



Caractérisation Morphophysiological de la Toxicité du ZnO (Nanoparticule manufacturée) sur l'escargot l' *Helix aspersa* bio indicateur de pollution de l'environnement

Grara Nedjoud¹, Bouloudenine Manel², Khaldi Fadila²,
Zenir Zineb², Abdemadjid Selma²

¹Département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers, Université 8 Mai 1945, Guelma, PB 401, 24000, Algérie.

²Université Mohamed Chérif Messaadia, Souk Ahras, PB 1553, 41000, Algérie.

Received 01 Mars 2014, Revised 9 June 2015, Accepted 9 June 2015

*Corresponding author: E-mail: grara120@yahoo.fr

Abstract

In this study we were interested in assessing the impact of a metal nanoparticle (ZnO) and their effects on body of the snails *Helix aspersa* bioaccumulator, bioindicator of environmental pollution and human health. It is a subchronic toxicity study (28 days) through the digestive absorption. The toxicity of ZnO is determined in the snail *Helix aspersa* using a bioassay conducted in laboratory animals exposed to increasing concentrations of ZnO (500 µg / g, 1000 µg / g, 5000 µg / g, 10000 µg / g, 15 000 µg / g). The first results show that the presence of metallic nanoparticles ZnO growth inhibition caused dose-dependent estimated concentrations that inhibit 50% (EC50 : Estimated Concentration that reduces the growth rate by 50% compared to control), 75%, 90% and 100% of growth were calculated for (4) weeks and are as follows: for the first week EC50 = 3842.33 µg/g, EC75 = 9134 µg/g, EC90 = 12309 µg/g, EC100 = 14425.67 µg/g, for the second week EC50 = 1727.11 µg/g, EC75 = 4560.44 µg/g, EC90 = 6260.44 µg/g, EC100 = 7393.78 µg/g for the Third week EC50 = 2624.75 µg/g, EC75 = 4529.75 µg/g, EC90 = 5669.75 µg/g, EC100 = 6429.75 µg/g and for the fourth week EC50 = 2403.3 µg/g, EC75 = 4308.3 µg/g, EC90 = 5448.3 µg/g, EC100 = 6208.3 µg/g. In addition, the highest concentration that has no effect (NOEC) (No Observed Effect Concentration) is 1000 µg / g and the lowest concentration that had an effect (LOEC) (Lowest Observed Effect Concentration) 5000 µg / g. The inhibition of growth is also represented by a weight loss in the snail *Helix aspersa* and a decrease in shell weight, reduced dose - dependent on the weight of the soft tissues with a higher percentage of mortality.

Keywords: *Helix aspersa*, metal nanoparticles, ZnO, health, status indicator, bioaccumulation, growth

Résumé :

Dans cette étude nous nous sommes intéressés à l'évaluation de l'impact d'une nanoparticule métallique (ZnO) et leurs effets sur un organisme bioaccumulateur et bioindicateur de pollution de l'environnement et un indicateur d'état sanitaire *Helix aspersa* pour la préservation de la santé de l'Homme. Il s'agit d'une étude de toxicité subchronique (28 jours) par la voie d'absorption digestive. La toxicité du ZnO est déterminée chez l'escargot *Helix aspersa* grâce à un biotest réalisé en laboratoire sur des animaux exposés à des concentrations croissantes de ZnO (500 µg/g, 1000 µg/g, 5000 µg/g, 10000 µg/g, 15000 µg/g). Les premiers résultats montrent que la présence des nanoparticules métalliques à base de ZnO provoquait une inhibition de croissance dose-dépendante, les concentrations estimées qui inhibent 50%, 75%, 90% et 100% de la croissance ont été calculés pour les (4) semaines et qui sont les suivantes : pour la première semaine EC50 = 3842.33 µg/g, EC75 = 9134 µg/g, EC90 = 12309 µg/g, EC100 = 14425.67 µg/g, pour la deuxième semaine EC50 = 1727.11 µg/g, EC75 = 4560.44 µg/g, EC90 = 6260.44 µg/g, EC100 = 7393.78 µg/g, pour la troisième semaine EC50 = 2624.75 µg/g, EC75 = 4529.75 µg/g, EC90 = 5669.75 µg/g, EC100 = 6429.75 µg/g et pour la quatrième semaine EC50 = 2403.3 µg/g, EC75 = 4308.3 µg/g, EC90 = 5448.3 µg/g, EC100 = 6208.3 µg/g. De plus, la plus forte concentration qui n'a pas d'effet (NOEC) est 5000 µg/g et la plus faible concentration qui a eu un effet (LOEC) est 1000 µg/g. L'inhibition de la croissance est également représenté par une perte du poids chez l'escargot *Helix aspersa* ainsi qu'une diminution du poids de la coquille, une réduction dose - dépendante du poids des tissus mous avec une augmentation du pourcentage de mortalité.

Mots clés : *Helix aspersa*, Nanoparticules métalliques, ZnO, indicateur d'état sanitaire, bioaccumulation, croissance.

Introduction

La présence de substances non naturelles dans l'environnement augmente proportionnellement à leur utilisation par l'Homme. Ainsi le développement des nanotechnologies et de leurs utilisations, aura très certainement pour conséquence une augmentation de la concentration en nanoparticules dans l'air, les eaux et les sols. Ils pourront donc atteindre les écosystèmes [1].

