



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 بوعريريج
Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi- B.B.A.

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الارض 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 : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences biologiques
Spécialité : Toxicologie

Intitulé

**La toxicité d'un néonicotinoïde thiaméthoxame à l'égard
d'*Helix aspersa***

Présenté par : - Attia Hadjila
- Beghoura Ikram

Soutenu le : septembre 2020 ;

Devant le jury :

Président :	M ^r Sid Nassim	MCB
Encadreur:	M ^{me} Benradia Hamida	MCB
Examineur :	M ^{me} Moumeni Ouissem	MAB

Année universitaire : 2019/2020

Remerciements :

En préambule à ce mémoire nous remerciant ALLAH qui nous aide et nous donne la patience et le courage durant ces longues années d'étude

Nous tenons à remercier sincèrement Madame : Benradia Hamida, Maitre de conférences B à l'Université de Bordj Bou Arerridj, d'avoir bien assuré la direction et l'encadrement de notre mémoire. Elle s'est toujours montrée à l'écoute et très disponible tout au long de la réalisation de ce mémoire. Merci pour son aide, son inspiration et le temps qu'elle nous a consacré ; sans elle ce mémoire n'aurait jamais vu le jour.

Un grand remerciement aux membres du jury :

Mr Sid Nassim Maitre-assistant à l'Université de Bordj Bou Arerridj, de nous avoir fait l'honneur en acceptant de présider le jury.

Mme Moumeni Ouissem Maitre de conférences B à l'Université de Bordj Bou Arerridj, pour nous avoir fait honneur et plaisir en acceptant d'examiner ce travail.

Nous exprimons également nos remerciements aux membres de la faculté des sciences de la nature et de la vie et de science de la terre et l'univers, ainsi qu'à tous les enseignants. Merci vivement pour vos conseils, pour nous faire partager vos expériences qui ont contribué à nous donner une formation solide tout au long de nos années d'études

Nous souhaitons adresser nos remerciements les plus sincères aux personnes qui nous ont apporté leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce mémoire ainsi qu'à la réussite de cette année universitaire

« Nos remerciements s'adressent également à ceux qui ont contribué de loin ou de près à la réalisation de ce travail »

À mes chers parents :

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.

Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.

Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, bien que je ne vous en acquitterai jamais assez.

Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.

À mes chers et adorable frères et sœurs :

Hanane, la prunelle de mes yeux,

Kamar, la douce, au cœur si grand,

Rabie, le généreux

Sohaib mon petit frère que j'adore.

À ma belle copine : Loubna

Sans oublier ma chère amie ma sœur, ma meilleur binôme: Hadjila

Ikram

*À ma grand-mère c'est la personne la plus idéale dans ce monde
que je le dédie*

*À une personne qui a transféré la vie, l'amour et le courage, à
vous ma chère mère toutes mes joies, mon amour et ma gratitude*

À mon père ma réussite, tout mon respect

À mes chers frères : Walid, Racim et Mehdi

*À mon adorable petite sœur : Amira Dounia qui sait toujours
comment procurer la joie et le bonheur pour toute la famille*

*À ma tante qui m'a soutenu et encouragé durant mon enfance et
même à l'âge adulte*

*À mes chères : Hanane ; Yasser; fifi ; Kamar qui me donnent le
bonheur et de la vivacité*

*Sans oublier mon binôme ma sœur : Ikram pour son soutien
moral sa patience et sa compréhension et je veux remercier
toute sa famille et particulièrement rabie*

Hadjila

Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction..... 01

Chapitre I : Synthèses bibliographique

I. Les produits phytosanitaires..... 03

I.1.Définition..... 03

I.2.Historique..... 03

I.3. Le marché mondial des produits phytosanitaires..... 05

II. Les néonicotinoïdes..... 06

II.1. Définition..... 06

II.2. Mode d'action de néonicotinoïdes..... 06

III. Thiaméthoxame..... 08

III.1. Définition..... 08

III.2. Propriétés physicochimiques..... 09

VI. Modèle biologique Helix aspersa..... 10

VI.1. Description du modèle biologique..... 10

VI. 2. Distribution géographique des escargots..... 11

VI.3. Morphologie de l'escargot..... 11

VI.4. Anatomie interne de l'escargot..... 12

VI.5. Croissance et survie de l'escargot..... 12

VI.6. Reproduction et ponte 13

V. Evaluation de la toxicité des polluants..... 14

V.1. Les organismes utilisés..... 14

V.2. Les tests écotoxicologiques..... 15

V.3.Biomarqueurs..... 16

Chapitre II : Synthèse des travaux

I. Expérimentation..... 18

I.1. Détermination de la toxicité d'un xénobiotique..... 18

I.2. Mesure des biomarqueurs.....	19
I.2.1. Dosage de l'acétylcholinestérase.....	19
I.2.2. Dosage de la glutathion S transférase.....	20
I.2.3. Dosage des protéines.....	21
II. Synthèse des résultats ultérieurs.....	22
II.1. Toxicité du Thiaméthoxame.....	22
II.2. Dosage des biomarqueurs.....	23
II.2.1. La glutathion S transférase.....	23
II.2.2. L'acétylcholinestérase.....	24
3. Conclusion et Perspectives.....	26
5. Références bibliographiques.....	27

Résumés

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
01	Historique de l'évolution des trois grandes familles de produits phytosanitaires (Pener & Dhadialla, 2012).	05
02	Propriétés physico-chimiques du thiaméthoxam (A.R.L.A.S.C., 2007)	09
03	Les différents types de réponses étudiées chez les organismes bioindicateurs de la faune du sol (Ac : Acariens, Col : Collemboles, Ench : Enchytréides, V d T : Vers de Terre, Isop : Isopodes, Gast : Gastéropodes) Cortet et al. (1999)	15
04	Principaux biomarqueurs selon d'OSPAR (Vasseur et Cossu-Leguillée, 2003).	17
05	Dosage des protéines, réalisation de la gamme d'étalonnage	21

Liste des figures

N	Titre	Page
01	Marché mondial des produits phytosanitaires (d'après le rapport d'activité UIPP 2011/2012)	05
02	Structure du récepteur nicotinique à l'acétylcholine (d'après Millar & Lansdell 2010)	06
03	Structure chimique des huit insecticides néonicotinoïdes commercialisés	08
04	Structure chimique du thiaméthoxame (A.R.L.A.S.C., 2007).	09
05	Photographie de l'escargot <i>Helix aspersa</i> (Bairi, 2018).	11
06	Anatomie interne de l'escargot (Gireuad, 2008).	12
07	Schéma de conjugaison d'un substrat avec le glutathion réalisé par une GST (Benradia, 2016).	24
08	Représentation schématique d'une synapse cholinergique entre deux neurones (Bodereau, 2011).	25

Introduction

Les activités anthropiques, en constante intensification, induisent une grande diversité de pollutions environnementales, et en particulier des pollutions chimiques de l'air, du sol, des sédiments et de l'eau entraînant ainsi une perturbation de l'écosystème (**Rhind, 2009 ; Sandermann, 2004**).

Les sols sont l'écosystème le plus précieux au monde (**Pepper et al., 2009**) ; et ce, en raison de leur rôle dans la production et la qualité des aliments, dans la régulation du climat et dans la fourniture de matières premières.

Cependant, les activités humaines (industrielles, et agricoles) des derniers millénaires ont laissé un legs de sols pollués un peu partout dans le monde (**Swartjes, 2011**). Ce qui pose un risque grave pour la santé humaine par contact direct (exposition cutanée ou inhalation de particules polluées provenant du sol) ou indirectement, par la consommation de plantes ou d'animaux qui ont accumulé de grandes quantités de polluants du sol. (**FAO et ITPS, 2015**). En conséquence, la contamination des sols par les polluants issus de ces activités présente une importance majeure engendrant un impact sanitaire et environnemental qu'il est nécessaire d'évaluer (**Grand et al., 2012**).

Toutefois, les utilisations abusives de produits agrochimiques, comme la fertilisation excessive et l'application incontrôlée de pesticides, ont été identifiées comme les principales sources de pollution dans les terres agricoles. Néanmoins, l'utilisation des pesticides dans la lutte contre les ravageurs des cultures est une nécessité mais ce moyen de lutte n'est pas sans risque et peut entraîner des effets non intentionnels qui se manifestent par une toxicité chez les organismes non cibles (**Chahbar et al, 2011**).

De plus, Les pesticides sont caractérisés par leur stabilité et leur résistance aux processus de dégradation dans l'environnement, ainsi que par leur tendance à s'accumuler dans les chaînes alimentaires (**Marliere, 2000**). Il est rapidement apparu que ces produits peuvent engendrer des dangers pour l'environnement, la biodiversité et la santé humaine grâce aux infiltrations des substances non dégradables dans les sols, dans les sources et les nappes, puis vers les végétaux, les animaux et nécessairement l'Homme (**Bouziani, 2007 ; Ukpebor & Halsall, 2012**).

Par ailleurs, de nombreuses études épidémiologiques ont mis en évidence une corrélation entre l'utilisation professionnelle des pesticides et l'apparition de certaines pathologies dans les populations concernées. Des effets cancérigènes, neurotoxiques ou de type perturbation endocrinienne des pesticides ont été mis rapportées chez l'animal. La question des risques pour l'homme est donc posée tant au niveau professionnel qu'à celui du consommateur (**Merhi, 2008**).

L'utilisation des invertébrés comme bioindicateurs de la qualité des écosystèmes a une longue histoire dans les milieux aquatiques (**Phillips, 1977**) et terrestres (**Eijsackers, 1983**). Selon la définition générale de **Spellerberg (2005)**, un indicateur biologique peut être défini comme une espèce reflétant l'état du milieu dans lequel elle vit.

Plus récemment, on s'est intéressé à la faune du sol et notamment aux Escargots (Mollusques, Gastéropodes, Pulmonés) (**Gimbert, 2006**). Ils sont reconnus comme des indicateurs écologiques pertinents (**Berger & Dallinger, 1993 ; Corotet et al., 1999**). En effet, ils représentent une biomasse significative au sein de la communauté des invertébrés du sol (**Dallinger et al., 2001**) et occupent une situation privilégiée à l'interface sol-plante-atmosphère (**Barker, 2001**). De plus, ils intègrent des sources et voies de contamination multiples et possèdent des capacités de bioaccumulation importantes pour de nombreux polluants organiques (**Coeurdassier et al., 2001 ; Sverdrup et al., 2006**). Enfin, ils représentent des réponses biochimiques (**Coeurdassier et al., 2001 ; Ismert et al., 2002 ; Regoliet et al., 2006**) quand ils sont exposés aux contaminants et constituent un élément des réseaux trophiques qui contribue au transfert des polluants du sol et/ou des plantes aux prédateurs (**Beedy, 1985 ; Laskowski & Hopkin, 1996b ; Scheifler et al., 2002**).

En Algérie, l'actara (matière active thiaméthoxam) est le premier insecticide représentant des néonicotinoïdes, utilisé en raison de son efficacité à faibles doses (**Maienfischet et al., 2001**). Malgré cela, il présente des risques pour l'environnement, notamment en raison de sa haute toxicité pour les espèces non visées (**Henry et al., 2012 ; Cresswell, 2011**).

C'est dans ce contexte que ce manuscrit vise à évaluer la toxicité d'un néonicotinoïde le thiaméthoxame à l'égard d'une espèce non visée *Helix aspersa*. La structure retenue dans ce manuscrit. Le chapitre 1 est une synthèse bibliographique permettant une meilleure compréhension de la thématique exposée. Le chapitre 2 comporte une synthèse des travaux faits ultérieurement et qui converge avec notre objectif, ce dernier se divise en deux parties : la première décrit les méthodes et protocole réalisés par les auteurs ayant travaillé sur le même

axe de recherche tandis que la seconde partie développe une discussion des résultats des recherches déjà exploités dans ce domaine. Et enfin, une conclusion.

Synthèse bibliographique

I. Les produits phytosanitaires

I.1.Définition

Produit phytosanitaires encore appelés produits phytopharmaceutiques désigne une substance ou association de substances chimiques naturelles ou de synthèse utilisées en agriculture destinée à repousser, détruire ou combattre les différentes sortes de nuisibles maladies, ravageurs et mauvaises herbes (**El Bakouri, 2006; Boland, 2004**) ou les espèces indésirables de plantes ou d'animaux causant des dommages durant la production des produits agricoles (**Ait Hamlet, 2013; Inserm, 2013; OMS, 1991; Dorothée, 2011; Calvet, 2005**). C'est un terme générique qui rassemble les insecticides, les fongicides, les herbicides et les parasitocides conçus pour avoir une action biocide

I.2.Historique

L'utilisation des produits phytosanitaires en agriculture remonte à l'Antiquité : par l'usage du soufre à la Grèce antique (1000 ans avant J.-C.) et l'arsenic était recommandé par Pline (**Calvet., 2005**), naturaliste romain, en tant qu'insecticide. Des plantes connues pour leurs propriétés toxiques ont été utilisées comme PPP (par exemple les aconits, au Moyen Âge, contre les rongeurs). (**Schiffers., 2012**)

Aussi, les produits arsenicaux ou à base de plomb étaient utilisés au XVI^e siècle en Chine et en Europe. Les propriétés insecticides du tabac étaient connues dès 1690. En Inde, les jardiniers utilisaient les racines de Derris et Lonchocarpus, contenant de la roténone, comme insecticide.

