*H. aspersa* manifeste une induction cent fois plus élevée (**Valerio et al., 2020**). Cette forte réactivité enzymatique face au stress oxydatif souligne la sensibilité particulière d'*H. aspersa* et confirme son intérêt en tant que bioindicateur pertinent pour l'évaluation de la contamination des milieux terrestres.

Après l'évaluation de l'activité de la catalase comme indicateur du stress oxydatif, nous avons orienté notre analyse vers la glande albumen, une structure clé du système reproducteur des gastéropodes, en raison de son rôle dans la synthèse des protéines de réserve, notamment la vitellogénine (VTG). Il s'agit d'une glycoprotéine majeure, précurseur des protéines du vitellus, essentielle à la reproduction, notamment à la formation du jaune d'œuf. Sa production, régulée au niveau de la glande albumen, est particulièrement sensible aux facteurs environnementaux, ce qui en fait un biomarqueur reconnu des perturbations endocriniennes et de la reproduction chez les mollusques (**Fernando et al., 2012**).

La glande albumen est une glande exocrine tubulo-acineuse située à la jonction du canal hermaphrodite et du spermiducte, à proximité de la poche de fécondation (**Goudsmit, 1975**). Son activité sécrétoire varie de manière cyclique selon les saisons : elle produit principalement

du glycogène en hiver, tandis qu'en été, elle élabore des substances telles que le galactogène et diverses protéines qui entrent dans la composition de la couche périvitelline des œufs. Cette couche assure une double fonction nutritionnelle et protectrice pour les embryons avant la ponte, contribuant ainsi au succès du développement embryonnaire (**Goudsmit, 1975 ; Tompa et al., 1984**). Par son implication dans la synthèse et le transport de la VTG, la glande albumen apparaît comme une cible privilégiée pour l'évaluation des effets des polluants environnementaux sur la reproduction des gastéropodes.

La diminution significative des protéines albuminiques observée dans notre étude pourrait résulter d'une accumulation accrue des nanoparticules (NPs) au niveau de la glande albumen, induisant une altération fonctionnelle marquée. Plusieurs mécanismes peuvent expliquer cette perturbation : interaction directe des NPs avec les groupements thiols des protéines, inhibition des voies de biosynthèse, dérèglement endocrinien ou encore perturbation des voies hormonales impliquées dans la régulation de la reproduction.

Nos résultats sont en accord avec ceux de **Abdel-Halim et al. (2013)**, qui ont signalé une baisse des teneurs protéiques chez *Helix aspersa* exposé aux métaux lourds. Des travaux antérieurs ont également montré que l'exposition à divers pesticides ou xénobiotiques pouvait affecter la vitellogénèse, un processus directement lié à la production de protéines de reproduction. Par exemple, **Attia (2022)** a rapporté une diminution des niveaux de vitellogénine (VTG) chez *Helix vermiculata* après exposition à des pesticides tels que Decis, Zoom et Weatfert. De même, **Soltani et al. (1999)** ont mis en évidence l'effet du pesticide Triflumuron (TFM) sur les protéines ovariennes chez l'insecte *Culex pipiens*, tandis que **Sun et al. (2003)** ont observé une altération de la vitellogénèse chez l'insecte *Cydia pomonella* exposé à des agonistes des ecdystéroïdes (tubufenozide, methoxyfenozide). L'azadirachtine, insecticide d'origine végétale, a également été identifiée comme perturbateur de la reproduction chez l'insecte *Bombus terrestris* (**Barbosa et al., 2014**).

Des effets similaires ont été décrits par **El-Bolkiny et al. (2000)**, qui ont observé une réduction du glycogène et une atrophie des cellules de la glande albumen et des glandes hermaphrodites chez les escargots exposés aux carbamates, traduisant une baisse de la capacité reproductive. **Mobarak (2016)** a, quant à lui, signalé des malformations notables dans les organes du système reproducteur (pénis, vagin, oviducte, glande albumen) après traitement au chlorfluazuron, probablement en lien avec une perturbation hormonale. Dans le même sens, **Preveen & Miyata (2000)** ont rapporté une réduction des protéines ovariennes chez le

lépidoptère *Spodoptera litura*, et **Soltani & Soltani-Mazouni (1992)** ont constaté une baisse de la fécondité et de la viabilité des œufs chez *Cydia pomonella* traitée avec du diflubenzuron, suggérant une interférence avec la vitellogénèse.

En parallèle, nos analyses biochimiques révèlent un stress oxydatif important, comme en témoigne la déplétion du glutathion (GSH) et l'induction de la catalase. Ce déséquilibre redox pourrait inhiber la voie œstrogénique, essentielle à la transcription des gènes codant pour la VTG. **Mohammadzadeh et al. (2024)** ont d'ailleurs montré chez le poisson zèbre que l'exposition aux nanoplastiques altère cette voie hormonale.

Au-delà du stress oxydatif, des mécanismes plus complexes sont également à considérer. **Gojznikar et al. (2022)** ont rapporté que les NPs de TiO₂ modifient l'expression de plus de 1000 protéines chez les macrophages humains, via l'activation aberrante des voies de signalisation telles que p38 MAPK et NF-κB. Ces perturbations transcriptionnelles et post-traductionnelles affectent profondément les fonctions métaboliques, immunitaires et reproductives, suggérant que les nanoparticules peuvent agir par des mécanismes épigénétiques affectant l'expression génique globale.

Enfin, bien que la majorité des études rapportent une diminution de la vitellogénine, certaines espèces réagissent différemment. Une augmentation de la VTG a été observée chez les gastéropodes *Valvata piscinalis* et *Lithoglyphus naticoides*, ainsi que chez la crevette *Macrobrachium* après exposition à divers xénobiotiques (**Fernando et al., 2012**). Cette variabilité interspécifique rappelle que la sensibilité aux polluants dépend fortement des espèces, de leur écologie et de leurs mécanismes de régulation hormonale. De manière générale, les organismes d'eau douce, notamment les moules et les gastéropodes, sont parmi les plus vulnérables, avec un déclin rapide des populations lié à la perturbation de leurs paramètres reproductifs (**Lopes-Lima et al., 2017**).

A decorative rectangular frame with intricate, symmetrical scrollwork and floral patterns. The frame is centered on the page and contains the text "Conclusion et perspectives" in a bold, black, serif font.

