

UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP - DAKAR

—
 ECOLE INTER-ETATS DES SCIENCES ET MEDECINE VETERINAIRES
 (E. I. S. M. V)
 —

ANNEE 1990 - N° 9



ECOLE INTER-ETATS
 DES SCIENCES ET MEDICINE
 VETERINAIRES DE DAKAR
 BIBLIOTHEQUE

**RELATION ENTRE CHOLINESTERASES ET
 LIPOPROTEINES DURANT LES INTOXICATIONS PAR
 LE FENITROTHION (INSECTICIDE ORGANOPHOSPHORE)
 CHEZ LE CHIEN**

●
 THESE

présentée et soutenue publiquement le 27 Juin 1990
 devant la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Dakar
 pour obtenir le grade de DOCTEUR VETERINAIRE
 (DIPLOME D'ETAT)

par
 Abraham EZIN
 né le 21 Janvier 1961 à MADAOUA (NIGER)

Président du Jury : M. François DIENG
 Professeur à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Dakar
 Directeur de Thèse et Rapporteur : M. François Adébayo ABIOLA
 Professeur agrégé à l'E.I.S.M.V de Dakar
 Membres : M. Germain Jérôme SAWADOGO
 Professeur agrégé à l'E.I.S.M.V de Dakar
 : M. Pape El Hassan DIOP
 Professeur agrégé à l'E.I.S.M.V de Dakar

LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT

*** PERSONNEL A PLEIN TEMPS**

1-ANATOMIE-HISTOLOGIE-EMBRYOLOGIE

Kondi M.	AGBA	Maître de Conférences Agrégé
Jacques	ALAMARGOT	Assistant
Amadou	NCHARE	Moniteur

2- CHIRURGIE-REPRODUCTION

Papa El Hassane	DIOP	Maître de Conférences Agrégé
Frank	ALLAIRE	Assistant
Nahé	DIOUF (Melle)	Moniteur

3-ECONOMIE-GESTION

CHEICK	LY	Assistant
--------	----	-----------

4- HYGIENE ET INDUSTRIE DES DENREES ALIMENTAIRES D'ORIGINE ANIMALE

Melang	SEYDI	Maître de Conférences Agrégé
Ibrahima	SALAMI	Moniteur

5- MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE PATHOLOGIE-INFECTIEUSE

Justin Ayayi	AKAKPO	Maître de Conférences Agrégé
Rianatou	ALAMBEDJI (Mme)	Assistante
DRISSOU-BAPETEL		Moniteur

6- PARASITOLOGIE-MALADIES PARASITAIRES-ZOOLOGIE

Louis Joseph	PANGUI	Maître de Conférences Agrégé
Jean	BELOT	Assistant
Charles	MANDE	Moniteur

7- PATHOLOGIE MEDICALE-ANATOMIE PATHOLOGIQUE ET CLINIQUE AMBULANTE

Théodore	ALOGNINOJWA	Maître de Conférences Agrégé
Roger	PARENT	Maître-Assistant

Jean	PARANT	Maître-Assistant
Yalacé Y.	KABORET	Assistant
Lucien	MBEURNODJI	Moniteur

8- PHARMACIE-TOXICOLOGIE

François Adébayo	ABIOLA	Maître de Conférences Agrégé
Moctar	KARIMOU	Moniteur

9- PHYSIOLOGIE-THERAPEUTIQUE-PHARMACODYNAMIE

Alassane	SERE	Professeur titulaire
Moussa	ASSANE	Maître-Assistant
Mohamadou M.	LAWANI	Moniteur
Lota Dabio	TAMINI	Moniteur

10- PHYSIQUE ET CHIMIE BIOLOGIQUE ET MEDICALES

Germain Jérôme	SAWADOGO	Maître de Conférences Agrégé
ADAM	ABOUNA	Moniteur

11- ZOOTECHNIE-ALIMENTATION

Kodjo	ABASSA	Assistant
Mobinou A.	ALLY	Moniteur

CERTIFICAT PREPARATOIRE AUX ETUDES VETERINAIRES

Tchala	KAZIA	Moniteur
--------	-------	----------

*** PERSONNEL VACATAIRE**

- Biophysique

René	NDOYE	Professeur Faculté de Médecine et de Pharmacie Université Ch. A. DIOP
Jacqueline	PIQUET (Mme)	Chargée d'enseignement Faculté de Médecine et de Pharmacie Université Ch. A. DIOP
Alain	LECOMTE	Maître-Assistant Faculté de Médecine et de Pharmacie Université Ch. A. DIOP
Sylvie	GASSAMA (Mme)	Maître de Conférences Agrégée Faculté de Médecine et de Pharmacie Université Ch. A. DIO

*** PERSONNEL EN MISSION**

(Prévu pour 1989-1990)

- PARASITOLOGIE

Ph.	DORCHIES	Professeur ENV -TOULOUSE
L.	KILANI	Professeur ENV SIDI THABET (TUNISIE)
S.	GEERTS	Professeur Institut Médecine Vétérinaire Tropicale -ANVERS (Belgique)

- PATHOLOGIE PORCINE ANATOMIE PATHOLOGIQUE GENERALE

A.	DEWAELE	Professeur Faculté Vétérinaire de CURCHEM Université de LIEGE (Belgique)
----	---------	--------------------------------------------------------------------------------

JE

DEDIE

CE

TRAVAIL

A mon père EZIN Martinien,

A ma mère HADJIA BOUZOUA

A ma belle mère OBOGNON Denise

Faible témoignage de mon affection

A mon frère AZIZ

A mes sœurs Aïssata, Mariama, Agani

Pour le soutien indéfectible à votre cadet

A la mémoire de ma petite sœur Zeinabou dite ABOU Lélé

A tous mes frères et sœurs pour l'unité familiale

Aux familles COMBARY, Etienne SIDIBE, René JOLY Mahomane

Toute ma gratitude

Au Médecin Capitaine Mame Banda DIOUF, A SEYE Mohamed

Aux Docteurs BROUZES, GENDREAU de l'Hôpital NECKER

Toute ma reconnaissance

A mes ami (es)

A tous ceux qui m'ont soutenu

A toutes mes connaissances

A tous les Etudiants Nigériens à DAKAR

A tous mes aînés sortis de DAKAR et à tous les Etudiants Vétérinaires Nigériens

L'esprit de solidarité qui nous a animés tout au long de ces années est à n'en pas douter le présage d'une saine collaboration sur le terrain.

A tous, toutes mes Amitiés

A tous les Etudiants de l'EISMV

A mon Pays le Niger et à tous ces Pays, membres de l'EISMV

Pour la pérennité de cette Institution.

A NOS MAITRES ET JUGES

Monsieur François DIENG

**Pour le grand honneur que vous nous faites en prési-
dant notre jury de thèse .**

Hommages respectueux.

Monsieur François Adéboyo ABIOLA

**Vous nous avez inspiré ce sujet de thèse et vous l'avez
conduit et suivi avec minutie. Après de vous, nous
avons trouvé autant de disponibilité, de compréhension
que de rigueur et de doigté dans le travail.**

Profonde gratitude.

Monsieur Germain Jérôme SAWADOGO

**Nous vous remercions pour l'honneur que vous nous
faites en acceptant d'être dans notre jury de thèse.
Profonde gratitude.**

Monsieur Papa El Hassan DIOP

**La spontanéité avec laquelle vous avez accepté de
siéger dans notre jury de thèse nous honore beaucoup.
Sincères remerciements et profonde reconnaissance.**

A tous les maîtres de cette Ecole.

REMERCIEMENTS

A Madame DIDUF, Documentaliste à l'EISMV

A Soni, Mahamedou, Moctar, Ademoui, Architectes

Au Docteur Paul Houeto

A tout le personnel du Département de Pharmacie-Toxicologie.

Par délibération, la Faculté et l'Ecole ont décidé que les opinions émises dans les dissertations qui leur seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elles n'entendent leur donner aucune approbation ni improbation .

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION

PREMIERE PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES INSECTICIDES ORGANOPHOSPHORES

I-1 : DEFINITION

I-2 : STRUCTURE ET CLASSIFICATION

I-2-1 : Les phosphates

I-2-2 : Les thionophosphates

I-2-3 : Les thionothiophosphates

I-2-4 : Les phosphates

I-2-5 : Les phosphoramides

I-3. LES PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES

I-3-1 : Les propriétés physiques

I-3-2 : Les propriétés chimiques

I-4 : USAGES

I-4-1 : Usages agricoles

I-4-2 : Usages sanitaires

I-4-3 : Usages thérapeutiques

I-5 : INTOXICATION CHEZ LES ANIMAUX

I-5-1 : Toxicocinétique

I-5-1-1 : Absorption

I-5-1-2 : Transport et distribution

I-5-1-3 : Réactions de biotransformation

I-5-1-4 : Elimination

I-5-2 : Etude toxicologique

I-5-2-1 : Circonstances d'intoxication

- I-5-2-1 -1 : Intoxication d'origine accidentelle
- I-5-2-1-2 : Intoxication d'origine thérapeutique
- I-5-2-1-3 : Intoxications malveillantes
- I-5-2-2 : Toxicité et facteurs de variation de la toxicité
- I-5-2-3 : Etude clinique des intoxications
 - I-5-2-3-1 : Mécanisme d'action des insecticides organophosphorés
 - A- Rappels physiologiques
 - B- Mécanisme d'hydrolyse de l'Ach par l'acétylcholinestérase
 - C- Mécanisme d'action
 - I-5-2-3-2 : Les symptômes des intoxications
 - I-5-2-3-2-1 : Symptômes à court terme
 - I-5-2-3-2-2 : Symptômes à long terme
 - I-5-2-3-3 : Diagnostic des intoxications
 - I-5-2-3-4 : Traitement des intoxications
 - A- Traitement spécifique
 - B- Traitement symptomatique et éliminatoire

CHAPITRE II : LES LIPIDES ET LIPOPROTEINES

II-1 : LES LIPIDES

- II-1-1 : Définition et classification
- II-1-2 : Les lipides simples
 - II-1-2-1 : Les glycérides
 - II-1-2-2 : Les cériques
 - II-1-2-3 : Les stérides
 - II-1-2-4 : Les autres lipides simples
- II-1-3 : Les lipides complexes
- II-1-4 : Métabolisme des lipides
 - II-1-4-1 : Métabolisme des triglycérides
 - II-1-4-2 : Métabolisme stérides

DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE

CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODE D'ETUDE

I-1 : MATERIEL D'ETUDE

I-1-1 : Les animaux

I-1-2 : L'insecticide organophosphoré

I-1-3 : Le matériel technique et de laboratoire

1/ Les appareils

2/ Les réactifs

- Solution tampon

- Solution de D.T.N.B.

- Les Substrats

- Les enzymes

3/ Autres matériels

I-2 : METHODE D'ETUDE

I-2-1 : Protocole de l'administration du fénitrothion

I-2-1-1 : Dose du fénitrothion

I-2-1-2 : Voie d'administration

I-2-1-3 : Protocole de prélèvements de sang des animaux intoxiqués

I-2-2 : Technique de prélèvements de sang

I-2-3 : Mode opératoire de titrage

I-2-3-1 : Mesure de l'activité cholinestérasique

- Principe

- Méthode

- Détermination de l'hydrolyse non enzymatique des substrats

- Méthode de calcul

I-2-3-2 : Dosage des lipides et lipoprotéines

1/ Dosage du cholestérol total

2/ Dosage des triglycérides

II-1-4-3 : Métabolisme des sphingolipides

II-1-4-4 : Catabolisme des glycérophospholipides

II-2 : LES LIPOPROTEINES

II-2-1 : Définition

II-2-2 : Structure des lipoprotéines

II-2-3 : Classification des lipoprotéines plasmatiques

II-2-3-1 : Ultracentrifugation de flottation

a/ Lipoprotéines lourdes

b/ Lipoprotéines légères

c/ Lipoprotéines très légères

d/ Chylomicrons et lipomicrons

II-2-3-2 : Electrophorèse de zone

a/ Les Alpha Lipoprotéines

b/ Les Beta Lipoprotéines

c/ Les Pré Béta Lipoprotéines

d/ Les chylomicrons

II-2-3-3 : Classification selon les Apolipoprotéines

II-2-4 : Composition des lipoprotéines plasmatiques

II-2-4-1 : Les lipides

II-2-4-2 : Les protéines

II-2-5 : Métabolisme des Lipoprotéines du chien

II-2-5-1 : Métabolisme des chylomicrons

II-2-5-2 : Métabolisme des VLDL

II-2-5-3 : Métabolisme des LDL

II-2-5-4 : Métabolisme des HDL

II-3 : RELATIONS ENTRE PSEUDOCHEMINESTERASES ET LIPOPROTEINES

3/ Dosage de HDL cholestérol

4/ Dosage de LDL cholestérol

CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSION

II-1 : DES RESULTATS

II-1-1 : Résultats du dosage de l'activité cholinestérasique

II-1-2 : Résultats du dosage des lipides et lipoprotéines

II-2 DISCUSSION

II-2-1 : Du choix des animaux

II-2-2 : De la conduite de l'expérimentation

- Nombre relativement faible d'animaux

- Age des animaux

II-2-3 : Des résultats

1/ De l'activité cholinestérasique du plasma

a/ avec l'acétylcholine

b/ avec le propionylthiocholine

c/ confrontation avec les résultats bibliographiques

2/ De dosages des lipides et lipoprotéines: confrontations avec les résultats bibliographiques

3/ Comparaison entre fluctuations de l'activité cholinestérasique et fluctuations des taux lipoprotéiques

CONCLUSION GENERALE

BIBLIOGRAPHIE



INTRODUCTION

De nombreux travaux consacrés à l'intoxication par les insecticides organophosphorés aussi bien chez l'homme que chez les animaux montrent que parmi les méthodes de diagnostic de ces intoxications, les méthodes de laboratoire restent les plus fiables en particulier les méthodes indirectes compte tenu de l'instabilité de ces substances dans l'organisme comme dans le milieu extérieur.

La technique utilisée est la mesure de l'activité cholinestérasique qui subit une dépression dès les premières heures qui suivent l'intoxication.

Chez l'homme des techniques d'histochimie, d'immunoélectrophorèse et d'autres dosages effectués sur les sérums ont montré que les cholinestérases sériques pouvaient former des complexes avec les lipides et les lipoprotéines (42). Ainsi des travaux réalisés sur des lapins intoxiqués au Dichlorvos, un insecticide organophosphoré ont montré que parallèlement à la diminution de l'activité cholinestérasique, certains constituants lipoprotéiques tels le cholestérol et les lipoprotéines à densité faible (LDL) subissent les mêmes variations (12).

L'objet de ce travail est d'étudier après intoxication expérimentale du chien par le fénitrothion, les inter-relations énumérées ci-dessus afin de pouvoir disposer d'autres éléments biologiques en plus en cas d'intoxication.

Ce travail est divisé en deux parties :

La première partie est une étude bibliographique sur les insecticides organophosphorés, les lipides et les lipoprotéines

La deuxième partie est consacrée à nos propres observations concernant la mesure de l'activité cholinestérasique et le dosage des lipides et lipoprotéines du plasma.

PREMIERE PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Cette partie comporte deux chapitres

- **Le premier traite des généralités sur les insecticides organo-phosphorés,**
- **Le deuxième brosse les données sur les lipides, les lipoprotéines et les inter-relations entre ces constituants et les cholinestérasés**

CHAPITRE I : GÉNÉRALITÉS SUR LES INSECTICIDES ORGANOPHOSPHORÉS

I-1. Définition

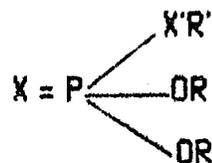
Les insecticides organophosphorés sont des composés organiques de synthèse.

Ils dérivent de l'acide orthophosphorique et ont une structure aliphatique, cyclique ou Hétérocyclique. Ils sont doués de propriétés anticholinestérasiques, base de leur activité mais aussi de leur toxicité.

Ils présentent un intérêt agricole et médical en raison de leur liposolubilité et de leur faible stabilité dans le milieu extérieur d'où leur utilisation massive génératrice d'intoxications surtout chez les bovins.

I-2 Structure et classification

La structure générale des insecticides organophosphorés est représentée comme suit :



X et X' sont des atomes d'oxygène ou de soufre

R et R' sont des radicaux aliphatiques ou aromatiques

Cette structure constitue actuellement le principal critère de leur classification en trois groupes :

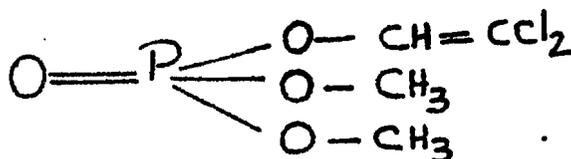
I-2-1 : Les phosphates $X = O$ $X' = O$

Exemples

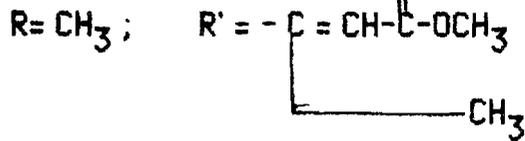
Dichlorvos ou DDVP (ND Vepona, Atgard)

$R = CH_3$, $R' = CH = CCl_2$

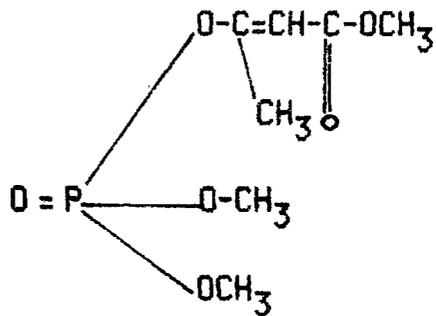
Cette structure lui confère le nom chimique de Diméthyl dichlorovinyl phosphate



Mévinphos



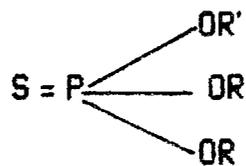
Ce qui donne la structure suivante:



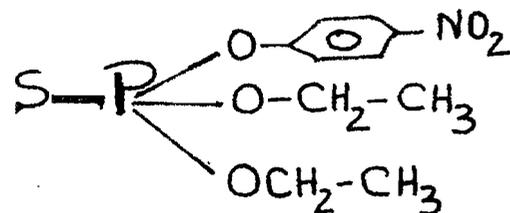
O,O diméthyl - O- (1 Carbométhoxy 1 Propen 2 yl) phosphate
commercialisé sous le nom de PHOSDRIN

1-2-2. Les Thionophosphates $X=\text{S}$ $X'=\text{O}$

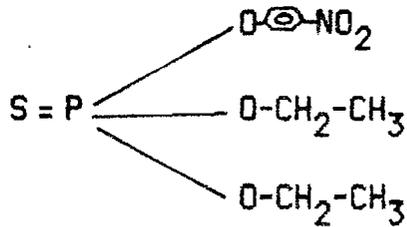
C'est le groupe le plus important des organophorés



Exemple : Parathion avec $R = \text{CH}_2 - \text{CH}_3$ $R' = \text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$

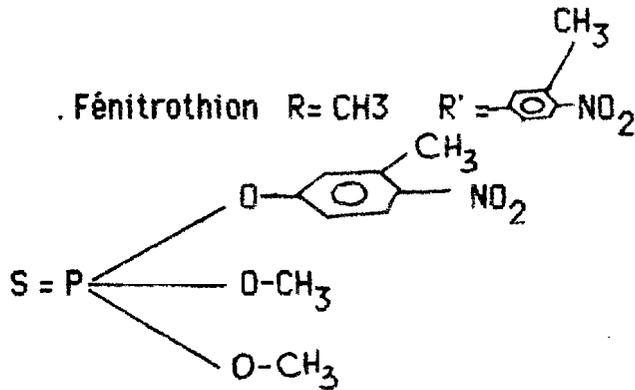


ce qui donne la formule suivante :



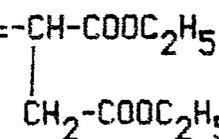
(Diméthyl paranitrophényl thionophosphate)

C'est l'un des plus toxiques parmi les insecticides organophorés.