Des fortes concentrations en particules fines (particules dont la taille est inférieure à 2,5 μm) ont un impact à court terme sur l'état de santé en particulier en ce qui concerne les problèmes respiratoires et cardiovasculaires, l'exposition à de fortes concentrations en particules fines peut conduire à une réduction de l'espérance de vie [2,3].

Les effets directs de la toxicité des nanoparticules sur les organismes sont principalement dus à leur composition chimique et à leur réactivité de surface. Ils peuvent également servir de vecteurs d'autres polluants, c.-à-d. en fixant d'autres polluants à leur surface augmentant ou diminuant la biodisponibilité d'autres substances toxiques ou encore interagir avec des protéines telles que des enzymes [1].

Certaines nanoparticules peuvent avoir un effet bactéricide sur différentes souches bactériennes, Il est donc tout à fait envisageable que les nanoparticules puissent inhiber la croissance de souches naturelles et ainsi déséquilibrer les écosystèmes. Ces menaces environnementales constituent un risque majeur pour la santé de l'homme à travers l'apparition et/ou la recrudescence de pathologies diverses en particulier les maladies infectieuses et respiratoires, les malformations congénitales et les maladies cancéreuses...ect) [4,5].

L'homme a toujours été exposé à des particules fines et ultrafines, parfois à des concentrations importantes. Les particules peuvent pénétrer dans l'organisme de trois façons : en les touchant (voie cutanée), en les ingérant (voie digestive) ou en les respirant (voie respiratoire). Leur rejet dans l'environnement engendre les impacts suivants : pollution des sols, contamination des eaux souterraines et de surface, impacts sur la santé et l'environnement, etc [1,6].

Le modèle central de cette étude est l'escargot Petit Gris *Helix aspersa*, connu pour son pouvoir bioaccumulateur importants dans ses tissus, herbivore et détritivore, ce mollusque gastéropode pulmoné est exposé aux pollutions des sols, des végétaux et de l'atmosphère et représente de ce fait un modèle intégrateur complémentaire des organismes sous-terrains comme les annélides ou les organismes à régime strictement herbivore ou détritivore. Peut-être parce qu'il entre dans le régime alimentaire de l'Homme, il est considéré comme l'un des maillons de la chaîne trophique, il est la proie de nombreux prédateurs tels que les mammifères, oiseaux et peut donc être à l'origine de transferts des polluants (contaminants) [7].

L'objectif de ce travail est d'étudier les effets morphophysiologiques induit par une nanoparticule manufacturée (ZnO) sur un organisme bio accumulateur, le gastéropode terrestre *Helix aspersa*.

2- Matériel et Méthodes

2-1 Matériel Biologique

Le matériel biologique utilisé est un gastéropode terrestre: l'escargot *Helix aspersa* collecté de la région de Souk Ahras (zone non polluée) (Nord - Est Algérien). Les escargots de Poids moyen de ($5 \pm 0,5\text{g}$) sont élevés dans les conditions d'environnement optimales suivantes : Photopériodes 18h de lumière / 24h, température ($20 \pm 2^\circ\text{C}$), hygrométrie de 80 à 95% aliment en farine de blé, Ils sont réparties dans des boîtes de polystyrène transparents ($23,5 \times 16,5 \times 10,5 \text{ cm}$) avec couvercle perforé, chaque boîte contient une éponge mouillée pour maintenir l'humidité. L'alimentation est fournie dans des boîtes de pétri régulièrement tous les 3 jours [8].

2-2 Matériel Chimique :

Le matériel chimique utilisé une nanoparticule (ZnO) élaborée par la méthode de Co-précipitation [9].

