



UNIVERSITÉ MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI
BORDJ BOU ARRERIDJ

UNIVERSITY MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI
BORDJ BOU ARRERIDJ

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريريج

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

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الارض والكون

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

قسم العلوم البيولوجية

Département des Sciences biologiques



UNIVERSITÉ MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI
BORDJ BOU ARRERIDJ

UNIVERSITY MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI
BORDJ BOU ARRERIDJ

Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Toxicologie

Intitulé

**Etude de la toxicité potentielle de l'Oxyde de Fer
nanométrique (Fe_2O_3) sur un modèle cellulaire d'eau
douce : *Paramecium tetraurelia***

Présenté par : TALEB Amira

NAMER Imane

Soutenu le : 13 octobre 2020

Devant le jury :

Président : M ^r . MEKHALFI Hamoudi	M.C.A	(Univ. Bordj Bou Arreridj)
Encadrant : M ^{lle} . MOUMENI Ouissem	M.C.B	(Univ. Bordj Bou Arreridj)
Examineur 1: M ^r . MEZDOUR Hichem	M.C.B	(Univ. Bordj Bou Arreridj)
Examineur 2: M ^{me} . DEHIMI Khadidja	M.C.B	(Univ. Bordj Bou Arreridj)

Année universitaire 2019/2020

Remerciements



Au président de jury:

*Monsieur MEKHALFI Hamoudi, Maître de conférences classe A à l'Université de
MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI BBA*

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de présider notre jury de mémoire.

*Veuillez trouver ici l'expression de notre haute considération et de notre profonde
reconnaissance.*



Au membre du jury:

***Monsieur MEZDOUR Hichem et Mme DEHIMI Khadidja Maitres de Conférences
classe B à l'université de MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI BBA***

Nous vous remercions d'avoir accepté de juger ce travail.

Votre présence nous apporte une grande fierté.

*Veillez trouver dans ce travail l'expression de notre profond respect et de notre très
grande admiration.*



A notre encadrant:

*Mademoiselle MOUMENI Ouissem, Maitre de Conférences classe B à l'université de
MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI BBA*

*Nous tenons à vous remercier sincèrement pour avoir accepté de diriger ce travail et
avoir participé à son élaboration avec patience et disponibilité.*

Votre dévouement au travail, votre modestie et votre gentillesse imposent le respect.

*Ce fut très agréable de travailler avec vous pendant cette période. Puisse ce travail être à
la hauteur de la confiance que vous nous avez accordé.*



Dédicaces

A Allah

Le tout puissant

Qui m'a inspiré

Qui m'a guidé dans le bon chemin

Louanges et remerciements

Pour votre clémence et miséricorde.

وَقَالُوا الْحَمْدُ لِلَّهِ الَّذِي هَدَانَا لِهَذَا وَمَا كُنَّا لِنَهْتَدِيَ لَوْلَا أَنْ هَدَانَا اللَّهُ

A mes parents

*A mon cher père, pour m'avoir appris que le savoir est une richesse
que nul ne peut voler.*

A ma chère mère, pour son soutien et ses sacrifices.

*Aucune dédicace ne saurait exprimer la reconnaissance, le respect
et l'amour que je vous porte.*

A ma famille

*Pour le soutien et le dévouement dont vous m'avez fait preuve le
long de mes études et au cours de la réalisation de ce travail.*

A mes ami(e)s

*A toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation
de ce travail.*

Amira

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail:

A mes parents qui sont la lumière qui a éclairé mon chemin de par leur sacrifice pour cette réussite dans ma vie, et de m'avoir élevé dans des bonnes conditions et qui m'ont aidé durant toutes les années par leurs riches conseils, et leur encouragement

A mes chers frères: Taquiyeddine et Abd Elmouhaymen

A la mémoire de mes grands-parents

A tous les membres de ma famille

A tous mes chers ami(e)s

A tous les enseignants et enseignantes (plus grand respect, avec une dédicace spéciale à mon encadreur Madame MOUMENI Ouissem)

*A mes collègues de travail et tout le personnel du laboratoire
BENAISSA.*

Imane

ملخص

تُستخدم جزيئات أكسيد الحديد النانوية في عدد كبير من المنتجات المصنعة نظرًا لخصائصها الخاصة، ولكنها تثير أيضًا العديد من الأسئلة والمخاوف خاصةً حول تأثيرها على صحة الإنسان والبيئة. ولا يُعرف سوى القليل حاليًا عن مخاطر السمية البيئية المرتبطة بهذه الجسيمات النانوية، وخاصةً على الكائنات المائية.

والهدف من هذه الدراسة هو البحث عن إجابات لفهم طبيعة وشدة التأثيرات البيولوجية لجسيمات أكسيد المعادن النانوية (Fe_2O_3) ، من خلال إجراء توليف لبعض الأعمال البحثية المتعلقة بتقييم سمية على نموذج خلية المياه العذبة من جنس "*Paramecium*".

وخلصت البحوث السابقة إلى أن جزيئات الحديد النانوية تحفز تنشيط النمو وكذلك تعطيل التنفس الخلوي. العديد من التجارب التي أجريت على "*Paramecium*" مع جرعات مختلفة من جزيئات أكسيد الحديد النانوية تظهر أيضًا اضطرابًا سلوكيًا ومورفولوجيًا، مما أدى إلى ضعف الحركة وظهور العديد من التشوهات الخلوية والأضرار الهيكلية.

الكلمات المفتاحية: الجسيمات النانوية المعدنية، أكسيد الحديد، *Paramecium* ، نموذج الخلية، السمية.

Résumé

Les nanoparticules d'oxyde de fer sont utilisées dans un grand nombre de produits manufacturés du fait de leurs propriétés particulières, mais soulèvent aussi tant d'interrogations et de craintes en particulier au sujet de leurs effets sur la santé humaine et environnementale. Les risques écotoxicologiques liés à ces nanoparticules, plus particulièrement sur les organismes aquatiques, sont à l'heure actuelle peu connus.

Cette étude a pour objectif de chercher des éléments de réponse à la compréhension de la nature et de la gravité des effets biologiques des nanoparticules d'oxyde métallique (Fe_2O_3), en réalisant une synthèse de certains travaux de recherche relatifs à l'évaluation de leur toxicité sur un modèle cellulaire d'eau douce du genre « *Paramecium* ».

Les recherches consultées ont conclu que les nanoparticules de fer induisent une inhibition de la croissance ainsi qu'une perturbation de la respiration cellulaire. De nombreuses expériences effectuées sur les paramécies avec différentes doses de nanoparticules d'oxyde de fer montrent également une perturbation comportementale et morphologique, se traduisant par une altération du mouvement de nage et l'apparition de plusieurs malformations cellulaires et dommages structurels.

Mots clés: nanoparticules métalliques, oxyde de fer, *Paramecium*, modèle cellulaire, toxicité.

Abstract

Iron oxide nanoparticles are used in a large number of manufactured products due to their special properties, but also raise so many questions and fears especially about their effects on human health and the environment. Little is currently known about the ecotoxicological risks associated with these nanoparticles, more particularly on aquatic organisms.

The objective of this study is to seek answers to the understanding of the nature and the severity of the biological effects of metallic oxide nanoparticles (Fe_2O_3), by carrying out a synthesis of certain works relating to the evaluation of their toxicity on a freshwater cellular model of the genus "*Paramecium*".

Previous researches concluded that iron nanoparticles induce growth inhibition as well as disruption of cellular respiration. Numerous experiments performed on paramecia with different doses of iron oxide nanoparticles also show a behavioral and morphological disruption, resulting in alteration of the swimming movement and the appearance of several cell malformations and structural damages.

Keywords: metallic nanoparticles, iron oxide, *Paramecium*, cellular model, toxicity.

Table des matières

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction..... 01

Partie 1: Revue bibliographique

Chapitre I: Nanotechnologies et Nanoparticules

1. Les nanoparticules : Aspects généraux.....	03
1.1. Apparition et développement des nanotechnologies.....	03
1.2. Qu'est-ce qu'une nanoparticule ?.....	04
1.3. Origines des nanoparticules.....	05
1.3.1. Les nanoparticules d'origine naturelle	05
1.3.2. Les nanoparticules anthropogéniques	05
1.4. Synthèse des nanoparticules	05
1.4.1. Approche ascendante « Bottom-up »	06
1.4.2. Approche descendante « Top-down »	06
1.5. Classification des nanoparticules	06
2. Impacts toxicologiques des nanoparticules.....	08
2.1. Comportement et devenir des nanoparticules dans l'environnement.....	08
2.2. Toxicité des nanoparticules.....	10
3. Cas des nanoparticules d'oxyde de fer.....	13
3.1. Présentation générale	13
3.2. Domaines d'utilisation	14
3.3. Effets toxiques.....	15

Chapitre II: Rappel sur la paramécie

1. Biologie et morphologie	16
2. Mouvement	17
3. Alimentation	17
4. Respiration	18
5. Reproduction	18
5.1. Reproduction asexuée	18

Table des matières

5.2. Reproduction sexuée.....	18
6. Intérêt de la paramécie comme modèle d'étude alternatif	18
Partie 2: Synthèse de certains travaux relatifs à l'étude de la toxicité des nanoparticules d'oxyde de fer vis-à-vis des paramécies	
Synthèse de certains travaux relatifs à l'étude de la toxicité des nanoparticules d'oxyde de fer vis-à-vis des paramécies.....	20
Conclusion et perspectives.....	25
Références bibliographiques.....	26

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
I	Classification des nanoparticules en fonction de leur composition chimique	07

Liste des figures

N°	Titres	Pages
01	Gamme de tailles des nanoparticules comparées à celles des principales structures chimiques et biologiques	04
02	Cycle de vie, dispersion et devenir des nanoparticules dans l'environnement	09
03	Toxico-cinétique et dynamique des nanoparticules	11
04	Représentation de la structure spinelle AB_2O_4	13
05	Photographie des nanoparticules d'oxyde de fer : Fe_3O_4 (A) et $\gamma-Fe_2O_3$ (B)	14
06	Images MET de nanoparticules d'oxyde de fer de (a) 5 nm, (b) 9 nm, (c) 12 nm et (d) 16 nm synthétisées par décomposition d'oléate de fer	14
07	Organisation générale de la paramécie (A) Observation de la région ventrale, marquée avec un anticorps reconnaissant les cils ; (B) Représentation schématique des principaux organites	17

Liste des abréviations

Ce: Cerium

DL50: Dose Létale Médiane

EPF: Ecole Polytechnique Fédérale

ERO: Espèces réactives de l'oxygène

Fe₂O₃: Oxyde de Fer

GO: Oxyde de Graphène

LFEM: Laboratoire Fédéral d'Essai des Matériaux et de recherches

MNP: Nanoparticules de Magnétite

NPs: Nanoparticules

NSF: National Science Foundation

PLGA: Poly dl-lactide-co-glucolide

ROS: Reactive Oxygen Species

Ti: Titane

USA: United States of America

VIH: Virus de l'Immunodéficience Humaine



Introduction

Le développement croissant des activités humaines a été sans cesse accompagné par une dégradation de plus en plus sévère des ressources naturelles ayant pour conséquence une perturbation de l'équilibre et de l'harmonie des différents écosystèmes. Le compartiment aquatique, reconnu comme étant le réceptacle ultime d'une grande variété de composés chimiques, constitue bien évidemment l'écosystème le plus touché par les effets délétères de ces polluants (**Chevalier, 2014**).

Parmi les innombrables composés chimiques impliqués dans la contamination des milieux aquatiques, les nanoparticules deviennent, de nos jours, une source importante de préoccupation environnementale (**Ostiguy et al., 2010**).

Le développement et l'utilisation des nanoparticules dans divers procédés domestiques et industriels ont extrêmement augmenté au cours de ces dernières années. En effet, le caractère innovant et la grande efficacité de ces matériaux réside aussi bien dans leur nature chimique que dans leur taille nanométrique. Celles-ci leur confèrent des propriétés physico-chimiques exceptionnelles, offrant des possibilités illimitées de progrès scientifiques et technologiques révolutionnaires. Ils sont ainsi employés dans de nombreux domaines très variés, tels que la médecine, la biologie, la chimie, l'électronique, la mécanique, l'ingénierie, ou encore l'informatique, et sont principalement présents dans plus de 1800 produits de consommation courante (**Xiao et al., 2008 ; Aguilar, 2013 ; Bour, 2015**).