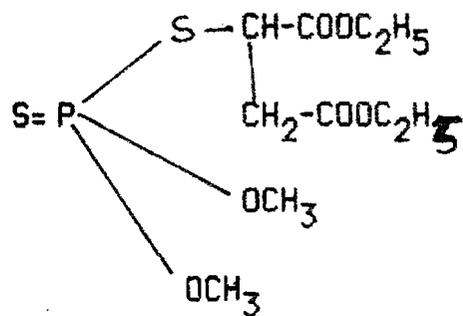


Méthyl 3 nitro 4 phényl phosphorothionate de diméthyl)

1-2-3. Les Thionthiophosphates $\text{X} = \text{S}$ $\text{X}' = \text{S}$

Exemple : Malathion $\text{R} = \text{CH}_3$ $\text{R}' =$ 

ce qui donne la formule suivante :

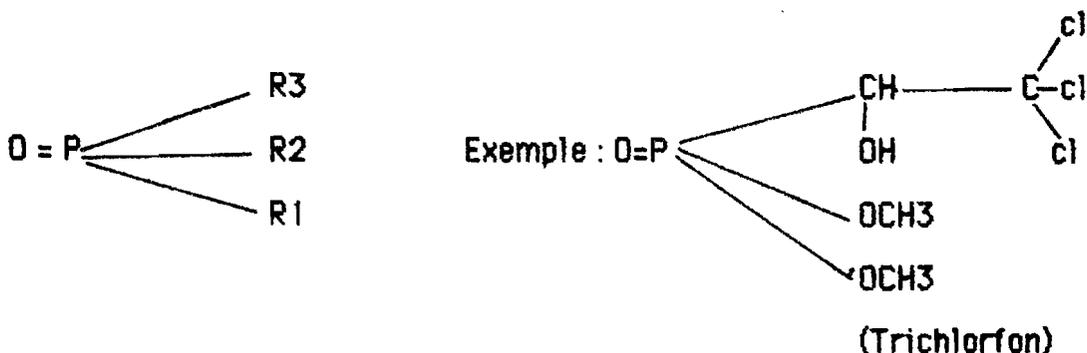


C'est le composé le moins toxique d'où son utilisation dans les locaux agricoles contre les ectoparasites du bétail.

1-2-4. Les phosphonates

Ici il existe une fonction phosphate - carbone .

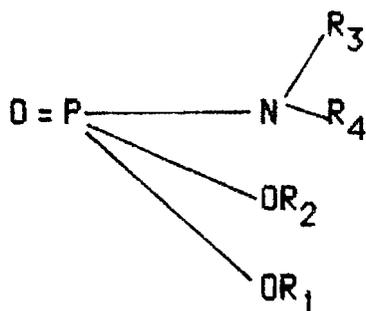
Leur formule générale s'écrit comme suit :



Trichloro 2,2,2 hydroxy 1 éthyl phosphonate de diméthyl.

1-2-5. Les phosphoramides

Leur formule est la suivante :



Exemple : Le crufomate (RUELENE ND)

Insecticide endotherapique, très peu toxique, actif contre les parasites du bétail.

1-3. Les propriétés physico-chimiques

1-3-1. Les propriétés physiques

Les insecticides organophosphorés peuvent se présenter

- sous forme de solides cristallisés, blancs, ou sous forme de liquides visqueux incolores ou ambrés. les dérivés soufrés présentent une odeur alliagée.

Leur solubilité dans l'eau est très faible. Ils sont par contre très solubles dans la plupart des solvants organiques et dans les lipides (ce qui explique leur

pénétration percutanée).

Leur volatilité est relativement élevée et permet une pénétration respiratoire responsable d'assez nombreuses intoxications.

1-3-2. Les propriétés chimiques

Une des principales propriétés chimiques des insecticides organophosphorés est la réaction d'hydrolyse.

C'est cette réaction qui explique leur faible stabilité dans le milieu extérieur.

La vitesse de cette réaction est fonction de la molécule mais aussi des conditions de réaction tels que le pH, la température, la nature du solvant.

Ainsi les dérivés oxygénés sont plus facilement hydrolysés que les dérivés soufrés. L'augmentation de pH ou de température accroissent la vitesse de réaction.

Comme autres propriétés, nous pouvons citer les propriétés alkylantes et d'isomérisation.

Autre propriété non moins importante est la réaction d'oxydation qui permet in vivo de transformer certains dérivés soufrés en dérivés oxygénés plus actifs. Le parathion est transformé en Paraxon après oxydation.

1-4. Les propriétés antiparasitaires des organophosphorés reposent sur :

- leur liposolubilité qui leur permet de pénétrer facilement à travers la cuticule ou la muqueuse digestive des insectes, de même qu'à travers la peau ou la muqueuse digestive des animaux supérieurs. Après pénétration, ils sont ainsi transportés jusqu'aux centres nerveux.

- leurs propriétés anticholinestérasiques (responsables de la mort des parasites mais aussi des intoxications observées).

Les domaines d'utilisation peuvent se répartir en trois groupes.

1-4. 1 Usages agricoles

Les insecticides organophosphorés sont très utilisés en vue de la protection des semences et des traitements des cultures (légumes, fruits, céréales...) contre les insectes et les acariens.

1-4. 2 Usages sanitaires

Il s'agit de la désinsectisation des locaux d'habitation et d'élevage. Ils sont alors utilisés sous diverses formes:

- pulvérisation
- poudre pour épandage
- plaquettes à libération progressive

1-4. 3 Usages thérapeutiques

Il s'agit ici de la lutte contre les ectoparasites, du traitement des différentes myases et de la lutte contre les helminthoses.

1-5. Intoxication chez les animaux

1-5. 1 La toxicocinétique

Le devenir des insecticides organophosphorés dans l'organisme découle de deux propriétés essentielles : la liposolubilité et la faible stabilité chimique. La liposolubilité conditionne le passage à travers les membranes biologiques; elle règle l'absorption et la distribution des ces composés.

1-5-1-1. Absorption

Les insecticides organophosphorés pénètrent aisément l'organisme par toutes les voies d'absorption : digestive, pulmonaire ou cutanée. L'absorption pulmonaire est possible chez l'homme dans le cas des insecticides volatils. Chez les animaux, nous pouvons limiter le problème à deux voies principales : la voie digestive et la voie cutanée.

1-5-1-2. Transport et distribution

Lorsque les insecticides organophosphorés sont absorbés, ils sont véhiculés par le sang jusqu'aux divers organes où ils vont se localiser. Cette localisation est fonction de la teneur des organes en lipides. On les retrouve ainsi dans :

- les tissus nerveux où ils exercent leur activité toxique
- les tissus adipeux avec un certain temps de latence
- le foie où ils subissent des biotransformations très intenses en général.

Un taux très faible est retrouvé dans les muscles. Après s'être fixés, les insecticides organophosphorés vont subir des réactions de biotransformation.

1-5-1-3. Les réactions de biotransformation

Ce sont les réactions d'oxydation, d'hydrolyse, et de conjugaison.

1-5-1-3-1. Réactions d'oxydation

Ces réactions s'effectuent surtout dans le foie grâce aux systèmes enzy

matiques microsomaux. De nombreuses réactions oxydatives peuvent entrer en jeu comme les réactions de désalkylation, les réactions d'hydroxylation ou les réactions de désulfuration oxydative. Ce sont ces réactions de désulfuration oxydative qui transforment les insecticides organophosphorés soufrés en dérivés oxydés qui représentent la forme active mais toxique aussi.

Le parathion est oxydé en paraxon qui possède une activité anti-cholinestérasique mille fois supérieure du fait de l'augmentation du caractère électrophile de l'atome de phosphore.

1-5-1-3-2. Réactions d'hydrolyse

Ces réactions donnent naissance à des métabolites beaucoup moins toxiques que les composés de départ. Ce sont des réactions de détoxication vraie. Elles s'effectuent grâce à des estérases de différents types ou grâce à des amidases.

1-5-1-3-3. Réactions de conjugaison

Ce sont des réactions de glucurono et sulfo conjugaisons... Elles conduisent en général à une inactivation ou à une élimination des dérivés conjugués.

1-5-1-3-4. Élimination des insecticides organophosphorés

L'élimination des insecticides organophosphorés de l'organisme se fait essentiellement sous forme dégradée grâce aux réactions de biotransformation. Cette élimination se fait surtout par voie urinaire et beaucoup moins par voie biliaire. Elle est en général très rapide. Quarante huit heures après administration, plus de 90 p.100 de la dose absorbée est éliminée (35).

AU BILAN

Le métabolisme des insecticides organophosphorés est rapide et intense. Ce sont par opposition aux insecticides organochlorés (Lindane, DDT, HCH) des composés non cumulatifs facilement dégradés et éliminés. Ceci explique :

- la durée d'action relativement brève
- la relative brièveté d'évolution des intoxications
- la faible toxicité à long terme
- le taux, en général faible des résidus retrouvés dans l'alimentation

1-5-2. Etude toxicologique des insecticides organophosphorés

1-5-2-1. Circonstances d'intoxication

Les intoxications par les organophosphorés peuvent s'observer chez toutes les espèces animales. Elles frappent surtout les ruminants et plus particulièrement les bovins (35). Ces intoxications sont soit d'origine accidentelle, soit consécutive à un traitement anti-parasitaire. Elles peuvent dans certains cas être malveillantes.

1-5-2-1-1. Intoxication d'origine accidentelle

Diverses circonstances sont possibles dont l'ingestion directe de produits ou de préparations insecticides.

Dans le cas du chien, elles sont dues au fait que celui-ci commensal de l'homme est exposé comme son maître aux dangers d'un environnement chimique menaçant (44).

1-5-2-1-2. Intoxication d'origine thérapeutique

Ces intoxications surviennent surtout dans le cas de traitements antiparasitaires externes ou internes. A l'heure actuelle, en Europe où la chose est bien étudiée, la grande majorité des intoxications par les organophosphorés provient de traitements des animaux par la méthode "pour on".

Chez le chien, les colliers insecticides à base d'organophosphorés peuvent occasionner des accidents.

1-5-2-1-3. Intoxications malveillantes

Surtout fréquentes chez le chien, qui paye de sa vie quelques nuisances dont il est responsable (bruits, prédation, fugue) ou des animosités auxquelles il est totalement étranger (44).

1-5-2-2. Toxicité et facteurs de variation de la toxicité des insecticides organophosphorés

La toxicité des insecticides organophosphorés est extrêmement variable. On peut distinguer en fonction de la dose létale 50 (D.L.50) rat par voie per os :

*Insecticides hautement toxiques

Ce sont les insecticides dont la DL 50 rat est inférieure à 50 mg/kg

Exemple : le Parathion ; le Dichlorvos

*Les insecticides moyennement toxiques

Ils ont une DL 50 comprise entre 50 et 500 mg/kg

Exemple : le Fenthion, le Diméthoate

***Les insecticides faiblement toxiques**

Ils ont une DL 50 rat supérieure à 500 mg/kg

Exemple le Malathion

La sensibilité des animaux aux insecticides organophosphorés dépend des facteurs comme :

- facteurs tenant à l'animal

- . L'espèce animale
- . La race
- . Le sexe
- . L'âge

- facteurs tenant à l'environnement

Il s'agit des facteurs comme :

- . La température
- . La vitesse de l'air

1-5-2-3. Etude clinique des intoxications par les insecticides organophosphorés

Nous étudierons d'abord le mécanisme d'action des insecticides organophosphorés, ensuite les symptômes des intoxications.

1-5-2-3-1. Le mécanisme d'action des insecticides organophosphorés

Le mécanisme d'action a été étudié par de nombreux auteurs tels Bellon, Rigole, et O'Brien cités par Sido (62). Ces différents auteurs ont montré que si cette pharmacodynamie reste peu comprise chez les insectes, elle est par contre suffisamment connue chez les vertébrés. Il est en effet admis que chez les Vertébrés du fait d'une analogie structurale avec l'acétylcholine, les insecticides organophosphorés inhibent les cholinestérases en se fixant fortement sur elles. Une fois ces cholinestérases inhibées, elles perdent leur pouvoir de destruction de l'acétylcholine entraînant leur accumulation ; celle-ci étant le médiateur chimique nécessaire au transfert de l'influx nerveux à différents niveaux et médiateur du système parasympathique, son accumulation entraîne une hyperactivité vagotonique, une hyperstimulation des récepteurs de l'influx nerveux et les symptômes observés lors de l'intoxication aiguë par ces organophosphorés.

Avant d'aborder l'étude du mécanisme d'action des insecticides organophosphorés, il nous paraît nécessaire de donner un aperçu sur les acteurs de la transmission nerveuse cholinergique.

A/ Rappels physiologiques sur les acteurs de la transmission nerveuse cholinergique

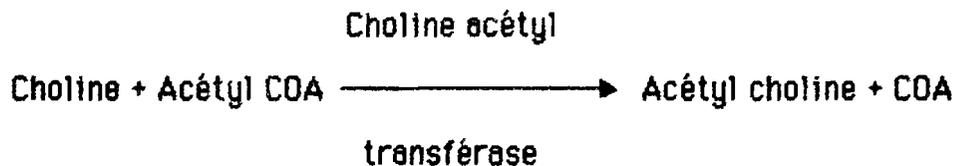
1/ L'acétylcholine

L'acétylcholine (ACH) est le médiateur chimique qui assure le transfert de l'influx nerveux au niveau du système parasympathique.

Elle est localisée dans les fibres nerveuses cholinergiques avant d'être libérée au niveau de la synapse au moment de la transmission. elle peut être dosée dans les tissus contenant les terminaisons cholinergiques et aussi dans les fibres nerveuses elles-mêmes.

Dans la cellule nerveuse l'acétylcholine se trouve contenue dans des vésicules dites vésicules synaptiques de 469 Å, elles mêmes contenues dans des vésicules plus grandes de 0,02 à 0,08 micron qui sont des synptosomes de Whittaker.

La synthèse se fait par un processus enzymatique anaérobie qui estérifie la choline avec l'intervention de la choline acyl transférase ou choline acétylase. C'est cette dernière qui assure le transfert du radical acétyl de la coenzyme A sur la choline. La réaction peut s'écrire comme suit :



L'enzyme se trouve en grande partie dans les synptosomes qui les libère après rupture (34).

2/ Les choline estérases

Les choline estérases sont des enzymes qui hydrolysent les esters de la choline. Ces estérases diffèrent en fonction de la distribution et de la spécificité du substrat.

Ainsi on distingue :

2-1.- Les cholinestérases vraies ou Acétylcholinestérases

Elles ont une affinité plus marquée pour l'acétylcholine que pour les autres esters de la choline. Ce sont des enzymes très spécifiques qui ne réalisent que l'hydrolyse de l'acétyl choline. Elles sont localisées au niveau des terminaisons nerveuses cholinergiques, des fonctions neuro musculaires, des hématies, dans les glandes à sécrétion externe.

2-2. Les pseudocholinestérases ou choline estérases non spécifiques

Ce sont des enzymes peu spécifiques. Elles hydrolysent non seulement l'acétylcholine mais aussi d'autres esters de la choline. On les retrouve dans le système nerveux central, dans le plasma, le foie, le pancréas.

Les études sur les inhibiteurs de l'acétylcholinestérase ont permis une représentation de l'aspect des centres actifs de l'enzyme.

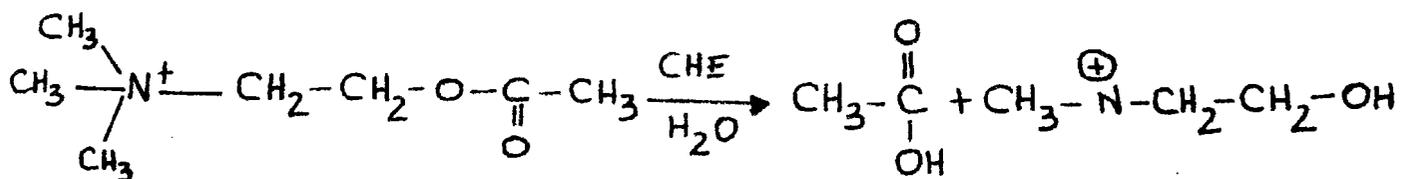
La partie active de l'acétylcholinestérase comprend deux sites :

- un site anionique chargé négativement. Il facilite l'activité de l'enzyme en attirant, liant et orientant l'ion ammonium (ion N^+ de l'acétyl choline).

- un site cationique ou estérasique où les esters sont hydrolysés. Ce site d'après Featherstone cité par Sido (62) contient deux groupes essentiels : une fonction acide et un groupe basique.

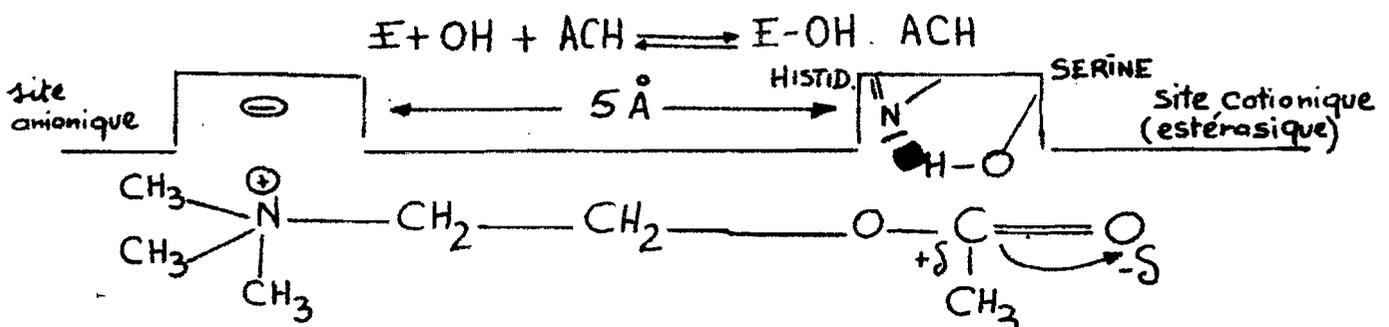
B/ Mécanisme d'hydrolyse de l'ACH par l'acétylcholinestérase

Quelle que soit leur localisation et leur spécificité, les cholinestérases provoquent la rupture de la liaison ester de l'acétylcholine selon la réaction générale de la figure ci-dessous.

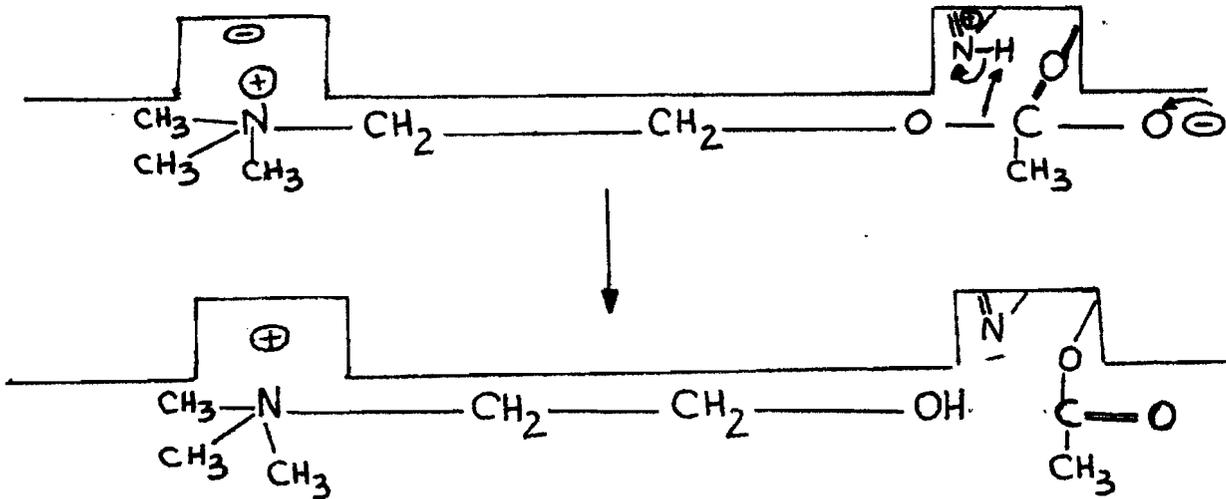


Sur le plan moléculaire, les événements qui se déroulent au niveau de l'enzyme se font suivant le schéma ci-dessous :

a) fixation de l'acétylcholine, formation du complexe enzyme - substrat.