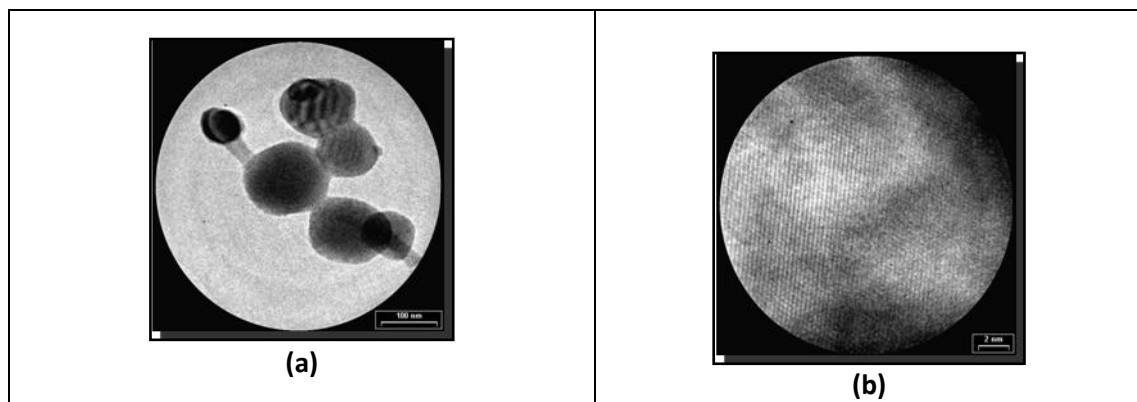
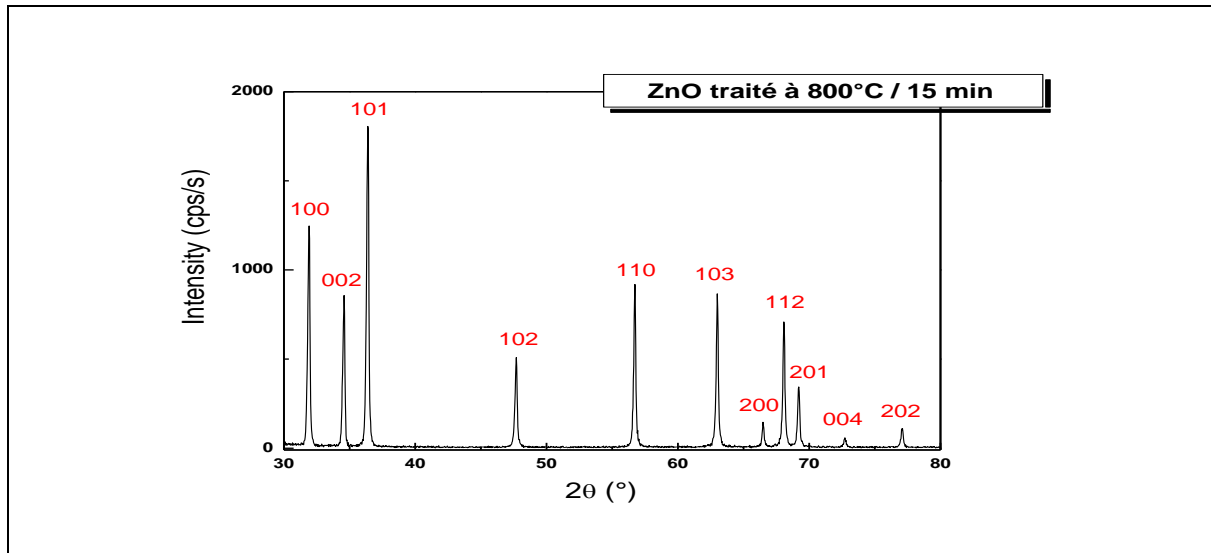
2- 2-1- Caractérisation Structurale des nanoparticules élaborées de ZnO :

2-2-1-1- Caractérisation cristallographique par Diffraction des Rayons X « DRX » :

La figure (01) montre la diffraction des rayons X du produit élaboré. Nous remarquons que la poudre présente bien les pics caractéristiques de la structure hexagonale würtzite correspondant aux plans de diffraction de la structure würtzite de ZnO (Ce diffractogramme révèle une très bonne qualité cristalline des nanoparticules élaborées. Nous avons calculés les paramètres et le volume de la maille élémentaire de notre structure, par le logiciel [U Fit]. Les cristallites constituant notre poudre ont une taille moyenne égale à **59,10 nm**, calculée par la formule de Debye Scherrer. Les résultats de diffraction des rayons X, montrent que la poudre synthétisée présente bien les raies de diffraction de la structure Würtzite de ZnO « **a = 3,24982(9) ; c = 5,20661(15)** » ; sans apparition de phases parasite.

2-2-1-2-Spectroscopie Electronique à Transmission « MET »:

La figure 02 (a, b) représente des photographies MET de la poudre polycristalline ZnO. A faible résolution, (a), nous observons des cristallites de ZnO avec des formes hexagonales d'une taille moyenne de 100 nm. A haute résolution, (b), l'image MET révèle une structure bien cristallisée dont les plans cristallographiques sont parallèles à la direction (100).



2-3 -Mode de traitement :

Le traitement des animaux à été effectué par addition des concentrations croissantes de ZnO dans l'alimentation (farine de blé) .Nous avons retenu 5 concentrations de ZnO: 500 ; 1000 ; 5000 ; 10000 ; 15000 µg/g d'alimentation et un milieu témoin [10] .

2-3-1-Préparation et sacrifice des animaux :

Après la période de traitement, les escargots sont mis à jeûn pendant 48 heures afin que le contenu de leur tube digestif soit vide, les animaux sont ensuite sacrifiés par congélation à -20°C puis disséqués, les coquilles sont enlevées, lavés avec l'eau physiologique [4] .

2-5. Paramètres mesurés :

2.5.1. Mortalité :

La mort d'un individu est généralement facile à déterminer : le pied flasque et jaunâtre est le plus souvent sorti de la coquille. La sole pédieuse n'adhère à aucune surface [4] .

2.5.2. Croissance :

La croissance des animaux exposés aux différentes concentrations de contaminants est suivie à partir d'un ou plusieurs critères morphologiques. Les mesures réalisées sont individuelles mais sont généralement utilisées pour déterminer un coefficient de croissance moyen à l'ensemble des n individus placés dans un même récipient d'essai (lot). Les résultats finaux sont exprimés en terme de coefficient de croissance afin de prendre en compte uniquement l'accroissement corporel des individus pendant la durée du test [4].

$$Y_t = [(w_t - w_0) / w_0] \times 100$$

Avec : Y_t = coefficient de croissance moyen des escargots exposés à $C \mu\text{g.g}^{-1}$ d'une substance (x).

