RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA

RECHERCHE SCIENTIFIQUE UNIVERSIT

LARBI TEBESSI

FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

DOMAINE: Science de la Nature et de la Vie

FILIERE: Sciences Biologiques

OPTION :écophysiologie animal

MEMOIRE : présente en vue de l'obtention de diplôme de MASTER

L'hépatotoxicité d'une nanoparticule (le trichlorure d'antimoine) chez un bioindicateur de la pollution, *Helix aspersa*

Présenté par :

-BOUGUERRA Saker.

-NEBBALI Louai.

Devant le jury :

Dr. BEN HAROUNE Souad	**M.C.B** Université de Tébessa	Présidente
Dr.ROUACHDEIA Roukaia	**M.C.B** Université de Tébessa	Rapporteuse
Dr .BELLAL Warda	**M.C.B** Université de Tébessa	Examinatrice

Année universitaire :2024/2025.

Remerciement

Remerciement

Nous remercions avant

Tout Dieu le tout puissant pour la volonté, la santé et la patience

Qu'il nous a donné durant toutes les longues années d'études

Afin que je puisse arriver là.

Notre reconnaissance, notre vive gratitude et notre sincère remerciement

Vont aussi à ***Mme ROUACHDIA Roukaya***, (MCA) au département de Biologie Animale,

Pour nous avoir dirigé tout au long de la réalisation de ce travail. Ses orientations,

Ses encouragements, sa disponibilité constante c'était inestimable pour nous.

Vous avez su faire partager votre expérience et vous nous avez guidé

Dans le monde de la recherche scientifique. Merci d'avoir cru en moi.

Au président de jury de notre mémoire, ***DR. BEN HAROUNE S (MCB)***

qu'il trouve ici toutes nos expressions respectueuses.

Merci vivement pour vos conseils, pour faire partager votre expérience et de nous guidé pour bien réaliser ce travail scientifique

Je remercie également **Mme. BELLAL W (MAA)** pour avoir accepté de faire partie des membres du jury ; lire et de juger ce travail.

Nous remercions tout le personnel professionnel et administratif de la faculté de biologie pour les efforts déployés en vue d'assurer le service et le développement des étudiants dans l'enseignement supérieur.

Enfin nous remerciements s'adressent a ceux qui ont aidé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Je dédie ce travail

-Avant tout, je rends grâce à Dieu, source de toute sagesse et de toute force. C'est par Sa miséricorde, Sa guidance et Sa lumière que j'ai pu franchir chaque étape de ce parcours. Que ce mémoire soit un humble témoignage de ma reconnaissance envers Lui.

- À mon très cher père AHMED qui grâce à luit je suis arrivé à ce Stade.

- À ma très chère mère lumière de ma vie Dalila source d'amour de Tendresse et soutien éternel.

-À mes frères et à mes sœur : OUSSEMA et Wafa et Samah

Merci pour votre tendresse, vos encouragements et votre soutien, qui m'ont porté(e) même dans les moments les plus difficiles. Vous êtes une source de joie et de motivation dans ma vie.

-À toute ma famille,

Pour votre soutien, vos encouragements et votre bienveillance tout au long de ce chemin.

- -À mes ami(e)s et à mes collègues, ABD RAHIM, SOUHAIB,HAMA,GHADA,DOUAA

Pour vos mots d'encouragement, votre entraide, vos sourires et vos conseils précieux . Merci d'avoir rendu ce parcours plus léger et plus humain.

-Mon binôme, NEBALI LOUAI

Travailler à tes côtés a été une véritable chance. Merci pour ton sérieux, ta patience, ton esprit d'équipe et ta précieuse collaboration. Ce mémoire est le fruit d'un effort commun que je suis fière de partager avec toi.

Saker

Dédicace

Je dédie ce travail

-Avant tout, je rends grâce à Dieu, source de toute sagesse et de toute force. C'est par Sa miséricorde, Sa guidance et Sa lumière que j'ai pu franchir chaque étape de ce parcours. Que ce mémoire soit un humble témoignage de ma reconnaissance envers Lui.

- À mon très cher père N. MOHAMMED mon source dinspiration qui grâce à luit je suis arrivé à ce

Stade.

- À ma très chère mère B. CHAHRAZED la lumière de ma vie source d'amour de Tendresse et soutien éternel.

-À mes frères et à mes sœurs : BAHA, MOUATAZ, ANOUS, OUMAIMA ET RAYEN

Merci pour votre tendresse, vos encouragements et votre soutien, qui m'ont porté(e) même dans les moments les plus difficiles. Vous êtes une source de joie et de motivation dans ma vie.

-À toute ma famille,

Pour votre soutien, vos encouragements et votre bienveillance tout au long de ce chemin.

- -À mes ami(e)s et à mes collègues, G. ADEM, M. OUALA, F HEITHEM, B. MOHAMED, G. LOKMEN, AZZEDINE, B. SOUHAIB ET F. HAMA

Pour vos mots d'encouragement, votre entraide, vos sourires et vos conseils précieux. Merci d'avoir rendu ce parcours plus léger et plus humain.

-Mon binôme, BOUGUERRA SAKR

Travailler à tes côtés a été une véritable chance. Merci pour ton sérieux, ta patience, ton esprit d'équipe et ta précieuse collaboration. Ce mémoire est le fruit d'un effort commun que je suis fière de partager avec toi .

Louai

Sommaire:

1 INTRODUCTION 1
2 Matériel et méthodes : 3
2.1 Matériel biologique *: Helix aspersa (Cornu aspersum)* 3
2.1.1 Classification taxonomique de l'espèce étudiée 3
2.1.2 Description morphologique 4
2.1.3 Répartition géographique et habitat 4
2.1.4 Anatomie et physiologie 4
2.1.5 Reproduction 6
2.1.6 Intérêt scientifique et écologique 6
2.1.7 Critères de sélection des individus 6
2.2 Le matériel chimique : Trichlorure d'antimoine (SbCl 3) 7
2.2.1 Identification et propriétés physico-chimiques 7
2.2.2 Usages industriels 7
2.2.3 Voies d'exposition et devenir dans l'environnement 7
2.2.4 Toxicité et mécanismes d'action 8
2.2.5 Choix de la substance dans le contexte expérimental 8
2.3 Méthodes expérimentales 8
2.3.1 Collecte et acclimatation 8
2.3.2 Préparation des doses et mode d'exposition 9
2.3.3 Organisation expérimentale et suivi 9
2.3.4 Dissection et prélèvement des organes 9
2.4 Paramètres étudiés 10
2.4.1 Surveillance du poids 10
2.4.2 Extraction et dosage des métabolites 10
2.4.3 Dosage des métabolites 12
2.4.4 Analyse statistique : 17
3 Résultats : 18
3.1 Effets du Trichlorure d'antimoine sur le poids corporel 18
3.2 Effets du Trichlorure d'antimoine sur les métabolites 19
A/sur le taux des protéines totales 19
B/ sur le taux des Glucides : 20

C/ sur le taux des lipides : 21
3.3 Effet du Trichlorure d'antimoine sur le taux des biomarqueurs du stress oxydant : 22
3.3.1 Effet sur le taux du glutathion réduit (GSH) : 22
3.3.2 Effets sur la Glutation S-transferase (GST) : 23
4 Discussion 24
4.1 Étude de l'effet du $SbCl_3$ sur le poids corporel : 24
4.2 Analyse des variations des protéines hépatiques sous l'effet du $SbCl_3$ 25
4.3 Variation de la teneur en glucides hépatiques chez *Helix aspersa* exposé au $SbCl_3$ 26
4.4 Effet du $SbCl_3$ sur les teneurs en lipides totaux 26
4.5 Effet du $SbCl_3$ sur le glutathion réduit (GSH) 27
4.5 Effet du $SbCl_3$ sur l'activité de la Glutathion-S-transférase (GST 28
5 Conclusion : 30
6 Références bibliographiques : 31

Liste des tableaux :

Tableau 1 : Réalisation de la gamme d'étalonnage des protéines (méthode de **Bradford**) **p. 13**
Tableau 2 : Réalisation de la gamme d'étalonnage des glucides (méthode de **Duchateau & Florkin**) **p. 14**
Tableau 3 : Réalisation de la gamme d'étalonnage des lipides (méthode de **Goldsworthy *et al*.**) **p. 15**

Liste d'abréviations :

Abréviation	Signification
SbCl	Trichlorure d'antimoine
GSH	Glutathion réduit
GST	Glutathion S-transferase
TCA	Acide trichloracétique
BSA	Albumine de sérum bovin
BBC	Bleu brillant Coomassie
ANOVA	Analyse de la variance
ROS (ERO)	Espèces réactives de l'oxygène
m ± s	Moyenne ± écart-type
UV-Vis	Spectrophotométrie dans l'ultraviolet-visible
HEP	Hépatopancréas

Liste des figures :

Figure 1 : Helix aspersa, modèle biologique en écophysiologie et toxicologie environnementale **p. 3**
Figure 2 : Helix aspersa (Cornu aspersum) **p. 3**
Figure 3 : Anatomie externe de l'escargot **p. 5**
Figure 4 : Structure moléculaire et photo du trichlorure d'antimoine ($SbCl_3$) **p. 7**
Figure 5 : Dispositif d'élevage de Helix aspersa en laboratoire **p. 9**
Figure 6 : Anesthésie par congélation et dissection des spécimens pour la préparation des échantillons biologiques **p. 10**
Figure 7 : Pesée et conditionnement des hépatopancréas pour les analyses biochimiques **p. 11**
Figure 8 : Étapes de fractionnement biochimique des composés cellulaires **p. 12**
Figure 9 : Droite de régression : absorbance vs. quantité d'albumine **p. 13**
Figure 10 : Droite de régression : absorbance vs. glucose **p. 14**
Figure 11 : Droite de régression : absorbance vs. lipides **p. 15**
Figure 12 : Variation du poids corporel de Helix aspersa (30 jours d'exposition) **p. 18**
Figure 13 : Teneur en protéines hépatiques chez Helix aspersa exposé au $SbCl_3$ **p. 19**
Figure 14 : Teneur en glucides hépatiques chez Helix aspersa exposé au $SbCl_3$ **p. 20**
Figure 15 : Teneur en lipides hépatiques chez Helix aspersa exposé au $SbCl_3$ **p. 21**
Figure 16 : Teneur en glutathion réduit (GSH) chez Helix aspersa **p. 22**
Figure 17 : Activité de la glutathion-S-transférase (GST) chez Helix aspersa **p. 23**

ملخص:

يُعد تلوّث النظم البيئية الأرضية بالمعادن الثقيلة من أبرز التحديات البيئية، لا سيما مع التوسع الصناعي في استخدام مركّبات معدنية مثل ثلاثي كلوريد الأنتيمون .($SbCl_3$) تهدف هذه الدراسة إلى تقييم التأثيرات الفسيولوجية والبيوكيميائية لهذه المادة الخارجية على البزّاقة الأرضية *Helix aspersa*، باعتبارها كائناً حيوياً مؤشّراً على تلوّث التربة. تم تقسيم أربعين فرداً بالغاً إلى مجموعات ضابطة ومعالجة، وتم تعريضها غذائياً لجرعتين من $SbCl_3$ لمدة 15 و30 يوماً. في نهاية التجربة، تم استخراج نسيج الكبد البنكرياسي (hepatopancreas)لإجراء تحاليل بيوكيميائية شملت محتوى البروتينات، والدهون، والسكريات، بالإضافة إلى قياس تركيز الغلوتاثيون المختزل (GSH) ونشاط إنزيم الغلوتاثيون-إس-ترانسفيراز.(GST)

أظهرت النتائج تغيّرات ملحوظة حسب الجرعة ومدة التعرض. لوحظت زيادة في مستويات البروتينات والسكريات، مما يشير إلى اضطراب استقلابي محتمل. كشف تحليل GSH عن تنشيط للاستجابة المضادة للأكسدة على المدى القصير، تلاه انخفاض واضح في حال الجرعة المرتفعة والتعرض الطويل. أما نشاط GST فقد أظهر تنظيمًا معقدًا، تمثل في تنشيط مبدئي تبعه تثبيط على المدى البعيد، خاصةً عند الجرعة الثانية. وتدعم هذه النتائج تحاليل إحصائية دقيقة ANOVA) أحادي وثنائي العامل(، أظهرت تأثيرات معنوية للزمن والجرعة على عدة مؤشرات.

