

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

\*\*\*\*\*

Année 1992



N° 3

**RELATION ENTRE LE CHOLESTEROL  
des LIPOPROTEINES DE HAUTE DENSITE (HDL) et de FAIBLE DENSITE (LDL)  
et les CHOLINESTERASES durant LES INTOXICATIONS  
Par le FENITROTHION ( I.O.P ) CHEZ le LAPIN**

**THESE**

Présentée et Soutenue Publiquement le 9 Mai 1992  
devant la Faculté de MEDECINE et de PHARMACIE de DAKAR Pour Obtenir le grade de  
DOCTEUR VETERINAIRE  
( DIPLOME D'ETAT )

Par

*Sidy FALL*

Né le 02 02 1963 à KAOLACK ( SENEGAL )

**PRESIDENT du JURY**

: Mr. FRANÇOIS DIENG  
Professeur à la faculté de Médecine et de Pharmacie de Dakar

**DIRECTEUR et RAPPORTEUR**

: Mr François Adebayo ABIOLA Professeur Agrégé à l'EISMV de Dakar

**MEMBRES du JURY**

: Mr Germain JEROME SAWADOGO Professeur agrégé à l'EISMV de Dakar  
: Mr Malang SEYDI Professeur agrégé à l'EISMV de Dakar  
: Mme Sylvie GASSAMA Professeur agrégé à la faculté de Médecine et de  
Pharmacie de Dakar

LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT

I. - PERSONNEL A PLEIN TEMPS

1 - ANATOMIE-HISTOLOGIE-EMBRYOLOGIE

Kouli	AGBA	Maître de Conférences Agrégé (Vacataire)
Jacques	ALAMARGOT	Assistant
Lahamdi	AMADOU	Moniteur

2 - CHIRURGIE- REPRODUCTION

Papa El Hassane	DIOP	Maître de Conférences Agrégé
Latyr	FAYE	Moniteur
Laurent	SINA	Moniteur

3 - ECONOMIE - GESTION

Hélène (Mme)	FOUCHER	Assistante
--------------	---------	------------

4 - HYGIENE ET INDUSTRIE DES DENREES

ALIMENTAIRES D'ORIGINE ANIMALE (HIDAQA)

Malang	SEYDI	Maître de Conférences Agrégé
Papa Idary	NIANG	Moniteur
Fatime (Mlle)	DIOUF	Moniteur

5 - MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE

PATHOLOGIE INFECTIEUSE

Justin Ayayi	AKARPO	Professeur titulaire
Jean	OUAR	Professeur
Rianatou (Mme)	ALAMBEDJI	Assistante
Souaïbou	FAROUGOU	Moniteur

6 - PARASITOLOGIE-MALADIES PARASITAIRES-ZOOLOGIE

Louis Joseph	PANGUI	Maître de Conférences Agrégé
Jean-Carré	MINLA AMI OYONO	Moniteur
Fatimata (Mlle)	DIA	Moniteur

7 - PATHOLOGIE MEDICALE-ANATOMIE PATHOLOGIQUE  
CLINIQUE AMBULANTE

Yalacé Y.	KABORET	Assistant
Pierre	DECONINCK	Assistant
Mouhamadou M.	LAWANI	Vacataire
Papa Aly	DIALLO	Moniteur

8 - PHARMACIE-TOXICOLOGIE

François A.	ABIOLA	Maître de Conférences Agrégé
Boubacar	DIATTA	Moniteur

9 - PHYSIQUE-THERAPEUTIQUE-PHARMACODYNAMIE

Alassane	SERE	Professeur Titulaire
MOUSSA	ASSANE	Maître de Conférences Agrégé
Nahar	MANIAT TAHIR	Moniteur

10- PHYSIQUE ET CHIMIE BIOLOGIQUES ET MEDICALES

Germain Jérôme	SAWADOGO	Maître de Conférences Agrégé
Moussa	TRAORE	Moniteur

11 - ZOOTECNIE - ALIMENTATION

Gbeukoh Pafou	GONGNET	Maître-Assistant
Ayao	SISSOHO	Assistant
Amadou	GUEYE	Moniteur

## II. - PERSONNEL VACATAIRE (prévu)

### - BIOPHYSIQUE

René	NDOYE	Professeur Faculté de Médecine et de Pharmacie Université Ch. Anta DIOP de DAKAR
Alain	LECOMTE	Maître-Assistant Faculté de Médecine et de Pharmacie Université Ch. Anta DIOP de DAKAR
Sylvie (Mme)	GASSAMA	Maître de Conférences Agrégée Faculté de Médecine et de Pharmacie Université Ch. Anta DIOP de DAKAR

### - BOTANIQUE - AGROPÉDOLOGIE

Antoine	NOHONIERMA	Professeur IFAN - Institut Ch. Anta DIOP Université Ch. Anta DIOP de DAKAR
---------	------------	--

### - PATHOLOGIE DU BÉTAIL

Magatte	NDIAYE	Docteur Vétérinaire - Chercheur Laboratoire de Recherches Vétérinaire de DAKAR
---------	--------	--

### - ECONOMIE

Cheikh	LY	Docteur Vétérinaire - Chercheur FAO - BANJUL
--------	----	---

### - AGRO-PÉDOLOGIE

Alioune	DIAGNE	Docteur Ingénieur Département "Sciences des Sols" Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie THIES
---------	--------	---

- SOCIOLOGIE RURALE

Oussouby

TOURE

Sociologue

Centre de suivi Ecologique  
Ministère du Développement Rural

II. - PERSONNEL EN MISSION (Prévu)

- PARASITOLOGIE

Ph.

DORCHES

Professeur

ENV - TOULOUSE (France)

M.

KILANI

Professeur

ENMV SIDI THABET (Tunisie)

- ANATOMIE PATHOLOGIQUE SPECIALE

G.

VANHAVERBEKE

Professeur

ENV - TOULOUSE (France)

- ANATOMIE

Y.

LIGNEREUX

Professeur

ENV - TOULOUSE (France)

- PATHOLOGIE DES EQUIDES ET CARNIVORES

A.

CHABCHOUB

Professeur

ENMV SIDI THABET (Tunisie)

- PATHOLOGIE DU BETAIL

Mlle A.	LAVAL	Professeur ENV - ALFORT (France)
M.	ZRELLI	Professeur ENMV - SIDI THABET (Tunisie)

- ZOOTECHE-ALIMENTATION

A.	BENYOUNES	Professeur ENMV SIDI THABET (Tunisie)
----	-----------	--

- GENETIQUE

D.	CIANCI	Professeur Université de PISE (Italie)
----	--------	---

- ALIMENTATION

R.	PARIGI-BINI	Professeur Université de PADOUE (Italie)
R.	GUZZINATI	Docteur Université de PADOUE (Italie)

- ANATOMIE PATHOLOGIQUE GENERALE

A.	AMARA	Maître de Conférences Agrégé ENMV SIDI THABET (Tunisie)
----	-------	--

- CHIRURGIE

A. - OBSTETRIQUE	CAZIEUX	Professeur ENV - TOULOUSE (France)
A.	MAZOUZ	Maître-Assistant Institut Agronomique et Vétérinaire HASSAN II - (Rabat)

- PATHOLOGIE INFECTIEUSE

J.                    CHANTAL                    Professeur  
ENV - TOULOUSE (France) ,

- DENREOLOGIE

J.                    ROZIER                    Professeur  
ENV - ALFORT (France)

- PHYSIQUE ET CHIMIE BIOLOGIQUES ET MEDICALES

M.                    ROMDANE                    Professeur  
ENMV SIDI THABET (Tunisie)  
P.                    BENARD                    Professeur  
ENV - TOULOUSE (France)

- PHARMACIE

J. D.                    PUYT                    Professeur  
ENV - NANTES (France)

- TOXICOLOGIE

G.                    SOLDANI                    Professeur  
Université de PISE (Italie)

JE DEDIE CE MODESTE TRAVAIL A :



- ALLAH LE TOUT PUISSANT ;

- SON PROPHETE MOUHAMMED P.S.L. ;

- Mon père Aty Maolana FALL

Votre humanisme profond pêché dans la pure tradition musulmane fait de vous une référence.

Merci, de m'avoir entretenu de la puissance du verbe de DIEU ;

- Ma mère Fatou FALL

Femme honorable. Ce travail est le résultat des sacrifices consentis à mon égard.

Profond amour filial ;

- Papa Mbarick FALL ;

- Ma tante Astou FALL ;

- Mon homonyme Sidy FALL

Trouvez ici l'expression de ma profonde reconnaissance ;

- Ma cousine Oumou FALL

En témoignage de vos actions louables pour l'union de la famille ;

- Mes frères et soeurs

MAH, Mounina, Youma, Ibrahima, Lamine Aïdara, Mohamed Yakhya, Coumba, Aïda et FATOU

Pour un bel esprit de fraternité et de solidarité ;

- Mes cousins, cousines, neveux et nièces

Salif, El Hadji, Salma, Aty, Coumba, Mame Diarra, Papa Samba Yaya, ...

- Amadou Bamba WELLE

Profonde gratitude ;

./...

- Mon beau-frère Ibrahima MBAYE  
Grande hauteur de coeur - Remerciements sincères ;
- La mémoire de Ahmed DICKO ;
- Yaye Awa FALL ;
- Makhtar DICKO "Elias" ;
- Ahmed FALL et sa famille ;
- Mon grand-père El Hadji FALL  
Grande sagesse ;
- Tonton Cheikh FALL
- El Hadji Mamadou TALL dit Doudou, sa femme Ndack, sa mère Adja Yacine SECK ;
- Monsieur Boubacar NDONG, grand éducateur ;
- Monsieur BARRY ;
- Mes amis  
Yamar, Boubacar, Tanou, Tapha DIOUF, Babacar DRAME, Ibrahima DABO, Modou FALL ;
- A l'Amicale des anciens enfants de troupe ;
- A la 18 ème promotion de l'EISMV et à son parrain Papa El Hassane DIOP ;
- Mes promotionnaires et amis  
Amadou Ndéné FAYE, Makhtar CISSE, Mamadou NDIAYE, Baba Traoré FALL "Mao"  
pour la consolidation des rapports d'amitié ;
- Tous mes camarades de l'EISMV ;
  
- Au Sénégal ;
- A l'Afrique.

## R E M E R C I E M E N T S



- A monsieur GAYE, du Département de Physiologie de l'EISMV pour son aide technique
- A Monsieur Papa Abdoulaye DIAW, Technicien au Département de Pharmacie-Toxicologie de l'EISMV ;
- A Madame DIOUF, bibliothécaire à l'EISMV ;
- A Madame CAMARA née Fatou Niang  
En témoignage de sa collaboration franche et sincère.

## A NOS MAITRES ET JUGES

---

- **Monsieur François DIENG**

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de présider notre jury de thèse  
Hommages respectueux.

- **Monsieur François Adebayo ABIOLA**

Vous avez dirigé ce travail avec un esprit de méthode exemplaire et une grande  
rigueur scientifique.

Profonde reconnaissance.

- **Monsieur Germain Jérôme SAWADOGO**

Vous avez accepté avec spontanéité de faire partie de notre jury de thèse.  
Remerciements sincères.

- **Monsieur Malang SEYDI**

Malgré votre emploi du temps chargé, vous avez accepté de juger ce travail.  
Nous vous sommes vivement reconnaissants.

- **Madame Sylvie GASSAMA**

C'est avec plaisir que vous avez accepté de siéger dans notre jury malgré vos  
nombreuses préoccupations.

Remerciements sincères.

" Par délibération, la faculté et l'école 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".