W_0 = moyenne de la masses fraîches totales ou masses sèches des tissus mous des escargots d'un même lot exposés à $C \mu\text{g.g}^{-1}$ d'une substance (x) au début du test.

W_t = moyenne de la masses fraîches totales ou masses sèches des tissus mous des escargots du même lot après T jours d'exposition. Trois critères peuvent être utilisés pour évaluer la croissance des individus :

- La masse fraîche de l'escargot (tissus mous + coquille) est mesurée à l'aide d'une balance de précision (10^{-1} g) [11].
- Le poids frais de la coquille, des tissus moux peut être seulement effectué après le sacrifice des animaux à la fin de chaque période de traitement à l'aide d'une balance de précision [4].

2-5- Etude statistique des résultats

Les résultats sont exprimés par la moyenne \pm écart type de n expériences (ou n représente le nombre d'animaux utilisés). Les résultats sont comparés par Test de Kruskal-Wallis, les différences sont considérées significatives ($P < 0.05$). Ce test est réalisé à l'aide d'un logiciel d'analyse des données: Minitab (Version 14.0) [12].

3-Résultat et discussion :

1-Effet du ZnO sur l'évolution du poids moyen des escargots :

La figure (03) met en évidence l'évolution du poids moyen des escargots en fonction du temps. Nous remarquons que chez les témoins et les traités par les concentrations (500 $\mu\text{g/g}$, 1000 $\mu\text{g/g}$), le poids tend à augmenter avec le temps. En revanche, chez les traités par les concentrations (5000 $\mu\text{g/g}$, 10000 $\mu\text{g/g}$, 15000 $\mu\text{g/g}$), une diminution dose-dépendante du poids est mise en évidence dès la deuxième semaine.

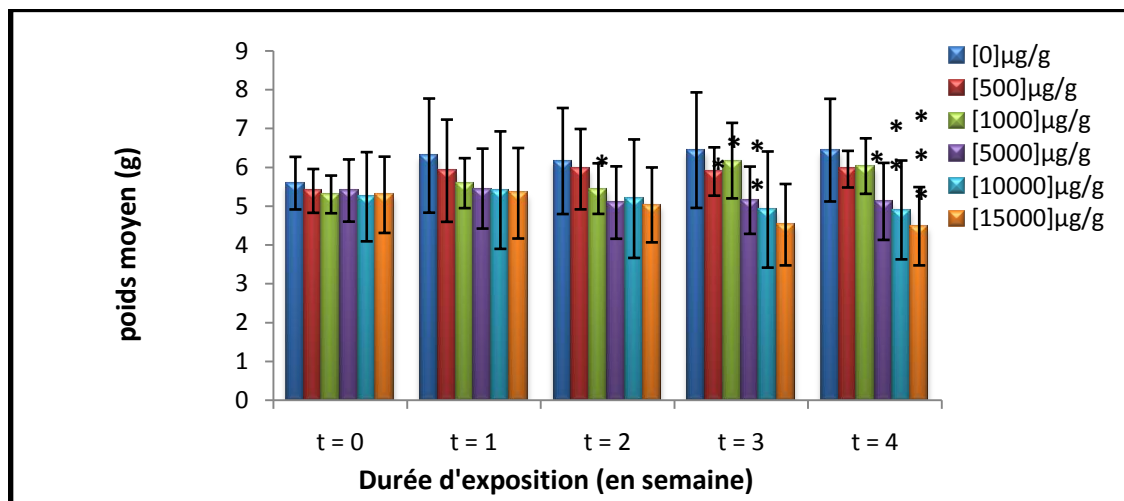


Figure 03 : Effet du ZnO sur l'évolution du poids moyen des escargots *Helix aspersa* en fonction du temps.

2-Effet dose-réponse du ZnO sur la croissance des escargots :

L'examen de la figure (04) montre qu'il apparaît des différences de croissance entre les lots, qui sont d'autant plus importantes que la concentration en ZnO dans l'aliment est élevée et que la durée de l'exposition aux xénobiotiques augmente. On remarque qu'il y a une augmentation du coefficient de croissance en fonction du temps pour le témoin et les traités par les concentrations (500 $\mu\text{g/g}$, 1000 $\mu\text{g/g}$) et une diminution du coefficient de croissance chez les escargots traités par les concentrations (5000 $\mu\text{g/g}$, 10000 $\mu\text{g/g}$, 15000 $\mu\text{g/g}$), la plus forte concentration qui n'exerce pas d'effet inhibiteur sur la croissance, est de 1000 $\mu\text{g/g}$; (NOEC = 5000 $\mu\text{g/g}$), et la plus faible concentration, qui ralentit significativement la croissance, est de 1000 $\mu\text{g/g}$; (LOEC = 5000 $\mu\text{g/g}$).

