



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 Mohammed El Bachir El Ibrahimi B.B.A

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض والكون

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

قسم العلوم البيولوجية

Département des Sciences Biologiques



# Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine des Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Toxicologie

## Intitulé :

Impact de la pollution industrielle sur un modèle  
biologique terrestre « *Helix aspersa* » : Etude en  
microcosmes *in situ*

### Présenté par :

LOUNICI Souhila

BOUSSOUAR Ounissa

Soutenu le 12 / 06 / 2024, Devant le Jury :

**Président :** M. LOUKIL Bachir M.A.B Université de bordj Bou Arreridj

**Encadrant :** Mme. MOUMENI Ouissem M.C.B Université de bordj Bou Arreridj

**Examineur :** Mme. BOUMAIZA Souad M.A.A Université de bordj Bou Arreridj

Année Universitaire 2023/2024

# Remerciements

Avant tout, nous remercions Dieu « Allah », le tout puissant de nous avoir permis et accordé la volonté, la patience et le courage pour réaliser ce travail, et qui nous a amené à ce degré de savoir.

Nous tenons avant tout à remercier du fond du cœur, notre encadrant : **Mme MOUMENI Ouissem**, pour avoir accepté de diriger ce travail et avoir participé à son élaboration avec patience et disponibilité. Son dévouement au travail, sa modestie et sa gentillesse imposent le respect.

Nous remercions les membres du jury **Mr. LOUKIL Bachir** et **Mme BOUMAIZA Soued** d'avoir consacré une partie de leur temps à la lecture de ce mémoire et pour l'intérêt qu'ils ont porté à ce travail.

Nos remerciements s'étendent à tous nos enseignants et les membres du département sciences Biologie de l'université de Bordj Bou Arreridj.

Ainsi qu'à tous ceux et celles qui ont contribué de près ou de loin à l'accomplissement de ce travail.

*Merci ..*

# Dédicaces

Ce jour-là mon rêve que j'attendais depuis des années d'études, s'est réalisé et le mérite en revient à ma généreuse famille grâce à leur aide, leur amour, leurs encouragements et leur soutien pour moi,

Je dédie ce mémoire.

À mon père « Lounici Abd El Wahab » Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour toi, j'aimerais bien que tu sois avec

Moi, mais je suis là pour réaliser ton rêve.

À ma mère « Ben djewel rebh » Dédicace à ma mère, vous n'êtes pas pour moi qu'une simple Maman, mais vous représentez le symbole du sacrifice, de la force et de la fierté, que dieu te donne longue vie merci pour ta bonne éducation.

C'est la plus idéale maman dans ce monde.

À Mes Sœurs Sonia, Soumia et Mes frères Achraf, Khalil, Youcef, Sadam  
Merci d'avoir été à mes côtés tout au long de mon parcours universitaire et de ma vie.

À Mon petit frère Bekouche Mohamed

C'est avec un grand honneur que je dédie ce texte à mes amis très chers Ala, Fatima, Salma, Abla, imene, Rahma, Ismahan, Bilel, Zaki et tous les autres, chacun nommé individuellement.

*SONIA*

# *Dédicaces*

Ce jour-là mon rêve que j'attendais depuis des années d'études, s'est réalisé et le mérite en revient à ma généreuse famille grâce à leur aide, leur amour, leurs encouragements et leur soutien pour moi,

Je dédie ce mémoire.

À ma mère qui n'est pour moi non seulement une simple Maman, mais aussi le symbole du sacrifice, de la force et de la fierté, que dieu te donne longue vie merci pour ta bonne éducation.

C'est la plus idéale maman dans ce monde.

À La source de ma force , ma réussite et tout mon respect: mon cher père .

À Mes Sœurs, Mon frère.

Je dédie ce texte à tous mes amies.

*OUNISSA*

## Résumé

La santé environnementale a toujours été menacée par la bioaccumulation de métaux lourds dans l'écosystème terrestre, affectant sa qualité et sa sécurité. L'escargot terrestre *Helix aspersa*, est considéré comme un bioindicateur de la pollution du sol, car il accumule de fortes concentrations de certains éléments traces métalliques (ETM) dans son corps. Le but de cette étude est d'évaluer les effets des rejets métalliques libérés par le complexe « SPA Bordj Steel » comparé au site témoin « Erbea » sur l'escargot *Helix aspersa* durant une exposition de quatre semaines *in situ* sur les deux sites. Les résultats obtenus ont mis en évidence une réduction significative de la croissance des escargots, à travers une diminution du poids moyen et du diamètre de la coquille. D'autre part, nous avons noté une diminution du poids moyen des organes (hépatopancréas et rein). L'étude des biomarqueurs a montré un état de stress oxydatif chez *Helix aspersa* qui s'est manifesté par une diminution du taux de GSH ainsi qu'une induction significative des activités enzymatiques (GST et CAT).

**Mots clés :** *Helix aspersa*, CAT, GST, GSH, Bioaccumulation, ETM, Biomarqueurs, Bioindicateur.

## Abstract

Environmental health has always been threatened by the bioaccumulation of heavy metals in the terrestrial ecosystem, affecting its quality and safety. The terrestrial snail *Helix aspersa*, is considered as a bioindicator of soil pollution, because it accumulates high concentrations of certain metallic trace elements (ETM) in its body. The aim of this study is to assess the effects of metal releases from the " SPA Bordj Steel" complex, compared to the Erbea control site on the *Helix aspersa* snail during a four-week in situ exposure at the industrial site. The results showed a significant reduction in snail growth, through a decrease in mean weight body and shell diameter. On the other hand, we noted a decrease in the average weight of organs (hepatopancreas and kidney). The study of biomarkers showed a state of oxidative stress in *Helix aspersa* which was manifested by a decrease in the level of GSH as well as a significant induction of enzymatic activities (GST and CAT).

**Keywords:** *Helix aspersa*, CAT, GST, GSH, bioaccumulation, ETM, biomarkers, bioindicator.

## الملخص

لطالما تعرضت الصحة البيئية للتهديد بسبب التراكم البيولوجي للمعادن الثقيلة في النظام الإيكولوجي الأرضي، مما أثر على جودتها وسلامتها، يعتبر الحلزون الأرضي *Helix aspersa* مؤشر بيولوجي لتلوث التربة، لأنه يجمع تركيزات عالية من بعض العناصر النزرة المعدنية (ETM) في جسمه. الهدف من هذه الدراسة هو تقييم تأثيرات انبعاثات المعادن من مجمع "SPA Bordj Steel" مقارنة بالموقع الشاهد «Erbea» على الحلزون *Helix aspersa* خلال التعرض لمدة أربعة أسابيع في كلا الموقعين. أظهرت النتائج انخفاضًا كبيرًا في نمو الحلزون، من خلال انخفاض متوسط الوزن وقطر القوقعة. من ناحية أخرى، لاحظنا انخفاضًا في متوسط وزن الأعضاء (الكبد والكلية). أظهرت دراسة البيولوجية العلامات حالة من الإجهاد التأكسدي عند *Helix aspersa* والتي تجلت في انخفاض مستوى GSH بالإضافة إلى تحفيز كبير للأنشطة الإنزيمية (CAT و GST).

**الكلمات المفتاحية:** مؤشر بيولوجي , *Helix aspersa*, CAT, GST, GSH ، التراكم البيولوجي ، العناصر النزرة المعدنية

## Table des matières

---

Remerciements

Dédicaces

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

<b>1. Introduction.....</b>	<b>01</b>
<b>2. Matériel et méthodes.....</b>	<b>04</b>
<b>2.1. Matériel biologique .....</b>	<b>04</b>
<b>2.1.1. Présentation et classification de l'espèce <i>Helix aspersa</i>.....</b>	<b>04</b>
<b>2.1.2. Description morphologique de l'espèce <i>Helix aspersa</i> .....</b>	<b>05</b>
<b>2.1.3. Anatomie générale .....</b>	<b>07</b>
<b>2.1.4. Biologie de l'espèce (<i>Helix aspersa</i>) .....</b>	<b>09</b>
<b>2.1.4.1. Alimentation .....</b>	<b>09</b>
<b>2.1.4.2. Croissance .....</b>	<b>09</b>
<b>2.1.4.3. Reproduction .....</b>	<b>10</b>
<b>2.1.4.4. Rythme d'activité .....</b>	<b>12</b>
<b>2.1.5. Ecologie de l'espèce .....</b>	<b>13</b>
<b>2.1.6. Intérêt de l'utilisation de l'escargot <i>Helix aspersa</i> en écotoxicologie .....</b>	<b>13</b>
<b>2.2. Description des sites d'étude .....</b>	<b>14</b>
<b>2.2.1. Site1 : Erbea .....</b>	<b>14</b>
<b>2.2.2. Site2 : Erbea SPA BORDJ STEEL .....</b>	<b>14</b>
<b>2.3. Méthodes.....</b>	<b>15</b>
<b>2.3.1. Collecte et sélection des escargots .....</b>	<b>15</b>
<b>2.3.2. Protocole d'exposition en microcosmes in situ (bioindication active).....</b>	<b>16</b>
<b>2.3.3. Dissection et prélèvement d'organes.....</b>	<b>17</b>
<b>2.3.4. Paramètres étudiés.....</b>	<b>18</b>
<b>2.3.4.1. Mesure des paramètres biométriques .....</b>	<b>18</b>



## Table des matières

---

2.3.4.2.1 Poids frais des escargots .....	16
2.3.4.2.2. Diamètre de la coquille .....	16
2.3.4.2.3. Poids frais de l'hépatopancréas et du rein.....	17
2.3.4.2. Dosage des paramètres du stress oxydant.....	18
2.3.4.2.1. Dosage du taux de GSH.....	18
2.3.4.2.2. Dosage de l'activité GST .....	19
2.3.4.2.3. Dosage de l'activité catalase.....	20
2.4. Etude statistique .....	20
<b>3. Résultats.....</b>	<b>22</b>
3.1. Effet de la pollution industrielle sur les paramètres morphométriques de l'escargot <i>Helix aspersa</i> après exposition In situ .....	21
3.1.1. Effet des rejets métalliques sur le poids moyen des escargots.....	22
3.1.2. Effet des rejets métalliques sur le diamètre de la coquille .....	22
3.1.3. Effet des rejets métalliques sur le poids moyen des organes .....	23
3.2. Effet de la pollution industrielle sur les biomarqueurs du stress chez l'escargot <i>Helix aspersa</i> après exposition In situ.....	24
3.3.1. Effet des rejets métalliques sur le taux de GSH .....	24
3.3.2. Effet des rejets métalliques sur l'activité GST .....	24
3.3.3. Effet des rejets métalliques sur l'activité CAT .....	25
<b>4. Discussion .....</b>	<b>26</b>
<b>5. Conclusion et perspectives.....</b>	<b>32</b>
<b>6. Références bibliographiques.....</b>	<b>33</b>

**Tableau 01** : Variation du taux de GSH au niveau de l'hépatopancréas et du rein des escargots du site témoin (Erbea) et ceux transférés sur le site industriel (SPA Bordj Steel) ( $m \pm SD$  ;  $n = 5$ ) .....**24**

**Tableau 02** : Variation de l'activité GST au niveau de l'hépatopancréas et du rein des escargots transférés sur les deux sites d'étude (témoin et contaminé par les rejets métalliques) ( $m \pm SD$  ;  $n = 5$ ) .....**25**

**Tableau 03** : Variation de l'activité CAT au niveau de l'hépatopancréas et du rein des escargots du site témoin (Erbea) et ceux transférés sur le site industriel (SPA Bordj Steel) ( $m \pm SD$  ;  $n = 5$ ) .....**25**

**Figure 01** L'escargot terrestre *Helix aspersa* (photo personnelle, 2024). .....05

**Figure 02** Dessin schématique d'une coquille d'escargot du Genre *Helix* (Aubert, 1995).  
.....06

**Figure 03** Morphologie externe de l'escargot petit gris (*Helix aspersa*) (Kerney et al., 2006).....06

**Figure 04** Orifice respiratoire chez l'escargot (Pol, 2006).....07

**Figure 05** Anatomie de l'escargot *Helix aspersa* (Quibik, 2007).....08

**Figure 06** Reproduction de l'escargot *Helix aspersa*. (a) : Accouplement de deux partenaires (Buron-Mousseau, 2014) ; (b) : Schéma de l'appareil reproducteur (Guyard, 2009).....10

**Figure 07** La ponte chez l'escargot. (a) : Schéma d'un Petit-Gris en position de ponte (Piel, 2014) ; (b) : Œufs d'escargot (Astrid, 2011).....11

**Figure 08** Naissains d'escargots (Bacquet, 2012).....12

**Figure 09** Exposition des escargots aux polluants dans l'écosystème terrestre (d'après El-Gendy et al., 2021).....14

**Figure 10** Localisation géographique de site témoin « Erbea » (Mapcarta, 2024). .....15

**Figure 11** Localisation géographique du site contaminé « SPA Bordj Steel » (Google Maps, 2024).....16

**Figure 12** Implantation des microcosmes sur les sites d'étude (A : site témoin ; B : site contaminé) (photo personnelle, 2024). ..... 17

**Figure 13** Dissection des escargots et séparation des organes (photo personnelle, 2024) .....17

**Figure 14** Pesée des escargots (photo personnelle, 2024) ..... 18

**Figure 15** Evolution du poids moyen des escargots transférés sur les deux sites d'étude (témoin et contaminé) après 28 jours d'exposition ( $m \pm SD$  ;  $n = 10$ ) .....21

**Figure 16** Evolution du diamètre de la coquille des escargots transférés sur les deux sites d'étude (témoin et contaminé) durant les 28 jours d'exposition ( $m \pm SD$  ;  $n = 10$ ) .....**22**

**Figure 17** Évolution du poids moyen de l'hépatopancréas et du rein des escargots transférés sur les deux sites d'étude ( $m \pm SD$  ;  $n = 10$ ) .....**23**

**ASS** : l'Acide Sulfosalicylique

**CAT** : Catalase

**CDNB** : 1-chloro 2, 4 dinitrobenzènes

**CuO** : Cuivre

**DTNB** : l'acide 5-5'-dithio-bis-2-nitrobénzoïque

**EDTA** : Ethylène diamine tétra-acétique

**ERO** : Espèces réactives de l'oxygène

**ETM** : Élément trace métallique

**GPx** : Glutathion Peroxydase

**GSH** : Glutathion

**GST** : Glutathion-S-transférase

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : Peroxyde d'hydrogène

**O<sub>2</sub>** : Oxygène moléculaire

**-SH** : Les groupements thiol



# *Introduction*

## 1. Introduction

Depuis de nombreuses décennies, une préoccupation croissante émerge concernant l'augmentation des niveaux de polluants dans l'environnement à l'échelle mondiale. Cette préoccupation découle du déversement quotidien d'une grande diversité de substances chimiques dans les milieux naturels, dont la plupart sont reconnues comme persistantes, bioaccumulables et hautement toxiques (**Miet, 2008**). Cette augmentation de la pollution est directement attribuable à l'essor rapide et souvent anarchique des activités industrielles et agricoles, en plus d'un rythme fortement accéléré de la croissance démographique (**Bahroun et Kherici, 2011**). À long terme, cette pollution diffuse a des conséquences néfastes et irréversibles sur l'environnement et la santé des populations exposées, perturbant ainsi le fonctionnement des systèmes biologiques à différents niveaux (**Grand et al., 2012**).