INTRODUCTION

PREMIERE PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES INSECTICIDES ORGANOPHOSPHORES

LES CHOLINESTERASES ET PSEUDOCHOLINESTERASES

- I. 1. Définition
- I. 2. Structure et classification
  - I. 2.1. Les phosphates
  - I. 2.2. Les thionothiophosphates ou phosphothioates
  - I. 2.3. Les thionotiophosphates
  - I. 2.4. Les phosphonates
  - I. 2.5. Les phosphoramides
  - I. 2.6. Autre type de classification
- I. 3. Les propriétés physico-chimiques
  - I. 3.1. Les propriétés physiques
  - I. 3.2. Les propriétés chimiques
    - I. 3.2.1. L'hydrolyse
    - I. 3.2.2. Les propriétés alkylantes
    - I. 3.2.3. L'isomérisation
- I. 4. Usages des insecticides organophosphorés
  - I. 4.1. Usages agricoles
  - I. 4.2. Usages sanitaires
  - I. 4.3. Usages thérapeutiques
    - I. 4.3.1. Traitement des parasitoses externes
    - I. 4.3.2. Traitement des différentes myiases
    - I. 4.3.3. Traitement des helminthoses
- I. 5. Intoxication chez les animaux
  - I. 5.1. La toxicocinétique
    - I. 5.1.1. Les voies d'absorption
      - I. 5.1.1.1. La voie digestive
        - I. 5.1.1.1.2. La voie pulmonaire
        - I. 5.1.1.3. Le contact cutané
        - I. 5.1.1.4. La voie muqueuse
      - I. 5.1.2. Transport et distribution
      - I. 5.1.3. Réactions de biotransformations
        - I. 5.1.3.1. Réactions d'oxydation
        - I. 5.1.3.2. Réactions d'hydrolyse
        - I. 5.1.3.3. Réactions de conjugaison
      - I. 5.1.4. Elimination
    - I. 5.2. Etude toxicologique des insecticides organophosphorés

- I. 5.2.1. Circonstances d'intoxication
- I. 5.2.1.1. Intoxications d'origine accidentelle
- I. 5.2.1.2. Intoxications d'origine thérapeutique
- I. 5.2.1.3. Intoxications malveillantes
- I. 5.2.2. Toxicité et facteurs de variation de la toxicité des insecticides organophosphorés
- I. 5.2.3. Etude clinique des intoxications
- I. 5.2.3.1. Mécanisme d'action des insecticides organophosphorés
- I. 5.2.3.1.1. Les cholinestérases
  - a/ Les acétylcholinestérases ou cholinestérases vraies ou spécifiques
  - b/ Les pseudocholinestérases ou cholinestérases non spécifiques
- I. 5.2.3.1.2. Mécanisme d'hydrolyse de l'acétylcholine par l'acétylcholinestérase
- I. 5.2.3.1.3. Mécanisme d'inhibition de l'acétylcholinestérase par les organophosphores
- I. 5.2.3.2. Les symptômes des intoxications
- I. 5.2.3.2.1. Symptômes de l'intoxication à court terme
- I. 5.2.3.2.2. Symptômes de l'intoxication à long terme
- I. 5.2.3.3. Le diagnostic des intoxications
- I. 5.2.3.3.1. Diagnostic clinique et épidémiologique
- I. 5.2.3.3.2. Diagnostic nécropsique
- I. 5.2.3.3.3. Diagnostic de laboratoire
- I. 5.2.3.4. Traitement des intoxications
- I. 5.2.3.4.1. Elimination du toxique
- I. 5.2.3.4.2. Traitement symptomatique
- I. 5.2.3.4.3. Traitement spécifique

## CHAPITRE II: LES LIPOPROTEINES ET RELATIONS ENTRE PSEUDOCHOLINESTERASES ET LIPOPROTEINES

- II. 1. Les lipoprotéines
- II. 1.1. Définition
- II. 1.2. Structure des lipoprotéines
- II. 1.3. Classification
- II. 1.4. Propriétés physiques et composition
- II. 1.5. Les lipoprotéines chez le lapin
- II. 1.6. Métabolisme des lipoprotéines
- II. 1.6.1. Métabolisme des chylomicrons
- II. 1.6.2. Métabolisme des VLDL
- II. 1.6.3. Métabolisme des LDL
- II. 1.6.4. Métabolisme des HDL
- II. 2. Relations entre pseudocholinestérases et lipoprotéines

## DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE

### CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODE D'ETUDE

- I. 1. Matériel d'étude
  - I. 1.1. Les animaux
  - I. 1.2. L'insecticide organophosphoré
  - I. 1.3. Le matériel technique et de laboratoire
    - I. 1.3.1. Le matériel technique
    - I. 1.3.2. Le matériel de laboratoire
      - I. 1.3.2.1. Les appareils
      - I. 1.3.2.2. Autres matériels
  - I. 2. Méthode d'étude
    - I. 2.1. Protocole d'administration du FENITROTHION
      - I. 2.1.1. Dose de FENITROTHION
      - I. 2.1.2. Voie d'administration
      - I. 2.1.3. Protocole des prélèvements
    - I. 2.2. Technique de prélèvement de sang
    - I. 2.3. Mode opératoire de dosage
      - I. 2.3.1. Mesure de l'activité cholinestérasique
        - 1/ Principe
        - 2/ Méthode
          - 1. Réactifs
          - 2. Technique de dosage
      - I. 2.3.1.3. Détermination de l'hydrolyse enzymatique du substrat
      - I. 2.3.1.4. Méthode de calcul de l'activité cholinestérasique
    - I. 2.3.2. Dosage des lipoprotéines
      - I. 2.3.2.1. Dosage des HDL cholestérol
      - I. 2.3.2.2. Dosage des LDL cholestérol

### CHAPITRE II : RESULTATS - DISCUSSIONS

- II. 1. Résultats
  - II. 1.1. Résultats du dosage de l'activité cholinestérasique
  - II. 1.2. Résultats du dosage des lipoprotéines
  - II. 1.3. Etude comparée de l'évolution des paramètres lipoprotéiques et de l'activité cholinestérasique
- II. 2. Discussions
  - II. 2.1. Du choix des animaux
  - II. 2.2. De la conduite des expériences
  - II. 2.3. Des résultats
    - II. 2.3.1. De l'activité cholinestérasique
      - II. 2.3.1.1. Sang total

- II. 2.3.1.2. Plasma
- II. 2.3.1.3. Erythrocytes
- II. 2.3.1.4. Confrontation avec les résultats bibliographiques
- II. 2.3.2. Des lipoprotéines
- II. 2.3.3. Comparaison des fluctuations de l'activité cholinestérasique et des taux lipoprotéiques

## CONCLUSION

## INTRODUCTION

---

Parmi les orientations de l'industrie chimique, figure en bonne place le développement du monde rural. C'est pourquoi nous assistons depuis longtemps à la mise sur le marché de produits agropharmaceutiques dont les insecticides organophosphorés (I.O.P.) connus pour leur usage agricole mais également pour leur importance thérapeutique et sanitaire. Ils sont cependant à l'origine d'intoxications dangereuses aussi bien chez l'homme que chez les animaux. Le traitement de ces intoxications pour être efficace nécessite un diagnostic précoce. La technique la plus utilisée au laboratoire pour établir une certitude d'intoxication par les I.O.P. est la mesure de l'activité cholinestérasique qui subit une dépression dès les premières heures qui suivent l'intoxication.

Par ailleurs, les cholinestérases sériques forment selon LAWRENCE et MELNICK (24) des complexes avec les lipides et les lipoprotéines. Cette connaissance fut très intéressante dans une perspective d'amélioration des méthodes de diagnostic.

C'est dans ce cadre que se situent nos travaux.

Il s'agit d'essayer de renforcer les moyens de diagnostic, lors d'intoxication par les insecticides organophosphorés. Pour ce faire, nous étudierons les corrélations qui existent entre les cholinestérases et les lipoprotéines notamment les LDL cholestérol et HDL cholestérol durant les intoxications par le Féntrothion (IOP) chez le lapin.

Ce travail comprend deux parties :

\* la première partie est une étude bibliographique sur les insecticides organophosphorés, les lipoprotéines, les cholinestérases et pseudocholinestérases et les inter-relations entre ces différents éléments ;

\* la deuxième partie est une étude expérimentale consacrée à la mesure de l'activité cholinestérasique et au dosage des LDL cholestérol et des HDL cholestérol.

*P R E M I E R E            P A R T I E*

---

*Cette partie comporte deux chapitres :*

- un qui traitera des généralités sur les insecticides organophosphorés, les cholinestérases et les pseudocholinestérases,*
- l'autre chapitre concernera les lipoprotéines et les relations entre ces éléments et les pseudocholinestérases.*

CHAPITRE I

GENERALITES SUR LES INSECTICIDES ORGANOPHOSPHORES, LES CHOLINESTERASES  
ET LES PSEUDOCHOLINESTERASES

I. 1 DEFINITION

Les insecticides organophosphorés (IOP) 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.

I. 2 STRUCTURE ET CLASSIFICATION

Les IOP sont du point de vue chimique des esters ou des amides de l'acide orthophosphorique (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>).

Représentation de la structure générale des IOP



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

R et R' sont des radicaux aliphatiques ou aromatiques.

Cette structure est le principal critère de classification chimique des insecticides organophosphorés.

I. 2.1. Les phosphates

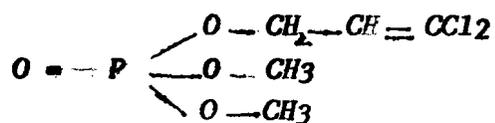


Exemples :

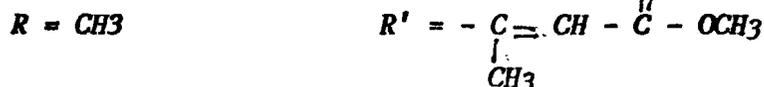
\* Dichlorvos



Cette structure lui confère le nom chimique de dimethyldichlorovinyl phosphate

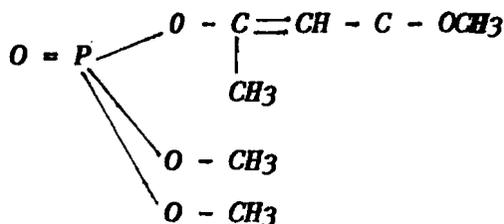


\* Mevinphos



./...

Cette structure conduit à la formule générale



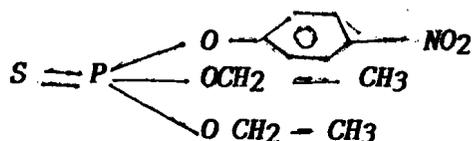
I. 2.2. Les thionophosphates ou phosphothioates



C'est le groupe le plus important des insecticides organophosphorés.

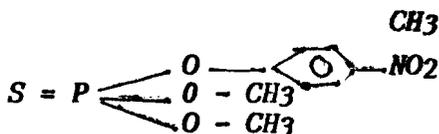
Exemples :

\* Parathion



C'est l'un des IOP les plus toxiques.

\* Fenitrothion



Son nom déposé est le **SUMITHION**. Il est très utilisé par la Direction de Protection des Végétaux du Sénégal.

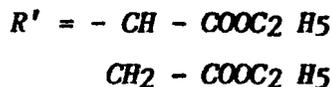
C'est ce produit que nous avons utilisé dans nos travaux.

I. 2.3. Les Thionothiophosphates

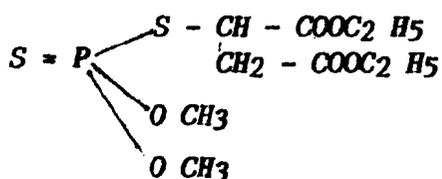


Exemple :

\* Malathion



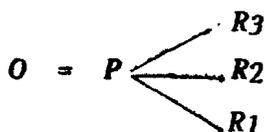
Ce qui donne la formule



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

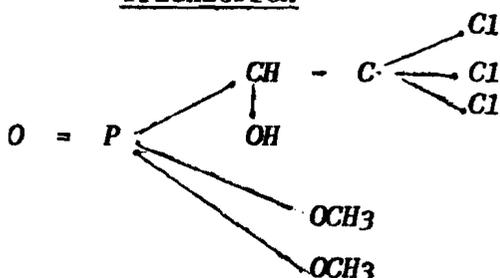
#### 1.2.4 Les phosphonates

Leur formule générale possède une fonction phosphate - carbone.



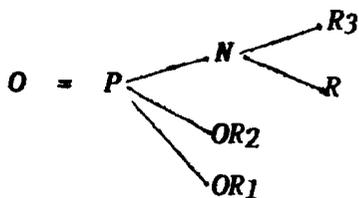
Exemple :

\* Trichlorfon



#### 1.2.5. Les phosphoramides

Leur formule générale est la suivante :



Les phosphoramides sont des dérivés beaucoup plus rares. Nous citerons le crufomate (RUELENE) qui est un insecticide endotherapique, très peu toxique, actif contre les parasites du bétail.

#### 1.2.6. Autre type de classification

Sur le plan chimique, les insecticides organophosphorés peuvent être regroupés en quatre classes principales, comme le montre le tableau 1.

./...

TABLEAU 1

LES PRINCIPALES CLASSES DES INSECTICIDES ORGANOPHOSPHORES

ORGANO PHOSPHO- RES (CLASSE)	DENOMINA- TION COM- MUNE	USAGE	NOM DEPOSE	REMANENCE TEMPS DE DE- GRADATION APPROXIMATIF 90 p.100(j)	DL 50 RAT Per os (mg/Kg)	RUMINANTS DOSE MINI- MUM LEIHA- LE (mg/Kg) Adultes Veaux	Autres espè- ces (mg/Kg)	OISEAUX (mg/Kg)	DL 50 RAT VOIE CUTA- NEE (mg/Kg)	POISSON (mg/l) DL 50 48 h	TOXICITE CHRONIQUE C.M.S.E.
PHOSPHIA- TES	Dichlorvos	V	UAPONA ATGARD	2 - 5	25	25 10	-	7 - 9	59	0,7	250
	MEVINPHOS	P	FLOSDRIN	3 - 7	3	- -	-	1 - 4	3	-	0,8
	CHLORFEN- VINPHOS	V	SUPONA	15 - 30	12	20 20	1 200 (CN)	-	31	-	-
THIONO- PHOSPHO- TES - (PHOSPHO- TTONATES)	PARATHION CUMAPHOS	P V	ASUNUX	15 -	3 13	20 (L) 0,5 25 (Bov)	3 (CN) -	2 - 5 30	4 860	0,04 -	1 5
	CHLORPY- RIFOS	P	DARSBAN	-	100	500	-	20 - 50	2000	-	-
THIONO- THIOPHO- SATES PHOSPHO- DITHIOATE	MALATHION	V	CYTHON	7 - 15	880	100 20	-	400	4000	0,02	100
	CARBOPHE- NITHION	P	TRITHION	15 - 30	6	25	-	100	22	0,2	5
	TEMEPHOS	P	ABATE	60	1000	- -	-	-	1000	1,5	2
PHOSPHO- RAMIDES	CRUFORMATE	V	RUELENE	-	660	100 50	15 (PC)	-	-	-	10
	TRICHLORFOV	V	NEGUON	10 - 15	450	75-100 10	-	-	2800	0,16	500

Source : KECK (20)

V : Usage vétérinaire  
 P : Usage phytosanitaire  
 C.M.S.E. : Concentration maximale  
 sans effet au bout de 3 mois.