Cependant, l'utilisation grandissante de ces matériaux suscite aujourd'hui tant d'interrogations et de craintes du fait du sérieux manque d'informations quant à leur toxicité potentielle aussi bien sur la santé humaine qu'environnementale (**Sajid et al., 2015**). Les raisons de cette inquiétude scientifique sont basées sur la méconnaissance des interactions existantes entre ces nanoparticules et les systèmes biologiques. Les risques sanitaires qui en découlent restent de ce fait difficiles à évaluer. En outre, l'utilisation industrielle de nanoparticules résulte également en la génération de déchets dont le déversement dans l'environnement pourrait s'avérer difficile à gérer, notamment en milieux aquatiques et dont le devenir et les conséquences sont beaucoup moins bien comprises (**Triboulet, 2013**).

Des études de plus en plus nombreuses sont ainsi entreprises afin de mieux comprendre les risques liés aux nanoparticules sur l'environnement. Celles-ci visent notamment à évaluer la toxicité de nanoparticules de natures variées sur différents modèles *in vivo* ou *in vitro* (**Triboulet, 2013**).

Les protozoaires aquatiques et plus particulièrement les ciliés sont très largement utilisés comme modèle d'étude pour l'évaluation de la qualité des écosystèmes aquatiques, compte tenu notamment de leur large distribution géographique, leur intérêt écologique comme maillons clés des chaînes trophiques ainsi que leur sensibilité à une large gamme de toxiques. Il convient de souligner, également, que ces espèces sont des cellules hautement organisées sur lesquelles on peut aisément travailler, tout en permettant de comprendre les mécanismes d'actions des toxiques à différents niveaux d'organisation de la cellule. De plus, leur valeur est toute aussi importante sur le plan de la recherche scientifique car plusieurs problèmes biologiques sont beaucoup plus faciles à étudier sur des cellules isolées plutôt que sur des organismes pluricellulaires (**Amamra, 2015 ; Azzouz, 2012**).

Dans ce contexte, le présent travail a pour objectif de dresser un état des connaissances relatif aux effets des nanoparticules métalliques, et plus particulièrement celles d'oxyde de fer (Fe_2O_3) sur la biologie et le comportement d'un modèle cellulaire alternatif du genre *Paramecium*.

Ce document est subdivisé en deux principales parties :

- La première partie de ce travail, articulée autour de deux chapitres, fera l'objet d'une revue bibliographique assez exhaustive présentant dans un premier temps un état actuel des connaissances sur les nanoparticules, leurs impacts toxicologiques ainsi qu'un aperçu général sur les nanoparticules d'oxyde de fer. Dans un deuxième temps, un rappel bibliographique sur les paramécies est élaboré.
- La deuxième partie, quant à elle, est consacrée à une synthèse des travaux de recherche antérieurs, portant sur la toxicité des nanoparticules métalliques d'oxyde de fer vis-à-vis des paramécies.



Partie 1:

Revue bibliographique



Chapitre I :
Nanotechnologies et Nanoparticules

1. Les nanoparticules : Aspects généraux

1.1. Apparition et développement des nanotechnologies :

La nanotechnologie est une nouvelle approche qui repose sur la bonne connaissance et maîtrise des propriétés de la matière à l'échelle nanométrique. Elle constitue un champ de recherche et de développement pluridisciplinaire, impliquant la création de matériaux et de dispositifs novateurs en utilisant des outils ou des techniques permettant la structuration de la matière au niveau atomique, moléculaire ou supramoléculaire (www.inrs.fr).

L'intérêt scientifique et commercial que représente les nanotechnologies actuellement illustre l'énorme défi lancé en 1959 par le célèbre physicien Richard Feynman quand il évoquait la notion de l'infiniment petit lors de son discours phare au congrès annuel de l'American Physical Society : «There's Plenty of Room at the Bottom» [*Il y a plein de place en bas de l'échelle...lorsque nous aurons quelques contrôles sur l'arrangement des atomes à une petite échelle, nous découvrirons que la matière possède des propriétés énormément plus étendues et qu'avec nous pourrons réaliser beaucoup plus de choses*]. **Feynman** ouvre en effet de nouveaux horizons en explorant la manipulation des matériaux à l'échelle nanométrique, imaginant ainsi l'intégralité de l'*Encyclopaedia Britannica* écrite sur la tête d'une épingle (**Feynman, 1959**).

Cependant, le terme nanotechnologie ne fut utilisé pour la première fois qu'en 1974 lorsque Norio Taniguchi, un chercheur de l'Université de Tokyo, l'employa pour décrire la capacité de fabrication de matériaux à l'échelle nanométrique. C'est au début des années 1980, avec la découverte du microscope à effet tunnel, puis celle du microscope à force atomique, que le nanomonde s'est vraiment ouvert aux chercheurs. Il aura pourtant fallu attendre le début des années 2010 pour qu'une réelle explosion du développement des nanotechnologies ait lieu, confirmant ainsi les prévisions de Feynman (**Ricaud et al., 2007**). Depuis, les nanotechnologies représentent un secteur en pleine expansion. L'étude de la National Science Foundation (NSF USA), estimait ainsi qu'entre 2010 et 2015, l'impact économique des nanotechnologies à travers le monde atteindrait plus de 1000 milliards de dollars par an, générant plus de 2 millions d'emplois (**Mejia et al., 2015**). Effectivement, en plus de leurs applications en électronique, informatique et en télécommunications (**Kwok et al., 2002**), les nanotechnologies envahissent, aujourd'hui des domaines aussi variés que la médecine et les cosmétiques (**Emerich et al., 2006**), l'environnement et l'énergie (**Bottero et al., 2006**), l'agroalimentaire ou encore les transports (**Pereira et al., 2007**).

1.2. Qu'est-ce qu'une nanoparticule ?

On appelle nanoparticule un « nano-objet » dont les dimensions sont inférieures à 100 nanomètres (nm) environ, 1 nanomètre étant 1 milliard de fois plus petit qu'un mètre. A titre de comparaison, il existe le même rapport de taille entre une nanoparticule et une orange qu'entre une orange et la Terre. Une autre définition, plus large, qualifie de « nanoparticule », un assemblage d'atome dont au moins une des dimensions se situe à l'échelle nanométrique (Ungeller, 2005) (Figure 1).

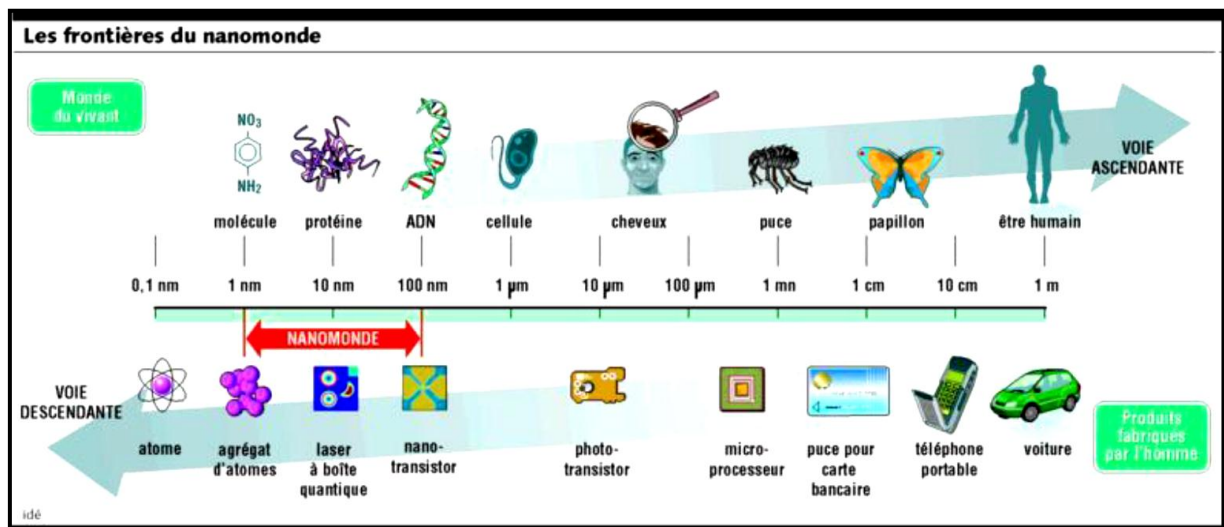


Figure 1: Gamme de tailles des nanoparticules comparées à celles des principales structures chimiques et biologiques (Ungeller, 2005).

Le terme « nanoparticules » fait référence à diverses familles de particules (Sajid et al., 2015) telles que :

- Les oxydes de métaux (titane, cuivre, zinc, aluminium, silicium...),
- Les nanotubes de carbones, qui forment des fibres solides aux propriétés électriques particulières,
- Les fullérènes [C60, C70], utilisées pour améliorer les propriétés électriques et optiques de polymères ou encore pour des applications pharmaceutiques,
- Les nanopoudres d'argent, dont les propriétés antibactériennes sont mises à profit notamment dans le textile.

1.3. Origines des nanoparticules :

Les nanoparticules (NPs), appelées il y a encore quelques années « particules ultra-fines », sont présentes de manière ubiquitaire dans l'environnement. On peut les classer en deux catégories selon leurs origines :

1.3.1. Les nanoparticules d'origine naturelle :

Une quantité non négligeable de NPs présentes dans l'environnement a une origine naturelle bien que sa proportion soit plus faible par rapport à celle des NPs manufacturées (**Klaine et al., 2008**).

Dans l'atmosphère, les NPs proviennent d'éruptions volcaniques, de feux de forêts, de grands déserts de la Terre et leurs tempêtes de sable, de la désintégration de météorites ou encore de l'accumulation de poussières cosmiques (**Lungu et al., 2015**). Dans les systèmes aquatiques, les sols et les sédiments, les particules dont la taille est comprise entre 1 nm et 1 µm, appelées colloïdes, comportent des molécules organiques telles que les acides humiques et fluviques, des protéines et des composés organiques tels que des oxydes et hydroxydes de fer et de manganèse. Leur petite taille leur confère une forte réactivité de surface et par conséquent, un fort pouvoir de liaison aux contaminants de natures variées (**Buffet, 2012**).

1.3.2. Les nanoparticules anthropogéniques :

Gaz d'échappement des engins à combustion, les activités culinaires (cuisson d'aliments), les activités de nettoyage, la combustion de bougies, les fumées de cheminées...peuvent involontairement résulter en la génération de NPs (**Aschberger et al., 2011**).

Les NPs peuvent également être introduites volontairement, comme par exemple dans les produits cosmétiques en raison de leurs propriétés antioxydantes ou comme additifs dans des peintures (**Mitrano et al., 2015**). Elles sont ainsi appelées des nanoparticules manufacturées.

1.4. Synthèse des nanoparticules :

Les NPs peuvent être synthétisées selon deux différentes approches : la méthode ascendante ou la méthode descendante.

1.4.1. Approche ascendante « Bottom-up » :

Venant des laboratoires de recherche et des nanosciences, cette méthode d'élaboration des structures nanométriques consiste à leur assemblage à partir des éléments de base de la matière, atome par atome ou molécule par molécule, jusqu'à l'obtention d'un objet aux propriétés particulières, qui est capable de s'intégrer dans un ensemble plus grand. L'approche ascendante paraît plus riche étant donné qu'elle permet la production d'une plus grande diversité d'architectures et, souvent, un meilleur contrôle de l'état nanométrique (**Ostiguy et Roberge, 2010**).

1.4.2. Approche descendante « Top-down » :

C'est une méthode issue de la microélectronique. Elle consiste à réduire et plus précisément à miniaturiser graduellement une grande structure, jusqu'à atteindre des dimensions nanométriques après application de sollicitations mécaniques sévères, de chocs violents et de fortes déformations. Comparée à l'approche ascendante, la descendante permet d'obtenir des quantités de matière plus importantes mais le contrôle de l'état nanométrique s'avère plus délicat. Elle est réalisée en utilisant les techniques de broyage à haute énergie, le compactage ou le frittage (**Ostiguy et Roberge, 2010**).

Il convient de souligner que, les deux approches, ascendante et descendante, tendent à converger en termes de dimension des particules synthétisées (**Ostiguy et Roberge, 2010**).