Conclusion et perspectives

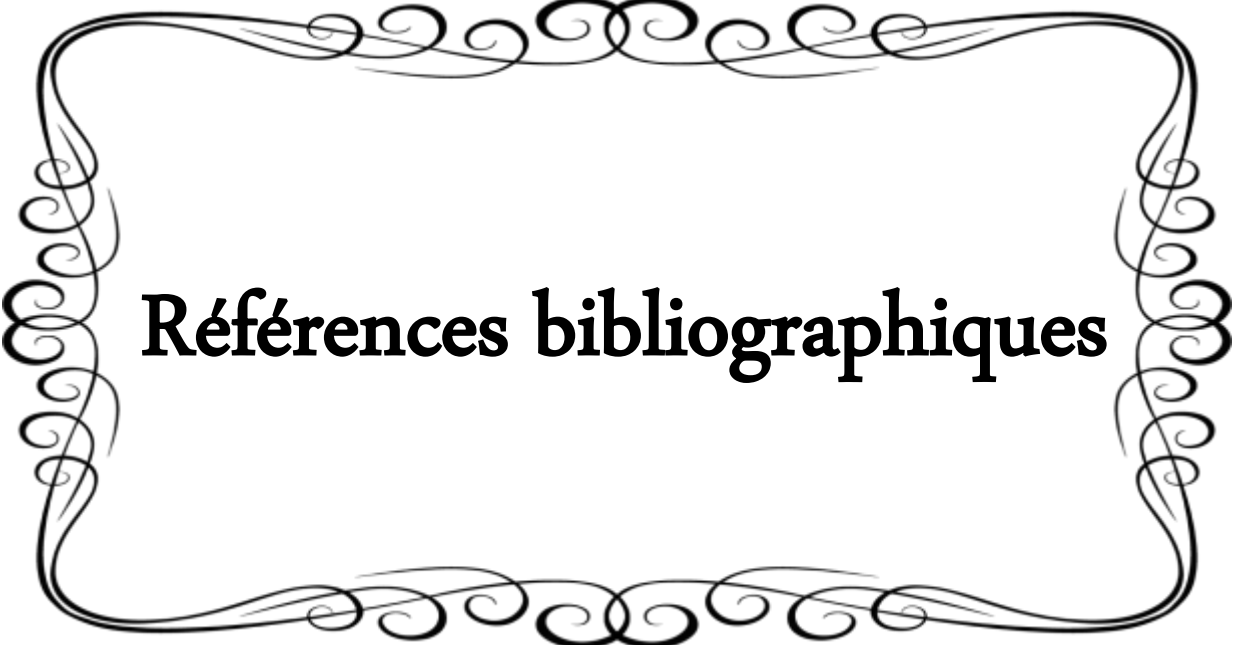
L'utilisation croissante des nanoparticules d'oxyde de fer (Fe_2O_3) NPs dans divers secteurs industriels et médicaux soulève des préoccupations concernant leur impact écotoxicologique. Dans cette étude, nous avons évalué la toxicité des Fe_2O_3 NPs chez *Helix aspersa*, un gastéropode terrestre reconnu comme bioindicateur pertinent des pollutions environnementales. Les escargots ont été exposés par voie topique pendant 14 jours à des concentrations croissantes de Fe_2O_3 NPs (100, 1000 et 5000 mg/L). L'analyse a porté sur des biomarqueurs du stress oxydatif (GSH, CAT) ainsi que sur un indicateur de perturbation endocrinienne (protéines albuminiques : vitellogénine).

Les résultats ont montré une déplétion significative et dose-dépendante du glutathion réduit (GSH), traduisant une mobilisation accrue des défenses antioxydantes. Parallèlement, une augmentation marquée de l'activité de la catalase (CAT) a été observée, suggérant une réponse adaptative face au stress oxydatif. En outre, une diminution notable des taux de vitellogénine a été constatée, indiquant une altération potentielle des fonctions reproductrices.

Ces perturbations physiologiques confirment que les nanoparticules de (Fe_2O_3) induisent un stress oxydatif, comme en témoigne le déséquilibre du GSH et de l'activité CAT, et compromettent la reproduction. Ces résultats valident ainsi l'utilisation d'*Helix aspersa* comme bioindicateur sensible et fiable de la nanotoxicité en milieu terrestre.

Afin d'approfondir ces travaux, les perspectives suivantes sont proposées :

- Réaliser une étude comportementale et prolonger la durée d'exposition à 28 jours pour observer les effets chroniques.
- Mener une analyse histopathologique des tissus (hépatopancréas, rein, glande albumen) afin de visualiser les altérations tissulaires et localiser l'accumulation des NPs.
- Intégrer d'autres biomarqueurs du stress oxydatif, tels que le MDA (marqueur de peroxydation lipidique), la SOD, la LDH, la GPx et la GST, pour affiner le profil de réponse antioxydante.
- Étudier les effets potentiels sur les systèmes nerveux et reproducteur.
- Évaluer la bioaccumulation du Fe_2O_3 et sa spéciation dans les tissus exposés.



Références bibliographiques

- Abdel-Azeem, H. H., Osman, G. Y., & Mohamed, A. H. (2023).** Potential toxic effects of titanium oxide (TiO₂) nanoparticles on the biological, biochemical, and histological aspects of the land snail *Helix aspersa*. *Environmental Science and Pollution Research International* 30(32), 78127–78138.
- Abdel-Halim, K. Y., Osman, S. R., El-Danasoury, H. T. M., & Ziada, R. M. (2021).** Potential toxic effects of titanium dioxide nanoparticles and carbon nanotubes on land snail *Helix aspersa*: Use of oxidative stress as a reliable biomarker for ecotoxicology assessment. *Invertebrate Survival Journal* 18(1), 119–129.
- Abdel-Halim, K. Y., Abo El-Saad, A. M., Talha, M. M., Hussein, A. A., & Bakry, N. M. (2013).** Oxidative stress on land snail *Helix aspersa* as a sentinel organism for ecotoxicological effects of urban pollution with heavy metals. *Chemosphere*, 93(6), 1131–1138.
- Abdin, M., Ahmed, F. J., Maitra, A., Prashant, C., & Dinda, A. K. (2010).** Concentration-dependent toxicity of iron oxide nanoparticles mediated by increased oxidative stress. *International Journal of Nanomedicine* 5, 983–989.
- Aitken, J. D., Rosa, E. J., & Matthews, R. B. (2012).** Surface-functionalized iron oxide nanoparticles for selective adsorption in water treatment. *Environmental Nanotechnology, Monitoring, and Management*, 1, 56–62.
- Aitken, R. J., Hankin, S. M., Tran, C. L., Donaldson, K., Stone, V., Cumpson, P., ... & Fernandes, T. F. (2012).** Nanomaterial properties and potential risks: A review of the state of the science. *Journal of Nanoparticle Research*, 14(8), Article 1005.
- Ait-Hamlet, S. (2013).** Évaluation de la toxicité de mélanges de pesticides sur un bioindicateur de la pollution des sols *Helix aspersa* [Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar-Annaba].
- Ait-Hamlet, S., Bensoltane, S., Djekoun, M., Yassi, F., & Berrebbah, H. (2012).** Histological changes and biochemical parameters in the hepatopancreas of terrestrial gastropod *Helix aspersa* as biomarker of neonicotinoid insecticide exposure. *African Journal of Biotechnology*, 11(96), 16277–16283.
- Akinwande, D., Petrone, N., & Hone, J. (2020).** Two-dimensional flexible nanoelectronics. *Nature Communications*, 11(1), Article 5678.
- ANSES. (2014).** Nanomatériaux : Définitions, caractéristiques et enjeux [Rapport d'expertise collective]. *Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail*.
- Armarego, W. L. F. (2022).** Nanomaterials. Dans W. L. F. Armarego (Éd.), *Purification of laboratory chemicals* (pp. 586–630).
- Armarego, W. L. F. (2022).** Nanomaterials: Properties, applications, and toxicity. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 22(3), 1–15.
- Armarego, W. L. F., & Chai, C. L. L. (2022).** *Purification of laboratory chemicals* (9^e éd.). Elsevier.
- Atailia, A. (2017).** Effet des poussières métalliques d'origine industrielle sur un organisme animal bioindicateur/bioaccumulateur de pollution : *Helix aspersa* [Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar-Annaba].
- Auffan, M., Achouak, W., Rose, J., Roncato, M.-A., Chaurand, P., & Bottero, J.-Y. (2007).** Improved understanding of the environmental fate of metal oxide nanoparticles through a surface reactivity-based approach. *Environmental Science & Technology*, 41(14), 5012–5017.
- Auffan, M., Rose, J., Bottero, J.-Y., Lowry, G. V., Jolivet, J.-P., & Wiesner, M. R. (2007).** Towards a definition of inorganic nanoparticles from an environmental, health and safety perspective. *Nature Nanotechnology*, 4(10), 634–641.