CN : chien  
 PC : porc  
 BOV : bovin

### I. 3 Les propriétés physico-chimiques

#### I. 3.1. Les propriétés physiques

Les IOP se présentent sous les formes de liquides visqueux incolores ou brunâtres. Ils ont une odeur alliagée, désagréable. La solubilité de ces composés est faible dans l'eau sauf le trichlorfon, le DFP (di-isopropylfluorophosphate) et le mevinphos qui sont très hydrosolubles. Les IOP sont très solubles dans les lipides, ce qui explique leur pénétration per-cutanée.

#### I. 3.2. Les propriétés chimiques

Parmi les nombreuses propriétés chimiques des IOP, nous retiendrons principalement l'hydrolyse, le pouvoir alkylant et l'isomérisation.

##### I. 3.2.1 L'hydrolyse

La vitesse d'hydrolyse des composés organophosphorés est fonction de la structure chimique et des conditions de réaction qui sont : le pH, la température, la nature du solvant ou l'existence du catalyseur. Par exemple l'accroissement de la température augmente la vitesse d'hydrolyse dans des proportions importantes.

##### I. 3.2.2. Les propriétés alkylantes

Elles ont été largement étudiées par ETO (13). Les propriétés alkylantes permettent d'expliquer certaines activités biologiques des esters phosphoriques. En outre, ces propriétés alkylantes servent pour la synthèse de certains dérivés. Ainsi, l'action d'agents nucléophiles tels que les amines ou l'iodure de sodium permet la préparation de dérivés diméthyles des composés organophosphorés.

##### I. 3.2.3. L'isomérisation

Cette propriété est liée à la présence de cinq valences non identiques du phosphore. Ceci permet de comprendre certaines réactions d'isomérisation par échange entre différents atomes.

Par exemple, au cours de la préparation de certains thionophosphates, la température peut produire une isomérisation. Le parathion peut ainsi contenir 5 à 25 p. 100 d'isomères S. Ethyl (7).

#### I. 4. Usages des insecticides organophosphorés

Les composés organophosphorés ont été utilisés au départ, entre autres, à des fins militaires. En effet, juste avant la seconde guerre mondiale, des chimistes allemands synthétisèrent de nombreux esters organophosphorés dont les plus toxiques (tabun, sarin, soman) furent sélectionnés comme gaz de guerre. Mais heureusement, les allemands ne se servirent jamais de ces substances. Les IOP sont utilisés dans les domaines, agricole, sanitaire, thérapeutique.

##### I. 4.1. Usages agricoles

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

##### I. 4.2. Usages sanitaires

Ils consistent à la désinsectisation des locaux d'habitation et d'élevage. Les composés organophosphorés sont très actifs contre les mouches, les moustiques et autres insectes nuisibles.

Diverses formes d'utilisation existent :

- \* la pulvérisation ;
- \* l'épandage ;
- \* les plaquettes à libération progressive

##### I. 4.3. Usages thérapeutiques

Les principales indications des organophosphorés en médecine vétérinaire sont des cas de parasitoses.

- \* Ectoparasitoses dues aux arthropodes ;
- \* différentes myiases ;
- \* helminthoses.

##### I. 4.3.1 Traitement des parasitoses externes

Les insecticides organophosphorés sont utilisés dans la lutte contre les parasites externes des animaux comme : les punaises, les puces, les poux, les formes d'utilisation de ces produits sont : poudre, solutions émulsionnables en bains ou en aspersion, collier insecticide à libération progressive.

### I. 4 3.2. Traitement des différentes myiases

Les IOP ont été utilisés contre les myiases cutanées du mouton provoquées dans les pays chauds par les larves de *Lucilla sericata*. Pour cette larve, les applications locales ou le traitement général per os avec du Fenchlorphos ou avec du Coumaphos ont donné de bons résultats. Chez le cheval, les larves gastriques de gasterophiles ont été traitées au trichlorfon par la voie orale avec succès. Chez le mouton, les larves cavitaires d'*Oestrus ovis* ont été tuées par des applications locales de Ruélene (8).

### I. 4 3.3. Traitement des helminthoses

Le traitement des helminthoses par les insecticides organophosphorés est assez délicate car les effets varient avec les composés utilisés, la dose d'emploi, l'espèce de parasite et son stade d'évolution (18).

## I. 5. Intoxication chez les animaux

### I. 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 de ces composés .

#### 1.5.1.1. Les voies d'absorption

Les insecticides organophosphorés pénètrent par différentes voies d'absorption : digestive, pulmonaire, cutanée ou muqueuse.

##### 1.5.1.1.1. La voie digestive

Par la voie digestive, les insecticides organophosphorés sont rapidement absorbés et sont décelables dans le sang moins d'une demi-heure après (15).

##### 1.5.1.1.2. La voie pulmonaire

L'absorption par la voie pulmonaire a lieu lors d'une exposition à des aérosols d'insecticides organophosphorés.

##### 1.5.1.1.3. Le contact cutané

Le contact cutané est important aussi bien en médecine humaine que vétérinaire. Chez l'homme, c'est sans doute la voie de pénétration la plus importante lors

d'intoxication professionnelle (manipulateurs, pulvérisateurs). La vitesse et l'intensité de la pénétration transcutanée des insecticides organosphorés augmentent avec la température (35).

#### 1.5.1.2. Transport et distribution

Lorsque les insecticides organosphorés 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 organosphorés vont subir des réactions de biotransformation.

#### 1.5.1.3. Réactions de biotransformation

Beaucoup d'insecticides organosphorés ne sont pas directement actifs, mais activés en produits toxiques dans l'organisme grâce à trois principaux types de réactions :

- \* les réactions d'oxydation;
- \* les réactions d'hydrolyse;
- \* les réactions de conjugaison.

##### 1.5.1.3.1 Réactions d'oxydation

Elles s'effectuent surtout dans le foie grâce aux systèmes enzymatiques 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 organosphorés soufrés en dérivés oxydés qui représentent la forme active mais toxique aussi. Le parathion est oxydé en paraxon qui possède une activité anticholinestérasiq ue mille fois supérieure du fait de l'augmentation du caractère électrophile de l'atome de phosphore.

./...

#### I. 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 détoxification vraie. Elles s'effectuent grâce à des estérases de différents types ou grâce à des amidases.

#### I. 5.1.3.3. Réactions de conjugaison

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

#### I. 5.1.4. Elimination

L'élimination des insecticides organosphorés 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. (20).

Au total

le métabolisme des IOP 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.

### I.5 2 Etude toxicologique des insecticides organosphorés

#### I.5.2.1. Circonstances d'intoxication

Les intoxications par les IOP peuvent s'observer chez toutes les espèces animales. Elles frappent surtout les ruminants et plus particulièrement les bovins (20). Ces intoxications sont soit d'origine accidentelle, soit consécutives à un traitement anti-parasitaire. Elles peuvent dans certains cas être malveillantes.

./...

### I.5. 2.1.1 Intoxications d'origine accidentelle

Diverses circonstances sont possibles, parmi lesquelles l'ingestion directe de produits ou de préparations insecticides, d'herbes ou de fourrages traités, ou plus rarement la consommation d'eau polluée lors de ruissellement à partir des surfaces traitées.

Des contaminations massives des milieux aquatiques peuvent également survenir entraînant des mortalités importantes de poissons.

### I. 5.2.1. 2 Intoxications d'origine thérapeutique

Ces intoxications surviennent surtout dans le cas de traitements anti-parasitaires 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 en".

### I 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 (25).

### I. 5.2.2 Toxicité et facteurs de variation de la toxicité des insecticides organophosphorés

La toxicité des IOP est extrêmement variable. On peut distinguer en fonction de la dose létale 50 (DL 50) Rat par voie orale :

\* Insecticides hautement toxiques

Ce sont les insecticides dont la DL 50 rat est inférieure à 50 mg/Kg - Exemple : le Parathion - le Dichlorvos

\* Insecticides moyennement toxiques

Exemple : le Parathion - le Diméthoate  
DL 50 rat comprise entre 50 et 500 mg/Kg

\* Insecticides faiblement toxiques

DL 50 rat supérieure à 500 mg/Kg  
Exemple : le Malathion - le Temephos.

La sensibilité des animaux aux IOP dépend des facteurs comme :

\* Facteurs tenant à l'animal

Espèce - Race - Sexe - Age

\* Facteurs tenant à l'environnement

Température - Vitesse de l'air.

./...

### I. 5.2.3. Etude clinique des intoxications

#### I. 5.2.3.1 Mécanisme d'action des IOP

Ce mécanisme d'action a été étudié par de nombreux auteurs tels que BELLON (2) RIGOLE (32). Ces différentes études montrent que si cette pharmacodynamie demeure peu comprise chez les insectes, elle est par contre suffisamment établie chez les vertébrés (29). Chez les vertébrés, il est admis que du fait d'une analogie de structure avec l'acétylcholine, les IOP inhibent les cholinestérases en se fixant fortement sur elles. L'action insecticide et toxicologique des organophosphorés est liée à cette inhibition des cholinestérases. Les cholinestérases une fois inhibées perdent leur pouvoir de détruire l'acétylcholine. Nous savons que l'acétylcholine est le médiateur chimique nécessaire au transfert de l'influx nerveux à différents niveaux, et est le médiateur du système parasympathique. Son accumulation entraîne une hyperactivité vagatonique, une hyperstimulation des récepteurs de l'influx nerveux ; ceci explique les symptômes observés lors de l'intoxication aiguë par ces organophosphorés.

Avant d'aborder l'étude du mécanisme d'action des IOP, il est nécessaire de donner un aperçu sur la nature des cholinestérases ainsi que le mécanisme de l'hydrolyse de l'acétylcholine par ces enzymes.

##### I.5.2.3.1.1 Les cholinestérases (CHE)

Dans l'organisme, il existe deux types d'enzymes capables d'hydrolyser les esters de la choline : les estérases diffèrent en fonction de la distribution et de la spécificité du substrat.

##### a/ Les acétylcholinestérases ou cholinestérases vraies ou spécifiques

Elles ont une affinité plus grande, presque spécifique pour le substrat naturel, l'acétylcholine que tous les autres esters. Elles ne réalisent que l'hydrolyse de l'acétylcholine (ACH). Elles sont localisées au niveau des terminaisons nerveuses cholinergiques, des jonctions neuro-musculaires, des hématies.

##### b/ Les pseudo-cholinestérases ou cholinestérases non spécifiques

Ce sont des enzymes peu spécifiques. Elles sont capables d'hydrolyser un nombre assez varié d'esters synthétiques et naturels y compris

./...

*l'acétylcholine.*

Elles se localisent surtout dans le système nerveux central, le plasma, l'intestin et le foie.

Outre les différences dans leur localisation et leur spécificité vis-à-vis des substrats, il y a les différences fonctionnelles entre les vraies et les pseudocholinestérases. Par exemple, les pseudocholinestérases fonctionnent bien, en présence d'un excès de substrat, tandis que les acétylcholinestérases sont inhibées dans ces conditions.

Sur le plan toxicologique, seule l'inhibition de la cholinestérase importe. Des variations s'observent dans la localisation et l'intensité de l'activité cholinestérasique.

Parmi les animaux domestiques, la majeure partie de l'activité cholinestérasique du sang se situe dans les globules rouges, alors que chez l'homme et le chien, l'activité cholinestérasique existe aussi bien au niveau plasmatique qu'au niveau des hématies.

Ces 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 :

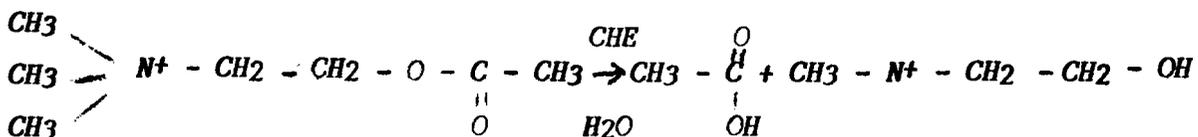
\* un site anionique

\* un site cationique ou estérasique où les esters sont hydrolysés

Ce site d'après Featherstone (16) contient deux groupes essentiels : une fonction acide et une fonction basique nucléophile.