Les métaux lourds comptent parmi les polluants les plus préoccupants en raison de leur forte persistance dans l'environnement et leur toxicité prononcée (**Zorrig, 2004**). Contrairement aux polluants organiques, les métaux lourds ne se dégradent pas une fois introduits dans l'environnement et ne sont pas éliminés par les processus chimiques ou biologiques (**Ayangbenro et Babalola, 2017**). Leurs concentrations ont, par conséquent, tendance à augmenter progressivement dans les différents compartiments des écosystèmes en particulier dans le sol, qui joue un rôle crucial en tant qu'interface environnementale face aux principales pollutions d'origine humaine (**Calvet, 2003 ; Zorrig, 2004**).

La contamination des sols par les métaux lourds peut être d'origine naturelle ou anthropique. Parmi les principales sources, les activités métallurgiques telles que les activités minières, les fonderies et l'industrie métallurgique occupent une place prépondérante. Les pratiques agricoles telles que l'utilisation de fertilisants et de pesticides ainsi que l'épandage de boues des stations d'épuration, le trafic routier et l'incinération des déchets constituent également des sources significatives de pollution (**Adriano, 2001 ; Merian et al., 2004 ; Ramade, 2007**).

L'accumulation des métaux lourds dans le sol a souvent des répercussions néfastes sur la santé des organismes vivants. Ces effets, variant selon les concentrations et la durée d'exposition, induisent de nombreuses altérations biologiques allant du niveau moléculaire jusqu'aux communautés et écosystèmes (**Grara et al., 2015**). Toutefois, les organismes en contact continu avec ces éléments dans le sol développent divers mécanismes de résistance, tels que l'accumulation et la détoxification, leur permettant de s'adapter à cette contamination. Ils sont

donc considérés comme de bons bio-indicateurs de la qualité des sols. Ainsi, plusieurs espèces animales et végétales sont utilisées pour la biosurveillance et la bioremédiation des sols contaminés par les métaux (**Hooda, 2010 ; Kabata Pendias, 2011 ; Alloway, 2013**). Ces bio-indicateurs fournissent des informations sur l'état de santé de leur habitat, que ce soit par l'accumulation de micropolluants dans leurs organes ou par la variation de plusieurs processus physiologiques sensibles aux xénobiotiques (**Viard-La Rocca, 2004**). Le choix de l'espèce bioindicatrice repose sur divers critères, tels que le cycle de vie, la facilité d'échantillonnage, d'élevage et de manipulation au laboratoire, l'abondance dans le milieu naturel et la simplicité d'identification ainsi que la résistance ou la sensibilité aux polluants (**Lower et Kendall, 2018**).

Au cours de ces dernières années, un intérêt grandissant est porté à la faune du sol, en particulier les invertébrés, du fait de leur abondance et leur réponse très rapide face aux perturbations du sol (**McIntyre et al., 2001 ; Santorufo et al., 2012**). Parmi les invertébrés terrestres, les escargots sont considérés comme d'excellents bio-indicateurs (**Gimbert, 2006**). Ils jouent un rôle crucial en intégrant diverses sources et voies de contamination, et se caractérisent par une capacité significative de tolérance et de bioaccumulation de nombreux polluants organiques et inorganiques (**Coeurdassier et al., 2001 ; Sverdrup et al., 2006**). De plus, ils occupent une position privilégiée à l'interface sol-plante-atmosphère contribuant ainsi au transfert des polluants du sol et/ou des plantes aux prédateurs (**Barker, 2001 ; Scheifler et al., 2002 ; Notten et al., 2005**).

En raison de sa densité élevée, l'escargot terrestre appartenant à l'espèce *Helix aspersa*, est le modèle animal le plus fréquemment utilisé (**Gomot-De Vaufleury et Pihan, 2000**). Il peut entrer en contact avec des polluants par voie aérienne, digestive et via le sol. Il a donc la capacité de stocker ces polluants dans son corps, principalement dans son pied et ses viscères. Par conséquent, l'escargot *Helix aspersa* représente un choix idéal pour les tests d'écotoxicité ex situ en laboratoire, ainsi que pour les tests in situ dans des conditions naturelles (**Gomot-De Vaufleury et Pihan, 2000 ; Scheifler et al. 2002 ; Viard-La Rocca et al., 2004 ; Regoli et al. 2006 ; Fritsch et al., 2011 ; Pauget, 2012 ; Louzon et al. 2020**).

Les capacités de bioaccumulation des polluants chez les escargots terrestres sont exploitées pour étudier l'historique d'un écosystème à travers la biosurveillance active ou passive des sites contaminés. La biosurveillance passive consiste à prélever des organismes indigènes qui sont exposés de manière chronique aux contaminants sur les sites pollués. Dans ce cas, les mesures portent sur une exposition chronique, permettant ainsi une intégration temporelle des phénomènes d'exposition et d'effets, facilitant l'étude des réponses des



organismes dans des conditions écologiquement représentatives. Cependant, il est difficile de déterminer avec précision le moment et/ou le lieu de l'exposition au polluant. En revanche, la biosurveillance active implique l'exposition d'organismes sains sur le site contaminé. L'avantage que présente cette approche est la connaissance de l'historique biologique des individus, leur âge et d'autres caractéristiques individuelles pouvant influencer le niveau d'expression du paramètre mesuré. De plus, la connaissance du lieu et de la durée d'exposition rend plus aisée l'explication des réponses observées et l'évaluation de la relation dose/réponse (**Viard-La Rocca, 2004 ; Fritsch, 2010**).

C'est dans ce contexte, que s'inscrit notre travail visant à utiliser l'escargot terrestre *Helix aspersa* comme bio-indicateur dans le cadre d'une biosurveillance active. Dans cette étude, les escargots ont été implantés sur un site industriel contaminé situé à proximité du complexe SPA Bordj Steel, spécialisé dans la construction métallique. L'objectif principal de notre recherche est d'évaluer les effets de la pollution métallique, en conditions réelles, sur la croissance et la physiologie de cette espèce, reconnue pour sa forte capacité de bioaccumulation des éléments traces métalliques (ETM).

La structure du manuscrit suit le plan décrit ci-après :

- Dans un premier temps, l'introduction générale récapitule les connaissances actuelles sur l'origine des micropolluants et leurs impacts environnementaux, puis se penche sur l'utilisation d'organismes bioindicateurs pour la surveillance écologique des sites pollués.
- La section Matériel et Méthodes débute par une présentation de l'escargot *Helix aspersa*, puis aborde la localisation des sites d'étude sélectionnés. Ensuite, la démarche expérimentale de la biosurveillance active en microcosme ainsi que les différentes techniques utilisées dans cette étude sont décrits.
- Les résultats obtenus dans ce travail sont ensuite interprétés puis discutés.
- Finalement, une conclusion générale et des perspectives futures viennent clôturer notre manuscrit.

A decorative rectangular frame with intricate scrollwork and flourishes, centered on the page. The frame is composed of a double-line border with elegant, symmetrical curves and swirls.

*Matériel et méthodes*

## 2. Matériel et méthodes

Notre travail a été mené au sein du laboratoire de chimie du Département des Sciences Biologique à l'Université Mohammed El Bachir El Ibrahimi de Bordj Bou Arréridj.

### 2.1. Matériel biologique

Notre choix s'est porté, dans cette étude, sur l'escargot *Helix aspersa* (Müller, 1774), également connu sous le nom de *Cantareus aspersus*, *Cornu aspersum* et *Criptomphalus aspersus* (Barker, 2001) (Figure 1). Cette espèce est caractérisée par son abondance dans le Nord-Est Algérien, et son aptitude à s'adapter aux variations du milieu naturel (Belhiouani et al., 2019). De plus, elle est reconnue pour ses capacités significatives en matière de bioindication et de bioaccumulation. Etant une espèce comestible, *Helix aspersa* nécessite donc une surveillance particulière.

#### 2.1.1. Présentation et classification de l'espèce *Helix aspersa*

*Helix aspersa*, communément appelé escargot de jardin ou escargot Petit gris, est un gastéropode terrestre appartenant à l'ordre des mollusques, caractérisé par son corps mou (dépourvu de squelette). Il fait partie de la classe des gastéropodes, où sa masse viscérale est torsadée de 180° par rapport à son pied, entraînant une asymétrie de certains de ses organes (Bonnet et al., 1990). Son poumon, également appelé cavité palléale le place dans le superordre des pulmonés. Classé dans l'ordre des Stylommatophores, ses tentacules oculaires sont pourvus d'yeux à leur extrémité. Sa famille est caractérisée par sa capacité à se rétracter dans une coquille en spirale, généralement orientée dans le sens des aiguilles d'une montre (Pirame, 2003). Sa position systématique selon Bonnet et Vrillon (1990) est la suivante :

- Règne : Animal
- Embranchement : Mollusques
- Classe : Gastéropodes
- Sous classe : Euthyneurs
- Super ordre : Pulmonés
- Ordre : Stylommatophores
- Famille : Helicidae
- Genre : *Helix*
- Espèce : *Helix aspersa* (Müller, 1774).



**Figure 1** : L'escargot terrestre *Helix aspersa* (photo personnelle).

### 2.1.2. Description morphologique de l'espèce *Helix aspersa*

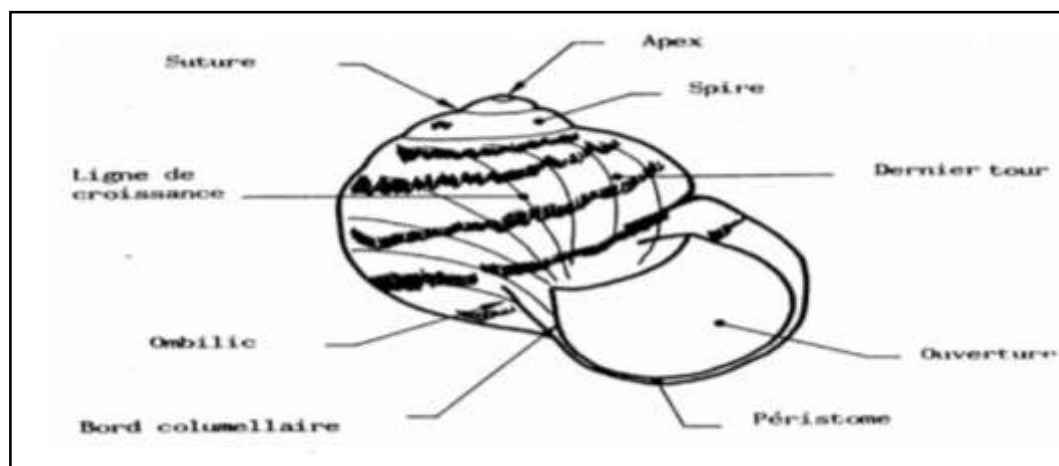
*Helix aspersa* présente un corps mou brunâtre, enveloppé d'un mucus visqueux, et d'une coquille de couleur crème ornée de rayures spiralées brunâtres (Ben Belouar et Bergheul, 2022).

- **La coquille** : représente environ le tiers du poids total de l'escargot et joue un rôle essentiel dans l'identification des différentes espèces (Karas, 2009). Les glandes produisant la coquille sont présentes le long du bord d'un tégument qui recouvre la masse viscérale appelé le manteau (Kiddy, 1999). De nombreuses stries de croissance parallèles sont présentes sur la surface de la coquille, représentant les différentes étapes de la croissance de l'escargot. De trois à quatre spirales sont également présentes autour d'un axe dextre, partant du sommet de la coquille nommé apex. Le cône calcaire qui forme la coquille est entouré d'un axe plein appelé la columelle (Figure 2) (Dallinger et al., 2001).

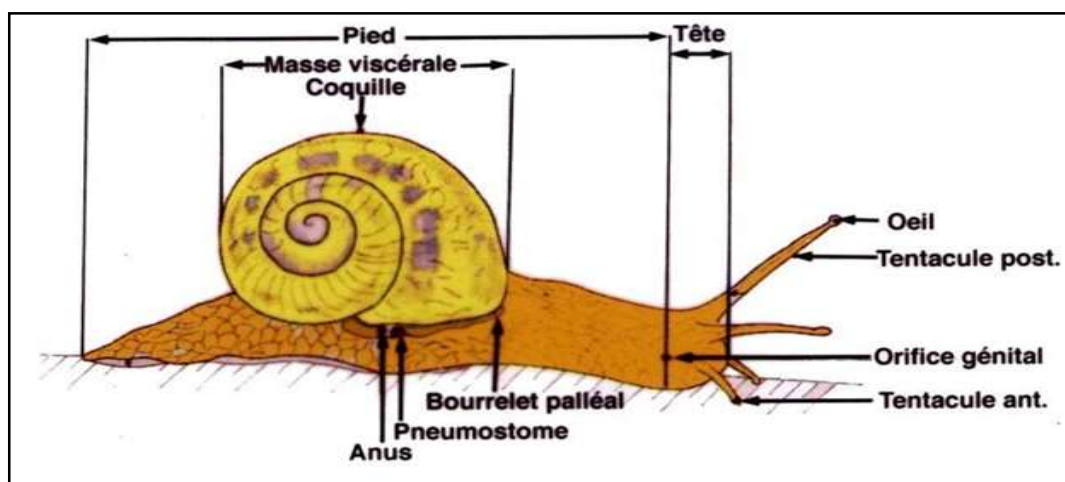
- **Le corps** : se compose de trois parties distinctes : la tête, le pied et la masse viscérale.

- **La tête** : est dotée de deux paires de tentacules rétractiles, les plus grands sont munis d'yeux à leurs extrémités, tandis que les plus petits jouent un rôle tactile. Sous les tentacules, se trouve la bouche, comprenant une mâchoire supérieure et une langue coiffée d'une lame, dite radula. Cette dernière est constituée d'un ruban flexible, comportant plusieurs rangées transversales de minuscules dents chitineuses (Cosel, 1992). L'orifice génital est situé du côté droit en arrière de la tête (Figure 3) (Bonnet, 1990).

- **Le pied** : Le pied de l'escargot soutient son corps et lui permet de se déplacer par reptation. Sur sa partie inférieure se trouvent des glandes qui secrètent en permanence un mucus sur le support, laissant ainsi une trace brillante. Dans la partie supérieure du pied, près du bord de la coquille, se trouvent deux ouvertures : l'orifice respiratoire (Figure 4) et l'anus (Bonnet, 1990 ; Beeby et Richmond, 2011).
- **La masse viscérale** : est recouverte du manteau et est entièrement logée à l'intérieur de la coquille ; elle comporte les organes respiratoires, circulatoires, digestifs et reproducteurs. Entre la coquille et la partie interne du manteau se trouve la cavité palléale, où se déroule la fonction respiratoire. Cette cavité renferme le poumon, qui assure la respiration aérienne chez les escargots (Figure 3) (Bonnet, 1990).