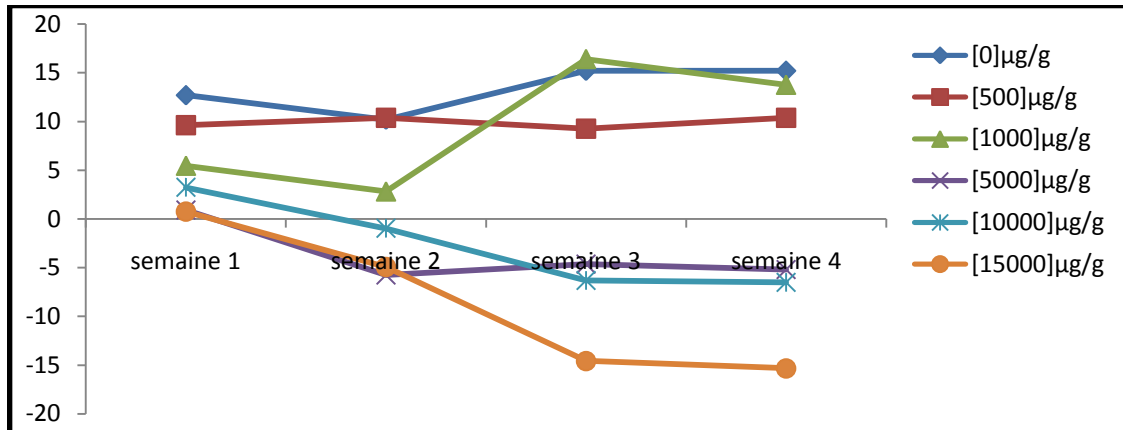


Figure 04 : Coefficient de croissance de *Helix aspersa* en fonction en fonction du temps.

Tableau 01 : Concentration estimées de ZnO qui inhibent la croissance des escargot de 50% (CE50), de 75% (CE75), de 90% (CE90), de 100% (CE100) au cours des quatre semaines de l'expérience.

Temps	Concentration de ZnO (µg /g) pour :
Semaine 1	NOEC= 5000µg/g ; LOEC= 1000 µg/g Entre 500 à 15000 µg/g ; l'inhibition de la croissance suivant l'équation de régression suivante : $Y = 8,6554 - 0,0006 * X$; ($r^2 = 0.59$) EC50 = 3842.33 µg/g ; EC75 = 9134 µg/g EC90 = 12309 µg/g ; EC100 = 14425.67 µg/g
Semaine 2	NOEC= 5000µg/g ; LOEC= 1000 µg/g Entre 500 à 15000 µg/g ; l'inhibition de la croissance suivant l'équation de régression suivante : $Y = 6,6544 - 0,0009 * X$; ($r^2 = 0.58$) EC50 = 1727.11 µg/g ; EC75 = 4560.44 µg/g EC90 = 6260.44 µg/g ; EC100 = 7393.78 µg/g
Semaine 3	NOEC= 5000µg/g ; LOEC= 1000 µg/g Entre 500 à 15000 µg/g ; l'inhibition de la croissance suivant l'équation de régression suivante : $Y = 12,8595 - 0,002 * X$; ($r^2 = 0.87$) EC50 = 2624.75 µg/g ; EC75 = 4529.75 µg/g EC90 = 5669.75 µg/g ; EC100 = 6429.75 µg/g
Semaine 4	NOEC= 5000µg/g ; LOEC= 1000 µg/g Entre 500 à 15000 µg/g ; l'inhibition de la croissance suivant l'équation de régression suivante : $Y = 12,4166 - 0,002 * X$; ($r^2 = 0.90$) EC50 = 2403.3 µg/g ; EC75 = 4308.3 µg/g EC90 = 5448.3 µg/g ; EC100 = 6208.3 µg/g

3-Effet du ZnO sur le taux mortalité:

Les pourcentages cumulatifs de mortalités des escargots traités par le ZnO pendant quatre semaines ont révélé que le pourcentage de mortalités augmente avec l'augmentation de la concentration de ZnO avec 30%, 50%, 40% de mortalités pour ceux traités respectivement par les concentrations (5000 µg/g, 10000 µg/g, 15000 µg/g) (Figure 05).

4-Effet du ZnO sur le poids des tissus moux:

La figure (06) illustre les variations du poids du tissus moux en présence de ZnO. Nous constatons une diminution dose-dépendante du poids des tissus moux dès la première concentration en présence de xénobiotique.

5-Effet du ZnO sur le poids de la coquille:

La figure (07) illustre les variations du poids de la coquille en présence de ZnO. On remarque que le poids de la coquille diminue d'une manière non significative chez les escargots traités avec la concentration 500 µg/g

par rapport aux témoins, cependant le poids de la coquille diminue respectivement d'une manière dose – dépendante est significative, hautement significative à très hautement significative pour ceux traité par les concentrations (1000 et 5000 µg/g),(1000 µg/g) et (15000 µg/g) par rapport aux témoins.