La chimie minérale s'est ensuite développée au XIX^e siècle fournissant de nombreux PPP minéraux à base de sels de cuivre. Les fongicides à base de sulfate de cuivre se répandent, dont la bouillie bordelaise (mélange de sulfate de cuivre et de chaux) utilisée pour lutter contre des invasions fongiques, dont le mildiou de la vigne et de la pomme de terre. Cependant, l'utilisation massive de ce produit est controversée, car elle a engendré une pollution sur les sols, un excès de cuivre entraînant une destruction de la microflore du sol.

L'ère des PPP de synthèse débute vraiment dans les années 1930, profitant du développement de la chimie organique de synthèse et de la recherche sur les armes chimiques durant la première guerre mondiale. En 1874, Zeidler synthétisait le DDT (dichlorodiphényltrichloroéthane), dont Muller en 1939 établit les propriétés insecticides. Le

DDT est commercialisé dès 1943 et ouvre la voie à la famille des organochlorés. Le DDT a dominé le marché des insecticides jusqu'au début des années 1970. En 1944, l'herbicide 2,4- D, copié sur une hormone de croissance des plantes, est synthétisé. Cet herbicide était utilisé comme constituant de l'agent orange, un mélange d'herbicides utilisé durant la guerre du Vietnam et responsable de nombreuses maladies (cancers, malformations à la naissance, ...). La seconde guerre mondiale a généré, à travers les recherches pour la mise au point de gaz de combat, la famille des organophosphorés qui, depuis 1945, a vu un développement considérable ; cependant ces produits sont assez toxiques, et beaucoup ont été retirés du marché. **(Calvet, 2005)**

Afin de faire face aux problèmes de toxicité, d'effets néfastes ou d'apparition d'espèces résistantes, les industries chimiques ont développé au cours de la seconde moitié du XXe siècle, une deuxième génération d'insecticides de synthèse dont le principe actif est différent. Ce sont les organophosphorés (téméphos, malathion), les carbamates (carbaryl, propoxur) et les pyréthrinoïdes de synthèse (perméthrine, deltaméthrine). Ces insecticides à action neurotoxique agissent sur le système nerveux des insectes, soit en bloquant l'acétylcholinestérase (organophosphorés et carbamates) soit en perturbant le fonctionnement des canaux sodium (pyréthrinoïdes) **(Haubruege & Amichot, 1998)**. Leur forte capacité insecticide associée à une toxicité aiguë considérée modérée chez les mammifères et une stabilité relativement faible dans l'environnement (par rapport aux organochlorés) ont fait des organophosphorés et des carbamates, les principales classes d'insecticides les plus utilisés dans le monde **(Casida & Durkin, 2013)**.

L'apparition des effets secondaires des insecticides (neurotoxiques) et les impératifs environnementaux, ont encouragé la recherche de méthodes alternatives de lutte contre les ravageurs et les vecteurs de maladies. Les recherches se sont tournées vers l'utilisation des pesticides naturels ou biopesticides **(Maïza et al., 2013; Tomè et al., 2013; Cepeda-Palacios et al., 2014)**. Les bactéries comme *Bacillus thuringiensis* peuvent être utilisées car elles produisent des endotoxines délétères pour l'insecte **(Bravo et al., 2011)**. D'autres familles d'insecticides agissent au niveau de cibles bien distinctes tels que les néonicotinoïdes (imidaclopride, acetamepride) mimant l'action de la nicotine *via* les récepteurs de l'acétylcholine **(Tomizawa & Casida, 2003)**, les phénylpyrazoles (pyriprole) agissant sur les récepteurs GABAergiques **(Nauen et al., 2012)**, les oxadiazines ciblant les canaux sodium **(Wing et al., 2000)** ou encore les régulateurs de croissance des insectes (Insect growth

regulators: IGRs), renommés IGDs (Insect growth disruptors) ou perturbateurs de croissance des insectes appartenant aux insecticides de la troisième génération (Pener & Dhadialla, 2012).

Tableau 1 : historique de l'évolution des trois grandes familles de produits phytosanitaires. (Pener & Dhadialla, 2012).

Evolution des produits			
	HERBICIDES	FONGICIDES	INSECTICIDES
Avant 1900	Sulfate de cuivre Sulfate de fer	Soufre Sels de cuivre	Nicotine
1900 - 1920	Acide sulfurique		Sels d'arsenic
1920 - 1940	Colorants nitrés		
1940 - 1950	Phytohormones		Organo-chlorés Organo-phosphorés
1950 - 1960	Triazines, Urées substituées Carbamates	Dithiocarbamates Phtalimides	Carbamates
1960-1970	Dipyridyles, Toluidines...	Benzimidazoles	
1970 - 1980	Amino-phosphonates Propionates...	Triazoles Dicarboximides Amides, Phosphites Morholines	Pyréthriinoïdes Benzoyl-urées (régulateurs de croissance)
1980 - 1990	Sulfonyl urées...		
1990 - 2000		Phénylpyrroles Strobilurines	

I.3. Le marché mondial des produits phytosanitaires

Le marché mondial des produits phytosanitaires représente environ 40.5 milliards de dollars. Avec une consommation de 78 600 tonnes en 2010, Les herbicides représentent 26% du marché mondial des produits phytosanitaires, contre 3% pour les fongicides et 26 % pour les insecticides (Figure.1).

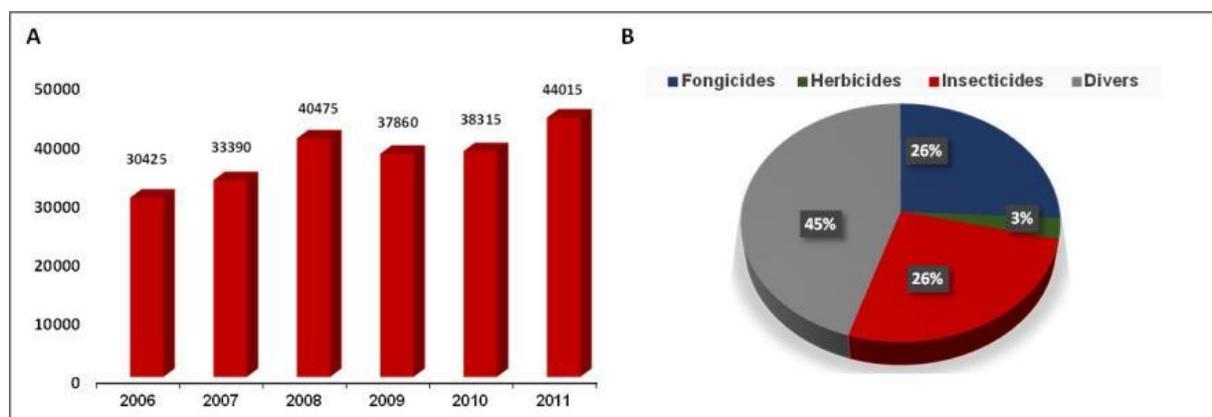


Figure 1. Marché mondial des produits phytosanitaires. (A) Evolution du marché mondial des produits phytosanitaires depuis 2006 (en million d'euros). (B) Répartition du marché mondial des produits phytosanitaires en 2010 (d'après le rapport d'activité UIPP 2011/2012)

II. Les néonicotinoïdes

II.1. Définition

Apparus autour des années 1990, les néonicotinoïdes constituent l'une des familles de pesticides les plus utilisées à l'heure actuelle sur les grandes cultures. Ces molécules sont généralement des dérivés chlorés qui ciblent, dans le cerveau des insectes, les récepteurs nicotiques de l'acétylcholine présents sur les neurones du système nerveux central.

II.2. Mode d'action de néonicotinoïdes

Le système cholinergique représente chez les insectes la principale voie de transmission excitatrice du système nerveux central (**Palmer et al. 2013**). L'acétylcholine est le neurotransmetteur libéré au niveau de la membrane présynaptique. Le récepteur nicotinique à l'acétylcholine (nAChR) est une combinaison de 5 sous-unités semblables (homomériques) ou différentes (hétéromériques). Ces sous-unités forment un canal à ouverture contrôlée, spécifique des ions Na⁺, K⁺ et Ca²⁺. Le récepteur est l'extrémité N-terminale d'une sous-unité, domaine extracellulaire : la fixation de l'acétylcholine entraîne l'ouverture du canal cationique puis une dépolarisation de la cellule nerveuse, à l'origine de la transmission du signal nerveux. (**Casida, Quistad 2004**)

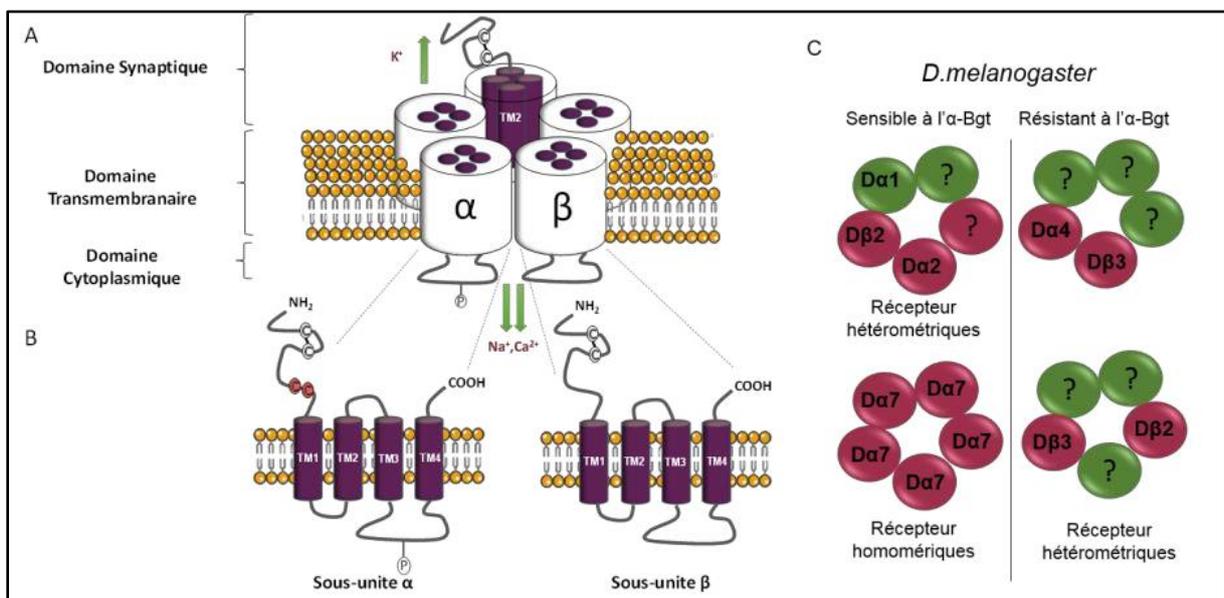


Figure 2. Structure du récepteur nicotinique à l'acétylcholine. (A) récepteur pentamérique formant un pore sélectif aux ions Na⁺, Ca²⁺, K⁺ à travers la membrane plasmique. (B) chaque sous-unité est composée de 4 domaines transmembranaires (TM1-TM4). La boucle intracellulaire entre le domaine

TM3 et TM4 présente un site potentiel de phosphorylation (**modifié d'après Thany et coll. 2007**). (C) Sous-types de récepteurs nicotiniques chez la drosophile (**modifié d'après Millar et Lansdell 2010**).

Les néonicotinoïdes sont agonistes de l'acétylcholine sur les récepteurs cholinergiques nicotiniques postsynaptiques. Leur liaison irréversible aux nAChRs entraîne une excitation continue des membranes des neurones, conduisant à l'épuisement des cellules puis à la mort de l'animal (**Belzunces et al., 2012**). La nature des liaisons en jeu et la structure chimique des sites impliqués sont connues avec précision. Les différents substituants des molécules de cette famille sont à l'origine d'une affinité plus ou moins forte pour les nAChRs. Au niveau intracellulaire, des mécanismes de phosphorylation peuvent également moduler cette affinité. Celle-ci est étroitement liée à l'activité insecticide (**Matsuda et al. 2001**). D'autres sites de liaison entreraient également en jeu dans l'activité des néonicotinoïdes, avec par exemple un rôle des canaux calciques voltage-dépendant (**Liu & Casida, 1993; Thany et al. 2007; Matsuda et al. 2001; Palmer et al., 2013; Simon-Delso et al., 2015**).

La dégradation de ces molécules ne peut se faire via l'acétylcholine-estérase, active ni sur la nicotine ni sur les néonicotinoïdes. Les mécanismes de détoxification au niveau des neurones sont très limités (**Simon-Delso et al., 2015; Casida, & Quistad, 2004**). Ceci entraîne une action prolongée de l'insecticide. De plus, parmi les nombreux métabolites formés, certains sont très toxiques et peuvent être à l'origine d'effets létaux et sublétaux retardés (**Suchail et al., 2004; Simon-Delso et al., 2015**).

Cette classe d'insecticides développée depuis les années 1970 comprend huit molécules correspondant à quatre générations de composés chimiques (**Figure 3**) parmi lesquels se trouve l'imidaclopride, introduite sur le marché des produits phytosanitaires au début des années 1990, qui est devenu l'un des insecticides les plus employés dans le monde (**Matsuda et al., 2001 ; Nauen et al., 2001; Laurent & Rathahao 2003 ; Decourtye & Devillers 2010**). L'imidaclopride est intégrée dans plusieurs formulations commerciales, dont certaines permettent l'enrobage de semences (GAUCHO®). Ce type de formulation qui est compatible avec les propriétés physico-chimiques des molécules de type systémique, garantit le succès de cet insecticide et plus largement de tous les insecticides néonicotinoïdes, car ils protègent la totalité de la plante dès le stade plantule le plus vulnérable. Ainsi, sont commercialisés en enrobage de semences depuis 1995 et 2001 les molécules insecticides acétamipride (SUPREME®), thiametoxam (CRUISER®, ACTARA®), et clothianidine (PONCHO®) (**Yamada et al., 1999 ; Jeschke et al., 2001 ; Jeschke & Uneme 2003 ; Nauen et al., 2003**).