تؤكد هذه الدراسة حساسية *Helix aspersa*تجاه ثلاثي كلوريد الأنتيموان، وتبرز دوره كمؤشر حيوي فعال في علم السموم البيئي الأرضي. كما تسلط الضوء على أهمية دمج المقاربات البيوكيميائية للكشف المبكر عن تأثيرات الملوثات.

الكلمات المفتاحية*Helix aspersa* **:**، جسيم نانوي، ثلاثي كلوريد الأنتيموان، مؤشرات حيوية، إجهاد تأكسدي، GSH، GST، علم السموم البيئي الأرضي، مؤشر حيوي.

Résumé

La contamination des écosystèmes terrestres par les nanoparticules représente un enjeu écologique majeur, en particulier dans le contexte croissant de l'utilisation industrielle de composés métalliques tels que le trichlorure d'antimoine ($SbCl_3$). Ce travail a pour objectif d'évaluer les effets biochimiques et physiologiques de ce xénobiotique sur le gastéropode terrestre *Helix aspersa,* utilisé comme bioindicateur de la pollution du sol. Quarante individus adultes ont été répartis en groupes témoins et traités, exposés par voie orale à deux doses de SbCl pendant 15 et 30 jours. À l'issue de l'expérimentation, les hépatopancréas ont été prélevés pour réaliser des dosages biochimiques portant sur les protéines, les lipides et les glucides et deux biomarqueurs du stress oxydatif : le glutathion réduit (GSH) et l'activité de la glutathion-S-transférase (GST).

Les résultats obtenus montrent des variations significatives en fonction de la dose et de la durée d'exposition. Une augmentation des taux de protéines et de glucides a été observée, traduisant une perturbation métabolique probable. L'analyse du GSH révèle une activation de la réponse antioxydante à court terme, suivie d'une déplétion à long terme à dose élevée. L'activité de la GST, quant à elle, présente une modulation complexe, marquée par une activation initiale suivie d'une inhibition à long terme, en particulier à la dose 2. Ces résultats sont soutenus par des analyses statistiques rigoureuses (ANOVA à un et a deux facteurs), qui mettent en évidence des effets significatifs du temps et de la dose pour plusieurs paramètres.

Ce travail confirme la sensibilité d'*Helix aspersa* au trichlorure d'antimoine et son utilité comme bioindicateur pertinent en écotoxicologie terrestre. Il souligne également l'intérêt d'intégrer des approches biochimiques pour détecter précocement les effets des polluants.

Mots clés :

Helix aspersa, Nanoparticule, trichlorure d'antimoine, biomarqueurs, stress oxydatif, GSH, GST, écotoxicologie terrestre, bioindicateur.

Abstract :

The contamination of terrestrial ecosystems by nanoparticles represents a major ecological concern, particularly in the context of the increasing industrial use of metallic compounds such as antimony trichloride ($SbCl_3$). This study aims to assess the biochemical and physiological effects of this xenobiotic on the terrestrial gastropod *Helix aspersa*, used as a bioindicator of soil pollution. Forty adult individuals were divided into control and treated groups, exposed orally to two doses of SbCl for 15 and 30 days. At the end of the experiment, the hepatopancreas was sampled for biochemical assays targeting proteins, lipids, and carbohydrates, along with two oxidative stress biomarkers: reduced glutathione (GSH) and glutathione-S-transferase (GST) activity.

The results show significant variations depending on the dose and duration of exposure. An increase in protein and carbohydrate levels was observed, indicating a probable metabolic disruption. GSH analysis revealed a short-term activation of the antioxidant response, followed by a depletion at higher dose and longer exposure. GST activity showed a complex modulation, with initial activation followed by long-term inhibition, especially at dose 2. These results are supported by rigorous statistical analyses (one-way and two-way ANOVA), highlighting significant effects of both time and dose on several parameters.

This study confirms the sensitivity of *Helix aspersa* to antimony trichloride and its relevance as an effective bioindicator in terrestrial ecotoxicology. It also emphasizes the value of incorporating biochemical approaches for early detection of pollutant effects.

Keywords: *Helix aspersa*, Nanoparticle, Antimony trichloride, Biomarkers, Oxidative stress, GSH, GST, Terrestrial ecotoxicology, Bioindicator.



Introduction

1 INTRODUCTION

La pollution de l'environnement constitue l'un des défis majeurs auxquels notre planète est confrontée au XXIe siècle. L'essor de l'industrialisation, l'utilisation massive de pesticides, de métaux lourds, de nanoparticules et de produits chimiques toxiques ont entraîné une dégradation alarmante de la qualité des écosystèmes, menaçant la biodiversité et la santé des organismes vivants, y compris l'être humain. Parmi ces contaminants, les métaux lourds et les nanoparticules occupent une place préoccupante en raison de leur persistance, leur bioaccumulation, leur bioconcentration et leurs effets toxiques chroniques sur les organismes biologiques (**Ali *et al.*, 2019**).

Les écosystèmes terrestres, tout comme les milieux aquatiques, sont fortement impactés par la contamination chimique. La santé des écosystèmes est mise à mal par ces intrusions toxiques. Les sols, par exemple, peuvent devenir des réservoirs de polluants susceptibles de s'accumuler dans les chaînes alimentaires. Dans ce contexte, il devient primordial d'identifier des indicateurs biologiques capables de refléter l'état de contamination de l'environnement. Les bioindicateurs, tels que les mollusques gastéropodes terrestres, sont de précieux outils pour la surveillance environnementale, notamment à travers des bioessais permettant d'évaluer la toxicité des polluants.

Helix aspersa, un escargot terrestre largement répandu en Europe et en Afrique du Nord, est reconnu comme un excellent bioindicateur de la pollution des sols. Sa capacité à accumuler les contaminants présents dans son environnement, combinée à une sensibilité physiologique marquée, en fait un modèle biologique privilégié pour les études de toxicologie environnementale et d'écophysiologie (**Dallinger *et al.*, 2001**).

Le trichlorure d'antimoine ($SbCl_3$) est un composé métallique largement utilisé dans l'industrie, notamment dans la fabrication de retardateurs de flamme, de matériaux électroniques et de pigments (**Filella & May, 2003**). Il présente une forte toxicité, même à faibles concentrations, et est connu pour induire des effets cytotoxiques, génotoxiques et perturbateurs du métabolisme chez différents organismes (**Gebel, 1997**). En raison de sa nature persistante et de sa faible biodégradabilité, le $SbCl_3$ peut s'accumuler dans les organismes et affecter les fonctions cellulaires, provoquant stress oxydatif, perturbation enzymatique, et dysfonctionnements physiologiques (**Yu *et al.*, 2022**).

L'étude de la toxicité du $SbCl_3$ chez des espèces bioindicatrices comme *Helix aspersa* est donc essentielle pour mieux comprendre son impact environnemental et sanitaire. L'usage de nouvelles méthodes, notamment physicochimiques, combinées aux bioessais biologiques, permet d'approfondir l'évaluation de la pollution environnementale.

Problématique

Comment l'exposition au trichlorure d'antimoine affecte-t-elle les paramètres physiologiques et biochimiques chez *Helix aspersa*, et dans quelle mesure peut-on considérer cette espèce comme un indicateur fiable de la pollution métallique du sol ?

Objectifs

Évaluer les effets toxiques du $SbCl_3$ sur *Helix aspersa* en conditions expérimentales.

Étudier les variations du poids corporel et des réserves énergétiques (protéines, lipides, glucides).

Analyser l'impact du polluant sur les marqueurs de stress oxydatif, notamment l'activité du glutathion réduit (GSH) et de la glutathion S-transférase (GST).

Confirmer l'intérêt de *Helix aspersa* comme bioindicateur de pollution métallique. Intérêt de l'étude

Cette étude s'inscrit dans une démarche de biosurveillance des milieux contaminés, et vise à enrichir les connaissances sur les effets écotoxicologiques du $SbCl_3$ chez un organisme sentinelle. Les résultats obtenus permettront de mieux comprendre les mécanismes physiopathologiques induits par les métaux lourds et les nanoparticules, et d'orienter les stratégies de gestion des risques environnementaux.

Ce mémoire s'articule autour de plusieurs parties :

Une présentation du matériel et des méthodes expérimentales utilisées.

Une analyse des résultats obtenus suivie d'une discussion comparative avec les travaux antérieurs.

Une conclusion synthétique mettant en évidence les apports et les perspectives de cette recherche.



Matériel et Méthodes

2 Matériel et méthodes :

2.1 Matériel biologique *: Helix aspersa (Cornu aspersum)*

2.1.1 Classification taxonomique de l'espèce étudiée



Figure1: *Helix aspersa*, modèle biologique en écophysiologie et toxicologie environnementale. (Wikipédia)

L'espèce utilisée dans cette étude est un mollusque gastéropode terrestre appartenant à la classification suivante :

- **Règne** : *Animalia*
- **Embranchement** : *Mollusca*
- **Classe** : *Gastropoda*
- **Ordre** : *Stylommatophora*
- **Famille** : *Helicidae*
- **Genre** : *Cornu*
- **Espèce** : *Cornu aspersum* (anciennement *Helix aspersa*)



Figure 02 . *HELIX ASPERSA (CORNU ASPERSUN) Photo personnelle 23 /02/2025*

Cette classification reflète la position systématique actuelle de l'espèce, désormais désignée sous le nom de *Cornu asperseur* à la suite de révisions taxonomiques récentes (Heller, 2001).

2.1.2 Description morphologique

Cornu asperseur est un escargot terrestre de taille moyenne, facilement reconnaissable à sa coquille spiralée, dont la couleur varie du brun clair au brun foncé, avec des bandes plus sombres. Les spécimens adultes présentent une coquille mesurant entre 25 et 40 mm de diamètre, avec un épaississement net du bord de l'ouverture, indicateur de maturité sexuelle (Gomot,1998).

L'animal possède deux paires de tentacules : la paire supérieure porte les yeux, tandis que la paire inférieure est impliquée dans les fonctions sensorielles et tactiles. Il produit un mucus qui joue un rôle important dans la locomotion, l'adhérence, et la défense contre les agents pathogènes.

2.1.3 Répartition géographique et habitat

Cornu aspersum est une espèce largement répandue dans les régions tempérées, notamment en Europe de l'Ouest, en Afrique du Nord et dans le bassin méditerranéen (Dallinger & Rainbow, 1993). Elle s'adapte à une grande variété d'habitats : prairies, jardins, zones agricoles, forêts ouvertes et milieux urbains.

L'espèce est capable de survivre à des conditions climatiques défavorables en entrant en hibernation pendant l'hiver ou en estivation en été, en fonction des variations saisonnières (Heller, 2001).

2.1.4 Anatomie et physiologie

Sur le plan anatomique, *H. aspersa* présente un corps mou protégé par une coquille calcaire spiralée. Il se compose de trois régions principales : la tête (portant les tentacules et les organes sensoriels), le pied (organe locomoteur) et le manteau (impliqué dans la sécrétion de la coquille). L'animal possède un système circulatoire ouvert**,** un système respiratoire pulmonaire**,** et un appareil digestif complet**.**

Le principal organe ciblé dans cette étude est l'hépatopancréas, structure multifonctionnelle jouant à la fois le rôle de foie et de pancréas. Il est impliqué dans:

- la digestion enzymatique,
- le métabolisme des macromolecules (protéines, lipides, glucides)
- le stockage des réserves,

- et la détoxification des substances exogènes, y compris les métaux lourds (Lowe & Thompson, 1995).

Cette richesse fonctionnelle fait de l'hépatopancréas un **organe cible de choix** pour l'analyse des effets biochimiques du trichlorure d'antimoine ($SbCl_3$).