- Auffan, M., Rose, J., Wiesner, M. R., & Bottero, J.-Y. (2008).** Chemical stability of metallic nanoparticles: A parameter controlling their potential cellular toxicity in vitro. *Environmental Pollution*, 157(4), 1127–1133.
- Aupinel, P., Vrillon, L., & Bonnet, J. C. (1990).** L'escargot *Helix aspersa* (Biologie, élevage). *INRA Éditions*.
- Ali, D., Ali, H., Alarifi, S., Kumar, S., Serajuddin, M., Mashih, A. P., & Ansari, A. A. (2015).** Impairment of DNA in a freshwater gastropod (*Lymnea luteola* L.) after exposure to titanium dioxide nanoparticles. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 68(3), 543-552.
- Attia, L. (2022).** Impact des pratiques agricoles sur les organismes non visés, cas d'un gastéropode comme bioindicateur, *Helix vermiculata* (Müller, 1774). [Thèse de doctorat, Université Larbi Tebessi – Tébéssa].

📖 B

- Bailey, S. E. R. (1981).** Circannual and circadian rhythms in the snail *Helix aspersa* Müller and the photoperiodic control of annual activity and reproduction. *Journal of Comparative Physiology*, 142, 89–94.
- Bairi, Y., Sifi, K., & Soltani, N. (2018).** Growth and responses of biomarkers in the snail *Helix aspersa* (Mollusca, Gastropoda) used as bioindicator of soil pollution in Northeast of Algeria. Dans A. Kallel, M. Ksibi, H. Ben Dhia, & N. Khélifi (Éds.), *Recent Advances in Environmental Science from the Euro-Mediterranean and Surrounding Regions* (pp. 107–115). Springer.
- Beeby, A., & Richmond, L. (2002).** Evaluating *Helix aspersa* as a sentinel for mapping metal pollution. *Ecological Indicators*, 1(4), 261–270.
- Belhaouchet, N., Djebbar, M. R., Meksem, L., Grara, N., Zeriri, I., & Berrebbah, H. (2012).** Evaluation of the biomarkers of the oxidative stress induced by a biopesticide: The spinosad on an alternate model: *Helix aspersa*. *Journal of Applied Sciences Research*, 8(8), 4199–4206.
- Ben Belouar, B. et Bergheul, L. (2022).** Étude toxicologique des nanoparticules d'oxyde de cuivre à l'égard d'*Helix aspersa*. *Mémoire de Master 2. Université Mohammed El Bachir El Ibrahimi, B.B.A, Algérie*, 42 p.
- Benamara, M., Amrani, A., Zaidi, H Sedrati, F., Bouroumana, S., Zouzou, D., Kerkoub, N., Bouarroudj, T., et Nasri, H. (2021).** Oxidative Stress Induced by The Metallic Oxide the Copper Oxide (CuO-Nps) On Terrestrial Snail *Helix aspersa*. *Reaserch Square*, 1, 1-18.
- Bekhti, W. (2015).** Synthèse par voie hydrothermale et caractérisation des micro/nanostructures d'oxyde de zinc [Thèse de doctorat, Université Oran I].
- Bellenger, J.-P., Della Vedova, C., & Morel, F. (2013).** Bacterial assimilation of tungsten nanoparticles as a "false nutrient". *Environmental Microbiology*, 15(7), 2123–2133.
- Berquó, T. S., Fonseca, F. C., & Morales, M. P. (2003).** Static and dynamic magnetic properties of spherical magnetite nanoparticles. *Journal of Applied Physics*, 94(5), 3520–3528.
- Besnaci, S., Bensoltane, S., & Djekoun, M. (2019).** Oxidative stress and histological changes induced by nano-Fe₂O₃ in *Helix aspersa*. *Scientific Study and Research: Chemistry and Chemical Engineering*, 20(2), 119–133.
- Besnaci, S., Bouacha, M., Babouri, Y., Zerari, L., & Bensoltane, S. (2022).** Toxicity assessment of a binary nanometric mixture (ZnO/Fe₂O₃) in *Cornu aspersum* (Müller, 1774) (Gastropoda, Helicidae). *Biodiversity Journal*, 13(2), 329–338.
- Besnaci, S., Bouacha, M., Chaker, A., Babouri, Y., & Bensoltane, S. (2022).** Impact des nanoparticules de silice fumée SiO₂ sur des indicateurs du stress oxydatif chez *Helix aspersa*. *Revue des Sciences de la Vie*, 91(1), 11–22.
- Bettini, S. (2016).** Devenir et effets des particules de dioxyde de titane (TiO₂) après exposition orale chez le rat

[Thèse de doctorat, Université Toulouse III]. Theses.fr.

Blinova, I., Ivask, A., & Kasemets, K. (2008). Biotests and biosensors for ecotoxicology of metal oxide nanoparticles: A mini-review. *Sensors*, 8(8), 5153–5170.

Bonnet, J. C., & Vrillon, J. L. (1990). *L'escargot Helix aspersa biologie – élevage*. INRA Éditions.

Boucenna, M. (2016). Etude de la toxicité des particules métalliques d'origine industrielle chez *Helix aspersa*. Evaluation nanotoxicologique du Fe₂O₃ et Al₂O₃ [Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar-Annaba].

Bouhnik-Le-Coz, M., Gruau, G., & Le Borgne, T. (2018). Transformation of magnetite to maghemite in environmental conditions: Implications for pollutant remediation. *Environmental Science & Technology*, 52(5), 2799–2807.

Britter, R. (2010). A review of the characteristics of nanoparticles in the urban atmosphere and the prospects for developing regulatory controls. *Atmospheric Environment*, 44(39), 5035–5047.

Buzea, C., Pacheco Blandino, I. I., & Robbie, K. (2007). Nanomaterials and nanoparticles: Sources and toxicity. *Biointerphases*, 2(4), MR17–MR172.

Burton-Mousseau, S. (2014). La reproduction chez les gastéropodes terrestres. *Paris : Éditions Biologie Mollusques*.



Canivet, J., Denayer, F. O., & van der Kelen, G. P. (2013). Environmental sources and fate of iron oxide nanoparticles: A review. *Environmental Science : Processes & Impacts*, 15(8), 1467–1479.

Carrière, É. (2023). Effets des nanoparticules d'argent sur les processus enzymatiques des sols [Thèse de maîtrise, Université McGill]. Papyrus.

Charles, S. W., Popplewell, J., & Diggle, R. W. (1980). Magnetic properties of fine particles of iron and iron oxides. Dans *Ferrofluids: Magnetically Controllable Fluids and Their Applications* (pp. 185–198). Springer.

Clefs CEA. (2005). Les nanocristaux semi-conducteurs fluorescents font leur Internet, 52.

CNRS. (2023). *Nanosciences et nanotechnologies, au cœur de l'innovation*.