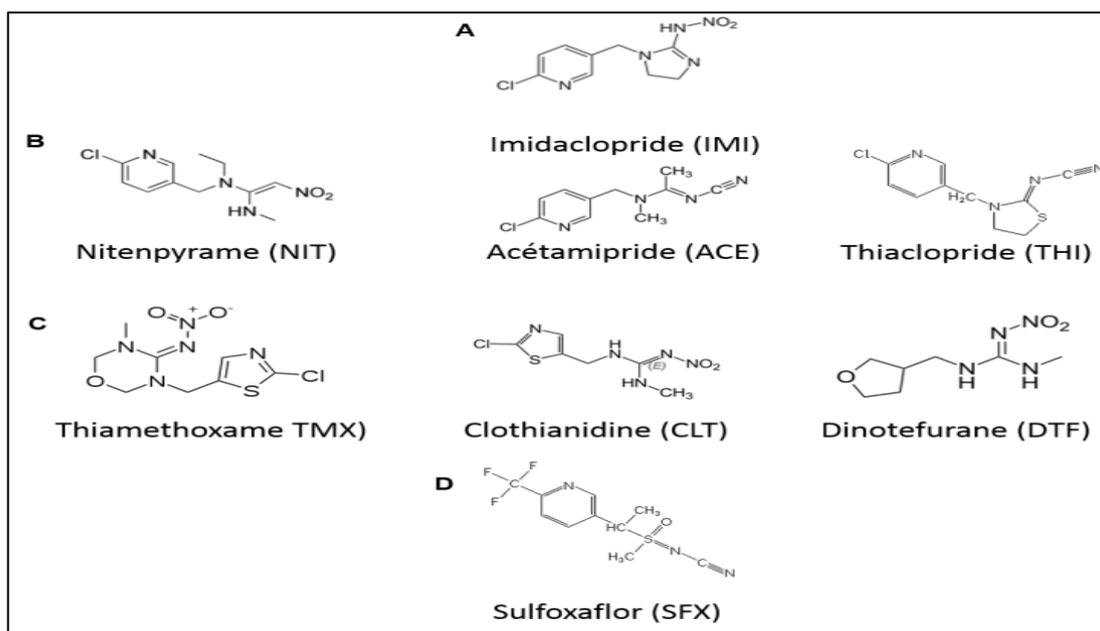


Figure 3. Structure chimique des huit insecticides néonicotinoïdes commercialisés. (A) Première génération (B) Deuxième génération (C) Troisième génération (D) Quatrième génération.

III. Thiaméthoxame

III.1. Définition

C'est un insecticide de synthèse organique représentant de la seconde génération des familles chimique des néonicotinoïdes appartient à la sous classe des Thianicotinyls (**Maienfisch et al., 1999**). Il possède un fort effet préventif face à la transmission des virus. Les qualités de cet insecticide permettent des méthodes d'applications flexibles, une excellente efficacité, supérieure à celle de l'Imidaclopride ou de l'Acétamipride et une activité résiduelle prolongée. Le Thiaméthoxame est homologué en Algérie sous la marque Actara 25 WG qui est rapidement absorbé par les plantes et transporté à toutes ses parties, où il agit comme un moyen de dissuasion à l'alimentation des insectes. La substance active interfère avec le récepteur acétylcholine nicotinique du système nerveux : une heure voire 30 minutes après l'absorption de thiaméthoxam, l'insecte arrête de s'alimenter et meurt un jour plus tard.

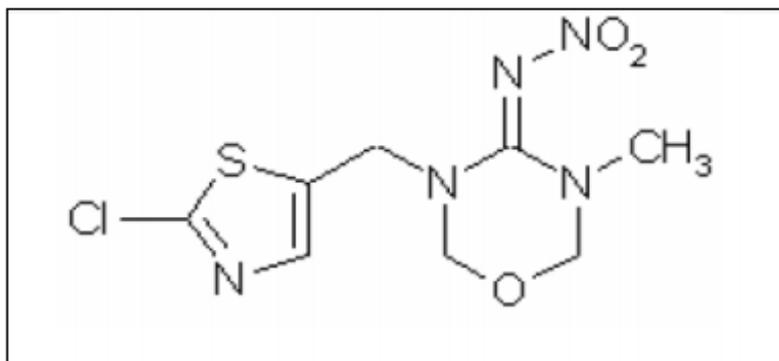


Figure 4. Structure chimique du thiaméthoxame (A.R.L.A.S.C., 2007).

III.2. Propriétés physicochimiques

Le thiaméthoxam est une molécule chimique soluble avec une bonne stabilité chimique (difficilement métabolisé par la plante) avec des propriétés physico-chimiques présentées dans le tableau suivant selon (Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire de Santé Canada, 2007).

Tableau 02 : Propriétés physico-chimiques du thiaméthoxam (A.R.L.A.S.C., 2007)

Propriétés	résultat
État physique et couleur	Poudre de couleur blanc cassé
Odeur	Inodore
Union internationale de chimie pure et appliquée (IUCPA)	3-(2-chloro-1,3-thiazol-5-ylméthyl)-5-méthyl-1,3,5-oxadiazinane-4-ylidène(nitro)amine
Chemical Abstracts Service (CAS)	3-[(2-chloro-5-thiazolyl)méthyl]tétrahydro-5-méthyl-Nnitro-4H-1,3,5-oxadiazin-4-imine
Poids moléculaire	291,7 g/mol-1
Formule brute	C ₈ H ₁₀ ClN ₅ O ₃ S
Point de fusion	139,1 °C
Solubilité dans l'eau à 25 °C	4,1 g/L

VI. Modèle biologique : *Helix aspersa*

VI.1. Description du modèle biologique

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

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

Classification

Règne: Animalia

Embranchement: Mollusca

Classe: Gasteropoda

Ordre: Stylommatophora

Famille: Helicidae

Genre:*Helix*

Espèce:*aspersa*



Figure 5. *Helix aspersa*. (Bairi, 2018).

VI. 2. Distribution géographique des escargots

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

VI.3. Morphologie de l'escargot

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

La coquille : La coquille de l'escargot est un cylindre conique calcaire de forme spiralée. Elle est globulaire, a un enroulement dextre, son ouverture est évasée, descendante ; son bord externe est appelé : péristome ; la forme, l'épaisseur et la couleur du péristome ont souvent une grande importance dans l'identification des espèces des gastéropodes. La coquille se compose d'une partie organique (une trame protéique externe : la conchyoline, représentant 1 à 2 % de la coquille) et d'une partie minérale (carbonate de calcium sous forme de calcite et d'aragonite, représentant 98 % de la coquille). La coquille représente 30 % du poids du gastropode. Le rôle principal de la coquille est d'assurer la protection du corps en cas de danger.

Le corps : En extension, l'escargot repose sur le sol par le pied : cette partie en avant de la coquille permet le déplacement de l'escargot par reptation. Cette masse musculaire pédieuse est recouverte par le mucus (Cadart, 1975). La partie antérieure de cette masse viscérale est

couronnée par la tête qui se compose de deux grands tentacules (oculaires), deux petits tentacules (tactiles) (Bonnet *et al.*, 1990), une bouche et un orifice génital. Pour le reste de la masse viscérale, contenue dans la coquille, on remarque la présence de :

Le pneumostome, orifice de la cavité palléale pour la respiration.

L'anus qui est situé en dessous du pneumostome.

L'orifice urinaire : invisible, car il est trop petit.

VI.4. Anatomie interne de l'escargot

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

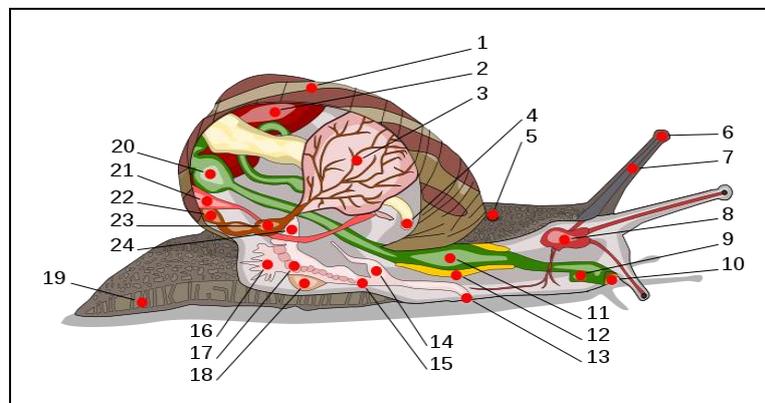


Figure 6. Anatomie interne de l'escargot (www.nature-scientia.com). *Légendes : 1 : coquille ; 2 : foie ; 3 : poumon ; 4 : anus ; 5 : pore respiratoire ; 6 : œil ; 7 : tentacule ; 8 : cerveau ; 9 : conduit salivaire ; 10 : bouche ; 11 : panse ; 12 : glande salivaire ; 13 : orifice génital ; 14 : pénis ; 15 : vagin ; 16 : glande muqueuse ; 17 : oviducte ; 18 : sac de dards ; 19 : pied ; 20 : estomac ; 21 : rein ; 22 : manteau ; 23 : cœur ; 24 : canal déférent. (Gireuad, 2008).*

VI.5. Croissance et survie de l'escargot

Chez les gastéropodes pulmonés, nombreux sont les facteurs abiotiques (climatiques, nutritionnels) ou biotiques (âge, densité, génétique) qui conditionnent la croissance (Daguzan, 1982). La croissance de l'escargot correspond à une prise de poids et à un accroissement de la

coquille en longueur, mais également en épaisseur (**Gomot de Vaufleury, 2001**). La croissance de ce mollusque se distingue en quatre phases en fonction de la taille et de la masse des animaux mais aussi de leur différenciation sexuelle (**Gomot, 1997**) :

La phase infantile : qui dure de 1 à 2 mois avec un coefficient mensuel de croissance de 4 ou plus, durant laquelle le tractus génital est non-différencié chez des animaux de 0,02 à 0,6 g.

La phase juvénile : un coefficient mensuel de croissance de 2, puis qui va en s'amenuisant. Cette phase relative à un tractus génital qui s'organise et à une gamétogenèse active. La masse est comprise entre 0,6 et 6 g.

La phase de maturation sexuelle ou phase pré-adulte : durant laquelle les glandes annexes femelles se développent. Elle concerne des escargots non bordés (absence d'épaississement du péristome) de plus de 6 g. L'animal est à maturité sexuelle et où sa taille est maximale qui est généralement atteinte après 12 à 18 mois de la naissance.

La phase adulte : où l'animal commence à se reproduire. Ils sont alors bordés. Cette phase est suivie par une autre phase c'est : la phase sénile qui se caractérise par une baisse pondérale. Il est difficile de savoir si l'escargot meurt de vieillesse ou de maladies.

La durée de vie des escargots varie selon les espèces. Dans la nature, les *Helix* dépassent l'âge de trois ans (**Gomot & Gomot, 1995**).

VI.6. Reproduction et ponte :

Helix aspersa est hermaphrodite : une seule gonade produit les spermatozoïdes et les ovules qui atteignent l'orifice génital par des conduits séparés. Le processus de l'accouplement est complexe, il peut avoir lieu plusieurs fois avant la ponte. Les 2 escargots se positionnent tête-bêche pour échanger leurs spermatozoïdes. Le temps d'accouplement est variable et peut durer au moins dix (10) heures (**Lalmi & Lazreg, 2016**).

La fécondation a lieu au niveau de la chambre de fertilisation, une quinzaine de jours après l'accouplement. Les ovocytes fécondés sont entourés d'albumen (secrété par la glande à albumen), qui constitue les réserves nutritives pour le développement embryonnaire, puis d'une coque calcaire. Pour pondre, l'escargot creuse avec sa tête une cavité de 2-4 cm de profondeur dans le sol, et y dépose une ponte constituée en moyenne d'une centaine d'œufs. La ponte peut durer jusqu'à 36 heures. A une température de 18-20°C, les œufs vont se développer en 12 à 15 jours avant d'éclore. Ensuite les jeunes éclos remontent ensuite en surface, ce qui prend 4 à 5 jours supplémentaires avant de pouvoir les apercevoir (**Lecalve, 1989**).

V. Evaluation de la toxicité des polluants

V.1. Les organismes utilisés

Pendant de nombreuses années, les méthodes d'évaluations de la qualité des écosystèmes terrestres, reposaient presque exclusivement sur des mesures de paramètres chimiques de milieu. Ces méthodes traditionnelles, ne permettent pas toujours de connaître leur impact sur le milieu vivant (**Grand *et al.*, 2012**). Toutefois, le recours aux indicateurs biologiques constitue un processus d'évaluation plus complète et plus informative, puisqu'ils permettent d'évaluer les impacts de ces différentes perturbations sur la faune et la flore qu'ils abritent (**Benoit Chabot, 2014**).