**Figure 2** : Dessin schématique d'une coquille d'escargot du Genre *Helix* (Aubert, 1995).



**Figure 3** : Morphologie externe de l'escargot petit gris (*Helix aspersa*) (Kerney et al., 2006).



**Figure 4 :** Orifice respiratoire chez l'escargot (Pol, 2006).

### 2.1.3. Anatomie générale

#### ➤ Système respiratoire et circulatoire

Le cœur représente l'élément principal de l'appareil circulatoire (Belhaouari, 2012). Il se compose d'une oreillette antérieure et d'un ventricule postérieur (Chevalier, 1992 ; Pirame, 2003 ; Larbaa, 2014). Le transport de l'oxygène dans l'hémolymphe (le sang) est assuré par l'hémocyanine, qui est incolore sous sa forme désoxydée et bleue sous forme oxydée. L'hémolymphe est propulsé dans le réseau artériel par le biais de deux aortes (Barker, 2001 ; Adamowicz et Bolaczek, 2003 ; Larbaa, 2014). Le pied est alimenté en sang par l'aorte antérieure, tandis que le tortillon l'est par l'aorte postérieure (Daguzan, 1983 ; Barker, 2001 ; Larbaa, 2014). Le poumon, constitué de l'épithélium palléal, est irrigué par les vaisseaux pulmonaires et l'air circule à travers le pneumostome en contractant son ouverture. L'escargot possède également une respiration cutanée, absorbant l'eau à travers les pores de sa peau (Chevalier, 1992 ; Barker, 2001) (Figure 5).

#### ➤ Système digestif

Le tube digestif forme une boucle en « V » qui ramène l'anus vers l'avant. La bouche est prolongée par un bulbe buccal à l'intérieur duquel se situe l'appareil radulaire (Chevalier, 1992 ; Larbaa, 2014). Ce dernier comprend la radula, une structure activée par une masse musculaire robuste (Chevalier, 1992 ; Barker, 2001). Deux glandes salivaires sont situées à l'arrière du bulbe buccal. Ce bulbe est prolongé par un œsophage qui s'élargit pour former un estomac, puis se poursuit par un intestin qui effectue une double circonvolution autour de

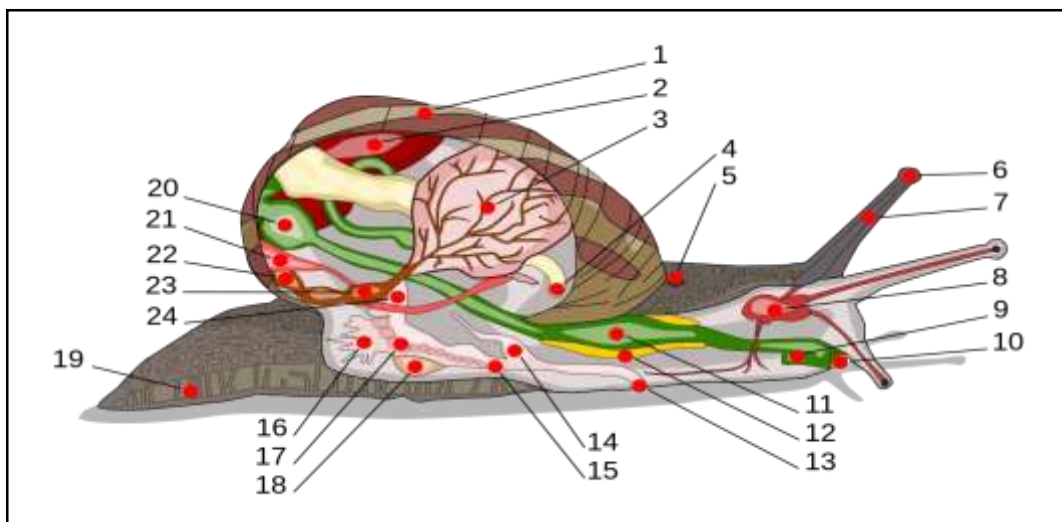
l'hépatopancréas et se termine au niveau de l'anus (Daguzan, 1983 ; Pirame, 2003 ; Larbaa, 2014). L'élimination des déchets est assurée par le rein (également appelé l'organe de Bojanus) et l'intestin (Figure 5) (Chevalier, 1992 ; Barker, 2001).

➤ **Système nerveux**

Il comprend le système nerveux sympathique et central. Le système nerveux sympathique est composé d'une paire de ganglions buccaux situés en dessous du bulbe buccal. Ils sont connectés par deux cordons nerveux aux ganglions cérébroïdes et assurent l'innervation de la majeure partie du tube digestif. Le système nerveux central, quant à lui, est localisé dans la région céphalique et se présente sous la forme d'une série de ganglions formant un double collier péri-œsophagien (Figure 5) (Chevalier, 1992 ; Pirame, 2003 ; Larbaa, 2014).

➤ **Appareil reproducteur**

L'escargot est hermaphrodite, avec un système génital complexe occupant une grande partie de sa cavité viscérale, composé d'une partie initiale hermaphrodite, une partie intermédiaire avec les voies mâle et femelle, et une partie terminale où ces voies se rejoignent pour former un orifice génital commun (Figure 5) (Chevalier, 1992 ; Barker, 2001 ; Larbaa, 2014).



**Figure 5 :** Anatomie de l'escargot *Helix aspersa* (Quibik, 2007). **1:** Coquille. **2:** Hépatopancréas. **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.

## 2.1.4. Biologie de l'espèce (*Helix aspersa*)

### 2.1.4.1. Alimentation

L'escargot *Helix aspersa* se nourrit de divers végétaux et fruits. Son régime alimentaire varie en fonction des plantes qui colonisent le milieu (**Chevalier et al., 2001**). Il peut attaquer les plantes cultivées dans les jardins, entraînant parfois de graves dommages aux récoltes. Pour s'alimenter, *Helix aspersa* utilise son radula, comprenant environ 1500 à 2500 dents revêtues de surfaces dures. Une arête rigide au-dessus de sa bouche facilite l'écrasement des aliments (**Beazlez, 2000**). Selon les recherches de **Carrier et al. (2006)**, son intestin héberge une flore bactérienne qui participe activement à la digestion des végétaux, notamment pendant les périodes d'estivation et d'hibernation, où l'escargot se nourrit du mucus sécrété par l'épithélium intestinal.

### 2.1.4.2. Croissance

En milieu naturel, la croissance de l'escargot dépend des conditions climatiques. Elle s'interrompt pendant les périodes d'estivation et d'hibernation. La période de croissance naturelle est généralement de deux ans. De manière exceptionnelle, l'escargot peut atteindre l'âge adulte en un an, en cas de printemps ou d'été humides. En revanche, deux périodes de sécheresse estivale successives pourraient étendre la durée de croissance à trois ans. Lorsqu'il est élevé dans des enceintes humidifiées chaque jour, l'escargot atteint le stade adulte au bout de dix à douze mois (**Chevalier, 1982 ; Madec, 1983 ; Laurent et al., 1984 ; Aneur, 2021**).

Les différentes phases de croissance de l'escargot, basées sur le développement de son appareil génital sont les suivantes :

- La phase infantile, qui correspond aux quatre premiers mois, où le tractus génital est immature. A ce stade, les escargots pèsent de 0,02 à 0,6 g (**Gomot et Enée, 1980 ; Madec, 1983**).
- La phase juvénile, située entre la période de "pré-puberté" et la période de puberté, qui se caractérise par une organisation du tractus génital et une gamétogenèse active, avec un poids corporel compris entre 0,6 et 6,0 g (**Gomot et Enée, 1980 ; Laurent et al., 1984**).
- La phase de maturité, également appelée pré-adulte, pendant laquelle l'appareil génital se développe principalement dans une voie femelle. Le poids des escargots à ce stade dépasse les 6 g (**Gomot et Enée, 1980 ; Madec, 1983**).
- La phase adulte, caractérisée par une croissance nulle et une reproduction active, avec un poids corporel variant entre 6 et 14 g (**Chevalier, 1982-1992**).

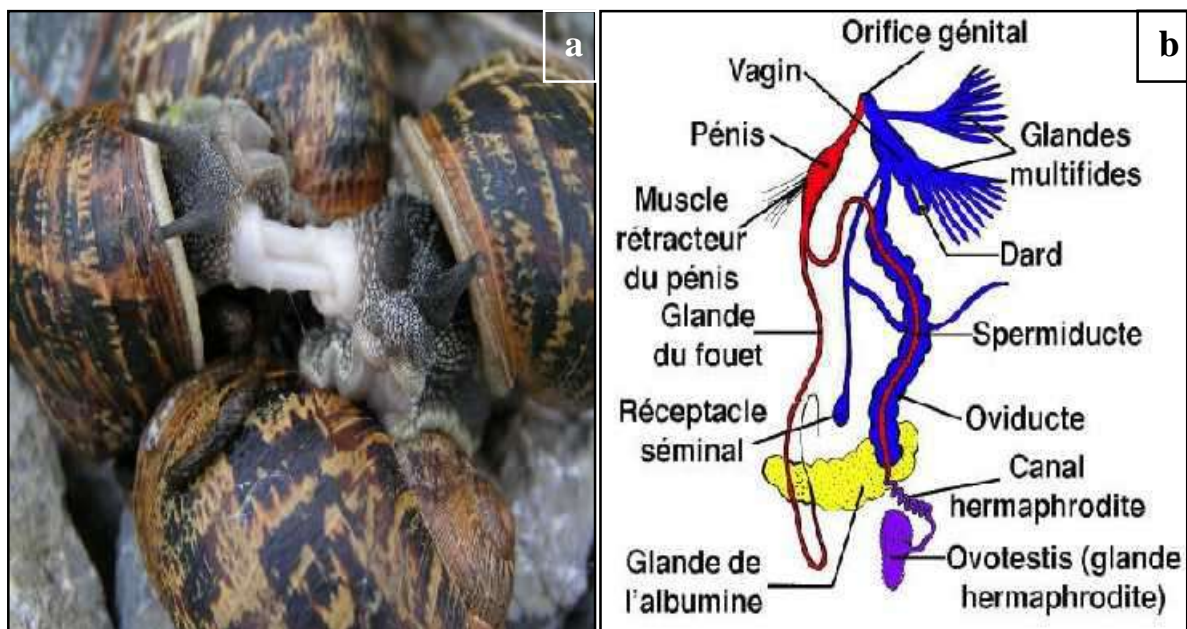


### 2.1.4.3. Reproduction

Les escargots terrestres se reproduisent au printemps et en été. La fécondation croisée est la plus fréquente par rapport à l'autofécondation qui est extrêmement rare (Larbaa, 2014). Le déroulement de la reproduction se fait selon les phases suivantes :

- **Accouplement** : Lors de l'accouplement réciproque, qui peut durer plus de 12h, deux partenaires se positionnent tête-bêche, où le pénis de chacun pénètre dans le vagin de l'autre. À ce moment, les spermatozoïdes sont libérés par le biais d'un long filament appelé le spermatophore (Larbaa, 2014) (Figure 6a). Selon les différentes régions, les escargots s'accouplent tout au long de leur période d'activité avec une périodicité précise (Pirame, 2003).

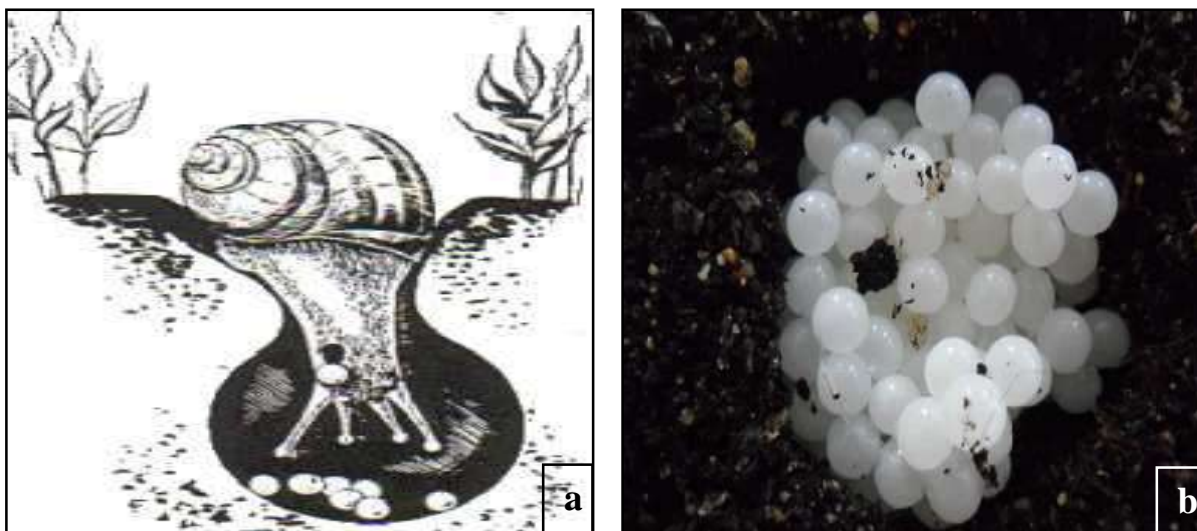
- **Ovulation-fécondation** : Les spermatozoïdes échangés, développés initialement dans l'ovotestis (ou gonade), rejoignent le réceptacle séminal où ils sont conservés jusqu'à la maturation des ovules. Environ quinze jours après l'accouplement, la fécondation se déroulera dans la chambre de fertilisation, située à la surface de la glande à albumen. Cette dernière assure la sécrétion d'albumen entourant les ovocytes fécondés, fournissant ainsi les réserves nutritives nécessaires au développement embryonnaire (Figure 6b) (Le Calve, 1989 ; Pirame, 2003).



**Figure 6** : Reproduction de l'escargot *Helix aspersa*. (a) : Accouplement de deux partenaires (Buron-Mousseau, 2014) ; (b) : Schéma de l'appareil reproducteur (Guyard, 2009).

- **Ponte** : Dans des conditions constantes de température et d'hygrométrie (20°C et 85%), la durée moyenne entre la ponte et l'accouplement est de 10 à 15 jours. L'escargot pond en moyenne environ 120 œufs éjectés par l'orifice génital directement dans un nid de ponte creusé dans la terre ou le sable (**Figure 7**). La durée de ponte varie entre 12 et 48 heures (**Pirame, 2003**).

- **Incubation-éclosion** : Dès les premiers jours d'incubation après la ponte, l'embryon forme une coquille protéique qui se calcifie au fur et à mesure de son développement. Dans les conditions naturelles, l'incubation peut durer de 15 à 30 jours. L'embryon se libère en brisant la membrane externe de l'œuf. Les naissains passent alors environ 6 à 10 jours dans le nid de ponte avant de remonter à la surface du sol (**Figure 8**). À ce stade, ils ont une masse de 10 à 40 mg, un diamètre de 2 à 4 mm et ils sont prêts à se nourrir (**Pirame, 2003**).



**Figure 7** : La ponte chez l'escargot. (a) : Schéma d'un Petit-Gris en position de ponte (**Piel, 2014**) ; (b) : Œufs d'escargot (**Astrid, 2011**).



**Figure 8** : Naissains d'escargots (**Bacquet, 2012**).

#### 2.1.4.4. Rythme d'activité

Les escargots ajustent leurs rythmes biologiques en fonction des saisons. Ainsi, dans un climat tempéré, ils s'adaptent aux fluctuations thermiques saisonnières en suivant trois rythmes d'activité annuels caractérisés par trois états physiologiques (**Pirame 2003**) :

- L'un se caractérise par un ralentissement du métabolisme et se produit pendant les températures basses de l'hiver : c'est l'hibernation, au début de laquelle, l'escargot produit un voile muqueux, appelé l'épiphragme, couvrant l'ouverture de sa coquille, et limitant ainsi les pertes d'eau (**Aupinel, 1984 ; Welter-Schultes, 2012**). Pendant la saison froide, les rythmes cardiaque et respiratoire se ralentissent et la croissance s'arrête (**Aupinel, 1984 ; Pirame 2003 ; Welter-Schultes, 2012**).

- Le second s'étend du printemps à l'automne. Il se distingue par une récupération de la mobilité, le début de la croissance des jeunes et la reproduction des adultes (**Pirame 2003**).