<https://images.cnrs.fr/dossier/nanosciences-et-nanotechnologies-au-coeur-de-linnovation>

Coeurdassier, M., Saint-Denis, M., Gomot-de Vaufleury, A., Ribera, D., & Badot, P. M. (2001). The garden snail (*Helix aspersa*) as bioindicator of organophosphorus exposure: Effects of dimethoate on survival, growth and acetylcholinesterase activity. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20(9), 1951–1957.

Colman, B. P., Arnaout, C. L., Anciaux, S., Gunsch, C. K., Hochella, M. F., Kim, B., ... & Bernhardt, E. S. (2013). Low concentrations of silver nanoparticles in biosolids cause adverse ecosystem responses under realistic field scenario. *PLOS ONE*, 8(2), e57189.

Colvin, V. L. (2003). The potential environmental impact of engineered nanomaterials. *Nature Biotechnology*, 21(10), 1166–1170.

Commission européenne. (2022). Recommandation de la Commission (UE) 2022/2316 du 18 octobre 2022 Relative à la définition des nanomatériaux. *Journal officiel de l'Union européenne*, L 304, 1–5.

Commission européenne, Centre commun de recherche. (2023). Guidance on the implementation of the Commission Recommendation 2022/C 229/01 on a definition of nanomaterial (EUR 31395 EN).

Cornelis, G., Hund-Rinke, K., Kuhlbusch, T., van den Brink, N., & Nickel, C. (2014). Fate and bioavailability of engineered nanoparticles in soils: A review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 44(24), 2720–2764.

Correl, L., Smith, J., & Lee, H. (2017). Domain structure and superparamagnetic threshold in Fe₃O₄ nanoparticles. *Scientific Reports*, 7, Article 1005.

Cotae, V., & Creanga, L. (2005). LHC II system sensitivity to magnetic fluids. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 289, 459–462.

Chelikani, P., Fita, I., & Loewen, P. C. (2004). Diversity of structures and properties among catalases. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 61(2), 192–208.

D

Delay, M., & Frimmel, F. H. (2012). Nanoparticles in natural systems I: Stability of model nanoparticles in aqueous environments. *Science of the Total Environment*, 420, 160–167.

Demangeat, J.-L. (2018). Stability and regeneration of iron oxide nanoparticles in adsorption cycles. *Journal of Colloid and Interface Science*, 520, 123–132.

Desrosiers, M., & Sauvé, S. (2014). Effects of silver nanoparticles on soil enzyme activities with and without added organic matter. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 33(1), 115–125.

Diez-Ortiz, M., Lahive, E., George, S., Ter Schure, A., Van Gestel, C. A. M., & Jurkschat, K. (2013). Bioaccumulation and toxicokinetics of silver nanoparticles in the earthworm *Eisenia andrei*. *Environmental Science & Technology*, 47(15), 8899–8907.

Drexler, K. E. (1986). *Engines of Creation: The Coming Era of Nanotechnology* (p. 15). Doubleday.

Druille, M., Cabello, M. N., Omacini, M., & Golluscio, R. A. (2016). Use of the land snail *Helix aspersa* as sentinel organism for monitoring ecotoxicologic effects of urban pollution: An integrated approach. *Environmental Pollution*, 218, 577–584.

Dupont, L., & Bernard, A. (2004). *Les nanotechnologies : enjeux et perspectives*. Éditions Scientifiques.

E

El-Bolkiny, Y. E., El-Sayed T. R., & El-Ansary, A. A. (2000). Effect of diethyldithiocarbamate on some biological and physiological parameters of *Biomphalaria alexandrina* snails. *Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries*, 4(2), 157.

Edwards, E. (2003). The role of the endocrine system in the regulation of reproduction in terrestrial pulmonate gastropods. *Invertebrate Reproduction and Development*, 44(4), 325–357.

El-Gendy, K. S., Gad, A. F., & Radwan, M. A. (2021). Physiological and behavioral responses of land molluscs as biomarkers for pollution impact assessment: A review. *Environmental Research*, 193, 110558.

El Mendili, Y. (2011). Optical properties of iron oxide nanoparticles: Quantum confinement effects. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 11(4), 3050–3055.

El Mendili, Y., Bardeau, J.-F., Randrianantoandro, N., Grasset, F., & Grenèche, J.-M. (2011). Structural and optical properties of iron oxide nanoparticles: Influence of size and polymorphism. *Journal of Physical Chemistry C*, 115(47), 23785–23792.

El-Demerdash, F. M. (2007). Lambdacyhalothrin-induced changes in oxidative stress biomarkers in rabbit erythrocytes and alleviation effect of some antioxidants. *Toxicology in Vitro*, 21(3), 392–397.

F

- Fabriès, J.-F. (2005a).** Particules ultra-fines et santé au travail 1—Caractéristiques et effets potentiels sur la santé. *Hygiène et Sécurité du Travail—Cahiers de Notes Documentaires INRS*, 199, 21–35.
- Fabriès, J.-F. (2005b).** Particules ultra-fines et santé au travail 2—Sources et caractérisation de l'exposition. *Hygiène et Sécurité du Travail—Cahiers de Notes Documentaires INRS*, 199, 37–54.
- Fardous, F., Ma, X., Geiser-Lee, J., Deng, Y., & Kolmakov, A. (2010).** Interactions between engineered nanoparticles (ENPs) and plants: Phytotoxicity, uptake and accumulation. *Science of The Total Environment*, 408(16), 3053–3061.
- Fattorini, D., Tedesco, S., Notti, A., Machella, N., Bocchetti, R., Benedetti, M., & Piva, F. (2019).** Molecular and biochemical biomarkers in environmental monitoring: A comparison of biotransformation and antioxidant defense systems in multiple tissues. *Aquatic Toxicology*, 210, 1–14.
- Fernando, G. C., & Horacio, H. (2012).** Vitellogenin and lipovitellin from the prawn *Macrobrachium borellii* as hydrocarbon pollution biomarker. *Marine Pollution Bulletin*, 64(8), 1631–1636.
- Fol, M. F., Abdel-Ghaffar, F. A., Hassan, H. A. M., et al. (2024).** Oxidative stress, histopathological and genotoxicity of copper oxide nanoparticles in *Biomphalaria alexandrina* snail. *Scientific Reports*, 14, Article 25187.
- Frandsen, B. A., Read, C., Stevens, J., Walker, C., Christiansen, M., Harrison, R. G., & Chesnel, K. (2021).** Superparamagnetic dynamics and blocking transition in Fe₃O₄ nanoparticles probed by vibrating sample magnetometry and muon spin relaxation. *Applied Physics Letters*, 118(5), 052402.
- Francelyne Marano, Rina Guadagnini (2013).** Les nanoparticules dans l'alimentation : quels risques pour le consommateur ? *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 48(3), 142–150.
- Fabre, M. C., Descamps, M., & Baert, J. L. (1990).** Identification and partial characterization of vitellin and vitellogenin from *Scolopendra cingulata* Latreille (Myriapoda Chilopoda). In *Proceedings of the 8th International Conference on Myriapodology* (pp. 117–121). Innsbruck, Austria.