1.5. Classification des nanoparticules :

Il existe une grande variété de NPs dont le nombre ne fera que s'accroître et la classification ne cesse donc d'évoluer avec le temps. Il y a plusieurs façons de regrouper les NPs en fonction de nombreux paramètres tels que : la taille, la morphologie, la composition chimique, l'uniformité et l'état d'agrégation (**Buzea et al., 2007**). En effet, d'un point de vue chimique, les NPs peuvent être classées en quatre grandes catégories, tel que résumé dans le **tableau (I)** (**EPA-Nanotechnology-White-Paper, 2007**).

Tableau I : Classification des nanoparticules en fonction de leur composition chimique (EPA-Nanotechnology-White-Paper, 2007).

	Matériaux à base de carbone	Matériaux à base de métaux	Dendrimères	Matériaux composites
Définition	Matériaux à base de carbone qui ont soit une forme sphérique ou tubulaire	Matériaux ayant un élément chimique métallique	Polymères assemblés de façon ramifiée et aux cavités intérieures vides	Matériaux résultant d'une combinaison entre les NPs et un autre matériau à la nano-échelle
Exemples parmi les plus connus	<ul style="list-style-type: none"> - Fullerènes - Nanotubes de carbone à simple parois - Nanotubes de carbone à parois multiples 	<ul style="list-style-type: none"> - Points quantiques - NP d'or/ d'argent - NP de type "oxyde-métal" (dioxyde de zinc ou cérium ou titane) 	<ul style="list-style-type: none"> - On trouvera des dendrimères dont le nombre de générations varie en fonction des couches d'unités répétées. - Chaque dendrimère peut être couplé à des molécules de surface lui donnant ainsi de nouvelles propriétés 	<ul style="list-style-type: none"> - NPs de silice mésoporeuses jumelées à du Gadolinium ou Manganèse (pour application liée à imagerie à résonance magnétique) - NPs de PLGA (poly dl-lactide-co-glycolide) couplées à des agents thérapeutiques pour être utilisées dans le traitement de VIH

2. Impacts toxicologiques des nanoparticules :

2.1. Comportement et devenir des nanoparticules dans l'environnement :

Avec le développement actuel des nanotechnologies, nous assistons, aujourd'hui à un accroissement de plus en plus important, en quantité et diversité, des nanomatériaux rejetés dans l'environnement. En effet, l'évaluation de leurs conséquences environnementales doit non seulement prendre en considération, la nature et l'importance des sources, les mécanismes et voies de transfert (atmosphère, eaux de ruissellement, rejet direct), et les compartiments de stockage (eau, sols, sédiments), mais aussi les espèces cibles et leurs interrelations (proie-prédateur) ainsi que les effets sur les différentes populations exposées (Colvin, 2003).

Afin d'obtenir une évaluation fiable des risques environnementaux, il paraît également assez important de considérer le cycle de vie des nanomatériaux pour chaque produit (Som et al., 2010). En effet, la forme sous laquelle seront rejetés dépendra de l'étape du cycle de vie du produit concerné (Nowack et al., 2012) : (i) purs lors de la production, (ii) associés à d'autres composés lors de leur utilisation, (iii) associés à des composés environnementaux lors de leur entrée dans les écosystèmes.

Dans ce contexte, de nombreux travaux ont été réalisés pour étudier le vieillissement et les transformations des nano-produits au cours de leur cycle de vie (Mitrano et al., 2015). Les travaux de Kaegi et al. (2008) ont ainsi mis en évidence un transfert de concentrations importantes de nanoparticules de TiO_2 à partir des peintures appliquées sur des façades extérieures vers les eaux de surfaces, et ce dans des conditions météorologiques naturelles. Il a été également estimé que 75 à 95% des nanomatériaux contenus dans les cosmétiques et crèmes solaires (e.g. TiO_2 et ZnO) étaient libérés dans l'environnement suite à une douche ou une baignade (Keller et al., 2013). Ces différents exemples suggèrent que les nanomatériaux émis involontairement dans l'environnement, peuvent ensuite se diffuser dans ses compartiments, s'accumuler dans certains, et conduire à des expositions de la population générale (Clefs cea, 2005) (Figure 2).

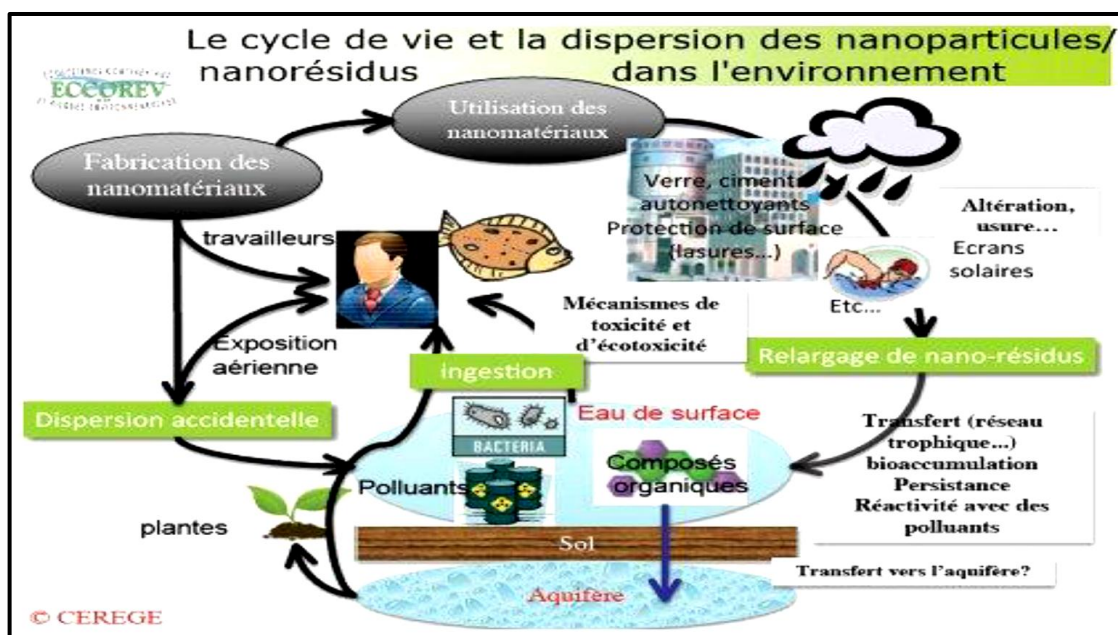


Figure 2: Cycle de vie, dispersion et devenir des nanoparticules dans l'environnement (Clefs cea, 2005).

L'environnement est également exposé de manière volontaire à des nanoproducts, en particulier dans le cadre d'activités liées à l'agriculture ou à la remédiation des écosystèmes pollués. Selon Sun *et al.* (2014) et Yang *et al.* (2014), les nanomatériaux peuvent atteindre les sols via les eaux usées utilisées pour l'irrigation et surtout à travers l'épandage de boues de stations d'épuration utilisées comme fertilisants des champs agricoles. En effet, il est estimé que 90% des NPs d'argent (Ag), de ZnO, TiO₂ et de cérium (Ce) sont retenues dans les boues lors du retraitement des eaux usées en station d'épuration (Cornelis *et al.*, 2014).

Le fort ratio aire de surface / volume des nanoparticules entraîne une forte réactivité et des propriétés physico-chimiques très dynamiques dans un contexte environnemental. De ce fait, ces polluants émergents peuvent subir plusieurs transformations (chimiques, physiques et biologiques) qui sont susceptibles d'affecter leur devenir, leur mobilité et leur toxicité dans l'environnement (Lowry *et al.*, 2012).

Lorsqu'elles sont sous forme dispersée, les nanoparticules sont très mobiles. En milieu aqueux, elles ont plutôt tendance à s'agglutiner en amas plus ou moins stables (agrégats, agglomérats) qui limitent leur mobilité. Cette capacité à s'agglutiner dépend des propriétés de leur surface et en particulier de leur charge qui, dans le milieu naturel, peuvent être fortement influencées par leurs interactions avec les composés humiques. L'enrobage, qui représente un traitement spécifique de la surface des nanoparticules a par contre pour effet de les stabiliser

et de réduire leur propension à se lier et donc d'accroître leur mobilité (**Praetorius et al., 2012**).

Le groupe de chercheurs dirigé par Bernd Nowack au Laboratoire Fédéral d'Essai des Matériaux et de recherches (LFEM) de Saint-Gall a établi de sa part, un modèle du devenir environnemental des nanoparticules, en collaboration avec l'École Polytechnique Fédérale (EPF) de Zurich. Des concepts de modèles appliqués aux polluants organiques ont été modifiés afin de tenir compte des propriétés spécifiques des NPs et de leur comportement (**Praetorius et al., 2012**). Les résultats démontrent que les NPs d'une manière générale sont stockés majoritairement dans les sédiments. Leur dépôt augmente avec la taille des particules conduisant à une exclusion progressive des NPs en suspension dans les fluides selon leur taille. Une fois dans les sédiments, les NPs interagissent avec le biota (biodégradation) mais aussi avec la matière organique (**Farré et al., 2009**). Le rôle de la biotransformation a été mis en évidence dans une étude portant sur le bivalve (*Corbicula fulminea*) exposé à des nanoparticules d'or (Au NPs) (**Hull et al., 2011**). Ces auteurs montrent que la biodégradation par les invertébrés benthiques est un processus important dans le devenir et le transport des NPs persistantes dans les systèmes aquatiques. En effet, les transferts dans la chaîne alimentaire pourraient être à l'origine de contamination des plus hauts niveaux trophiques (incluant l'homme), mais les démonstrations de transferts trophiques sont pour le moment à leurs prémices (**Ferry et al., 2009**). En raison de la complexité du comportement des NPs dans le sol, la caractérisation, les expériences d'exposition et les tests de toxicité associés sont difficiles à mettre en œuvre (**Kool et al., 2011**).

2.2. Toxicité des nanoparticules:

Afin de mettre en évidence une éventuelle toxicité des nanoparticules, il est nécessaire de déterminer le devenir de ces éléments dans l'organisme, c'est-à-dire leur cinétique qui regroupe l'ensemble du processus ADME (Absorption, Distribution, Métabolisme, Excrétion). En effet, comme toute substance chimique, le devenir des nanoparticules dans l'organisme et la toxicité potentielle associée dépendent notamment de leurs propriétés physico-chimiques (taille, forme, caractère soluble, etc..). Cependant, les phénomènes d'absorption, de distribution, de métabolisme et d'excrétion semblent être différents par rapport à une entité chimique classique, de par leurs caractéristiques spécifiques. Certaines voies d'absorption et de translocation ont déjà été démontrées, mais d'autres restent hypothétiques et doivent être encore étudiées. Les taux de transfert, d'accumulation et la rétention dans les organes cibles sont encore en grande partie inconnus en raison de la

diversité des nanoparticules qui engendrent des effets différents. Les voies d'absorption des nanoparticules, attendues et connues, en fonction de l'exposition ainsi que les voies de distribution et d'élimination peuvent être schématisées telles que le montre la **figure (3)** (Oberdorster et al., 2005).

La principale voie d'exposition aux nanoparticules est la voie pulmonaire en raison de la grande quantité de nanoparticules présentes dans l'environnement. Cependant, du fait de l'essor des nanoparticules dans les domaines de la cosmétique, de l'alimentaire et du médical, les voies cutanée, gastro-intestinale et parentérale ne doivent pas être négligées (Boilot et al., 1998).