- Pendant les saisons sèches et chaudes, l'escargot aura aussi une période de vie ralentie, connue sous le nom d'estivation. L'estivation, à la différence de l'hibernation, est un état de résistance temporaire qui s'évanouit lorsque les conditions climatiques redeviennent favorables. L'animal est entièrement rétracté à l'intérieur de sa coquille (operculé) dont l'ouverture est obstruée par l'épiphragme (**Pirame 2003 ; Welter-Schultes, 2012**). Durant l'estivation, la respiration et les mouvements cardiaques restent normaux, mais les réserves d'eau et d'énergie diminuent rapidement (**Cobbinah et al., 2008**).

L'hygrométrie du milieu (air et sol), la température et l'intensité lumineuse sont les principaux facteurs influençant l'activité de l'escargot (**Chevallier, 1982**). Son activité est principalement nocturne, se synchronisant avec la photopériode naturelle commençant au coucher du soleil et atteignant son maximum six heures plus tard. Les escargots ne sont actifs que lorsque l'humidité relative de l'air dépasse 80 % et que la température minimale nocturne est d'au moins 9°C (**Chevallier, 1992 ; Larbaa, 2014**).

#### 2.1.5. Ecologie de l'espèce

Le petit-gris est une espèce très répandue dans le monde, originaire des pays méditerranéens (**Kerney et Cameron, 2006**). Il vit dans de nombreux habitats, mais préfère ceux offrant une grande quantité de nourriture, un taux d'humidité élevé et un abri. On le trouve à proximité des sources d'eau douce, dans les bois, les champs, les jardins, les sous-sols et les

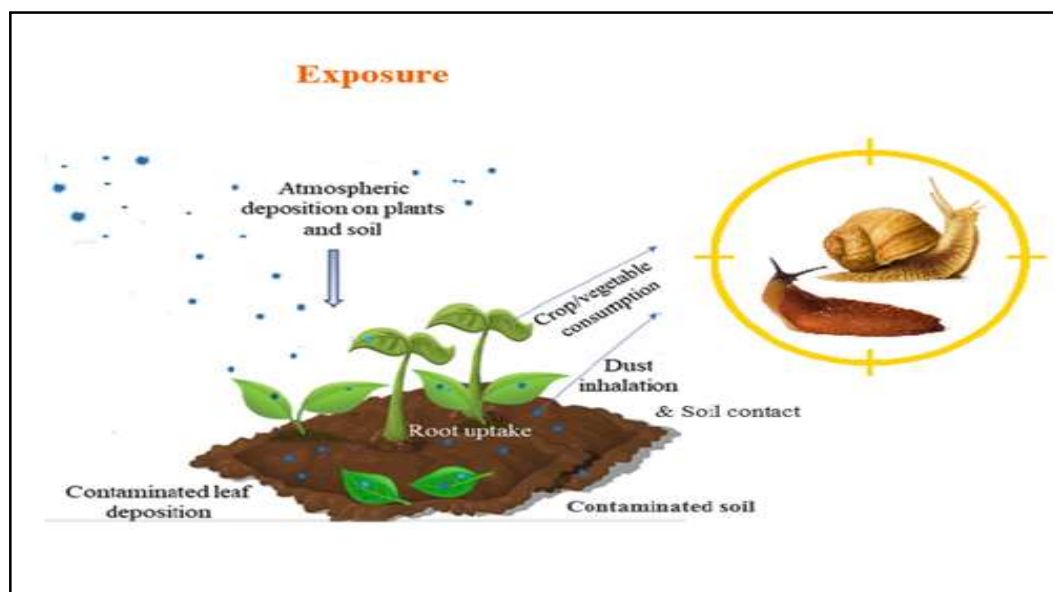
murs, ainsi que dans les plaines ouvertes et les pieds des montagnes. Il est plus fréquent sur les sols calcaires que sur d'autres sols (**Kerney et Cameron, 2006**).

Ces escargots jouent un rôle crucial dans les chaînes alimentaires. Les prédateurs qu'ils possèdent sont variés, tels que des mammifères, des rongeurs ou des hérissons, ou des oiseaux, mais aussi parfois d'autres mollusques gastéropodes comme le Bulime tronqué (**zaafour, 2014**).

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

L'escargot *Helix aspersa* compte parmi les mollusques gastéropodes prometteurs en matière de biosurveillance, car doté de plusieurs caractéristiques clés adaptées à la bio-indication :

- En plus de sa facilité de collecte, d'élevage et d'identification, ainsi que ses caractéristiques éco-physiologique clairement connues, *Helix aspersa* constitue une part importante de la biomasse au sein de la communauté des invertébrés terrestres (**Dallinger et al., 2001**).
- Il est considéré comme maillon essentiel de la chaîne alimentaire, jouant un rôle clé dans le transfert de polluants depuis les producteurs vers les niveaux trophiques supérieurs (**Scheifler et al., 2002 ; Grara, 2015**). Par conséquent, cette espèce est tout à fait adaptée pour estimer la biodisponibilité des polluants dans les réseaux trophiques terrestres (**Stürzenbaum et al., 2004 ; Van Straalen et al., 2005 ; Scheifler et al., 2006**).
- Ses capacités de résistance et d'accumulation de nombreux polluants, particulièrement les métaux, sont remarquables (**Scheifler et al., 2002 a,b ; Viard et al., 2004**).
- Grâce à son régime alimentaire qui repose sur la consommation de végétaux et l'ingestion de sol, *Helix aspersa* représente un outil de biosurveillance écotoxicologique très pertinent car il absorbe divers contaminants par différentes voies d'exposition :
  - digestive (voie majeure, >80%) par ingestion de plantes (**Scheifler et al., 2006**) ainsi que les particules de sols (**Gomot et al., 1989**).
  - cutanée (voie mineure, 20%) par diffusion des polluants du sol à travers l'épithélium du pied (**Coeurdassier et al., 2002 ; Gomot de Vaufleury et Pihan, 2002**).
  - respiratoire par inhalation de gaz et/ou des particules en suspension dans l'air (**Ismert et al., 2002; Regoli et al., 2006**) (**Figure 9**).



**Figure 9 :** Exposition des escargots aux polluants dans l'écosystème terrestre (d'après El-Gendy et al., 2021).

## 2.2. Présentation et localisation des sites d'étude

Pour notre étude, nous avons retenu deux sites présentant des caractéristiques différentes : le village d'Erbea et l'usine SPA Bordj Steel.

### 2.2.1. Site 1 : Erbea

Le premier site concerné par cette étude est un endroit naturel, éloigné de toute source de contamination industrielle. Erbea est un village localisé dans les montagnes de M'Zita, commune de Mansourah – Bordj Bou Arréridj, à une altitude de 828 mètres, situé à proximité des localités Oulad Aicha et Boukaba (**Figure 10**). Les résultats obtenus sur ce site seront considérés par la suite comme les témoins terrain des expériences de biosurveillance active.

### 2.2.2. Site 2 : SPA Bordj Steel

Le deuxième site d'étude est un site industriel caractérisé par sa forte pollution. « SPA Bordj Steel » est un complexe s'étalant sur une surface totale de 100.000 m<sup>2</sup>, implanté dans la zone industrielle Mechta Fatima, située à 15 km de la ville de Bordj Bou Arréridj, commune d'El-Hammadia (**Figure 11**). Ce complexe est spécialisé dans la construction métallique, notamment la fabrication de charpentes métalliques, de panneaux sandwichs et de chaudronnerie.



Figure 10 : Localisation géographique de site témoin « Erbea » (Mapcarta, 2024).



Figure 11 : Localisation géographique du site contaminé « SPA Bordj Steel » (Google Maps, 2024).

## 2.3. Méthodes

### 2.3.1. Collecte et sélection des escargots

Les escargots utilisés de notre étude ont été fournis par une ferme d'élevage de la wilaya de Constantine, puis transférés au laboratoire où ils ont été triés et pesés pour obtenir des échantillons de poids homogène.

### **2.3.2. Protocole expérimental d'exposition des escargots *in situ* (bioindication active)**

La méthodologie expérimentale de ce test a été développée en se basant sur les recherches de **Viard La Rocca et al. (2004)**, **Fritsch et al. (2011)**, **Pauget et al. (2013)**.

Dans notre étude, deux microcosmes (cages en bois de 50× 25 ×25 cm) ont été installés sur les deux sites d'étude (témoin et contaminé) pendant 28 jours (**Figure 12**). Chaque microcosme contenait 10 individus. Les escargots encagés sont des subadultes ayant un poids moyen de 4,5 à 5,5 g. Ces cages sans fond sont placées sur le sol de manière à permettre aux escargots d'accéder à la nourriture présente sur le site (sol, végétation naturelle poussant dans le microcosme). Des morceaux de tuile ont été ajoutés afin de maintenir des abris frais et humides dans l'enceinte du microcosme et un grillage en plastique a été ajusté au-dessus des microcosmes afin d'empêcher la fuite des escargots.

### **2.3.3. Dissection et prélèvement d'organes**

A la fin du test *in situ*, les escargots sont transportés au laboratoire où ils sont mis à jeun pendant deux jours afin de vider leur tube digestif et sont sacrifiés par congélation puis disséqués. Les organes (hépatopancréas et rein) sont ensuite prélevés et utilisés pour le dosage des différents biomarqueurs (**Grara et al., 2009**) (**Figure 13**).

### **2.3.4. Paramètres étudiés**

#### **2.3.4.1. Mesure des paramètres morphométriques**

##### **2.3.4.1.1. Poids frais des escargots**

Durant les 28 jours d'exposition sur terrain. Les escargots sont pesés chaque semaine à l'aide d'une balance de précision (**Figure 14**).

##### **2.3.4.1.2. Diamètre de la coquille**

Des mesures du diamètre de la coquille des escargots ont également été réalisées chaque semaine en utilisant un pied à coulisse. Il est important d'effectuer ces mesures avec précaution afin d'éviter l'endommagement du bord des coquilles, qui est très fragile chez les escargots en pleine croissance.

### 2.3.4.1.3. Poids frais de l'hépatopancréas et du rein

Après dissection des escargots des deux sites d'étude, les hépatopancréas et les reins sont prélevés et pesés individuellement.



**Figure 12 :** Implantation des microcosmes sur les sites d'étude (A : site témoin ; B : site contaminé) (photo personnelle, 2024).



**Figure 13 :** Dissection des escargots et séparation des organes (photo personnelle, 2024).





**Figure 14 : Pesée des escargots (photo personnelle, 2024).**

#### **2.3.4.2. Mesure des paramètres du stress oxydant**

Les hétopancréas et les reins récupérés ont été divisés en trois fragments destinés respectivement au dosage du taux de GSH et à l'évaluation des activités enzymatiques GST et CAT.

##### **2.3.4.2.1. Dosage du taux de glutathion**

###### **a -Principe**

Le dosage du glutathion est déterminé par la méthode de **Weckbeker et Cory (1988)**, qui consiste à mesurer l'absorbance de l'acide 2-nitro-5-mercaptopurique, résultant de la réduction de l'acide 5-5'-dithio-bis-2-nitrobénzoïque (DTNB) par les groupements thiol (-SH) du glutathion.

###### **b- Mode opératoire**

Le dosage s'effectue après homogénéisation des échantillons dans 1 ml d'une solution d'éthylène diamine tétra-acétique (EDTA) à 0,02 M. Afin de protéger les groupements thiols du glutathion, l'homogénat doit subir une déprotéinisation par l'acide sulfosalicylique (ASS) à 0,25 % où 0,2 ml d'acide sulfosalicylique (ASS) sont additionnées à 0,8 ml d'homogénat. Le mélange après agitation est plongé dans un bain de glace pendant 15 min, puis centrifugé à 1000 tours/min pendant 5 min. Une fraction aliquote de 500  $\mu$ l du surnageant récupéré est ajoutée à 1 ml du tampon tris / EDTA (0,02 M) et 0,025 ml de DTNB (0,01 M). La lecture des absorbances s'effectue à une longueur d'onde de 412 nm après 5 min de repos à une température ambiante pour la stabilisation de la couleur.

### c- Calcul de la concentration de GSH

Le taux du glutathion est estimé selon la formule suivante :

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

**GSH** : micromole de substrat hydrolysé par mg de protéines ( $\mu\text{M/mg}$  de protéines).

**DO** : Densité Optique à 412 nm.

**1** : volume total des solutions utilisées dans la dé-protéinisation (0,8 ml homogénat + 0,2 ml SSA ou Acide Sulfo-Salicylique).

**1,525** : volume total des solutions utilisées dans le dosage du GSH (0,5 ml surnageant + 1 ml Tris EDTA (Acide-Ethylène-Diamine-Tétra-Acétique) + 0,025 ml DTNB).

**13,1** : coefficient d'absorbance du groupement (-SH) à 412 nm.

**0,5** : volume du surnageant trouvé dans 1,525 ml.

**0,8** : volume de l'homogénat trouvé dans 1 ml.

### 2.3.4.2.2. Dosage de l'activité GST

#### a- Principe

La mesure de l'activité 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).

#### b- Mode opératoire

Les échantillons sont homogénéisés dans 1 ml de tampon phosphate (0.1 M, pH=6). L'homogénat est centrifugé à 14000 t/min pendant 30 min et le surnageant récupéré servira comme source d'enzymes. Le dosage consiste à faire réagir 200  $\mu\text{l}$  du surnageant avec 1,2 ml du mélange CDNB (1mM), GSH (5 mM). La lecture des absorbances est effectuée toutes les minutes pendant 5 minutes à une longueur d'onde de 340 nm.

#### c- Calcul de la l'activité GST

L'activité spécifique est déterminée selon la formule suivante :

$$\text{GST } (\mu\text{M/min/mg de protéines}) = \frac{\Delta \text{DO} \times \text{Vt}}{e \times \text{Vs} \times \text{mg de protéines}}$$

**GST** :  $\mu\text{mole}$  de substrat hydrolysé par minute et par mg de protéines ( $\mu\text{M/mn/mg}$  de protéines).

$\Delta DO$  : pente de la droite de régression obtenue après hydrolyse du substrat en fonction du temps.

$\epsilon$  : 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.

### 2.3.4.2.3. Dosage de l'activité CAT

#### a- Principe

L'activité catalase (CAT) est mesurée selon la méthode de **Regoli et Principato (1995)**, par la dismutation du peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) en eau et en dioxygène :



#### b- Mode opératoire

L'activité catalase (CAT) est mesurée à 240 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV/visible par la variation de la densité optique consécutive à la dismutation du peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) pendant 1 min à un intervalle de 15 secondes, en faisant réagir 750  $\mu\text{l}$  (100mM) de tampon phosphate (pH 7,5), 200  $\mu\text{l}$  de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (500mM) et 50  $\mu\text{l}$  de l'homogénat.

#### c- Calcul de la concentration de Catalase

L'activité spécifique de l'enzyme est déterminée d'après la formule suivante :

$$\text{CAT } (\mu\text{g}/\text{mn}/\text{mg de protéines}) = \frac{\Delta Do}{\epsilon \times L \times \text{mg de protéines}}$$

**CAT** :  $\mu$  moles de  $\text{H}_2\text{O}_2$  consommées par minute et par mg de protéines.

$\epsilon$  : coefficient d'extinction ( $\text{mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ).

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

$\Delta DO$  : différence de la densité optique obtenue après hydrolyse du substrat.