- Gao, X. (2021).** Quantum dots for in vivo molecular and cellular imaging. *Nature Reviews Materials*, 6(1), 1–20.
- Gojznikar, J., Zdravković, B., Vidak, M., Leskošek, B., & Ferik, P. (2022).** TiO₂ nanoparticles and their effects on eukaryotic cells: A double-edged sword. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(20), 12353.
- Gomot, A. (1997).** Dose-dependent effects of cadmium on the growth of snails in toxicity bioassays. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, word 33(1), 20–24.
- Gomot-de Vaufleury, A., Lebrun, L., & Gourdon, R. (2020).** *Helix aspersa* as a bioindicator for environmental pollution monitoring. *Ecotoxicology*, 29(4), 581–596.
- Gomor-de Vaufleury, A., Coeurdassier, M., & Scheiffler, R. (2020).** Snails as indicators of environmental contamination: A review. *Ecotoxicology*, 29(7), 903–919.
- Goudsmit, E. M. (1975).** Neurosecretory stimulation of galactogen synthesis within the *Helix pomatia* albumen gland during organ culture. *Journal of Experimental Zoology*, 191(2), 193–198.
- Goya, G. F., Lima, E., & Arelaro, A. D. (2013).** Magnetic hyperthermia with Fe₃O₄ nanoparticles: The influence of particle size on energy absorption. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 46(31), 315003.
- Gregory, K. B., Apte, S. C., & Lead, J. R. (2012).** Transformations of nanomaterials in the environment. *Environmental Science & Technology*, 46(13), 6893–6899.

- Gopalakrishnan, S., & Ganeshkumar, P. (2013).** Systematic reviews and meta-analysis: Understanding the best evidence in primary healthcare. *Journal of Family Medicine and Primary Care*, 2(1), 9–14.
- Guesmia, H., Tarai, N., Ouamane, A. T., Guimeur, K., Masmoudi, A., & Djellouli, A. (2024).** Impact of agricultural inputs on the abundance of heavy metals (Cu, Zn) in soil, water, and plants in the south of Algeria. *Journal of Agriculture and Applied Biology*, 5(2), 164–177.
- Grara, N. (2011).** Evaluation de la toxicité de certains polluants industriels sur un animal bioaccumulateur (gastéropode *Helix aspersa*) : Cas des métaux [Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar-Annaba].
- Grara, N., Bouacha, M., Atailia, A., Berrebbah, H., & Djebbar, M. R. (2012).** Stress oxydatif des poussières métalliques du complexe sidérurgique d'El-Hadjar (Algérie) chez l'escargot *Helix aspersa*. *JLE - Environnement, Risques & Santé*, 11(4), 221–229.
- Grara, N., Bouloudenine, M., Khaldi, F., Zenir, Z., & Abdemadjid, S. (2015).** Caractérisation morphophysiological de la toxicité du ZnO (nanoparticule manufacturée) sur l'escargot *Helix aspersa* bioindicateur de pollution de l'environnement. *Journal of Materials and Environmental Science*, 6(9), 2596–2603.
- Gupta, A. K., & Gupta, M. (2005).** Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications. *Biomaterials*, 26(18), 3995–4021.

📖 H

- Hemmerlin, M. (2014).** Toxicité de deux types de nanoparticules d'argent sur la cyanobactérie modèle : *Synechococcus elongatus PCC 7942* [Mémoire de master, Université de Lorraine].
- Hervé-Bazin, B. (2007).** Les nanotechnologies : Évaluation des risques pour la santé et l'environnement. *Hygiène et Sécurité du Travail—Cahiers de Notes Documentaires INRS*, 208, 45–56.
- Hochella, M. F., Mogk, D. W., Ranville, J., Allen, I. C., Luther, G. W., Marr, L. C., ... & Yang, Y. (2019).** Natural, incidental, and engineered nanomaterials and their impacts on the Earth system. *Science*, 363(6434), eaau8299.
- Huang, X., Tang, S., Mu, X., Dai, Y., Chen, G., Zhou, Z., ... & Chen, X. (2021).** Photothermal therapy with nanoparticles: From mechanisms to applications. *Advanced Materials*, 33(22), 1705660.

📖 I

- INRS. (2008).** *Les nanoparticules. Connaissances actuelles sur les risques et les mesures de prévention en santé et en sécurité du travail*. Institut national de recherche et de sécurité du Québec.
- Ismert, M., Oster, T., & Bagrel, D. (2002).** Effects of atmospheric exposure to naphthalene on xenobiotic metabolizing enzymes in the snail *Helix aspersa*. *Chemosphere*, 46(2), 273–280.

📖 J

- Jani, P. U., McCarthy, D. E., & Florence, A. T. (1994).** Nanosphere and microsphere uptake via Peyer's patches: Observation of the relative translocation of microparticles from the rat gastrointestinal tract. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 46(7), 525–531.
- Jérémy, M. (2013).** Magnetic properties of iron oxide nanoparticles: A study of spinel structures. *Materials Science and Engineering: B*, 178(9), 633–640.

Jiang, X., Jiang, Z., Xu, R., Huang, Y., & Zhang, F. (2019). Interaction between silver nanoparticles and two dehydrogenases: Role of thiol groups. *Small*, 15(23), 1900860.

Johnson, M.-V. V., Yang, Y., Wang, Y., Westerhoff, P., Hristovski, K., Jin, V. L., ... & Lowry, G. V. (2014). Metal and nanoparticle occurrence in biosolid-amended soils. *Science of the Total Environment*, 485–486, 441–449.

Judy, J. D., Unrine, J. M., Rao, W., & Bertsch, P. M. (2011). Evidence for biomagnification of gold nanoparticles within a terrestrial food chain. *Environmental Science & Technology*, 45(2), 776–781.

📖 K

Kaegi, R., Ulrich, A., Sinnet, B., Vonbank, R., Wichser, A., & Zuleeg, S. (2008). Synthetic TiO₂ nanoparticle emission from exterior facades into the aquatic environment. *Environmental Pollution*, 156(2), 233–239.

Kaloyianni, M. (2018). Insights into the toxicity of iron oxides nanoparticles in land snails. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 206–207, 1–10.

Kantoff, P. W., Wooster, R., & Farokhzad, O. C. (2021). Cancer nanomedicine: Progress, challenges, and opportunities. *Nature Reviews Cancer*, 21(1), 20–37.

Keller, A. A., McFerran, S., Lazareva, A., & Suh, S. (2013). Global life cycle releases of engineered nanomaterials. *Journal of Nanoparticle Research*, 15, Article 1692.

Khene, L., Berrebbah, H., Yahyaoui, A., Bouarroudj, T., Zouainia, S., Kahli, H., & Bouayou, C. (2017). Biomarqueurs du stress oxydatif, de la peroxydation lipidique et de la production de ROS induits par les microparticules de TiO₂ sur les escargots *Helix aspersa*. *Studia Universitatis « Vasile Goldiș », Seria Științele Vieții*, 27(2), 127–133.

Kikuchi, K., Kananishi, S., Sueki, K., Nakahara, H., Enomoto, S., & Ambe, F. (1995). In vivo behaviour of water-soluble fullerene derivatives. *Chemistry & Biology*, 2(6), 385–389.

Kim, W.-S. (2015). Recent progress on magnetic iron oxide nanoparticles: Synthesis, surface functional strategies and biomedical applications. *Science and Technology of Advanced Materials*, 16(2), 023501.

Kovalenko, M. V., Protesescu, L., & Bodnarchuk, M. I. (2020). Properties and potential optoelectronic applications of lead halide perovskite nanocrystals. *Science*, 358(6364), 745–750.

Khanizadeh, P., Mumivand, H., Morshedloo, M. R., & Maggi, F. (2024). Application of Fe₂O₃ nanoparticles improves the growth, antioxidant power, flavonoid content, and essential oil yield and composition of *Dracocephalum kotschy* Boiss. *Frontiers in Plant Science*, 15, 1475284.