#### I. 5.2.3.1.2. Mécanisme d'hydrolyse de l'acétylcholine par l'acétylcholinestérase.

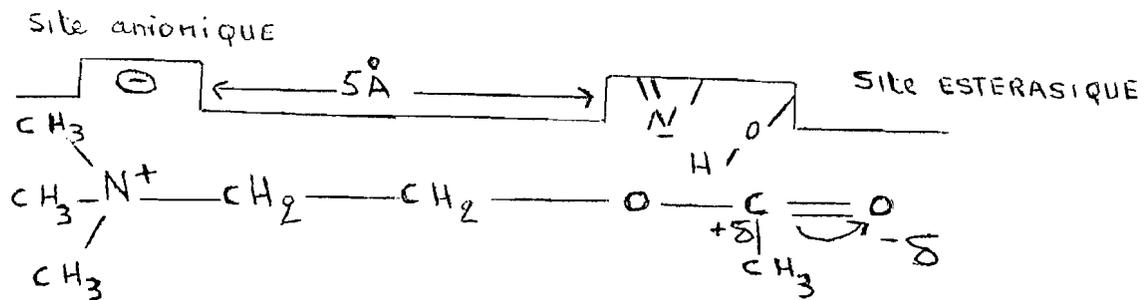
Quelles que soient leur localisation et leur spécificité, les cholinestérases provoquent la rupture de la liaison ester de l'acétylcholine selon la réaction générale.



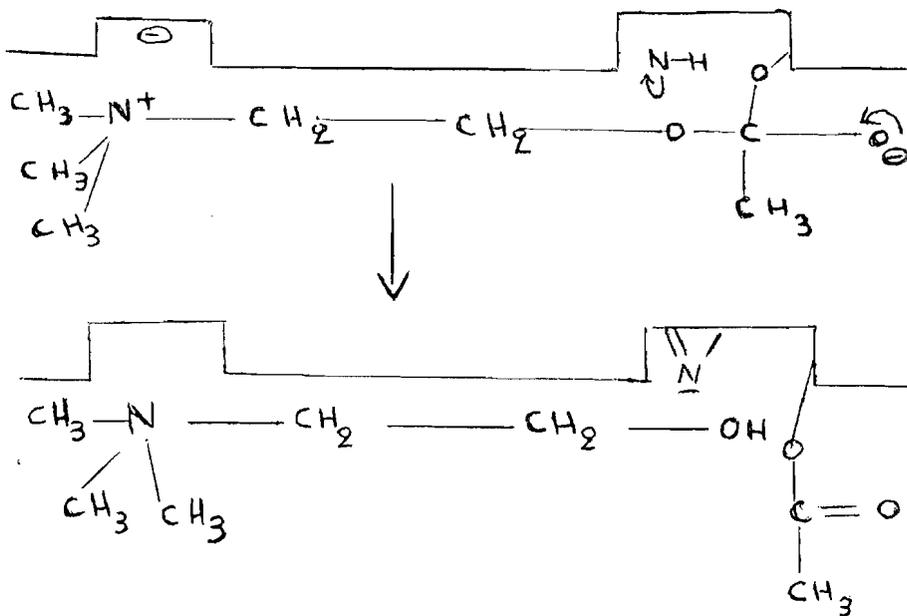
Sur le plan moléculaire, les événements qui se déroulent au niveau de l'enzyme se font suivant le schéma ci-après.

./...

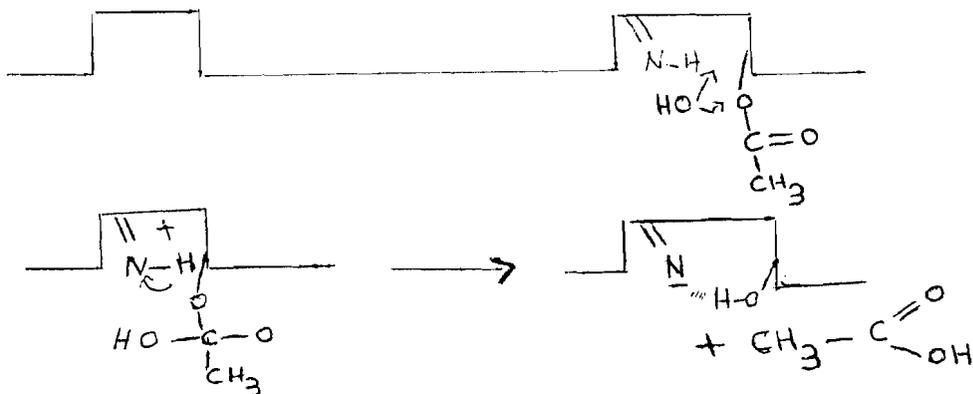
a/ Fixation de l'acétylcholine, formation du complexe enzyme-substrat (ES)



b/ Scission du complexe ES : libération de la choline et acétylation de la cholinestérase (CHE).



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

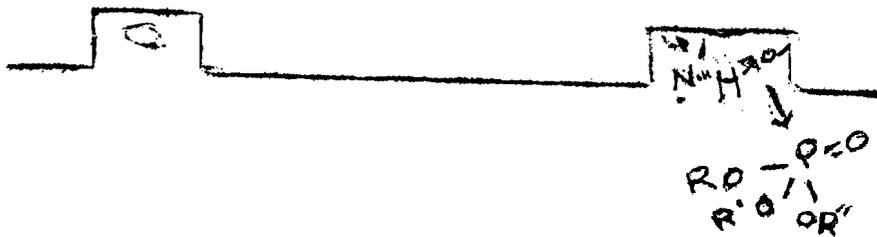


Les trois étapes de l'hydrolyse de l'acétylcholine se déroulent très rapidement ( $10^{-6}$ s). Les constantes de vitesse sont élevées, l'enzyme est donc régénérée très rapidement.

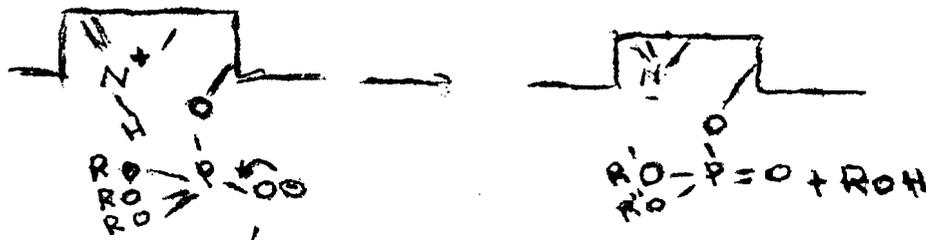
I. 5231. 3 Mécanisme d'inhibition de l'acétylcholinestérase par les IOP

Les perturbations induites par les organophosphorés résultent du blocage de l'un des sites de la cholinestérase grâce à une analogie structurale avec l'ACH.

a/ Formation du complexe Enzyme-organophosphoré



b/ Phosphorylation de l'enzyme - Hydrolyse de l'organophosphoré



La liaison oxygène-phosphore covalente est plus forte que la liaison carbone-oxygène de la cholinestérase acétylée du fait du caractère plus électrophile du phosphore par rapport au carbone.

La régénération d'enzyme en présence d'eau est donc très difficile, d'où une inhibition quasi irréversible de la cholinestérase par l'organophosphoré et une accumulation d'acétylcholine non dégradée, qui entraîne des troubles lorsque cette inhibition irréversible se poursuit. La régénération enzymatique dépendra exclusivement de la synthèse de nouvelles molécules d'enzyme.

Le mécanisme d'action anticholinestérasique des IOP permet de comprendre les symptômes observés lors des intoxications, symptômes dus essentiellement à l'accumulation de l'acétylcholine.

### I. 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'intoxications d'importance inégale.

\* l'intoxication à court terme, regroupant les symptômes aigus et suraigus, survient rapidement après l'exposition. C'est la plus fréquente ;

\* l'intoxication à long terme qui est due à la toxicité retardée. Elle est beaucoup plus rare.

#### I. 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.

##### a/ Syndrome muscarinique

Ce syndrome est composé de troubles de type parasympathicomimétique. Les effets muscariniques sont habituellement les premiers à apparaître. Ils correspondent à une stimulation du système parasympathique. Ce sont essentiellement :

\* des signes digestifs : crampes abdominales (coliques), nausées, vomissements, diarrhées, augmentation du peristaltisme et des sécrétions digestives ;

\* des signes respiratoires avec de la toux, de la dyspnée dues à une bronchoconstriction et à une augmentation des sécrétions bronchiques ;

\* des signes cardiaques avec de la bradycardie . ;

\* de l'incontinence vésicale et rectale, suite à un relâchement des sphincters ;

\* des céphalées, une vision trouble, du myosis.

##### b/ Syndrome 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

Les troubles nerveux centraux varient avec l'espèce, voire l'individu. En effet, on note une dépression plus ou moins intense chez les grands animaux avec prostration et coma alors qu'on note une excitation nerveuse plus fréquemment chez les carnivores domestiques avec des phases convulsives. 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.

I.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.

a/ La neurotoxicité retardée

Elle est relativement peu fréquente.

Chez l'homme, les signes attribués à cet empoisonnement sont un léger désordre gastro-intestinal ou une diarrhée qui dure deux ou trois jours (37). Des signes similaires ont été retrouvés chez les animaux (37). On remarque aussi de temps en temps des pertes de doigts chez l'homme et des pertes de sabots et d'ongles chez les animaux (1).

b/ La dermatose allergique

Elle survient lors de contacts prolongés avec un organophosphoré, en particulier avec les colliers insecticides à base de dichlorvos chez les carnivores domestiques.

c/ L'embryotoxicité

Des auteurs ont montré expérimentalement que certains organophosphorés peuvent provoquer chez les rongeurs de laboratoire et les volailles de malformations fœtales, des résorptions fœtales et une hypertrophie placentaire.

La fréquence des intoxications chez les animaux et les risques chez l'homme nous imposent des moyens de diagnostic précis et rapides afin d'appliquer une thérapeutique efficace.

./...

### I. 5.2.3.3 Diagnostic des intoxications

#### I. 5.2.3.3.1 Diagnostics clinique et épidémiologique

Le diagnostic clinique de l'intoxication par les IOP serait difficile sur un cas isolé, mais facile quand plusieurs animaux sont simultanément atteints par l'observation de l'ensemble des symptômes caractéristiques déjà décrits. Les commémoratifs sont importants à considérer.

#### I. 5.2.3.3.2 Diagnostic nécropsique

L'examen post-mortem des animaux ne peut apporter beaucoup de renseignements à cause d'un manque de spécificité des lésions induites.

#### I. 5.2.3.3.3 Diagnostic de laboratoire

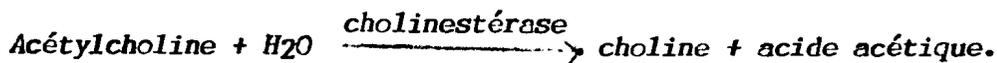
Le diagnostic de laboratoire permet d'établir avec certitude une intoxication par les IOP. Diverses méthodes peuvent être utilisées. Parmi ces méthodes, deux dosages biologiques permettent le diagnostic et la surveillance de l'intoxication.

\* le dosage du paranitrophénal urinaire, métabolite urinaire de certains organophosphorés, le parathion en particulier ;

\* le dosage des cholinestérases

Les IOP sont des composés très instables dans l'organisme. Après leur pénétration dans l'organisme, ils sont rapidement dégradés et éliminés. Cette instabilité et cette rapidité de dégradation demeurent les limites des recherches directes des résidus dans l'organisme. Dans la majorité des cas, le diagnostic expérimental est de type indirect. On recherche les effets liés au passage de l'organophosphoré dans l'organisme. Les méthodes d'analyse consistent à l'appréciation du degré d'inhibition des cholinestérases 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 erythrocytes, soit au niveau du plasma ou du sang total. Cette mesure repose sur la réaction d'hydrolyse de l'acétylcholine.



./...

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'acétylcholine 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 soit un indicateur coloré interne ou externe, soit un potentiomètre.

#### b/ Méthodes gazométriques

On mesure à l'appareil de Warburg, le dégagement du gaz carbonique formé en milieu tampon bicarbonate en atmosphère d'azote contenant 5 p. 100 de gaz carbonique.

#### c/ Méthodes électrométriques

La méthode électrométrique la plus largement utilisée est la méthode de Michel (26). La vitesse d'hydrolyse de l'acétylcholine pour un échantillon de sang (plasma ou globules rouges) à éprouver est mesurée par l'abaissement du PH provoqué en milieu tamponné par la libération d'acide acétique.

#### d/ Méthodes calorimétriques

Elles comprennent trois types :

\* 1. Méthode de dosage calorimétrique de l'acétylcholine.

C'est l'exemple de la méthode de Vincent et Segonzac (40). Elle repose sur la mesure au bout d'un temps donné de la quantité d'acétylcholine 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 Bromothymol qui vire au bleu-vert ou au 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 (12). Elle est la plus couramment utilisée.