**mg de protéines** : quantité de protéines exprimée en mg.

## 2.4. Etude statistique

Les résultats obtenus sont exprimés sous forme de moyenne  $\pm$  écart type ( $m \pm SD$ ) et ont été analysés à l'aide du logiciel Minitab (Version 14.0). L'analyse de la variance (ANOVA) et le test  $t$  de Student ont été utilisés pour mettre en évidence les différences entre les groupes étudiés. Les différences sont considérées comme significatives lorsque  $p \leq 0,05$  (\*); hautement significatives lorsque  $p \leq 0,01$  (\*\*); et très hautement significatives lorsque  $p \leq 0,001$  (\*\*\*) .



*Résultats*

### 3. Résultats

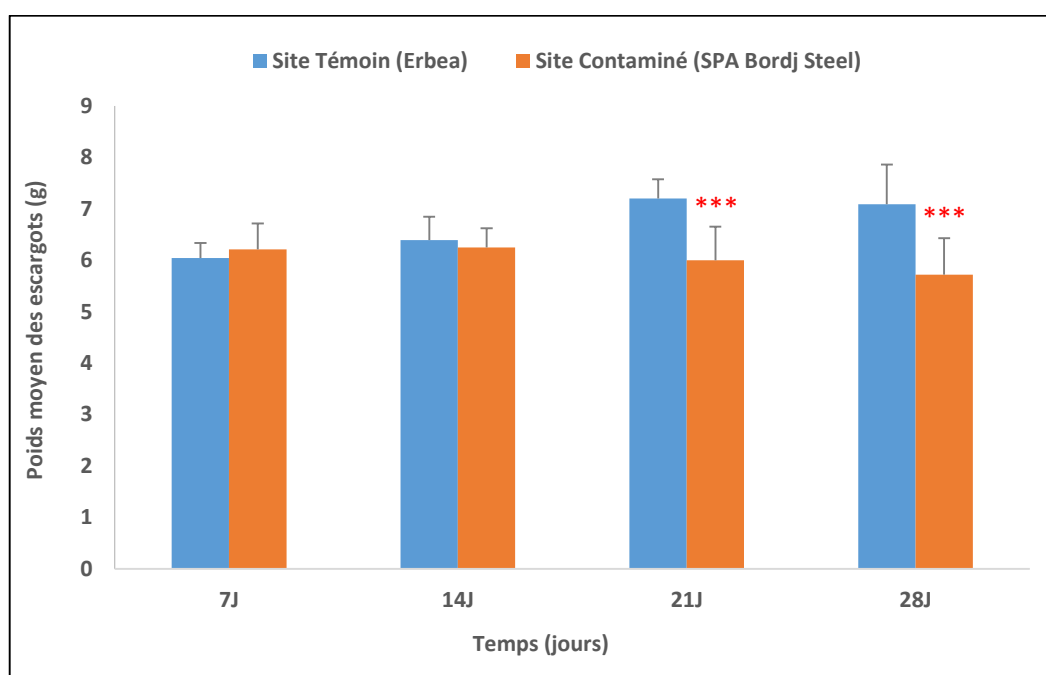
#### 3.1. Effet de la pollution industrielle sur les paramètres morphométriques de l'escargot *Helix aspersa* après exposition *In situ*

##### 3.1.1. Effet des rejets métalliques sur le poids moyen des escargots

La **figure (15)** représente l'évolution du poids moyen des escargots transférés sur les deux sites d'étude (témoin et contaminé) en fonction du temps.

D'après les résultats obtenus, nous constatons qu'au cours des deux premières semaines d'exposition, l'évolution du poids moyen des escargots est similaire pour les deux groupes (témoins et exposés sur le site contaminé « SPA Bordj Steel »). En revanche, dès la troisième semaine, une diminution très hautement significative ( $p \leq 0,001$ ) du poids des escargots exposés sur le site contaminé est observée par rapport aux témoins, et persiste jusqu'à la fin de l'expérience. Ainsi, le poids moyen des escargots témoins atteint  $7,09 \pm 0,77$  g au bout de 28 jours, tandis qu'il atteint seulement  $5,72 \pm 0,70$  g pour ceux exposés sur le site industriel « SPA Bordj Steel ».

L'analyse de la variance à deux critères de classification révèle un effet sites très hautement significatif ( $p < 0,001$ ), et un effet temps significatif ( $p = 0.05$ ).



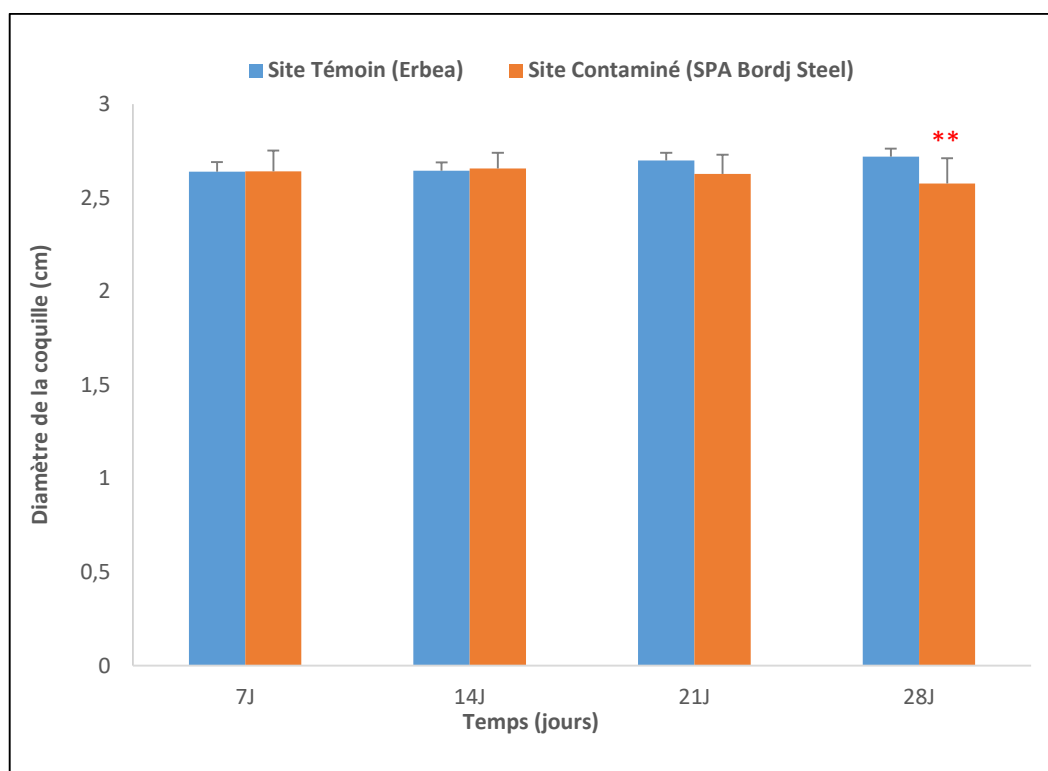
**Figure 15 :** Evolution du poids moyen des escargots transférés sur les deux sites d'étude (témoin et contaminé) après 28 jours d'exposition ( $m \pm SD$  ;  $n = 10$ ).

### 3.1.2. Effet des rejets métalliques sur le diamètre de la coquille

L'évolution du diamètre de la coquille des escargots transférés sur les deux sites d'étude (témoin et contaminé) en fonction du temps est illustrée dans la **figure (16)**.

Nos résultats montrent une diminution non significative ( $P > 0,05$ ) dans l'évolution du diamètre de la coquille des escargots exposés sur le site contaminé comparativement à ceux du site témoin au cours des trois premières semaines d'exposition. En outre, une diminution hautement significative de ce paramètre ( $p < 0,01$ ) est notée à la quatrième semaine. Ainsi, le diamètre de la coquille passe de  $2,72 \pm 0,04$  cm chez les escargots du site « Erbea » à  $2,57 \pm 0,13$  cm chez ceux exposés sur le site industriel « SPA Bordj Steel » après 28 jours d'exposition.

Le traitement des résultats par l'analyse de la variance à deux critères indique un effet sites hautement significatif ( $p < 0,01$ ) et un effet temps non significatif ( $p > 0,05$ ).

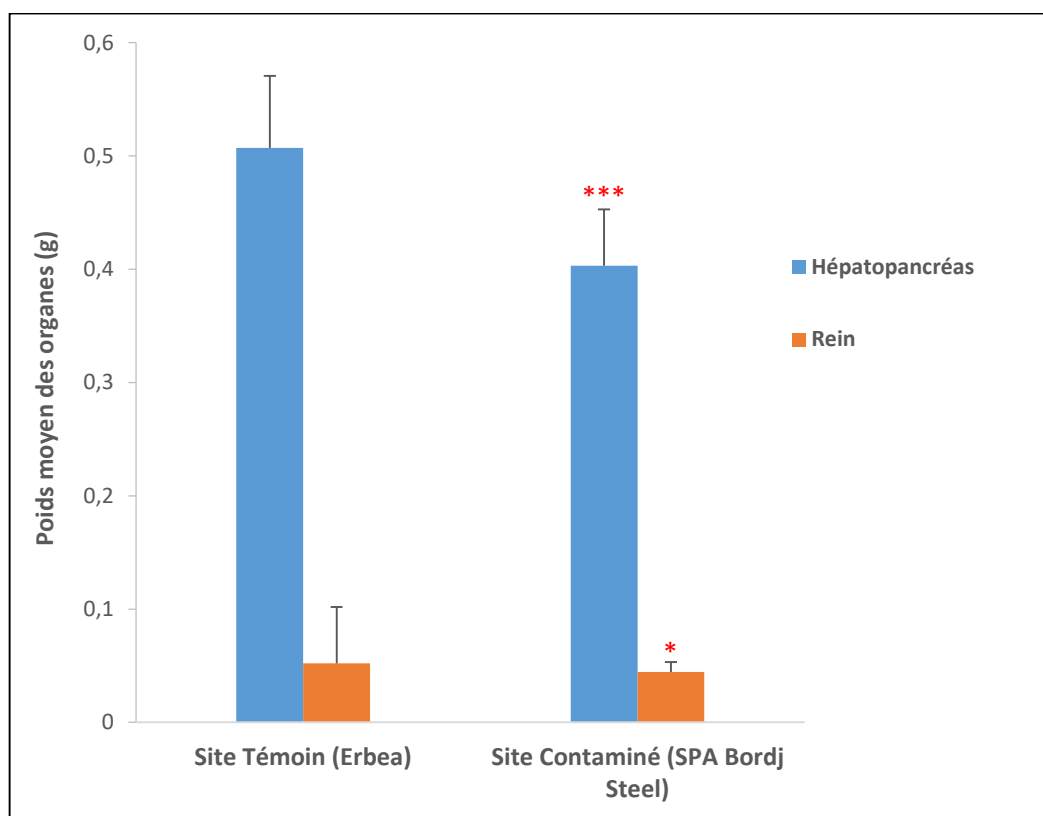


**Figure 16 :** Evolution du diamètre de la coquille des escargots transférés sur les deux sites d'étude (témoin et contaminé) durant les 28 jours d'exposition ( $m \pm SD$  ;  $n = 10$ ).

### 3.1.3. Effet des rejets métalliques sur le poids moyen des organes

Les résultats relatifs à l'effet des rejets métalliques sur le poids moyen des organes sont représentés dans la figure ci-dessous.

Nos résultats mettent en évidence une diminution du poids moyen de l'hépatopancréas et du rein des escargots exposés sur le site industriel « SPA Bordj Steel » par rapport aux témoins. Ainsi, le poids de l'hépatopancréas des escargots du site témoin est de l'ordre de  $0,507 \pm 0,063$  g et diminue de manière très hautement significative ( $p = 0,001$ ) pour atteindre  $0,403 \pm 0,049$  chez les escargots exposés sur le site contaminé. Concernant le rein, une diminution significative ( $p = 0,05$ ) est également observée, avec un poids moyen passant de  $0,052 \pm 0,006$  g chez les escargots témoins à  $0,044 \pm 0,008$  g chez ceux exposés sur le site contaminé.



**Figure 17 :** Évolution du poids moyen de l'hépatopancréas et du rein des escargots transférés sur les deux sites d'étude ( $m \pm SD$  ;  $n = 10$ ).

### 3.2. Effet de la pollution industrielle sur les biomarqueurs du stress chez l'escargot *Helix aspersa* après exposition *In situ*

#### 3.2.1. Effet des rejets métalliques sur le taux de GSH

Le **tableau (1)** illustre les variations du taux de GSH, au niveau de l'hépatopancréas et du rein des escargots du site témoin (Erbea) et ceux transférés sur le site industriel (SPA Bordj Steel).

Nous notons une diminution significative ( $p < 0,05$ ) du taux de GSH au niveau de l'hépatopancréas des escargots du site contaminé « SPA Bordj Steel » comparé à ceux du site témoin. En effet, le taux de GSH passe d'une moyenne de  $2,80 \pm 0,61 \mu\text{mol/mg}$  de protéines chez les escargots du site « Erbea » à environ  $1,7 \pm 0,31 \mu\text{mol/mg}$  de protéines chez ceux du site industriel « SPA Bordj Steel ». Au niveau rénal, la diminution du taux de GSH n'est cependant pas significative ( $p > 0,05$ ).

**Tableau 1 :** Variation du taux de GSH au niveau de l'hépatopancréas et du rein des escargots du site témoin (Erbea) et ceux transférés sur le site industriel (SPA Bordj Steel) ( $m \pm SD$  ;  $n = 5$ ).

Taux de GSH au niveau des organes ( $\mu\text{mol/mg}$ de protéines)	Sites	
	Erbea	SPA Bordj Steel
Hépatopancréas	$2,80 \pm 0,61$	$1,68 \pm 0,31^*$
Rein	$2,94 \pm 0,25$	$2,00 \pm 0,50$

#### 3.2.2. Effet des rejets métalliques sur l'activité GST

Les résultats concernant la variation de l'activité GST présentés dans le **tableau (2)**, révèlent une augmentation hautement significative ( $p < 0,01$ ) chez les escargots du site industriel par rapport à ceux du site témoin, tant au niveau de l'hépatopancréas qu'au niveau du rein. En effet, l'activité GST hépatopancréatique est de  $0,36 \pm 0,04 \mu\text{mol/min/mg}$  de protéines chez les escargots du site contaminé, contre  $0,04 \pm 0,006 \mu\text{mol/min/mg}$  de protéines chez ceux du site témoin. De même, au niveau rénal, l'activité GST atteint  $0,34 \pm 0,03 \mu\text{mol/min/mg}$  de protéines chez les escargots du site contaminé, contre seulement  $0,03 \pm 0,008 \mu\text{mol/min/mg}$  de protéines chez ceux du site témoin.



**Tableau 2 :** Variation de l'activité GST au niveau de l'hépatopancréas et du rein des escargots transférés sur les deux sites d'étude (témoin et contaminé par les rejets métalliques) ( $m \pm SD$  ;  $n = 5$ ).

Activité GST au niveau des organes ( $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines)	Sites	
	Erbea	SPA Bordj Steel
Hépatopancréas	$0,04 \pm 0,006$	$0,36 \pm 0,04$ **
Rein	$0,03 \pm 0,008$	$0,34 \pm 0,03$ **

### 3.2.3. Effet des rejets métalliques sur l'activité CAT

Le **tableau (3)** met en évidence la variation de l'activité CAT chez les escargots transférés sur les deux sites (témoin et contaminé par les rejets métalliques).