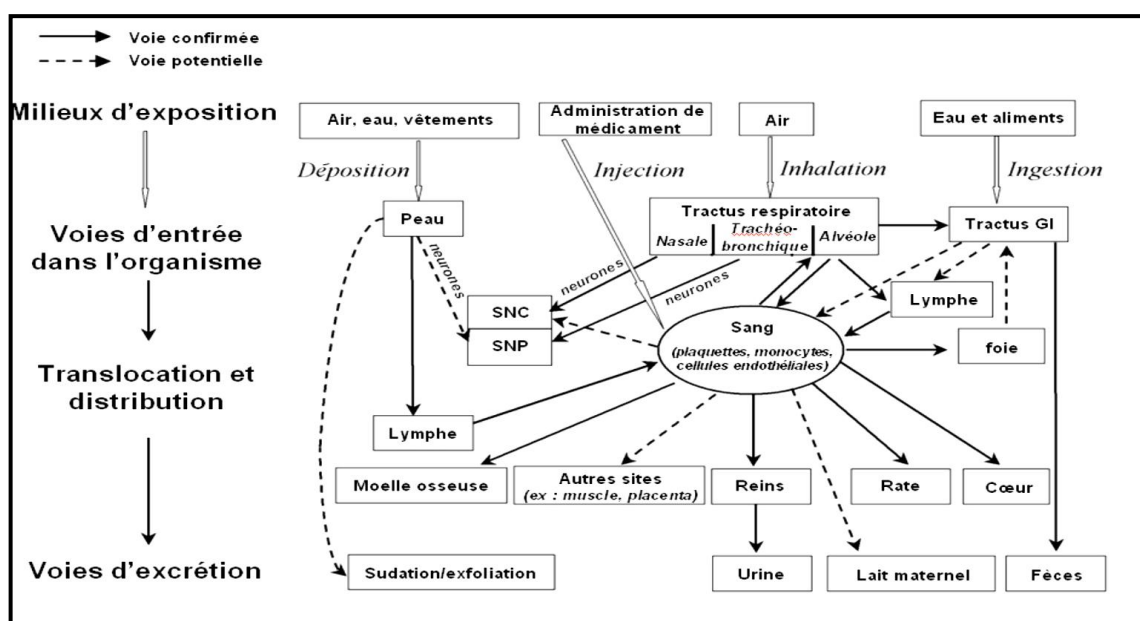


Figure 3: Toxicocinétique et dynamique des nanoparticules (D'après Oberdorster et al., 2005).

L'absorption représente la première étape de la cinétique. Concernant la voie pulmonaire, ce passage se fera principalement au niveau des alvéoles pulmonaires. Les nanoparticules présentes dans le tractus gastro-intestinal peuvent quant à elles atteindre la circulation sanguine ou lymphatique par les entérocytes ou les plaques de Peyer. La deuxième étape consiste en la distribution de ces nanoparticules aux différents tissus ou organes (foie, rate, cœur, cerveau). Lorsque les nanoparticules atteignent la circulation générale, elles peuvent interagir avec les protéines plasmatiques, les facteurs de coagulation, les globules blancs ou encore les globules rouges. Le métabolisme à présent, concerne les nanoparticules absorbées au niveau du système gastro-intestinal qui rejoignent le foie par la veine porte. Cependant peu de données sont à ce jour disponibles sur ce point. L'élimination des

nanoparticules s'effectue ensuite par différentes voies : soit par leur « porte d'entrée » si celles-ci ne sont pas absorbées (escalator mucociliaire pour la voie pulmonaire) ; soit par voie rénale ou biliaire pour les nanoparticules ayant gagné la circulation générale (**Champeau, 2005**).

Parmi les mécanismes de toxicité des nanoparticules, on retrouve des phénomènes impliquant la perturbation de la chaîne respiratoire mitochondriale conduisant à la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) et à l'interruption de la synthèse d'ATP. Ces effets peuvent entraîner à leur tour des lésions de l'ADN et l'arrêt du cycle cellulaire, pouvant conduire potentiellement à une cancérogénicité. En effet, la production d'espèces réactives de l'oxygène a été clairement identifiée comme un mécanisme d'action toxique des nanoparticules sur des cellules eucaryotes, mais d'autres mécanismes peuvent également être impliqués (**Afsset, 2010**). Ainsi, des effets primaires directs et indirects mais également des effets secondaires peuvent survenir :

Les nanoparticules peuvent pénétrer dans le noyau et interagir directement avec l'ADN en produisant des radicaux libres qui induisent des lésions ou perturbent la ségrégation des chromosomes pendant la mitose. En effet, du fait de leur gamme de taille nanométrique, il est communément admis que les nanoparticules sont capables d'interagir et éventuellement d'interférer avec des constituants cellulaires de dimension comparable tels que les nucléosomes, les microtubules, les filaments d'actine et les centrosomes. Ainsi, l'interférence avec ces structures peut mener à un dysfonctionnement de la division cellulaire et perturber le trafic cellulaire (**Gonzalez et al., 2008**).

Les nanoparticules peuvent également avoir des effets primaires indirects s'entraînant ainsi (**Afsset, 2010**) :

- Une déplétion en antioxydants, ce qui augmente le niveau de lésions oxydatives de l'ADN et rompt l'état d'équilibre.
- Une augmentation des lésions oxydatives de l'ADN via l'activité mitochondriale et/ou ; une inhibition de la réparation de l'ADN, etc...

Quant aux effets secondaires des nanoparticules, ils sont liés à l'inflammation, via des composés oxydants provenant notamment de l'endocytose et/ou de la phagocytose des nanoparticules. En effet, les nanoparticules peuvent entraîner du stress oxydant et des réponses inflammatoires qui peuvent également induire potentiellement des lésions de l'ADN (**Singh et al., 2009**).

3. Cas des nanoparticules d'oxyde de fer:

3.1. Présentation générale :

Les oxydes de fer sont les matériaux magnétiques les plus connus et les plus étudiés, car ils sont omniprésents dans la nature, faciles à synthétiser et à faibles coûts. A ce jour, il existe plusieurs types différents d'oxydes de fer, affichant ainsi un large éventail de propriétés : magnétiques, optiques et électroniques (Charles *et al.*, 1980 ; El Mendili, 2011).

La structure spinelle super-paramagnétique des nano-oxydes de fer a pour formule chimique générale AB_2O_4 (Figure 4) dans laquelle A et B symbolisent des cations et O incarne le réseau cubique à faces centrées (Jérémy, 2013).

Selon l'état d'oxydation des oxydes de fer de structure spinelle : la magnétite (Fe_3O_4) et la maghémite ($\gamma\text{-}Fe_2O_3$) peuvent être obtenues (Figure 5). En plus de l'hématite ($\alpha\text{-}Fe_2O_3$), ces derniers représentent deux des polymorphes les plus étudiés. La maghémite est ainsi obtenue par oxydation de la magnétite.

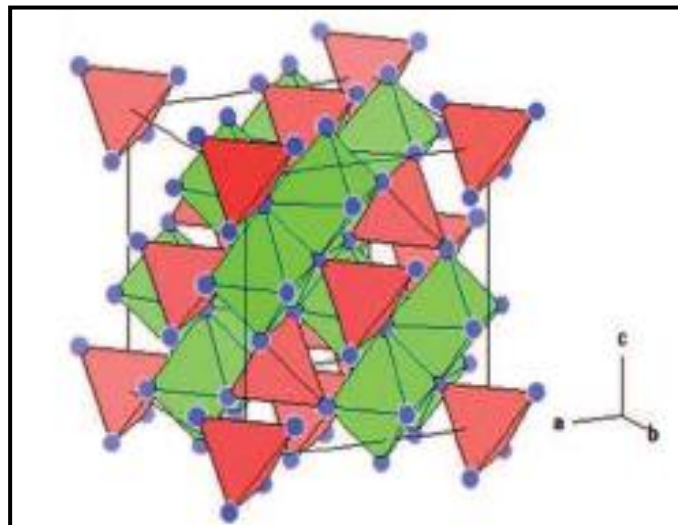


Figure 4 : Représentation de la structure spinelle AB_2O_4 (Jérémy, 2013).

Les nano-oxydes de fer, notamment la maghémite et la magnétite, sont essentiellement caractérisées par :

- Une grande capacité d'adsorption et une affinité élevée pour les polluants ;
- La création d'un champ électromagnétique permettant de séparer de l'eau traitée, la nanoparticule à laquelle est adsorbé un ion métallique ;
- La possibilité d'être régénérées et réutilisées (Auffan *et al.*, 2007).

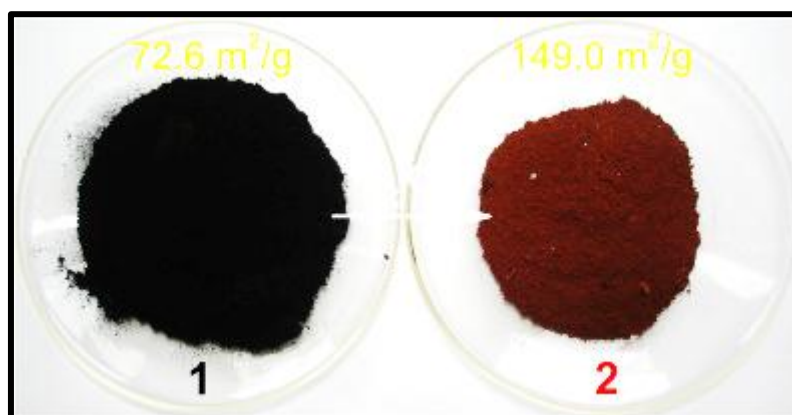


Figure 5: Photographie des nanoparticules d'oxyde de fer : Fe_3O_4 (A) et $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ (B) (Ianos et al., 2014).

Les nanoparticules d'oxyde de fer se situent à une échelle moléculaire comprise entre celle d'une molécule d'ADN de 2.5 nm de large et celle d'un globule rouge humain de 800 nm de diamètre. Cette taille leur permet d'interagir facilement avec les composants biologiques (Auffan, 2007). Elle dépend de la concentration du précurseur, la quantité de ligands ajoutés, la vitesse de chauffage, ainsi que la durée et la température de croissance (Matthias, 2010) (Figure 6).

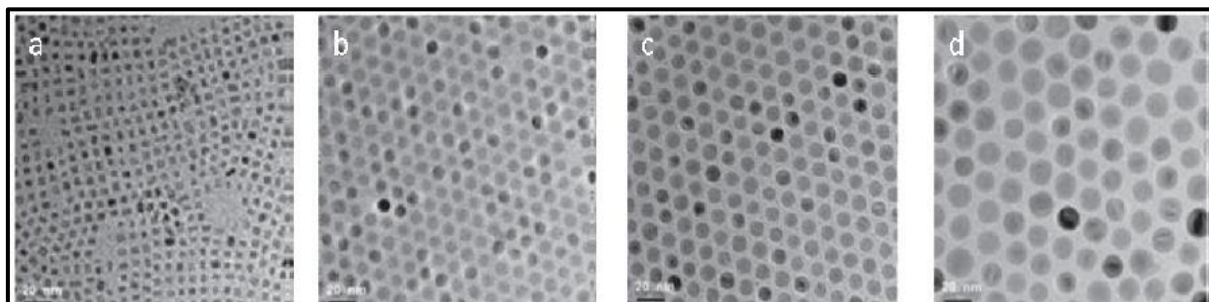


Figure 6: Images MET de nanoparticules d'oxyde de fer de (a) 5 nm, (b) 9 nm, (c) 12 nm et (d) 16 nm synthétisées par décomposition d'oléate de fer (Matthias, 2010).

3.2. Domaines d'utilisation :

Les nano-oxydes de fer sont associées aussi bien à des applications environnementales que biomédicales (Gupta et al., 2005 ; Ngomsik et al., 2005). Dans le domaine environnemental, elles sont généralement utilisées en tant que membranes nanostructurées, catalyseurs ou nano-adsorbants et constituent ainsi des outils prometteurs dans la dépollution des eaux profondes (Lowry et al., 2004) et des sols (Wei-xian et al., 2003), le traitement des

eaux de consommation (Ngomsik *et al.*, 2005), le contrôle de la pollution ou encore le recyclage des déchets (Riu *et al.*, 2006).

Concernant les domaines pharmaceutique et médical, les principaux champs d'application des nanoparticules magnétiques d'oxyde de fer (magnétite, maghémite) concernent essentiellement: La vectorisation des médicaments (Sahoo *et al.*, 2003), l'activation à volonté de nano-médicaments par un champ magnétique (Kreuter *et al.*, 2001), la destruction de tumeurs par chauffage (Brannon-Peppas *et al.*, 2004) et la création d'agents de contraste pour l'imagerie par résonance magnétiques (Corot *et al.*, 2006).

3.3. Effets toxiques :

Bien que le fer soit un élément essentiel à la vie, une augmentation de sa concentration en milieu cellulaire peut générer la formation de ROS (Alberts *et al.*, 1983). Or, dans la plupart de leurs applications, les NPs d'oxyde de fer sont en contact avec les cellules voire le milieu intracellulaire. Il est donc probable que les interactions NPs d'oxyde de fer/cellules ne soient pas anodines. C'est notamment le cas des NPs de magnétite dont la toxicité vis-à-vis des cellules humaines a été démontré (Berry *et al.*, 2004).