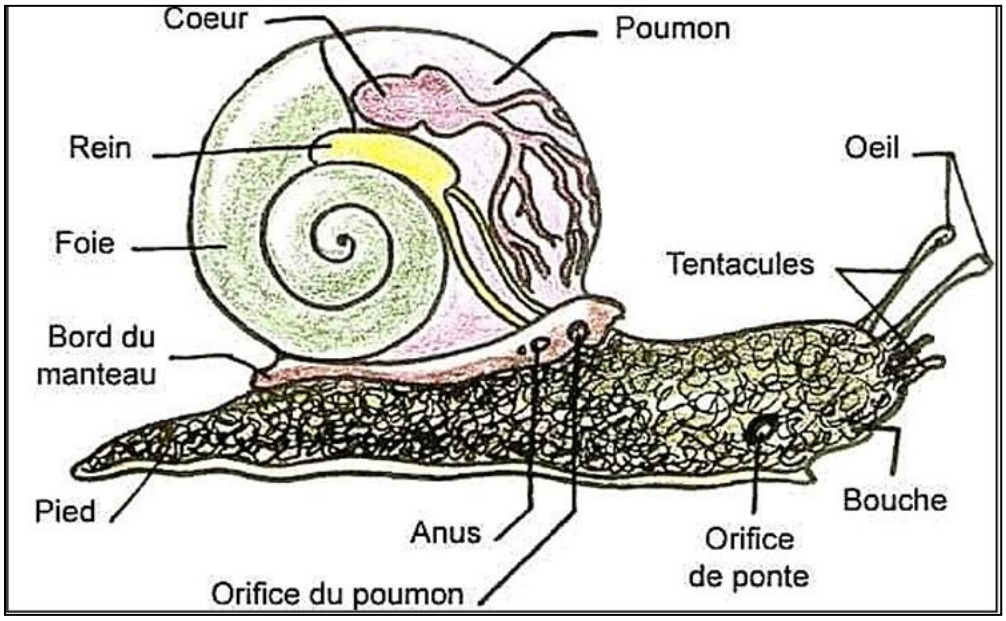


Figure 3 : Anatomie externe de l'escargot **(Bonnet, 1990).**

2.1.5 Reproduction

Helix aspersa, comme la plupart des gastéropodes pulmonés terrestres, est une espèce hermaphrodite simultanée, c'est-à-dire que chaque individu possède à la fois des organes reproducteurs mâles et femelles fonctionnels. Malgré cela, la reproduction se fait généralement par copulation croisée, durant laquelle deux individus échangent leur sperme réciproquement.

Le système reproducteur est composé de plusieurs organes spécialisés : l'ovotestis (ou gonade mixte), le canal hermaphrodite, le réservoir spermatique, la bourse copulatrice, et le gland albumineux. L'accouplement, souvent précédé d'un long comportement de parade, dure plusieurs heures et se termine par l'échange de spermatophores (paquets de spermatozoïdes).

Après fécondation interne, l'escargot pond généralement de 40 à 100 œufs dans le sol, dans une cavité qu'il creuse lui-même. La ponte et le développement embryonnaire sont fortement influencés par des facteurs environnementaux tels que la température, l'humidité du sol, et la photopériode (Tompa, 1984 ; Gomot, 1998).

En conditions contrôlées, la maîtrise de ces paramètres est essentielle pour maintenir la reproduction en captivité, notamment dans le cadre d'études toxicologiques ou écophysiologiques.

2.1.6 Intérêt scientifique et écologique

Grâce à sa capacité à bioaccumuler divers polluants environnementaux, tels que les métaux lourds et les composés organiques persistants, *Cornu aspersum* est considéré comme un excellent bioindicateur en écotoxicologie. Sa sensibilité à la contamination des sols et de la végétation permet d'évaluer l'impact des substances toxiques sur les écosystèmes terrestres **(Itziou *et al.*, 2019).** De plus, son système digestif bien développé, notamment la portion hépatique (foie digestif), constitue un modèle idéal pour les analyses biochimiques et histopathologiques **(Elangovan *et al.*, 2022).**

2.1.7 Critères de sélection des individus

Dans le cadre de cette étude, seuls des spécimens adultes ont été sélectionnés, reconnaissables par la présence d'un large rebord autour de l'ouverture de la coquille. Les escargots ont été collectés manuellement au printemps, dans un site herbacé de la région de Guelma (Nord-Est de l'Algérie),

caractérisé par une végétation naturelle dense et un faible niveau de perturbation anthropique. Cette période correspond à la phase d'activité maximale de l'espèce.

2.2 Le matériel chimique : Trichlorure d'antimoine (SbCl 3)

2.2.1 Identification et propriétés physico-chimiques

Le trichlorure d'antimoine (formule chimique : $SbCl_3$) est un composé inorganique de l'antimoine, appartenant à la classe des halogénures métalliques (fig4). À température ambiante, il se présente sous forme de cristaux incolores à légèrement jaunâtres, hygroscopiques, et dégage une forte odeur piquante lorsqu'il est exposé à l'humidité (PubChem,2023). Il est très soluble dans les solvants organiques (éthanol, chloroforme) et réagit violemment avec l'eau en libérant de l'acide chlorhydrique (HCl) (ATSDR, 2022).

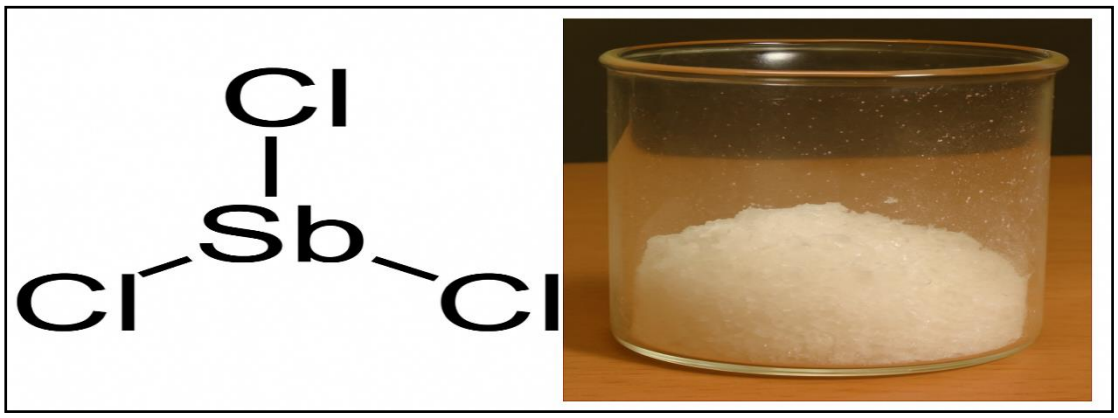


Figure 4: Structure moléculaire et photo du trichlorure d'antimoine ($SbCl_3$) Adapté à des fins scientifiques à partir de bases de données chimiques libres (ex : PubChem).

2.2.2 Usages industriels

Le $SbCl_3$ est largement utilisé dans l'industrie chimique comme catalyseur, agent de dopage dans les semi-conducteurs, stabilisant de plastiques ou encore comme réactif dans les synthèses organiques (IARC, 2021). Il est aussi présent dans certains traitements ignifuges, ce qui le rend potentiellement libérable dans l'environnement en cas d'incinération ou de dégradation de matériaux (Wu & Song, 2020).

2.2.3 Voies d'exposition et devenir dans l'environnement

Dans l'environnement, le trichlorure d'antimoine est instable en présence d'humidité et se transforme rapidement en oxychlorures et en acide antimoinieux. L'antimoine (Sb) libéré peut s'accumuler dans les sols, les eaux et les organismes vivants **(Filella *et al.*, 2002)**. Les voies principales

d'exposition chez les organismes terrestres sont l'ingestion de particules contaminées, le contact cutané, et l'absorption par les tissus muqueux **(He *et al.*, 2012).**

2.2.4 Toxicité et mécanismes d'action

Le $SbCl_3$ est classé parmi les substances toxiques, avec des effets documentés sur la peau, les voies respiratoires, le foie et les reins. Chez les invertébrés terrestres, comme les gastéropodes, l'antimoine provoque un stress oxydatif, une perturbation des fonctions hépatiques et une altération du métabolisme cellulaire (**Filella *et al.*, 2002 ; He *et al.*, 2012**). Il interfère également avec l'activité enzymatique hépatique, notamment via la génération de radicaux libres et l'inhibition des enzymes antioxydantes (**Wu & Song, 2020**).

2.2.5 Choix de la substance dans le contexte expérimental

Le trichlorure d'antimoine a été choisi pour cette étude en raison de sa toxicité avérée, de sa présence croissante dans l'environnement liée aux activités industrielles, et de l'absence de nombreuses données écotoxicologiques concernant son impact sur les bioindicateurs terrestres comme *Helix aspersa*. L'objectif est donc de mieux comprendre ses effets hépatiques chez les gastéropodes, dans une optique de biosurveillance des milieux contaminés.

2.3 Méthodes expérimentales

2.3.1 Collecte et acclimatation

Les spécimens adultes de *Helix aspersa* ont été collectés manuellement au printemps dans une zone herbacée peu anthropisée de la région de Guelma (nord-est de l'Algérie). La sélection s'est faite sur des individus en bon état physiologique, avec un poids compris entre 8 et 12 g et une coquille intacte. Avant leur exposition, les escargots ont été maintenus en phase d'acclimatation au laboratoire pendant 7 jours. Les conditions d'élevage étaient les suivantes : température ambiante (20 ± 2 °C), humidité régulée à l'aide d'éponges imbibées d'eau, photopériode naturelle, et alimentation standardisée à base de farine de blé humidifiée (**Kammoun *et al.*, 2024 ; Haddad *et al.*, 2025**).



Figure 5 : Dispositif d'élevage de l'espèce *Helix aspersa en* laboratoire. (Photos personelle , 2025).

2.3.2 Préparation des doses et mode d'exposition

Nous avons retenu deux doses de trichlorure d'antimoine et un milieu témoin . Les escargots sont repartis en 3 lots de 16 escargots pour chaque traitement. les périodes du traitement sont :15 et 30 jours . L'antimoine est ajoute a la nourriture

- **Dose 1** : 10000µg/ g farine
- **Dose 2** : 20000µg/ g farine

L'administration s'est faite trois fois par semaine (dimanche, mardi, jeudi), selon les groupes expérimentaux. Ce mode d'exposition s'inspire de travaux antérieurs ayant démontré l'efficacité de la voie orale chez les gastéropodes pour étudier la toxicité de contaminants environnementaux **(Benhassine *et al.*, 2024**).

2.3.3 Organisation expérimentale et suivi

- Les 40 escargots ont été répartis en trois groupes (n = 8) :
- Un lot témoin non traité
- Un lot traité par la dose 1
- Un lot traité par la dose 2

2.3.4 Dissection et prélèvement des organes

Après chaque période de traitement (15 et 30jours), les escargots sont mis à jeun pendant 48 heures afin que le contenu de leur tube digestif soit vide. Ceci évite d'éventuelles interférences entre les contaminants présents dans l'aliment ingéré et les quantités de contaminants réellement accumulées

dans les tissus. Les boîtes où ils jeûnent sont lavées à l'eau pour éviter la réingestion des fèces **(Coeurdassier., 2001).** Après chaque période de traitement les animaux sont sacrifiés par congélation à -20°C puis disséqués, les coquilles sont enlevées, l'hépatopancréas a été excisé, lavés avec l'eau physiologique. **(Coeurdassier., 2001)**



Figure 6 : Anesthésie par congélation et dissection des spécimens d'*Helix aspersa* pour la préparation des échantillons biologiques (photo personnelle, 2025).

2.4 Paramètres étudiés

2.4.1 Surveillance du poids

Le poids frais de l'escargot est mesuré à l'aide d'une balance de précision. La perte de poids a été utilisée comme indicateur de stress physiologique et de toxicité chronique **(Rodriguez *et al.*, 2024)**. Les pesées sont toujours effectuées avant le nettoyage de l'enceinte d'essai **(Grara *et al*, 2012).**

2.4.2 Extraction et dosage des métabolites

L'extraction des différents métabolites (protéines totales, lipides totaux et glucides totaux) à été réalisée selon le procédé de (**Shibko S., *et al.*, 1966)** sur un fragment (200 mg) de l'hépatopancréas prélevé et conservé dans 1ml d'acide trichloracétique (TCA) à 20 % et broyés. Après une première centrifugation (5000 trs/mn à 4°C, 10 mn), le surnageant I obtenu est utilisé pour le dosage des glucides totaux. Au culot I, on ajoute 1ml du mélange éther/chloroforme (1V/1V) et après une seconde centrifugation (5000 trs/mn, 10mn), on obtient le surnageant II et le culot II, le surnageant II il sera utilisé pour le dosage des lipides totaux et le culot II pour le dosage des protéines. Les taux des différents métabolites de l'hépatopancréas ont été quantifiés grâce aux équations des droites de régression déterminées à partir des courbes d'étalonnage (Fig.7et 8).