#### I. 5.2.3.4. Traitement des intoxications par les IOP

Le traitement des intoxications par les IOP découle du mécanisme d'action de ces produits. Il doit être rapide dans le cas des intoxications aiguës. Ce traitement consiste à une élimination du toxique, un traitement symptomatique et un spécifique.

##### I. 5.2.3.4.1. Élimination du toxique

En cas d'ingestion : on procède au lavage de l'estomac au moyen d'eau bicarbonatée, puis on administre du charbon activé de même qu'une purgation saline.

En cas de projection : lavage prolongé au sérum physiologique (ne pas utiliser de collyre à l'atropine).

En cas de contact cutané : lavage à l'eau savonneuse ou à l'alcool. Certains auteurs préconisent de couper les poils chez les animaux.

##### I. 5.2.3.4.2. Traitement symptomatique

- Réhydratation ;
- Respiration assistée

se fait au moyen d'analeptiques cardiorespiratoires (caféine, solucamphre), au mieux après désencombrement bronchique (aspiration trachéale).

- Contre les convulsions

Il est indiqué l'emploi de :

Barbiturique GARDENAL <sup>ND</sup> 0,20 g/Kg en sous-cutanée.

##### I. 5.2.3.4.3. Traitement spécifique

Il vise deux objectifs :

- \* Combattre les effets de l'accumulation de l'acétylcholine ;
- \* Lever l'inhibition des cholinestérases.

./...

**\* Combattre les effets de l'accumulation de l'acétylcholine.**

Il faut pour cela administrer un **parasympathicolitique**. Le sulfate d'atropine est bien indiqué. C'est un antagoniste compétitif de l'acétylcholine au niveau des récepteurs muscariniques. Ce produit est efficace pour lutter contre les manifestations muscariniques.

Contre-indiqué pendant la phase nicotinique, le sulfate d'atropine est utilisé à la dose de 0,5 à 1 mg/Kg de poids vif : 1/4 en intraveineuse, le reste en intramusculaire ou en sous-cutanée. Ce protocole est répété toutes les 3 - 4 heures, jusqu'à l'apparition des signes d'atropinisation (en général 1 - 2 jours) qui se manifestent par une mydriase, une tachycardie, une sécheresse des muqueuses (20).

A l'atropine CECILE et FOURNEL (4) , conseillent d'associer la diathazine. La diathazine (DIPARCOL ND) sera utilisée en intramusculaire. Ce dérivé doué d'action ganglioplégique agit sur les effets nicotiniques (asthénie, fibrillation musculaire, convulsions) des I.O.P.

**\* 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 porteuses 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 formule  $R - CH = N - OH$ .

Le plus connu de ces composés est la pralidoxime (CONTRATHION ND) Elle est utilisée sous forme de chlorure ou d'iodure à la dose de 50 mg/Kg par voie intraveineuse (1) (41).

LES LIPOPROTEINES ET RELATIONS ENTRE PSEUDOCOLINESTERASES  
ET LIPOPROTEINES

II. 1. Les lipoprotéines

II. 1.1. Définition

Les lipoprotéines plasmatiques sont des macromolécules constituées de lipides hydrophobes et de protéines spécifiques ou apoprotéines. La structure de ces lipoprotéines est adaptée à la solubilisation des lipides. Grâce à leur interaction avec les systèmes enzymatiques et les récepteurs membranaires, les apoprotéines dirigent le transport de chaque classe de lipoprotéines vers le site où elles seront dégradées en vue de l'utilisation des acides gras et du cholestérol.

Les lipoprotéines plasmatiques fonctionnent donc comme un système de transport permettant de véhiculer les lipides d'origine endogène ou exogène, vers leur site d'utilisation.

II. 1.2. 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 (sphingomyeline, phosphatidyl), de cholestérol et d'apolipoprotéines. Cette couche périphérique forme une enveloppe plus ou moins flexible dont l'épaisseur reste relativement constante.

II. 1.3. Classification

Les lipoprotéines sont divisées en cinq grandes classes :

- CHYLOMICRONS ;
- VLDL (Very low density lipoproteins) ;
- IDL (Intermediate density lipoproteins) ;
- LDL (Low density lipoproteins) ;
- HDL (High density lipoproteins).

./...

Chaque classe est caractérisée par la proportion des différents lipides ainsi que par la nature des apoprotéines.

La séparation des lipoprotéines en classes distinctes est basée, soit sur leur densité en ultracentrifugation, soit sur leur mobilité électrophorétique. Cette classification établie ainsi arbitrairement à partir de leurs propriétés physiques, n'est pas entièrement satisfaisante sur le plan fonctionnel. En fait, les lipoprotéines forment un spectre pratiquement continu de macromolécules à l'intérieur de chaque classe. La subdivision en sous-fractions qui semblent présenter une meilleure unité métabolique et structurale est donc souvent utilisée, en particulier pour les LDL et HDL.

#### II. 1.4. Propriétés physiques et composition

Le tableau 2 rappelle les propriétés physiques et la composition des cinq classes majeures de lipoprotéines. Cette représentation schématique de la composition chimique des lipoprotéines (11) fait ressortir la continuité du spectre de macromolécules depuis les chylomicrons jusqu'aux HDL, l'augmentation de la densité et la diminution de la taille des particules, correspondant principalement à une augmentation de la teneur en protéines et à une réduction des triglycérides.

La composition en apoprotéines est caractéristique pour chaque classe de lipoprotéines. Cette composition sera déterminante dans le métabolisme de la particule. Les données acquises concernant le poids moléculaire, la fonction et le lieu de synthèse des différentes apoprotéines humaines sont résumées dans le tableau N° 3 (18).

#### II.1.5. Les lipoprotéines chez le lapin

Une étude comparée des lipoprotéines chez un grand nombre d'espèces animales a été effectuée (5). En ce qui concerne le lapin, le profil des lipoprotéines présente certaines différences avec l'homme. Il est caractérisé par un taux de VLDL généralement faible, une concentration en IDL relativement élevée et comparable à celle des LDL.

Les HDL représentent la classe dominante chez cette espèce. Il est possible toutefois que les valeurs élevées de la concentration des IDL, signalées chez le lapin, proviennent du fait que les zones de densité retenues pour la séparation des IDL et des LDL ne sont pas appropriées à cette espèce (10) (30).

LIPOPROTEINE	DENSITE	POURCENTAGE DE LA MASSE DE LIPOPROTEINE				POIDS DALTON X 10 <sup>-6</sup>	DIAMETRE A°	MOBILITE ELCTROPHORETIQUE
		20	40	60	80			
CHYLOMICRONS	0,95					100	1 000	ORIGINE
VLDL	1,006					6	300	PRE $\beta$ ( $\alpha_2$ )
IDL	1,019					4	250	$\beta$
LDL	1,063					1,8	200	
HDL <sub>2</sub>	1,125					0,4	100	$\alpha_1$
HDL <sub>3</sub>	1,210					0,2	75	

Tableau 2 - REPRESENTATION SCHEMATIQUE DE LA COMPOSITION CHIMIQUE DES LIPOPROTEINES PLASMATIQUES HUMAINES.

SOURCE (11).

APOPROTEINE	POIDS MOLECULAIRE	FONCTION	CONSTITUANTS DES LIPOPROTEINES DANS		SITE DE SYNTHESE
			LA LYPHE	LE PLASMA	
A I	28 300	ACTIVE LCAT	CM, VLDL, HDL	HDL	Intestin, Foie
A II	17 000	?	CM, VLDL, HDL	HDL	Intestin, Foie
A IV	46 000	?	CM, VLDL	CM, d > 1,21	Intestin > Foie
B	B100 459 000	Secrétion des CM et VLDL Transport des Triglycérides	CM, VLDL, LDL	CM, Remnants de CM, VLDL, LDL	B100, Foie B48, Intestin
	B48 264 000				
C I	6331	Inhibe la captation hépatique des Remnants de CM	CM, VLDL	HDL, CM	?
C II	8837	Active la lipase Inhibe la captation hépatique des Remnants de CM	CM, VLDL	HDL, CM	Foie > Intestin
C III	8764	Inhibe la lipase Inhibe la captation hépatique des Remnants	CM, VLDL	HDL, CM	Foie > Intestin
D	22 100	?	CM	HDL	?
E	33 000	Fixation sur le Récepteur hépatique des Remnants de CM	CM, VLDL	CM, Remnants de CM, VLDL, HDL	Foie

CM : CHYLOMICRONS

TABEAU 3 - APOLIPROTEINES HUMAINES - SOURCE (18)

## II. 1.6. Métabolisme des lipoprotéines

L'ensemble du système de transport des lipides par les lipoprotéines plasmatiques est schématisé sur la figure 1. Ce modèle établi par BROWN et COLL (3) différencie les mécanismes de transport des lipides d'origine exogène et endogène. Les deux systèmes débutent par la sécrétion de lipoprotéines riches en triglycérides, les chylomicrons et les VLDL qui sont transformés progressivement en particules riches en esters de cholestérol : remnants (particule issue des dégradations successives du cholestérol) et IDL puis LDL. Cette transformation fait intervenir des interactions avec les HDL circulantes et plusieurs systèmes enzymatiques LPL (lipoprotéine Lipase extra-hépatique), HTGL (Triglycéride Lipase Hépatique) et LCAT (Lécithine-Cholestérol -Acyltransferase).

### II. 1.6.1 Métabolisme des chylomicrons

Les chylomicrons sont synthétisés au niveau de l'entérocyte à partir des produits d'hydrolyse des lipides alimentaires. Les particules néoformées diffusent dans les vaisseaux lymphatiques puis gagnent la circulation générale.

Dans la circulation, les chylomicrons vont être dégradés par la LPL située sur l'endothélium des capillaires des tissus extra-hépatiques principalement le coeur, le muscle et le tissu adipeux (17) (36) (28).

Les chylomicrons contiennent 98 p. 100 de lipides dont 90 p. 100 sont des triglycérides, le reste des phospholipides. Leur fonction première est le transport des glycérides jusqu'au foie qui les capte.

### II. 1.6.2. Métabolisme des VLDL

Les VLDL sont généralement définies comme les formes de transport des triglycérides d'origine endogène. Elles sont synthétisées principalement par le foie, mais aussi par l'intestin.

L'importance de la participation de l'intestin au pool circulant des VLDL est encore mal définie (18).

La dégradation intravasculaire des VLDL : hydrolyse des triglycérides, perte de fragments de surface et enrichissement en esters de cholestérol, est tout à fait similaire à celle des chylomicrons (10).

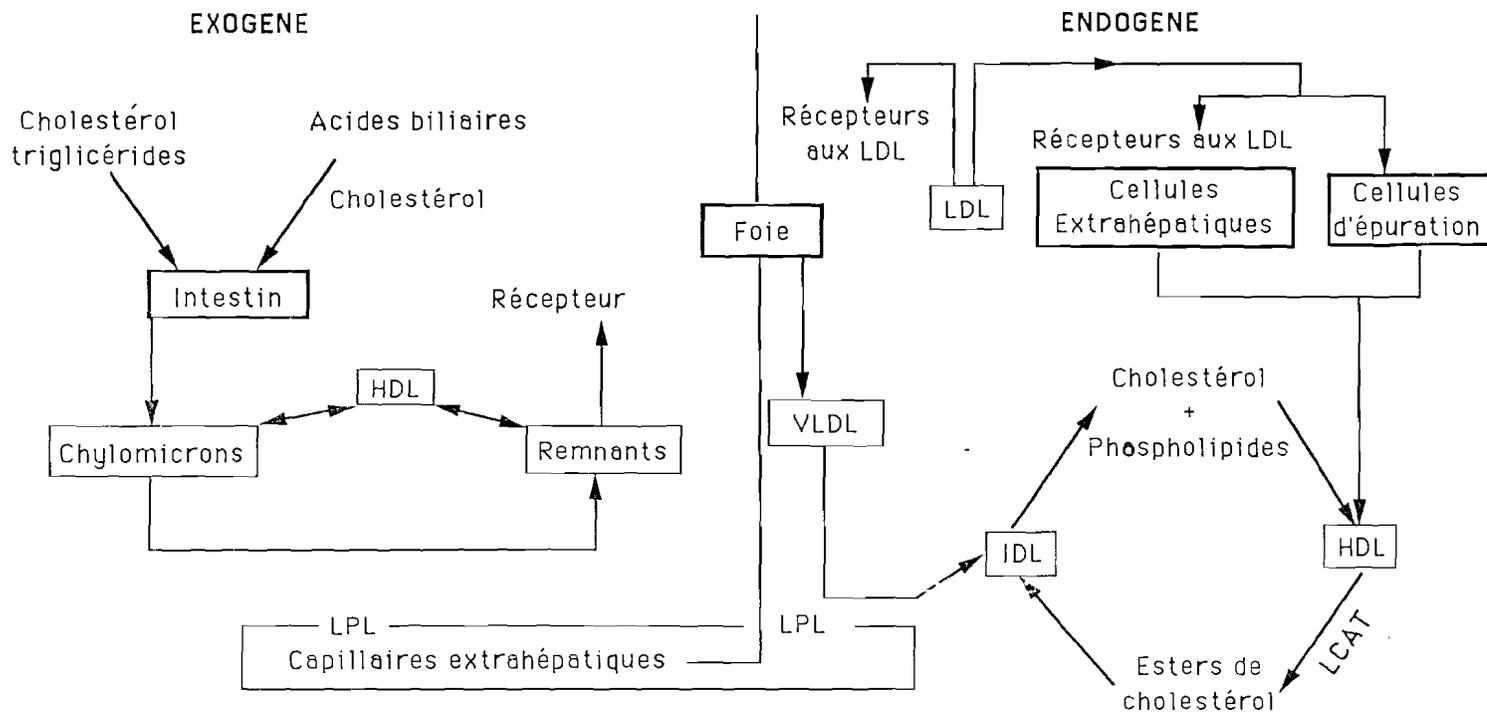


FIGURE 1 : Modèle pour le système de transport par les lipoprotéines, chez l'homme, illustrant la division entre les cycles exogène et endogène.