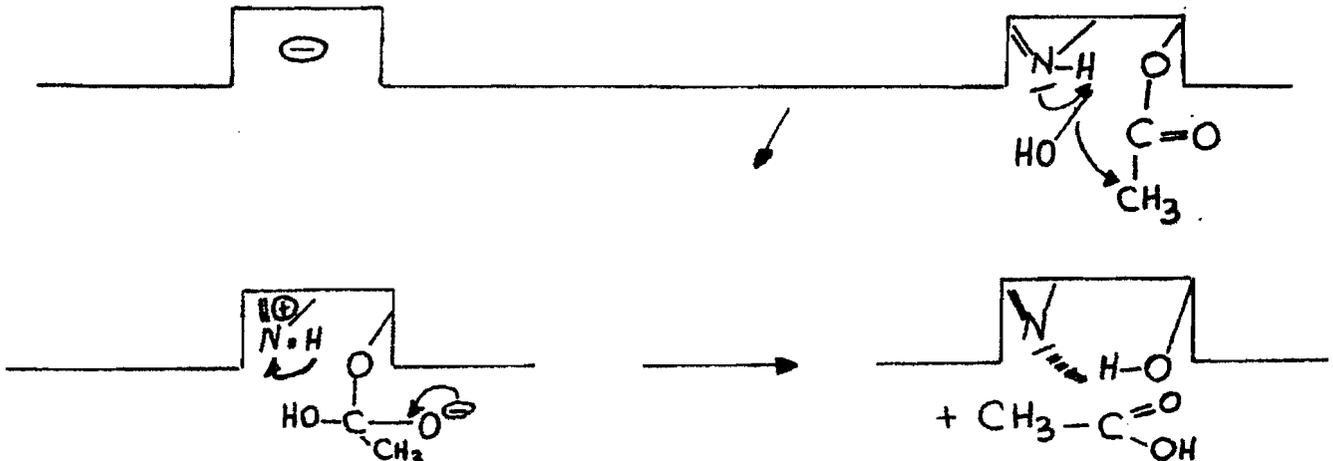


b) Scission du complexe ES : libération de la choline et acétylation de la cholinestérase



c) En présence d'eau, régénération de l'enzyme acétylée et libération de l'acide acétique

k_3

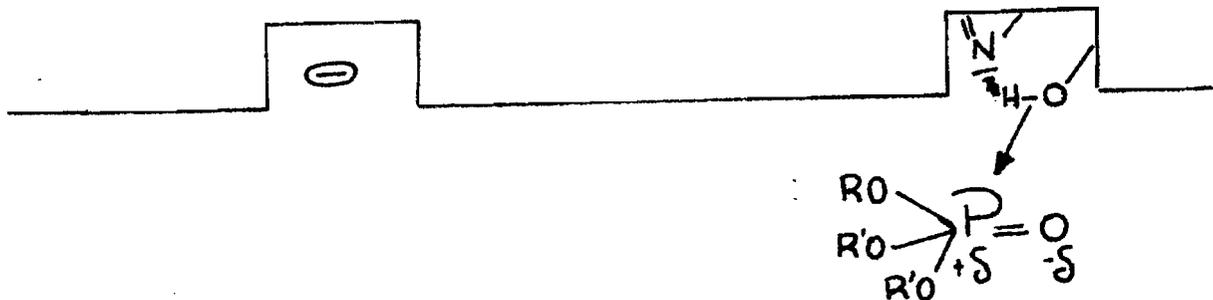


Les trois étapes de l'hydrolyse de l'acétyl choline se déroulent très rapidement (10^{-6} secondes). Les constantes de vitesse k_1, k_2, k_3 sont élevées ; l'enzyme est donc régénérée très rapidement.

C/ Mécanisme d'action des Insecticides organophosphorés

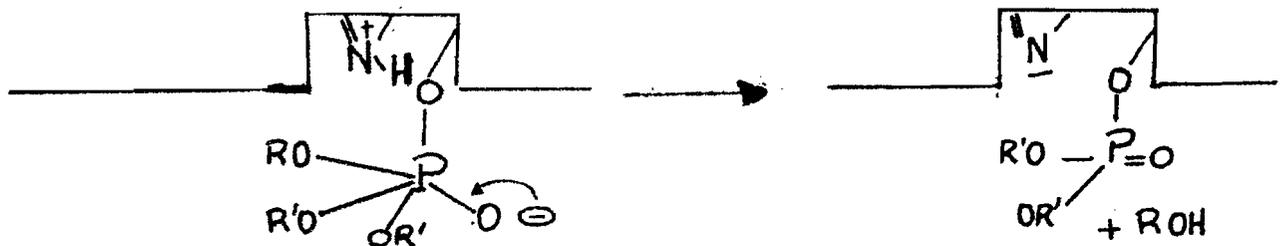
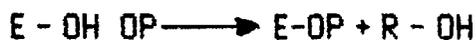
Inhibition de la cholinestérase par les organophosphorés. Les organophosphorés présentent une forte affinité pour le site estérasique du fait d'une analogie structurale avec l'acétylcholine au niveau de la liaison ester.

a) formation du complexe Enzyme-organophosphoré



b) Phosphorylation de l'enzyme . Hydrolyse de l'organophosphoré

k2



La liaison O - P covalente est beaucoup plus forte que la liaison C-O de cholinestérase acétylée du fait du caractère électrophile du P par rapport au C. La régénération de l'enzyme phosphorylée en présence d'eau est donc très difficile (k3 est très faible); d'où une inhibition quasi irréversible des cholinestérases par les organophosphorés et une accumulation d'acétylcholine non dégradée qui va entraîner les troubles caractéristiques.

1-5-2-3-2. Les symptômes des intoxications

En fonction du temps d'apparition des symptômes et des doses absorbées, on peut distinguer deux types d'intoxication d'importance inégale.

1/ Intoxication à court terme (aiguës ou sur aiguës survenant rapidement après l'exposition, ce sont les plus fréquentes.

2/ Intoxication à long terme, effets dus à la "toxicité retardée" des insecticides organophosphorés, beaucoup plus rares.

1-5-2-3-2. 1/ Symptômes de l'intoxication à court terme

Ces symptômes sont théoriquement identiques chez les différentes espèces. On distingue trois types de manifestations qui peuvent s'imbriquer les unes dans les autres.

a/ - Syndrôme muscarinique

Ce syndrôme est composé de troubles de type parasymphomimétique. ce sont les plus précoces. Ils correspondent à une stimulation exagérée du système parasymphomique.

b/ - Syndrôme nicotinique

Ces signes sont en principe les plus tardifs mais peuvent se superposer aux signes muscariniques. Il s'agit de troubles neuromusculaires dus à l'hyperstimulation des récepteurs nicotiniques de la plaque motrice.

c/ - Troubles du système nerveux central

Ces troubles entraînent une dépression plus ou moins intense des animaux avec prostration et coma.

L'évolution de cette intoxication à court terme est souvent de 48 heures. Elle est mortelle par suite d'une insuffisance respiratoire aiguë due à une paralysie des muscles respiratoires.

1-5-2-3-2. 2/ Symptômes de l'intoxication à long terme

Ils sont rares. ce sont surtout :

- la neurotoxicité retardée
- les réactions allergiques
- les effets d'embryotoxicité

1-5-2-3-3. Le diagnostic des intoxications par les insecticides organo phosphorés

Le diagnostic de l'intoxication par les insecticides organophosphorés peut se faire selon la démarche classique d'un :

- diagnostic clinique
- diagnostic épidémiologique
- diagnostic nécropsique
- diagnostic de laboratoire

Dependant les diagnostics épidémiologique, clinique et nécropsique trouvent leurs limites quand il s'agit des cas isolés. ils ne peuvent donc pas être d'un grand intérêt. Aussi nous les passerons sous silence, pour nous apesantir sur le diagnostic de Laboratoire.

C'est le seul qui permet d'établir avec certitude une intoxication par les organophosphorés. Diverses méthodes de laboratoire peuvent être utilisées.

Néanmoins du fait de leur grande instabilité, ces composés sont vite éliminés après leur pénétration dans l'organisme. Cette rapidité de dégradation et cette instabilité demeurent les limites des recherches directes des résidus dans l'organisme. Dans la majorité des cas, le diagnostic expérimental est donc de type indirect. On recherche les effets dûs au passage de l'organophosphoré dans l'organisme. Les méthodes d'analyse consistent à apprécier le degré d'inhibition des cholinestérasés de l'animal suspect en mesurant l'activité cholinestérasique soit de l'encéphale soit du sang.

Pour le sang, le dosage se fait selon les espèces soit au niveau des érythrocytes, soit au niveau du plasma ou bien des deux. Cette mesure repose sur la réaction d'hydrolyse de l'acétylcholine.

cholinestérase



En évaluant la vitesse d'hydrolyse d'une quantité d'acétylcholine et en la comparant à un témoin, on mesure l'activité cholinestérasique de l'individu suspect. Plusieurs méthodes ont été mises au point à cet effet. L'évaluation peut se faire soit par la détermination de l'ACH résiduel ou bien par la détermination de l'acide acétique libéré. Les méthodes dans ce dernier cas sont distinguées en méthodes titrimétriques, électrométriques, gazométriques et colorimétriques.

A/ Méthodes titrimétriques

Elles consistent à titrer l'acide acétique libéré au cours de l'hydrolyse, au moyen d'une base standard en utilisant un indicateur coloré, interne ou externe.

B/ Méthodes gazométriques

Elles sont basées sur la mesure du gaz carbonique formé en milieu tamponné par action de l'acide acétique libéré sur le liquide de Ringer bicarbonaté en atmosphère d'azote à 5 p. 100 de CO₂. La mesure se fait avec l'appareil de

Worburg.

C/ Les méthodes électrométriques

Elles consistent à mesurer l'abaissement de pH en milieu tamponné, provoqué par la libération d'acide acétique. C'est l'exemple de la méthode de MICHEL avec ses nombreuses variantes.

D/ Les méthodes colorimétriques

Elles comprennent trois groupes

1/ - méthode de dosage colorimétrique de l'ACH

C'est l'exemple de la méthode de Vincent et Seconzac (69).

Elle repose sur la mesure au bout d'un temps donné de la quantité d'ACH hydrolysée par formation d'un complexe ferrique hydroxamique coloré en pourpre. Cette méthode connaît de nombreuses variantes.

2/ - méthode de dosage colorimétrique par mise en évidence de l'abaissement du pH par des indicateurs colorés, par exemple le Bleu de méthylène qui vire au bleu vert ou jaune brun avec la chute de pH.

3/ - méthode de dosage photométrique de la couleur jaune produite par la réaction de la thiocholine avec un chromogène qui est le dithiodinitrobenzoate. C'est la méthode d'Ellman. Elle est la plus courante actuellement.

Toutes ces méthodes sont utilisées dans le diagnostic des intoxications de l'homme et des animaux par les anticholinestérases.

1-5-2-3-4. Traitement des intoxications par les insecticides organophosphorés

Le traitement de l'intoxication par les insecticides organophosphorés découle de leur mécanisme d'action. Il doit être rapide dans le cas des intoxications aiguës.

A/ Traitement spécifique

Il vise deux objectifs :

* Combattre les effets de l'accumulation de l'acétylcholine. Il faut pour cela administrer un parasympatholytique. Le sulfate d'atropine est bien indiqué. C'est un antagoniste compétitif de l'acétylcholine au niveau des récepteurs muscariniques. L'administration n'agit que sur les effets muscariniques. Elle est contre indiquée pendant la phase nicotinique. L'administration se fait à la posologie de 0,5-1 mg/kg de poids vif 1/4 en IV ; 3/4 SC-IM.

Ce protocole est répété toutes les 3-4 h pendant 1 à 2 jours.

* Lever l'inhibition des cholinestérases

La levée de cette inhibition se fait par administration des réactivateurs des cholinestérases. Ces réactivateurs sont des molécules qui présentent une forte affinité pour les cholinestérases et porteurs d'un groupement nucléophile capable de déplacer l'organophosphoré de sa liaison covalente avec l'enzyme. Cela aboutit à la réactivation des cholinestérases et on utilise des composés type oxime de forme $R-CH=N-OH$. Le plus connu de ces composés est la pralidoxime (CONTRATHION ND).

B/ Traitement éliminatoire et symptomatique

Il vise à favoriser l'élimination du toxique. La décontamination de la peau se fait par un lavage abondant à l'eau savonneuse. En cas d'ingestion, on effectue un

lavage de l'estomac au moyen d'eau bicarbonatée puis on administre du charbon activé.

Le traitement symptomatique est basé sur l'administration des analeptiques cardiorespiratoires (caféine, solucamphre) et des barbituriques pour combattre les convulsions.

CHAPITRE II : LES LIPIDES ET LES LIPOPROTEINES

II-1. Les lipides

II-1-1. Définition

Les lipides sont des dérivés naturels des acides gras, résultant de leur condensation avec des alcools ou des acides aminés.

Ce sont des substances insolubles dans l'eau, solubles dans les solvants organiques et qui jouent un rôle biologique important en tant qu'éléments de structure, mais aussi éléments de réserves. Ils jouent aussi un rôle important en Biochimie clinique.

On distingue différentes classes de lipides

II-1-2. Les lipides simples ou ternaires

Ce sont des dérivés des acides gras qui ne contiennent dans leurs molécules que du carbone, de l'hydrogène et de l'oxygène. Les lipides simples comprennent :

II-1-2-1. Les glycérides

Les glycérides ou graisses neutres constituent l'essentiel sur le plan quantitatif des lipides naturels.

Ce sont des esters du glycérol et d'acides gras. Leur nomenclature résulte de la nature des acides gras qui entrent dans leur composition et du nombre et position d'estérification.

Ainsi on distingue des glycérides homogènes quand les molécules estérifiant le glycérol sont de type unique.

Ils sont dits hétérogènes ou mixtes quand les molécules assurant leur estérification sont de types divers.

On parle aussi de mono, di, tri, glycérides selon le nombre d'acides gras (1,2 ou 3) qui entrent dans l'estérification du glycérol. Ces glycérides peuvent être homogènes ou mixtes.

a) Propriétés physiques

Les glycérides sont solubles dans le benzène, le chloroforme, l'éther, l'alcool à chaud et l'acétone.

Ils sont insolubles dans l'eau. Leur point de fusion dépend de leur composition en acides gras. Il est abaissé quand le nombre d'acides gras insaturés augmente.

b) Propriétés chimiques

Il s'agit des propriétés d'hydrolyse, de saponification, de rancissement...

La séparation des glycérides des autres lipides ou même des glycérides entre eux est possible par la méthode de chromatographie sur couche mince sur gel de silice.

II-1-2-2. Les cériques

Ce sont des esters d'acides gras et d'alcools ayant des poids moléculaires élevés. Ce sont des lipides constitutifs de cires animales (blanc de Baleine), des cires végétales (cuticule des feuilles) et Bactériennes (bacille de Koch).

II-1-2-3. Les stérides

Ce sont des esters d'acides gras et d'alcools, les stérols. Les stérols sont des dérivés isopréniques avec comme noyau fondamental une structure cyclo pentano per hydro phénanthrénique, portant des substituants méthylés.

C'est l'exemple de : - l'oléate de cholestérol
- palmitate de cholestérol.

II-1-2-4. Autres lipides simples

On peut citer :

- Les Etholides
- Les Ethéroglycérides

II-1-3. Les Lipides complexes

Les lipides complexes sont des dérivés des acides gras qui contiennent dans leurs molécules outre le carbone, l'hydrogène et l'oxygène des molécules d'azote ou de soufre.

Ce sont des structures chimiques importantes non par leur rôle de réserve mais aussi par la place fondamentale qu'ils occupent dans le métabolisme intermédiaire et dans les cellules de certains organes nobles comme le cerveau ou le foie. De même, ils participent avec le glucose et les protéines à l'édification des structures très élaborées. Ils sont très largement répandus dans le règne animal.

Cette place qu'occupent les lipides complexes au niveau du tissu nerveux permet d'expliquer certains signes pathologiques qui apparaissent en clinique humaine dans certaines maladies congénitales par l'accumulation dans des organes des sphingolipides.

Leur séparation chromatographique est possible et le principe est le même que celui des lipides simples.

Les lipides que nous venons d'énumérer qu'ils soient simples (triglycérides, stérides) ou complexes (phospholipides) ont une double origine dans l'organisme:

- l'absorption intestinale
- les synthèses réalisées à partir des métabolites protidiques et glucidiques.

L'étude de leur métabolisme va nous permettre de connaître leur synthèse, leur devenir mais aussi les inter relations qui existent entre eux et les autres constituants sériques.

II-1-4. Métabolisme des lipides

Les particularités du métabolisme lipidique chez le chien ne sont pas entièrement élucidées mais des études précédentes montrent l'existence de nombreuses analogies entre le métabolisme lipidique chez l'homme et le chien. Aussi, le métabolisme lipidique chez l'homme peut-il être extrapolé à l'espèce canine.

II-1-4-1. Métabolisme des triglycérides

Dans ce métabolisme sera traité plus spécifiquement le catabolisme, la synthèse des triglycérides résultant de l'estérification du glycérol par un acide gras, ayant été abordé précédemment.

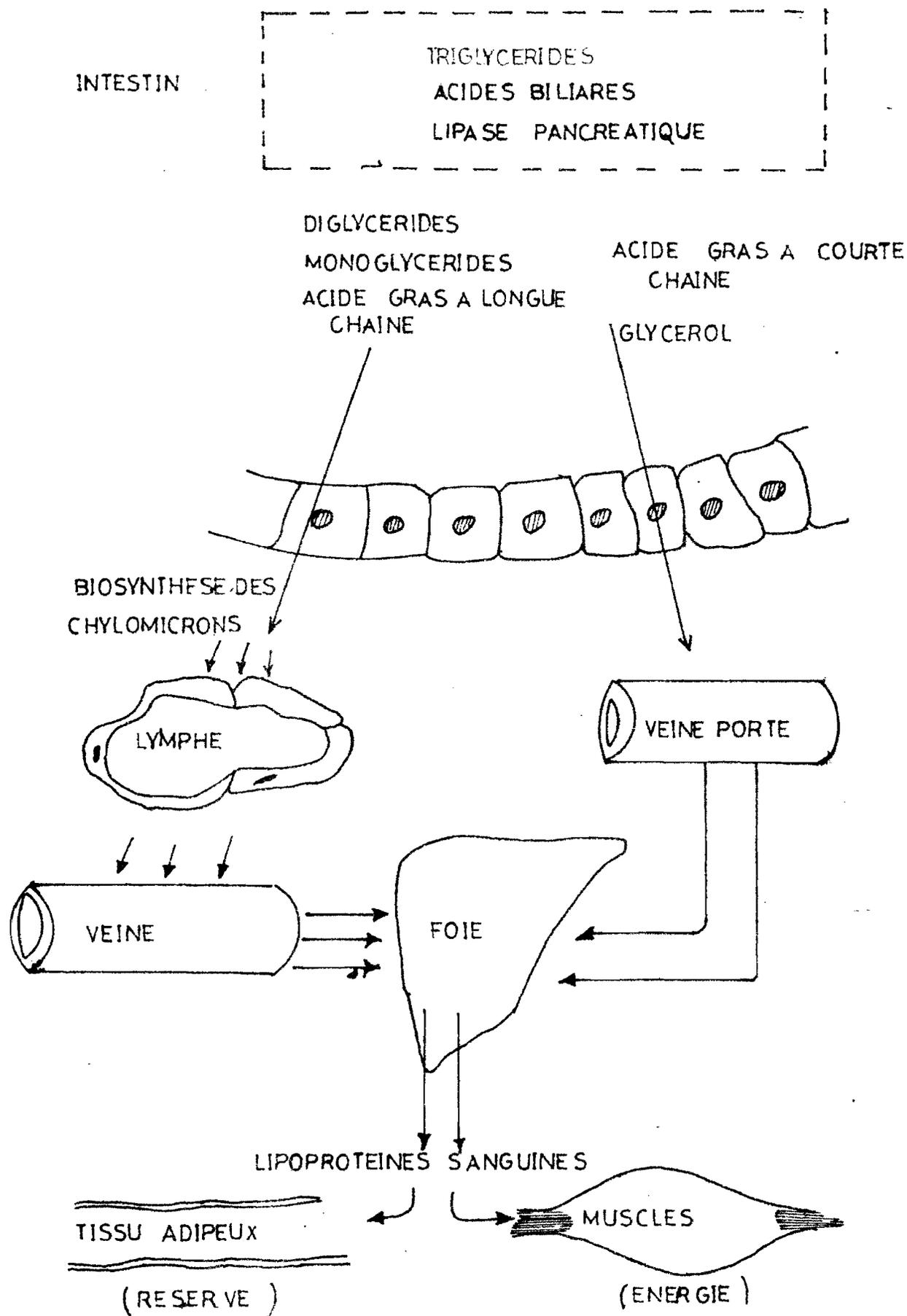
Le catabolisme des triglycérides alimentaires sera différent suivant qu'il se déroule au niveau intestinal, sanguin, hépatique ou adipocytaire.