La bio-indication désigne l'évaluation de la qualité des milieux, en se basant sur les caractéristiques des communautés qui y vivent (**Reyjol *et al.*, 2013**), ce sont les bio-indicateurs, qui peuvent être un individu, une partie d'individu ou même une communauté d'individus (**De Vaufleury & Gimbert, 2009**), pertinents pour déterminer l'état de l'environnement (**Druart, 2011**). Aussi, La tâche d'un bio-indicateur est davantage de mettre en évidence les effets physiologiques affectant les organismes sous l'influence de conditions environnementales stressantes, que de mesurer directement les concentrations des différents polluants impliqués, ainsi qu'à identifier les changements qui surviennent dans l'environnement, à la présence de la pollution (**Benoit Chabot, 2014**).

Cependant, La bioaccumulation est un phénomène important qui donne des informations sur la biodisponibilité des polluants et entraîne souvent une biomagnification des polluants le long de la chaîne trophique. Dans le cas des produits phytosanitaires, leur bioaccumulation dépend de leur formule, de leur concentration dans l'environnement mais aussi des conditions physiques et chimiques du sol (**Cortet *et al.*, 1999**).

Tableau 3: Les différents types de réponses étudiées chez les organismes bioindicateurs de la faune du sol (Ac : Acariens, Col : Collemboles, Ench : Enchytréides, V d T : Vers de Terre, Isop : Isopodes, Gast : Gastéropodes) d'après **Cortet et al. (1999)**

		Ac	Col	Ench	VdT	Isop	Gast
Bioaccumulation			X		X	X	X
bioindicateurs toxicologiques	Fonction	X	X		X		
	Mortalité	X	X	X	X	X	X
	Reproduction / développement	X	X	X	X	X	X
	Perturbation neurologique				X		
	Biomarqueurs d'exposition		X		X	X	X
bioindicateurs écologiques	Abondance	X	X	X	X	X	X
	Biomasse	X	X	X	X	X	X
	Richesse spécifique	X	X	X	X	X	X
	Diversité	X	X	X	X	X	X

V.2. Les tests écotoxicologiques

La toxicité potentielle d'une substance est évaluée par des **tests écotoxicologiques** : il s'agit d'essais expérimentaux déterminant l'effet d'un ou de plusieurs produits sur un groupe d'organismes sélectionnés, dans des conditions bien définies (**Keddy et al, 1994**). Ces tests de toxicité, appelés aussi des bioessais, sont de deux types :

Les tests de toxicité aiguë se réalisent sur une durée très courte (par rapport au temps de dégradation de l'organisme). Leurs avantages sont leur rapidité et leur faible coût. Ces tests impliquent généralement des concentrations élevées du polluant; de ce fait, les effets à long terme des faibles concentrations ne sont pas mis en évidence.

Les tests de toxicité chronique se déroulent sur une relativement longue durée par rapport au temps de génération de l'organisme. Ce sont par exemple les tests sur la reproduction. Ils sont plus longs et plus coûteux que les tests aigus, mais ils permettent de mettre en évidence des effets à long terme d'un polluant.

De nombreux termes en relation avec les tests de toxicité ont été définis. La CSEO (Concentration maximale sans effet observée ou NOEC) correspond à la plus forte concentration testée n'entraînant pas d'effet statistiquement significatif par rapport aux témoins ; la CME0 (concentration minimale avec effet observé ou LOEC) correspond à la plus faible

concentration testée pour laquelle un effet statistiquement significatif est observé par rapport aux témoins ; les CE 20 ou 50 correspondent aux concentrations efficaces à 20 ou 50%, concernant le paramètre étudié (par exemple, la concentration inhibant la croissance chez 50% des animaux testés) et déterminées statistiquement ; la CL 50 correspond à la concentration entraînant la mort de 50% des organismes testés

V.3. Biomarqueurs

Les biomarqueurs peuvent constituer une alternative ou être intégrés aux bio-essais. Si l'utilisation de biomarqueurs a été principalement développée chez les vertébrés, un développement significatif de l'utilisation de ces outils a été réalisé ces dernières années chez les invertébrés (McCarthy & Shugart, 1990 ; Huggett *et al*, 1992 ; Peakall, 1992 ; Fossi & Leonzio, 1994 ; Connon *et al*, 2012 ; Mouneyrac & Amiard-Triquet, 2013). Initialement, les biomarqueurs ont été définis comme étant une réponse biologique à un ou plusieurs composés chimiques permettant de mesurer une exposition présente ou passée ainsi qu'un effet toxique (Peakall, 1994). Une définition plus précise est proposée par Lagadic *et al* (1997) qui considère les biomarqueurs comme des changements observables et / ou mesurables au niveau moléculaire, biochimique, cellulaire, physiologique ou comportemental, qui révèlent l'exposition présente ou passée d'un individu à au moins une substance chimique à caractère polluant. Les biomarqueurs sont généralement classés en 2 groupes (NRC, 1987 ; NAS/NRC, 1989 ; WHO, 1993 ; tableau 4).

- Les biomarqueurs d'exposition à un xénobiotique

- Les biomarqueurs d'effets de l'exposition

La première catégorie de biomarqueurs indique que le polluant présent dans le milieu a pénétré dans l'organisme. Généralement, les biomarqueurs d'exposition sont le résultat d'une interaction entre le xénobiotique et des molécules biologiques présentes dans les tissus ou les fluides de l'organisme.

La seconde catégorie de biomarqueurs indique que le xénobiotique qui a pénétré dans l'organisme, a exercé un effet toxique sur ce dernier. L'approche utilisant des biomarqueurs a été initialement développée afin d'évaluer les réponses d'un individu à une exposition à un xénobiotique ou à un stress. Partant de ce constat, certains auteurs sont partis du postulat que le terme biomarqueur n'était qu'une dénomination de composants ou processus préexistants dans l'organisme. L'utilisation de biomarqueurs nécessite donc de connaître au préalable le

fonctionnement des êtres vivants. **Depledge (1994)** propose une analyse du rôle fonctionnel des biomarqueurs par rapport à l'état d'homéostasie de l'organisme (**figure 5**). Les biomarqueurs permettent donc le maintien de l'homéostasie de l'organisme. Toutefois, lorsque la dose de xénobiotiques augmente, certains biomarqueurs interviennent pour compenser l'action des contaminants. D'autres biomarqueurs ne compensent pas l'action des xénobiotiques mais la subissent, et font partie des biomarqueurs de non-compensation. Si la dose ou l'exposition augmente encore, l'état de santé de l'individu devient alors irréversible, aboutissant généralement à la mort de l'individu.

Tableau 4 : Principaux biomarqueurs selon d'OSPAR (d'après Vasseur et Cossu-Leguillee, 2003).

	Biomarqueurs	Commentaires	Effets	Substances chimiques
Biomarqueurs d'exposition	CYP 1A1, expression et activité EROD, BaP hydroxylase, Glutathion-S-transferase	Les activités monoxygénases impliquant diverses isoformes de cytochromes P450 (la mesure la plus connue est l'induction de l'activité enzymatique EROD) sont impliquées dans le métabolisme des composés endogènes lipophiles, et sont inductibles par des substances exogènes.	Induction	Pesticides organochlorés, PCBs, dioxines, HAPs, BaP, non spécifique
	Protéines multi, xénobiotique, résistance (MXR)	Les protéines de transport membranaire (système MXR/MDR) peuvent être induites ou inhibées par diverses substances organiques. C'est un mécanisme de défense cellulaire qui permet à la cellule transporter des métabolites ou des xénobiotiques.	Induction/ inhibition	Substances organiques (HAPs, PCBs et métabolites...)
	Acétyl cholinestérase	Activité enzymatique du métabolisme de neurotransmetteurs.	Inhibition	Pesticides (organo-phosphorés, carbamates)
	Vitellogénine	Protéines de réserves des œufs synthétisés dans le foie.	Induction (mâle)	Perturbateurs endocriniens
	Métallothionéines/ phytochélatines, protéines de stress	Les métallothionéines (MTs) et phytochélatines (PCs) normalement exprimées dans les tissus, impliquées dans l'homéostasie des métaux, peuvent être surexprimées en présence de métaux, mais aussi de composés organiques aromatiques inducteurs de stress oxydatif cellulaire.	Induction	Métaux, autres xénobiotiques
	Dommage ADN, adduits ADN	Les polluants (HAPs, organiques persistants...), comme des facteurs physiques, peuvent altérer de différentes façons l'intégrité de la structure de l'ADN (cassure simple et double brin, liaison ADN, dommages chromosomiques), soit directement soit <i>via</i> leurs métabolites.	Occurrence	Mutagènes, génotoxiques
Biomarqueurs d'effet	Dommage ADN	Les polluants (HAPs, organiques persistants...), comme des facteurs physiques, peuvent altérer de différentes façons l'intégrité de la structure de l'ADN (cassure simple et double brin, liaison ADN, dommages chromosomiques), soit directement soit <i>via</i> leurs métabolites.	Occurrence	Mutagènes, génotoxiques ?
	Acétyl cholinestérase		Inhibition	Pesticides (organo-phosphorés, carbamates)
	Peroxydation lipidique	Des polluants peuvent augmenter les niveaux cellulaires de molécules oxygénées fortement réactives (ROS), soit par une induction de synthèse soit par une inhibition des mécanismes de défense. Lorsque ces derniers sont débordés les lipides membranaires, les protéines cellulaires sont endommagées par des réactions de peroxydation. Ces processus peuvent être mesurés et utilisés comme indicateurs de stress.	Induction	Non spécifiques
	Enzymes antioxydantes		Induction/ inhibition	
	Intégrité lysosomiale	La stabilité de la membrane semi-perméable des lysosomes est un indicateur de l'état de la cellule.	Diminution	

I. Expérimentation

I.1. Détermination de la toxicité d'un xénobiotique

L'objectif de ces bioessais est de déterminer les concentrations sub-létales 10 et 25 (CL10 et CL25), et les concentrations létales 50 et 90 (CL50 et CL90-96h) du thiaméthoxame à l'égard d'*Helix aspersa*. Plusieurs auteurs (**Bairi, 2018 ; Ourfella, 2017**) ayant travaillé sur la toxicité des xénobiotique (pesticides, métaux lourds) à l'égard d' *Helix aspersa* ils ont suivis les méthodes décrites comme suit :

Traitement : des boites en plastiques sont placées au niveau du laboratoire. L'ouverture de chaque boite a été bien couverte avec un tissu filet fixé avec une bande d'élastique. Des lots de 10 escargots, de taille et poids similaire sont placés dans les différentes boites. Des essais préliminaires sont réalisés avec une batterie de doses du xénobiotique rassemblés à partir des travaux scientifiques ultérieurs. Le traitement est réalisé soit par voie cutanée, soit par inhalation déposer sur la nourriture. Les animaux sont quotidiennement observés à la même heure, pendant toute la durée de l'expérience (96h).

Mortalité observée

Le pourcentage de mortalité observée chez les escargots traités par le xénobiotique à différentes concentrations ainsi que les témoins est déterminé selon la formule suivante :

$$\text{Mortalité observée} = \frac{\text{Nombre d'escargots morts après traitement}}{\text{Nombre totale des traité}} \times 100$$

Mortalité corrigée

Le pourcentage de mortalité observée est corrigé par la formule d'Abbott (1925) qui permet d'éliminer la mortalité naturelle.

$$\text{Mortalité corrigée} = \frac{\text{Mortalité observée chez les traités} - \text{mortalité observée chez les témoins}}{100 - \text{mortalité observée chez les témoins}} \times 100$$

Transformation angulaire des données

Les pourcentages de mortalité corrigée subissent une transformation angulaire selon **Bliss (1938)** cité par **Ficher & Yates (1957)**. Les données normalisées font l'objet d'une analyse de la variance à un critère de classification ; suivie par le classement des concentrations par le test de Tukey.

Analyse des probits

Les pourcentages de mortalité corrigée subissent une transformation en probits (y), et les concentrations en logarithme décimal (x) (**Ficher & Yates, 1957**). Le calcul de la droite de régression $y = ax + b$, permet l'obtention des CL10, LC25, CL50 et CL90 (**Finney, 1975**).

I.2. Mesure des biomarqueurs

Selon plusieurs auteurs ayant travaillé sur *H. aspersa* le dosage des biomarqueurs l'acétylcholinestérase et la glutathion S transférase est réalisé sur la tête et le hépatopancreas. Les résultats sont exprimés par rapport aux protéines dont le dosage est réalisé selon **Bradford (1976)**. (**Bairi, 2018 ; Douafer, 2010**).