Nous constatons une augmentation hautement significative ( $p = 0,01$ ) de l'activité enzymatique au niveau de l'hépatopancréas des escargots exposés sur le site industriel en comparaison avec ceux du site témoin. L'activité CAT passe ainsi de  $2,64 \pm 0,43 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$  de protéines chez les escargots du site témoin à  $8,08 \pm 1,01 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$  de protéines chez ceux du site contaminé. Concernant le tissu rénal, une augmentation significative ( $p = 0,05$ ) de l'activité CAT est également enregistrée, passant de  $2,87 \pm 0,90 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$  de protéines chez les escargots témoins à  $8,74 \pm 2,28 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$  de protéines chez ceux exposés sur le site contaminé.

**Tableau 3 :** Variation de l'activité CAT au niveau de l'hépatopancréas et du rein des escargots du site témoin (Erbea) et ceux transférés sur le site industriel (SPA Bordj Steel) ( $m \pm SD$  ;  $n = 5$ ).

Activité CAT au niveau des organes ( $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines)	Sites	
	Erbea	SPA Bordj Steel
Hépatopancréas	$2,64 \pm 0,43$	$8,08 \pm 1,01$ **
Rein	$2,87 \pm 0,90$	$8,74 \pm 2,28$ *

A decorative rectangular frame with intricate, symmetrical scrollwork and floral patterns. The frame is centered on the page and contains the word "Discussion" in a bold, black, cursive font.

*Discussion*

#### 4. Discussion

Au cours du dernier siècle, l'Algérie, a connu une période d'expansion industrielle intense, ce qui a entraîné le rejet de nombreuses substances polluantes dans l'environnement. Bien que cette activité ait favorisé un développement économique important, elle a également entraîné un dysfonctionnement des milieux naturels notamment, les sols, se manifestant par une diminution de la biodiversité et une réduction de la capacité de dégradation des polluants. Parmi les nombreux polluants menaçant les sols, les métaux lourds jouent un rôle majeur en raison de leur persistance élevée dans l'environnement (**Benguedouar, 2016**).

Dans les milieux naturels, les métaux sont généralement présents à des concentrations très faibles. En raison de la complexité des sols, l'évaluation de la contamination métallique s'avère être un processus délicat. L'utilisation des méthodes chimiques permet uniquement de fournir des informations partielles sur les polluants présents, sans considérer leurs éventuelles répercussions sur l'écosystème. Dans cette perspective, les analyses en laboratoire, qui permettent de quantifier le niveau de contamination d'un site, doivent être complétées par des études sur le terrain afin d'évaluer les effets toxiques des polluants et leur impact sur l'environnement (**Viard-La Rocca, 2004**).

De nombreuses études à l'échelle mondiale ont exploré l'utilisation des gastéropodes terrestres, particulièrement les escargots comme bio-indicateurs de la pollution des sols. Ces organismes revêtent un intérêt particulier pour examiner les transferts et les effets des éléments traces métalliques (ETM) dans les écosystèmes terrestres, étant donné leur large distribution mondiale et leur capacité à coloniser différents types d'environnements (**Hamdi-Ourfella et al., 2014 ; Benguedouar, 2016**).

Les escargots sont couramment utilisés dans les études de biosurveillance passive pour évaluer les niveaux de contamination d'un site donné où les concentrations en éléments métalliques sont déterminées dans les individus collectés sur les sites d'étude ou à proximité. Cependant, jusqu'à présent, très peu d'expériences de biosurveillance active ont été entreprises. C'est dans cette optique que nous avons réalisé ce travail, dont l'objectif principal est de mettre en évidence l'impact direct des éléments traces métalliques (ETM) émis par le complexe « SPA Bordj Steel » sur les organismes terrestres, à travers une biosurveillance active par exposition des escargots *Helix aspersa* (organismes sentinelles) en conditions naturelles (*in situ*) sur le site contaminé. Différents paramètres morphométriques et biochimiques ont été ainsi considérés.

Nous nous sommes intéressés, dans un premier temps, à l'évaluation de l'impact de la contamination métallique sur l'évolution de la croissance des escargots (poids et diamètre de la coquille). Nos résultats ont révélé une diminution significative du poids moyen et du diamètre de la coquille des escargots transférés sur le site industriel « SPA Bordj Steel » par rapport à ceux du site témoin, dès la troisième semaine d'exposition. Ces résultats sont en accord avec ceux de **Sahraoui (2022)** qui ont opté pour l'utilisation *in situ* de l'escargot *H. aspersa* dans un processus de biosurveillance active de la contamination métallique des sols. L'étude a été réalisée sur deux zones ; un domaine routier dans la région de B'kira à Constantine, et un domaine industriel dans la région d'El Hadjar à Annaba. Ces auteurs ont noté un effet inhibiteur évident de la pollution en domaine routier sur la croissance en poids et en diamètre de la coquille d'*H. aspersa*. Cependant, les escargots transférés sur la zone industrielle d'El Hadjar ont montré une forte résistance aux ETM dans le sol où aucun effet sur la croissance n'a été observé. Les travaux de **Viard-La Rocca (2004)** portant sur la biosurveillance active en utilisant l'escargot *Helix aspersa* ont également rapporté une réduction de la croissance chez les escargots transférés sur deux sites industriels contaminés par divers polluants, y compris les métaux. Selon cet auteur, les effets sur la croissance varient d'un site à un autre en raison des différences de concentrations en ETM dans chaque site, qui influencent grandement les taux d'accumulation d'éléments métalliques au niveau des viscères d'*Helix aspersa*. Il est également à noter que lors des expériences sur terrain, la température et l'humidité sont les principaux facteurs contrôlant l'activité des escargots et l'occurrence de leurs périodes de dormance par conséquent, leur croissance (**Viard-La Rocca, 2004**). Des résultats similaires ont été également obtenus par **Grara et al. (2015)** dans leur étude *ex situ* (en conditions contrôlées) chez *Helix aspersa* exposé aux nanoparticules de ZnO. De plus, **Beeby et al. (2002)** ont signalé des différences inter-populationnelles dans les effets de réduction de la croissance chez *Helix aspersa*. Ces différences pourraient être liées à des variations physiologiques de régulation des éléments essentiels comme le Ca et le Mg. Par ailleurs, plusieurs études ont rapporté que dans un environnement pollué, les escargots entrent dans un état de jeûne prolongé ce qui se traduit par une diminution du poids corporel et celui de la coquille (**Notton et al., 2006 ; Gimbert et al., 2008 ; Atilia, 2009 ; Alayat et Amamra, 2011 ; Kahli, 2015 ; Grara et al., 2012**).

Nous nous sommes, ensuite intéressés à l'effet de la pollution métallique sur le poids moyen des organes (hépatopancréas et rein). Les résultats obtenus ont mis en évidence une diminution significative du poids des organes chez les escargots transférés sur le site industriel « SPA Bordj Steel » en comparaison avec les témoins. Ces résultats sont en accord

avec ceux de **Grara et al. (2012)** qui ont mis en évidence une diminution du poids de l'hépatopancréas suite à une exposition aux poussières métalliques du complexe sidérurgique « ARCELOR METAL » d'Annaba. De même les travaux menés par **Belgacem et Charef (2018)** rapportent une diminution du poids moyen de l'hépatopancréas chez *Helix aspersa* exposé au TiO<sub>2</sub>. Cette réduction pourrait être attribuable à un évitement de la nourriture contaminée qui se traduit par une diminution du poids de la glande digestive.

Dans le but de mieux étayer notre recherche, nous avons jugé intéressant d'étudier l'impact de la pollution métallique sur quelques biomarqueurs du stress oxydant.

Le glutathion réduit (GSH) joue un rôle multifactoriel dans le mécanisme de défense antioxydant. C'est un piègeur direct de radicaux libres et il est le cofacteur de nombreux enzymes qui catalysent la détoxification et l'excrétion de plusieurs composés toxiques (**Regoli et Principato, 1995**).

Les résultats obtenus dans cette étude indiquent une diminution significative du taux de GSH au niveau hépatopancréatique et rénal chez les escargots exposés aux poussières métalliques *in situ* (SPA Bordj Steel) par rapport à ceux du site témoin. Ce résultat est en accord avec les travaux d'**Atailia (2017)** qui a noté une diminution du taux de GSH au niveau de la glande digestive des escargots exposés *in situ* sur un site localisé dans la zone industrielle El Hadjar (Annaba). **Boucenna (2010)** a également mis en évidence l'implication du système GSH/GST chez des escargots *Helix aspersa* traités par les poussières métalliques. La déplétion de la teneur en GSH rapportée dans cette étude pourrait être expliquée par la liaison directe du glutathion au métal du fait de sa grande affinité avec les groupements thiols (-SH) (**Barillet, 2007**). Pareillement, **El Gendy et al. (2009)** ont observé une diminution dose dépendante du taux de GSH au niveau de la glande digestive parallèlement à une induction de l'activité GST chez les escargots traités par des pesticides à base de cuivre. Selon **El-Shenawy et al. (2012)** la diminution du taux de GSH pourrait être attribuée à la consommation accrue de ce peptide pour la synthèse des protéines de liaisons aux métaux lourds, comme les métallothionéines.

La GST est une enzyme clé impliquée dans la catalyse de la conjugaison d'une variété de substrats électrophiles. Elle joue un rôle primordial dans le mécanisme de détoxification des espèces réactives de l'oxygène (ERO) (**Hayes et Pulford, 1995 ; Solé et al., 2004**) et la régulation de l'équilibre redox (**Konings et Penninga, 1985 ; Siritantikorn et al., 2007**). Elle intervient également dans la destruction des peroxydes et des époxydes provenant de l'oxydation non enzymatique des acides gras (**Valkoet al., 2006**).

Dans notre étude, nous avons noté une intensification de l'activité enzymatique GST chez les escargots exposés aux rejets métalliques *in situ* (SPA Bordj Steel) en comparaison avec les témoins. Nos résultats vont dans le même sens que ceux de **khene et al. (2017)** ayant montré une induction de l'activité GST au niveau de l'hépatopancréas et du rein d'*Helix aspersa* traité par les nanoparticules métalliques de TiO<sub>2</sub>. Les mêmes résultats ont été également rapportés par **Zouaghi (2016)** chez la même espèce suite à une exposition *in situ* (en conditions non contrôlées) aux rejets atmosphériques du complexe pétrochimique de Skikda. Il en est de même pour les résultats de **Moneyrac et al. (2014)** dans leur étude concernant l'exposition du mollusque bivalve *Scrobicularia plana* à des particules métalliques ultrafines (Ag, Cd et ZnO).

La catalase est une enzyme antioxydante ayant pour rôle la catalyse la réaction de transformation du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) en eau et en oxygène moléculaire (O<sub>2</sub>) (**Wang et al., 2012**). La production de peroxyde d'hydrogène est souvent induite par la présence de composés exogènes tels que les métaux (**van der Oost et al., 2003 ; Brown et al., 2004**). Ce dérivé réactif de l'oxygène peut entraîner l'oxydation des macromolécules, notamment l'ADN, les lipides et les protéines (**Vlahogianni et al., 2007**). La CAT est donc considérée comme une enzyme présentant une réponse claire et rapide de la contamination par les xénobiotiques (**Ribera et al., 2001**).

Nos résultats concernant la variation de l'activité CAT mettent en évidence une induction significative au niveau de l'hépatopancréas et du rein des escargots transférés sur le site contaminé « SPA Bordj Steel ». L'augmentation de l'activité catalase peut alors présenter une réponse adaptative au stress oxydatif engendré par les métaux. Ce résultat est en accord avec les travaux de **Benamara et al. (2021)** et **Ben belouaer et Beurghel (2022)** chez la même espèce exposée à l'oxyde de cuivre (CuO). Les mêmes résultats ont été également rapporté par **Grara et al. (2009)** et **Boucenna (2015)** qui ont révélé une induction de l'activité catalase chez *Helix aspersa* traité par des ETM. Une augmentation de l'activité CAT a été également observée dans les tissus du mollusque bivalve *Pernaviridis* exposé au cadmium, cuivre, zinc et au plomb (**Rajkumar et John Milton, 2011**).

A decorative rectangular frame with ornate, symmetrical scrollwork borders on all four sides. The frame is centered on the page and contains the text "Conclusion et perspectives" in a black, cursive script font.

*Conclusion et perspectives*

## 5. Conclusion et perspectives

L'objectif de cette étude est d'évaluer dans les conditions *in situ* (étude en microcosme) les effets des rejets métalliques d'origine industrielle (Complexe SPA Bordj Steel) sur les paramètres morphométriques et les biomarqueurs de stress oxydant (GSH, GST, CAT) au niveau de deux organes (l'hépatopancréas et le rein) chez l'escargot *Helix aspersa* transféré sur le site d'étude.

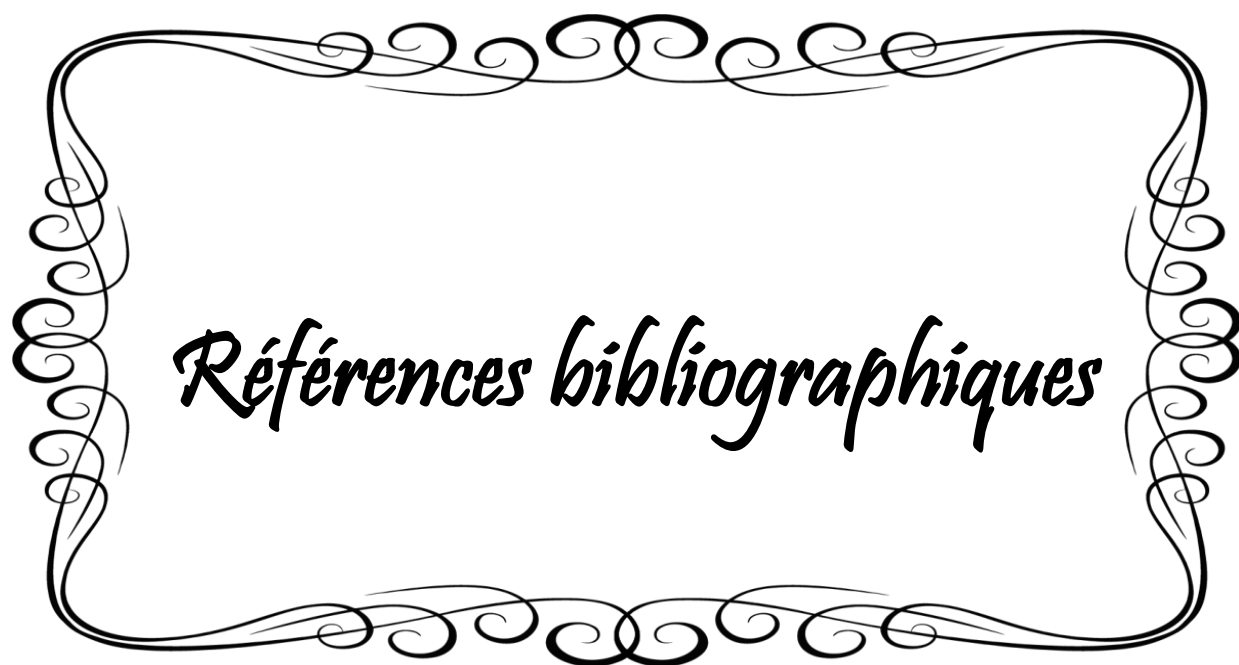
Nos résultats montrent que les rejets métalliques retardent la croissance des escargots se traduisant par une diminution du poids et du diamètre de la coquille ainsi qu'une réduction du poids de l'hépatopancréas et du rein. D'autre part, nous observons la survenue d'un stress oxydatif qui s'est manifesté par l'activation du système de détoxification à travers la diminution du taux de GSH et l'induction des activités GST et CAT.