Khene L, Berrebbah H, Yahyaoui A, Bouarroudj T, Zouainia S, Kahli H, Bourayou C, (2017). Biomarkers of oxidative stress, lipid peroxidation and ROS production induced by TiO₂ microparticles on snails *Helix aspersa*. *Studia Universitatis*, 27(2), 127-133.

📖 L

Lacava, L. M., Lacava, Z. G. M., Azevedo, R. B., Chaves, S. B., Garcia, V. A. P., Silva, O., ... & Morais, P. C. (2002). Use of magnetic resonance to study biodistribution of dextran-coated magnetic fluid intravenously administered in mice. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 252 (1–3), 367–369.

Lademann, J., Weigmann, H.-J., Rickmeyer, C., Barthelmes, H., Schaefer, H., Mueller, G., & Sterry, W. (1999). Penetration of titanium dioxide microparticles in a sunscreen formulation into the horny layer and the follicular orifice. *Skin Pharmacology and Applied Skin Physiology*, 12(5), 247–256.

- Larue, C., Veronesi, G., Flank, A. M., Surble, S., Herlin-Boime, N., & Carrière, M. (2012).** Comparative uptake and impact of TiO₂ nanoparticles in wheat and rapeseed. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 75(12), 722–734.
- Laurent, S., Forge, D., Port, M., Roch, A., Robic, C., Vander Elst, L., & Müller, R. N. (2008).** Magnetic iron oxide nanoparticles: Synthesis, stabilization, vectorization, physicochemical characterizations, and biological applications. *Chemical Reviews*, 108(6), 2064–2110.
- Li, N. (2006).** Toxic potential of materials at the nanolevel. *Science*, 311(5761), 622–627.
- Liu, G., Gao, J., Ai, H., & Chen, X. (2013).** Applications and potential toxicity of magnetic iron oxide nanoparticles. *Small*, 9(9–10), 1533–1545.
- Lopes-Lima, M., Froufe, E., Ghamizi, M., Mock, K. E., Kebapçı, Ü., Klishko, O. (2017).** Phylogeny of the most species-rich freshwater bivalve family (Bivalvia: Unionida: Unionidae): Defining modern subfamilies and tribes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 106, 174–191.

📖 M

- Mädler, L., Velegol, D., Xia, T., Hoek, E. M. V., Somasundaran, P., ... & Thompson, M. (2009).** Understanding biophysicochemical interactions at the nano-bio interface. *Nature Materials*, 8(7), 543–557.
- Ma, H., & Diamond, S. A. (2013).** Phototoxicity of TiO₂ nanoparticles to zebrafish (*Danio rerio*) is dependent on life stage. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 32(9), 2139–2143.
- Matea, C. T., Mocan, T., Zaharie, F., Iancu, C., & Mocan, L. (2022).** Nanoparticle classification, physicochemical properties, characterization, and applications: A comprehensive review for biologists. *Journal of Nanobiotechnology*, 20(1), Article 262.
- Matthias, A., Roth, A., & Bauer, H.-D. (2010).** High surface area iron oxide nanoparticles and their adsorption properties. *Journal of Colloid and Interface Science*, 348(1), 88–95.
- Matthias, C. (2010).** Surface chemistry and adsorption properties of iron oxide nanoparticles. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 366(1–3), 1–10.
- Mitrano, D. M., Motellier, S., Clavaguera, S., & Nowack, B. (2015).** Review of nanomaterial aging and transformations through the life cycle of nano-enhanced products. *Environment International*, 77, 132–147.
- Mobarak, S.A. (2016).** The malformation effect of chlorfluazuron on the reproductive system of land snail *Eobania vermiculata*. *The Journal of Basic & Applied Zoology*, 74, 51–55.
- Mohammadzadeh, A., Taghavifar, H., Zhang, Y., & Zhang, W. (2024).** A fast nonsingleton type-3 fuzzy predictive controller for nonholonomic robots under sensor and actuator faults and measurement errors. *IEEE Transactions on Systems, Man, and Cybernetics: Systems*, 54(7), 4175–4187.
- Mumivand, H., Morshedloo, M. R., & Maggi, F. (2024).** Application of Fe₂O₃ nanoparticles improves the growth, antioxidant power, flavonoid content, and essential oil yield and composition of *Dracocephalum kotschy* Boiss. *Frontiers in Plant Science*, 15, 1475284.

📖 N

- Nel, A., Xia, T., Mädler, L., & Li, N. (2006).** Toxic potential of materials at the nanolevel. *Science*, 311(5761), 622–627.
- Nel, A. E., Mädler, L., Velegol, D., Xia, T., Hoek, E. M. V., Somasundaran, P., ... & Thompson, M. (2009).** Understanding biophysicochemical interactions at the nano-bio interface. *Nature Materials*, 8(7), 543–

557.

Nowack, B., Ranville, J. F., Diamond, S., Gallego-Urrea, J. A., Metcalfe, C., & Rose, J. (2012). Potential scenarios for nanomaterial release and subsequent alteration in the environment. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 31(1), 50–59.

Naqvi, S., Samim, M., Abdin, M. Z., Ahmed, F. J., Maitra, A. N., Prashant, C. K., & Dinda, A. K. (2010). Concentration-dependent toxicity of iron oxide nanoparticles mediated by increased oxidative stress. *International Journal of Nanomedicine*, 5, 983–989.

O

Oberdorster, G., Stone, V., & Donaldson, K. (2007). Toxicology of nanoparticles: A historical perspective. *Nanotoxicology*, 1(1), 2–25.

Olsen, S. I., et al. (2010). The importance of life cycle concepts for the development of safe nanoproducts. *Toxicology*, 269(2–3), 160–169.

Ostiguy, C. (2008). Les effets sur la santé reliés aux nanoparticules (2^e éd.). Institut national de recherche et de sécurité (INRS).

Ostiguy C., Soucy B., Lapointe G., Woods C., and Ménard L. (2008). Les effets sur la santé reliés aux nanoparticules. Technical report, IRSST – Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail.

P

Perreault, F. (2012). Toxicité des nanoparticules métalliques chez différents modèles biologiques [Thèse de doctorat, Université du Québec à Montréal]. Archipel.

Peters, J. I., & Williams, R. O., III. (2008). Inhaled nanoparticles—A current review. *International Journal of Pharmaceutics*, 356(1–2), 239–247.

Pirastu, L., Sirois, L., Matias, W. G., & Popovic, R. (2012). The stability and dissolution of functionalized carbon nanotubes and their effects on heterotrophic and autotrophic growth of *Chlorella vulgaris*. *Nanotoxicology*, 6(6), 582–591.

Popple, I., & Tribune, M. G. (2002). Are snails' "Love Darts" source of Cupid lore? *National Geographic News*, 63, 211–243.

Preveen, F., & Miyata, T. (2000). Effects of sublethal dose of chlorfluazuron on ovarian development and oogenesis in the common cutworm *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 93(6), 1131–1137.

Q

Qiao, X., Bao, L., Liu, G., & Cui, X. (2024). Nanomaterial journey in the gut: from intestinal mucosal interaction to systemic transport. *Nanoscale*, 16(31), 19207–19220.

R

Racuciu, M., & Creanga, D. (2007). Cytogenetic changes induced by aqueous ferrofluids in agricultural plants. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 311(1), 288–290.