I.2.1. Dosage de l'acétylcholinestérase :

Le dosage de l'AChE a été effectué selon la méthode d'**Ellman et al. (1961)** décrite précédemment (**Sifi et al., 2007**). Cette méthode consiste à fournir à l'enzyme un substrat, l'acétylthiocholine (ASCh), dont l'hydrolyse catalysée libère de la thiocholine (SCh) et de l'acide acétique. La quantité de thiocholine libérée agit avec l'acide 5-5' dithiobis-2-nitrobenzoïque (DTNB) forme un complexe de couleur jaune dont l'intensité est lue à une longueur d'onde de 412 nm. La mise au point d'un réactif spécifique des groupements thiols, le DTNB a permis la réalisation d'un protocole qui utilise comme substrat de la réaction un dérivé soufré de l'acétylcholine, dont l'hydrolyse libère des groupements sulfhydriques quantifiable par spectrophotométrie. Le principe de la réaction est décrit ci-après :

Les fragments de tête sont homogénéisés pendant quelques secondes dans 1 ml de solution détergente [38,03 mg EGTA (acide éthylène glycol-bis, β -aminoéthyl éther NNN'N' tétra acétique), 1ml Triton X 100% 5,845 g NaCl, 80 ml tampon tris (10 mM, pH 7)] à l'aide d'un homogénéiseur à Ultrasons, puis centrifugés (9000 tours/mn pendant 15 mn) (fig. 2) ; le surnageant récupéré servira pour la mesure de l'activité de l'AChE. Celle-ci est déterminée comme suit :

Une fraction aliquote de 100 µl de surnageant sont additionnées à 100 µl de DTNB (0,1 M, pH 8) [(39,6 mg de DTNB, 15 mg CO₃HNa) dans 10 ml du Tris (0,1 M, pH 7)] et 1 ml du tampon Tris (0,1 M, pH 7) ; 3 à 5 minutes sont nécessaires pour épuiser la réaction spontanée. 100 µl du substrat Acétylthiocholine iodide (118 mg d'acétylthiocholine dans 5 ml d'eau distillée) sont ajoutés. La lecture des densités optiques s'effectue à 412 nm toutes les 4 minutes pendant 20 mn contre un blanc où le surnageant a été remplacé par un volume équivalent de solution détergente. Les résultats obtenus ont été exprimés en µM/mn/mg de protéines.

Activité de AChE

$$(\mu\text{M/mn/mg de protéines}) = \frac{\Delta DO/mn}{e} \times \frac{V_t}{V_s} / \text{mg de protéines}$$

X : micromole de substrat hydrolysé par minute et par mg de protéines (µM/mn/mg de protéines).

Δ Do : pente de la droite de régression obtenue après hydrolyse du substrat en fonction du temps.

e : $1,36 \times 10^4$: coefficient d'extinction molaire du DTNB ($M^{-1} \text{ cm}^{-1}$).

V_t : volume total dans la cuve : 1,3 ml [0,1 ml surnageant + 0,1 ml DTNB + 1 ml tampon tris (0,1 M, pH 7) + 0,1 ml acétylthiocholine].

V_s : volume du surnageant dans la cuve: 0,1 ml.

mg de protéines : quantité de protéines exprimée en mg.

I.2.2. Dosage de la glutathion S transférase

La mesure de l'activité de la glutathion S-transférase (GST) est déterminée selon la méthode de **Habig et al. (1974)**. Elle est basée sur la réaction de conjugaison entre la GST et un substrat, le CDNB (1-chloro 2, 4 dinitrobenzène) en présence d'un cofacteur le glutathion (GSH). Les échantillons (chair) sont homogénéisés dans 1 ml de tampon phosphate (0,1 M, pH 6). L'homogénat est centrifugé à 14000 trs/mn pendant 30 mn et le surnageant récupéré servira comme source d'enzyme.

Le dosage consiste à faire réagir 200 µl du surnageant avec 1,2 ml du mélange CDNB (1 mM)/GSH (5 mM) [20,26 mg CDNB, 153,65 mg GSH, 1 ml éthanol, 100 ml tampon phosphate (0,1 M, pH 6)]. La lecture des absorbances est réalisée dans un spectrophomètre visible /UV (WPA). Elle est effectuée toutes les 1 mn pendant 5 minutes à une longueur d'onde de 340 nm contre un blanc contenant 200 µl d'eau distillée remplaçant la quantité du surnageant. L'activité spécifique est déterminée d'après la formule suivante:

Activité de la GST

$$(\mu\text{M/mn/mg de protéines}) = \frac{\Delta DO/mn}{e} \times \frac{V_t}{V_s} / \text{mg de protéines}$$

X: micromole de substrat hydrolysé par minute et par mg de protéines ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines).
 ΔDo : pente de la droite de régression obtenue après hydrolyse du substrat en fonction du temps.
 ϵ : 9,6 coefficient d'extinction molaire du CDNB ($\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$).
 V_t : volume total dans la cuve : 1,4 ml [0,2 ml surnageant + 1,2 ml du mélange CDNB/GSH].
 V_s : volume du surnageant dans la cuve: 0,2 ml.
 mg de protéines: quantité de protéines exprimée en mg.

I.2.3. Dosage des protéines

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

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

Tableau 5 : Dosage des protéines, réalisation de la gamme d'étalonnage.

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

II. Synthèse des résultats ultérieurs

Le grand succès des pesticides dans le domaine d'agriculture a entraîné une étendue rapide de leur production et utilisation durant les dernières décennies. Mais vu de leurs propriétés toxicologiques, présence et concentration dans la chaîne alimentaire ils constituent un véritable danger, et sont actuellement parmi les principaux polluants environnementaux (**Sanderson et al., 2002 ; Perera et al., 2005 ; Watanabe-Akanuma et al., 2005**). Cependant, l'un des pesticides les plus utilisés est le Thiaméthoxame, qui est un néonicotinoïde de deuxième génération capable de mimer l'acétylcholine (**Maienfisch et al., 2001**). Il agit de manière sélective, c'est un agoniste de l'acétylcholine. Il forme des liaisons irréversibles aux nAChRs entraînant une excitation continue des membranes des neurones endommageant le système nerveux et entraînant la mort de l'organisme (**Belzunces et al., 2012 ; Nauen et al., 2003 ; Gobel et al., 1999 ; Maienfisch et al., 1999 ; Hofer et Brandl, 1999 ; Lawson et al., 1999 ; Zang et al., 1998**)

D'autre part pour déterminer les effets des insecticides étudiés, il est nécessaire de disposer de modèle biologique représentatif du milieu étudié. Un certain nombre d'études ont indiqué que l'escargot *Hélix aspersa* est un bon bioindicateur de l'exposition aux pesticides (**Salama et al., 2005; Coeurdassier et al., 2002; Snyman et al., 2002; Schuytema et al., 1994; Rorke et Gardner, 1974**). C'est pourquoi le choix des chercheurs s'est porté sur ce modèle et aussi pour plusieurs raisons :

-Le fait que cet organisme participe activement au fonctionnement de l'écosystème en suit leur sensibilité à des faibles perturbations de l'environnement. Ce gastéropode a la particularité de concentrer dans ses tissus des substances polluantes, ils appartiennent à des réseaux trophiques impliquant divers prédateurs invertébrés et vertébrés qui contribuent au transfert des polluants.

II.1. Toxicité du thiaméthoxame

Le thiaméthoxame, particulièrement soluble, percole dans la feuille et est transportée par la sève dans l'ensemble des organes de la plante où il peut affecter les insectes par ingestion ou par simple contact. Selon le fabricant, le thiaméthoxame, quand il est utilisé conformément à la réglementation et à l'étiquetage, est une substance modérément toxique pour les mammifères (**Bingham et al., 2008**), les oiseaux et les poissons (**Tomizawa & Casida, 2005**). Il est faiblement toxique, la DL50 par voie orale est > 5000 mg/kg chez le rat, tandis que par voie cutanée elle est > 2000 mg/kg (**A.R.L.A.S.C., 2007**) .

Le thiaméthoxame est non mutagène. Une étude sur la reproduction des rats, alimentés jusqu'à 61 mg/kg /jour n'a entraîné à aucun effet néfaste attribuable au traitement sur les indices de reproduction (accouplement, gestation, fertilité, viabilité) (A.R.L.A.S.C., 2007). Cette molécule semble pourtant relativement toxique pour les organismes aquatiques (Sánchez-Bayo & Goka, 2006 ; Berghiche *et al.*, 2018 ; Cheghib *et al.*, 2020). Le thiaméthoxame (500 à 700 g / L d'eau) provoque une augmentation de l'agressivité des écrevisses *Procambarus clarkia* (Barbee & Stout, 2009). Les travaux de Paunescu *et al.* (2010) ont montré que l'actara à une dose de 0,4 mg / g de poids corporel à une température basse (4-6 °) et élevée (22-24 ° C) provoque un changement morphologique de la peau de l'amphibien *Rana ridibunda*.

Cependant, ce composé est surtout mis en cause dans le phénomène de surmortalité des abeilles (Nauen *et al.*, 2001; Iwasa *et al.*, 2004 ; Rortais *et al.*, 2005 ; Aliouane *et al.*, 2009 ; Henry *et al.*, 2012) . Il est accusé de participer au phénomène de régression de certaines espèces pollinisatrices ; en particulier les abeilles (Valo ,2012) (Henry ,2014).

De plus, une étude menée par Qi *et al.* (2013) sur une nouvelle molécule de néonicotinoïde, le guadipyr, largement utilisé en Chine contre *Daphnia magna* au cours d'une exposition de 48 heures, il a été démontré que la CE50 effective de la concentration de guadipyr est de l'ordre de 13,01 mg / L. Cette concentration pouvait avoir un impact significatif sur le développement et la reproduction de *D. magna* pendant 21 jours d'exposition.

Les néonicotinoïdes peuvent également réduire la capacité des prédateurs à attaquer leurs proies. Ce phénomène a été démontré chez deux espèces d'acariens *Neoseiulus californicus* et *Phytoseiulus macropilis* (Poletti *et al.*, 2010).

II.2. Dosage des biomarqueurs

L'inhibition ou l'induction l'un des paramètres biochimiques chez les organismes exposés aux contaminants toxique ont été utilisés comme biomarqueurs et peuvent constituer un important outil de diagnostic pour évaluer l'exposition et les effets des xénobiotiques. (Ozmen *et al* (1999) ; Sturm *et al.*,1999 ; Forbes *et al.*, 1997 ; McLoughlin *et al.*, 2000).

II.2.1. La glutathion S transférase

Le système de défense antioxydant est présent chez toutes les cellules aérobies et neutralise les réactions chimiques intermédiaires produites par voie endogène et/ou le métabolisme des xénobiotiques. L'activité du système antioxydant peut subir une augmentation ou une inhibition sous l'effet d'un stress chimique (Winston & Di Giulio., 1991).

Les GST (Glutathion-S-transférase) sont des enzymes de biotransformation de phase II, dont la fonction est de conjuguer à une molécule de GSH une grande variété de substrats pour permettre leur élimination dans la bile ou l'urine. Ces substrats peuvent être des molécules endogènes, ou des xénobiotiques tel que : les pesticides (**Narbonne et al., 1991**). L'activité des glutathion S-transférases augmentait dans les organismes en fonction de la concentration en xénobiotiques dans le milieu (**Van veld & Lee, 1988**).

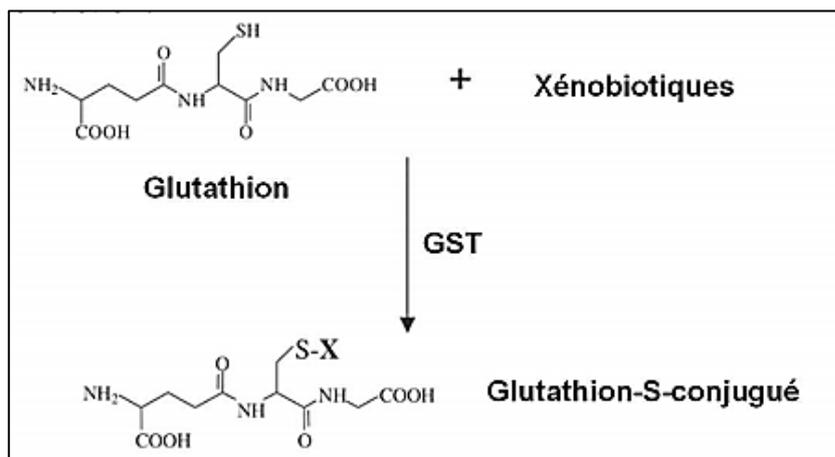


Figure 7. Schéma de conjugaison d'un substrat avec le glutathion réalisé par une GST. (**Benradia, 2016**).

En effet, Des études ultérieurs montre que la GST augmente chez les poissons *Gambusia affinis* exposés au thiaméthoxame (**Cheghib et al., 2020**). Aussi, le thiaméthoxame provoque une induction de la GST chez la crevette *Palaemon adspersus* (**Berghiche et al., 2018**). Cependant, d'autres travaux sur d'autres néonicotinoïdes provoquent l'induction de la GST tel que l'imidaclopride chez *Helix aspersa* (**Radwan & Mohamed, 2013**) ;

Une induction de l'activité de la GST a également été observée chez plusieurs espèces de crustacés tels que *Palaemon esargentinus* exposés au fénitrothion (**Lavariás & García, 2015**), chez *Macrobrachium borelli* traités avec un insecticide organophosphoré (**Lavariás & García, 2013**). D'autres études ont été réalisées sur l'imidaclopride par **Jemec et al. (2007)** ont également montré un effet significatif sur l'activité de la GST après une exposition de 21 jours.

II.2.2. L'acétylcholinestérase

L'acétylcholinestérase c'est une enzyme qui catalyse l'hydrolyse des esters de la choline. Il ne joue aucun rôle dans la désintoxication mais il est impliqué dans les mécanismes de transmission de l'influx nerveux dans tout le corps. L'inhibition de l'enzyme par de nombreux

composés neurotoxiques conduit à une accumulation du messager chimique, l'acétylcholine dans le synaptique l'espace, qui maintient une transmission constante de l'influx nerveux, conduisant à la mort de l'individu (**Bocquené 1996**).