Figure 7 : Pesée et conditionnement des hépatopancréas pour les analyses biochimiques (Photo personnelle, 2025) .

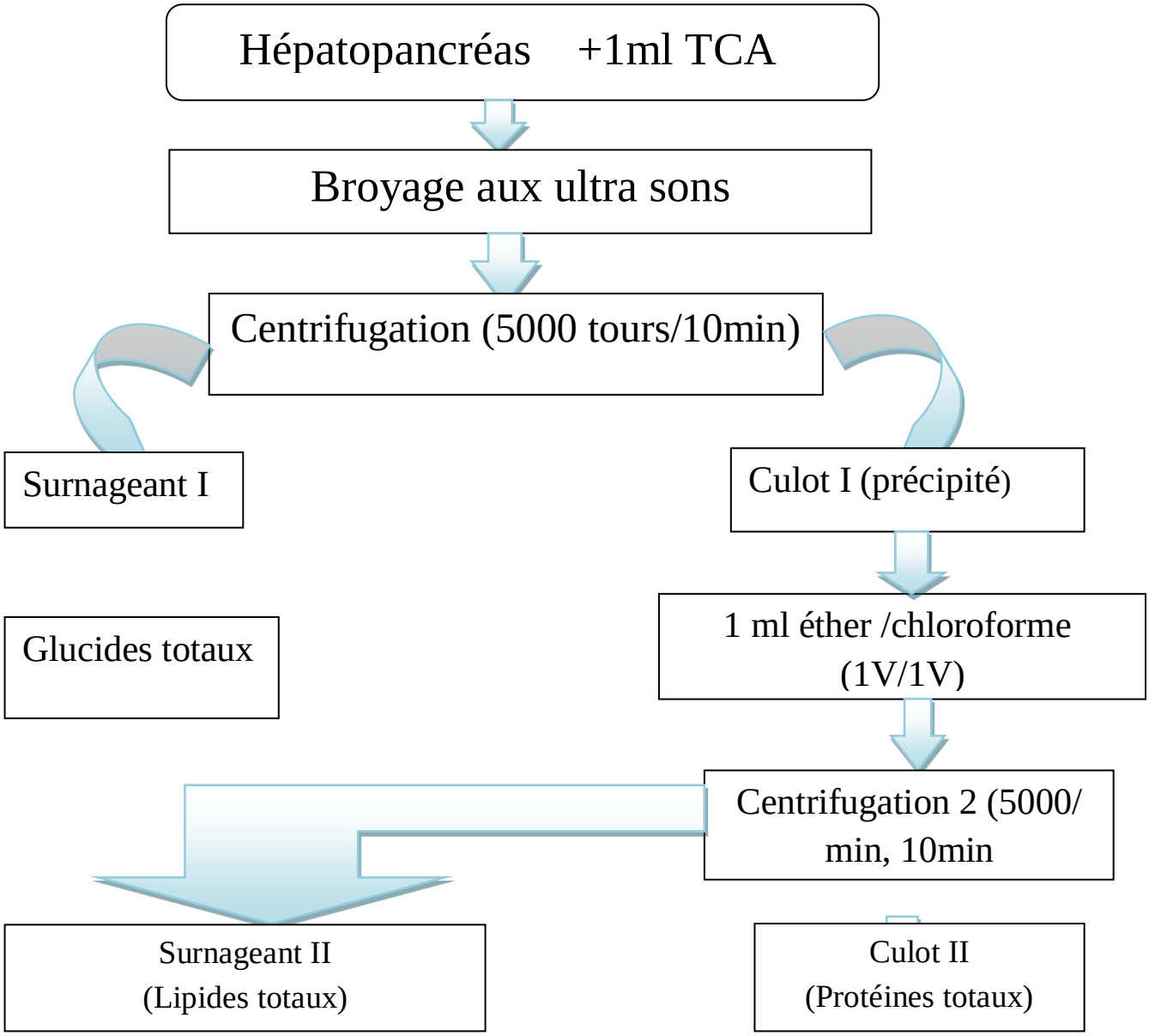


Figure 8 : Étapes de fractionnement biochimique des composés cellulaires (protéines, glucides et lipides)

2.4.3 Dosage des métabolites

2.4.3.1 Dosage des protéines totales

Principe

- Les protéines contenues dans les hépatopancréas ont été quantifiées selon la méthode de **Bradford M M., (1976)** qui utilise le bleu brillant de Coomassie G 250 (BBC) comme réactif et l'albumine de sérum de boeuf (BSA) comme standard.
- Le dosage des protéines a été effectué dans une fraction aliquote (100µl). Les absorbances ont été obtenues grâce à un spectrophotomètre et la lecture a été réalisée à une longueur d'onde de 595nm contre un blanc de gamme.

Tableau1 : réalisation de la gamme d'étalonnage.

Paramètre	Blanc	Tube 1	Tube 2	Tube 3	Tube 4	Tube 5
Volume d'al d					**80**	**100**
Ea					20	0
Ré					**4**	**4**
Quan					80	100
				2	**0,447**	**0,652**

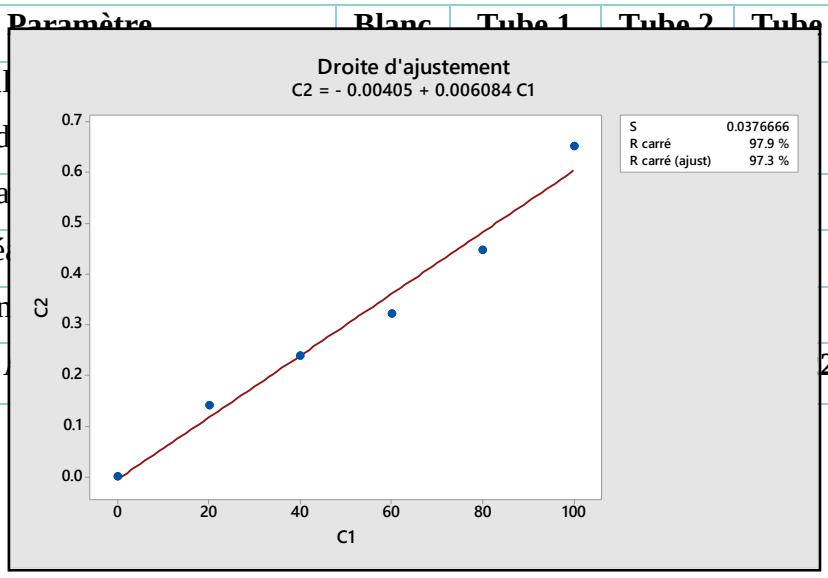


Figure 9 : Droite de régression exprimant l'absorbance en fonction de la quantité d'albumine (µg) (R^2 : coefficient de détermination)

2.4.3.2 Dosage des glucides totaux

Principe

Le dosage des glucides totaux repose sur la méthode colorimétrique de Duchateau et Florkin (1959), utilisant le réactif à l'anthrone. En milieu acide sulfurique concentré, les sucres réagissent avec l'anthrone pour former un complexe coloré bleu-vert, dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en glucides. La lecture se fait par spectrophotométrie à 620 nm**.**

Tableau2 : réalisation de la gamme d'étalonnage

Paramètre	Blanc	Tube 1	Tube 2	Tube 3	Tube 4	Tube 5
Glucose (µl)	**0**	**20**	**40**	**60**	**80**	**100**
Eau distillé (µl)	**100**	**80**	**60**	**40**	**20**	**0**
Anthrone (ml)	**4**	**4**	**4**	**4**	**4**	**4**
Absorbance	**0**	**0.098**	**0.289**	**0.323**	**0.707**	**0.856**

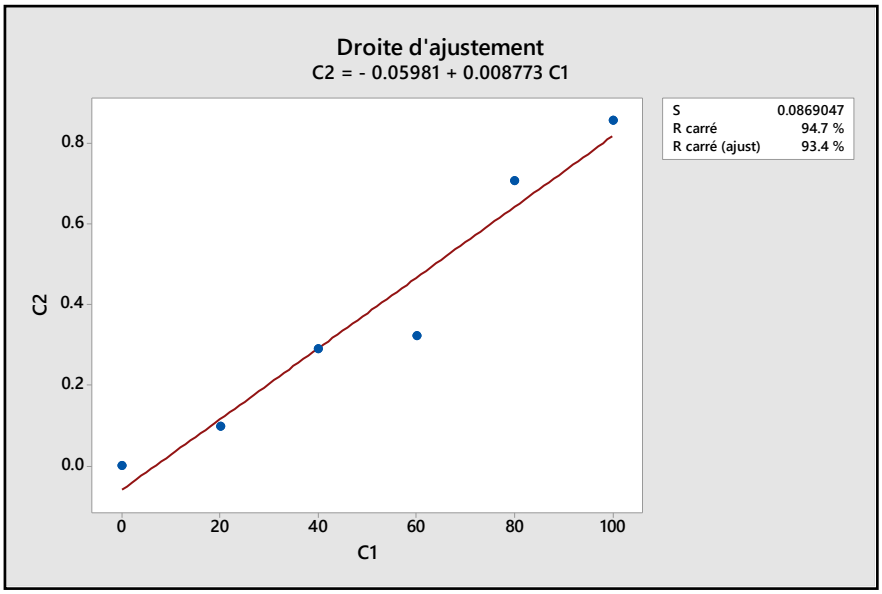


Figure10 : Droite de régression exprimant l'absorbance en fonction de la quantité du Glucose (µg) (R^2 : coefficient de détermination)

2.4.3.3 Dosage des lipides totaux

Principe

Le dosage des lipides totaux est réalisé selon la méthode de Goldsworthy *et al*., (1972) utilisant le réactif sulfo-phospho-vanillinique**.** Cette méthode repose sur la formation d'un complexe coloré rose après sulfonation des lipides par l'acide sulfurique chaud, suivie de leur réaction avec la vanilline en milieu orthophosphorique. L'intensité colorimétrique mesurée à 530 nm est proportionnelle à la teneur en lipides.

Tableau3 : réalisation de la gamme d'étalonnage

Paramètre	Blanc	Tube 1	Tube 2	Tube 3	Tube 4	Tube 5
Solution mère de lipides (µl)	**0**	**20**	**40**	**60**	**80**	**100**
Solvant éther/chloroforme (µl)	**100**	**80**	**60**	**40**	**20**	**0**
Vaniline (ml)	**2.5**	**2.5**	**2.5**	**2.5**	**2.5**	**2.5**
Absorbance	**0**	**0.111**	**0.16**	**0.64**	**0.74**	**0.9**

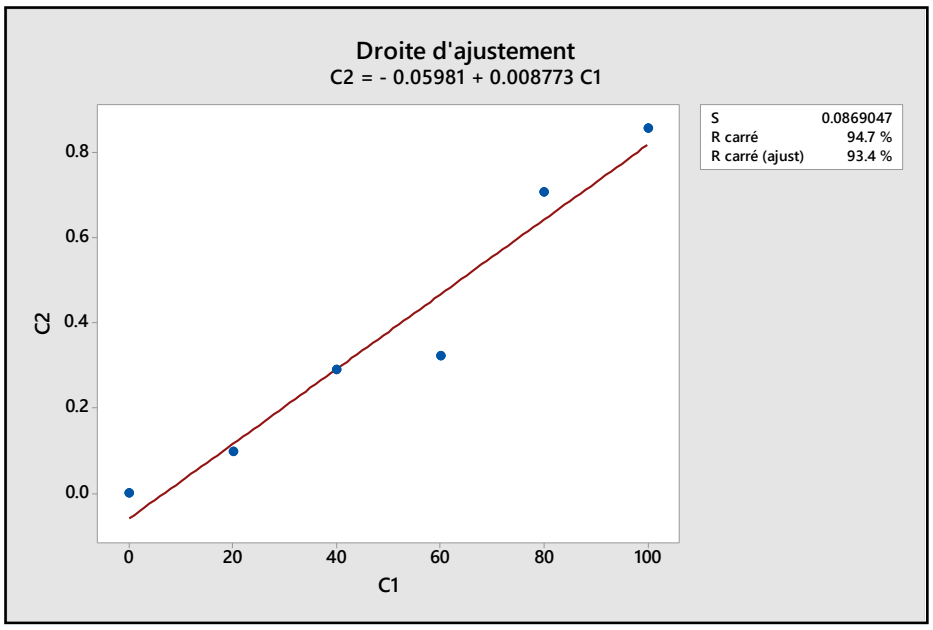


Figure 11: Droite de régression exprimant l'absorbance en fonction de la quantité des lipides (µg) (R^2 : coefficient de détermination)