Au niveau intestinal, l'hydrolyse des triglycérides est le fait des lipases. La digestion intestinale met en jeu une lipase pancréatique dont l'action aboutit à la libération d'un diglycéride puis d'un monoglycéride. (Schéma n°1).

Dans la cellule intestinale, on assiste à une resynthèse de triglycérides par une acylation des monoglycérides.

Ces triglycérides sont associés à des protéines, des phospholipides et du cholestérol pour être sécrétés dans les voies lymphatiques et chylifères sous forme de chylomicrons et de lipoprotéines à très faible densité (VLDL). Les triglycérides circulants sont captés par le foie ou le tissu adipeux qui disposent d'une enzyme au niveau des membranes cellulaires (lipoprotéine lipase).

L'action de cette lipase et de celle d'une monoglycéride lipase va donner des acides gras qui vont dans les cellules.



METABOLISME DES TRI GLYCERIDES

SOURCE LOUISOT (45)

11-1-4-2. Métabolisme des stérides

Le métabolisme des stérides tourne autour d'un élément principal le cholestérol. Aussi, nous limiterons nous à son métabolisme et particulièrement à son devenir dans l'organisme. (Schéma n° 2).

Le cholestérol est synthétisé dans toutes les cellules vivantes particulièrement au niveau du foie, de la muqueuse intestinale et des cortico surrénales.

Une fois synthétisée, une partie du cholestérol est éliminée dans l'intestin, mais cette partie est quantitativement assez faible. Elle aboutit à la transformation en coprostérol par voie enzymatique.

La grande partie est éliminée au niveau du foie et conduit à la synthèse des acides biliaires qui occupent une place fondamentale dans la digestion et l'absorption des lipides.

Les acides biliaires sont des substances contenues dans la bile à l'état de sels. Ils ont des propriétés tensio actives et émulsionnent les graisses facilitant leur digestion.

Le cholestérol non estérifié dit "cholestérol libre" est facilement échangeable entre les lipoprotéines circulantes et les parois cellulaires. Le cholestérol estérifié ne s'échange pas. On en trouve très peu dans les tissus. Ceux-ci contiennent essentiellement du cholestérol libre localisé dans les édifices phospholipides-protéines des structures membranaires des cellules.

Le foie est responsable de la sécrétion de ce cholestérol dans les lipoprotéines plasmatiques. (β lipoprotéines 3/4 et α lipoprotéines 1/4).

11-1-4-3. Métabolisme des sphingolipides

Nous passerons sur la synthèse de ces composés pour aborder la dégradation des lipides complexes. Celle-ci est surtout réalisée dans le foie, les poumons, la rate. L'enzyme qui catalyse cette réaction est la sphingomyéline phosphodiesterase dans le cas de la sphingomyéline.

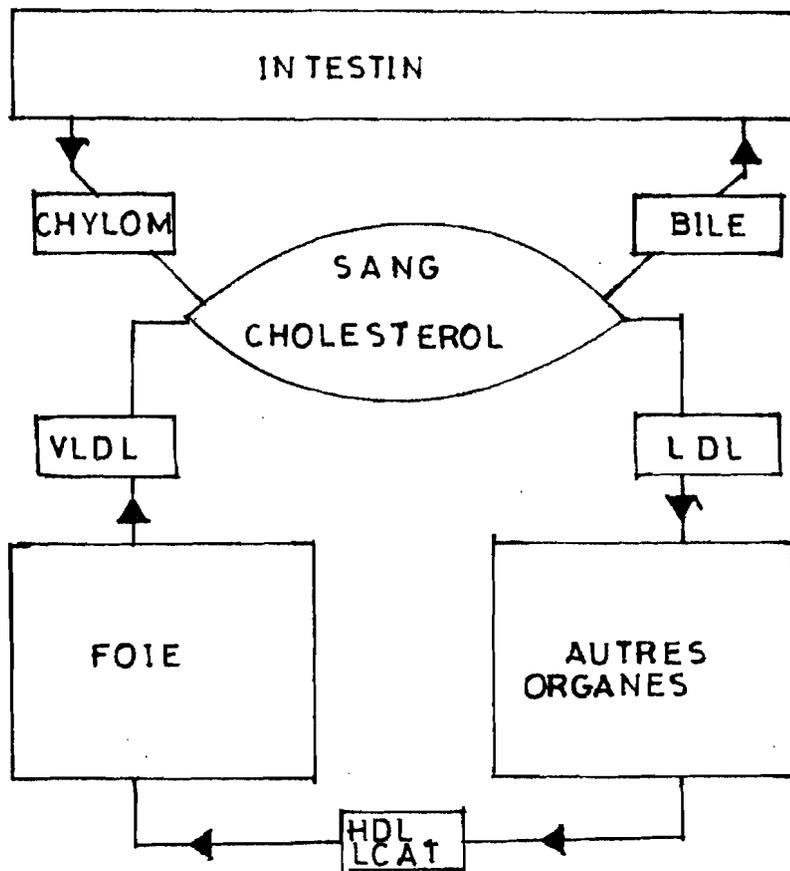
11-1-4-4. Catabolisme des glycérophospholipides

Le catabolisme des glycérophospholipides est le résultat de l'action des phospholipases. Ces enzymes sont présents dans pratiquement tous les tissus animaux (foie, pancréas, rate). Il existe quatre classes de phospholipases dénommées (A,B,C,D).

11-2. Les lipoprotéines

11-2-1. Définition

Les lipoprotéines plasmatiques sont des édifices résultant d'associations

Schema N° 2Schema resume' du metabolisme
du cholesterolSource MEDAILLE (47)

moléculaires entre des protéines spécifiques appelées apolipoprotéines et des molécules lipidiques qui vont être transportées dans le plasma sous forme soluble.

Malgré ces caractéristiques structurales communes, les lipoprotéines diffèrent les unes des autres par la proportion de leurs constituants, leurs lieux de synthèse, leurs rôles biologiques et leur métabolisme. Leurs concentrations plasmatiques dépendent d'un équilibre modifié en permanence par l'apport alimentaire, par la sécrétion ou la dégradation d'un certain nombre d'entre elles ou par les échanges de molécules lipidiques seules ou associées à des tissus, soit entre les lipoprotéines (7).

Ces lipoprotéines sont communes à toutes les espèces animales ; cependant, quelques caractéristiques propres à l'espèce existent notamment dans le cas précis du chien.

Nous allons dans un premier temps donner la structure de ces lipoprotéines, leur classification, puis dans un second temps, étudier leur métabolisme et leurs concentrations dans le plasma.

11-2-2. Structure des lipoprotéines

Les lipoprotéines ont généralement une structure sphérique constituée de deux zones concentriques : un noyau central contenant des lipides hydrophobes, des esters du cholestérol et des glycérides. Ces lipides apolaires sont à la température corporelle à l'état liquide. La couche périphérique entourant la zone centrale est composée de phospholipides choliniques (sphingomyéline, phosphatidyl), de cholestérol et d'apolipoprotéines. Cette couche périphérique forme une enveloppe plus ou moins flexible dont l'épaisseur reste relativement constante.

11-2-3. Classification des lipoprotéines plasmatiques

Etudier la classification des lipoprotéines revient à considérer les résultats des principales méthodes analytiques permettant de les fractionner : l'ultracentrifugation de flottation et l'électrophorèse de zone. Une troisième méthode est l'étude de la composition des fractions protéiques.

11-2-3-1. Ultracentrifugation de flottation

C'est la méthode analytique de référence pour le fractionnement des lipoprotéines de l'homme. Elle permet de séparer parfaitement les différents types de lipoprotéines plasmatiques. Les lipoprotéines du fait de la présence de la fraction lipidique ont une densité faible ; ce qui fait qu'elles flottent au dessus du plasma dont la densité est voisine de 1,25 lorsqu'elles sont soumises à une ultracentrifugation (47). Cette méthode a permis de définir quatre grandes classes de lipoprotéines comme le montrent les tableaux n° 1 et 2.

Tableau n°1 : Classes de lipoprotéines sériques de l'homme ; fractionnement par ultracentrifugation de flottation

Classe	Sous classe	Densités
Chylomicrons		Inf. à 0,96
Very low density lipoproteins		0,96 à 1,006
Low density Lipoproteins	HDL2	1,006 à 1,063
High density Lipoproteins	HDL1	1,063 à 1,125 1,125 à 1,21

Tableau n°2 : Classes de Lipoprotéines sériques du chien ; densités des différentes fractions

Classe	Sous classe	Densités
Chylomicrons		Inf. à 0,96
Very low density Lipoproteins		0,96 à 1,006
Low density Lipoproteins		1,006 à 1,087
High density Lipoproteins	HDL1	1,025 à 1,10
	HDL2	1,070 à 1,21

a) - lipoprotéines lourdes (High density lipoprotein HDL)

Elles ont une densité comprise entre 0,063 et 1,21. Elles assurent le transport sanguin des phospholipides et à un degré moindre du cholestérol. Ce sont les lipoprotéines les plus petites. Elles ont un diamètre compris entre 9 et 12 nm. Elles sont les plus stables quant à leur partie lipidique et les plus riches en protéines.

Ces HDL sont subdivisées en deux sous classes HDL2 et HDL3.

b) Lipoprotéines légères

Elles ont une densité comprise entre 1,006 et 1,063.

Ce sont les principaux transporteurs du cholestérol depuis le foie jusqu'aux tissus périphériques. ce cholestérol est lié à la fraction phospholipidique.

c) Lipoprotéines très légères (Very low density lipoprotein VLDL)

Elles ont une densité comprise entre 0,96 et 1,006 constituées de

10 p. cent de protéines

90 p. cent de lipides

Ce sont des transporteurs sanguins de triglycérides depuis le foie jusqu'aux tissus périphériques.

d) Les chylomicrons et lipomicrons

Ce sont des particules de densité inférieure à 0,96 et ne contiennent que 1 p. cent de protéines pour 99 p. cent de lipides. Les chylomicrons apparaissent dans le sang après l'absorption intestinale des lipides. Les lipomicrons sont synthétisés par le foie et après transit sanguin sont captés par les tissus: chylomicrons et lipomicrons ne migrent pratiquement pas après électrophorèse.

Les densités de 1,006 ; 1,063 et 1,21 ont souvent été utilisées pour fractionner les lipoprotéines plasmatiques du chien. Cependant les travaux de Mahley , Weisgrater cités par Médaille (47) ont montré que cette séparation était peu satisfaisante et que l'ultracentrifugation seule ne permettait pas le fractionnement correct de ces molécules, chez le chien. Cela apparaît sur le tableau n° 2. la séparation complète fait appel à d'autres techniques (47).

11-2-3-2. Electrophorèse de zone

D'abord appliquée sur papier, puis sur acétate de cellulose ou en gels d'agarose ou de polyacrylamide, c'est la méthode de routine en biologie clinique. Les lipoprotéines, fractions des protéines plasmatiques totales sont identifiées par rapport à la migration de ces dernières. Ainsi, aussi bien chez l'homme que chez le chien, on distingue sur acétate de cellulose ou sur papier (à pH = 8,6):

a) Les α lipoprotéines

Ce sont des lipoprotéines migrant comme les α globulines. Elles correspondent aux HDL de la classification précédente.

b) Les β lipoprotéines

Elles migrent comme les β globulines et correspondent aux LDL de la classification par ultracentrifugation de flottation.

c) Les pré β lipoprotéines

Ce sont des lipoprotéines migrant entre les α globulines et les β globulines. Elles correspondent aux VLDL.

d) Les chylomicrons

N'étant pas chargés, les chylomicrons ne migrent pas.

11-2-3-3. Classification selon les Apolipoprotéines

Cette classification distingue cinq familles désignées avec le sigle des lipoprotéines suivi de la lettre caractéristique de l'apolipoprotéines. On a ainsi les lipoprotéines A,B,C,D,E, soit LpA, LpB, LpC, LpD, LpE.

11-2-4. Composition des lipoprotéines plasmatiques

Les caractéristiques générales des différentes classes de lipoprotéines sont assez voisines chez l'homme et le chien (tableaux n° 3 et 4). Leurs proportions relatives dans le sérum sont données dans le tableau n°5.

11-2-4-1. Les Lipides

La composition détaillée des différents lipides dans les classes de lipoprotéines du chien est donnée dans le tableau n° 6. On peut remarquer que les triglycérides sont les principaux constituants des chylomicrons et des VLDL qui renferment peu de protéines, alors que les HDL riches en protéines contiennent approximativement 50 p.100 de phospholipides.

11-2-4-2. Les Protéines

Les apolipoprotéines du chien ont été peu étudiées et les divers résultats publiés sont difficiles à confronter. Les différents auteurs s'accordent pour identifier une apolipoprotéine B majeure dans les LDL, et au moins deux composantes immunologiquement différentes dans les HDL ; ces composés pourraient être des apolipoprotéines A (A1 et A2).

Tableau n°3 : Taille et Composition des Lipoprotéines du chien

Chylomicrons	VLDL	LDL	HDL 1	HDL 2
Diamètre (nm)	30 à 70	20	10 à 35	6 à 9
% Protéines 1 à 2	10	23	22	42
% Lipides 98 à 99	90	77	75	58
Lipides dominantes TG	TG	CH TG	P CH	P
Apolipoprotéines A, B, C	B,C,E	B	A	A

TG = Triclycérides ; CH = Cholestérol ; P = Phopholipides

Source : MEDAILLE (47)

Tableau n° 4 : Composition des Lipoprotéines sériques de l'homme

Chylomicrons	VLDL	LDL	HDL 1	HDL 2	HDL 3
Diamètre (nm)	500	40 à 100	17 à 26	5 à 10	
% Protéines	1	10	25	50	
% Lipides	99	90	75	50	
Lipides dominantes	TG	TG	CH PL	PL	
Apolipoprotéines	A,B,C I,II,III	A,B,C, I,II,III	B AI,II	CI,II,III,IV	D

TG= Triglycérides, CH= Cholestérol, PL= Phospholipides

Source : MEDAILLE (47)

Tableau n° 5 : Proportions relatives des différentes Lipoprotéines plasmatiques du chien adulte (en %)

Caractéristiques des animaux	HDL	VLDL	LDL
* 20 M + F races	63 à 75	11 à 25	10 à 15
* 35 M + F races	66 à 68	3 à 20	5 à 18
* 60 M + F races	48 ± 12	20 ± 10	30 ± 18
** 5 Beagles	92 à 96	1 à 2	1 à 2

M = Mâle

F = Femelle

* Résultats obtenus par quantification densitométrique d'électrophorogramme

** résultats obtenus après purification de chaque fraction

Source : MEDAILLE (4)

Tableau n° 6 : Composition lipidique des différentes classes des Lipoprotéines plasmatiques du chien (en %)

D'après Mahley R.W., Weisgraber K.H.)

	CE	CT	TG	PL	Prot.
VLDL		15	59	16	10
LDL		22	30	25	24
HDL1		35	2	40	23
HDL2		20	1	36	43

CE = Cholestérol enzymatique ; CT = Cholestérol total

TG = Triglycérides ; PL = Phospholipides ; Prot. = Protéines

Source : MEDAILLE (47)

AU BILAN

Chez le chien, Rogers, Donovan, Kociba cités par Medaille (47) notent que les HDL sont nettement plus abondantes alors que la fraction LDL selon Guilhot (30) est moins forte chez le chien et migre légèrement plus vite.

Mohrey, Weisgraber cités par Medaille (47) notent que les VLDL sont parfois absentes chez le chien sain et nécessitent une concentration préalable du sérum pour apparaître à l'électrophorèse.

La classification basée sur les apolipoprotéines du chien est encore prématurée en biologie clinique vétérinaire. Les divers résultats publiés sont assez difficiles à confronter.

On s'accorde pour identifier une apolipoprotéine B majeure dans les LDL et au moins deux composantes immunologiquement différentes dans les HDL. Ce sont les apolipoprotéines A (A1 et A2).

11-2-5. Métabolisme des lipoprotéines du chien

On ne connaît que peu d'études spécifiques du métabolisme des lipoprotéines du chien et on tend à admettre qu'il est analogue dans ses grandes lignes à celui de l'homme. (schéma n° 3).