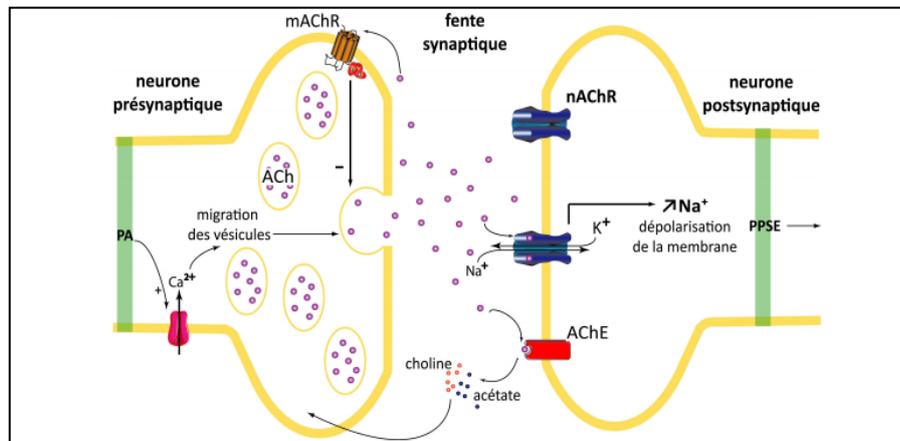


Figure 8. Représentation schématique d'une synapse cholinergique entre deux neurones (**Bodereau, 2011**).

Selon plusieurs auteurs, l'activité AChE est utilisée comme un marqueur d'exposition aux pesticides chez les mollusques. D'après les travaux de **Hamdi-Ourfella et al., 2018** en exposant des escargots à différentes concentrations de l'insecticide pendant 96h ; les mesures du biomarqueur montrent une inhibition de l'activité AChE par le thiaméthoxame en comparaison avec les témoins. Des études similaires montrent que le thiaméthoxame provoque une inhibition de l'activité de l'AChE chez *G. affinis* (**Cheghib et al., 2020**).

Aussi, le thiaméthoxame provoque une inhibition de cette activité chez la crevette *Palaemon adspersus* (**Berghiche et al., 2018**). **Qi et al. (2018)** ont montré que l'activité de l'AChE était inhibée chez les crustacés planctoniques *Daphnia magna* par deux nouveaux insecticides néonicotinoïdes : cycloxaprid et guadipyr. Aussi, **Gyori et al. (2017)** ont démontré que quatre néonicotinoïdes (acétamipride, clothianidine, thiaclopride et thiaméthoxame) sont tous capables d'inhiber l'activité AChE chez *Electrophorus electricus*, un poisson d'eau douce d'une manière dépendante de la concentration.

Il a été démontré que l'exposition des souris à des concentrations allant jusqu'à 3 000 ppm du thiaméthoxam pendant 50 jours induisait des tumeurs du foie (**Green et al., 2005**) et provoquait une diminution de l'AChE et de capture de choline nécessaire à la synthèse de l'acétylcholine chez les rats à des doses allant de 50 à 100 mg / kg (**Rodrigues et al., 2009**).

Conclusion & perspectives

Cette étude vise à évaluer la toxicité d'un insecticide représentant de la classe des néonicotinoïdes le thiaméthoxame commercialisé sous le nom Actara ® 25WG à l'égard d'une espèce non visée *Helix aspersa* ; ainsi que son effet sur l'activité des deux biomarqueurs le glutathion-S-transférase (GST) et l'acétylcholinestérase (AChE).

L'étude est répartie en deux grands axes :

Une synthèse bibliographique : qui nous a permis de comprendre le mécanisme d'action des néonicotinoïdes qui est la famille la plus récente des insecticides nouvellement synthétisés. Des connaissances sur le modèle biologique proposé dans cette étude le mollusque *Helix aspersa* et son intérêt en Ecotoxicologie d'une part comme étant une espèce bioindicatrice de la pollution des sols et d'autre part, entant qu'espèce comestible.

Une synthèse des travaux a été réalisée sur les recherches ayant travaillé sur cet axe nous a permis de comprendre les démarches et protocoles utilisés à fin d'évaluer la toxicité du thiaméthoxame à l'égard d'*Helix aspersa*, aussi, les protocoles utilisés sans les dosages des deux biomarqueurs la glutathion-S-transférase GST et l'acétylcholinestérase AChE, dont l'activité est déterminée selon les protocoles **d'Habig *et al.*, 1974** ; et **Ellman *et al.*, 1961** respectivement.

À partir des résultats des travaux précédents le thiaméthoxame est toxique à l'égard de plusieurs espèces les oiseaux, les mammifères, ainsi que les organismes aquatiques à différentes doses ou concentration après une durée d'exposition. Il présente également, une diminution de l'activité de l'AChE ; et une augmentation de l'activité de la glutathion S transférase chez plusieurs espèces

La somme des résultats des travaux précédent confirme la toxicité du thiaméthoxame et son mécanisme d'action sur la fonction nerveuse cependant du fait du Thiaméthoxame qui interférer avec les récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine situés dans la membrane post-synaptique ce qui perturbe le fonctionnement normal de système nerveux.

Références bibliographiques

-A-

- A.R.L.A.S.C. (2007).**Rapport d'évaluation. (Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire de Santé Canada). (13) : 8-11.
- Ait Hamlet, B. (2013).** Évaluation de la toxicité de mixture des pesticides sur un bioindicateur de la pollution des sols *Helix aspersa*. *Mémoire Présentée Pour obtenir le diplôme de Doctorat Université Badji Mokhtar de Annaba*. Pp: 2-12-16-29-106.
- Aliouane, Y., El Hassani, A K., Gary, V., Armengaud, C., Lambin, M., & Gauthier, M. (2009).** Subchronic exposure of honeybees to sublethal doses of pesticides: effects on behaviour. *Environ. Toxicology and Chemistry*, **28 (1)**: 113-122.
- Amiard-Triquet, C., Cossu-Leguille, C., & Mouneyrac, C. (2013).** Biomarkers of defense, tolerance, and ecological consequences. *Ecological biomarkers: indicators of ecotoxicological effects*, 45-74.

-B-

- 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. In *Euro-Mediterranean Conference for Environmental Integration* (pp. 339-341). Springer, Cham.
- Barbee, G. C., & Stout, M. J. (2009).** Comparative acute toxicity of neonicotinoid and pyrethroid insecticides to non-target crayfish (*Procambarus clarkii*) associated with rice–crayfish crop rotations. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, **65(11)** : 1250-1256.
- Barker G.M. (2001).** The biology of terrestrial molluscs. *Oxon, UK: CABI Publishing p:558*.
- Beedy, E. C., & Granholm, S. L. (1985).** Discovering Sierra birds: *western slope*. *Yosemite Assn.*
- Belzunces, L. P., Tchamitchian, S. et Brunet, J-L. (2012).** *Neural effects of insecticides in the honey bee*. *Apidologie*, Vol. **43**, n° **3**, pp. 348-370.
- Benguedouar, H. (2016).** Utilisation des escargots comme indicateur de la contamination métallique des sols : cas de l'*Helix aspersa*. Diplôme de Master en Gestion Durable des Ecosystèmes et Protection de l'Environnement, Université des Frères Mentouri-Constantine, 52p

- Benoit Chabot, V. (2014).** Les facteurs de sélection des bio-indicateurs de la qualité des écosystèmes aquatiques : élaboration d'un outil d'aide à la décision. Essai présenté au centre universitaire de formation en environnement et développement durable en vue de l'obtention du grade de maître en environnement (M. Env.), Université de Sherbrooke, Québec, Canada, 104p.
- Berger, B., & Dallinger, R. (1993).** Terrestrial snails as quantitative indicators of environmental metal pollution. *Envir. Monoto. Assess.*, (25): 65-84.
- Berghiche, H., Benradia, H., & Soltani, N. (2018).** Evaluation of the Potential Side-Effects of Novaluron on the Shrimp *Palaemon adspersus*: Moulting Hormone Profile, Cuticle Secretion and Chitin Contents. *International Journal of Environmental Monitoring and Analysis*, 6(4): 116.
- Bingham, G., Gunning R.V., Delogu, G., Borzatta, V., Field, L.M., & Moores, G.D. (2008).** Temporal synergism can enhance carbamate and neonicotinoid insecticidal activity against resistant crop pests. *Pest. Managem. Scie*, (64):81-85.
- Bliss, C. I. (1938).** The transformation of percentages for use in the analysis of variance.
- Bocquené, G. (1996).** L'acétylcholinestérase, marqueur de neurotoxicité. Application à la surveillance des effets biologiques des polluants chez les organismes marins. Thèse Doctorat. *Ecole Pratique des Hautes Etudes*, p : 250.
- Bodereau, B. (2011).** Récepteurs nicotiniqes neuronaux d'insectes et insecticides: caractérisation de facteurs cellulaires impliqués dans la modulation de l'efficacité des néonicotinoïdes (Doctoral dissertation).
- Boland, J., Koomen, I., van Lidth de Jeude, J., & Oudejans, J. (2004).** Les pesticides: composition, utilisation et risques. *Wageningen: Agrodoek*.
- Bonnet, J.C., Aupinel, P., & Vrillon, J.L. (1990).** L'escargot *Helix aspersa*, biologie, élevage. Collection du Labo au terrain, Ed INRA, p : 124.
- Bouziani ,M. (2007).** L'usage immodéré des pesticides. De graves conséquences sanitaires.
- Bradford, M.M. (1976).** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*,(72): 248-25

Bravo, J. A., Forsythe, P., Chew, M. V., Escaravage, E., Savignac, H. M., Dinan, T. G., ... & Cryan, J. F. (2011). Ingestion of Lactobacillus strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(38), 16050-16055.

-C-

Cadart, J. (1975). Les Escargots. Biologie-Elevage-Parcage-Histoire Gastronomie Commerce, p : 38

Calvet, R. (2005). Les pesticides dans le sol. Conséquences agronomiques et environnementales. *France Agricole*. Pp: 22-25-45-55

Campbell, N. R., Van Loon, J. A., & Weinshilboum, R. M. (1987). Human liver phenol sulfotransferase: assay conditions, biochemical properties and partial purification of isozymes of the thermostable form. *Biochemical pharmacology*, 36(9), 1435-1446.

Casida, E., Durkin, A. (2013). Neuroactive insecticides: targets, selectivity, resistance, and secondary effects. *Annual Rev entomol* (58): 99-117.

Casida, J. E. et Quistad, G. B. (2004) Why insecticides are more toxic to insects than people: The unique toxicology of insects. *Journal of Pesticide Science [en ligne]*. Vol. 29, n° 2.

Cepeda-Palacios, R., Servín, R., Ramírez-Orduña, J. M., Ascencio, F., Dorchies, P., & Angulo-Valadez, C. E. (2014). In vitro and in vivo effects of neem tree (*Azadirachta indica* A. Juss) products on larvae of the sheep nose bot fly (*Oestrus ovis* L. Díptera: Oestridae). *Veterinary parasitology*, 200(1-2), 225-228.

Chahbar N., Belzunces L. P. ; et Doumandji S. (2011). Effet d'un insecticide utilisé en protection des végétaux : thiamethoxam sur l'abeille saharienne *apis mellifera sahariensis* *algerian journal of arid environment* vol : (2) 11-12

Cheghib, Y., Chouahda, S., & Soltani, N. (2020). Side-effects of a neonicotinoid insecticide (actara®) on a non-target *larvivoruous fish Gambusia affinis*: Growth and biomarker responses. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*.

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

- Connon, R. E., Geist, J., & Werner, I. (2012).** Effect-based tools for monitoring and predicting the ecotoxicological effects of chemicals in the aquatic environment. *Sensors*, 12(9), 12741-12771.
- Cortet, J., Gomot-de Vaufleury, A., Poinot-Balaguer, N., Gomot, L., Texier, C., & Cluzeau, D. (1999).** The use of invertebrate soil fauna in monitoring pollutants effects. *Europ. Jour. Soil Biolo.*, (35): 115-134.
- Cresswell, J.E. (2011).** A meta-analysis of experiments testing the effects of a neonicotinoid insecticide (imidacloprid) on honey bees. *Ecotoxicology.*, 20 (1) : 149- 157.

-D-

- Daguzan, J. (1982).** Contribution à l'élevage de l'escargot Petit-gris: *Helix aspersa Müller* (Mollusque gastéropode pulmoné stylommatophore). I.N.R.A., Centre Hélicicole de la Station du Magneraud. Saint-Pierre-d'Amilly, b.p. 52, F 17700 Surgères.
- Dallinger, R., Berger, B., Triebkorn-Köhler, R., & Köhler, H. (2001).** Soil biology and ecotoxicology. *The biology of terrestrial molluscs. Barker GM. Oxon,*
- de vaufleury, A., & Gimbert, F. (2009).** Bio-indication et unités (concentrations vs quantités) : comparaison des cinétiques d'accumulation et d'élimination du Cd, Pb et Zn chez l'escargot *Helix aspersa*. *Etude et gestion des sols*, 16 (3/4) : 243-252p.
- Decourtye, A., & Devillers, J. (2010).** Ecotoxicity of neonicotinoid insecticides to bees. In *Insect nicotinic acetylcholine receptors* (pp. 85-95). Springer, New York, NY.
- Dekle, G. W., & Fasulo, T.R. (2008).** Brown Garden Snail, *Cornu aspersum* (Müller,1774) (Gastropoda: Helicidae). EENY 240, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences. Institute of Entomology and Nematology Department, University of Florida. P: 4
- Depledge, M. H., & Fossi, M. C. (1994).** The role of biomarkers in environmental assessment (2). Invertebrates. *Ecotoxicology*, 3(3), 161-172.
- Didier, P. (2006).** Elevage de l'escargot. Consultable sur internet : <http://www.fondationlamap.org/fr/page/11571/elevage-de-lescargot>
- Dorothee, B. (2011).** L'impact des pesticides sur la santé humaine. Université Henri Poincaré. Faculté de Pharmacie. Lorraine. Pp : 6-21.
- Douafer, L. (2010).** Evaluation de la pollution des sols de quelques biotopes de l'Est algérien par l'utilisation d'un bioindicateur, *Helix aspersa* (Mollusca, Gasteropoda):

inventaire, activité enzymatique et composition physico-chimique du sol. Magister en Biologie et Physiologie Animale, Université Badji Mokhtar – Annaba, 98p

Druart, C. (2011). Effets des pesticides de la vigne sur le cycle biologique de l'escargot dans divers contextes d'exposition, Thèse de Doctorat en Sciences de la Vie et de l'Environnement, Université de Franche-Comté, 326p.