2.4.3.4 Dosages des indicateurs du stress oxydant

Le stress oxydatif désigne un déséquilibre entre la production d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) telles que le superoxyde, le peroxyde d'hydrogène et les radicaux hydroxyles et la capacité de l'organisme à les neutraliser via ses systèmes de défense antioxydants **(Sies, 2017).**

Ce déséquilibre peut entraîner des dommages moléculaires affectant les lipides, les protéines et l'ADN, menaçant ainsi l'intégrité et la fonctionnalité cellulaire **(Birben *et al.*, 2012).**

Parmi les défenses enzymatiques les plus importantes figurent le glutathion réduit (GSH) et la glutathion-S-transférase (GST)**.** Le GSH est un tripeptide thiolé à fort pouvoir réducteur, agissant comme piège direct des radicaux libres et cofacteur pour de nombreuses réactions enzymatiques de réduction **(Forman *et al.*, 2009).** La GST, quant à elle, catalyse la conjugaison du GSH avec divers composés électrophiles, facilitant leur détoxification et leur élimination **(Hayes *et al.*, 2005)**. L'étude de l'activité de ces deux biomarqueurs constitue un outil précieux pour évaluer l'état de stress oxydatif chez l'organisme exposé à un contaminant. Une diminution du taux de GSH ou une variation de l'activité GST peut refléter une perturbation des mécanismes antioxydants en réponse à une agression toxique (**Valavanidis *et al.*, 2006**) .

2.4.3.5 Dosage de l'activité glutathion-S-transférase (GST)

Principe

La glutathion-S-transférase (GST) est une enzyme impliquée dans la conjugaison du glutathion réduit (GSH) avec des substrats électrophiles tels que le chlorodinitrobenzène (CDNB). Cette réaction forme un complexe conjugué, le glutathion-2,4-dinitrobenzène). dont l'absorbance augmente proportionnellement à l'activité enzymatique et est mesurée à 340 nm. La méthode appliquée est celle décrite par **Habig *et al.* (1974).**

la GST est obtenue par la formule suivante

$$[GST] = \frac{\delta DO/min}{9{,}6} \times \frac{Vt}{Vh \times mg\ de\ protéine}$$

[GST] : micromoles de substrat hydrolysé par minute et par mg de protéines

Δ DO : pente de la droite de régression obtenue après hydrolyse du substrat

9.6 : coefficient d'extinction molaire du CDNB (mM^{-1} cm^{-1})

Vh : volume de l'homogénat (20 µl)

Vt : volume totale de la cuve (1 000 µl)

Mg de protéine : quantité de protéines exprimée en mg

L'activité enzymatique est exprimée en µmol/min/mg de protéines.

Lecture spectrophotométrique

- Mesurer l'absorbance à 340 nm toutes les 15 secondes pendant 1 minute.

2.4.3.6 Dosage du glutathion réduit (GSH)

Principe

Le dosage du glutathion réduit (GSH) repose sur sa réaction avec le DTNB (acide 5,5'-dithiobis(2-nitrobenzoïque)), qui libère un produit coloré, la TNB (5-thio-2-nitrobenzoate), mesurable par spectrophotométrie à 412 nm(Weckberker, G., & Cory, J. G. 1988). L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de GSH présente dans l'échantillon. Cette méthode permet de déterminer la concentration en GSH à l'aide du coefficient d'extinction molaire du TNB, qui est de 13 600 $M^{-1} \cdot cm^{-1}$.

Le taux de GSH est estimé selon la formule suivante :

$$[GSH] = \frac{\Delta DO}{13100} \times \frac{Vd}{Vh} \times \frac{Vt}{Vs} \quad / \; mg\ de\ protéine$$

[GSH] : micromoles de substrat hydrolysé par mg de protéines.

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

13100 : coefficient d'extinction molaire du groupement thiol (*-SH*)

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

Vh : volume de l'homogénat utilisé dans la déprotéinisation : 0,8 ml

Vt : volume total dans la cuve : 1,525 ml

Vs : volume du surnageant dans la cuve : 0,5 ml

Mg de protéine : quantité de protéines exprimée en mg

2.4.4 Analyse statistique :

Les moyennes ± l'écart type (m±s), avec un niveau significatif de $p \leq 0.05$, sont calculées pour chaque groupe d'expérience. Le test Anova a un facteur et Anova a deux facteurs de classification ont permis de mettre en évidence les différences entre les groupes étudiés au cours des tests effectués . Tous les calcules ont été effectués à l'aide du logiciel Prism 2010.



Résultats

3 Résultats :

3.1 Effets du Trichlorure d'antimoine sur le poids corporel

L'analyse ANOVA à un facteur révèle qu'il n'existe aucune différence significative du poids corporel des escargots traités par les deux doses par rapport au témoin.

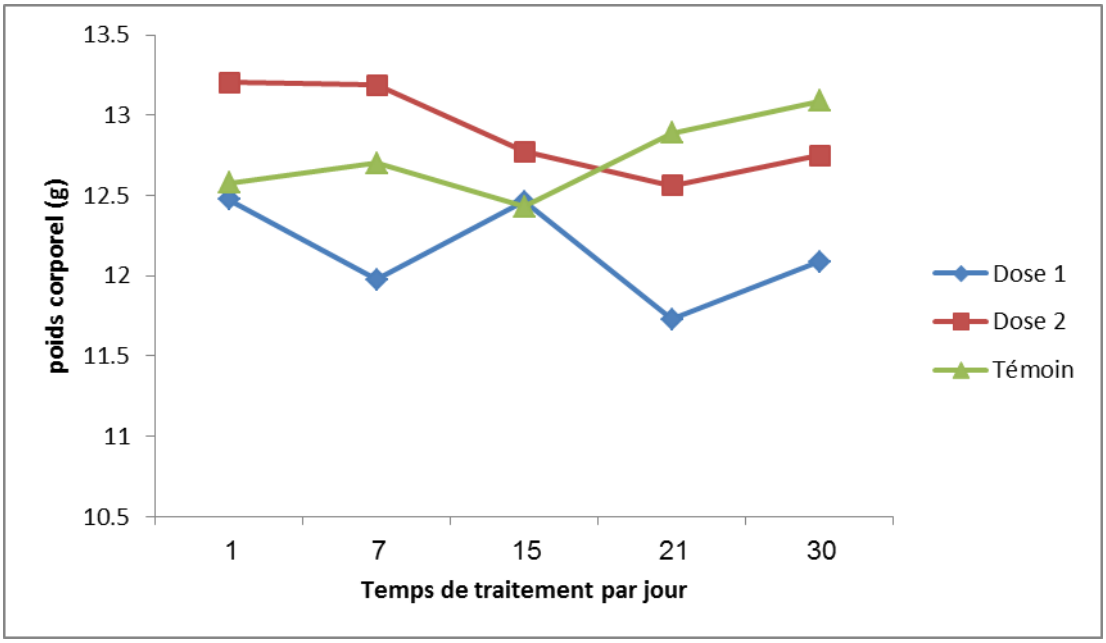


Figure 11 : Variation linéaire du poids corporel des escargots traités et témoins après 30 jours de traitement (m ± s, n = 8) (* Différence significative comparant au témoin (P ≤0,05), ** : Différence hautement significative comparant au témoin (P ≤0,01), *** Différence très hautement significative comparant au témoin (P ≤0,001), P : Seuil de signification)

3.2 Effets du Trichlorure d'antimoine sur les métabolites

A/sur le taux des protéines totales

La figure 12 montre une augmentation significative ($p < 0,05$) du taux des protéines chez *Helix aspersa* après 15 jours d'exposition, par rapport au témoin. En effet, les résultats du test de comparaison multiple de Tukey entre les groupes traités et le groupe témoin indiquent une différence hautement significative ($p < 0,0001$) chez les escargots traités par la dose 2 durant 15j et 30 j.

L'analyse de la variance à deux critères (ANOVA à effets mixtes) révèle un effet du temps très hautement significatif ($p = 0,0014$), traduisant une influence notable de la durée d'exposition sur le métabolisme protéique. En revanche, ni l'effet dose ($p = 0,9461$), ni l'interaction dose × temps ($p = 0,2637$) ne présentent de différences statistiquement significatives.

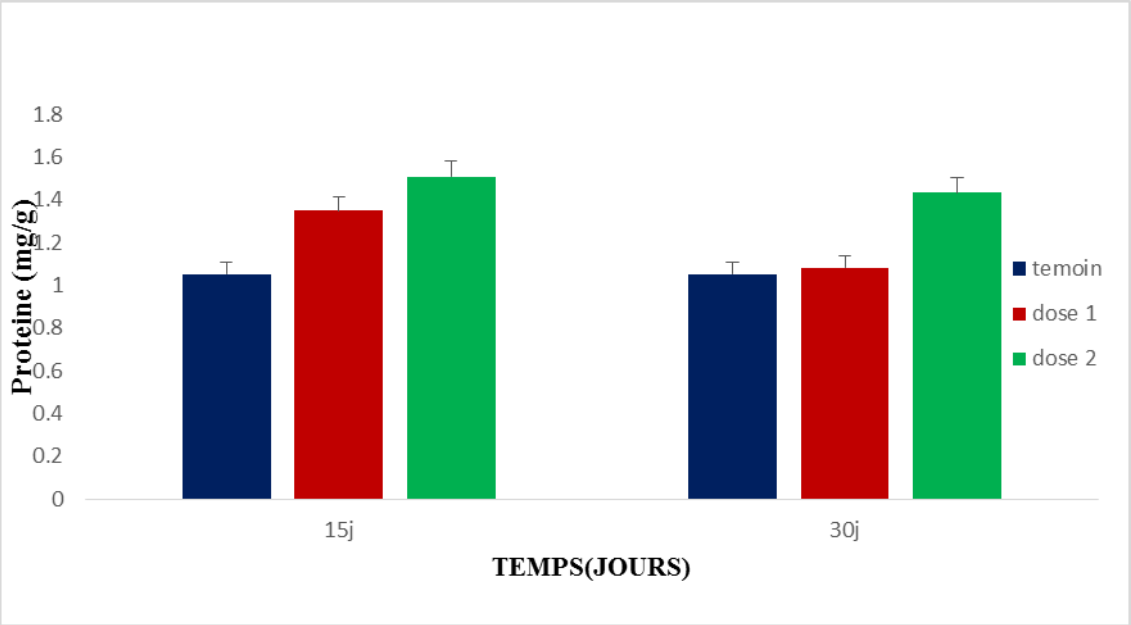


Figure12 : Variation de la concentration en protéines hépatiques chez *les escargots* traités et témoins après 15 et 30 jours de traitement (m ± s, n = 8) (* Différence significative comparant au témoin (P ≤0,05),: Différence hautement significative comparant au témoin (P ≤0,01), Différence très hautement significative comparant au témoin (P ≤0,001), P : Seuil de signification)

B/ sur le taux des Glucides :

L'analyse statistique par ANOVA à un facteur révèle une différence très hautement significative entre le groupe traité par la dose 2 et le témoin durant 30 jours (p = 0,0009), ainsi qu'une différence significative chez les escargots traités par la même dose pendant 15 jours (p = 0,02). Cela indique que la forte concentration de $SbCl_3$ entraîne une modification importante de la teneur en glucides dès les premiers jours d'exposition, et cette altération s'accentue avec le temps.

Par ailleurs, l'ANOVA à deux facteurs indique un effet temps significatif (p = 0,03), suggérant que la durée d'exposition influence la teneur en glucides. L'effet dose et l'interaction dose × temps sont non significatifs, ce qui laisse supposer que l'effet du $SbCl_3$ sur les glucides est surtout lié à la durée d'exposition, plutôt qu'à la dose elle-même.