Des études *in vivo* ont montré qu'après leur entrée dans les cellules, les NPs magnétiques d'oxyde de fer restent dans les organites cellulaires (endosomes/lysosomes). Il a été également observé qu'elles s'accumulent dans le foie, la rate, les poumons et le cerveau après inhalation, ce qui confirme leur capacité à traverser la Barrière Hémato-Encéphalique (BHE) (Liu, 2013). Ces mêmes études montrent que ces NPs exercent leurs effets toxiques sous forme de lyse cellulaire, d'inflammation et de perturbation du système de coagulation sanguine (Zhu *et al.*, 2008). La viabilité cellulaire réduite a été également rapportée comme l'effet toxique le plus commun des NPs d'oxyde de fer dans les études *in vitro* (Bhattacharya *et al.*, 2012 ; Khan *et al.*, 2012). De plus, l'Afset (2006) a rapporté qu'après une exposition de 3 jours de cellules pulmonaires humaines à des NPs d'oxyde de fer (Fe_2O_3), celles-ci commencent à s'arrondir et à se détacher de leur support, indiquant ainsi la survenue d'une cytotoxicité. Liu *et al.* (2013), quant à eux pensent que les effets toxiques des NPs d'oxyde de fer sont dus à une production excessive de ROS. Ces dernières provoquent à leur tour d'autres dommages à l'ADN et éventuellement une peroxydation lipidique.



Chapitre II :
Rappel sur la paramécie

Les représentants du genre *Paramecium* sont les plus fréquents des protozoaires. Ils sont très abondants dans les eaux contenant des débris végétaux ou dans les infusions de foin (infusoires) car les bactéries dont ils se nourrissent pullulent à la surface des végétaux en décomposition (**Beaumont et Cassier, 1998**).

Le genre *Paramecium* inclut environ quinze (15) espèces, actuellement enregistrées, mais moins de dix (10) peuvent être considérées comme *Paramecium* vrai (**Beaumont et Cassier, 1998**).

1. Biologie et morphologie :

La paramécie est une cellule unique fusiforme, quatre fois plus longue que large, enflée dans sa partie moyenne. Les deux extrémités d'une paramécie sont morphologiquement distinctes, l'extrémité antérieure est émoussée, arrondie alors que l'extrémité postérieure a la forme d'un cône (**Beaumont et Cassier, 1998**).

La paramécie comporte au niveau cortical plus de 4000 cils (**Figure 7A**). Comme tous les ciliés, la paramécie possède deux types de noyaux : Le macronoyau dit noyau somatique qui est transcriptionnellement actif et est responsable de l'expression des gènes durant le cycle végétatif, et deux micronoyaux, dits noyaux germinaux, qui sont transcriptionnellement inactifs et subissent la méiose lors des processus sexuels. Leur cytoplasme limité par une mince cuticule présente une zone périphérique hyaline et visqueuse, cette cuticule résistante, souple et élastique, limite l'amplitude des déformations du corps de la paramécie. Après toute déformation, grâce à la présence de cette différenciation superficielle le corps de la paramécie reprend sa forme initiale (**Beaumont et Cassier, 1998**).

La paramécie présente des fonctions cellulaires diverses au même titre que les métazoaires. En effet, elle possède un système de transport vésiculaire jouant un rôle analogue au système digestif. Une partie des cils assure la prise de nourriture via son appareil oral, en forme d'entonnoir, dans lequel les bactéries vont entrer par endocytose. Après formation de vésicules digestives et dégradation des éléments ingérés par les enzymes qu'elles contiennent, ces vésicules vont être exocytées via le cytoprocte. Afin d'éliminer les déchets liquides et de maintenir la pression osmotique, les paramécies sont également pourvues de deux vacuoles pulsatiles (**Figure 7 B**) (**Bengueddach, 2016**).

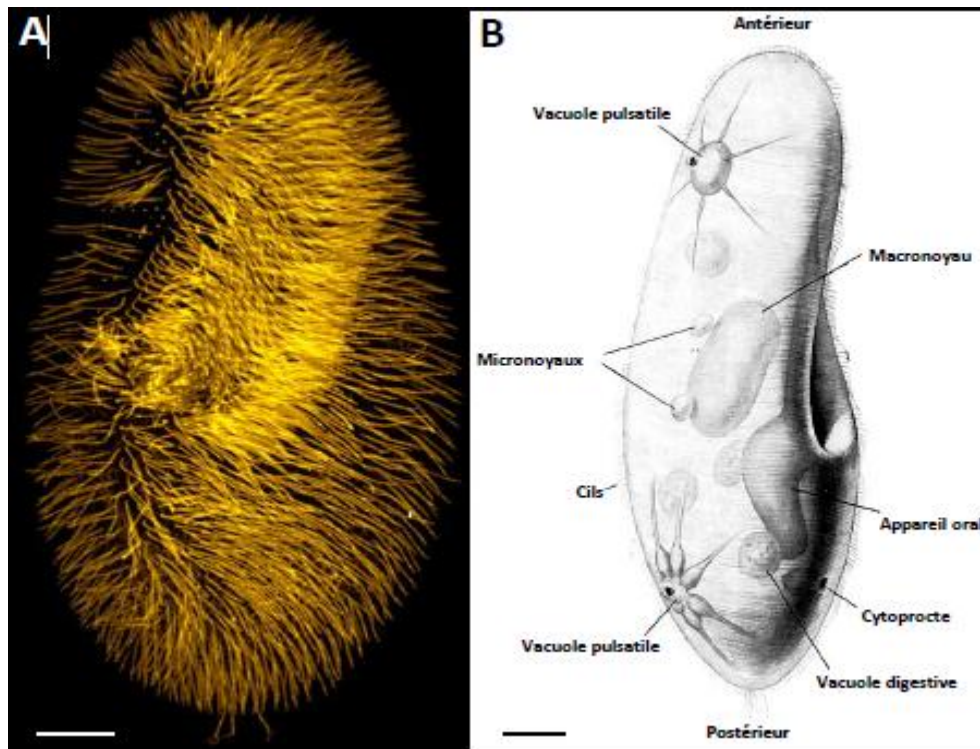


Figure 7 : Organisation générale de la paramécie (Bengueddach, 2016). (A) Observation de la région ventrale, marquée avec un anticorps reconnaissant les cils ; (B) Représentation schématique des principaux organites.

2. Mouvement :

La ciliature vibratile, qui recouvre la paramécie et bat de façon synchronisée, lui permet de se déplacer et se nourrir. En général, le déplacement se fait en avant et la région antérieure étant reconnaissable par la position de la bouche. Le sens de locomotion peut ainsi être inversé devant un obstacle. Le battement des cils détermine alors la marche arrière. La paramécie peut également se déformer et s'étirer légèrement en passant entre deux obstacles rapprochés (Azzouz, 2012).

3. Alimentation :

L'alimentation chez la paramécie s'effectue selon les étapes suivantes :

- **Capture de la nourriture :** Les cils spéciaux qui couvrent la bouche ont pour rôle de produire un courant d'eau attirant les particules et les proies (débris végétaux, bactéries, algues unicellulaires). Il se forme ainsi, autour des particules, une vacuole digestive qui est attirée dans le cytoplasme (Samworth et Morgan, 2000).

- **Digestion et excrétion:** Dans la vacuole digestive, les aliments sont digérés par des diastases (digestion acide, puis basique). Les produits de la digestion sont ainsi absorbés par le cytoplasme et les débris sont rejetés à l'extérieur de la cellule par exocytose (**Samworth et Morgan, 2000**).

4. Respiration :

Les paramécies sont avides d'oxygène, leur respiration se fait par des échanges gazeux avec l'environnement exclusivement par la surface corporelle car présentant un rapport surface / volume donc surface / masse corporelle élevé (**Wehner et Gehring, 1995**).

5. Reproduction :

5.1. Reproduction asexuée : Les paramécies se multiplient surtout de façon asexuée par division binaire transversale. Cette division débute par celle de l'appareil nucléaire: le micronoyau subit ainsi une mitose et le macronoyau s'étire, s'étrangle et se sépare en deux. Ensuite, les organites se dupliquent puis le cytoplasme s'étrangle : il y a alors séparation des deux cellules filles. Ce rythme de division est rapide (de deux à trois fois par jour pour un individu) (**Purves et al., 2000**).

5.2. Reproduction sexuée : Il existe aussi une multiplication sexuée appelée conjugaison qui se produit après un assez long temps d'élevage en culture (privation de nourriture). Deux ciliés s'accolent par leur péristome, les cils tombent et les cytoplasmes entre en communication (**Purves et al., 2000**).

Chez *Paramecium tetraurelia*, le processus de conjugaison dure normalement entre 5 et 6 heures à 27-29°C. Exceptionnellement, les cellules peuvent rester attachées deux par deux pour des périodes plus longues à la région du cône paroral. En effet, parfois la connexion cytoplasmique entre conjugants dans la région parorale ne se rompt jamais, et des doublets permanents sont formés (**Purves et al., 2000**).

6. Intérêt de la paramécie comme modèle d'étude alternatif :

Les paramécies sont non seulement caractérisées par une organisation complexe mais jouent aussi, un rôle important dans le fonctionnement des écosystèmes d'eau douce. Elles sont, donc, d'excellents bio-indicateurs puisqu'elles présentent de nombreux avantages, à savoir :

- ❖ Leur large distribution géographique (**Bennett et al., 1992**), leur abondance de même que leur facilité d'identification (**Bennett et Cabbage, 1992, Marchese et Brinkhurst, 1996**).
- ❖ Leur facilité de culture en laboratoire ainsi que leur multiplication rapide (cycle de vie court) (**Dragesco, 1980 ; Beal et Anderson, 1993 ; Kamola, 1995**).
- ❖ La paramécie constitue un modèle biologique de choix pour la modélisation des tests de cytotoxicité et l'étude des effets aigus et chroniques des toxiques et éventuellement leur bioaccumulation (**Chapman, 2001**).
- ❖ Elles permettent l'étude des mécanismes d'action des xénobiotiques à différents niveaux d'organisation de la cellule (échelles cellulaire, subcellulaire et moléculaire) (**Rouabhi et al., 2006**).
- ❖ Leur mobilité grâce à des cils possédant la même structure que ceux des cellules épithéliales respiratoires des mammifères (**Gräf et Stahr, 1999**), d'autant plus que les battements ciliaires chez les mammifères sont parfaitement comparables à ceux de la paramécie, Tetrahymena,...etc, (**Berrebbah, 1990**).
- ❖ Leur sensibilité en tant que cellules eucaryotes et leur organisation exposent leurs récepteurs à l'environnement externe, les faisant réagir parfaitement à des stimuli environnementaux (**Venkateswara et al., 2006**).

Toutes ces caractéristiques biologiques font des paramécies un outil pertinent pour la détection et l'évaluation des perturbations environnementales (**Amaroli, 2010**).



Partie 2 :

Synthèse de certains travaux relatifs à l'étude de la toxicité des nanoparticules d'oxyde de fer vis-à-vis des paramécies

Synthèse de certains travaux relatifs à l'étude de la toxicité des nanoparticules d'oxyde de fer vis-à-vis des paramécies

Ces dernières années, un nombre croissant d'études de toxicité fournissent des preuves évidentes quant aux risques pour la santé humaine et l'environnement de différents nanomatériaux, y compris les oxydes métalliques (**Kahru et al., 2010**). Bien que les mécanismes de la nanotoxicité soient à l'heure actuelle mal connus et que de nombreux rapports attribuent la toxicité des NPs à leur petite taille, d'autres caractéristiques telles que la morphologie et la composition des particules ainsi que leur chimie de surface ont été également impliquées (**Handy et al., 2008; Fubini et al., 2010**).

De nombreux modèles biologiques sont utilisés dans les études écotoxicologiques portant sur les effets des NPs, notamment les bactéries, les champignons, les algues et les crustacés (**Kahru et al., 2010**). En raison de leur large distribution mondiale et de leur sensibilité particulière à de nombreux contaminants environnementaux, les protistes ciliés d'eau douce constituent d'excellents bioindicateurs pour l'évaluation de la qualité des écosystèmes aquatiques. Les protozoaires sont des organismes unicellulaires qui ne possèdent pas de paroi cellulaire protectrice. En conséquence, les NPs pourraient pénétrer plus facilement dans les cellules protozoaires que les cellules bactériennes et algales et interagir directement avec les structures cellulaires et les organites (**Mortimer et al., 2014**). C'est dans ce contexte que s'inscrit notre travail visant à établir une synthèse de certains articles relatifs à l'étude des effets toxiques induits au niveau morpho-physiologique et comportemental et métabolique par les nanoparticules d'oxyde de fer chez la paramécie.