Source (3).

Toutefois, la LPL a plus d'affinité pour les chylomicrons que pour les VLDL, la demi-vie de ces lipoprotéines est donc supérieure. La particule résiduelle obtenue après action conjuguée de la LPL et de la LCAT est appelée ~~remnants~~ de VLDL ou IDL.

Par la suite, les IDL peuvent, soit être captées et catabolisées par le foie, soit rester dans la circulation où elles subissent une nouvelle série de transformations qui aboutissent à la formation de LDL.

### II. 1.6.3. Métabolisme des LDL

Les LDL sont considérées comme la principale forme de transport du cholestérol vers les cellules des tissus périphériques. Le cholestérol apporté par les LDL sera utilisé, préférentiellement au cholestérol endogène, pour la synthèse membranaire dans les cellules en divisions et pour la synthèse des hormones stéroïdes dans le cortex surrénalien et les gonades.

Les LDL représentent le produit final de la transformation progressive des VLDL.

Le catabolisme des LDL est beaucoup plus lent que celui des lipoprotéines riches en triglycérides. La preuve *in vivo* de la participation prépondérante du foie au catabolisme des LDL a été apportée récemment par PITTMAN et coll (30).

### II. 1.6.4. Métabolisme des HDL

Les HDL circulantes représentent le produit final de l'interaction entre d'une part, les particules natives secrétées par le foie et l'intestin, et d'autre part, les composants de surface des lipoprotéines riches en triglycérides et les lipides des membranes cellulaires. Du fait de leur maturation dans la circulation, les HDL isolées du plasma dans la zone densité 1,063 - 1,21 comprennent une famille hétérogène de particules de composition, de densité et de taille différente. Cette hétérogénéité a nécessité la division en sous-fractions. Les deux classes majeures sont les HDL<sub>2</sub> (1,063 d - 1,125) et les HDL<sub>3</sub> (1,125 d - 1,21) (27).

Il existe une troisième classe mineure, les HDL<sub>1</sub>, migrant en position en électrophorèse et interférant avec la zone de densité des LDL (34).

./...

Leur rôle est intéressant ; elles paraissent faciliter le métabolisme des VLDL et des LDL. Elles ramènent vers le foie, l'excès de cholestérol qui sera estérifié par la LCAT pour former des esters de cholesteryle. Le foie semble jouer un rôle majeur dans la dégradation des HDL, mais sa contribution n'a pas encore été réellement quantifiée (27) (34).

#### EN RESUME

les lipoprotéines diffèrent les unes des autres par la proportion de leurs constituants, leurs lieux de synthèse, leurs rôles biologiques et leur métabolisme.

Elles constituent dans le plasma un système dynamique assurant le transport des lipides depuis leurs lieux de synthèse (intestin, foie) jusqu'aux tissus.

---

## II. 2. Relations entre Pseudocholinestérases et Lipoprotéines.

Selon des études histochimiques, immunoélectrophorétiques et quantitatives du serum humain, les lipoprotéines à faible densité peuvent former un complexe relativement instable avec les pseudocholinestérases (24).

Le lien trouvé semble beaucoup plus de nature physique que chimique, du fait que facilement rompu par des méthodes physiques.

Cette hypothèse est basée sur le fait que chez l'homme, l'activité des pseudocholinestérases augmente après ultrasonication du serum (9).

KUTTY et ACHARAYA (21) ont démontré que les inhibiteurs des cholinestérases tels que la physostigmine peuvent déstabiliser les LDL. Quand les LDL sont traitées avec de la phospholipase D, les pseudocholinestérases sont relâchées et du même coup, les lipoprotéines montrent une altération dans leur mobilité électrophorétique. Ceci laisse supposer que les sites d'attache des pseudocholinestérases sur les molécules lipoprotéiques se trouvent sur la partie de la lécithine qui porte la phosphorylcholine. Il est très probable qu'il existe une structure relationnelle très proche entre la phosphorylcholine et l'acétylcholine qui est un substrat naturel des pseudocholinestérases.

Un accroissement de l'activité des pseudocholinestérases dans le serum est souvent observé dans des conditions associées à un métabolisme anormal des lipides. Quand une hyperlipidémie est déclenchée chez le lapin après injection de lipopolysaccharides d'*Escherichia coli*, il apparait une augmentation significative de l'activité des LDL et des pseudocholinestérases (PCHE) (22).

Les activités des PCHE du serum de la lécithine-cholestérol acyltransférase (LCAT) et de la gamma-glutamyltransférase (GGT) chez le lapin avant et après l'administration d'organophosphorés in vivo ont fait l'objet de recherches.

C'est ainsi que les activités des PCHE, de la LCAT de la GGT et de quelques lipides sont mesurées dans le serum de lapins mâles exposés à un empoisonnement par des organophosphorés. Ce traitement des lapins par des organophosphorés réduit l'activité du cholestérol des LDL et des pseudocholinestérases dans le serum.

D'autre part, les HDL subissent un accroissement, tandis que les VLDL restent inchangés. Ces données, montrant une relation étroite entre les cholinestérases et les lipoprotéines peuvent-elles être utilisées lors d'intoxication par les IOP ?

DEUXIEME PARTIE

---

ETUDE EXPERIMENTALE

*Cette partie comporte deux chapitres*

- \* *Matériel et méthode d'étude*
- \* *Résultats - Discussions.*

CHAPITRE I

MATERIEL ET METHODE D'ETUDE

I. 1. Matériel

I. 1.1. Les animaux

Neuf lapins de race locale ont été utilisés.

Cinq élevés à l'école et constituant un lot homogène (Lot 1)

Quatre provenant du marché (Lot 2).

Il y avait cinq mâles et quatre femelles.

Ils étaient placés dans des cages gardées dans un local aménagé pour la circonstance.

L'aliment était à base de tourteaux d'arachide. Il est spécialement fabriqué pour le lapin par les moulins SENTENAC.

L'eau était distribuée ad libitum.

Leur âge allait de sept à neuf mois et leur poids de 1,5 Kg à 2,2 Kg.

Ces caractéristiques figurent dans les tableaux 4 et 5. Nous préférons utiliser deux tableaux, les raisons seront fournies un peu plus tard.

L'identification est faite en fonction du pelage, du sexe, de signes particuliers.

I. 1.2. L'insecticide organophosphoré

Nous avons utilisé le FENITROTHION formulé sous le nom déposé de SUMITHION (Insecticide déjà décrit). Il a une DL 50 rat per os de 250 - 500 mg/Kg (35). C'est un produit U.L.V. (ultra low volume) concentré à 500 g/l.

Le SUMITHION est utilisé dans le traitement des ectoparasites des mammifères.

I. 1.3. Le matériel technique et de laboratoire

I. 1.3.1. Le matériel technique

Il est essentiellement constitué par le matériel utilisé pour les prélèvements et pour la conservation des échantillons.

- \* tubes venoject sous vide ;
- \* seringues et aiguilles stériles à usage unique ;
- \* portoirs ;
- \* un réfrigérateur ;
- \* un congélateur.

TABLEAU 4

IDENTIFICATION DES ANIMAUX

LOT 1

<i>N° des animaux</i>	<i>Pelage</i>	<i>Sexe</i>	<i>Poids (Kg)</i>
1	blanc	M	2,1
2	blanc	M	1,8
3	blanc	F	1,8
4	gris	F	1,7
5	noir	F	1,5

TABLEAU 5

IDENTIFICATION DES ANIMAUX

LOT 2

<i>N° des animaux</i>	<i>Pelage</i>	<i>Sexe</i>	<i>Poids (Kg)</i>
1	noir	M	2,1
2	gris	M	1,5
3	blanc	M	2,2
4	marron	F	2,1

I. 1.3.2. Le matériel de laboratoire

I. 1.3.2.1. Les appareils

- \* une centrifugeuse ;
- \* une balance de précision ;
- \* un spectrophotomètre ;
- \* un agitateur type Vortex ;
- \* un bain thermostaté ;
- \* un chronomètre.

I. 1.3.2.2. Autres matériels

- \* la verrerie ;
- \* des micropipettes de type pipettman de différents calibres ;
- \* des embouts ;
- \* des cuvettes pour le spectrophotomètre ;
- \* des bacs pour la récupération des tubes ;
- \* des tubes à hémolyse.

I. 2. Méthode d'étude

Elle portera sur :

- \* protocole d'administration du FENITROTHION ;
- \* la technique de prélèvement de sang ;
- \* le mode de dosage de l'activité cholinestérasique et des lipoprotéines.

II.2.1. Protocole d'administration du FENITROTHION

I. 2.1.1. Dose de FENITROTHION

Cette dose a été calculée en fonction du poids des lapins et de la DL 50 du produit. A défaut de disposer de la DL 50 lapin, nous avons pris la DL 50 per-cutanée. Celle-ci étant de 1300 mg/Kg, nous avons utilisé le 1/10 dans un premier temps, puis le 1/20, soit respectivement 130 mg/Kg et 65 mg/Kg. Ceci justifie l'existence des deux tableaux établis un peu plus tôt.

En effet, l'expérience s'est déroulée en deux étapes :

\* une étape préliminaire où les cinq animaux constituant le lot homogène ont reçu la dose de 130 mg/Kg. Durant cette étape, on a noté un taux de mortalité de 40 %p. 100. Ce qui nous a conduit à diminuer la dose à administrer de moitié.

./...

\* une deuxième étape constituant la phase expérimentale proprement dite. Sept lapins ont été utilisés. Sur les trois animaux qui restaient du lot homogène, nous avons ajouté les quatre lapins figurant au tableau 4. Ces 7 lapins ont reçu la dose de 65 mg/Kg. Le FENTROTHION utilisé est concentré à 500 mg/ml. Les volumes et quantités appliqués sont consignés dans le TABLEAU 6.

#### I. 2.1.2. Voie d'administration

La voie per-cutanée a été utilisée. Le produit est appliqué sur la ligne du dos.

#### I. 2.1.3. Protocole des prélèvements.

L'intoxication a débuté le 28/12/1991 et a pris fin le 5/1/1992.

Le calendrier des prélèvements et des intoxications se trouve dans la figure 2. Les prélèvements ont débuté le 30/12/1991 pour finir le 27/1/1992. Nous avons effectué deux prélèvements successifs, le 26 et le 27/12/1991 qui nous ont servi comme valeurs de référence.

#### I. 2.2. Technique de prélèvement de sang

Les prélèvements ont été réalisés au niveau de la veine saphène, à l'aide d'aiguilles stériles et munies de leurs seringues. Le sang ainsi récupéré est ensuite transféré dans des tubes vénoject héparinés. Ce processus était nécessaire car les veines du lapin sont fragiles et se collabent vite. Ces prises de sang nécessitaient une bonne contention, le lapin étant un animal très sensible. Les tubes sont ensuite identifiés, par un code comportant la date du prélèvement et le numéro de l'animal précédé de l'initial du sexe. Exemple : Mâle N° 1 - M1

Femelle N° 2 - F2

Les prélèvements sont effectués en début de matinée.

Avant de centrifuger à 3.000 tours/minutes pendant dix minutes pour récupérer le plasma qui servira au dosage des cholinestérases au niveau du plasma et des lipoprotéines, l'activité cholinestérasique au niveau du sang total est d'abord mesurée.