-E-

Eijsackers, H. (1983). Soil fauna and soil microflora as possible indicators of soil pollution. In *Ecological Indicators for the Assessment of the Quality of Air, Water, Soil, and Ecosystems* (pp. 307-316). Springer, Dordrecht.

EL Bakouri, H. (2006). Développement de nouvelles techniques de détermination des pesticides et contribution à la réduction de leur impact sur les eaux par utilisation des substances organiques naturelles. Université Abdelmalek Essaidi. Maroc. Pp: 9-13.

Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres Jr, V., & Featherstone, R. M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical pharmacology*, **7(2)**: 88-95.

-F-

FAO, ITPS 2015 (2015). Status of the world's soil resources (SWSR)—main report. Food and agriculture organization of the United Nations and intergovernmental technical panel on soils, Rome, Italy ,vol : **650**.

Fisher, R. A., & Yates, F. (1957). Student's t-test of significance. *Statistical tables for agricultural, biological and other research workers*. Edinburgh: Oliver and Boyd, 157.

Forbes, V.A., Forbes, T.L., Rivière, J.-L. (1997). Écotoxicologie: théorie et applications. Editions Quae.Paris. 424 p.

Fossi, M. C., Leonzio, C., & Peakall, D. B. (1994). The use of nondestructive biomarkers in the hazard assessments of vertebrate populations. *Nondestructive biomarkers in vertebrates*, 3-33.

-G-

- Gimbert F. (2006).** Cinétique de transfert de polluants métalliques du sol à l'escargot. Thèse de doctorat N° 1191. Université de Franche-Comté. France, 172 p
- Gireaud, O. (2008).** Heliciculture. Consultable sur internet: <http://www.gireaud.net/heliciculture.htm>
- Gobel, T., Gsell, L., & Huter, O. (1999).** Synthetic approaches towards CGA 293343: A novel broad-spectrum insecticide. *Pestic. Scien.*, **(55)**: 355-357
- Gomot de Vaufleury, A. (2001).** Regulation of growth and reproduction. The biology of terrestrial molluscs. Barker GM. Oxon, CABI: 331-355.
- Gomot, A. (1997).** Effets des métaux lourds sur le développement des escargots. Utilisation des escargots comme bio-indicateurs de pollution par les métaux lourds pour la préservation de la santé de l'homme. *Bull. Acad. Natl. Méd.*, **(181)**: 59-75
- Gomot, A., & Gomot, L. (1995).** Neurohormonal control of body and shell growth of the snail *Helix*. *Bull. Inst. Océa. Monaco.* **(14)**: 141-149.
- Grand, C., Faure, O., Harris-Hellals, J., Hedde, M., Le Guedard, M., Pauget, B., Peres, G., Villenave, C., & de Vaufleury, A. (2012).** Quels bioindicateurs, pour quels besoins en sites contaminés? Collaboration : ADEME, Ecole Nationale Supérieure des Mines de Saint-Etienne, BRGM, INRA Versailles, LEB Aquitaine TransfertADERA, Univ Franche-comté, Université de Rennes, ELISOL environnement, IRD, UME Eco & Sol, Supagro
- Green, T., Toghil, A., Lee, R., Waechter, F., Weber, E., Peffer, R., ..., & Robinson, M. (2005).** Thiamethoxam induced mouse liver tumors and their relevance to humans: Part 2: Species differences in response. *Toxicological Sciences*, **86(1)**: 48-55.
- Győri, J., Farkas, A., Stolyar, O., Székács, A., Mörtl, M., & Vehovszky, Á. (2017).** Inhibitory effects of four neonicotinoid active ingredients on acetylcholine esterase activity. *Acta Biologica Hungarica*, **68(4)**: 345-357.

-H-

- Habig, W. H., Pabst, M. J., & Jakoby, W. B. (1974).** Glutathione S-transferases the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of biological Chemistry*, **249(22)**, 7130-7139.

- Hamdi-Ourfella, A. N., & Soltani, N. (2017).** *Biodiversité des Gastéropodes en Algérie. Bioindicateur Helix aperta.* Éditions universitaires européennes.
- Haubruge, É., & Amichot, M. (1998).** Les mécanismes responsables de la résistance aux insecticides chez les insectes et les acariens. *BASE.*
- Henry, M., Alaux, C., Allier, F., Baechler, F., Baron, S., Bezine, M., ... & Decourtye, A. (2014).** Synthèse statistique de la dynamique des colonies en pré-hivernage selon les modalités d'implantation de couverts intercultures mellifères. In *Colloque de restitution du projet INTERAPI.*
- Henry, M., Beguin, M., Requier, F., Rollin, O., Odoux, J.F., Aupinel, P., & Decourtye, A. (2012).** A common pesticide decreases foraging success and survival in honey bees. *Science.*, **336 (6079):** 348-350.
- Hofer, D., & Bandl, F. (1999).** Cruiser/Cruiser performance features of thiamethoxam as a seed treatment in worldwide cotton. *Proc. Beltwide. Cotton. Conf. Memphis, Tenn.*, **(2):** 1101-1104.
- Huggett, R. J., Unger, M. A., Seligman, P. F., & Valkirs, A. O. (1992).** ES&T Series: The marine biocide tributyltin. Assessing and managing the environmental risks. *Environmental science & technology*, **26(2),** 232-237.

-I-

- Ismert, M., Oster, T., & Bagrel, D. (2002).** Effects of atmospheric exposure to naphthalene on xenobiotic-metabolising enzymes in the snail *Helix aspersa*. *Chemosphere*, **46(2),** 273-280.
- Iwasa, T., Motoyama, N., Ambrose, J.T., & Roe, M.R. (2004).** Mechanism for the differential toxicity of neonicotinoid insecticides in the honey bee, *Apis mellifera*. *Crop. Prot.*, **(23):** 371-78

-J-

- Jemec, A.; Tišler, T., Drobne, D.; Sepc'ic', K.; Fournier, D.,& Trebše, P. (2007).** Comparative toxicity of imidacloprid, of its commercial liquid formulation and of diazion to a non-target arthropod, the microcrustacean *Daphnia magna*. *Chemosphere*, **(68):** 1408–1418
- Jeschke, P., & Nauen, R. (2007).** Thiamethoxam: a neonicotinoid precursor converted to clothianidin in insects and plants.

-K-

Keddy, P., Twolan-Strutt, L., & Shipley, B. (1997). Experimental evidence that interspecific competitive asymmetry increases with soil productivity. *Oikos*, 253-256.

Kerney, M., Cameron, R., & Bertrand, A. (2006). A Field Guide to the Land Snails of Britain and North-west Europe, French ed. Paris, Delachaux ET Niestlé SA. 97 p.

-L-

Lagadic, L., Caquet, T., & Amiard, J. C. (1997). Biomarqueurs en écotoxicologie: principes et définitions (introduction).

Lalmi, S., & Lazreg, A. (2016). Effet de deux molécules nanométriques sur les paramètres physiologique des escargots *Helix Aspersa*. Mémoire de Master en Toxicologie, Xénobiotiques et Risque Toxicologique, Université de Larbi Tébessi –Tébessa, 82p.

Larba, R. (2014). Bio-surveillance de l'environnement dans la région Est : mesure de biomarqueurs chez *Helix aspersa* et corrélation avec les caractéristiques physicochimiques des sols. Thèse de Doctorat en Physio-Toxicologie, Université Badji Mokhtar d'Annaba, 105p

Laskowski, R., & Hopkin, S. P. (1996 b). Accumulation of Zn, Cu, Pb and Cd in the garden snail (*Helix aspersa*): implications for predators. *Environmental pollution*, **91(3)**:289-297.

Laurent, F. M., & Rathahao, E. (2003). Distribution of [14C] imidacloprid in sunflowers (*Helianthus annuus* L.) following seed treatment. *Journal of agricultural and food chemistry*, **51(27)**, 8005-8010.

Lavariás, S., & García, C.F. (2015). Acute toxicity of organophosphate fenitrothion on biomarkers in prawn *Palaemonetes argentinus* (Crustacea: Palaemonidae). *Environ Monit Assess.* (187): 65

Lavariás, S., García, C., Crespo, R., Pedrini, N., & Heras, H. (2013). Study of biochemical biomarkers in freshwater prawn *Macrobrachium borellii* (Crustacea: Palaemonidae) exposed to organophosphate fenitrothion. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* (96): 10-16.

Lawson, D.S., Dunbar, D.M., White, S.M., & Ngo, N. (1999). Actara 25 WG: control of cotton pests with a new neonicotinoid insecticide, thiamethoxam. Proc. Beltwide. Cotton. Conf. Memphis, Tenn., (2): 1106-1109.

Le Calve, D. (1989). Influence des conditions d'incubation des œufs sur les six premières semaines de la croissance d'escargots petits-gris, *Helix aspersa* Müller (Gasteropode, Pulmone, Stylommatophore). *Bulletin de la Société zoologique de France*, **114(1)** :101-110.

Les Institus Thématiques Inserm. (2013). Effets pesticides sur la santé. Paris. Pp: 05

Liu, M. Y., Casida, J. E. (1993) High affinity binding of [3H]-imidacloprid in the insect acetylcholine receptor. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. Vol. **46**, n° **1**, pp. 40-46.

-M-

Maienfisch, P., Bandl, F., Kobel, W., Rindlisbacher, A., & Sen, R. (1999). CGA293'343: a novel, broad-spectrum neonicotinoid insecticide. In: Nicotinoid insecticides and the nicotinic acetylcholine receptor (eds. I. Yamamoto, J.E. Casdia), Springer, Tokyo, pp: 177-209

Maiensfisch, P., Huerlimann, H., Rindlisbacher, A., Gsell, L., Ettwler, H., Haettenschwiler, J., Syeger, E., & Walti, M. (2001). The discovery of thiamethoxam: a second-generation neonicotinoid. *Pest. Managem. Scien*, London, **57 (2)**: 165-176

Maiza, A., Aribi, N., Smagghe, G., Kilani-Morakchi, S., Bendjedid, M., & Soltani, N. (2013). Sublethal effects on reproduction and biomarkers by spinosad and indoxacarb in cockroaches *Blattella germanica*. *Bulletin of Insectology*, **66(1)**, 11-20.

Marliere, F. (2000). Mesure des pesticides dans l'atmosphère. INERIS (Institut National De L'Environnement Industriel Et Des Risques. Laboratoire Central de Surveillance de la Qualité de l'Air.74 p

Matsuda, K., Buckingham, S. D., Kleier, D., et al. (2001) Neonicotinoids : insecticides acting on insect nicotinic acetylcholine receptors. *Trends in Pharmacological Sciences*. Vol. **22**, n° **11**, pp. 573-580.

McCarthy, J. F., & Shugart, L. R. (1990). Biomarkers of environmental contamination.

Mcloughlin, N., Yin, D., Maltby, L., Wood, R.M., Yu, H. (2000). Evaluation of sensitivity and specificity of two crustacean biochemical biomarkers. *Environmental Toxicology and Chemistry*. **(19)**: 2085-2092.

Merhi, M., Demur, C., Blas-Y-Estrada, F., & Gamet-Payraastre, L. (2008). Impacts of mixtures of pesticides on haematopoiesis in C57/BL6 mice. *Toxicology Letters*, (180) : S28-S29.

Millar, N. S., & Lansdell, S. J. (2010). Characterisation of insect nicotinic acetylcholine receptors by heterologous expression. In *Insect Nicotinic Acetylcholine Receptors* (pp. 65-73). Springer, New York, NY.

-N-

Narbonne, J. F., Ribera, D., Michel, X., Raoux, C., Garrigues, P., Monod, J. L., ... & Lafaurie, M. (1991). Indicateurs biochimiques de contamination de l'environnement marin: Etude comparative en mer Méditerranée. *Océanis*, 17(3), 257-275.

NAS/NRC (National Academy of Sciences/National Research Council). (1989). *Biologic Markers in Reproductive Toxicology*. National Academy Press, Washington, DC, USA

Nauen, R., Ebbinghaus-Kintscher, U., & Schmuck, R. (2001). Toxicity and nicotinic acetylcholine receptor interaction of imidacloprid and its metabolites in *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). *Pest. Managem. Scien.*, (57): 577-586.

Nauen, R., Ebbinghaus-Kintscher, U., Salgado, V.L., & Kaussman, M. (2003). Thiamethoxam is a neonicotinoid precursor converted to clothianidin in insects and plants. *Pest. Biochemist. Physiol.*, (76): 55-69

Nauen, R., Elbert, A., Mccaffery, A., Slater, R., & Sparks, T. C. (2012). IRAC: insecticide resistance, and mode of action classification of insecticides. *Modern crop protection compounds*, 1(3), 935-955.