L'évaluation des effets cytotoxiques d'un xénobiotique peut être réalisée en utilisant différents paramètres, parmi lesquels la croissance cellulaire qui reflète chez les microorganismes l'état du métabolisme de la cellule (**Perez-Rama et al., 2001**). En effet, nous nous sommes intéressés en premier lieu, aux travaux évaluant l'effet des nanoparticules métalliques d'oxyde de fer sur la croissance cellulaire du genre *Paramecium*.

D'abord, ceux d'**Abid et Amarouche (2016)**, dans lesquels ils ont exposé *Paramecium sp* à deux différentes concentrations de Fe₃O₄-NPs (**D1**= 7.5×10⁻²mg/ml, **D2**=0.1 mg/ml). Les comparaisons ont été faites contre un lot témoin dans lequel les paramécies n'ont reçu aucun traitement. Les résultats ont mis en évidence que le nombre de cellules témoins et traitées évoluent de manière similaire, et ce durant les deux premiers jours de traitement. Ceci pourrait être expliqué par l'adsorption du Fe₃O₄-NPs sur la membrane cellulaire ou encore à la présence de cuticule chez les paramécies, qui les rendent plus ou moins résistantes au stress environnemental (**Beaumont et Cassier, 1998**). A partir du 4^{ème} jour, les NPs de Fe₃O₄ inhibe

Synthèse de certains travaux relatifs à l'étude de la toxicité des nanoparticules d'oxyde de fer vis-à-vis des paramécies

la croissance des paramécies de manière dose-dépendante par rapport aux témoins, ce qui constitue le premier indice de leur cytotoxicité. Des résultats similaires ont été également rapportés par **Kungang et al. (2012)** qui ont noté une cytotoxicité chez *Paramecium multi micro nucleatum* exposée à différentes concentrations de nanoparticules d'oxydes métalliques, et ce à travers la détermination de la DL50, la toxicité vis-à-vis des paramécies augmente ainsi en fonction du type de nanoparticules étudiées: $Al_2O_3 < TiO_2 < CeO_2 < ZnO < SiO_2 < CuO < Fe_2O_3$.

Les travaux de **Richard et al. (2017)** se sont également intéressés à l'effet des nanoparticules de fer (magnétite) sur la croissance cellulaire de *Paramecium caudatum*. Les résultats de ces chercheurs sont cependant contradictoires avec les précédents. En effet, ces résultats ont démontré que les paramécies exposées à une concentration de 0.25 mg/ml de magnétite sont fortement tolérantes. Ainsi aucune inhibition de la croissance cellulaire n'a été constatée malgré les preuves scientifiques récentes suggérant la toxicité de cette variété de nanoparticules pour les microorganismes aquatiques. **Richard et al. (2017)** suggèrent que les nanoparticules de magnétite (MNP) ont été internalisées de la même manière qu'une source de nutriments, étant donné leur taille mesurant 10 nm, qui est considérée trop grande pour entrer à l'intérieur de la cellule à travers la membrane plasmique. Cette absorption apparente des MNP était probablement due à leur revêtement d'amidon.

Dans un second temps, nous nous sommes intéressés aux travaux rapportant l'effet des nanoparticules de fer sur le comportement locomoteur des paramécies, étant donné que les biomarqueurs comportementaux sont considérés comme des « indicateurs d'alerte précoce » quasi-immédiats et sensibles aux stress. Ainsi, les travaux réalisés par **Abid et Amarouche (2016)**, ont mis en évidence une perte de la mobilité accompagnée de mouvements désordonnés et une nage vers l'arrière appelée « Back wards wimming » chez *Paramecium sp* exposée aux concentrations croissantes de NPs de Fe_3O_4 , par rapport aux paramécies témoins qui avancent en tournant autour d'un axe longitudinal, selon un mouvement hélicoïdal. Ceci amène à confirmer l'influx de ces dernières à l'intérieur des cellules en raison de leur biocompatibilité, malgré la présence de la membrane cellulaire qui pourrait constituer une barrière contre l'entrée massive des xénobiotiques, mais qui reste néanmoins perméable. Ces résultats sont en accord avec ceux de **Bernal et Ruvalcaba (1995)** qui ont rapporté une perturbation du mouvement de nage chez les paramécies en présence de concentrations élevées de plomb. Selon **Van Houten et Preston (1988)**, les paramécies détectent la présence

Synthèse de certains travaux relatifs à l'étude de la toxicité des nanoparticules d'oxyde de fer vis-à-vis des paramécies

de nombreuses substances chimiques dans leur milieu et réagissent face à ce type de stimuli en changeant leur comportement natatoire. L'ensemble de ces modifications des voies de migration ou des trajectoires de déplacement impliquent une augmentation et/ou une diminution de la vitesse de nage, des altérations de l'amplitude ou la fréquence de rotation et des changements brusques de direction de migration. Ce mécanisme électrophysiologique de la chimio-orientation est appelé « Chemokinesis » (chimiokinèse). Dans ce sens, les études menées par **Randall et al. (2016)** et **Armus et al. (2006)** ont montré une réduction soudaine de la motilité suivie d'une lyse cellulaire immédiate chez *P. caudatum* mise en contact pendant 3 heures avec les concentrations croissantes de nanoparticules d'oxyde de graphène (GO) et les nanoparticules d'argile, respectivement.

L'analyse des anomalies morphologiques affectant les organismes d'eau douce apparaît comme un outil privilégié pour la biosurveillance des milieux aquatiques, elle permet ainsi d'améliorer la compréhension globale des mécanismes susceptibles d'engendrer des altérations au niveau cellulaire (**Moumeni, 2017**). Il nous a donc semblé judicieux de faire une lecture des études portant sur l'effet des nanoparticules d'oxyde de fer sur la morphologie des paramécies. Citons les travaux réalisés par **Abid et Amarouche (2016)** qui se sont intéressées à la caractérisation des atteintes morphologiques observées chez *Paramecium sp* après exposition aux concentrations croissantes des nanoparticules de Fe_3O_4 . L'observation microscopique a révélé l'apparition d'un nombre important d'anomalies morphologiques qui s'intensifie avec l'augmentation des concentrations et du temps d'exposition. Les anomalies morphologiques les plus fréquemment observées ont été caractérisées par des gonflements cellulaires avec des formes plus ou moins sphéroïdes ou encore un rétrécissement de la taille des cellules traitées, comparativement aux paramécies témoins qui présentaient une morphologie symétrique bien allongée. Selon **Friedl et Wolf (2003)** et **Golam et al. (2005)**, ces dommages structuraux sont exclusivement attribuables à l'altération de l'interaction cytosquelette-membrane qui contribue à l'édification et à la stabilisation de la morphologie cellulaire, ce qui se traduit par l'émergence d'anomalies morphologiques. Par ailleurs, les études de **Richard et al. (2017)** ont rapporté que les nanoparticules de magnétite n'avaient aucun effet sur la morphologie de *P. caudatum*, et ce pour une concentration de 0.25 mg/ml. Les chercheurs ont cependant remarqué l'inclusion de dépôts de couleur rouille et d'objets plus sombres dans les vésicules intracellulaires et le cytoplasme des cellules. Aucune différence statistique n'a été observée dans le volume cellulaire total chez les paramécies traitées comparativement aux cellules témoins.

Synthèse de certains travaux relatifs à l'étude de la toxicité des nanoparticules d'oxyde de fer vis-à-vis des paramécies

En définitif et dans le but de compléter au mieux notre travail, nous avons jugé essentiel de nous pencher sur l'effet des nanoparticules d'oxyde de fer sur la respiration cellulaire des paramécies.

Chez les micro-organismes, en conditions physiologiques, la consommation intracellulaire (au niveau de la mitochondrie) de l'oxygène, processus essentiel pour de nombreuses fonctions vitales, génère en permanence la formation d'espèces réactives de l'oxygène ou « Reactive Oxygen Species » (ROS) qui sont potentiellement toxiques pour l'intégrité mitochondriale et cellulaire. En effet, plusieurs auteurs ont rapporté qu'une des conséquences majeures du stress environnemental est l'altération des fonctions respiratoires par la perturbation de l'activité mitochondriale (**Wang et al., 2004 ; Abele et al., 2007**). Dans ce sens, les travaux de **Shoup et al. (1931)** ont étudié l'effet d'oxyde de fer (III) sur la respiration des paramécies et ont ainsi constaté que ce dernier est toxique pour ces micro-organismes à une concentration de 0,001 M, entraînant une réduction de 60% de l'activité respiratoire. Plus récemment, **Singh et al. (2010)** ont étudié la toxicité des nanoparticules de Fe_3O_4 et les mécanismes probables qui provoquent une réponse toxique. L'exposition à ces nanoparticules non enrobées a été associée à une inflammation, aux dommages à l'ADN, ainsi qu'à une altération de la fonction mitochondriale et une génération d'espèces réactives de l'oxygène (ROS). Selon **Randall et al. (2016)**, les nanoparticules d'oxyde de fer se dégradent en ions ferreux qui ont probablement la capacité de réagir avec le H_2O_2 et l' O_2 produits par les mitochondries pour former des radicaux hydroxyles hautement réactifs.

De même, les résultats d'**Abid et Amarouche (2016)** ont indiqué une perturbation du métabolisme respiratoire chez les paramécies exposées aux nanoparticules de Fe_3O_4 par rapport aux cellules témoins. La perturbation de l'activité respiratoire montre que les deux concentrations de nanoparticules de Fe_3O_4 sont génératrices de stress oxydatif à l'origine de la libération de ROS qui sont connus comme éléments perturbateurs du métabolisme respiratoire (**Kiss et al., 2003; Kuciel et Mazurkiewicz, 2004**) d'où la perturbation de la consommation d' O_2 observée dans ces travaux. En plus de la perturbation de l'activité respiratoire, ces mêmes chercheurs ont mis en évidence un gonflement des mitochondries chez les paramécies traitées. **Kon et al. (2004) ; Berson et al. (2006) et Labbe et al. (2008)** suggèrent que le mécanisme de transition de perméabilité mitochondriale pourrait être un des mécanismes fondamentaux impliqués dans les altérations de la chaîne respiratoire en condition d'intoxication, ce qui confirme ainsi l'augmentation du volume des mitochondries traitées par

Synthèse de certains travaux relatifs à l'étude de la toxicité des nanoparticules d'oxyde de fer vis-à-vis des paramécies

les nanoparticules de Fe_3O_4 . L'ensemble des résultats trouvés concorde avec ceux de **Rouabhi et al. (2006)** ; **Sbartai et al. (2012)** et **Benbouzid et al. (2012)**.



Conclusion et perspectives

En conclusion, il est évident que les espèces appartenant au genre *Paramecium* sont d'excellents bioindicateurs de la qualité des eaux douces. Ces modèles alternatifs sont particulièrement sensibles à une pollution par les nanoparticules métalliques. Les travaux analysés mettent en évidence que les nanoparticules, précisément celles d'oxyde de fer sont responsables du déclenchement et/ou l'inhibition de divers phénomènes cellulaires qui se manifestent chez les paramécies par des atteintes physiologiques (inhibition de la croissance cellulaire), morphologiques (la présence de différentes malformations), comportementales (perturbation du mouvement de déplacement) et métaboliques (perturbation du métabolisme respiratoire). Ceci, soulève plusieurs interrogations, quant à leur toxicité, auxquelles nous essayerons d'apporter des réponses à travers une étude plus approfondie pour une meilleure compréhension des mécanismes d'action toxique.

Notre travail reste, donc, préliminaire et nécessite d'être complété par:

- Une étude bibliographique plus exhaustive sur la toxicité des nanoparticules d'oxyde de fer vis-à-vis d'autres modèles biologiques (animaux et végétaux)
- Des essais afin de mieux comprendre le devenir, les formes de stockage, et les interactions entre les nanoparticules d'oxyde de fer et les systèmes biologiques.