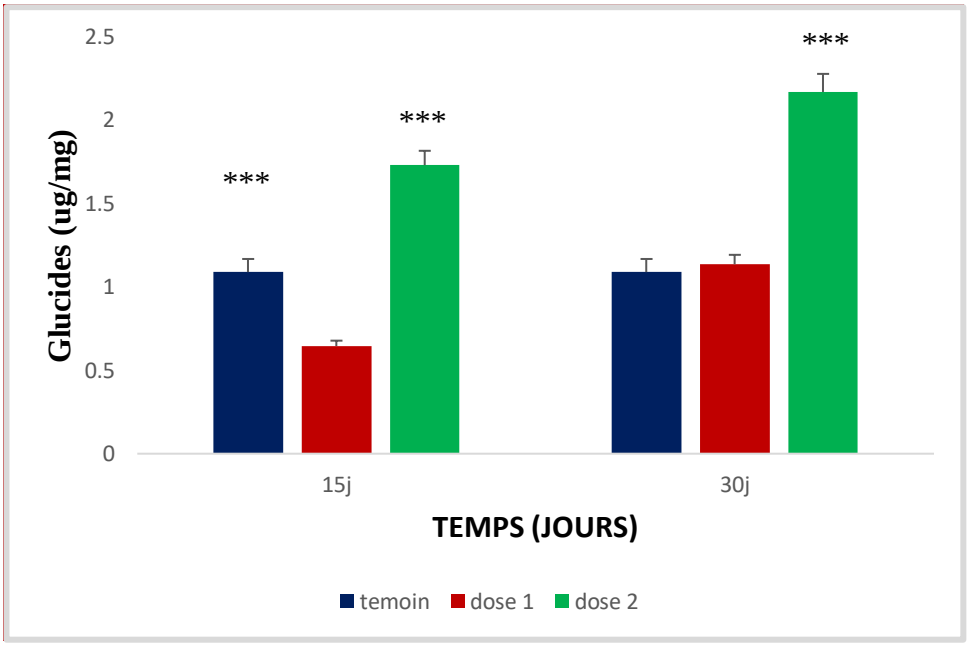


Figure 13 : Variation de la Teneur en glucides hépatiques chez *Helix aspersa* exposé au $SbCl_3$ durant 15 et 30 jours (m ± s, n = 8) (* Différence significative comparant au témoin.
(P ≤0,05), ** : Différence hautement significative comparant au témoin (P ≤0,01), *** Différence très hautement significative comparant au témoin (P ≤0,001), P : Seuil de signification.

C/ sur le taux des lipides :

Les résultats portés par la figure 14 révèlent que le traitement des escargots par le Trichlorure d'antimoine induit une augmentation des lipides hépatopancréatiques chez les escargots traités à la forte dose, l'augmentation est hautement significative (P ≤0,01) et très hautement significative (P ≤0,001) respectivement après 15 et 30 jours.

Les résultats de l'analyse de la variance à deux critères (ANOVA) révèlent un effet temps (P ≤0,001).

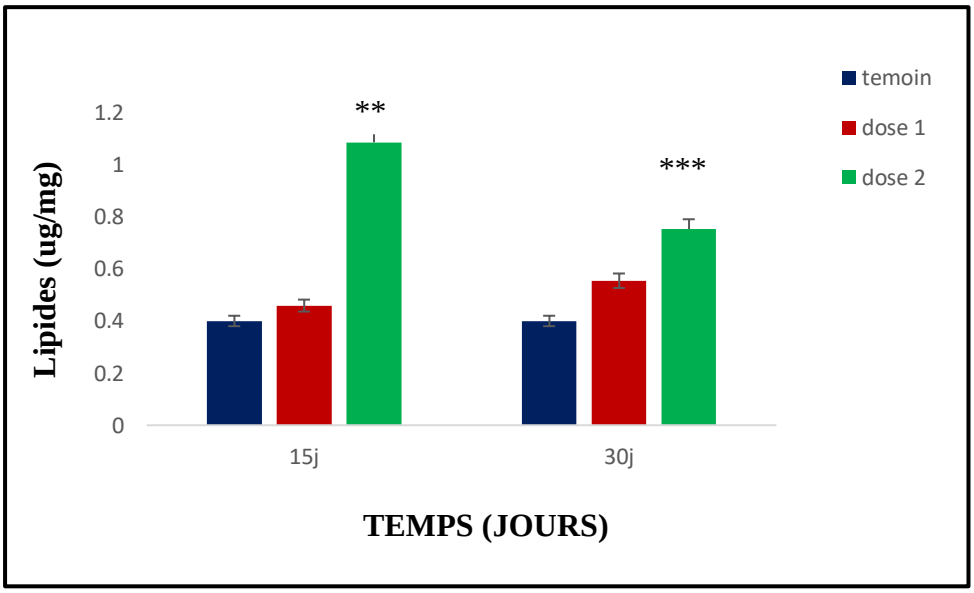


Figure 14 : Effet du Trichlorure d'antimoine sur le taux des lipides totaux (µg/mg de l'hépatopancréas) chez *Helix aspersa* en fonction du temps (m ± s, n = 8) (* Différence significative comparant au témoin (P ≤0,05), ** : Différence hautement significative comparant au témoin (P ≤0,01), *** Différence très hautement significative comparant au témoin (P ≤0,001), P : Seuil de signification.

3.3 Effet du Trichlorure d'antimoine sur le taux des biomarqueurs du stress oxydant :

3.3.1 Effet sur le taux du glutathion réduit (GSH) :

Les résultats de la variation de la teneur en glutathion réduit (GSH) indiquent une augmentation significative de cette teneur chez les groupes traités par les deux doses durant 15 jours ($p < 0,0001$). Une augmentation similaire est également observée chez les escargots exposés à la dose 1 durant 30 jours ($p < 0,0001$).

L'analyse statistique par ANOVA à deux facteurs confirme ces différences avec des résultats hautement significatifs ($p < 0,0001$) pour tous les groupes sauf celui traité à la dose 2 durant 30 jours. L'ANOVA à deux facteurs révèle un effet dose significatif ($p = 0,0143$).

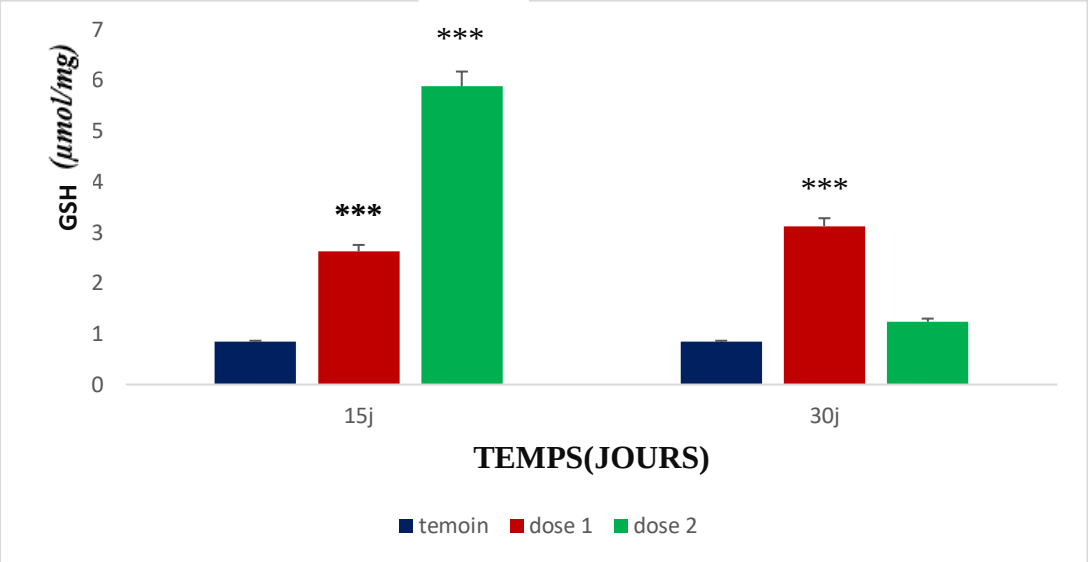


Figure 15 : Teneur en glutathion réduit (GSH) chez *Helix aspersa* exposé au $SbCl_3$ durant 15 et 30 jours (m ± s, n = 8) (* Différence significative comparant au témoin ($P \leq 0,05$), ** : Différence hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0,01$), *** Différence très hautement significative comparant au témoin ($P \leq 0,001$), P : Seuil de signification)

3.3.2 Effets sur la Glutation S-transferase (GST) :

La figure montre qu'au bout de 15 jours de traitement, l'activité de la GST diminue de façon hautement significative (p<0,0001) chez les individus traités avec la dose 1 par rapport au témoin, tandis qu'elle augmente significativement (p=0,0173) pour la dose 2. Après 30 jours, la dose 1 n'induit pas de modification significative de l'activité enzymatique comparée au témoin (p=0,1600), contrairement à la dose 2 qui provoque une diminution très hautement significative (p<0,0001) de cette activité

L'analyse de la variance à deux critères de classification révèle un effet significatif du facteur dose (p=0,0312).

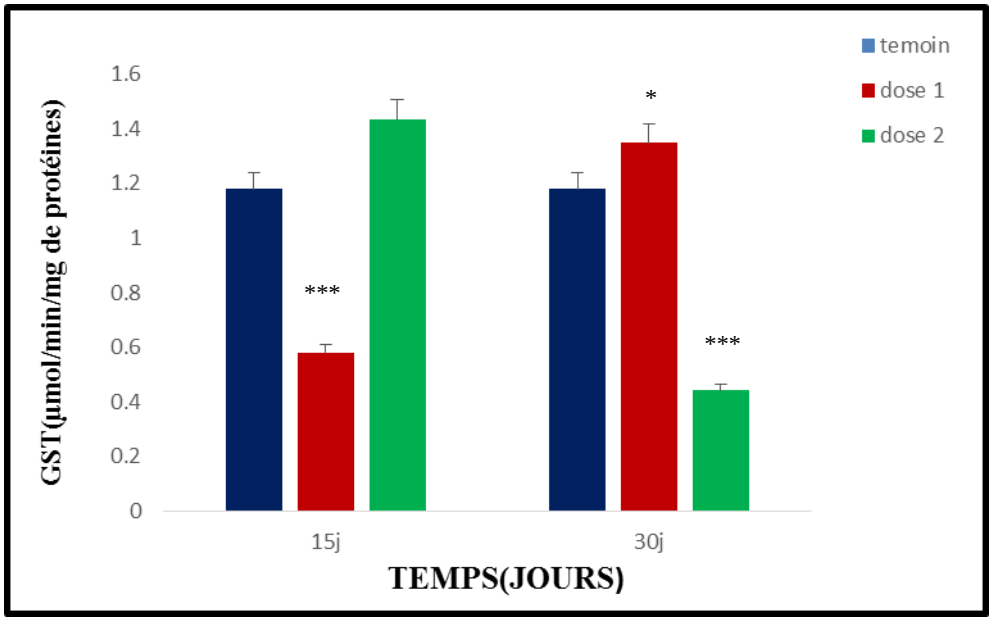


Figure 16 : Variation de l'activité enzymatique de la glutathion-S-transférase (GST) chez *Helix aspersa* exposé au $SbCl_3$ durant 15 et 30 jours (m ± s, n = 8) (* Différence significative comparant au témoin (P ≤0,05), ** : Différence hautement significative comparant au témoin (P ≤0,01), *** Différence très hautement significative comparant au témoin (P ≤0,001), P : Seuil de signification)



Discussion

4 Discussion

La pollution environnementale constitue un défi mondial majeur affectant la biodiversité et la stabilité des écosystèmes. Parmi les polluants émergents, les nanoparticules métalliques suscitent une attention croissante en raison de leurs propriétés physico-chimiques uniques, de leur taille nanométrique et de leur fort pouvoir de pénétration et de bioaccumulation.