11-2-5-1. Métabolisme des chylomicrons

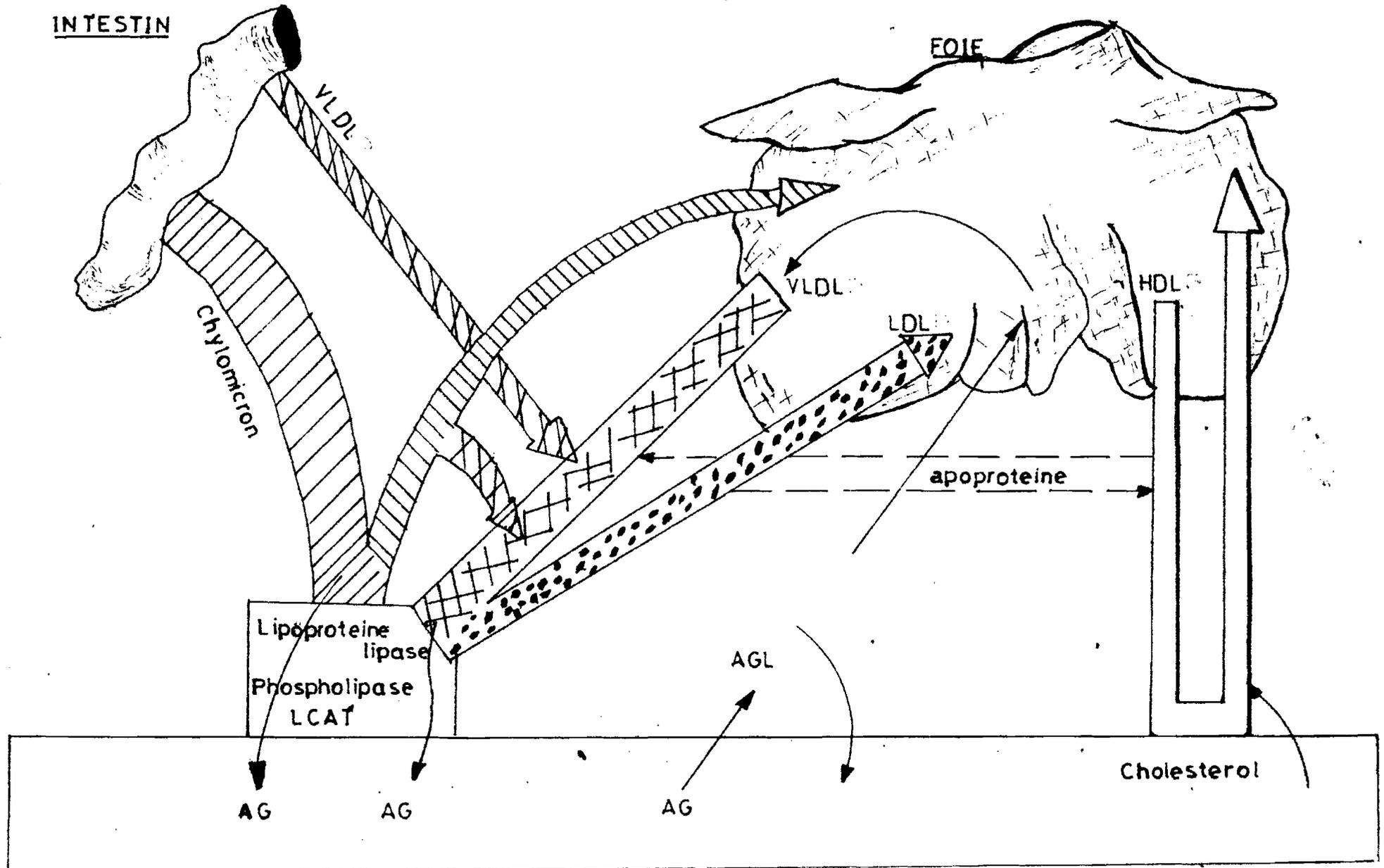
La synthèse des chylomicrons réalisée au niveau des entérocytes est stimulée pendant les périodes de digestion par l'absorption massive des lipides d'origine alimentaire. Ces chylomicrons rejoignent la circulation sanguine par l'intermédiaire des voies lymphatiques. Dans la circulation générale, les chylomicrons responsables de l'opalescence plasmatique post prandiale subissent l'action de la lipoprotéine lipase appelée "facteur clarifiant". Cette enzyme hépato-sensible est liée aux capillaires de nombreux organes extra hépatiques, principalement: tissu adipeux, muscle et myocarde. Elle libère à partir des triglycérides des acides gras libres directement utilisables, transformant ainsi les chylomicrons en particules plus petites appelées "remnants" qui sont captés et dégradés par le foie.

Une autre partie, les acides gras à chaîne courte et certains monoglycérides passent directement dans la circulation sanguine d'où ils sont également captés par le foie.

11-2-5-2. Métabolisme des VLDL

La synthèse des VLDL est principalement réalisée au niveau du foie. Pendant les périodes de jeûne, elle permet la sécrétion des triglycérides endogènes.

METABOLISME DES LIPOPROTEINES



Il existe une synthèse des VLDL d'origine intestinale dont la structure générale est identique à celle des VLDL du foie. L'hydrolyse des triglycérides est dépendante comme pour les chylomicrons de l'activité des lipoprotéines lipase et permet l'apport des acides gras aux tissus adipeux et musculaires.

Le catabolisme des VLDL est en général rapide ne laissant que peu d'édifices circulants.

11-2-5-3. Métabolisme des LDL

Les LDL sont des produits du catabolisme des VLDL et sont libérées par le foie dans la circulation sanguine. Riches en cholestérol, elles subissent une endocytose après leur reconnaissance au niveau des récepteurs présents sur toutes les cellules. Elles subissent alors une dégradation complète, ne laissant dans les vésicules lysosomales que des molécules de cholestérol; ce qui permet l'internalisation du cholestérol et son utilisation intra cellulaire.

11-2-5-4. Métabolisme des HDL

L'origine des HDL est double : tissulaire et plasmotique. Le foie sécrète des HDL naissantes discoïdales constituées de phospholipides, de cholestérol, d'Apolipoprotéines E et en très faible quantité d'Apolipoprotéines I (LpAI) et LpC.

Dans l'intestin, en dehors des phases de sécrétion des chylomicrons, il existe une synthèse d'HDL sphériques.

Dans la circulation, une source importante des HDL est représentée par les fragments de la couche superficielle des chylomicrons et des VLDL se détachant après l'action des Lipoprotéines lipase périphériques.

EN RESUME

Les lipoprotéines constituent dans le plasma, un système dynamique assurant le transport des lipides depuis leurs lieux de synthèse (intestinale ou hépatique) jusqu'à leur utilisation par les tissus. Les Apolipoprotéines jouent un rôle primordial. Elles permettent et dirigent les échanges lipidiques entre lipoprotéines elles-mêmes et vers les cellules.

Des systèmes enzymatiques et des récepteurs spécifiques sont impliqués dans le fonctionnement de ce métabolisme.

Le maintien d'un équilibre dépend du bon fonctionnement de ces paramètres et d'apports alimentaires.

11-3 Relations entre pseudocholinestérases et lipoprotéines

Après la découverte de l'acétylcholine et de son rôle en tant que médiateur chimique nécessaire au transfert de l'influx nerveux, puis la dégradation de cette substance par une enzyme la cholinestérase, un autre mécanisme est également bien connu aujourd'hui, celui de l'inhibition des cholinestérases lors d'intoxication par les insecticides organophosphorés.

Il semble aussi une évidence que quelque fois, les pseudocholinestérases (PCE) sont associées au métabolisme des lipides et lipoprotéines (38).

En effet des techniques d'histochimie, d'immunoélectrophorèse avaient montré que chez l'homme les low density Lipoprotein (LDL) pouvaient former un complexe avec les pseudocholinestérases (42).

Cette hypothèse est basée sur le fait que chez l'homme l'activité des pseudocholinestérases augmente après ultrasonication du sérum (20).

Une augmentation de l'activité des pseudocholinestérases a été aussi notée lors de troubles du métabolisme des lipides chez l'homme. Il en est ainsi chez les obèses ou chez les personnes souffrant d'une hyperlipidémie même quand les sujets ont leur poids normal. Le taux de cholinestérases augmente et est en corrélation positive avec la concentration en cholestérol et le logarithme de la concentration en triglycérides (15).

Il a aussi été noté une augmentation de la lécithine cholestérol acyl transférase (LCAT) lors d'hypertriglycéridémie. La LCAT est une enzyme du microsome hépatique qui régule le taux de cholestérol estérifié dans le sérum. Elle assure le transfert d'un groupement acyl de la lécithine à l'hydroxyle du cholestérol; de cette façon le cholestérol excédentaire regagne le foie.

Chez le lapin, l'induction d'hyperlipidémie par injection de lipopolysaccharides d'*Escherichia coli* montre une augmentation de la teneur en LDL et des PCE (41). Chez les personnes intoxiquées au parathion, il a été observé une diminution du taux des LDL et des pseudocholinestérases suivie d'un retour à la normale après recouvrement de leur santé.

Ces différentes expériences montrent ainsi l'existence d'inter relations entre pseudocholinestérases et le métabolisme des lipides et lipoprotéines aussi bien chez l'homme que chez le lapin qui ont fait l'objet d'expérimentation.

DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE

Cette partie comporte deux chapitres :

- **Matériels et Méthodes d'étude**
- **Résultats et discussion**

CHAPITRE I : Matériel et Méthode d'Etude

I-1. Matériel d'étude

I-1-1. Les animaux

Nous avons utilisé pour nos expériences un lot de six chiots de race locale tous issus de la même mère. Ils vivaient aux côtés de celle-ci dans l'enceinte de l'école vétérinaire. Leur alimentation d'abord à base de lait maternel a été remplacée après sevrage par les restes de nourriture provenant du restaurant universitaire. C'est ainsi que deux repas leur étaient servis par jour et ils disposaient de l'eau à volonté.

Leur âge était de sept semaines au début de notre expérimentation et leur poids allait de 1,9 kg à 2,8 kg. Leur identification est faite par des numéros portés par un collier. Ces différentes données sont consignées dans le tableau n°7.

II-1-2. L'insecticide organophosphoré (fénitrothion)

Le fénitrothion est l'insecticide que nous avons utilisé. C'est un thiono-phosphate que nous avons déjà décrit. Cet insecticide est utilisé en agriculture et en horticulture comme insecticide de contact. Il a une DL 50 rat per os de 250-500 mg/kg (62) Il est converti partiellement en dérivé oxydé dans l'organisme. C'est un produit ULV (Ultra Low Volume) concentré à 500 g/l.

II-1-3. Le matériel technique et de laboratoire

Ce matériel rassemble le matériel de prélèvements, le matériel de réfrigération et de congélation et le matériel de laboratoire proprement dit.

. Le matériel de prélèvements se compose de tubes venoject sous vide de 5 ml, d'aiguilles stériles à usage unique et de supports de tubes.

. Le matériel de réfrigération permet la conservation des échantillons avant la centrifugation.

. La congélation maintient par la suite les plasmas dans un parfait état de fraîcheur avant les dosages.

. Le matériel de laboratoire comprend :

1) Les appareils

. centrifugeuse

. Balance de précision

Tableau n° 7 : Identification des animaux utilisés

Numéros des animaux	sexe	Poids (kg)
2	♀	1,9
3	♂	2
4	♀	2,8
5	♂	2,1
6	♂	2,4
7	♂	2,5

- . Spectrophotomètre
- . Stabilisateur de tension
- . Agitateur type Vortex
- . Bain thermostaté
- . Chronomètre

2) Les réactifs

Quatre types de réactifs ont été utilisés pour le dosage des cholinestérases par la méthode d'Ellman.

Il s'agit de la solution tampon, la solution de l'acide dinitrobenzène (DTNB), les substrats et les enzymes.

. La solution tampon

La préparation de cette solution s'effectue comme suit :

peser 8,83 g de $\text{NaH}_2\text{PO}_4/\text{H}_2\text{O}$ (PM 138) et dissoudre dans 800 ml d'eau déminéralisée. Amener la solution à pH 8 en ajoutant progressivement 60 ml de NaOH 1 N

Verser la solution dans un ballon jaugé de 1 l

Ajuster au trait de jauge avec de l'eau déminéralisée

Transvaser dans une bouteille et conserver au réfrigérateur.

. La solution de D.T.N.B.

Peser 0,13 g de DTNB et l'ajouter à 1 l de tampon phosphate; conserver la solution au réfrigérateur (4°C) dans une bouteille brune (à l'abri de la lumière).

. Les substrats

Nous avons utilisé deux types de substrats au cours de nos dosages de cholinestérases : l'iodure d'acétylthiocholine (ASchl) et l'iodure de propionylthiocholine (PSchl).

Pour préparer la solution mère d'ASchl qui est à 1,25 mM, nous avons pesé 0,2892 g d'ASchl que nous avons mis dans 25 ml d'eau déminéralisée. Cette solution est répartie et congelée dans 10 tubes à hémolyse à raison de 2,5 ml par tube. La solution de PSchl est obtenue de la même manière avec la seule différence qu'il faut peser 0,303 g de PSchl.

Tous les produits sont purs et ont été obtenus chez Sima chimie (La Verpillière, France)

. Les Enzymes

Ils sont constitués par les différents plasmas obtenus après centrifugation des prélèvements. Ces plasmas ont été immédiatement congelés. Avant les dosages, ils sont décongelés, puis dilués au 1/20 à l'aide de la solution tampon phosphate.

3) Autres matériels

Il s'agit de la verrerie, des micropipettes de type pipettman de différents calibres avec des embouts adaptés, de cuvettes pour spectrophotomètre, des bacs pour la récupération des tubes.

1-2. Méthode d'Etude

Cette étude traitera successivement de :

- Protocole de l'administration du fénitrothion
- La technique de prélèvements de sang
- Le mode de dosage de l'activité cholinestérasique et des lipoprotéines.

1-2-1. Protocole de l'administration du fénitrothion

Tous les six chiots ont été intoxiqués en vue de la détermination de l'activité cholinestérasique et des valeurs lipoprotéiques après intoxication.

1-2-1-1. Dose de fénitrothion

Cette dose a été calculée en fonction du poids des chiots et de la DL 50 du produit. Mais n'ayant pas de DL 50 chien nous nous sommes basés sur la DL 50 souris par la voie per cutanée. Celle-ci étant de 1300 mg/kg nous avons utilisé le 1/10 de la dose soit 130 mg/kg afin d'éviter une intoxication aiguë. Ainsi le chiot n° 5 qui pèse 2,1 kg a reçu

$$130 \times 2,1 = 273 \text{ mg}$$

Le fénitrothion étant concentré à 500 mg/ml, nous avons utilisé 273/500 soit 0,54 ml .

Les doses administrées en fonction du poids des animaux sont consignées dans le tableau n°8.

1-2-1-2. Voie d'administration

La voie utilisée est la voie percutanée. Le produit est appliqué sur la ligne

Tableau n° 8: Récapitulation des poids - doses et volumes injectés

N° ANIMAL	Poids (kg)	Qté injectée (mg)	Volume injecté (ml)
2	1,9	247	0,49
3	2	260	0,52
4	2,8	364	0,72
5	2,1	273	0,54
6	2,4	321	0,62
7	2,5	325	0,65

dosage des animaux.

1-2-1-3. Protocole de prélèvements de sang des Animaux Intoxiqués

L'intoxication a commencé le 20 janvier 1990 et a pris fin le 28 janvier de la même année. Le calendrier des intoxications est résumé dans la figure n° 1.

Les prélèvements ont débuté le 22 janvier 1990 soit deux jours après le début d'intoxication et se sont étalés jusqu'au 19.02.90. Rappelons qu'un prélèvement a été auparavant effectué le 19.01.90 pour déterminer la valeur normale de l'activité cholinestérasique avant toute intoxication.

Le calendrier de la phase d'intoxication comme celui des prélèvements est consigné dans la figure n° 1.

1-2-2. Technique de prélèvements de sang

Les prélèvements étaient d'abord réalisés au niveau de la jugulaire à l'aide d'aiguilles stériles et collectés dans des tubes venoject héparinés de 5 ml. Ces tubes sont préalablement identifiés à l'aide d'un code composé du numéro de l'animal et de la date de prélèvement.

Par la suite, les veines jugulaires étant peu perceptibles, les prélèvements ont alors été effectués au niveau des veines radiales plus accessibles rendant également les ponctions moins traumatisantes pour les animaux.

Les prélèvements sont effectués à la même heure en début de matinée. Ils sont aussitôt centrifugés à 3000 tours pendant 10 minutes et le plasma récupéré. Pour chaque animal deux cupules de sérum sont congelées une pour le dosage de l'activité cholinestérasique, l'autre pour le dosage des lipides et lipoprotéines. Notre méthode de travail a consisté dans un premier temps à doser les cholinestérasases, puis dans un deuxième temps au dosage des lipides et lipoprotéines.

1-2-3. Mode opératoire de dosage

1-2-3-1. Mesure de l'activité cholinestérasique

Les différentes méthodes de dosage de cholinestérasases ont été exposées précédemment. La méthode que nous avons utilisée est celle d'Ellman.

1) Principe

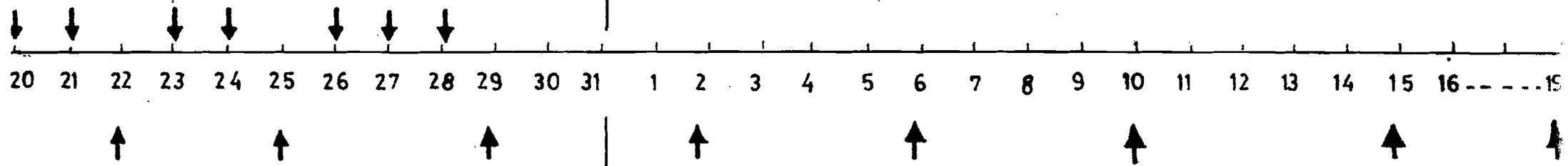
Il s'agit d'une méthode de détermination photométrique de l'activité cholinestérasique. Elle repose sur le principe suivant : les cholinestérasases hydrolysent l'Iodure d'acétylthiocholine (ASChI) en thicholine et en acétate ; la thiocholine libérée réagit avec le DTNB pour former un ion dithiobenzoate et le thionitrobenzoate de coloration jaune. La vitesse d'apparition de cette coloration jaune et son intensité est mesurée au spectrophotomètre à la longueur d'onde de 405 nm. Elle est en corrélation positive avec l'activité de l'échantillon étudié.

FIGURE N°1

44

JANVIER

FEVRIER



↓ INTOXICATION

↑ PRELEVEMENTS

4) Le même embout est réservé au même réactif pour éviter les inter contaminations entre réactifs ; ceci pour éviter de terminer rapidement notre stock.

5) Le contenu d'un tube est toujours homogénéisé au Vortex avant d'en pipeter le contenu

6) Un substrat décongelé est utilisé dans les 48 H car son activité diminue avec le temps du fait de l'hydrolyse spontanée.

7) Tout échantillon de plasma décongelé ne peut être recongelé par la suite.

3) Détermination de l'hydrolyse non enzymatique des substrats. En l'absence de toute enzyme, l'ASchl et PSchl subissent une hydrolyse spontanée selon le même schéma réactionnel décrit plus haut. Cette réaction intervient surtout au pH du milieu réactionnel qui est de 8 donc légèrement basique. Il est donc nécessaire d'évaluer cette hydrolyse non enzymatique; ceci est réalisé à travers la mesure de la densité optique du blanc.

- A 3 ml du mélange tampon phosphate (DTNB), ajouter 0,1 ml de substrat ; homogénéiser le mélange puis ajouter 0,1 ml d'eau distillée. Homogénéiser le mélange final puis lire les variations de densité optique à 1 mn puis à 3 mn.

- Calculer la densité optique/ minute (DO/mn). Celle-ci sera soustraite de la D.O. du mélange comprenant l'enzyme afin de ne prendre en compte que l'activité de cette dernière.

4) Méthode de calcul des activités cholinestérasiques

$$A = \frac{\Delta DO.}{1,36 \cdot 10^4} \times \frac{3,2 / 0,1 \times 20}{10^3} \times \text{Dilution de l'échantillon} \times 10^6$$

$\Delta DO/mn$: Variation nette de densité optique par minute

$1,36 \cdot 10^4$: Coefficient d'extinction du DTNB

$3,2 / 0,1 = 32$: Taux de dilution de l'enzyme dans la cuvette

20 : Taux de dilution de l'enzyme avant la cuvette

10^3 : Moles de substrat/ml

10^6 : μ moles de substrat/ml

A : Activité cholinestérasique (μ moles de substrat hydrolysé/mn/ml de l'échantillon)

1-2-3-2. Dosage des lipides et des lipoprotéines

Les paramètres auxquels nous nous sommes intéressés sont :

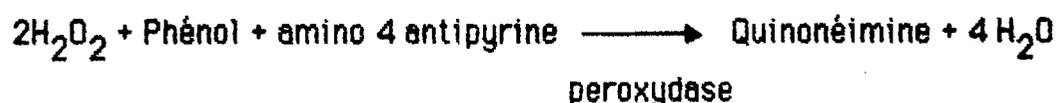
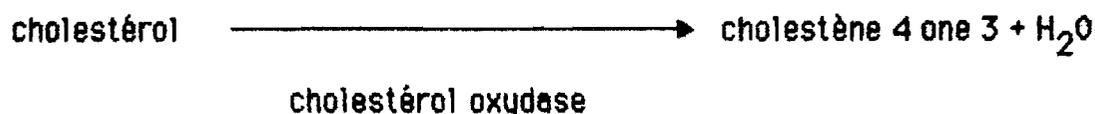
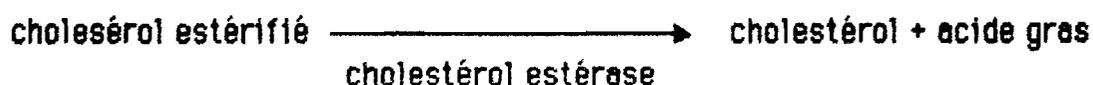
- cholestérol total
- triglycérides
- HDL cholestérol
- LDL cholestérol

1/ Dosage du cholestérol total

La méthode de dosage utilisée est celle décrite dans les kits des laboratoires bioMérieux (France).