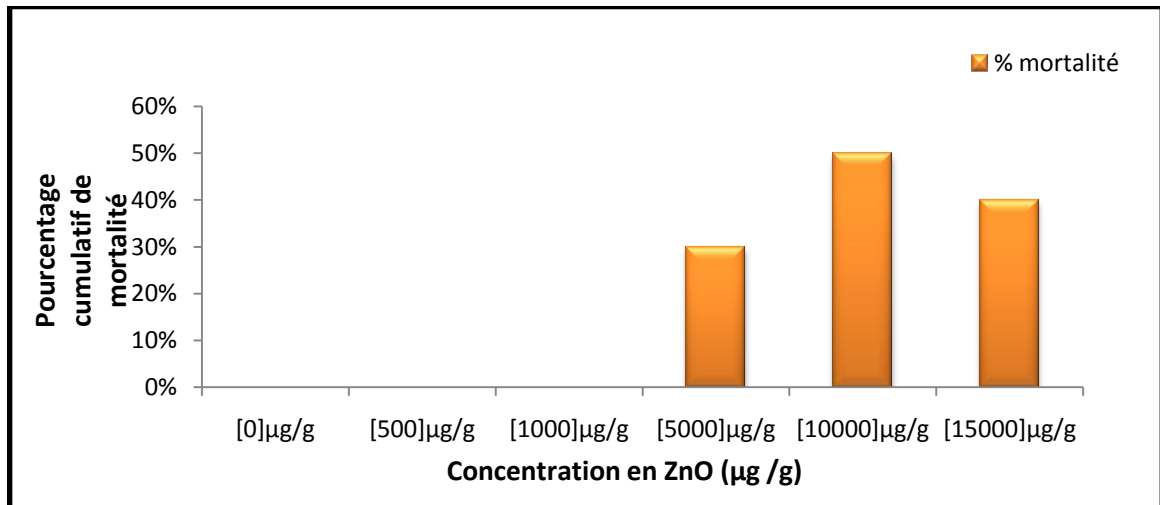


Figure 05 : Pourcentage cumulatif de mortalité des escargots *Helix aspersa* en fonction des concentrations croissantes de ZnO.

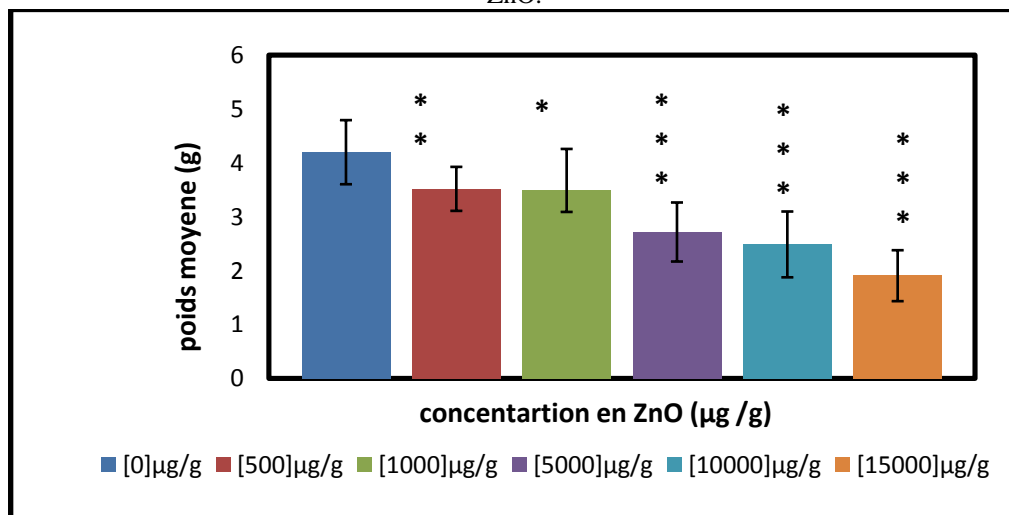


Figure 06 : Evolution du poids moyen des tissus mous des escargots *Helix aspersa* en fonction des concentrations croissantes en ZnO.

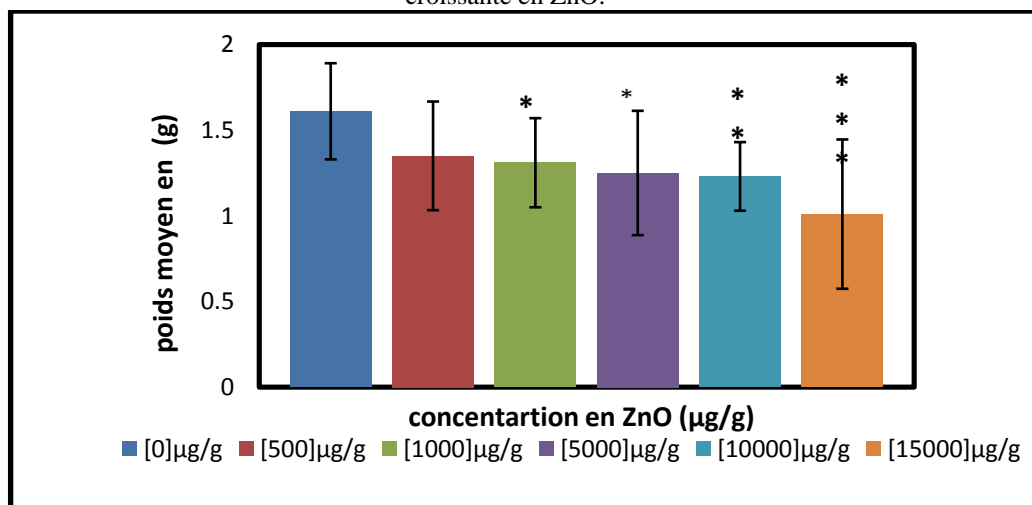


Figure 07 : Evolution du poids moyen de la coquille des escargots *Helix aspersa* en fonction des concentrations croissantes en ZnO.

Les nanoparticules peuvent se retrouver dans tous les compartiments environnementaux (eau, sol, air). Par conséquent, l'ensemble des espèces de la chaîne alimentaire, peut être exposé aux nanoparticules. L'accumulation de polluants anthropogéniques dans le réseau trophique avait déjà été montrée, il est important d'évaluer le comportement des nanoparticules manufacturées dans les populations d'organismes constituant les premiers maillons de la chaîne alimentaire [13,1].