Références bibliographiques

A

- **Abele D., Philipp E., Gonzalez P.M., Puntarulo S. (2007).** Marine invertebrate mitochondria and oxidative stress. *Front. Biosci*, 12, 933–946.
- **Abid A., Amarouche A. (2016) :** Thèse de Master 2 : Nanotoxicité de Fe₃O₄ (NPs) sur les paramètres du stress oxydatif d'un modèle cellulaire alternatif *Paramecium sp.* Université de Larbi Tébessi – Tébessa, Algérie.
- **Afsset. (2006).** Les nanomatériaux : effets sur la santé de l'homme et sur l'environnement. Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail. Juillet 2006.Paris. 248 p.
- **Afsset. (2010) :** Evaluation des risques liés aux nanomatériaux pour la population générale et pour l'environnement. n° 2008/2005, p 59.
- **Agius R., Oberdorster G. (1995).** Airborne pollutants and acute health effects. *The Lancet*, 345(8952): 799.
- **Aguilar ZP. (2013).** Chapter 7 - Nanopharmacology. *Nanomaterials for Medical Applications*, Aguilar ZP (Édit.) Elsevier. p 293-360.
- **Alberts B., Johnson A., Lewis J. (1983).** The extracellular matrix of the animals. In *Molecular Biology of the Cell*, 4th edition. *Garland Science*, New York. 692-713 p.
- **Amamra R. (2015).** Etude de la toxicité de composés pyréthrinoides utilisés en Algérie sur un modèle alternatif : *Paramecium tetraurelia*. Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar, Annaba, Algérie, 134 p.
- **Amaroli. (2010).** Nitric oxide production inhibited by xenobiotic compounds in the protozoan *Paramecium primaurelia*. *Ecol. Indic*, 10, 212–216.
- **Armus H.L., Montgomery A. R., & Jellison J. L. (2006).** Discrimination learning in paramecia (*P. caudatum*). *Psychol.Rec*, 56, 489–498.
- **Aschberger K., Micheletti C., Sokull-Klüttgen B., & Christensen F.M. (2011).** Analysis of currently available data for characterising the risk of engineered nanomaterials to the environment and human health e lessons learned from four case studies. *Environment International* 37, 1143e1156.
- **Auffan M., Pedoutour M., & Rose J., et al. (2007).** Structural degradation at the surface of a TiO₂-based nanomaterial used in cosmetics. *Environmental Science &Technology* . 44, 2689–2694.
- **Auffan M. (2007).** Nanoparticules d'oxydes métalliques : relations entre la réactivité de surface et des réponses biologiques. Université Paul Cézanne - Aix-Marseille III, France. P12.
- **Azzouz Z. (2012).** Etude des effets toxiques d'un fongicide (Amistar Xtra) et d'un herbicide (Glyphosate) sur la biologie et le comportement de *Paramecium tetraurelia*, Université Badji Mokhtar Annaba, Algérie, 159 p.

B

- **Beal D.L., Anderson R.V. (1993).** Response of Zooplankton to rotenone in a small pond. *Bull. Environ. Contam. Toxicol*, 51, 551–556.

- **Beaumont R., & Cassier C. (1998).** Travaux Pratiques de Biologie Animale, Zoologie, Embryologie, Histologie, 3ème édition DUNOD, 123–143.
- **Benbouzid H., Berrebbah H., Berredjem M., & Djebar M.R. (2012).** Toxic effects of phosphoramidate on *Paramecium* sp with special emphasis on respiratory metabolism growth, and generation time. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 94, 557–565. DOI:10.1080/02772248. p 655.
- **Bengueddach H. (2016).** Etude des protéines VFL3 et OFD1 dans le mécanisme d’encrage de corps basaux chez la paramécie. Thèse de Doctorat. L’université Paris-Saclay. France. p167.
- **Bennett J., & Cabbage J. (1992).** Evaluation of Bioassay Organisms for Freshwater Sediment Toxicity Testing. *Washington Department of Ecology, Olympia, WA*. 29 pp.
- **Bernal J., & Ruvalacaba S. (1995).** Pharmacological prevention of acute lead poisoning in *Paramecium*. *Toxicology*, 108. p165.
- **Berrebbah H. (1990).** Etude du contrôle de la mobilité flagellaire et ciliaire par le calcium. Effet du lindane, insecticide organochloré. Thèse de Doctorat, Université Pierre et Marie Curie, Paris VII, France, 144 p.
- **Berry C.C., Charles S., Wells S., Dalby M.J., & Curtis A.S.G. (2004).** The influence of transferring stabilised magnetic nanoparticles on human dermal fibroblasts in culture. *International Journal of Pharmaceutics*. 269(1):211- 225.
- **Berson A., Cazanave S., Descatoire V., Tinél. M., Grodet A., & Wolf C. (2006).** The anti-inflammatory drug, nimesulide (4-nitro-2- phenoxy methane-sulfoanilide), uncouples mitochondria and induces mitochondrial permeability transition in human hepatoma cells: protection by albumin. *J PharmacolExp Ther*, 318:444-54.
- **Bhattacharya K., Hoffmann E., Schins R.F., Boertz J., Prantl E.M., Alink G.M., Byrne H.J., Kuhlbusch T.A., Rahman Q., Wiggers H., Schulz C., & Dopp E. (2012).** Comparison of micro- and nanoscale Fe⁺³-containing (Hematite) particles for their toxicological properties in human lung cells in vitro. *ToxicolSci*, 126(1): 173-82.
- **Boilot J.P., Biteau J., Chaput F., Gacoin T., Brun A., Darracq B., Georges P., LUvy Y. (1998).** Organic-inorganic solids by sol-gel processing: optical applications. *Pure Appl. Opt*, 7, 169.
- **Bottero J.Y., Rose J. & Wiesner M.R. (2006).** Nanotechnologies: tools for sustainability in a new wave of water treatment processes. *Integrated Environmental Assessment and Management*, 2(4), 391-395.
- **Bour A. (2015).** Effets écotoxicologiques de nanoparticules de dioxyde de cérium en milieu aquatique : d’une évaluation en conditions monospécifiques à l’étude de la chaîne trophique expérimentale en microcosme. Thèse de doctorat de l’université de Toulouse, France, P271.
- **Brannon-Peppas L., Blanchette J.O. (2004).** Nanoparticle and targeted systems for cancer therapy. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 56(11): 1649.
- **Buffet P.E. (2012).** Evaluation du risque environnemental des nanoparticules métalliques : biodisponibilité et risque potentiel pour deux espèces clés des écosystèmes estuariens. Thèse de doctorat, Université de Nantes, France, p336.

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

C

- **Champeau O. (2005).** Biomarqueurs d'effets chez *C. fluminea* : du développement en laboratoire à l'application en mésocosme. Thèse de doctorat. Université de Bordeaux 1. France, 281 p.
- **Chapman P.M. (2001).** Utility and relevance of aquatic oligochaetes in ecological risk assessment. *Hydrobiologia*, 463, 149–169.
- **Charles S.W., Popplewell J. (1980).** Ferromagnetic Materials, ed E P Wohlfarth. 2, 509.
- **Chevalier J. (2014).** Utilisation du comportement natatoire de *Daphnia magna* comme indicateur sensible et précoce de toxicité pour l'évaluation de la qualité de l'eau. Thèse de doctorat, Université de Bordeaux, France, 153 p.
- **Clefs C. E. A. (2005).** Les nanocristaux semi-conducteurs fluorescents font leur Internet .N°52.
- **Colvin V. L. (2003).** The potential environmental impact of engineered nanomaterials. *Nature biotechnology*. 21, 10: 1166-1170.
- **Cornelis G., Hund-Rinke. K., Kuhlbusch. T., Brink. N van den., & Nickel.C. (2014).** Fate and Bioavailability of Engineered Nanoparticles in Soils: A Review. *CritRev Environ SciTechnol*44:2720–2764.
- **Corot C., Robert P., Idee J.M. & Port M. (2006).** Recent advances in iron oxide nanocrystal technology for medical imaging. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 58(14): 1471.

D

- **Dragesco J. (1980).** Les protozoaires. Office de la Recherche scientifique et Techniques Outre-Mer Paris. *Initiations, documentations, techniques*, 44, 153–192.

E

- **El Mendili Y. (2011).** Etude des propriétés structurales et magnétiques des nanoparticules de maghémites dispersées dans une matrice de silice. Thèse de doctorat de l'Université du Maine, France. p158
- **Emerich D.F., & Thanos C.G. (2006).** The pinpoint promise of nanoparticle-based drug delivery and molecular diagnosis. *Biomolecular Engineering*, 23(4): 171.),
- **EPA-Nanotechnology-White-Paper, Nanotechnology White Paper. Édit (Epa) USEPA Washington. (2007).** p120.

F

- **Farré MK., Gajda-Schranz L., Kantiani., & Barcelo D. (2009).** Ecotoxicity and analysis of nanomaterials in the aquatic environment. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 393(1) : 81-95.

- **Ferry IL., Craig P., Hexel C., Sisco P., Frey R., Pennington P. L., Fulton M.H., Scott I.G., Decho A.W., Kashiwada S., Murphy C.J., & Shaw T.J. (2009).** Transfer of gold nanoparticles from the water column to the estuarine food web. *Nat Nano* 4(7) : 441-444.
- **Feynman R. (1959).** There's plenty of room at the bottom. speech presented at the annual meeting of the American Physical Society.
- **Friedl P., & Wolf K. (2003).** Tumour-cell invasion and migration: diversity and escape mechanisms. *Nat. Rev. Cancer*, 3, 362–374.
- **Fubini B., Ghiazza M., & Fenoglio L. (2010).** Physico-chemical features of engineered nanoparticles relevant to their toxicity. *Nanotoxicology*. 4:347-363.

G

- **Golam M.M., Toshiyuki T., Tatsuya U., Toshikazu. K., Hitoshi M., & Hiroshi H., (2005).** Toxicity and bioaccumulation of hexavalent chromium in green *Paramecium*, *Paramecium bursaria*. *J. Health. Sci*, 51, 676–682.
- **Gonzalez L., Lison D., & Kirsch-Volders M. (2008).** Genotoxicity of engineered nanomaterials: A critical review. *Nanotoxicology*; 2(4):252.
- **Gräf F., & Stahr K. (1999).** A Soil and Terrain Map of SW-Niger (NiSOTER). In: *Atlas of Benin and Niger*.
- **Gupta A.K., & Gupta M. (2005).** Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications. *Biomaterials*, 26(18): 3995.

H

- **Handy R.D., Kammer F. von der., Lead J.R., Hassellöv M., Owen R., & Crane M. (2008).** Theecotoxicology and chemistry of manufactured nanoparticles. *Ecotoxicology*17:287-314.
- **Hull M.S., Chaurand P., Rose J., Auffan M., Bottero J.Y., Jones J.C., Schultz I.R., & Vikesland P.J. (2011).** Filter-Feeding Bivalves Store and Biodeposit Colloidally Stable Gold Nanoparticles. *Environment Science and Technology* 45(15) : 6592-6599.

I

- **Ianos R., Taculescu E.A., Pacurariu C., & Niznansky D. (2014).** γ -Fe₂O₃ nanoparticles prepared by combustion synthesis, followed by chemical oxidation of residual carbon with H₂O₂. *Materials Chemistry and Physics* (1-7).

J

- **Jérémy P. (2013).** Nanoparticules d'oxydes de fer et nanotubes de titane pour l'imagerie anticancéreuse. Université de Bourgogne, France. p 57.