Le trichlorure d'antimoine ($SbCl_3$), utilisé dans diverses industries (textile, pigments, retardateurs de flamme), peut être présent dans l'environnement sous forme de nanoparticules, notamment à proximité des zones industrielles ou par suite de rejets non contrôlés. Ces nanoparticules de $SbCl_3$ sont suspectées de provoquer des effets biologiques importants, notamment sur les systèmes enzymatiques, le métabolisme énergétique et les défenses **antioxydantes (Filella *et al.*, 2002 ; WHO, 2003).**

Dans ce contexte, l'usage de bioessais représente une approche fiable pour évaluer l'impact de ces nanocontaminants sur les organismes terrestres. Le gastéropode *Helix aspersa* est largement reconnu comme bioindicateur terrestre pertinent en raison de sa capacité de bioaccumulation, de sa sensibilité aux contaminants du sol, et de sa faible mobilité qui reflète fidèlement l'état de son habitat immédiat **(Regoli & Principato, 1995 ; Gomot, 1998 ; Lagadic *et al.*, 2007).**

Plusieurs travaux en Algérie et en Méditerranée ont documenté l'effet de métaux comme le plomb, le zinc, ou le cadmium sur *Helix aspersa* **(Boukhenfouf *et al.*, 2015 ; Chebbah *et al.*, 2021 ; Boughattas *et al.*, 2020).** Toutefois, très peu d'études ont examiné les effets spécifiques du $SbCl_3$ sous forme nanoparticulaire sur ce bioindicateur, ce qui justifie l'intérêt de notre étude.

Les paramètres analysés (poids corporel, protéines, glucides, lipides, GSH, GST) constituent des indicateurs sensibles du métabolisme cellulaire et du stress oxydatif, couramment utilisés dans les bioessais d'évaluation de la toxicité des nanoparticules chez les invertébrés (Chabchoub ***et al.***, 2019 ; Parolini ***et al.***, 2011)

4.1 Étude de l'effet du $SbCl_3$ sur le poids corporel :

Le poids corporel est un indicateur physiologique utile pour évaluer l'état nutritionnel et les effets systémiques d'un contaminant. Dans cette étude, bien que les escargots exposés au $SbCl_3$, notamment

à la dose 1, aient montré une tendance à la baisse du poids corporel, aucune différence statistiquement significative n'a été détectée.

Cependant, des fluctuations biologiquement notables ont été observées, notamment une diminution progressive durant les premières semaines, suggérant une réponse transitoire au stress chimique, possiblement liée à une perturbation du métabolisme ou de l'alimentation.

Des résultats similaires ont été rapportés par **Ieromina *et al.* (2015)** chez Lymnaea stagnalis exposée au cadmium, et par **Montalto *et al.* (2016)** chez *Helix aspersa* exposé au plomb. Ces études confirment que certains effets physiologiques peuvent être non significatifs statistiquement, mais biologiquement pertinents, notamment dans les expositions prolongées à faibles doses.

Enfin, des facteurs comme la température, la qualité de la nourriture ou l'état physiologique initial peuvent moduler la croissance pondérale, comme le montrent les travaux de **Radwan *et al.* (2009) et Nadji *et al.* (2024).** Ces résultats soulignent l'importance de croiser l'analyse statistique avec une lecture écophysiologique, afin d'interpréter les signaux faibles mais réels d'une exposition chronique.

4.2 Analyse des variations des protéines hépatiques sous l'effet du $SbCl_3$

L'analyse des protéines hépatiques constitue un indicateur clé du métabolisme cellulaire et de l'état physiologique général chez les organismes bioindicateurs. Dans notre étude, une augmentation significative de la teneur en protéines a été observée chez les escargots exposés à la dose 2 de $SbCl_3$, dès les 15 premiers jours et de manière plus marquée après 30 jours d'exposition. Cette réponse pourrait refléter une synthèse accrue de protéines de stress, notamment les enzymes antioxydantes ou les métallothionéines, mobilisées en réaction à l'exposition aux métaux lourds. Des résultats similaires ont été rapportés par **Radwan *et al.* (2008)** chez Eobania vermiculata exposée au cuivre, où une élévation des protéines totales a été interprétée comme une réponse adaptative au stress oxydatif. En parallèle, **El-Shenawy (2005)** a également signalé une augmentation des protéines chez Biomphalaria alexandrina exposée au plomb. Toutefois, certaines études ont montré des résultats divergents : **Dailianis *et al.* (2003)** ont rapporté une diminution des protéines totales chez Mytilus galloprovincialis exposé au cadmium, suggérant un effet inhibiteur direct du métal sur la synthèse protéique. Dans le contexte de notre recherche, l'élévation des taux protéiques pourrait indiquer un effort physiologique pour contrer les effets toxiques du $SbCl_3$, en particulier à forte dose et avec une exposition prolongée, traduisant une adaptation métabolique active face au stress chimique induit par ce polluant.

4.3 Variation de la teneur en glucides hépatiques chez *Helix aspersa* exposé au $SbCl_3$

L'analyse de la teneur en glucides dans l'hépatopancréas constitue un indicateur métabolique sensible du stress physiologique chez les invertébrés terrestres. En effet, les glucides, notamment sous forme de glycogène, représentent une réserve énergétique rapidement mobilisable lors d'une exposition à un polluant (**Radwan *et al.*, 2010**).

Dans notre étude, une augmentation significative de la teneur en glucides a été observée chezles escargots traités à la dose 2, aussi bien après 15 jours qu'après 30 jours d'exposition, comparativement aux témoins. Cette élévation progressive suggère une réponse adaptative visant à soutenir les besoins énergétiques face à la toxicité du $SbCl_3$. L'analyse statistique révèle un effet temps significatif, soulignant que c'est la durée d'exposition qui influence principalement cette variation, davantage que la dose.

Ces observations sont en accord avec les résultats de **Benhalima *et al.* (2019)**, qui ont rapporté une augmentation des glucides hépatiques chez *Helix aspersa* exposé au plomb, traduisant un état de stress oxydatif. De même, **Kouba *et al*. (2018)** ont constaté une hausse du glycogène hépatique chez Lymnaea stagnalis exposé au cadmium, interprétée comme une stratégie de compensation énergétique. En revanche, **Skalli *et al*. (2020)** ont noté une diminution des glucides chez Eobania vermiculata exposée au cuivre, possiblement liée à une consommation accrue d'énergie ou à une perturbation des voies métaboliques.

Ainsi, la variation des glucides dans notre étude peut être interprétée comme une réponse métabolique adaptative aux effets du $SbCl_3$, traduisant une mobilisation des réserves énergétiques sous l'effet prolongé d'un stress environnemental.

4.4 Effet du $SbCl_3$ sur les teneurs en lipides totaux

Les lipides sont des constituants essentiels des membranes cellulaires et jouent un rôle central dans le stockage d'énergie, la protection cellulaire et la régulation des réponses physiologiques au stress. Chez les mollusques terrestres tels que *Helix aspersa*, les teneurs en lipides peuvent être affectées par les polluants environnementaux, notamment les métaux lourds, qui perturbent le métabolisme énergétique (**Radwan *et al.*, 2010 ; Viarengo *et al.*,2007**).

Dans le cadre de cette étude, une augmentation significative des teneurs en lipides totaux a été enregistrée chez les escargots traités par $SbCl_3$, notamment à la dose 2 après 15 et 30 jours. Cette

élévation pourrait refléter une accumulation des lipides dans l'hépatopancréas, probablement en lien avec un ralentissement du métabolisme énergétique ou un dérèglement des voies cataboliques sous l'effet du stress oxydatif. En effet, une réponse oxydative prolongée peut entraîner une altération de la β-oxydation des acides gras, conduisant à une accumulation lipidique (**Bansal *et al*., 2005**).

Des résultats similaires ont été rapportés chez *Helix aspersa* exposé au cadmium (**Djebbi *et al*., 2019**), où une élévation des lipides a été interprétée comme un mécanisme de défense métabolique, traduisant un état de compensation physiologique ou de stockage passif de l'énergie en réponse au stress. Chez Lymnaea stagnalis exposée aux nanoparticules métalliques**, Viarengo *et al*. (2007)** ont également observé une perturbation lipidique allant dans le même sens. L'analyse statistique confirme que cette augmentation est significative en fonction de la dose et du temps, avec un effet dose clair. Cela suggère que le niveau de contamination en $SbCl_3$ influence directement l'accumulation lipidique chez l'escargot.

4.5 Effet du $SbCl_3$ sur le glutathion réduit (GSH)

Le glutathion réduit (GSH) est une molécule tripeptidique clé dans le système antioxydant cellulaire, impliquée dans la neutralisation des espèces réactives de l'oxygène (ERO). Il constitue un biomarqueur fiable du stress oxydatif chez les mollusques terrestres, notamment *Helix aspersa*, en réponse à divers stress environnementaux, dont l'exposition aux métaux lourds (**Regoli et Giuliani, 2014 ; El-Shenawy, 2010**).

Dans notre étude, une augmentation significative du GSH a été observée chez les deux doses après 15 jours, ce qui peut être interprété comme une réponse adaptative précoce visant à compenser l'élévation du stress oxydatif induit par le $SbCl_3$. Cette réponse est cohérente avec les observations de **Hassine *et al*. (2020)**, qui rapportent une hausse du GSH chez Helixas persa exposé au zinc à court terme. Cependant, à 30 jours, la situation évolue : si le GSH reste élevé pour la dose 1, une diminution significative est enregistrée pour la dose 2, suggérant une déplétion des réserves antioxydantes, probablement liée à une exposition chronique dépassant la capacité adaptative de l'organisme (**Gamal El-Din *et al*., 2017 ; Bansal *et al*., 2005)**. Cette hypothèse est renforcée par les observations similaires de **Djebbi *et al*. (2019)** chez *Helix aspersa* exposé au cadmium.

L'analyse statistique a confirmé l'effet du temps et de la dose de manière significative sur les concentrations de GSH. De plus, un effet dose significatif a été signalé , indiquant que la concentration de $SbCl_3$ a un impact direct et différentiel selon le niveau d'exposition.

Ces résultats traduisent donc une réponse en deux phases : stimulation enzymatique adaptative à court terme, suivie, en cas de stress persistant à haute dose, d'un épuisement des capacités antioxydantes. Ce profil biphasique est typique d'une réponse physiologique de type hormétique (**Calabrese et Baldwin, 2003**).

4.5 Effet du $SbCl_3$ sur l'activité de la Glutathion-S-transférase (GST)

La Glutathion-S-transférase (GST) est une enzyme clé dans le système antioxydant cellulaire.Elle participe à la détoxification des composés xénobiotiques en catalysant la conjugaison du glutathion réduit (GSH) avec des substrats électrophiles. Son activité est souvent utilisée comme biomarqueur de stress oxydatif et de contamination environnementale chez les mollusques (**Viarengo *et al.*, 2007 ; Mouneyrac *et al.*, 2003**).

Dans notre étude, l'exposition au trichlorure d'antimoine ($SbCl_3$) a provoqué des variations significatives de l'activité GST, avec une augmentation à la dose 2 pendant 15 jours.. À l'inverse, une diminution de l'activité a été observée à la dose 1 à 15 jours et à la dose 2 à 30 jours.

Ces résultats suggèrent que l'activité de la GST réagit différemment selon la dose et la durée d'exposition. L'augmentation observée en phase aiguë (dose 2, 15 jours) peut être interprétée comme une réponse adaptative face à une élévation rapide du stress oxydatif généré par les ions Sb^{3+}. Cette induction enzymatique est un mécanisme de défense cellulaire bien décrit chez les invertébrés exposés aux métaux lourds (**Radwan *et al.*, 2010 ; Attia *et al.*, 2022**).

Cependant, la diminution constatée à long terme (dose 2, 30 jours) pourrait refléter un épuisement enzymatique ou une inhibition de l'expression de la GST, traduisant une perturbation chronique du système antioxydant. Un stress prolongé peut ainsi dépasser les capacités de défense de l'organisme, réduisant l'activité de certaines enzymes, comme observé également chez Lymnaea stagnalis et Mytilus galloprovincialis exposés à desnanoparticules ou métaux (**Geret *et al.*, 2002 ; Bouaziz *et al.*, 2021**).

L'analyse statistique montre un effet significatif de la dose et du temps, sans interaction dose× temps, confirmant que chaque facteur influe de manière indépendante sur la modulation de l'activité GST.