L'utilisation des invertébrés pour l'évaluation de la qualité des écosystèmes a une longue histoire dans les milieux aquatiques et terrestres. Les Gastéropodes Pulmonés sont des indicateurs écologiques pertinents de la pollution métallique et organique de l'écosystème terrestre. Les biomarqueurs constituent un outil biologique naturel qui peut signaler la pollution d'un milieu ainsi que la biodisponibilité des substances toxiques [14].

L'utilisation de l'escargot *Helix aspersa*, comme modèle d'étude de la toxicité des nanoparticules trouve ici un premier argument [15,16], l'escargot Petit Gris *Helix aspersa*, connu pour ses capacités à accumuler les polluants (Zn, Cu, Pb.....) à des concentrations importantes dans ses tissus [17].

Pal et al. [18] avance que la toxicité des nanoparticules est due à leur forme, d'autres études ont révélé que la toxicité des nano-objets était en fonction de la taille ou de l'état d'agglomération [19-21]. D'autres études suggèrent un effet de la dissolution des nanoparticules, notamment pour les ZnO. La toxicité proviendrait de la libération des ions Zn^{2+} . Ces travaux justifient que, tout au long de cette étude, la toxicité des nanoparticules sera comparée à celle des ions Zn^{2+} apportés. Ainsi, la forme, la taille, l'état d'agrégation et la chimie peuvent avoir des effets toxiques différents en fonction des organismes (animales, bactéries, cellules humaines...) avec lesquels les nanoparticules sont mises en contact. Les conditions expérimentales différentes peuvent également induire des résultats de toxicité différents [22].

Dans ce travail, nous avons étudié la contribution d'une voie d'exposition des escargots, écologiquement représentatives, dans la détermination de la bioaccumulation et des effets toxiques des nanoparticules de ZnO. Cette expérience nous a permis de mettre en évidence les relations entre la bioaccumulation de ZnO et les effets toxiques qu'ils induisent en fonction de la matrice d'exposition. Ensuite, nous avons complété les connaissances sur les effets des nanoparticules sur l'escargot *Helix aspersa* en recherchant des effets dose-dépendantes sur les paramètres morpho physiologiques (poids, coquille, organes) d'individus exposés aux molécules de ZnO.

Dans notre travail nous avons choisi comme modèle biologique *Helix aspersa* et nous avons noté en premier lieu une diminution de la masse corporelle chez les animaux traités par les différentes concentrations de ZnO ce qui constitue un premier indice de toxicité. Ce résultat est en accord avec les travaux de Laskowski et Hopkin [23] concernant l'effet du Zn, Cu et Cd sur *Helix aspersa* et de Coeurdassier et al. [8] qui ont étudié l'effet du Chrome sur *Helix aspersa*. Cette perte de poids peut être expliquée par la diminution de la consommation alimentaire que nous avons constatée particulièrement chez les animaux traités par les différentes concentrations de ZnO. Comme le stipule Laskowski et Hopkin [24].

Concernant le poids de la coquille, nous notons une diminution dose – dépendante en présence d'oxyde de Zinc. Les ions Zinc (le Zn^{+2} libéré) sont connus pour leur toxicité directe en liaison avec, par exemple, des dommages irréversibles sur certaines enzymes ou sur l'ADN, ils peuvent également perturber de manière indirecte des processus physiologiques importants en entrant en compétition avec certains éléments essentiels tels que le calcium (Ca) [25]. L'influence de ces interactions a été évoquée pour expliquer les inhibitions de croissance des escargots exposés aux sols artificiels contaminés par du Cd [11]. Concernant l'évolution des deux diamètres de la coquille, nous notons une diminution dose - dépendante de ce facteur en présence de ZnO, ces résultats vont dans le sens de ceux de Coeurdassier et al. [17] qui a mis en évidence une perturbation des diamètres de la coquille des escargots après exposition au diméthoate (pesticide à base d'organophosphorés). D'autres travaux confortent nos résultats ceux de Grara et al. [26] qui ont mis en évidence une diminution du poids de la coquille en présence des poussières métalliques.

L'autre facteur important pris en compte dans cette partie, concerne le suivi du poids des tissus moux, nous avons mis en évidence une diminution dose –dépendante du poids des tissus moux en présence de ZnO ce qui peut être expliqué par la compétition entre les ions Calcium et les ions Zn^{+2} libéré comme le suggère Coeurdassier et al. [17] qui a mis en évidence une inhibition du poids des tissus moux des escargots après exposition au diméthoate. Nos résultats sont en accord avec ceux de Grara et al. [26]

Nos résultats mettent en évidence que le pourcentage cumulatif de mortalité des individus exposés aux concentrations croissantes aux xénobiotiques testés est dose-dépendante. Les résultats concernant les effets du ZnO sur la mortalité et la croissance des escargots apportent des données originales sur la toxicité du ZnO pour des gastéropodes terrestres exposés pendant plusieurs semaines [10]. Ces résultats sont en accord avec ceux de El Gendy et al. [27] qui ont mis en évidence qu'à des doses élevées, le pourcentage cumulatif de mortalité est

prononcé, pour *T. pisana* traité par des concentrations croissantes de Zn et Cu après exposition de (5 semaines) est de (73.3%) contrairement aux travaux d'Amusan et al. [28] qui ont montré que le cuivre et le plomb à des faibles doses, aucun niveau de mortalité est observé chez le gastéropode *Limicolaria flammea* mais à des doses élevées, le pourcentage cumulatif de mortalité est prononcé, pour *T. pisana* traité par des concentrations croissantes de Zn et Cu après exposition de (5 semaines) est de (73.3%) [27,28].