Les esters de cholestérol sont hydrolysés par la cholestérol estérase. Le cholestérol ainsi formé est oxydé par la cholestérol oxydase en cholestène 4 one 3 et en peroxyde d'hydrogène. Le peroxyde d'hydrogène en présence de phénol et d' amino 4 antipyrine se transforme en quinonéimine sous l'action d'une peroxydase. Ce produit est alors dosé par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 500 nm.

La réaction peut s'écrire comme suit :



Les Réactifs

Réactifs 1	tampon phosphate	0,1mol/l
tampon	phénol	15mmol/l
	cholate de sodium	3,74mmol/l
	agent tensio actif	
Réactif 2	amino 4 antipyrine	0,5mmol/l
enzymes	peroxydase	≥1000μl
	cholestérol oxydase	≥200 μl
	cholestérol estérase	≥125 μl

Réactif 1 + Réactif 2 (Mélange)=====) solution de travail

En dehors de ces réactifs proprement dits, il faut disposer de:

* cholestérol enzymatique=====) solution de calibration à (2 g/l)

* Echantillons =====) plasmas à doser

Le taux de cholestérol contenu dans les plasmas est alors donné par la formule suivante :

$$\text{Taux de cholestérol (g/l)} = \frac{\text{Densité optique Dosage} \times n}{\text{Densité optique Etalon}}$$

Dosage = Echantillon à doser	10µl
Solution de travail	1 ml
Etalon = Cholestérol enzymatique	10 µl
Solution de travail	1 ml

2/ Dosage des triglycérides

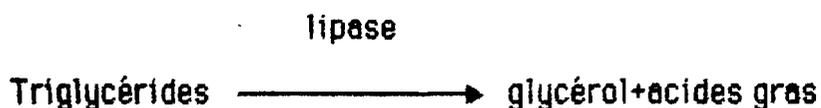
. Principe

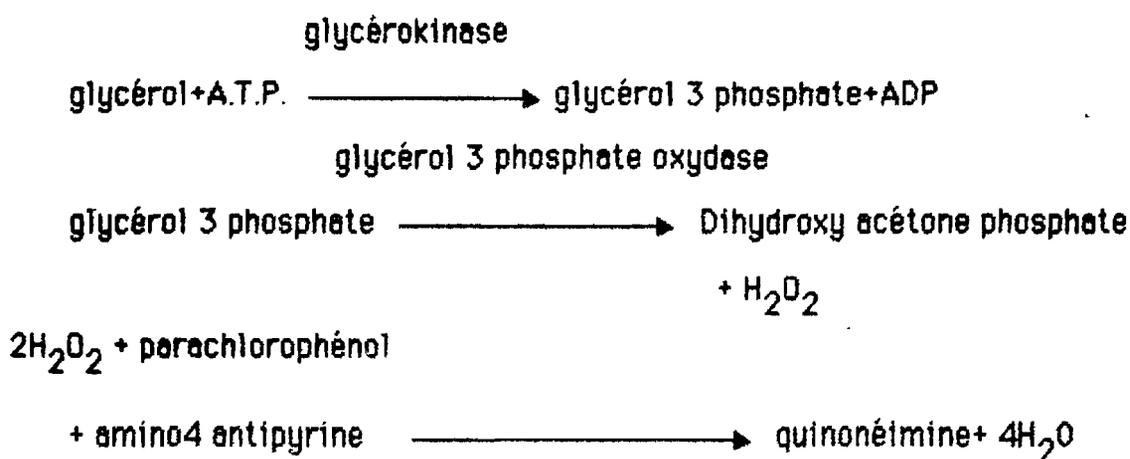
Les triglycérides sont hydrolysés par un système enzymatique lipase-estérase en acide gras libre et en glycérol.

Celui-ci en présence d'ATP est transformé en glycérol 3 phosphate par la glycérokinase avec formation d'ADP qui en présence d'une glycérol 3 phosphate oxydase va donner la dihydroxy acétone phosphate et de l'hydroxyde d'hydrogène.

L'hydroxyde d'hydrogène en présence du parachlorophénol et de Amino 4 antipyrine va donner de la quinoneimine sous l'action d'une peroxydase. C'est cette quinoneimine qui sera dosée par spectrophotomètre.

Les réactions peuvent s'écrire comme suit :





Réactifs

Réactif 1 : Etalon	Glycérol	2,29 mmol/l
Réactif 2 : tampon	tampon tris pH 7,6	100 mmol/l
	parachlorophénol	5,4 mmol/l
	magnésium	4 mmol/l
Réactif 3 : Enzymes	amino 4 antipyrine	0,4 mmol/l
	Lipase	≥ 100 000 µl
	glycérone kinase	≥ 200 µl
	glycérol 3 phosphate	
	Oxydase	≥ 2000 µl
	peroxydase	≥ 200 µl
	A.T.P.	0,8 mmol/l

Réactif 1 + réactif 2 = solution de travail

Echantillons : plasmas héparinés

Le taux de glycérides contenus dans les différents plasmas dosés est donné par la formule suivante :

$$\text{Taux de glycérides} = \frac{\text{Densité optique Dosage} \times n}{\text{Densité optique Etalon}}$$

g/l

Dosage = Echantillon (plasma à doser) 10 µl

Solution de travail 1 ml

Etalon = Etalon (Réactif 1) 10 µl

Solution de travail 1 ml

$n = 2$ (g/l) ou $2,29$ (µmoles/l)

longueur d'onde 505 nm

3/ Dosage des HDL cholestérol

Le principe de la méthode est le suivant :

Les chylomicrons et les lipoprotéines de très faible densité (VLDL) et de faible densité (LDL) contenus dans l'échantillon sont précipités par addition d'acide phosphotungstique en présence d'ions magnésium.

Le surnageant obtenu après centrifugation contient des lipoprotéines de haute densité (HDL) dont le cholestérol est dosé par le réactif cholestérol enzymatique.

Réactifs

Réactif 1	acide phosphotungstique	40 g/l
(réactif précipitant)	Mg Cl ₂ 6 H ₂ O	100 g/l
	pH 6,2	
Réactifs 2	cholestérol	1,30 mmol/l
(calibration de HDL cholestérol)	libre + estérifié	0,5 g/l

Echantillons : plasmas à doser recueillis sur E.D.T.A.

Mode opératoire

1) Réaction de précipitation : Mélanger 500 μ l de sérum et 50 ml de réactif 1 (réactif précipitant). Attendre 10 minutes puis centrifuger pendant 15 minutes à 5000 t/minute. Récupérer le surnageant.

2) Dosage du cholestérol HDL

se fait au spectrophotomètre à la longueur d'onde de travail de 500 nm. Faire le zéro de l'appareil à l'aide du Blanc.

réactifs :

- Blanc réactif : - 50 μ l d'eau distillée
 - 1 ml de cholestérol enzymatique

Le taux de cholestérol HDL est alors donné par la formule suivante :

Densité optique Dosage x n

Densité optique Etalon

$$n = 1,42 \text{ (mmol/l)}$$

$$n = 0,55 \text{ (g/l)}$$

Dosage = 50 μ l de surnageant (Echantillon)

1 ml de cholestérol enzymatique

Etalon = 50 μ l de réactif de calibration (R2)

1 ml de cholestérol enzymatique

Mélanger. Incuber 5 minutes à 37°C avant de photométrer.

4) Dosage des LDL cholestérol

Cette méthode de dosage consiste à séparer des lipoprotéines de faible densité (LDL) et à doser le cholestérol lié à ces fractions.

Nous avons vu que diverses classes de lipoprotéines se différencient par leur densité, leur comportement électrique et leur réactivité vis à vis d'anticorps spécifiques.

Une étude entre l'ultracentrifugation et la technique de précipitation montre une bonne corrélation entre les taux de cholestérol mesurés.

Réactifs

- Réactifs précipitant	surfactant anionique polycyclique	0,4g/l
les LDL (R1)	surfactant anionique polycyclique condensé	0,8g/
	dioxane Polysubstitué	12,4 mmol/l
	tampon imidazole pH 6,10	25 mmol/l
		- Réac-
tifs substituant	citrate trisodique	0,15 mmol/l
les LDL (R2)	chlorure de sodium	0,11 mmol/l
- Réactif de calibration	cholestérol	1 mmol/l
des LDL cholestérol	libre+ estérifié	1 mmol/l
		ou 0,387 g/l

- Echantillons : Sérum ou plasma recueilli sur E.D.T.A.

Mode opératoire :

Mélanger 1 ml de réactif précipitant et 50µl de sérum.

Laisser 30 minutes à 2-8°C et centrifuger 5 minutes à 4000t/mn séparer le surnageant du culot par retournement. bien égoutter et solubiliser le culot dans 0,5 ml de réactif solubilisant.

Après ces deux opérations de précipitation (1) et de solubilisation (2). Le dosage du cholestérol LDL est rendu possible.

La longueur d'onde de travail est 500 nm.

Le taux de cholestérol lié aux LDL est alors calculé de façon suivante :

$$\text{Taux de cholestérol L.D.L.} = \frac{\text{Densité optique Dosage} \times n}{\text{Densité optique Etalon}}$$

$$n=3,87 \text{ (g/l)}$$

$$n=10 \text{ (mmol/l)}$$

Dosage : - 100µl de culot solubilisé

- 1 ml de cholestérol enzymatique

Etalon : - 100 μ l de réactif de calibration (R3)

- 1 ml de cholestérol enzymatique

Photométrer après cinq minutes d'incubation à 37°C et après stabilisation du spectrophotomètre. Le zéro de l'appareil est réalisé avec le Blanc réactif.

Blanc réactif : - 100 μ l d'eau distillée

- 1 ml de cholestérol enzymatique

CHAPITRE II - RESULTATS ET DISCUSSION

II-1. DES RESULTATS

Nous présenterons dans un premier temps les résultats du dosage de l'activité cholinestérasique du plasma des animaux support de notre expérience et dans un deuxième temps les résultats du dosage des lipides et lipoprotéines plasmatiques de ces animaux,

II-1-1. Résultats du dosage de l'activité cholinestérasique

Pour chaque animal, les résultats sont donnés en tenant compte du substrat utilisé (acétylthiocholine ou propionylthiocholine) et en fonction des trois périodes du protocole d'intoxication à savoir :

- période pré-intoxication
- période d'intoxication
- période post-intoxication

L'ensemble des résultats obtenus sont consignés dans les tableaux 9 et 10 pour l'acétylthiocholine et le propionylthiocholine respectivement. Ces tableaux représentent la moyenne des valeurs obtenues.

II-1-2. Résultats du dosage des lipides et lipoprotéines du plasma

Il s'agit des résultats des quatre paramètres étudiés c'est à dire : cholestérol, triglycérides, HDL cholestérol, LDL cholestérol.

Ces résultats sont consignés dans les tableaux 11,12, 13,14.

II-1-3. Etude comparée de l'évolution des paramètres lipoprotéiques et cholinestérasiques en fonction des trois phases du protocole d'intoxication. Ces résultats sont consignés dans le tableau 15.

Tableau n° 9 : Moyenne générale des Chiots (2, 3, 4, 5, 6, 7)

Activité cholinestérasique en $\mu\text{mole} / \text{min} / \text{ml}$ de plasma
 Substrat = Acétylthiocholine (plasma dilué au 1/120)

Date de Plvmts N° Chiots	Pré-intox	Période intoxication			Post - intoxication				
	19.01.90	22.01.90	25.01.90	29.01.90	02.02.90	06.02.90	10.02.90	15.02.90	19.02.90
2	4,28	1,95	1,59	1,63	3,83	3,7	3,39	3,15	3,79
3	4,6	3,21	1,25	0,93	2,33	3,71	4,25	4,51	5,73
4	3,81	2,48	1,38	1,71	3,35	4,51	3,36	2,94	3,06
5	1,76	1,11	0,78	0,89	2,41	2,34	2,83	2,44	2,42
6	2,42	1,57	1,25	0,97	1,67	1,92	2,96	2,35	2,91
7	4,25	1,94	1,24	1,01	3,8	4,11	3,38	3,79	4,88
ΣX	21,12	12,26	7,49	7,14	17,39	20,29	20,17	19,18	22,79
\bar{X}	3,52	2,04	1,24	1,19	2,89	3,38	3,36	3,19	3,79
σ	1,15	0,73	0,26	0,37	0,88	1,02	0,49	0,82	1,27
ϵ	1,2	0,76	0,27	0,38	0,92	1,07	0,51	0,86	1,33

Composé fénitrothion

Dose : 130 mg/kg/jour pendant 7 jours

N.B.

 ΣX = Somme des valeurs \bar{X} = Moyenne σ = Ecart type ϵ = Erreur

Date de Plvmts N° CHIOT	Pré-intox.	Période Intoxication				Post - intoxication			
	19.01.90	22.01.90	25.01.90	29.01.90	02.02.90	05.02.90	10.02.90	15.02.90	29.02.90
2	3,91	2,79	1,61	1,45	3,68	3,28	6,25	5,11	5,73
3	4,28	2,83	1,13	0,79	2,13	3,29	3,65	3,89	3,79
4	4,86	2,45	1,25	0,71	3,27	3,72	3,77	3,68	4,52
5	1,98	0,98	0,79	0,91	2,39	2,46	2,64	2,51	3,39
6	3,59	1,64	1,38	0,81	1,91	2,59	3,42	2,78	3,75
7	4,42	2,34	1,38	1,29	4,27	4,48	4,31	4,62	6,08
ΣX	23,04	13,03	7,54	5,96	17,65	19,82	24,04	22,59	27,26
\bar{X}	3,84	2,17	1,25	0,99	2,94	3,3	4	3,76	4,54
σ	1,00	0,72	0,27	0,30	0,94	0,74	1,22	1,01	1,12
ϵ	1,049	0,75	0,28	0,31	0,98	0,77	1,28	1,06	1,17

Tableau n° 10 : Activité cholinestérasique en μmol de substrat hydrolysé/
mn/ml de plasma

Substrat = propionylthiocholine

dilution de plasma 1/20

N. B.

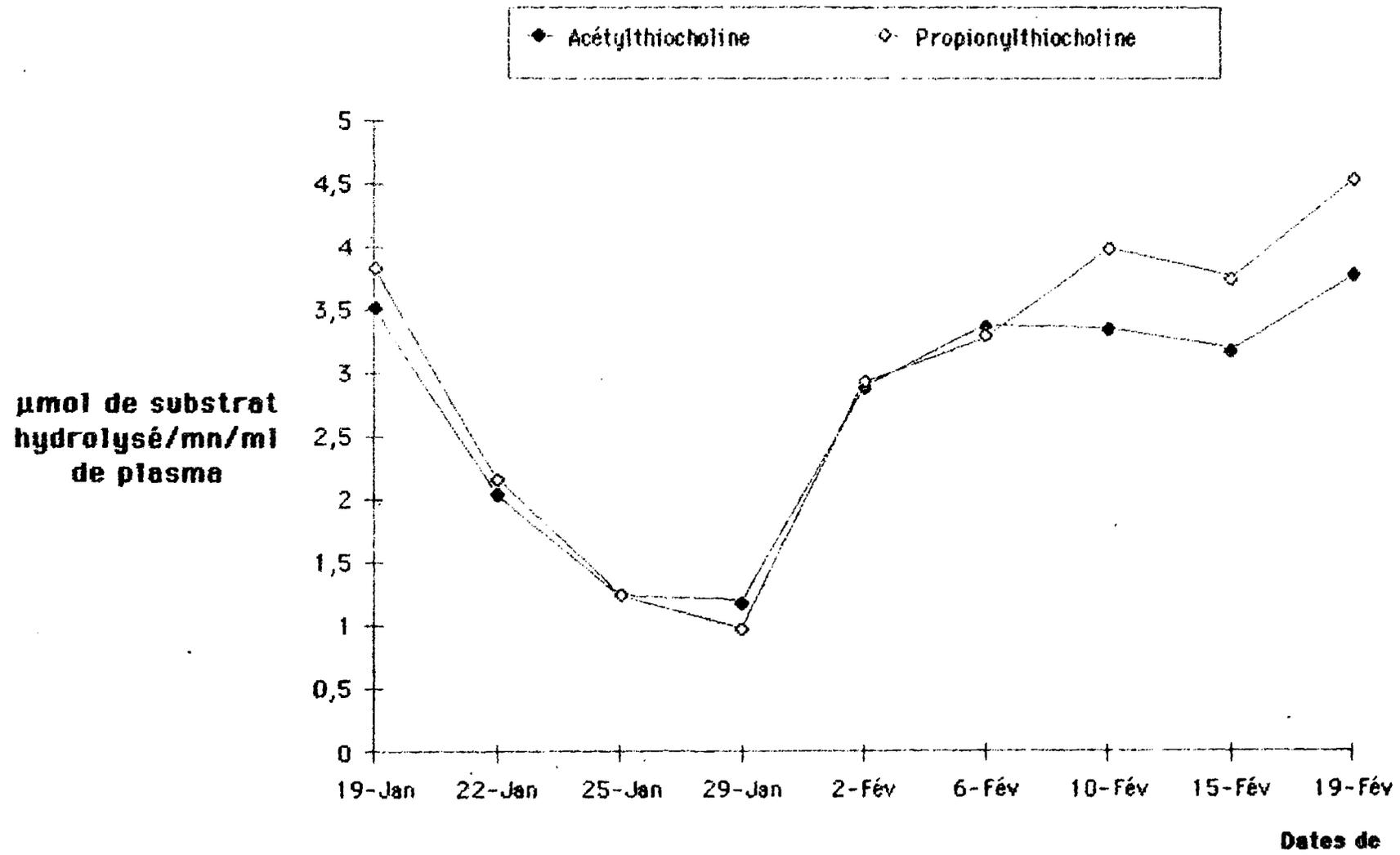
ΣX : Somme des valeurs

\bar{X} : Moyenne

σ : Ecart type

ϵ : Erreur

Figure n° 2: Evolution de l'activité cholinestérasique dans le temps



Date de Plvmt N° CHIOT	Pré-intox.	Période intoxication			Post - intoxication				
	19.01.90	22.01.90	25.01.90	29.01.90	02.02.90	06.02.90	10.02.90	15.02.90	19.02.90
2	2	1,66	2,39	2,48	2,23	1,89	1,85	2,25	2,51
3	2,38	2,74	1,99	2,75	2,74	1,92	2,91	2,44	2,64
4	1,83	1,81	1,81	1,79	1,83	1,86	1,81	1,83	2,22
5	3,17	2,97	3,17	2,14	3,94	3,86	4,44	3,14	32,67
6	2,5	1,77	2,3	2,6	2,06	1,96	2,06	2,4	2,15
7	2,15	2,14	2,14	2,17	2,16	2,17	2,16	2,17	2,17
$\sum X$	14,03	13,09	13,6	13,93	14,96	13,66	15,23	14,23	15,86
\bar{X}	2,33	2,18	2,3	2,32	2,49	2,27	2,53	2,37	2,64
σ	0,47	0,55	0,47	0,35	0,76	0,78	1,01	0,43	0,66
ϵ	0,49	0,57	0,49	0,36	0,79	0,81	1,06	0,45	0,69

Tableau n° 11 : Valeur du Cholestérol total (g/l)

N. B.

 $\sum X$ = Somme des valeurs \bar{X} = Moyenne σ = Ecart type ϵ = Erreur

Date de Plvmt. N° CHIOT	Pré-intox.	Période intoxication			Post intoxication				
	19.01.90	22.01.90	25.01.90	29.01.90	02.02.90	06.02.90	10.02.90	15.02.90	19.02.90
2	1,37	1,28	0,96	1,30	1,38	1,41	1,58	1,59	1,35
3	1,43	1,76	1,05	0,93	0,99	1,68	1,13	1,39	1,1
4	0,4	0,84	0,49	0,92	0,61	1,00	1,42	0,58	0,64
5	0,24	1,3	2,59	1,69	0,3	2,85	1,49	0,2	0,37
6	0,37	1,18	2,37	1,29	2,43	2,54	2,35	1,67	0,19
7	0,97	1,28	1,00	0,82	1,09	1,28	0,8	0,72	0,43
ΣX	4,78	7,64	8,46	6,95	6,8	10,76	8,77	6,15	4,08
\bar{X}	0,79	1,27	1,41	1,15	1,13	1,79	1,46	1,02	0,68
σ	0,53	0,29	0,85	0,32	0,73	0,73	0,52	0,6	0,45
ϵ	0,55	0,30	0,89	0,33	0,76	0,76	0,54	0,62	0,47

Tableau n° 12 : Valeur des triglycérides (g/l)

N. B.

 ΣX : Somme des valeurs \bar{X} : Moyenne σ : Ecart type ϵ : Erreur

Date de plvmt N° CHIOT	Pré-intox.	Période intoxication			Post - intoxication				
	19.01.90	22.01.90	25.01.90	29.01.90	02.02.90	05.02.90	10.02.90	15.02.90	19.02.90
2	1,71	1,43	1,33	2,14	1,65	1,27	2,05	1,79	1,85
3	1,8	2,05	1,76	1,71	2,02	1,97	1,89	1,98	2,2
4	1,74	1,58	1,59	1,71	1,5	1,63	1,87	1,48	1,64
5	1,2	1,81	1,69	1,75	1,78	1,85	1,78	1,52	1,70
6	1,17	1,2	1,23	1,56	1,37	1,18	1,21	1,24	0,99
7	1,1	1,15	1,05	1,19	1,4	1,51	1,18	1,22	1,21
$\sum X$	8,72	9,22	8,65	10,06	9,72	9,41	9,98	9,23	9,59
\bar{X}	1,45	1,53	1,44	1,67	1,62	1,56	1,66	1,53	1,59
σ	0,32	0,35	0,28	0,30	0,24	0,31	0,37	0,30	0,43
ϵ	0,33	0,36	0,29	0,31	0,25	0,32	0,38	0,31	0,45

Tableau n° 13 : Valeur du H.D.L.Cholestérol (g/l)

N.B.