Ces variations révèlent l'implication directe de la GST dans la réponse oxydative au $SbCl_3$ et confortent son rôle en tant qu'indicateur biologique sensible de la contamination métallique chez *Helix aspersa*.



Conclusion et perspectives

5 Conclusion :

Aujourd'hui, la pollution environnementale représente un défi majeur pour la santé des écosystèmes. Les rejets anthropiques, en particulier ceux contenant des nanoparticules, ont des effets nocifs sur la faune et la flore, même à faibles doses. Le trichlorure d'antimoine ($SbCl_3$), bien que peu étudié, est utilisé dans plusieurs industries et constitue un polluant émergent préoccupant en raison de sa toxicité, de sa persistance dans l'environnement et de sa capacité à interagir avec les biomolécules.

Ce travail a utilisé *Helix aspersa* comme modèle biologique en écotoxicologie pour évaluer les effets du $SbCl_3$ sur cinq paramètres clés : le poids corporel, les protéines, les lipides, les glucides, et les marqueurs antioxydants (GSH, GST). Les résultats obtenus révèlent des perturbations significatives, témoignant un stress physiologique et métabolique chez les individus exposés, notamment une sensibilité marquée à la dose et au temps d'exposition.

Ces modifications suggèrent que le $SbCl_3$ agit sur le métabolisme énergétique, la synthèse protéique et les défenses antioxydantes, traduisant un mécanisme de stress adaptatif au toxique selon la concentration et la durée d'exposition.

L'étude a été confrontée à certaines contraintes expérimentales, notamment le refus d'alimentation, le comportement de dormance et la faible mobilité des escargots, qui ont limité certaines observations. Malgré cela, les résultats obtenus permettent de répondre à la problématique posée, en montrant l'effet du $SbCl_3$ sur des fonctions vitales sans que l'objectif soit de prouver la capacité bioindicatrice de l'espèce.

Cette recherche met en lumière la valeur prédictive des bioessais dans l'évaluation de la toxicité des contaminants émergents. Elle ouvre également la voie à des perspectives futures : étude d'autres tissus (hépatopancréas, glandes digestives), exploration d'autres formes chimiques de l'antimoine, analyses histologiques et moléculaires ou encore l'analyse d'autres espèces sentinelles.

Dans un monde où la contamination environnementale devient de plus en plus diffuse, ce type d'étude expérimentale s'inscrit dans une approche intégrée de la biosurveillance, essentielle pour protéger les écosystèmes et la santé environnementale.



Références Bibliographiques

6 Références bibliographiques :

- Ali, H., Khan, E., & Ilahi, I. (2019). Environmental chemistry and ecotoxicology of hazardous heavy metals: Environmental persistence, toxicity, and bioaccumulation. *Journal of Chemistry*, *2019*, 1–14.

- ATSDR. (2022). *Toxicological profile for antimony and compounds*. U.S. Department of Health and Human Services.

- Bansal, P., Verma, R., & Srivastava, A. K. (2005). Lipid peroxidation and antioxidant enzymes in liver of catfish *Clarias batrachus* exposed to cadmium. *Journal of Environmental Biology*, *26*(2), 305–308.

- Benhalima, M., Bouzid, W., & Merzoug, D. (2019). Impact of lead pollution on some biochemical parameters in land snail *Helix aspersa*. *Journal of Environmental Health Science & Engineering*, *17*(2), 857–866.

- Benhassine, S., Boughattas, I., & Essid, H. (2024). Effects of oral exposure to heavy metals in *Helix aspersa*: A bioaccumulation and biomarker study. *Environmental Science and Pollution Research*, *31*(1), 456–469.

- Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., & Kalayci, O. (2012). Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organization Journal*, *5*(1), 9–19.

- Bonnet, A. (1990). *La biologie des escargots*. Paris: Éditions Belin.

- Bouaziz, M., Hamza-Chaffai, A., & Banni, M. (2021). Oxidative stress and enzyme activities in freshwater mollusks exposed to metal nanoparticles. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *212*, 111998.

- Boughattas, I., Zribi, M., & Najjar, M. F. (2020). Bioaccumulation of heavy metals in the land snail *Helix aspersa* as a bioindicator of environmental contamination. *Environmental Monitoring and Assessment, 192,* 542.

- Boukhenfouf, M., Benmoussa, H., & Nezli, I. E. (2015). Assessment of heavy metal contamination using *Helix aspersa* in Northeast Algeria. *Ecological Indicators*, *52*, 369–375.

- Calabrese, E. J., & Baldwin, L. A. (2003). Hormesis: The dose-response revolution. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, *43,* 175–197.

- Chabchoub, N., Ghedira, J., & Banni, M. (2019). Metal bioaccumulation and oxidative stress biomarkers in snails exposed to urban pollution. *Environmental Science and Pollution Research*, *26*(3), 2489–2501.

- Chebbah, D., Khelil, A., & Khelil, M. N. (2021). Bioaccumulation and histopathological effects of heavy metals in land snails from polluted areas in Algeria. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *207*, 111293.

- Coeurdassier, M. (2001). Les invertébrés comme bioindicateurs de pollution : usages et limites. *Revue d'Écologie (Terre et Vie)*, *56*(4), 395–409.

- Dailianis, S., Kaloyianni, M., & Dimiza, V. (2003). Biochemical responses of the mussel *Mytilus galloprovincialis* exposed to cadmium and other heavy metals. *Comparative Biochemistry and Physiology*, *C135*, 1–10.

- Dallinger, R., & Rainbow, P. S. (1993). Ecotoxicology of metals in invertebrates. *Lewis Publishers*.

- Dallinger, R., Berger, B., & Birkel, S. (2001). Accumulation and detoxification of cadmium in *Helix pomatia*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, *20*(1), 190–195.

- Djebbi, S., Hedfi, A., & Messaoudi, I. (2019). Cadmium-induced alterations in the antioxidant defense system and lipid profile in *Helix aspersa*. *Environmental Science and Pollution Research*, *26*, 21351–21360.

- Elangovan, R., Kumar, R. R., & Sivasankar, T. (2022). Histopathological changes in hepatopancreas of gastropods as biomarkers of metal toxicity. *Toxicology Reports, 9*, 156–165.

- El-Shenawy, N. S. (2005). Changes in biochemical parameters of *Biomphalaria alexandrina* exposed to lead nitrate. *Toxicology and Industrial Health*, *21*(4–5), 157–163.

- El-Shenawy, N. S. (2010). Impact of environmental pollutants on the antioxidant defense system of the land snail *Helix aspersa*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *73*(7), 1591–1598.

- Filella, M., & May, P. M. (2003). Geochemistry of antimony in natural waters. *Earth-Science Reviews*, *59*(1–4), 265–285.

- Filella, M., Belzile, N., & Chen, Y. (2002). Antimony in the environment: A review focused on natural waters: II. Relevant solution chemistry. *Earth-Science Reviews*, *59*, 265–285.

- Forman, H. J., Zhang, H., & Rinna, A. (2009). Glutathione: Overview of its protective roles, measurement, and biosynthesis. *Molecular Aspects of Medicine*, *30*(1–2), 1–12.

- Gamal El-Din, A., Abdel-Moneim, A. M., & El-Banna, S. (2017). Biomarker responses in *Helix aspersa* as an early warning system for pollution stress. *Ecotoxicology*, *26*, 334–343.

- Gebel, T. (1997). Toxicity of antimony and its compounds. *Toxicology Letters*, *93*(1), 29–35.

- Gomot, A. (1998). Biochemical biomarkers in land snails for ecotoxicological studies. *Science of the Total Environment*, *222*(1–2), 69–78.

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

- Heller, J. (2001). *Life history strategies of land snails in the desert*. Springer.

- He, M., Wang, X., Wu, F., Fu, Z., & Zhang, Z. (2012). Antimony pollution in China. *Science of the Total Environment*, *421–422*, 41–50.

- IARC. (2021). *Antimony trioxide*. In *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans* (Vol. 131). International Agency for Research on Cancer.

- Ieromina, O., Peijnenburg, W. J. G. M., de Snoo, G. R., Muller, J., & van den Brink, P. J. (2015). Biochemical stress response of *Lymnaea stagnalis* to heavy metals. *Chemosphere*, *139*, 146–153.

- Itziou, A., Dimitriadis, V. K., & Kaloyianni, M. (2019). Biomonitoring of pollution using land snails: Oxidative stress and metal accumulation. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *183*, 109575.

- Kammoun, F., Haddad, M., & Belkadhi, M. (2024). Laboratory maintenance and dietary exposure protocols for terrestrial snails. *Journal of Molluscan Studies*, *90*(1), 12–22.

- Lagadic, L., Caquet, T., Amiard, J. C., & Ramade, F. (2007). *Biomarqueurs en écotoxicologie*. Lavoisier.

- Lowe, D. M., & Thompson, R. C. (1995). Hepatopancreas responses to pollution. *Marine Environmental Research*, *39*(1–4), 57–60.

- Mnkandla, D., Moyo, N. A. G., & Matendera, T. (2019). Ecotoxicological effects of metals in freshwater mollusks. *African Zoology*, *54*(2), 105–116.

- Montalto, L., Pira, E., & Malizia, C. (2016). Cadmium accumulation and biomarker response in land snails. *Environmental Toxicology and Chemistry*, *35*(8), 2024–2031.

- Mouneyrac, C., Amiard-Triquet, C., & Amiard, J. C. (2003). Biomarkers and stress in gastropods. *Aquatic Toxicology*, *65*, 129–144.

- Nadji, L., Bougherra, H., & Kerbachi, R. (2024). Chronic lead exposure in *Helix aspersa*: Weight loss and tissue damage. *Environmental Monitoring and Assessment*, *196*, 59.

- Parolini, M., Binelli, A., & Provini, A. (2011). Heavy metal bioaccumulation and biomarkers in freshwater mollusks. *Ecotoxicology*, *20*, 917–928.

- PubChem. (2023). *Antimony trichloride ($SbCl_3$)*. National Center for Biotechnology Information.

- Radwan, M. A., Mohamed, H. S., & El-Shenawy, N. S. (2009). Effects of heavy metals on snails: Bioaccumulation and biomarkers. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *72*(1), 120–128.

- Regoli, F., & Giuliani, M. E. (2014). Oxidative pathways of chemical toxicity and oxidative stress biomarkers. *Science of the Total Environment*, *408*, 4026–4031.

- Regoli, F., & Principato, G. (1995). Biochemical effects of trace metals on marine organisms. *Marine Environmental Research*, *39*(1–4), 129–132.

- Sánchez-Chardi, A., Oliveira Ribeiro, C. A., & Nadal, J. (2009). Bioaccumulation of metals and biomarker responses in land snails. *Chemosphere*, *77*, 79–84.

- Sies, H. (2017). Oxidative stress: A concept in redox biology and medicine. *Redox Biology*, *11*, 613–619.

- Skalli, A., Boughattas, I., & Messaoudi, I. (2020). Lipid metabolism under copper stress in land snails. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *190*, 110068.

- Tompa, A. (1984). *The ultrastructure of the reproductive system of land snails*. Springer.

- Turki, S., Achouri, M. S., & Ladhar-Chaabouni, R. (2022). Physiological and oxidative responses in gastropods exposed to metal stress. *Environmental Science and Pollution Research*, *29*(6), 8427–8437.

- Valavanidis, A., Vlahogianni, T., Dassenakis, M., & Scoullos, M. (2006). Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *64*(2), 178–189.

- Viarengo, A., Burlando, B., Dondero, F., & Marro, A. (2007). Environmental pollutants and membrane lipids. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*, *146*(4), 448–457.

- Weckberker, G., & Cory, J. G. (1988). Quantification of reduced and oxidized glutathione by spectrophotometric assay. *Analytical Biochemistry*, *175*(2), 393–397.

- WHO. (2003). *Antimony in drinking water: Background document for development of WHO guidelines for drinking-water quality*. World Health Organization.

- Wu, J., & Song, M. (2020). Environmental behavior and toxicity of antimony. *Environmental Pollution*, *258*, 113613.

- Yu, R., Liu, Z., Wang, J., Chen, T., & Li, H. (2022). Antimony-induced oxidative damage in aquatic organisms. *Chemosphere*, *287*, 131937.