Au terme de ce travail, nous pouvons conclure que l'escargot *H. aspersa* est un excellent bioindicateur de la qualité des sols, il peut ainsi être utilisé efficacement comme une espèce sentinelle de la pollution des sols par les métaux lourds.

En perspectives, il serait judicieux de :

- Réaliser les expériences de biosurveillance active sur d'autres sites présentant des profils de contamination différents.
- Etudier l'impact toxique des ETM sur les œufs des escargots et sur les juvéniles.
- Réaliser le dosage d'autres biomarqueurs du stress oxydant (GPX, MDA, SOD, métallothionéines...) afin de mieux comprendre les mécanismes d'action toxiques à une échelle subcellulaire.
- Réaliser une étude histologique sur les organes d'*Helix aspersa* (hépatopancréas, Rein,...) afin de déterminer les éventuelles altérations pouvant être engendrées.
- Réaliser une Spectrophotométrie d'Absorption Atomique (SAA) au niveau des viscères des escargots afin de déterminer les concentrations en éléments métalliques.



A decorative rectangular frame with a scalloped border, featuring a series of small, repeating scroll-like motifs along the top and bottom edges. The frame is centered on the page and contains the text "Références bibliographiques" in a black, cursive font.

*Références bibliographiques*

**6. Références bibliographiques**

**Adamowicz, A., & Bolaczek, M., (2003).** Blood cells morphology of the snail *Helix aspersa maxima* (Helicidae). *Zoological poloniae*; 48: 93-101.

**Adriano, D. (2001).** Trace elements in terrestrial environment: Biogeochemistry, bioavailability and risks of metals, 2nd ed. Springer-Verlag, New-York, NY, USA.

**Alayat A, Amamra R., (2011).** Evaluation de la toxicité potentielle de l'Aluminium sur un organisme animal bio accumulateur/bio indicateur : *Helix aspersa*. Université Badji Mokhtar Annaba, P33.

**Alloway B.J. (2013).** Sources of heavy metals and metalloids in soils in: Heavy Metals in Soils. *Springer, Dordrecht* ;22 : 11-50.

**Ameur N. (2021).** Caractérisation et évaluation des poussières et de leurs impacts sur la bio-écologie des Gastéropodes, dans la région d'ain touta (Batna, ALGERIE). Thèse de doctorat, Université Mustapha Ben Boulaid-Batna 2, 166p.

**Astrid, ( 2011).** OEufs d'escargot. Dans Escargots <http://leblogdastrid.canalblog.com/archives/2011/10/27/22492885.html>. Consulté le 15 juin 2019.

**Atailia A.(2017).** Effet des poussières métalliques d'origine industrielles sur un organisme animal bio indicateur / bioaccumulateur de pollution : *Helix aspersa*. Thèse Doctorat, Université Badji Mokhtar, Annaba. 45 p.

**Atailia A., (2009).** Effet des poussières métalliques d'origine industrielles sur un organisme animal bio indicateur / bio-accumulateur de pollution : *Helix aspersa*. Mémoire de magister, Université Badji Mokhtar, Annaba. 45 pages.

**Aupinel P. & Bonner J.C., (1996).** Influence de la photopériode sur l'activité saisonnière de L'escargot Petit-Gris (*Helix aspersa* Müller). Effet spécifique sur la croissance et la reproduction. INRA (Institut National de la Recherche Agronomique) *Production Animale*, 9 (1) : 79-83.

**Aupinel P., (1984).** Etude de l'importance de l'hibernation pour la reproduction de l'escargot « Petit-gris » *Helix aspersa*. D.E.A de l'université de Rennes,15(1).

**Ayangbenro A. S., Babalola O. O. (2017).** A new strategy for heavy metal polluted environments: a review of microbial biosorbents. *Int. J. Environ. Res. Public Health* ,14 (1), 94.

**Bacquet J.P., (2012).** Naissains escargots. Dans Naissains Escargots. Consulté en ligne le : 01 juin 2014.

**Bahroun, S. and Kherici, B.H. (2011).** Evaluation de l'indice de pollution organique dans les eaux de surface naturelles : Cas de la région d'El Tarf (Nord-Est Algérien). *Larhyss Journal*, 9, 171-178.

**Barillet, S., (2007).** Toxicocinetique, toxicité chimique et radiologique d'uranium chez le poisson zèbre (*Danio rerio*). PhD Thesis, Paul Verlaine University at Metz. 476 p.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Barker, G.M. (2001).** The Biology of Terrestrial Molluscs. CAB International, Oxon, Wallingford, UK, 567 p.
- Beazlez M., (2000).** Encyclopedia of Nature ,360 p.
- Beeby A. & Richmond, L., (2002).** Evaluating *Helix aspersa* as a sentinel for mapping metal pollution. *Ecological Indicators*, 1(4): 261-270.
- Beeby, A., & Richmond L., (2011).** Magnesium and the deposition of lead in the shell of three population of the garden snail *Cantareus asperses*. *Environmental pollution*, 159(6): 1667-1672.
- Benamara, M., Amrani, A., Zaidi, H Sedrati, F., Bouroumana, S., Zouzou, D., Kerkoub, N.,**
- Bouarroudj, T., et Nasri, H ., (2021).** Oxidative Stress Induced By The Metallic Oxide The Copper Oxide (CuO-Nps) On Terrestrial Snail *Helix Aspersa*. Reaserch Square. 1 : 1-18.
- Belgacem, O. et Charef, M. (2018).** Étude du stress oxydatif généré par les nanoparticules chez *Helix aspersa*: Mémoire de Master 2. Université Larbi Tebessi Tebessa , Algérie, 62p.
- Belhaouari B., (2012).** Etude écotoxicologique chez un gastéropode marin *Osilinus tubinatus* (Born, 1780) dans le littoral algérien occidental. Thèse de Doctorat de l'université d'Oran. 96p.
- Belhiouani, H., El-Okki, M. E. H., Afri-Mehennaoui, F. Z., & Sahli, L. (2019).** Terrestrial gastropod diversity, distribution and abundance in areas with and without anthropogenic disturbances, Northeast Algeria. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 20(1), 243-249.
- Ben Belouar, B. et Bergheul, L. (2022).** Étude toxicologique des nanoparticules d'oxyde de cuivre à l'égard d'*Helix aspersa*. Mémoire de Master 2. Université Mohammed El Bachir El Ibrahimy, B.B.A, Algérie, 42 p.
- Benbouzid H., Berrebbah H., Berredjem M. Djebbar M.R., (2012).** Toxic effects of phosphoramidate on *Paramecium* sp. with special emphasis on respiratory metabolism, growth, and generation time. *Toxicol. Environ. Chem.* 94(3) : (557-565)errio). PhD Thesis, Paul Verlaine University at Metz. 476 p.
- Benedetti, M. et Piva, F. (2006).** Use of the land snail *Helix aspersa* as sentinel organism for monitoring ecotoxicology effects of urban pollution: An integrated approach. *Environmental Health Perspectives*, 114, 63-69.
- Benguedouar, H. (2016).** Utilisation des escargots comme indicateur de la contamination métallique des sols : cas de l'*Helix aspersa*. Mémoire de Master 2. Université des Frères Mentouri, Constantine, Algérie, 52 p.
- Berger B. & Dallinger R., 1993.** Terrestrial snails as quantitative indicators of Environmental pollution. *Environmental Monitoring and Assessment*, 25 : 65-84.
- Bonnet J.C., Aupinel P. et Vrillon J.L., 1990.** L'escargot *Helix aspersa* : biologie-élevage. Institut National de la Recherche Agronomique, Éditions Quae, Paris, 124p.
- Bonnet, J.C., Aupinel, P., & Vrillon, J.L., (1990).** L'escargot *Helix aspersa* : biologie-élevage. Du laboratoire au terrain. Institut national de recherche agronomique, Paris. (INRA, Paris. ISBN: 2-7380-0247-1) :p119.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

**Bonnet, J.C., Vrillon, J.L. (1990).** L'escargot *Helix aspersa* biologie-élevage. Edition INRA.14-15

**Boucenna M, Berrebbah H, Atailia A, Grara N, Djebbar M R, (2015).** Effects of Metal Dust on Functional Markers and Histology of Gland Digestive and Kidney of the Land Snails (*Helix aspersa*) in the North East of algeria. *Global Veterinaria* ; 14 (2) : 189-198.

**Boucenna M., (2010).** Evaluation de la toxicité des poussières métalliques rejetées par les aciéries 1 et 2 du complexe sidérurgique d'El-Hadjar sur un modèle bio-accumulateur *Helix Aspersa*. Diplôme de Magister en Biologie, Université Badji Mokhtar-Annaba, 85p.

**Brown, P.J., Long, S.M., Spurgeon, D.J., Svendsen, C., & Hankard, P.K. (.2004).** Toxicological and biochemical responses of the earthworm *Lumbricus rubellus* to pyrene, a noncarcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbon. *Chemosphere*. 57, 1675-1681.

**Buron-Mousseau F., (2014).** Accouplement de Petits-Gris. Dans Zoologie. Consulté en ligne le : 01 juin 2014.

**Calvet, R. (2003).** Le sol, propriétés et fonctions. T2 : Phénomènes physiques et chimiques, Application Agronomique et Environnement. Ed. France Agricult. 510 p.

**Charrier, M., Fonty, G., Gaillard-Martinie, B., Ainouche K. & Andant, G., (2006).** Isolation and charaterization of cultivable fermentative bacteria from the intestine of to edible snails *Helix pomatia* and *cornu aspersum* (Gastropoda:Pulmonata).

**Chevalier, H. (1982).** Facteurs de croissance chez les Gasteropodes Pulmonés terrestres paléartiques en élevage. *Haliotis*, 12 : 29-4.

**Chevalier, L., Desbuquois, C., Le Lannic, J., Charrier, M., (2001).** Poaceae in the natural diet of the snail *Helix aspersa* Müller (Gastropoda, Pulmonata). *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences - Series III - Sciences de la Vie* 324(11), 979–987.

**Chevallier H., (1992).** L'Elevage des Escargots. Production Et Préparation du Petit Gris. Edit. Point Vétérinaire ; Maisons-Alfort, Francia 144 p.

**Cobbinah, JR, Vink A, Onwuka B (2008).** Snail Farming: Production, processing and marketing. Agromisia Foundation, Wageningen. First Edition pp. 78-82.

**Coeurdassier M., Saint-Denis M., Vaufleury A.G., 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*. 20, 1951-1957.

**Coeurdassier, M., Gomot-de Vaufleury, A., Lovy, C., Badot, P.M. (2002).** Is cadmium uptake from soil important in bioaccumulation and toxic effects for snails, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 53, 425-431.