Conclusion

Au terme de ce Travail, nous pouvons conclure que l'espèce *Helix aspersa* est sensible à la présence des nanoparticules métalliques à base de ZnO, cette sensibilité s'est manifestée par :

- Augmentation du pouvoir cumulatif des individus exposés, une perturbation dans le développement des escargots exposés à travers une diminution de la masse corporelle, du poids des tissus moux, ainsi qu'une diminution du poids de coquille.
- En définitive, nos expériences montrent que les escargots répondent bien aux critères des bioindicateurs pour participer à la biosurveillance (biomonitoring) de l'environnement par les nanoparticules.
- De plus, les escargots sont des espèces comestibles par l'homme et peuvent occasionner des concentrations importantes en particule nanométrique, risquant de contaminer l'homme.

Références

1. Angélique S. D., Thèse de Doctorat, Agro Paris Tech, France (2008) 194.
2. Peters A., Wichmann H. E., Tuch T., Heinrich J. and Heyder J. *Am J Respir Crit Care Med* 155(4) (1997) 1376-83.
3. Brunekreef B., *Occup Environ Med*, 54(11) (1997) 781-784.
4. Coeurdassier M., Thèse de doctorat, université de franche comté, France (2001) 281.
5. Carpenter D.O., *Cell Mol Neurobiol*, 6 (1997) 591-597.
6. Zalaghi A., Lamchouri F., Toufik H., Merzouki M., *J. Mater. Environ. Sci.* 5 (5) (2014) 1643-1652
7. Grara N., Atailia A., Boucenna M., Berrebbah H., Djebbar M. R., *Environnement Risque et Santé*. 11, N° 3 (2012) 222
8. Coeurdassier M., Gomot-de Vaufleury A., Badot P.M., 2000. *Envir. Toxicol. Chem.*, 19 (2000) 2571-2578.
9. Bouloudenine, M., Thèse de Doctorat en Physique des Semi-conducteurs, Univ. Badji Mokhtar de Annaba, (2006) 186.
10. Coeurdassier, M., Gomot-de Vaufleury, A., Lovy, C., Badot, P.M., 2002. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 53 (2002) 425-431.
11. Gomot A., *Bull. Acad. Natle.Méd* , 181 (1997) 59-75.
12. Dagnelie P., Statistiques théoriques et appliquées. Tome2 : Références statistiques à une et à deux dimensions. Bruxelles. *Univ De boeck et Larcier* (1999) 659.
13. Thomann R. V., *Environmental Science & Technology* 23 (1989) 699-707.
14. Hamdi-Ourfella A. N., Soltani N., *J. Mater. Environ. Sci.* 5 (S2) (2014) 2527-2533
15. Valérie S., Thèse de Doctorat , Institut de Physique du Globe de Paris, Université Paris Diderot, (2009) 266.
16. Scheifler R., Thèse de doctorat, Université de Franche-Comté, Besançon, France (2002) 196
17. Coeurdassier M., Saint-Denis M., Gomot-de Vaufleury A., Ribera D., Badot P.M., *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20,57 (2001) 1951-19.
18. Pal S., Tak Y. K. & Song J. M., *Applied and environmental microbiology* 73(6) (2007) 1712-1720.
19. Huang L., Li D. Q., Lin Y. J., Wei M., Evans D. G. & Duan X., *Journal of Inorganic Biochemistry* 99(5) (2005) 986-993.
20. Lyon D. Y., Adams L. K., Falkner J. C. & Alvarez P. J. J. *Environmental Science & Technology* 40(14) 4360-4366 (2006).
21. Makhluif S., Dror R., Nitzan Y., Abramovich Y., Jelinek R. & Gedanken A. *Advanced Functional Materials* 15(10) (2005) 1708-1715.
22. Franklin N., M. Rogers N. J., Apte S. C. Batley G. E., Gadd G. E. & Casey, *Environmental Science & Technology* 41(24) (2007) 8484-8490.
23. Laskowski R., Hopkin, P., *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 34 (1995 a) 59-69
24. Laskowski R., Hopkin, P., *Environmental Pollution*, 91(1995 b) 289-297
25. Molnár G., Salánki, J., Kiss, T., *Brain Res.* 1008 (2004) 205-211.
26. Grara N., Atailia A., Boucenna M., Berrebbah H., Djebbar M. R., *Advances in Environmental Biology* 6(2) (2012) 605-611
27. El-Gendy. K. S., Radhwan. M. A., Gad. A. F. *Arch Environ Contam Toxicol* 60 (2011) 272-280
28. Amusan AAS., Anyaele OO., Lasisi AA., *Afr J Biomed Res* 5 (2002) 47-50.

(2015) ; <http://www.jmaterenvirosci.com/>