-O-

Organisation Mondiale de la santé (OMS). (1991). *L'utilisation des pesticides en agriculture et ses conséquences pour la santé*. Genève. Pp: 11-12

Ozmen, M., Sener, S., Mete, A., & Kucukbay, H. (1999). In vitro and in vivo acetylcholinesterase-inhibiting effect of new classes of organophosphorus compounds. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 18(2): 241-246.

-P-

- Palmer, M. J., Moffat, C., Saranzewa, N., et al. (2013).** Cholinergic pesticides cause mushroom body neuronal inactivation in honeybees. *Nature Communications*. Vol. 4, pp. 1634.
- Paunescu, A., Ponopal, C. M., Drghici, O., & Marinescu, A. G. (2010).** Liver histopathologic alterations in the frog *Rana* (Pelophylax) ridibunda induce by the action of Reldan 40EC insecticide. *An Univ Oradea Fasc Biol*, 17(1) :166-169.
- Peakall, D. B. (1994).** The role of biomarkers in environmental assessment (1). Introduction. *Ecotoxicology*, 3(3), 157-160.
- Pener, M. P., & Dhadialla, T. S. (2012).** An overview of insect growth disruptors; applied aspects. In *Advances in insect physiology* (Vol. 43, pp. 1-162). Academic Press.
- Pepper, I.L., Gerba, C.P., Newby, D.T., & Rice, C.W. (2009).** Soil: a public health threat or savior? *Critical reviews in environmental science and technology*, 39(5): 416–432
- Phillips, D. J. (1977).** The use of biological indicator organisms to monitor trace metal pollution in marine and estuarine environments—a review. *Environmental Pollution (1970)*, 13(4) : 281-317.
- Pol, D. (2006).** Elevage de l'escargot. La Main À La Pâte. Fondation pour l'éducation à la science, Académie des sciences, France
- Poletti, M., Maia, A.H.N., Omoto, C. (2007).** Toxicity of neonicotinoid insecticides to *Neoseiulus californicus* and *Phytoseiulus macropilis* (Acari: Phytoseiidae) and their impact on functional response to *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Biol. Control* (40) 30e36.
- Prera, F., Rauh, V., Whyatt, R., Tang, D., Tsai, W., Bernert, J., Andrews, H., Barr, D., Camaann, D., Diaz, D., Dietrich, J., Reyes, A., Kinney, P. (2005).** A summary of recent findings on birth outcomes and developmental effects of prenatal pah and pesticide. *Neuro Toxicology*. (26): 573-587.

-Q-

- Qi, S., Wang, C., Chen, X., Qin, Z., Li, X., & Wang, C. (2013).** Toxicity assessments with *Daphnia magna* of Guadipyr, a new neonicotinoid insecticide and studies of its effect on acetylcholinesterase (AChE), (GST), (CAT) and chitobiase activities. *Ecotoxicology and environmental safety*, (98): 339-344.

Qi, S., Wang, D., Zhu, L., Teng, M., Wang, C., Xue, X., & Wu, L. (2018). Neonicotinoid insecticides imidacloprid, guadipyr, and cycloxaprid induce acute oxidative stress in *Daphnia magna*. *Ecotoxicology and environmental safety*, (148): 352-358.

-R-

Radwan, M.A., & Mohamed, M.S. (2013). Imidacloprid induced alterations in enzyme activities and energy reserves of the land snail, *Helix aspersa*. *Ecotoxicol. Environm. Saf.*, (95): 91-97.

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. *Environ. Health Perspect.*, (114): 63-69.

Reyjol, Y., Spyrtos, V., & Basilico, L. (2013). Bioindication: des outils pour évaluer l'état écologique des milieux aquatiques. Les Rencontres de l'oNeMA, Synthèse des Journées « Eaux de surface continentales et Bioindication »31p.

Rhind, SM. (2009). Anthropogenic pollutants: a threat to ecosystem sustainability? *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* (364):3391-3401.

Rorke, M.A., & Gardner, D.R. (1974). Lethality and behavioural symptoms produced by some organophosphorous compounds in the snail (*Helix aspersa*). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, (11): 417-424.

Rortais, A., Arnold, G., Halm, M. P., & Touffet-Briens, F. (2005). Modes of honey bees exposure to systemic insecticides: estimated amounts of contaminated pollen and nectar consumed by different categories of bees. *Apidologie.*, (36): 71-83

-S-

Salama, A.K., Osman, K.A., Saber, N.A., & Soliman, S.A. (2005). Oxidative stress induced by different pesticides in the land snail, *Helix aspersa*. *Pak. Jour. Biol. Sci.*, 8(1): 92-96

- Sánchez-Bayo, F., & Goka, K. (2006).** Influence of light in acute toxicity bioassays of imidacloprid and zinc pyrithione to zooplankton crustaceans. *Aquatic. Toxicol.*, (78):262-71.
- Sandermann, H. (2004).** Molecular ecotoxicology of plants. *Trends in Plant Science* (9) 406-413
- Sanderson, J., Boer, Q., Lansbergen, G., Van Den Berg, M. (2002).** Induction and inhibition of arylamine N-acetyltransferase 1 activity by various classes of pesticides in H295r human adrenocortical carcinoma cells toxicology and applied pharmacology. (128): 44-54.
- Scheifler, R., (2002).** Evaluation de la biodisponibilité et des transferts de polluants métalliques et organiques des réseaux trophiques 'sols-plantes-invertébrés'. Thèse de doctorat N° 916. Université de Franche-Comté, France. 190 p.
- Schiffers, B. (2012).** L'emploi des pesticides dans les cultures: entre tracteurs et détracteurs. *Probio-Revue*, (2): 80-93.
- Schuytema, G.S., Nebeker, A.V., & Griffis, W.L. (1994).** Effects of dietary exposure to forest pesticides on the brown garden snail *Helix aspersa*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, (26): 23-28
- Sifi, K., Chouahda, S., & Soltani, N. (2007).** Biosurveillance de l'environnement par la mesure de biomarqueurs chez *Donax trunculus* dans le golfe d'Annaba (Algérie). *Mésogée*, 63, 11-18.
- Simon-delso, N., Amaral-rogers, V., Belzunces, L. P., et al. (2015)** Systemic insecticides (neonicotinoids and fipronil): trends, uses, mode of action and metabolites. *Environmental Science and Pollution Research*. Vol. 22, n° 1, pp. 5-34
- Smida, R., & Toualbia, K. (2016).** L'étude de l'hépatotoxicité de deux molécules nanométriques chez un bioindicateur de pollution *Helix Aspersa*. Mémoire de master en toxicologie : xénobiotiques et risque toxicologique, Université de Larbi Tébessi –Tébessa, 100 p.
- Snyman, R.G., Reinecke, A.J., & Reinecke, S.A. (2002).** Field application of a lysosomal assay as biomarker of copper oxychloride exposure, in the snail *Helix aspersa*. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, (69): 117-122.

Source :UIPP - Rapport d'activité. (2011). <https://www.senat.fr/rap/r12-042-1/r12-042-17.html>.

Spellerberg, I.F. (2005). Monitoring Ecological Change. Cambridge University Press, Cambridge.

Sturm, A., da Silva de Assis, H.C., Hansen, P.D. (1999). Cholinesterases of marine teleost fish: enzymological characterization and potential use in the monitoring of neurotoxic contamination. *Mar Environ Res* 47(4):389–398

Suchail, S., Debrauwer, L., et Belzunces, L. P. (2004). Metabolism of imidacloprid in *Apis mellifera*. *Pest Management Science*. Vol. 60, n° 3, pp. 291-296.

Sverdrup, L. E., De Vaufleury, A., Hartnik, T., Hagen, S. B., Loibner, A. P., & Jensen, J. (2006). Effects and uptake of polycyclic aromatic compounds in snails (*Helix aspersa*). *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 25(7) : 1941-1945.

Swartjes, F. A. (Ed.). (2011). Dealing with contaminated sites: from theory towards practical application. *Springer Science & Business Media*.

- T -

Thany, S. H., Lenaers, G., Raymond-Delpech, V., et al. (2007). Exploring the pharmacological properties of insect nicotinic acetylcholine receptors. *Trends in Pharmacological Sciences*. Vol. 28, n° 1, pp. 14-22.

Thany, S. H., Lenaers, G., Raymond-Delpech, V., Sattelle, D. B., & Lapied, B. (2007). Exploring the pharmacological properties of insect nicotinic acetylcholine receptors. *Trends in pharmacological sciences*, 28(1), 14-22.

Tomizawa, M., & Casida, J. E. (2005). Neonicotinoid insecticide toxicology: mechanisms of selective action. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, (45): 247-268

Tomizawa, M., & Casida, J.E. (2003). Selective toxicity of néonicotinoïdes attributable to specificity of insect and mammalian nicotinic receptors. *Annuel. Rev. Entomol.*, vol:48: 339-364

- U -

Ukpebor, J.E. & Halsall, C.J. (2012). Effects of dissolved water constituents on the photodegradation of fenitrothion and diazinon. *Water. Air. Soil. pollut.*, 223 (2): 655- 666.

-V-

- Valo, H. (2012).** Biopolymer-Based Nanoparticles for Drug Delivery.
- Van Veld ,P ., Lee, R .(1988).** Intestinal glutathione S-transferase activity in flounder *Platichthys flesus* collected from contaminated and reference sites, **(46):**61- 63.
- Vasseur, P., & Cossu-Leguille, C. (2003).** Biomarkers and community indices as complementary tools for environmental safety. *Environment International*, **28(8)**, 711-717.

-W-

- Watanabe, A., Ohta, M., Sasaki, Y. (2005).** A novel genotoxic aspect of thiabendazole as a photomutagen in bacteria and cultured and cells. *Toxicology Letters*. **158(3):** 213-219.
- Wing, K. D., Sacher, M., Kagaya, Y., Tsurubuchi, Y., Mulderig, L., Connair, M., & Schnee, M. (2000).** Bioactivation and mode of action of the oxadiazine indoxacarb in insects. *Crop Protection*, **19(8-10)**, 537-545.
- Winston, G. W., & Di Giulio, R. T. (1991).** Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms. *Aquatic toxicology*, **19(2)**, 137-161.

-Y-

- Yamada, I., Aung, W., Himeno, Y., Nakagawa, T., & Shibuya, H. (1999).** Diffusion coefficients in abdominal organs and hepatic lesions: evaluation with intravoxel incoherent motion echo-planar MR imaging. *Radiology*, **210(3)**, 617-623.

-Z -

- Zang, L., Morton, V., & Ngo, N. (1998).** Cruiser: a new cotton insecticide seed treatment from Novartis crop protection. *Proc.Beltwide.Cotton.Conf. Memphis, Tenn.,(2):* 1188-1190.

Résumés

1. Résumé

L'utilisation des produits phytosanitaires pour lutter contre les ravageurs des cultures agricoles est une nécessité, mais cette méthode n'est pas sans risque et peut entraîner des effets non intentionnels pour d'autres organismes non visés. Cette étude a pour but d'évaluer la toxicité d'un néonicotinoïde le Thiaméthoxame et ses effets toxiques sur le mollusque *Helix aspersa*, une espèce indicatrice de la pollution des sols.

D'après la synthèse de recherche réalisée le thiaméthoxame semblent avoir une toxicité à l'égard de plusieurs espèces notamment *Helix aspersa*. Quant à son effet sur les deux biomarqueurs : le thiaméthoxame inhibe l'activité de l'acétylcholinestérase AChE, et provoque une induction de l'activité la glutathion-S-transférase GST.

Mots clé : Toxicité, pollution, Thiaméthoxame, *Helix aspersa*, AChE, GST.

2. Abstract

The use of plant protection products to control pests in agricultural crops is a necessity, but this method is not without risk and may lead to unintended effects for other non-target organisms. The purpose of this study is to assess the toxicity of a neonicotinoid Thiamethoxam and its toxic effects on the mollusc *Helix aspersa*, a species indicative of soil pollution.

According to the synthesis of research carried out thiamethoxam seem to have a toxicity towards several species including *Helix aspersa*. As for its effect on the two biomarkers: thiamethoxam inhibits the activity of acetylcholinesterase AChE, and induces an induction of glutathione-S-transferase GST activity.

Key words: Toxicity, pollution, Thiamethoxam, *Helix aspersa*, AChE, GST.

3. الملخص

يعتبر استخدام المبيدات الحشرية كمنتجات لوقاية النباتات من آفات المحاصيل الزراعية ضرورة، لكن هذه الطريقة لا تخلو من المخاطر وقد تؤدي إلى آثار غير مقصودة على الكائنات الحية الأخرى غير المستهدفة. الغرض من هذه الدراسة هو تقييم سمية مادة نيونيكوتينويد thiaméthoxame وتأثيراتها السامة على الرخويات *Helix aspersa* و هو نوع يدل تلوث التربة

وفقا لتركيبة البحث الذي تم إجراؤه، يبدو أن الثيامثوكسام لديه سمية فيما يتعلق بالعديد من الأنواع بما في ذلك *Helix aspersa* وفيما يتعلق بتأثيره على المؤشرات الحيوية للحلزون فإن الثيامثوكسام يثبط نشاط الأستيل كولين استراز AChE، و يحفز نشاط الجلوتاثيون-S- ترانسفيراز GST .

الكلمات المفتاحية: السمية، التلوث، GST، AChE، *Helix aspersa*، Thiamethoxam