#### I. 2.3. Mode opératoire de dosage

##### I. 2.3.1. Mesure de l'activité cholinestérasique

La technique que nous avons utilisée est celle d'ELLMAN

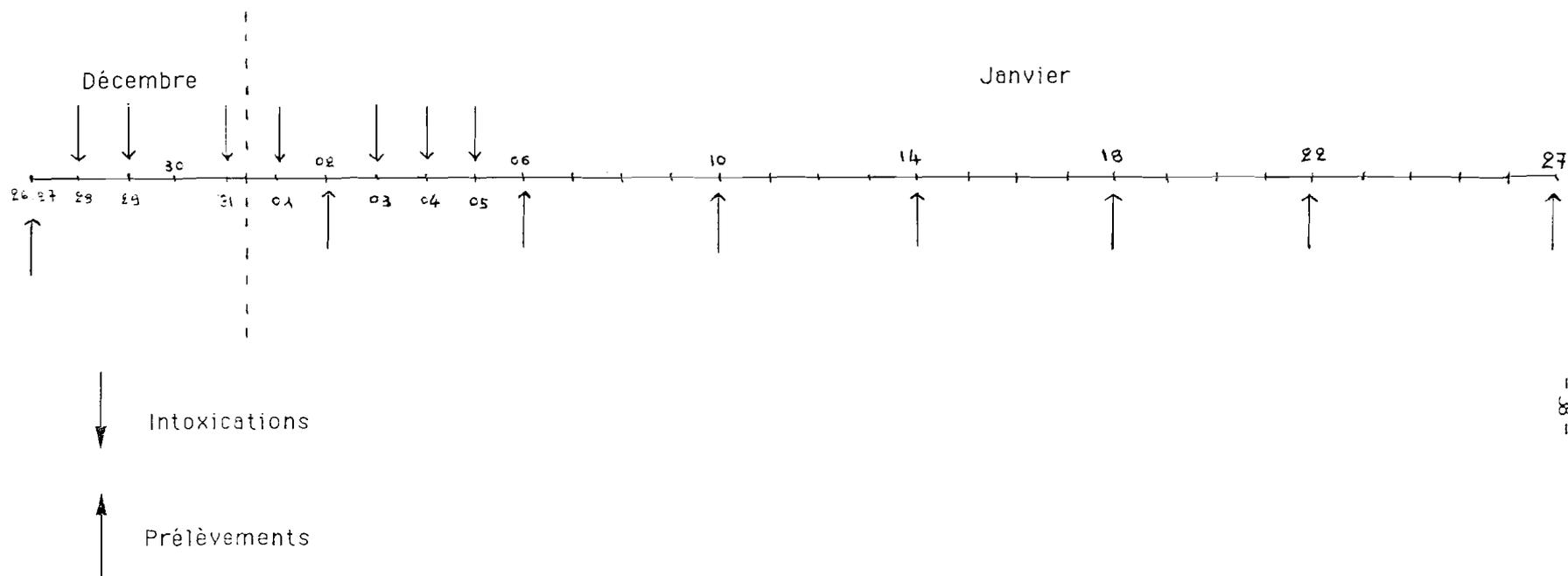
./...

TABLEAU 6

POIDS DES ANIMAUX - QUANTITES ET VOLUMES DE PRODUIT ADMINISTRES

<i>N° DES LAPINS</i>	<i>POIDS</i>	<i>QUANTITE INJECTEE (mg)</i>	<i>VOLUME INJECTE (ml)</i>
<u>1</u>	2,1	136,5	0,27
2	1,8	117	0,23
3	1,5	97,5	0,19
4	2,1	136,5	0,27
5	2,2	143	0,28
6	1,7	110,5	0,22
7	1,5	97,5	0,19

FIGURE 2 :  
Calendrier des intoxications et des prélèvements

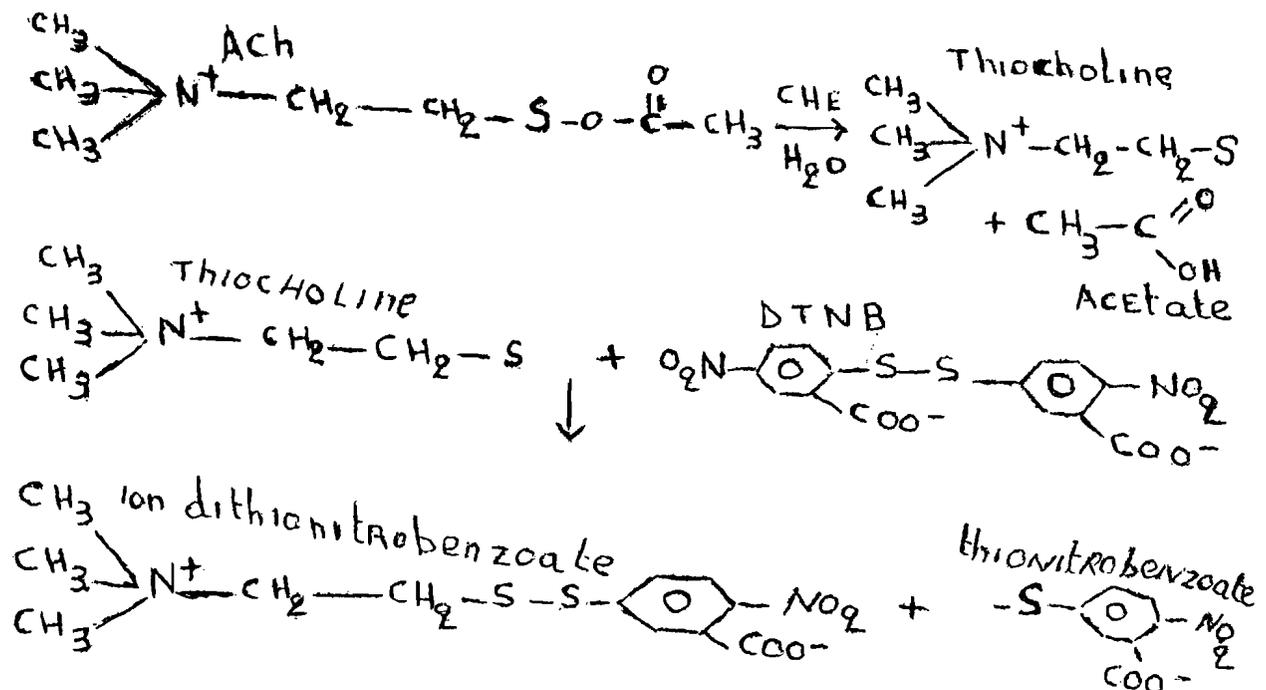


### 1°/ Principe

Il s'agit d'une méthode de détermination photométrique de l'activité cholinestérasique. Elle repose sur le principe suivant : les cholinestérases hydrolysent l'iodure d'acétylthiocholine en thiocholine et en acétate ; la thiocholine libérée réagit avec le dithionitrobenzoate (DTNB) pour former un ion dithiobenzoate et le thionitrobenzoate (DTNB) pour former un ion dithiobenzoate et le thionitrobenzoate de coloration jaune.

L'intensité de cette coloration est mesurée au spectrophotomètre à la longueur d'onde de 405 nm. Elle est en corrélation positive avec l'activité de l'échantillon étudié.

La réaction chimique peut s'écrire :



Le spectrophotomètre mesure cette coloration en variation de densité optique (D.O.) pendant un temps donné.

### 2°/ Méthode

#### 1. 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 dithionitrobenzoate, le substrat, les enzymes.

#### a/ La solution tampon

La préparation de cette solution s'effectue comme suit :

- Peser 8,83 g de NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>/H<sub>2</sub>O (PM 138) et dissoudre dans 800 ml d'eau déminéralisée. Amener la solution à PH8 en ajoutant progressivement 0,60 ml de NaOH.1N

- 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.

b/ La solution de DTNB

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

c/ Le substrat

Le substrat qu'on a utilisé est l'iodure d'acétylthiocholine (ASCHL). Pour préparer la solution mère d'ASCHL qui est à 1,25mM, nous avons pesé 0,2892 d'ASCHL que nous avons mis dans 25 ml d'eau déminéralisée. Cette solution est répartie dans 10 tubes à héralyse et gardée ensuite au congélateur

d/ Les enzymes

Il s'agit des cholinestérases situées au niveau des erythrocytes et des pseudocholinestérases du plasma.

2. Technique de dosage

L'activité cholinestérasique a été mesurée au niveau de trois éléments : le sang total - le plasma - les érythrocytes.

Le spectrophotomètre est d'abord branché au secteur, de même que le bain marie thermostaté dans lequel baignent des tubes contenant 3 ml de tampon phosphate/DTNB.

Le dosage commence après seulement la stabilisation du spectrophotomètre et la réalisation de l'équilibre thermique dans le bain marie (37°C).

Prélever 0,1 ml d'échantillon à doser soit du

- \* sang total dilué au 1/100
- \* plasma dilué au 1/20
- \* erythrocytes dilués au 1/100.

Cette quantité de substance est ajoutée aux 3 ml de tampon phosphate/DTNB. Ce mélange Enzyme - DTNB est homogénéisé au VORTEX.

Ajouter 0,1 ml de substrat et homogénéiser encore.

Le mélange ainsi constitué est transvasé dans la cuvette destinée au spectrophotomètre. Une fois que la cuvette est dans le spectrophotomètre, déclencher le chronomètre et attendre une minute pour une première lecture, puis trois minutes pour une seconde lecture. Ceci nous permet de calculer la variation de densité optique par minute de réaction.

Tout au long de la manipulation, des précautions sont prises afin d'éviter le maximum d'erreurs.

1. La réalisation du zéro de l'appareil avec de l'eau distillée avant toute mesure, le spectrophotomètre étant à la longueur d'onde de 405 nm ;
2. Les mesures doivent être faites à une température de 37° C ;
3. Le même embout est réservé au même réactif pour éviter les intercontaminations entre réactifs ;
4. Toujours homogénéiser le réactif avant prélèvement ;
5. Tout substrat décongelé doit être utilisé dans les 48 heures car son activité diminue avec le temps du fait de l'hydrolyse spontanée.

I. 2.3.1.3. Détermination de l'hydrolyse enzymatique du substrat

l'ASCHL peut subir une hydrolyse spontanée en l'absence de toute enzyme. Cette réaction se fait au PH du milieu réactionnel : 8.

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/mn (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. Ceci nous donne la densité optique nette par minute (DO nette/mn).

I.2.3.1.4. Méthode de calcul de l'activité cholinestérasique

$$A = \frac{D.O. \text{ nette/mn}}{1,36.10^4} \times \frac{\frac{3,2}{0,1} \times \text{dilution de l'échantillon}}{10^3} \times 10^6$$

1,36.10<sup>4</sup> : Coefficient d'extinction du DTNB

DO nette/mn : Densité Optique Nette par minute

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

10<sup>3</sup> : Moles de substrat/ml

10<sup>6</sup> : μmoles de substrat / ml

A : Activité cholinestérasique ( μmoles de substrat hydrolysé/mn/ml d'échantillon)  
d'échantillon)

./...

I. 2.3.2. Dosage des lipoprotéines

Nous nous sommes intéressés à deux paramètres :

HDL cholestérol

LDL cholestérol

La méthode utilisée est celle décrite dans les kits des laboratoires bio MERIEUX (France).

I. 2.3.2.1. Dosage des HDL cholestérol

1/ Principe

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 les lipoprotéines de haute densité (HDL) dont le cholestérol est dosé par le réactif cholestérol enzymatique.

2/ Réactifs

---

R1	acide phosphotungstique	40g/l
Réactif précipitant	Mg C12 6H2O pH 6,2	100g/l

---

R2	Cholestérol	1,30 mmol/l
calibration	libre + estérifié	0,5g/l <sup>ou</sup>
HDL calibration		

---

Plasma héparine à doser

---

3/ Mode opératoire

a/ Réaction de précipitation

Mélanger 500 µl de plasma et 50 µl de R1 (Réactif précipitant) -

Attendre 10 minutes

Centrifuger pendant 15 minutes à 5000 tours/mn

Récupérer le surnageant

./...

b/ Dosage du cholestérol HDL

Il se fait au spectrophotomètre à la longueur d'onde de travail de 500 nm.

	Blanc réactif	Etalon	Dosage
* eau distillée	50 µl	-	-
* R <sub>2</sub>	-	50 µl	-
calibration HDL cholestérol			
* Surnageant	-	-	50 µl
* Solution de travail (cholestérol enzymatique)	1 ml	1 ml	1 ml

Mélanger - Incuber 5 minutes à 37 ° C. Photométrer

Faire le zéro de l'appareil avec le blanc réactif.

Le taux de cholestérol HDL est donné par la formule :

$$\frac{\text{Densité optique dosage}}{\text{Densité optique étalon}} \times n$$

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

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

I. 2.3.2.2. Dosage des LDL cholestérol

1/ Principe

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

La propriété selon laquelle les diverses classes de lipoprotéines se différencient par leur densité, leur comportement électrique et leur réactivité vis à vis d'anticorps spécifiques sera mise en jeu.

2/ Réactifs

R1 Réactif précipitant les LDL	* Surfactant anionique polycyclique * Surfactant anionique polycyclique condensé * dioxane polysubstitué * tampon imidazole pH 6,10	0,4 g/l 0,8 g/l 12,4 mmol/l 25 mmol/l
R2 Réactif solubilisant LDL	* citrate trisodique * chlorure de sodium	0,15 mmol/l 0,11 mmol/l
R3 <u>calibration LDL</u> cholestérol plasma hépariné à doser	* cholestérol libre + estérifié	1 mmol/l ou 0,387 g/l

3/ Mode opératoire

a/ Précipitation

Mélanger 1 ml de R1 (Réactif précipitant) et 50 µl de plasma

Centrifuger 5 minutes à 4000 tours/mn

Séparer le surnageant du culot par retournement. Bien égoutter.

b/ Solubilisation du culot

Solubiliser le culot dans 0,5 ml de R2

c/ Dosage des LDL cholestérol

Il se fait au spectrophotomètre à la longueur d'onde de 500 nm

	Blanc réactif	Etalon	Dosage
Eau distillée	100 µl	-	-
R3 (calibration LDL cholestérol)	-	100 µl	-
Culot solubilisé	-	-	100 µl
Solution de Travail			
"cholestérol enzymatique"	1 ml	1 ml	1 ml

./...