K

- **Kaegi R., Ulrich A., Sinnet B., Vonbank R., Wichser A., & Zuleeg S., et al. (2008).** Synthetic TiO₂ nanoparticle emission from exterior facades into the aquatic environment. *Environ Pollut* 156:233–239.
- **Kahru A., Savolainen K. (2010).** Potential hazard of nanoparticles: from properties to biological and environmental effects. *Toxicology*. 269(2-3):89-91.
- **Kamola Z. (1995).** Notes on the Use of Invertebrates, especially Ciliates, in Studies on Pollution and Toxicity. *Foliabiologica (Krakow)*, 43 (1–2).
- **Keller A.A., McFerran S., Lazareva A., & Suh S. (2013).** Global life cycle releases of engineered nanomaterials. *J Nanoparticle Res* 15:1–17.
- **Khan M.I., Mohammad A., Patil G., Naqvi S.A.H., Chauhan L.K.S. & Ahmad I. (2012).** Induction of ROS, mitochondrial damage and autophagy in lung epithelial cancer cells by iron oxide nanoparticles. *Biomaterials*, 33: 1477-1488.
- **Kiss S.A., Varga I.S., Galbacs Z., Maria T.H., & Csikkel S.A. (2003).** Effect of age and magnesium supply on the free radical and antioxidant content of plants. *Acta Biologica Szegediensis*, Vol:47 (1-4). Pp. 130.
- **Klaine S. J., Alvarez P. J. J., Batley G. E., Fernandes T. F., Handy R. D., Lyon D. Y., Mahendra S., McLaughlin M. J., & Lead J. R. (2008).** Nanomaterials in the environment: Behavior, fate, bioavailability, and effects. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 27(9), 1825-1851.
- **Kon K., Kim J.S., & Jaeschke H et al. (2004).** Mitochondrial permeability transition in acetaminophen-induced necrosis and apoptosis of cultured mouse hepatocytes. *Hepatology*. 40(5):1170. P09.
- **Kool P. L., Ortiz M. D., & van Gestel C. A. (2011).** Chronic toxicity of ZnO nanoparticles, non-nanoZnO and ZnCl₂ to *Folsomia candida* (Collembola) in relation to bioavailability in soil. *Environmental Pollution* 159: 2713- 2719.
- **Kreuter J. (2001).** Nanoparticulate systems for brain delivery of drugs. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 47(1): 65.
- **Kuciel R., Mazurkiewicz A. (2004).** Formation and Detoxification of reactive oxygen species. *Biochemistry and Molecular Biology Education*, 323, 183-186.
- **Kungang L., Ying C., Wen Z., Zhichao P., Lin J., & Chen Y. (2012).** Surface Interactions Affect the Toxicity of Engineered Metal Oxide Nanoparticles toward *Paramecium*. *Chem Res Toxicol*, 25(8):1675-1681.
- **Kwok K.S., & Ellenbogen J.C. (2002).** Moletronics: future electronics. *Materials Today*, 5(2): 28.

L

- **Labbe G., Pessayre D., & Fromenty B. (2008).** Drug-induced liver injury through mitochondrial dysfunction, mechanisms and detection during preclinical safety studies. *Fundam Clin Pharmacol*:22. P 53.

- **Liu G., Gao J., Ai H., & Chen X. (2013).** Applications et la toxicité potentielle des nanoparticules d'oxyde de fer magnétique. *Petit*. 9(9-10) : 1533-1545.
- **Lowry G.V., Gregory K.B., Apte S.C., & Lead J.R. (2012).** Transformations of Nanomaterials in the Environment. *Environ .Sci.Technol* 46:6893–6899.
- **Lowry G.V., & Johnson K.M. (2004).** Congener-Specific Dechlorination of Dissolved PCBs by Microscale and Nanoscale Zerovalent Iron in a Water/Methanol Solution. *Environmental Science & Technologie*, 38(19): 5208-5216.
- **Lungu M. A. N., Madalin B., & Claudiu B. (2015).** Nanoparticles' Promises and Risks, Springer International Publishing.

M

- **Marchese M.R., & Brinkhurst R.O. (1996).** A comparison of two tubificidoligochaete species as candidates for sublethal bioassay tests relevant to subtropical and tropical regions. *Hydrobiologia*, 334, 163–168.
- **Matthias P. (2010).** Structuration de nanoparticules magnétiques d'oxyde de fer en films et étude de leurs propriétés magnétiques et de magnéto-transport. Thèse de doctorat. Université de Strasbourg. P15.
- **Mejia J., Kestemont P., & Lucas S. (2015).** État des connaissances sur les impacts des nanoparticules sur l'environnement en Wallonie. Namur Nanosafety Center, Université de Namur, Namur P : 2.
- **Mitrano D., Motellier S., Clavaguera S., Nowack B. (2015).** Review of nanomaterial aging and transformations through the life cycle of nano-enhanced products. *Environment International*. 77, 132-147.
- **Mortimer N., & 22 others. (2014).** High-level stratigraphic scheme for New Zealand rocks: New Zealand Journal of Geology and Geophysics, 57, 402–419.
- **Moumeni O. (2017).** Etude de la toxicité d'un Cyclohexanedione (herbicide) sur deux modèles biologiques d'eau douce : *Paramecium tetraurelia* et *Daphnia magna*. Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar – Annaba, Algérie.

N

- **Ngomsik A.F., Bee A., Draye M., Cote G., & Cabuil V. (2005).** Magnetic nano- and microparticles for metal removal and environmental applications: a review. *Comptes Rendus Chimie*, 8(6-7): 963.
- **Nowack B., Ranville J.F., Diamond S., Gallego-Urrea J.A., Metcalfe C., & Rose J., et al. (2012).** Potential scenarios for nanomaterial release and subsequent alteration in the environment. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 31:50-59.

O

- **Oberdorster G., Maynard A., & Donaldson K. et al. (2005).** Principles for characterizing the potential human health effects from exposure to nanomaterials: elements of a screening strategy. *Part. Fibre Toxicol.*; 2:8.

- **Ostiguy C., & Roberge B. (2010).** Les nanoparticules de synthèse : Connaissances actuelles sur les risques et les mesures de prévention en SST 2^e édition P : 8-10.

P

- **Pereira de Abreu D.A., PaseiroLosada P., Angulo I. & Cruz J.M. (2007).** Development of new polyolefin films with nanoclays for application in food packaging. *European Polymer Journal*, 43(6): 2229.
- **Perez R. M., Abalde A.J., Herrero L.C., & Torres E. (2001).** Class III metallothioneins in response to cadmium toxicity in the marine microalga *Tetraselmis suecica* (KYLIN) BUTCH. *Environmental Toxicology and Chemistry* : 20(9). p 2061-2066.
- **Praetorius A., Scheringer M., & Hungerbühler K. (2012).** Development of Environmental Fate Models for Engineered Nanoparticles-A Case Study of TiO₂ Nanoparticles in the Rhine River. *Environ Sci Technol.*;19;46(12):6705-13.
- **Purves W.K., Orians G.H., Heller H.G., & Sadava D. (2000).** Le monde du vivant, 2^{ème} édition Flammarion, pp : 552-577.

R

- **Richard M.J., Whiting., & Adamatzky A. (2017).** Toxicity and Applications of Internalised Magnetite Nanoparticles Within Live *Paramecium caudatum* Cells. *Bionanoscience*, 8 (1): 90–94.
- **Ricaud M., & Stéphanie D. (2007).** Les nanomatériaux manufacturés à l'horizon 2030. Conséquences en santé au travail dans les petites entreprises en France, p 15.
- **Riu J., Maroto A., & Rius F.X. (2006).** Nanosensors in environmental analysis. *Talanta*, 69(2): 288.
- **Randall L.T., Tarkington L., M, Bryan W., W, Kolhatkar Tejas., Markle Nathanael J., Elizabeth A., Raska., Michael M., Cubacub., Supparesk Ritti kulsittichai., Chien-Hung Li., Yi-Ting Chen., Andrew C. Jamison. (2016).** Magnetic Microorganisms: Using Chemically Functionalized Magnetic Nanoparticles To Observe and Control *Paramecia*. American Chemical Society and Division of Chemical Education, *Inc. J. Chem. Educ.* 2017, 94, 85–90. DOI: 10.1021/acs.jchemed.6b00222.
- **Rouabhi R., Berrebbah H., & Djebbar M.R. (2006).** Toxicity evaluation of Flucycloxuron and diflubenzuron on the cellular model, *Paramecium sp. Afr.J. Biotechnol*: 5(1). P03.
- **Rouabhi R., Berrebbah H., & Djebbar M.R. (2006).** Toxicity evaluation of flucycloxuron and diflubenzuron on the cellular model, *Paramecium sp. Afr. J. Biotechnol*, 5, 45–48.

S

- **Sahoo S.K., & Labhasetwar V. (2003).** Nanotech approaches to drug delivery and imaging. *Drug Discovery Today*, 8(24): 1112.

- **Sajid M., Ilyas M., Basheer C., Tariq M., Daud M., Baig N., & Shehzad F. (2015).** Impact of nanoparticles on human and environment: review of toxicity factors, exposures, control strategies, and future prospects. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 22:4122–4143.
- **Samworth M., & Morgan. M. (2000).** Article on pond life: *Paramecium*. MISCape Article: *Paramecium*, Text by MIKE SAMWORTH, images by MIKE MORGAN. Dec.95 Updated by the MISCape Editor April 2000.
- **Sbarati I., Berrebbah H., Sbartai H., & Djebbar M.R. (2012).** Evaluation of the toxicity of hydrazine (Bifenazate) and oxadiazine (indoxacarb) observed in a unicellular eukaryotes: *Paramecium sp.* *Advanced in Environmental Biology*: 6 (8):2249-2258.
- **Shoup C. S., & Boykin J. T. (1931).** The insensitivity of *Paramecium* to cyanide and effects of iron on respiration. *J. Gen. Physiol*, 15, 107–118.
- **Singh N., Manshian B., & Jenkins G.J.S. et al. (2009).** Nano Genotoxicology: the DNA damaging potential of engineered nanomaterials. *Biomaterials*; 30(23-24):3891-914.
- **Singh N., Jenkins G. J. S., Asadi R., & Doak S. H. (2010).** Potential toxicity of superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPION). *Nano Rev.*, 1, 5358.
- **Som C., Berges M., Chaudhry Q., Dusinska M., Fernandes T.F., & Olsen SI, et al. (2010).** The importance of life cycle concepts for the development of safe nanoproducts. *Toxicology*, 269:160–169.
- **Sun T.Y., Gottschalk F., Hungerbühler K., & Nowack B. (2014).** Comprehensive probabilistic modelling of environmental emissions of engineered nanomaterials. *Environ Pollut* 185:69– 76.

T

- **Triboulet S. (2013).** Etude des effets de deux types de nanoparticules métalliques sur des macrophages murins par une approche protéomique. Université de Grenoble, France, 341 p.

U

- **Ungeller D. (2005).** Nanoparticules métalliques anisotropes synthétisées par voie chimique : fils, plaquettes et particules hybrides de cobalt-nickel, propriétés structurales et magnétiques fils d'argent auto-organisés.

V

- **Van Houten J., & Preston R.R. (1988).** Chemokinesis. In: Görtz H. D. (ed.): *Paramecium*. Springer, Berlin, Heidelberg. pp. 282–300.
- **Venkateswara J.R., Srikanth K., Arepalli S.K., & Gunda V.G. (2006).** Toxic effects of acephate on *Paramecium caudatum* with special emphasis on morphology, behaviour, and generation time. *Pestic. Biochem. Physiol*, 86, 131–137.
- **Wang Y., Fang J., Leonard S.S., & Rao K.M.K. (2004).** Cadmium inhibits the electron transfer chain and induces reactive oxygen species. *Free Radic. Biol. Med*, 36, 1434–1443.

- **Wehner., & Gehring. (1995).** Biologie et Physiologie Animales. Bases moléculaires, cellulaires, anatomiques et fonctionnelles : Orientation comparée et évolutive. Deboeck Université. ThiemeVerlag, pp : 286-287.
- **Wei-xian Z. (2003).** Nanoscale Iron Particles for Environmental Remediation: An Overview. *J. Nanoparticle Research*, 5(3): 323.

χ

- **Xiao X., Fan F-RF., Zhou J., & Bard A.J. (2008).** Current transients in single nanoparticle collision events. *J Am Chem Soc* 130:16669–16677.

ψ

- **Yang Y., Wang Y., Westerhoff P., Hristovski K., Jin V.L., & Johnson M-VV., et al. (2014).** Metal and nanoparticle occurrence in biosolid-amended soils. *Sci Total Environ* , 485–486:441–449.

Z

- **Zhu M.T., Feng W.Y., Wang B., Wang T.C., Gu Y.Q., Wang M., Wang Y., Ouyang H., Zhao Y.L., & Chai Z.F. (2008).** Etude comparative des réponses pulmonaires à l'oxyde ferrique de taille nanométrique et submicronique chez le rat. 247(2-3) : 102-111.

Sites internet

- www.inrs.fr. Dossier : nanomatériaux .Vol. 2011.