**Cosel, R.V. (1992).** Sea shells of tropical West Africa. Edition l'ORSTOM, 64p.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 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, R., & Köhler, H., (2001).** Soil biology and ecotoxicology. In: Barker, G.M. (Ed.). The biology of terrestrial molluscs. CAB International, Oxon, Wallingford, UK: p. 489-525.
- El-Gendy, K. S., Gad, A. F., & Radwan, M. A. (2021).** Physiological and behavioral responses of land molluscs as biomarkers for pollution impact assessment: A review. *Environmental research*, 193, 110-558.
- El-Gendy, K. S., Radwan, M. A., & Gad, A. F. (2009).** In vivo evaluation of oxidative stress biomarkers in the land snail, *Theba pisana* exposed to copper-based pesticides. *Chemosphere*, 77(3), 339-344.
- El-Shenawy, S., Mohammadden, A., Al-Fahmie, Z., (2012).** Using the enzymatic and non-enzymatic antioxidant defense system of the land snail *Eobania vermiculata* as biomarkers of terrestrial heavy metal pollution. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 84. 347–354.
- Fritsch, C. (2010).** Utilisation intégrée de bioindicateurs pour la surveillance des sols et des écosystèmes terrestres. Thèse de doctorat. Université de Franche-Comté, France.
- Fritsch C., Coeurdassier M., Gimbert F., Crini N., Scheifler R., Gomot-De Vaufleury A. (2011).** Investigations of responses to metal pollution in land snail populations (*Cantareus aspersus* and *Cepaea nemoralis*) from a smelter-impacted area. *Ecotoxicology*. 20, 739 -759.
- Gimbert F, Gomot-De Vaufleury A, Douay F, Coeurdassier M, Scheifler R, Badot P-M (2008).** Long-term responses of snails exposed to cadmium-contaminated soils in a partial life-cycle experiment. *Ecotoxicol Environ Saf* 70:138–146.
- Gimbert F., Gomot-De Vaufleury A., Douay F., Scheifler R., Coeurdassier M., Badot P.M. (2006).** Modelling chronic exposure to contaminated soil: a toxicokinetic approach with the terrestrial snail *Helix aspersa*. *Environment International*. 32, 866-875.
- Gomot- De Vaufleury A, Pihan F. (2002).** Methods for toxicity assessment of contaminated soil by oral or dermal uptake in land snails: metal bioavailability and bioaccumulation. *Environ Toxicol Chem Int J* 21:820–827.
- Gomot L., Enée J., 1980.** Biologie de la reproduction de l'escargot *Helix aspersa* Muller : Les phases de la croissance et de la différenciation sexuelle. *Atti. Accad. Fisiocrit. Sienna*, 37 : 73-85.
- Gomot-de-Vaufleury A., Gomot L., Boukraa, S. et Bruckert S. (1989).** Influence of soil on the growth of the land snail *Helix aspersa*. An experimental study of the route for the stimulating factors. *Journal of Mollusca Studies* . 5, 1-7.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Grara, N., Boucenna, M., Atalia, A., Berrebbah, H., & Djebbar, M.R., (2012).** Stress oxydatif des poussières métalliques du Complexe Sidérurgique d'Annaba (Nord-Est algérien) chez l'escargot *Helix aspersa*. Environnement, *Risques & Santé*, 11(3): 221-229.
- Grara, N., Bouloudenine, M., Khaldi, F., Zenir, Z., & Abdemadjid, S. (2015).** Caractérisation Morphophysiologique de la Toxicité du ZnO (Nanoparticule manufacturée) sur l'escargot l'*Helix aspersa* bio-indicateur de pollution de l'environnement. J. Mater. Environ. Sci. 6, 9, 2596-2603p.
- Guyard, A., 2009.** L'escargot. Consultable sur internet:<http://baladesnaturalistes.hautetfort.com/archive/2009/10/10/1-escargot-debourgogne>. Html
- Habig WH., Pabst M.J., Jakoby WB., (1974).** Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *Journal of Biological Chemistry*, 249:7130-7139.
- Hamdi-Ourfella, A. N., & Soltani, N. (2014).** Qualité des sols dans deux sites du Nord-Est Algérien: utilisation d'une espèce bioindicatrice de la pollution des sols (Soil quality of two sites in Northeast Algeria: use of a bioindicator species of soil pollution). *Journal of Materials and Environmental Science*, 5(S2), 2527-2533.
- Hayes, J.D., & Pulford, D.J., (1995).** The Glutathione S-transferase supergene family: regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemo protection and drug resistance. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.*, 30, 445-600.
- Hooda, P. (2010).** Assessing bioavailability of soil trace elements. In: Trace elements in soils. Blackwell Publishing Ltd, Hoboken, New Jersey, États-Unis, 227-265.
- Ismert, M., Oster, T., Bagrel, D. (2002).** Effects of atmospheric exposure to naphthalene on xenobiotic-metabolising enzymes in the snail *Helix aspersa*. *Chemosphere*, 46: 273-280.
- Kabata-Pendias A. (2011).** Trace elements in soils and plants. 4th. CRC press, 72-97.
- Kahli H, (2015).** Evaluation du stress oxydatif induit par les nanoparticules chez *Helix aspersa* : Cas du dioxyde de titane. Université Badji Mokhtar Annaba, P53.
- Karas F., (2009).** Gastéropodes terrestres, invertébrés continentaux des pays de la Loire-gretia, 397 P.
- Kerney M.P. et Cameron R.A.D., (2006).** Guide des escargots et limaces d'Europe, identification et biologie de plus de 300 espèces. ED De la chaux Nietlé SA. Paris. 370p.
- Kerney, M & Cameron, R.A.D. (2006).** A Field Guide To The Land Snails Of Britain And North-West Europe, French Ed. Delachaux Et Niestlé SA, Paris.
- Khene, L., Berrebbah, H., Yahyaoui, A., Bouarroudj, T., Zouainia, S., Kahli, H., & Bourayou, C. (2017).** Biomarkers of oxidative stress, lipid peroxidation and ROS production induced by TiO<sub>2</sub> microparticles on snails *Helix aspersa*. *Studia Universitatis "Vasile Goldis" Arad. Seria Stiintele Vietii (Life Sciences Series)*, 27(2), 127-133.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Konings, A.W., Penninga, P., (1985).** On the importance of the level of glutathione and the reactivity of the pentose phosphate pathway in heat sensitivity and thermo tolerance. *Chem. Med.*, 48, 409–422.
- Larba, R. (2014).** Biosurveillance de l'environnement dans la région Est : mesure de biomarqueurs chez *Helix aspersa* et corrélation avec les caractéristiques physicochimiques des sols. Thèse en biologie animale environnementale. Université Badji Mokhtar, Annaba.
- Larba, R., Soltani N., (2014).** Use of the land snail *Helix aspersa* for monitoring heavy metal soil contamination in Northeast Algeria. *Environ Monit Assess.* 186 (8) : 4987-4995.
- Laurent, J., Deray, A. et Grimard, A.M. (1984).** Influence de la photopériode, du degré d'hétérogénéité de la population sur la dynamique de croissance et la maturation sexuelle de l'escargot *Helix aspersa*. *C. R. Soc. Biol.*, 178: 421-441.
- Le Calve, D., (1989).** Influence Of Incubations Conditions Of Eggs On The 1st 6 Weeks Of The Growth Of Snails *Helix Aspersa* Muller (Gastropoda, Pulmonata, Stylommatophora). *Bull. Soc. Zool. Fr. Evol. Zool.* 114, 101–110.
- Louzon M., Pelfrène A., Pauget B., Gimbert F., Morin-Crini N., Douay F., Gomot-De Vaufleury A. (2020).** Bioaccessibility of metalloids in soils to humans and their bioavailability to snails: A way to associate human health and ecotoxicological risk assessment, *Journal of Hazardous Materials.* 384, 121432.
- Lower W. R., et Kendall R. J. (2018).** Sentinel species and sentinel bioassay in: Biomarkers of environmental contamination. CRC Press. Boca Raton, Floride, États-Unis, 309-331pp.
- Madec, L., (1983).** Importance des conditions climatiques et de origine des individus pour la reproduction de escargot petit-gris en élevage sous bâtiment contrôlé. Session ITAVI, Rennes..
- Mcintyre N.E., Rango J., Fagan W.F. & Faeth S.H. (2001).** Ground arthropod community structure in a heterogeneous urban environment. *Landsc. Urban Planning* 52: 257–274.
- Merian E, Anke M, Ihnat M, Stoepler M. (2004).** Elements and their compounds in the environment. 2. Weinheim: Wiley-VCH; pp. 1157–1164.
- Miet, K., (2008).** Etude expérimentale de la dégradation hétérogène des Composés Aromatiques Polycycliques (CAP) d'intérêt Troposphérique. Thèse de Doctorat en Chimie Analytique et Environnement. Université Bordeaux I.
- Mouneyrac, C., Buffet, P.-E., et al., (2014).** Fate and effects of metal-based nanoparticles in two marine invertebrates, the bivalve mollusc *Scrobicularia plana* and the annelid polychaete *Hediste diversicolor*. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 21 (13), 7899–7912.
- Notten, M.J.M., Oosthoek, A.J.P., Rozema, J., Aerts, R. (2005).** Heavy metal concentrations in a soil-plant-snail food chain along a terrestrial soil pollution gradient. *Environmental Pollution* 138, 178-190.
- Pauget B. (2012).** Détermination des facteurs du sol modulant la biodisponibilité et l'accumulation des métaux pour l'escargot (*Cantareus aspersus*) (PhD Thesis). Université de Franche-Comté. 161p.

- Piel P., (2014).** Schéma d'un Petit-Gris en position de ponte. Dans Gastéropodes : escargot Petit-Gris. Consulté en ligne le : 03 juin 2014.
- Pirame S.S.L., (2003).** Contribution à l'étude de la pathologie estivale de l'escargot petit-gris (*Helix aspersa*) : reproduction expérimentale. Thèse de doctorat vétérinaire (Tou 3-4097), Ecole Nationale Vétérinaire, Université Paul-Sabatier, Toulouse, France, 99 p.
- Quibik, (2007).** Schéma en coupe de l'anatomie d'un escargot. Dans wikipédia Consulté en ligne le : 01 juin 2014.
- Rajkumar, J. S. I & John Milton, M.C. (2011).** Biochemical changes induced by cadmium, copper, lead and zinc exposure to *Perna viridis* under long term toxicity test. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 2 (3): 50-59.
- Regoli, F., & Pricipato, G. (1995).** Glutathione-dependant and antioxidant enzymes in mussel *Mytilus galloprovincialis* exposed to metals under field and laboratory conditions: implication for biomarkers. *Aquatic Toxicology*, 31, 143-164.
- 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.
- Regoli, F., Gorbi, S., Fattorini, D., Tedesco, S., Notti, A., Machella, N., Bocchetti, R., Viard, B., Maul, A., Pihan, J.C. (2004).** Standard use conditions of terrestrial gastropods in active biomonitoring of soil contamination. *Journal of Environmental Monitoring*, 6, 103-107.
- Sahraoui A.S. (2022).** Utilisation in situ et ex situ de *Helix aspersa* comme bioindicateur de la contamination des sols par le cadmium et le plomb. Thèse de doctorat, Université Mentouri-Constantine, 184p.
- Santorufu, L., Van Gestel C.A., Rocco A., Maisto G. (2012).** Soil invertebrates as bioindicators of urban soil quality. *Environmental Pollution*. 161, 57-63.
- Scheifler, R., Gimbert, F., Hispard F., Cœurassier, M., Badot, P.M. & de Vaufléury A., (2006).** Biodisponibilité et dynamique des contaminants métalliques et organiques des mollusques gastéropodes terrestres aux réseaux trophiques. Rapport du Laboratoire de biologie environnementale. Université de Franche-Comté. 3ème séminaire INRA d'écotoxicologie, 23 p.
- Scheifler, R., Gomot-de Vaufléury, A., Badot, P.M. (2002).** Transfer of cadmium from plant leaves and vegetable flour to the snail *Helix aspersa* : Bioaccumulation and effects. *Ecotoxicol Environ Saf*, 53: 148–153.
- Scheifler, R., Gomot-de Vaufléury, A., Toussaint, M.L., Badot, P.M. (2002).** Transfer and effects of cadmium in an experimental food chain involving the snail *Helix aspersa* and the predatory carabid beetle *Chrysocarabus splendens*. *Chemosphere*, 48: 571-579.
- Siritantikorn, A., Johansson, K., Ahlen, K., Rinaldi, R., Suthiphongchai, T., Wilairat, P., Morgenstern, R., (2007).** Protection of cells from oxidative stress by microsomal glutathione transferase. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 355, 592–596.



## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Solé, M., Potrykus, J., Fernandez-Dias, C., & Blasco, J., (2004).** Variations on stress defences and metallothionien levels in the Senegal sole, *Solea senegalensis*, during early larval stage. *Fish Physiol. Biochem.*, 30, 57-66.
- Stürzenbaum, S. R., Georgiev, O., Morgan, A. J., & Kille, P. (2004).** Cadmium detoxification in earthworms: from genes to cells. *Environmental science & technology*, 38(23), 6283-6289.
- Valko, M., Rhodes, C.J., Moncol, J., Izakovic, M., & Mazur, M., (2006).** Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 160, 1-40.
- Van der Oost R., Beyer J. et Vermeulen N.P.E., (2003).** Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 13(2): 57-149.
- Van Straalen, N.M., Donker, M.H., Vijver, M.G., van Gestel, C.A.M., (2005).** Bioavailability of contaminants estimated from uptake rates into soil invertebrates. *Environmental Pollution* 136, 409-417.
- Viard, B., Maul, A., Pihan, J.C. (2004).** Standard use conditions of terrestrial gastropods in active biomonitoring of soil contamination. *Journal of Environmental Monitoring*, 6, 103-107pp.
- Viard-La Rocca, B. (2004).** Mise au point et validation, sur sites contaminés, (ETM-HAP) d'un test de biosurveillance en microcosme : croissance et bioaccumulation par le gastéropode terrestre *Helix aspersa* . Thèse de Doctorat en Toxicologie. Université Paul Verlaine- Metz, France, 222 p.
- Vlahogianni , T., Dassenakis, M. , Scoullou , M.J., Valavanidis, A., (2007).** Integrated use of biomarkers (superoxide dismutase, catalase and lipid peroxidation) in mussels *Mytilus galloprovincialis* for assessing heavy metals pollution in coastal areas From the Saronikos Gulf of Greece. *Marine Pollution Bulletin* ,54, 1361-1371.
- Wang, Z., C.Yan., C.D. Vulpe., Y, Yan., Q, Chi.,( 2012).** Incorporation of in situ exposure and biomarkers response in clams *Ruditapes philippinarum* for assessment of metal pollution in coastal areas from the Maluan Bay of China. *Marine Pollution Bulletin* .64, 90–98.
- Weckbecker G., Cory J.G., (1988).** Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione-depleted mouse leukemia L 1210 cells in vitro. *Cancer Letters*, 40 : 257-264.
- Welter-Schultes, F. W. (2012).** Case 3581 *Turbo bidens* Linnaeus, 1758 (Gastropoda, clausiliidae): request for setting aside the neotype. *The Bulletin of Zoological Nomenclature*, 69(2), 85-87.
- Welter-Schultes, F., Altaba, C.R. & Audibert, C., (2013).** Comment on *Cornu* Born, 1778 (Mollusca, Gastropoda, Pulmonata, Helicidae): request for a ruling on the availability of the generic name (Case 3518; see BZN 68: 97-104, 282-292; 69: 124-127, 219-221). *Bull. Zoolog. Nomenclat.*, 70 (1): 41-42.
- Zaafour M. (2014).** Étude écophysiologique de la reproduction de l'escargot terrestre PetitGris (*H. aspersa* ) (Gastropod Stylommatophora Helicidea) dans la Région NordEst d'Annaba Algérie. Thèse de Doctorat en Sciences. Université Badji Mokhtar Annaba, 109p.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

**Zorrig, W., Rouached, A., Zaigham, S., Chedly, A., Davidian, J.C. et Berthomieu, P. (2004).** Identification of three relationships linking cadmium accumulation to cadmium tolerance and zinc and citrate accumulation in lettuce. *Journal of Plant Physiology* 167, 1239–1247pp.

**Zouaghi M. (2016).** Etude du comportement /adaptation de modèles biologiques non ciblés exposés à une pollution multiple Algérie. Thèse de Doctorat en Toxicologie. Université Badji Mokhtar Annaba, 117p.

## Résumé

La santé environnementale a toujours été menacée par la bioaccumulation de métaux lourds dans l'écosystème terrestre, affectant sa qualité et sa sécurité. L'escargot terrestre *Helix aspersa*, est considéré comme un bioindicateur de la pollution du sol, car il accumule de fortes concentrations de certains éléments traces métalliques (ETM) dans son corps. Le but de cette étude est d'évaluer les effets des rejets métalliques libérés par le complexe « SPA Bordj Steel » comparé au site témoin « Erbea » sur l'escargot *Helix aspersa* durant une exposition de quatre semaines *in situ* sur les deux sites. Les résultats obtenus ont mis en évidence une réduction significative de la croissance des escargots, à travers une diminution du poids moyen et du diamètre de la coquille. D'autre part, nous avons noté une diminution du poids moyen des organes (hépatopancréas et rein). L'étude des biomarqueurs a montré un état de stress oxydatif chez *Helix aspersa* qui s'est manifesté par une diminution du taux de GSH ainsi qu'une induction significative des activités enzymatiques (GST et CAT).

**Mots clés :** *Helix aspersa*, CAT, GST, GSH, Bioaccumulation, ETM, Biomarqueurs, Bioindicateur.

## Abstract

Environmental health has always been threatened by the bioaccumulation of heavy metals in the terrestrial ecosystem, affecting its quality and safety. The terrestrial snail *Helix aspersa*, is considered as a bioindicator of soil pollution, because it accumulates high concentrations of certain metallic trace elements (ETM) in its body. The aim of this study is to assess the effects of metal releases from the " SPA Bordj Steel" complex, compared to the Erbea control site on the *Helix aspersa* snail during a four-week *in situ* exposure at the industrial site. The results showed a significant reduction in snail growth, through a decrease in mean weight body and shell diameter. On the other hand, we noted a decrease in the average weight of organs (hepatopancreas and kidney). The study of biomarkers showed a state of oxidative stress in *Helix aspersa* which was manifested by a decrease in the level of GSH as well as a significant induction of enzymatic activities (GST and CAT).

**Keywords:** *Helix aspersa*, CAT, GST, GSH, bioaccumulation, ETM, biomarkers, bioindicator.

## الملخص

لطالما تعرضت الصحة البيئية للتهديد بسبب التراكم البيولوجي للمعادن الثقيلة في النظام الإيكولوجي الأرضي، مما أثر على جودتها وسلامتها، يعتبر الحلزون الأرضي *Helix aspersa* مؤشراً بيولوجي التلوث التربة، لأنه يجمع تركيزات عالية من بعض العناصر النزرة المعدنية (ETM) في جسمه. الهدف من هذه الدراسة هو تقييم تأثيرات انبعاثات المعادن من مجمع "SPA Bordj Steel" مقارنة بالموقع الشاهد «Erbea» على الحلزون *Helix aspersa* خلال التعرض لمدة أربعة أسابيع في كلا الموقعين. أظهرت النتائج انخفاضاً كبيراً في نمو الحلزون، من خلال انخفاض متوسط الوزن وقطر القوقعة. من ناحية أخرى، لاحظنا انخفاضاً في متوسط وزن الأعضاء (الكبد والكلية). أظهرت دراسة البيولوجية العلامات حالة من الإجهاد التأكسدي عند *Helix aspersa* والتي تجلت في انخفاض مستوى GSH بالإضافة إلى تحفيز كبير للأنشطة الإنزيمية (GST و CAT).

**الكلمات المفتاحية:** *Helix aspersa*, CAT, GST, GSH, مؤشراً بيولوجي، التراكم البيولوجي، العناصر النزرة المعدنية.