 $\sum X$ = Somme des valeurs \bar{X} = Moyenne σ = Ecart type ϵ = Erreur

Date de Plvmt N° CHIOT	Pré-intox.	Période intoxication			Post - intoxication				
	19.01.90	22.01.90	25.01.90	29.01.90	02.02.90	06.02.90	10.02.90	15.02.90	19.02.90
2	2	1,66	2,39	2,48	2,23	1,89	1,85	2,25	2,61
3	2,38	2,74	1,99	2,75	2,74	1,92	2,91	2,44	2,84
4	1,07	2,96	3,5	3,89	3,95	3,89	3,59	2,99	3,7
5	1,02	1,03	1,08	1,31	1,34	1,01	1,10	1,04	1,41
6	2,14	1,91	3,57	1,83	2,09	2,15	1,77	1,43	1,75
7	2,99	3,68	3,77	4,21	4,07	3,92	4,01	1,61	1,37
ΣX	11,6	13,98	16,3	16,47	16,42	14,78	15,23	11,76	13,68
\bar{X}	1,93	2,33	2,71	2,74	2,73	2,46	2,53	1,96	2,28
σ	0,76	0,96	1,07	1,13	1,08	1,18	1,14	0,72	0,92
ϵ	0,79	1,00	1,12	1,18	1,13	1,23	1,19	0,75	0,96

Tableau N° 14 : Valeur du L.D.L. cholestérol (g/l)

N.B.

 ΣX : Somme des Valeurs \bar{X} : Moyenne σ : Ecart type ϵ : Erreur

Date de Pivmt. Paramètres	Période intoxication				Post - intoxication				
	Pré-intox.								
	19.01.90	22.01.90	25.01.90	29.01.90	02.02.90	06.02.90	10.02.90	15.02.90	19.02.90
Activité cholin. (Acétyl choline) µmol/mn/ml	3,52±1,2	2,04±0,76	1,24±0,27	1,19±0,38	2,89±0,92	3,38±1,07	3,36±0,51	3,19±0,86	3,79±1,33
Activité cholin. (prop. thio choline) µmol/mn/ml	3,84±1,04	2,17±0,75	1,25±0,28	0,99±0,31	2,94±0,98	3,3±0,77	4±1,28	3,76±1,06	4,54±1,17
Cholestérol (g/l)	2,33±0,49	2,18±0,57	2,3±0,49	2,32±0,36	2,49±0,79	2,27±0,81	2,53±1,06	2,37±0,45	2,64±0,65
Triglycérides (g/l)	0,79±0,55	1,27±0,3	1,41±0,89	1,15±0,32	1,13±0,73	1,79±0,76	1,46±0,54	1,02±0,64	0,68±0,47
L.D.L. cholest. (g/l)	1,93±0,79	2,33±1	2,71±1,12	2,74±1,18	2,73±1,13	2,46±1,23	2,53±1,19	1,96±0,75	2,28±0,96
H.D.L. cholest. (g/l)	1,45±0,33	1,53±0,36	1,44±0,29	1,67±0,31	1,62±0,25	1,56±0,32	1,66±0,38	1,53±0,31	1,59±0,45

Tableau n° 15: Fluctuations de l'activité cholinestérasique
et des lipoprotéines plasmatiques en rapport avec
l'administration du fénitrothion chez le chien

II-2 DISCUSSION

II-2-1 Du choix des animaux

Le choix du chien comme support de notre expérience est important pour deux raisons :

- La première raison est que le chien constitue de toutes les espèces domestiques, l'animal le plus fréquemment victime d'intoxications aiguës quand bien même ces intoxications ne sont pas toujours dues aux pesticides objet de notre étude.

- La deuxième raison est que l'étude expérimentale qui peut nous permettre d'étudier les inter relations cholinestérases-métabolisme lipoprotéique est pratiquement impossible chez l'homme.

II-2-2. De la conduite de l'expérimentation

L'expérimentation a souffert de quelques contraintes qu'il est bien de signaler.

1) Nombre relativement faible d'animaux

Cette insuffisance nous a contraints à nous passer d'un lot témoin et à considérer chaque animal comme son propre témoin en procédant à un prélèvement avant intoxication. Ces prélèvements pré-intoxication auraient pu être répétés afin d'obtenir une meilleure valeur de référence mais avec la crainte de voir les animaux disparaître, nous nous sommes contentés d'un seul prélèvement avant la phase d'intoxication.

2) Age des animaux

Les animaux étant très jeunes, les prélèvements ont été fastidieux et ceci d'autant plus que, les veines jugulaires étaient peu perceptibles. La qualité des prélèvements n'en demeure pas pour autant compromise. Par la suite, cette opération est devenue plus supportable et vite réalisable, la ponction se faisant au niveau de la veine radiale après pose d'un garrot

II-2-3. Des résultats

1) De l'activité cholinestérasique du plasma

Ces résultats seront discutés avec comme critère le substrat utilisé (Acétylthiocholine ou propionylthiocholine). L'évolution de l'activité cholinestérasique sera alors appréciée en tenant compte de trois phases déjà citées et en passant de la moyenne des valeurs, aux variations individuelles.

a) Avec l'acétylthiocholine comme substrat

a-1) Valeurs pré-intoxication

Le valeur moyenne de l'activité cholinestérasique pendant cette période (période de référence) est 3,52 μ mole/min/ml pour l'ensemble de six chiots.

Les valeurs individuelles vont de 1,76 à 4,6.

L'observation des valeurs individuelles ne montre pas une grande variation. Cependant le cas des chiots 5 et 6 montre des valeurs relativement faibles.

a-2) Valeurs de la période d'intoxication

L'examen des résultats obtenus dans cette période montre une chute de la valeur moyenne de l'activité cholinestérasique du plasma. cette baisse est observable dès le 1er jour qui suit l'intoxication. Cette chute est observée au niveau de tous les animaux.

L'observation des pourcentages (tableaux 16 et 17) montre que d'une valeur de 100 p.100 (valeur de référence), l'activité revient à 62,76 p.100 soit une baisse de 37,24 p.100.

Cette baisse s'est poursuivie jusqu'à l'arrêt de l'intoxication. Le pourcentage d'activité est alors à 33,8 p.100 soit une réduction de 66,2 p.100.

a-3) Période post-intoxication

Elle est caractérisé dès le premier jour par un recouvrement de l'activité cholinestérasique. Ce recouvrement est certes partiel mais tout de même important car l'activité qui était de 1,19 passe à 2,89 soit un recouvrement de 43,3 p.100.

Cette augmentation est allée croissante de sorte que 1 mois après le début de notre expérimentation le recouvrement est total, puisque dépassant même le taux initial.

Au bilan,

Au regard de ces résultats, nous pouvons dégager la conclusion suivante :

Le fénitrothion insecticide organophosphoré, administré per cutanée chez le chien à la dose de 130 mg/kg/j pendant une semaine entraîne une forte dépression de l'activité cholinestérasique du plasma dès les premiers jours de l'intoxication. Cette inhibition peut atteindre 66,2 p.100 de l'activité cholinestérasique initiale.

b) Avec le propionylthiocholine comme substrat

b-1) Valeurs pré-intoxication : (Valeurs de référence)

La moyenne des valeurs est ici de 3,84 μ mole/min/ml

Date de Plvmt N° CHIOT	Pré-intox.	Période intoxication			Post - intoxication				
	19.01.90	22.01.90	25.01.90	29.01.90	02.02.90	06.02.90	10.02.90	15.02.90	19.02.90
2	100	45,56	37,14	38,08	89,48	86,44	79,20	73,59	88,55
3	100	69,78	27,17	20,21	50,65	80,62	92,39	98,04	124,56
4	100	65,09	36,22	44,88	87,92	118,37	88,18	77,16	80,31
5	100	63,06	44,31	50,56	136,96	132,95	160,79	138,63	137,5
6	100	64,87	51,65	40,08	69,00	79,33	122,31	97,1	120,24
7	100	45,64	29,17	23,76	89,41	96,7	79,52	89,17	114,82
	100	62,76	35,22	33,8	82,1	96,02	95,45	90,62	107,6

Tableau n° 16: Pourcentage de l'activité cholinestérasique après
intoxication de chiens au fénitrothion par la voie per
cutanée
dose : 130 mg/kg/jour
substrat = acétylthiocholine

Date de Plvmt N° CHIOT	PRE-INTOX	Période intoxication			Post- intoxication				
	19.01.90	22.01.90	25.01.90	29.01.90	02.02.90	06.09.90	10.02.90	15.02.90	19.02.90
2	100	71,35	57,7	37,08	94,1	83,8	159,8	130	146,5
3	100	66,12	26,4	18,45	49,76	76,8	85,2	90,8	88,5
4	100	50,41	25,72	14,6	67,28	76,5	77,5	75,7	93,00
5	100	49,49	39,89	45,95	120	124,2	133	126	171,2
6	100	45,68	38,44	22,56	53,2	72,14	95,2	77,4	104,9
7	100	52,94	31,22	29,18	96,6	101,35	97,5	104,5	137,5
\bar{X}	100	56,5	32,5	25,78	76,56	85,9	85,9	97,9	118,2

Tableau n° 17 : Pourcentage de l'activité cholinestérasique
après intoxication de chiens au fénitrothion par la
voie per cutanée

dose : 130mg/kg/jour

substrat = propionylthiocholine

N. B.

\bar{X} = Moyenne

Les valeurs individuelles vont de 1,98 à 4,86.

On ne note pas non plus ici une grande variation individuelle à l'exception du n°5 qui a une valeur faible comparée aux autres.

b-2) Valeurs de la période d'intoxication

Nous remarquons comme dans le cas de l'acétylcholine, une baisse de l'activité cholinestérasique moyenne mais aussi individuelle. La valeur moyenne passe de 3,84 (valeur initiale) à 2,17 dès le début de l'intoxication soit en observant le tableau des pourcentages un passage de 100 p.100 d'activité à 56,5 p.100 soit une inhibition de 43,5 p.100. Cette inhibition se poursuit jusqu'à l'arrêt de l'intoxication. La valeur globale passe alors de 3,84 à 0,99 soit une inhibition de 74,22 p.100.

b-3) Valeurs post-intoxication

Elle est caractérisée par le recouvrement de l'activité cholinestérasique. Dès l'arrêt de l'intoxication (au 1er jour qui suit cet arrêt), on note un passage de 25,78 p.100 d'activité à 76,56 p.100, soit une récupération de 50,78 p.100. De même comme avec l'acétylthiocholine, on remarque que 1 mois après, le recouvrement est total.

Nous pouvons en conclusion dire aussi que tout comme avec l'acétylthiocholine prise comme substrat, les variations observées avec le propionylthiocholine sont les mêmes.

c/ Confrontation avec des résultats bibliographiques

La mesure de l'activité cholinestérasique variant d'une méthode à une autre, et exprimée dans des unités diverses selon les méthodes, le rapprochement des résultats n'est pas aussi aisé. Cependant, sur la base des pourcentages d'inhibition des activités cholinestérasiques, les résultats que nous avons obtenus peuvent être comparés à ceux de Sido (62) qui a réalisé une étude similaire mais chez des ovins.

Cet auteur note qu'avec le fénitrothion utilisé par la voie percutanée à la dose de 130 mg/kg/j chez les ovins, la dépression est très lente en début d'intoxication, l'action d'une dose étant peu perceptible.

Cela est contraire à nos résultats obtenus chez les chiots dans des conditions sensiblement identiques.

Cet auteur note également un recouvrement lent de l'activité cholinestérasique contraire également à nos résultats.

L'interprétation d'une telle différence résiderait probablement dans la différence de sensibilité liée à l'espèce, dans la différence d'âge des animaux.

Ceux que nous avons utilisés étant très jeunes à la différence de ceux utilisés par Sido 62). Mais il faut surtout noter que chez les ovins l'activité cholinestérasique est érythrocytaire; ce qui explique un recouvrement plus long de l'activité cholinestérasique une fois déprimée.

Sur le plan clinique cependant, les résultats concordent. Malgré la forte dépression cholinestérasique des premiers jours, à aucun moment nous n'avons observé des signes d'intoxications ; aucun changement dans le comportement des animaux, alimentaire en particulier..

Les seuls faits observés sont des signes d'irritation après contact avec l'insecticide entraînant les animaux à se gratter ou à se blottir dans un endroit frais.

2) Des résultats des dosages des lipides et lipoprotéines

Les résultats des dosages que nous avons effectués ayant été présentés dans les tableaux 11, 12, 13, 14, nous allons dans un premier temps les confronter avec ceux fournis par la littérature et qui ont été réalisés dans des conditions normales (sans intoxication) chez le chien.

Nous allons dans un deuxième temps les discuter.

* Comparaison avec les résultats(g/l) obtenus par Binsfield

Paramètres	Binsfield	Résultats personnels
Lipides totaux	10,0 - 21,6 14,69 ± 0,42	-
Cholestérol	1,25 - 2,80 1,99 ± 0,07	1,83 - 3,17 2,33 - 0,49
Triglycérides	0,26 - 3,55 0,86 ± 0,09	0,24 - 1,43 0,79 ± 0,55

En comparaison des résultats obtenus par Binsfield les valeurs que nous avons obtenus pour le cholestérol sont supérieures alors que celles des Triglycérides sont dans la fourchette.

* Comparaison avec les résultats de Siliart calculés en g/l (63)

Paramètres	Siliart	Résultats personnels
Lipides totaux	8,22±1,09	-
Cholestérol	1,28±0,13	2,33±0,49
Triglycérides	0,48±0,06	0,79±0,55

Nos résultats restent supérieurs à ceux trouvés par cet auteur autant pour le cholestérol que pour les triglycérides.

* Comparaison avec les résultats de Boussert et al. (9)

Paramètres	Boussert	Résultats personnels
Lipides totaux	7,25 ± 3,59	-
	11 ± 2,64	-
Cholestérol	1,42 ± 0,58	2,33 ± 0,49
	2,37 ± 0,47	
Triglycérides	0,6 ± 0,18	0,79 ± 0,55
	1,43 ± 0,47	

Les résultats que nous avons obtenus sont comparables à ceux de cet auteur aussi bien pour le cholestérol que pour les triglycérides.

* Comparaison avec les résultats obtenus par De la Farge (14) (Valeurs usuelles chez le chien) en mmol/l

Paramètres	De la Farge	Résultats personnels
Lipides totaux	2,5 - 7	4,72 - 8,17
Triglycérides	0,5 - 1	0,27 - 1,63

Ici nos résultats sont légèrement supérieurs à ceux obtenus par cet auteur

* Comparaison avec les résultats obtenus par Gros Lambert (g/l) (28)

		Lipides totaux	cholestérol	triglycérides
mâles 3-6 mois	n=10	7,56±0,8	2,26±0,44	0,85±0,28
féelles 3-6 mois	n=10	7,26±0,83	2,09±0,25	0,84±0,16

Ces résultats concordent avec ceux que nous avons obtenus.

Les différents tableaux comparés à nos résultats montrent des valeurs identiques ou légèrement différents des nôtres.

Dans ces comparaisons, il faudra tenir compte des procédés utilisés pour l'extraction des lipides en question.

De ce fait nos résultats sont en conformité avec les valeurs usuelles.

3/ Comparaison des fluctuations de l'activité cholinestérasique et des taux lipoprotéiques. Les résultats de nos dosages pré-intoxication étant proches de ceux trouvés dans la littérature, ceux obtenus en période d'intoxication et après intoxication sont de même fiables. Nous pouvons alors discuter de ces valeurs en suivant leurs fluctuations telles que résumées dans le tableau 15.

L'examen de ce tableau montre que :

* Les valeurs de l'activité cholinestérasique (telles que déjà commentées précédemment) subissent une dépression pendant la phase d'intoxication, puis retrouvent leur taux initial à l'arrêt du protocole d'intoxication.

* Les valeurs de cholestérol, triglycérides, HDL cholestérol, LDL cholestérol ne suivent pas les mêmes fluctuations que l'activité cholinestérasique dans le temps.

On ne peut parler de corrélation positive entre les paramètres lipoprotéiques et l'activité cholinestérasique. Les constituants lipoprotéiques ne subissant aucune dépression en début ou tout au long de l'intoxication. Leurs taux fluctuent autour d'une valeur plus ou moins constante.

Ces résultats sont alors en contradiction avec ceux obtenus par Reijo (55) chez le lapin ou chez l'homme mais en conformité avec ceux trouvés par Houeto (32) chez les applicateurs d'insecticides organophosphorés.

La preuve d'inter relations entre lipides, lipoprotéines d'une part et pseudo-cholinestérasiques de l'autre n'est pas apparue à travers nos résultats obtenus chez les chiens.

CONCLUSION

La mesure de l'activité cholinestérasique est l'élément de certitude dans le diagnostic des intoxications par les insecticides organophosphorés.

A l'Ecole Inter-Etats des Sciences et Médecine Vétérinaires de Dakar, de nombreux travaux ont été réalisés dans le département de Pharmacie-Toxicologie en vue de la détermination des activités cholinestérasiques chez différentes espèces. En effet, en raison d'une analogie structurale avec l'acétylcholine médiateur chimique du système nerveux para-symphatique, les insecticides organophosphorés viennent se lier aux cholinestérasés, enzymes chargés de la dégradation de ce substrat, inhibant ainsi l'activité cholinestérasique; d'où l'utilisation de la mesure de cette activité cholinestérasique pour le diagnostic de ces intoxications.