Regoli, F., Giorgi, G., & Corsi, I. (2019). The use of *Helix aspersa* in ecotoxicology: Advances in bioaccumulation studies and ecological implications. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 38(9), 1967–1978.

Regoli, F., Gorbi, S., Fattorini, D., Tedesco, S., Notti, A., Machella, N., Bocchetti, R., Benedetti, M., & Piva, F. (2006). Use of the land snail *Helix aspersa* as sentinel organism for monitoring ecotoxicologic effects of urban pollution: An integrated approach. *Environmental Health Perspectives*, 114(1), 63–69.

Rico, C. M., Majumdar, S., Duarte-Gardea, M., Peralta-Videa, J. R., & Gardea-Torresdey, J. L. (2011). Interaction of nanoparticles with edible plants and their possible implications in the food chain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(8), 3485–3498.

Rodrigues, C. C., Caixeta, M. B., Ribeiro, G. S., Silva, L. D., Araújo, O. A., & Rocha, T. L. (2025). Differential bioaccumulation and histopathological changes induced by iron oxide nanoparticles and ferric chloride in the neotropical snail *Biomphalaria glabrata*. *Chemosphere*, 371, 144065.

Rouabhi, R., & Berrebbeh, H. (2009). Relationship between air pollution generated by traffic emission and cardiopulmonary disease in Annaba (Algérie). *American Eurasian Journal of Toxicological Sciences*, 1(1), 1–6.

Rui, Y., Cao, W., Deng, Y., Liu, L., & Xing, B. (2016). The effects of Fe₂O₃ nanoparticles on physiology and insecticide activity in non-transgenic and Bt-transgenic cotton. *Frontiers in Plant Science*, 6, Article 1263.

S

Sanchez, C. (2013). La chimie des matériaux hybrides – une chimie douce au service de la science des matériaux. *L'Annuaire du Collège de France*, 116, 103–117.

Sanchez, C., Belleville, P., Popall, M., & Nicole, L. (2020). Applications of advanced hybrid organic–inorganic nanomaterials: From laboratory to market. *Chemical Society Reviews*, 49(2), 696–753.

Saxena, N., Parmar, D., Das, M., & Dhawan, A. (2012). DNA damaging potential of zinc oxide nanoparticles in human epidermal cells. *Toxicology Letters*, 185(3), 211–218.

Sharma, V., Anderson, D., & Dhawan, A. (2012). Zinc oxide nanoparticles induce oxidative stress and genotoxicity in human liver cells (HepG2). *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 8(12), 2133–2145.

Sun, T. Y., Gottschalk, F., Hungerbühler, K., & Nowack, B. (2014). Comprehensive probabilistic modelling of environmental emissions of engineered nanomaterials. *Environmental Pollution*, 185, 69–76.

Sidiropoulou, E., Feidantsis, K., Kalogiannis, S., Gallios, G. P., Kastrinaki, G., Papaioannou, E., Václavíková, M., & Kaloyianni, M. (2018). Insights into the toxicity of iron oxides nanoparticles in land snails. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 206–207, 1–10.

Soltani, N., Soltani-Mazouni, N. (1992). Diflubenzuron and oogenesis in the codling moth *Cydia pomonella* (L). *Pesticide Science*, 34, 257–261.

Soltani, N., Rehim, N., Drardja, H., & Bendali, F. (1999). Activité du triflumuron à l'égard de *Culex pipiens* et impacts sur deux espèces larvivoires non visées. *Annales de la Société Entomologique de France*, 35, 59–64.

T

Tang, Y., & Liu, J. (2021). Phosphorene: Synthesis, properties, and applications. *Advanced Materials*, 33(12), 2005890.

Tomalia, D. A. (2004). Birth of a new macromolecular architecture: Dendrimers as quantized building blocks for nanoscale synthetic organic chemistry. *Aldrichimica Acta*, 37(2), 39–57.

- Tompa, A. S., et al. (1984).** *Reproductive biology of invertebrates* (Vol. 7, pp. 307–330). Wiley.
- Triboulet, S. (2013).** Etude des effets de deux types de nanoparticules métalliques sur des macrophages murins par une approche protéomique [Thèse de doctorat, Université de Grenoble].
- Triboulet, S., Adué-Garcia, C., Armand, L., Diemer, H., Promer, F., Collin- Faure, V., ... & Van-Dorsselaer, A. (2014).** Analysis of cellular responses of macrophages to zinc ions and zinc oxide nanoparticles: A combined targeted and proteomic approach. *Nanoscale*, 6(11), 6102-6114.
- Triboulet, J., Lemoine, M., & Brémard, A. (2014).** Nanoparticles in the environment: Risks and toxicological implications. *Science of the Total Environment*, 474, 116–126.
- Triboulet, S., Aude-Garcia, C., Armand, L., & Rabilloud, T. (2014).** Comparative proteomic analysis of the molecular responses of mouse macrophages to titanium dioxide and copper oxide nanoparticles unravels some toxic mechanisms for copper oxide nanoparticles in macrophages. *PLOS ONE*, 9(3), e92901.

📖 V

- Valerio-Rodríguez, M. F., Trejo-Téllez, L. I., Aguilar-González, M. Á., Medina-Pérez, G., Zúñiga-Enríquez, J. C., Ortega-Pérez, A., & Fernández-Luqueño, F. (2020).** Effects of ZnO, TiO₂ or Fe₂O₃ nanoparticles on the body mass, reproduction, and survival of *Eisenia fetida*. *Polish Journal of Environmental Studies*, 29(3), 2383–2394.
- Vidal, M. L. (2001).** Etude de marqueurs biochimiques de pollution chez le mollusque bivalve d'eau douce *Corbicula fluminea* (Muller)- Purification et caractérisation des Glutathion S Transférases [Thèse de doctorat, Université de Bordeaux].
- Vindedahl, A. S. (2016).** Environmental fate of engineered nanoparticles and their interactions with soil and water ecosystems. *Environmental Science & Technology*, 50(2), 761–772.
- Vindedahl, A. M., Strehlau, J. H., Arnold, W. A., & Penn, R. L. (2016).** Organic matter and iron oxide nanoparticles: Aggregation, interactions, and reactivity. *Environmental Science: Nano*, 3(3), 494–505.

📖 W

- Wang, H. H., Kou, X. M., Pei, Z. G., Xiao, J. Q., Shan, X. Q., & Xing, B. S. (2011).** Physiological effects of magnetite (Fe₃O₄) nanoparticles on perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) and pumpkin (*Cucurbita mixta*) plants. *Nanotoxicology*, 5(1), 30–42.
- Witschger, O., & Fabriès, J.-F. (2005a).** Particules ultra-fines et santé au travail 1—Caractéristiques et effets potentiels sur la santé. *Hygiène et Sécurité du Travail—Cahiers de Notes Documentaires INRS*, 199, 21–35.
- Witschger, O., & Fabriès, J.-F. (2005b).** Particules ultra-fines et santé au travail 2—Sources et caractérisation de l'exposition. *Hygiène et Sécurité du Travail—Cahiers de Notes Documentaires INRS*, 199, 37–54.
- Wu, W., Wu, Z., Yu, T., Jiang, C., & Kim, W. S. (2015).** Recent progress on magnetic iron oxide nanoparticles: synthesis, surface functional strategies and biomedical applications. *Science and Technology of Advanced Materials*, 16(2), 023501.