Mais il semble aussi que ces cholinestérasés interviennent dans d'autres processus physiologiques par exemple dans le métabolisme des lipides et des lipoprotéines.

* Selon KUTTY et al. (38), les pseudocholinestérasés s'associeraient quelquefois aux lipides et lipoprotéines pour former un complexe.

* Selon CHU et al. (12), l'activité des pseudocholinestérasés augmenterait proportionnellement à celle des triglycérides et du cholestérol.

* Les travaux de Reijo (55) ont montré la chute concomitante de l'activité des cholinestérasés et des taux de cholestérol et de LDL chez des lapins intoxiqués au dichlorvos. Ils ont aussi noté une remontée de ces paramètres dès l'arrêt du protocole d'intoxication.

Nous avons voulu dans le cadre de ce travail, nous consacrer à l'étude de ces inter relations et apporter ainsi notre contribution. Nous avons donc été conduits:

- dans un premier temps :

à administrer du fénitrothion à la dose de 130 mg/kg/jour durant une semaine par la voie percutanée et à apprécier parallèlement les différents paramètres pendant et après l'intoxication.

Les résultats obtenus sont les suivants :

- dans les conditions normales :

* Activité cholinestérasique

Acétylthiocholine : $3,52 \pm 1,2$ (μ moles de substrat hydrolysé/mn/ml de plasma)

Propionylthiocholine : $3,84 \pm 1,04$ (μ moles de substrat

hydrolysé/mn/ml de plasma)

* Taux lipoprotéique

cholestérol	2,33 ± 0,4 (g/l)
triglycérides	0,79 ± 0,55 (g/l)
HDL cholestérol	1,45 ± 0,33 (g/l)
LDL cholestérol	1,93 ± 0,79 (g/l)

- pendant l'intoxication

Nous avons noté une dépression de l'activité cholinestérasique avec les deux substrats; dépression de l'ordre de 75 p.100 avant l'arrêt de l'intoxication et des fluctuations pour les paramètres de la lipémie.

- après l'intoxication

Nous avons noté une remontée rapide de l'activité cholinestérasique.

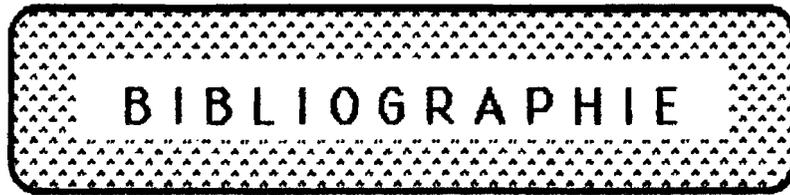
Quant aux taux de cholestérol, triglycérides, HDL cholestérol, et LDL cholestérol, ils sont restés sans modification importante en relation avec l'intoxication.

Les résultats obtenus dans les conditions normales c'est à dire avant administration du fénitrothion sont de façon générale conformes aux valeurs usuelles.

Et à la lumière des résultats obtenus après intoxication, nous pouvons dire que l'administration du fénitrothion par la voie per cutanée à la dose de 130 mg/kg/jour pendant une semaine a fortement déprimé l'activité cholinestérasique jusqu'à un seuil de 25 p.100 avant d'accuser par la suite une remontée qui est allée croissante.

L'effet du fénitrothion sur les taux lipoprotéiques n'est pas évident. Nous avons observé des fluctuations qui ne semblent pas être en rapport avec l'intoxication. Ceci confirme les résultats récents obtenus dans le même laboratoire avec des applicateurs d'insecticides organophosphorés. Nous avons noté que l'activité cholinestérasique et les taux des fractions lipoprotéiques étudiées n'ont pas suivi une variation parallèle.

Aussi notre souhait est de voir ces expériences se poursuivre sur de nombreuses espèces afin de préciser les variations déjà signalées chez le lapin.



BIBLIOGRAPHIE

1- ADAMS (D.H.), WHITTAKER (V.P.)

The cholinesterase of Human blood. the specificity of the plasma enzyme and its relation of the erythrocyte cholinesterases.

Biochem. Biophys. Acta., 1949, 3 : 358-366.

2- ALDRIGDE (W.N.)

The differenciation of true and pseudocholinesterase by organophosphorus compounds.

Biochem., 1953, 53 : 62-67.

3- ANDRE (F.)

Intérêt du dosage des enzymes sériques en pathologie des animaux de rente.

Le point Vet., 1981, 12 (58) : 47-53.

4- ANDRE (F.)

Memento de Biochimie clinique vétérinaire.

E.N.V., Nantes, 1984, 22 p.

5- AUGUSTINSSON (K.B.) ET NACHMAN SOHN (D)

Distinction between acetyl cholinesterases and other choline estersplitting enzymes.

Science, 1949, 110 : 98-99.

6-BARTLEY (J.C.)

Lipid metabolism and its disorders in J.J. Kaneko, clinical biochemistry of domestic animals.

Academic Press, New York, 1980 : 53-56.

7- BEUCLER (I.), SALMON (S.) , POLONOWSKI J.

Rôle des lipoprotéines dans le transport et le métabolisme des lipides.

Cahier de nutrition et de diététique pp. 277.

8- BINSFIELD (J.P.)

Etude des taux de quelques lipides sanguins chez le chien obèse .

Thèse de Doctorat vétérinaire , Alfort, 1979.

- 9- BOUSSER (J.) , CAUCHETIER (J.), GROULADE (P.)
Lipides totaux, cholestérol total, triglycérides chez le chien normal
Ann. Biol. clin. 1979, 37, 184.
- 10- BUFARDECI (F.) et BUOSANTO (V)
Spectrophotometric determination of serum cholinesterase.
Bull. Soc. Ital. Biol. Sper., 1967.
- 11- CHAMBON (M.)
Aspects toxicologiques de la manipulation des insecticides organophosphorés.
Journal de Médecine de Bordeaux, 1958, 5 : 642-648.
- 12- CHU (M.I.), FONTAINE (P.) , KUTTY (K.M.) , MURPHY et REDHEENDRAN (R)
Cholinesterase in serum and low density lipoprotein of hyperlipidemic patients
Clin. Chim. Acta 1968, 22 : 151-155.
- 13- CISSE (P.)
Mesure des cholinestérases chez les poissons des genres Tilapia et Clarias au Sénégal.
Thèse Med. vet., Dakar, 1989, 28.
- 14- COLY (S.)
Mesure de l'activité cholinestérasique plasmatique et érythrocytaire. Application de l'effet des insecticides organophosphorés chez les manipulateurs.
Thèse Med. Vet. Dakar, 1988, n°28.
- 15- CUCIANI (M.), POPESCU (T.A.) ET HARAGUS
Pseudocholinesterase in obese and hyperlipemic subjects.
Clin. Chim. Acta. 1988, 22 : 151-155.
- 16- DE BOWES (L.J)
Lipid metabolism and hyperlipoproteinemia in dogs.
Comp. cont. Educ. 1987, 9 : 727-736.

17-DELAFARGE (F.)

Particularités de la Biologie clinique des lipides animaux.

Rec. Med. vet., 1986, 162 : 1021-1026.

18- DELGA (J)

Les anticholinestérasiques organophosphorés.

Actual Pharmacol., 1957, 10 : 47-87.

19- DELGA (J), FOULHOUX (P.)

Cholinestérasas et inhibiteurs.

Produits et problèmes pharmaceutiques 1969, 24 (2) : 57-70.

20- DUBBS (C.A.)

Ultrasonic effects on isoenzymes

Clin. Chim. Acta, 1966, 12 : 181-186.

21-EISENBERG (S.)

High density lipoproteins.

J. Lip. Res. 1984, 25 : 1017-1058.

22- ELLMAN (G.L) ET COURTNEY (R.D.)

A new and rapid colorimetric determination of acetyl cholinesterases activity.

Biochemical pharmacology, 1961, 7 : 89-95.

23- EYRE (P) et MACKENZIE (C.P.)

Anticholinesterase poisoning in a group of Dogs.

Vet. Rec., 1965, 77, 13 : 367-368.

24- FALCY (J.C.)

Mesure de la cholinestérase sanguine chez les Bovins.

Thèse Med. vet., Lyon : 1969, n°22.

- 25- FLORIO (R.) , LESCURE (F.), GUELFY (J.P.), RICO (A.G.) et LORGUE (G.)
Renseignements fournis par l'examen biochimique du sang chez les carnivores et les équidés domestiques.
Rev. méd. vét., 1971, 122, (2) : 95-117.
- 26- GAUTRON (C.)
Epreuves d'absorption des triglycérides chez le chien. Intérêt dans l'étude des malabsorptions et de la fonction pancréatique exocrine.
Thèse Doctorat vétérinaire, Toulouse, 1983.
- 27- GERVAIS (P.), FREJAVILLE (J.P.) et EFTHYMION (M.L.)
D'une intoxication par les organophosphorés.
Bull. Méd. Leg. Toxicol. Med., 1966, 9 : 423-424.
- 28- GROSLAMBERT (P.), GROULADE (P.), FOULON (T.) , GROULADE (J.)
Lipides et lipoprotéines du chien normal selon le sexe et l'âge.
Bull. Acad. vet. France, 1985, 58 : 473-484.
- 29- GROULADE (J.), LEMAR CHANDS (A.), PARAMELLE (B)
Evolution des lipides et des lipoprotéines sériques après un repas gras chez le chien normal.
Bull. Soc. Chim. Biol., 1957, 39 : 873-882.
- 30- GROULADE (P), GROSLAMBERT (P.), FOULON (T.) , GROULADE (J.)
Electrophorèse des lipoprotéines sériques de l'homme et du chien adulte normaux.
Bull. Acad. Nat. Med. , 1981, 165 : 1243-1250.
- 31- GUILHOT (J.C.)
Contribution à l'étude de l'électrophorèse des lipoprotéines chez le chien.
Thèse méd. Vét., Nantes, 1985.
- 32- HOUETO (P.)
Etude des cholinestérases et du métabolisme lipoprotéique chez les applicateurs de Pesticides au Sénégal.
Thèse Pharmacie Dakar , 1990 n °26.

33- JOSSELIN (J.C.)

Contribution à l'étude des lipides sériques du sénégalais sain et diabétique.

Thèse Méd. Dakar, 1975 n° 21.

34- KAYSER (C.)

Physiologie : système nerveux, muscles

Tome 2 Charles Kaysier 2e édition Flammarion 1969, 99. 1467.

35- KECK (G)

Toxicologie des intoxications par les organophosphorés et les carbamates.

Notes de toxicologie vétérinaire CNITV, 1980, 7 : 375-396.

36- KOLB (E)

Physiologie des animaux domestiques.

PARIS, Vigot Frères ; 1965, 25-27.

37- KUTTY (K.M.)

Biological fonction of cholinesterase.

Clin. Biochem. 1980, 13 : 239-243.

38- KUTTY (K.M.) ET ACHARAYA (C.D)

Serum cholinesterase and lipoprotein : a possible relationship.

Scand. J. Clin. Lab. Invest., 1972, 29 : 165.

39- KUTTY (K.M.) ET JACOB (J.C.)

Serum cholinesterase activity in hyper lipidemia and the in vitro effect of isoniazid on serum cholinesterase.

Can. J. Biochem., 1972, 50 : 32-34.

40-KUTTY (K.M.), REDHEENDRAN (R) et MURPHY (D)

Serum cholinesterase : fonction in lipoprotein metabolism.

Experimenta, 1977, 33 : 420-422.

41- KUTTY (K.M.) , ROWDEN (G) and COX (A.R.)

Inter relationship between serum β lipoprotein and cholinesterase.

Can J. Biochem., 1973, 51 : 883-887.

42- LAWRENCE (S.H.) and MELNICK (P.J.)

Enzymatic activity related to Human bêta lipoprotein : histochemical, immuno-electrophoretic and quantitative studies.

Soc. exp. Biol. Med. 1961, 107 : 998-1001.

43- LEMUET (G.)

Activité et toxicité des colliers insecticides diffuseurs de dichlorvos chez le chien.

Thèse Méd. Vét. Alfort, 1976, n°42.

44- LORGUE (G.), DELATOUR (P)

Les intoxications aiguës chez le chien : bilan de 15 mois d'analyses.

Rev. de Méd. Vét., 1973, 124, (10) : 1211-1218.

45- LOUISOT (P.)

Biochimie générale et médicale.

Paris : Simep, 1983 : pp. 1008.

46- MAZIERE (J.C.), MAZIERE CÉCILE, GARDETTE (J.), SALMON (S.)
et POLONOWSKI (J)

Le catabolisme des lipoprotéines de Basse densité et son implication dans l'athérosclérose.

Cahiers de nutrition et de diététique, 1987, 4 : 287.

47- MEDAILLE (C.)

Lipides et lipoprotéines du chien : étude bibliographique.

Thèse Méd. Vét. Toulouse, 1987, 115.

48- METAIS (B.M.), RAWSEY (H.)

Clinical biochemical and hematological reference values in normal experimental animals.

PARIS : Masson, 1977, 272 p.

49- MICHEL (H.O.)

An electrometric method for the determination of red blood cell. and plasma cholinesterase activity.

J. Lab. Clin. Med., 1949, 34 : 1564-1568.

50-MOUTHON (G.)

Etude des profils enzymatiques chez les grands animaux.

Rev. Méd. vét., 1977, 128 : 874-876.

51- NACHMANSOHN (D.)

Rôle of acetylcholine in neuro muscular transmission.

Ann. N.Y. Acad. Sci., 1966, 135 : 136-149.

52- POLONOVSKI (M.)

Biochimie médicale : enzymes et métabolismes.

Paris : Masson et Cie, 1973, pp. 430.

53- POLONOVSKI (M.)

Biochimie médicale : sang et Humeurs, tissus, organes biochimie physiologique et sémiologique.

Paris : Masson et Cie, 1973, Fascicule 3 ; pp. 739.

54-PUHAKAINEN (E.), RYHANEN (R.) and PENTTILA (I)

Serum pseudocholinesterase and HDL cholesterol.

J.Clin. Chem. Biochem., 1980, 18, 684.

55- REIJO RYHÄNEN, JARI HERRANEN, KALLE KORHONEN, JIKKA PENTTILÄ,
MAARIT POLVILAMPI and EINO PUHAKAINEN

Relationship between serum lipids, lipoproteins and pseudocholinesterase during organophosphate poisoning in rabbits.

Int. J. Biochem. 1984, 16, (6) : 687-690.

56- RICO (A.G), GODFRAIN (J.C.), BRAUN (J.P.)

Dosages enzymatiques en clinique canine.

Rev. méd. Vét., 1973, 124 : 1299-1310.

57-RODRIGUEZ (M.), FERMIN (M.L.)

Le lipidogramme. Les hyperlipémies chez le chien.

Anim. comp., 1981, 16 : 25-40.

58- RUKEBUCH (Y) et RUKEBUCH (M.)

Mesure de l'activité cholinestérasique du sang chez les animaux domestiques.

Rev. Méd. vét., 1959, 110 : 627.

59- SAKAGAMI (T.), ZILVERDMIT (D.B.)

Separation of dogs serum lipoproteins by ultracentrifugation dextran sulfate precipitation, and paper electrophoresis.

J. Lipid Research, 1961, 2 (3) : 271.

60- SALAME (M)

Contribution à l'étude analytique et biochimique des organophosphorés.

Thèse doctorat pharmacie, Bruxelles 1967.

61- SCHWARTZ (D.) et LAZARD (P.)

Eléments de statistique médicale et Biologique.

Paris : Flammarion, 1978, 145 p.

62- SIDO (S.)

Mesure de l'activité cholinestérasique chez les ruminants : application au diagnostic de l'intoxication par les insecticides organophosphorés.

Thèse Méd. Vét. Dakar, 1987, n°8.

63- SILIART - JAGUENEAU (B.)

Contribution à l'étude de la lipémie chez le chien.

Thèse Doctorat Vétérinaire, Alfort 1978.

64- SOLYOM (A.), BRADFORD (R.M.), FURMAN (R.H.)

Lipoprotein and lipid distribution in canine serum lipoproteins.

Biochem. Biophys. Acta, 1971, 229, 471.

65- SPIESSER (E.), PENNEAU (D.) BLANCHET (N.), HARRY (L.) PENNEAU (M.) et PROTEAU (J.)

Intoxication par les organophosphorés et carbamates : étude sur 10 ans des appels au centre anti-poison et des observations d'un service de réanimation médicale.

Arch. Mal. Prof., 184, 45 : 360-363.

66- TRINDER (P.) (1969)

Simple turbidimetric method for the determination of serum cholesterol.

Ann. Clin. Biochem. 6, 165-166.

67- VERGES (H.) et HOBBE (Th.)

Dosage spectrophotométrique des pseudocholinestérases sériques.

Ann. Biol. Clin. 1967, 25 : 687-694.

68- VINCENT (D.)

Les cholinestérases chez l'homme.

Rev. pathol. et physiol. Clin. 1961, 61 : 1217-1447.

69- VINCENT (D.) et SEGONZAC (G.)

Méthode pratique de dosage simultané des cholinestérases plasmatiques et globulaire dans le sang total.

Ann. Biol. clin. 1965, 23 : 353.

70- VDSS (G.) et SCHULER (J.)

A fast and simple procedure for routine determination of plasma cholinesterase activities.

Bull. Environ. Contam. toxicol., 1967, 2 : 357-363.

71- WILSON (I.B.)

Mechanism of hydrolysis, new evidence for an acylated enzyme as intermediate.

Biochem. Biophys. Acta, 1951, 7 : 520-525.

72- WILSON (I.B.)

Mechanism of enzyme hydrolysis : rôle of the acid group in the esteratic site of the acetyl cholinesterase.

Biochem. Biophys. Acta., 1951, 7 : 466-470.

73- YACCOUB (M.), SKOURI (H.), AHAMON (M) et BESENGENOT (F).

Intoxications aiguës par les insecticides organophosphorés à propos de 908 cas observés au Centre anti-poison de Tunis.

J. Toxicol. Med., 1981, 3 (1) : 186-188.

SERMENT DES VETERINAIRES DIPLOMES DE DAKAR

"Fidèlement attaché aux directives de Claude Bougelat, fondateur de l'Enseignement Vétérinaire dans le monde, je promets et je jure devant mes maîtres et mes aînés:

* d'avoir en tous moments et en tous lieux, le souci de la dignité et de l'honneur de la profession vétérinaire.

* d'observer en toute circonstance, les principes de correction et de droiture fixés par le code déontologique de mon pays.

* de prouver par ma conduite, ma conviction que la fortune consiste moins dans le bien que l'on a que dans celui que l'on peut faire.

* de ne point mettre à trop haut prix le savoir que je dois à la générosité de ma patrie et à la sollicitude de tous ceux qui m'ont permis de réaliser ma vocation.

**QUE TOUTE CONFIANCE ME SOIT RETIREE S'IL ADYIENNE QUE
JE ME PARJURE "**

VU

LE DIRECTEUR

DE L'ECOLE INTER-ETATS

DES SCIENCES ET MEDECINE

VETERINAIRES

LE CANDIDAT

LE PROFESSEUR RESPONSABLE

DE L'ECOLE INTER-ETATS

DES SCIENCES ET MEDECINE

VETERINAIRES.

VU

LE DOYEN DE LA

FACULTE DE MEDECINE ET

DE PHARMACIE

LE PRESIDENT DU JURY

VU ET PERMIS D'IMPRIMER _____

DAKAR, LE _____

LE RECTEUR, PRESIDENT DU CONSEIL PROVISOIRE DE L'UNIVERSITE CHEIKH

ANTA DIOP DE DAKAR