📖 X

Xie, W., Xiong, Z., Wang, H., Liu, X., Cui, H., Huang, Q., & Tang, Y. (2024). The nanosafety assessment of engineered nanomaterials under a dermal exposure scenario: From key molecular events to in silico modeling tools. *Environmental Science: Nano*, 11(3), 708–738.

📖 Y

Yamakawa, H., & Hakata, M. (2010). Atlas of early grain development in rice (*Oryza sativa* L.): Comparative analysis with other cereals. *Plant Cell Physiology*, 51(1), 1–15.

Yang, F., Hong, F., You, W., Liu, C., Gao, F., Wu, C., & Yang, P. (2018). Influence of nano-anatase TiO₂ on the nitrogen metabolism of growing spinach. *Biological Trace Element Research*, 110(2), 179–190.

Yu, L. (2018). Understanding the ecological impacts of nanoparticles: A focus on their environmental interactions and long-term effects. *Environmental Research*, 162, 171–181.

Yu, S. J., Yin, Y. G., & Liu, J. F. (2018). Nanoparticle aggregation in the environment: From fundamental understanding to mechanistic modeling. *Environmental Science: Nano*, 5(3), 632–644.

📖 Z

Zeyons, O. (2008). *Etudes des interactions physicochimiques et biologiques entre des nanoparticules manufacturées et des bactéries de l'environnement* [Thèse de doctorat, Université Paris VI - Pierre et Marie Curie].

Zhao, C., Liu, B., Piao, S., Wang, X., Lobell, D. B., Huang, Y., ... & Asseng, S. (2017). Temperature increase reduces global yields of major crops in four independent estimates. *Proceedings of the National Academy of sciences*, 114(35), 9326–9331.

Zhou, X., Jin, W., & Ma, J. (2023). Lung inflammation perturbation by engineered nanoparticles. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 11, 1199230.

Zhang, Y., Liu, T., Hu, X., Wang, M., Wang, J., Zou, B., Tan, P., Cui, T., Dou, Y., Ning, L., Li, Y., Liu, Y., Zhou, D., & Zhang, Z. (2021). ScRNA-seq reveals the complexity of the tumor microenvironment and the activation of anti-tumor immunity in early-stage lung adenocarcinoma. *Clinical and Translational Medicine*, 11(12), e578.

Zhang, Z., Wang, L., Wang, J., Jiang, X., Li, X., Hu, Z., Ji, Y., Wu, X., & Chen, C. (2022). Mesoporous silica-coated gold Nanorods as a light-mediated multifunctional theranostic. *Platform for cancer treatment. advanced materials*, 34(35), e2205637.

Zhao, Z.-G., & Huang, S.-Q. (2013). Differentiation of floral traits associated with pollinator preference in a generalist-pollinated herb, *Trollius ranunculoides* (*Ranunculaceae*). *International journal of plant sciences*, 174(4), 637–646.

Résumé

La présente étude vise à évaluer la toxicité des nanoparticules de Fe₂O₃ chez *Helix aspersa*, un gastéropode terrestre reconnu pour ses capacités de bioaccumulation et son rôle de bioindicateur en écotoxicologie. Des escargots subadultes ont été exposés à trois concentrations croissantes de NPs de Fe₂O₃ (100, 1000 et 5000 mg/L) par voie topique pendant 14 jours. Les biomarqueurs du stress oxydatif (GSH, CAT) ont été analysés dans l'hépatopancréas, le rein et les hémocytes, tandis que la vitellogénine, indicateur de perturbation endocrinienne, a été évaluée au niveau de la glande albumen. Les résultats ont révélé une diminution dose-dépendante du taux de GSH, traduisant l'activation du système de détoxification. Parallèlement, une augmentation significative de l'activité CAT a été observée, suggérant une réponse adaptative au stress oxydatif. Une réduction notable des taux de protéines albuminiques (vitellogénine) a également été constatée, indiquant une altération de la fonction reproductrice. Ces perturbations physiologiques confirment que les nanoparticules du Fe₂O₃ induisent un stress oxydatif et affectent la reproduction chez *Helix aspersa*, validant ainsi ce gastéropode comme un bioindicateur terrestre pertinent de la nanotoxicité. Mots clés : Fe₂O₃, nanoparticules, *Helix aspersa*, GSH, CAT, bioaccumulation, stress oxydatif, vitellogénine, bioindicateur, nanotoxicité.

Abstract

This study aims to evaluate the toxicity of Fe₂O₃ nanoparticles in *Helix aspersa*, a terrestrial gastropod recognized for its bioaccumulation capacity and role as a bioindicator in ecotoxicology. Subadult snails were topically exposed to three increasing concentrations of Fe₂O₃ NPs (100, 1000, and 5000 mg/L) for 14 days. Oxidative stress biomarkers (GSH, CAT) were analyzed in the hepatopancreas, kidney, and hemocytes, while vitellogenin, an indicator of endocrine disruption, was assessed in the albumen gland. The results revealed a dose-dependent decrease in GSH levels, indicating the activation of the detoxification system. At the same time, a significant increase in CAT activity was observed, suggesting an adaptive response to oxidative stress. A notable reduction in albumin protein levels (vitellogenin) was also recorded, indicating an alteration in reproductive function. These physiological disturbances confirm that Fe₂O₃ nanoparticles induce oxidative stress and affect reproduction in *Helix aspersa*, validating this gastropod as a relevant terrestrial bioindicator for nanotoxicity assessment. Keywords: Fe₂O₃, nanoparticles, *Helix aspersa*, GSH, CAT, bioaccumulation, oxidative stress, vitellogenin, bioindicator, nanotoxicity.

الملخص

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم سمية NPs (Fe₂O₃) في *Helix aspersa* ، وهي بطنات الأقدام الأرضية المعروفة بقدرتها على التراكم الحيوي ودورها كمؤشر حيوي في علم السموم البيئية.

تم تقسيم أربعين حلزوناً دون البلوغ (5-6 جم) إلى أربع مجموعات مكونة من 10 أفراد. تم تعريض ثلاثة تركيزات متزايدة من NPs (Fe₂O₃) (100، 1000 و 5000 ملغم/لتر) موضعياً يومياً لمدة 14 يوماً .

تم تحليل المؤشرات الحيوية للإجهاد التأكسدي (GSH) ، (CAT) واضطراب الغدد الصماء (فيتيلوجينين) وأظهرت النتائج انخفاضاً معتمداً على الجرعة في الجلوتاثيون المختزل (GSH) ، مما يشير إلى ضعف دفاعات مضادات الأكسدة. وفي الوقت نفسه، لوحظت زيادة كبيرة في نشاط الكاتالاز (CAT) ، مما يشير إلى استجابة تكيفية للإجهاد التأكسدي. وكان هناك أيضاً انخفاض كبير في مستويات الفيتيلوجينين، مما يشير إلى ضعف الوظيفة الإنجابية.

تؤكد هذه الاضطرابات الفيزيولوجية أن NPs (Fe₂O₃) يحفز الإجهاد التأكسدي ويؤثر على التكاثر في *Helix aspersa* ، وبالتالي التحقق من صحة بطنات الأقدام هذه كمؤشر حيوي أرضي ذي صلة بالسمية النانوية.

الكلمات المفتاحية: NPs (Fe₂O₃) ، *Helix aspersa* ، GSH ، CAT ، التراكم الحيوي ، الإجهاد التأكسدي ، فيتيلوجينين ، المؤشر الحيوي ، السمية النانوية.