CHAPITRE II

R E S U L T A T S            -            D I S C U S S I O N S

TABLEAUX ET FIGURES

TABLEAU 7

ACTIVITE CHOLINESTERASIQUE EN  $\mu$ MOLE DE SUBSTRAT HYDROLYSE/mn/ml DE SANG TOTAL

Période - Date N° Lapins	Pré-intoxication	INTOXICATION			POST - INTOXICATION				
	26-27-12-91	30-12-91	02-01-92	06-01-92	10-01-92	14-01-92	18-01-92	22-01-92	27-01-92
1	1,97	1,47	1,23	1,53	0,70	1,53	1,32	1,32	1,33
2	2,03	1,53	1,00	1,11	0,76	1,41	1,53	1,70	1,32
3	1,97	0,65	0,33	0,33	1,23	1,64	2,06	2,29	2,35
4	2,71	0,32	0,53	1,53	1,23	2,05	2,12	1,94	1,76
5	1,50	1,17	0,70	0,33	0,64	1,52	1,17	1,47	1,47
6	1,64	0,70	0,53	1,17	1,12	1,35	1,35	1,59	1,17
$\Sigma X$	11,22	6,39	4,97	7,15	5,63	9,55	10,055	10,31	10,45
$\bar{X}$	1,97	1,06	0,82	1,19	0,94	1,59	1,67	1,80	1,74
$\sqrt{V}$	0,42	0,40	0,26	0,30	0,27	0,24	0,33	0,29	0,40

plvmts : prélèvements

TABLEAU 3

ACTIVITE CHOLINESTERASIQUE EN  $\mu\text{MOLE}$  DE SUBSTRAT HYDOLYSE/ $\text{mm}^3/\text{ml}$  DE PLASMA

N° Lapins	Période - Date des plvnts	INTOXICATION			POST - INTOXICATION					
	pré-intoxi- cation	30-12-91	02-01-92	06-01-92	10-01-92	14-01-92	18-01-92	22-01-92	27-01-92	
1	26-27-12-91	0,82	0,58	0,23	0,58	0,60	0,68	0,73	0,92	0,87
2		0,83	0,56	0,44	0,55	0,62	0,86	0,86	0,73	0,89
3		1,01	0,45	0,23	0,58	0,67	0,83	1,15	1,03	0,94
4		0,91	0,45	0,23	0,52	0,81	0,87	0,97	0,86	0,82
5		0,77	0,62	0,41	0,24	0,62	0,52	0,60	0,43	0,52
6		0,86	0,84	0,57	0,11	0,52	0,50	0,82	0,77	0,70
$\Sigma X$		5,2	3,5	2,11	2,58	3,84	4,26	5,13	4,74	4,74
$\bar{X}$		0,86	0,58	0,35	0,43	0,64	0,71	0,85	0,79	0,79
$\sigma$		0,08	0,14	0,14	0,20	0,09	0,17	0,19	0,20	0,15

TABLEAU 9

ACTIVITE CHOLINESTERASIQUE EN  $\mu$ MOLE DE SUBSTRAT HYDROLYSE/mm/ml D'ERYTHROCYTES

N° Lapins	Période - Date des plvmts	Pré-intoxi- cation	INTOXICATION			POST - INTOXICATION				
		26-27-12-91	30-12-91	02-01-92	06-01-92	10-01-92	14-01-92	18-01-92	22-01-92	27-01-92
1		1,56	1,00	0,88	1,23	1,17	1,88	1,82	1,76	1,76
2		1,56	1,35	0,70	0,41	0,64	1,17	1,47	1,35	1,53
3		2,08	1,11	0,76	0,76	1,23	2,11	2,41	2,41	2,41
4		2,66	1,29	0,88	0,82	1,11	2,00	1,82	1,41	1,94
5		1,85	1,17	0,88	0,88	0,94	1,05	1,35	1,29	1,64
5		1,76	0,47	0,58	1,12	0,59	1,17	1,47	1,23	1,59
$\Sigma X$		11,47	6,39	4,08	5,22	5,68	9,38	10,34	9,45	10,87
$\bar{X}$		1,91	1,06	0,78	0,87	0,94	1,56	1,72	1,57	1,81
$\sigma$		0,41	0,31	0,12	0,29	0,27	0,48	0,39	0,50	0,32

TABLEAU 10

## VALEURS DE L'ACTIVITE CHOLINESTERASIQUE EN POURCENTAGE

## LORS DE L'INTOXICATION AU FENTROTHION (IOP)

## SANG TOTAL - LAPIN

Période - Date des N° lapins	Pré-intoxi- cation 26-27-12-91	INTOXICATION			POST - INTOXICATION				
		30-12-91	02-01-92	06-01-92	10-01-92	14-01-92	18-01-92	22-01-92	27-1-92
1	100	74,62	62,43	80	35,53	80,20	92,38	92,38	95,42
2	100	77,83	49,26	54,67	37,43	69,45	75,36	83,74	89,65
3	100	33	44,67	44,67	62,43	83,24	104	116,24	119,28
4	100	30,25	21,40	56,45	45,38	75,24	78,22	71,58	64,94
5	100	78	46,66	58,66	42,66	101,33	78	98	98
6	100	42,68	35,36	71,34	68,29	82,31	82,31	96,95	71,34
- X	100	53,80	41,62	60,40	47,71	80,71	84,77	91,37	83,32

TABLEAU 11

VALEURS EN POURCENTAGE DE L'ACTIVITE CHOLINESTERASIQUE  
LORS D'UNE INTOXICATION AU FB/TROTTON (IOP) - PLASMA-LAPIN

N° des lapins	Pré-intoxication	INTOXICATION				P S T - INTOXICATION				
		Période et date des plvmts	26-27-12-91	30-12-91	02-01-92	06-01-92	10-01-92	14-01-92	18-01-92	22-01-92
1	100		70,73	28,04	70,73	73,17	82,92	89,02	112,19	106,09
2	100		67,46	53,01	66,26	74,69	103,61	103,61	87,	107,22
3	100		44,55	22,77	57,42	66,33	82,17	113,86	101,98	93,06
4	100		49,45	25,27	57,14	89,01	95,60	106,59	94,50	90,10
5	100		80,52	53,24	31,16	80,51	67,53	77,92	55,84	67,53
6	100		97,67	66,27	12,79	60,46	58,13	95,34	89,53	81,39
$\bar{x}$	100		67,44	40,69	50	74,41	82,55	98,83	91,86	91,86

TABLEAU 12

VALEURS DE L'ACTIVITE CHOLINESTERASIQUE EN POURCENTAGE  
LORS D'UNE INTOXICATION AU FENITROTHION (IOP)

LAPIN - ERYTHROCYTES

Période et date des pivmts N° lapins	Pré-intoxication	I N T O X I C A T I O N				P O S T - I N T O X I C A T I O N				
	25-27-12-91	30-12-91	2-01-92	6-01-92	10-01-92	14-01-92	18-01-92	22-01-92	27-01-92	
1	100	64,10	56,41	78,84	75,00	120,51	116,66	112,82	112,82	
2	100	86,53	44,87	26,28	41,02	75,00	94,23	86,53	98,07	
3	100	53,36	36,53	36,53	59,13	101,44	115,86	115,86	115,86	
4	100	48,49	33,08	30,82	41,73	75,18	68,42	53,00	72,93	
5	100	63,24	47,56	47,56	50,81	56,75	72,97	69,72	88,64	
6	100	26,70	32,95	63,63	33,52	66,47	83,52	69,88	90,34	
- X	100	55,49	40,83	45,54	49,21	81,67	90,05	82,19	94,76	

TABLEAU 13

EVOLUTION DU TAUX DES HDL CHOLESTEROL ( $\alpha/1$ ) LORS D'UNE  
INTOXICATION AU FENITROTHION (IOP) - PLASMA LAPIN

N° Lapins	Période-Date des plvmts	Pré-intoxi- cation	INTOXICATION				POST - INTOXICATION			
		26-27-12-91	30-12-91	02-01-92	05-01-92	10-01-92	14-01-92	18-01-92	22-01-92	27-01-92
1		0,35	0,39	0,40	0,56	0,45	0,32	0,30	0,21	0,26
2		0,16	0,20	0,31	0,38	0,41	0,36	0,33	0,23	0,24
3		0,17	0,33	0,35	0,37	0,31	0,35	0,28	0,17	0,21
4		0,28	0,40	0,40	0,44	0,34	0,31	0,30	0,34	0,27
5		0,40	0,44	0,56	0,47	0,49	0,41	0,45	0,38	0,47
6		0,27	0,29	0,33	0,41	0,34	0,30	0,29	0,30	0,25
$\Sigma X$		1,63	2,05	2,35	2,63	2,34	2,05	1,95	1,63	1,70
- X		0,27	0,34	0,39	0,44	0,39	0,34	0,32	0,27	0,28
$\sqrt{\quad}$		0,09	0,08	0,09	0,07	0,07	0,04	0,06	0,08	0,09

TABLEAU 14 -

EVOLUTION DU TAUX DES LDL CHOLESTEROL (g/l) LORS D'UNE INTOXICATION  
AU FENITROTHION (IOP) - PLASMA - LAPIN

Période - Date des plants N° Lapin	pré-intoxi- cation	INTOXICATION			POST - INTOXICATION				
	26-27-12-91	30-12-91	02-01-92	06-01-92	10-01-92	14-01-92	18-01-92	22-01-92	27-01-92
1	0,43	0,29	0,27	0,24	0,11	0,41	0,56	0,26	0,32
2	0,58	0,42	0,35	0,39	0,37	0,14	0,31	0,40	0,57
3	0,45	0,22	0,24	0,37	0,43	0,45	0,13	0,38	0,34
4	0,39	0,29	0,27	0,16	0,15	0,10	0,10	0,23	0,40
5	0,41	0,24	0,25	0,10	0,13	0,25	0,30	0,33	0,38
6	0,42	0,22	0,24	0,16	0,19	0,18	0,12	0,35	0,39
$\Sigma X$	2,68	1,68	1,62	1,42	1,38	1,53	1,52	1,95	2,40
$\bar{X}$	0,44	0,28	0,27	0,23	0,23	0,25	0,25	0,32	0,40
$\sigma$	0,07	0,07	0,04	0,12	0,13	0,14	0,17	0,06	0,08

TABLEAU 15

EVOLUTION EN POURCENTAGE DES HDL CHOLESTEROL LORS D'UNE  
INTOXICATION AU FENITROTHION (IOP) - PLASMA LAPIN

N° Lapin	Période et date des plvmts pré-intoxi- cation 26-27-12-91	I N T O X I C A T I O N				P O S T - I N T O X I C A T I O N			
		30-12-91	02-01-92	06-01-92	10-01-92	14-01-92	18-01-92	22-01-92	27-01-92
1	100	111,42	114,28	160	128,57	91,42	85,71	60,00	74,28
2	100	125	193,75	237,50	256,25	225	206,25	143,75	150
3	100	194,11	205,88	217,64	182,35	205,88	164,70	100	123,52
4	100	142,85	142,85	157,14	121,42	110,71	107,14	121,42	96,42
5	100	110	140	117,50	122,50	102,50	112,50	90,00	117,50
6	100	107,40	122,22	151,85	125,92	111,11	107,40	111,11	92,59
$\bar{X}$	100	125,92	144,44	162,96	144,44	125,92	118,91	100	103,70

TABLEAU 16

EVOLUTION EN POURCENTAGE DES LDL CHOLESTEROL LORS D'UNE INTOXICATION  
AU FENITROTHION (IOP) - PLASMA LAPIN

N° Lapin	Date et période des plmvs Pré-intoxication	I N T O X I C A T I O N			P O S T - I N T O X I C A T I O N				
		26-27/12/91	30/12/91	02/01/92	06/01/92	10/01/92	14/01/92	18/01/92	22/01/92
1	100	67,44	62,79	55,81	25,58	95,34	130,33	60,46	74,41
2	100	72,41	60,34	67,24	63,79	24,13	53,44	68,96	98,27
3	100	48,88	53,33	82,22	95,55	100	28,88	84,44	75,55
4	100	74,35	69,23	41,02	38,46	25,64	25,64	58,97	102,56
5	100	58,53	60,97	24,39	31,70	60,97	73,17	80,48	92,68
6	100	52,38	57,14	38,09	45,23	42,85	28,57	83,33	92,85
$\bar{X}$	100	63,63	61,36	52,27	52,27	56,41	56,81	72,72	90,90

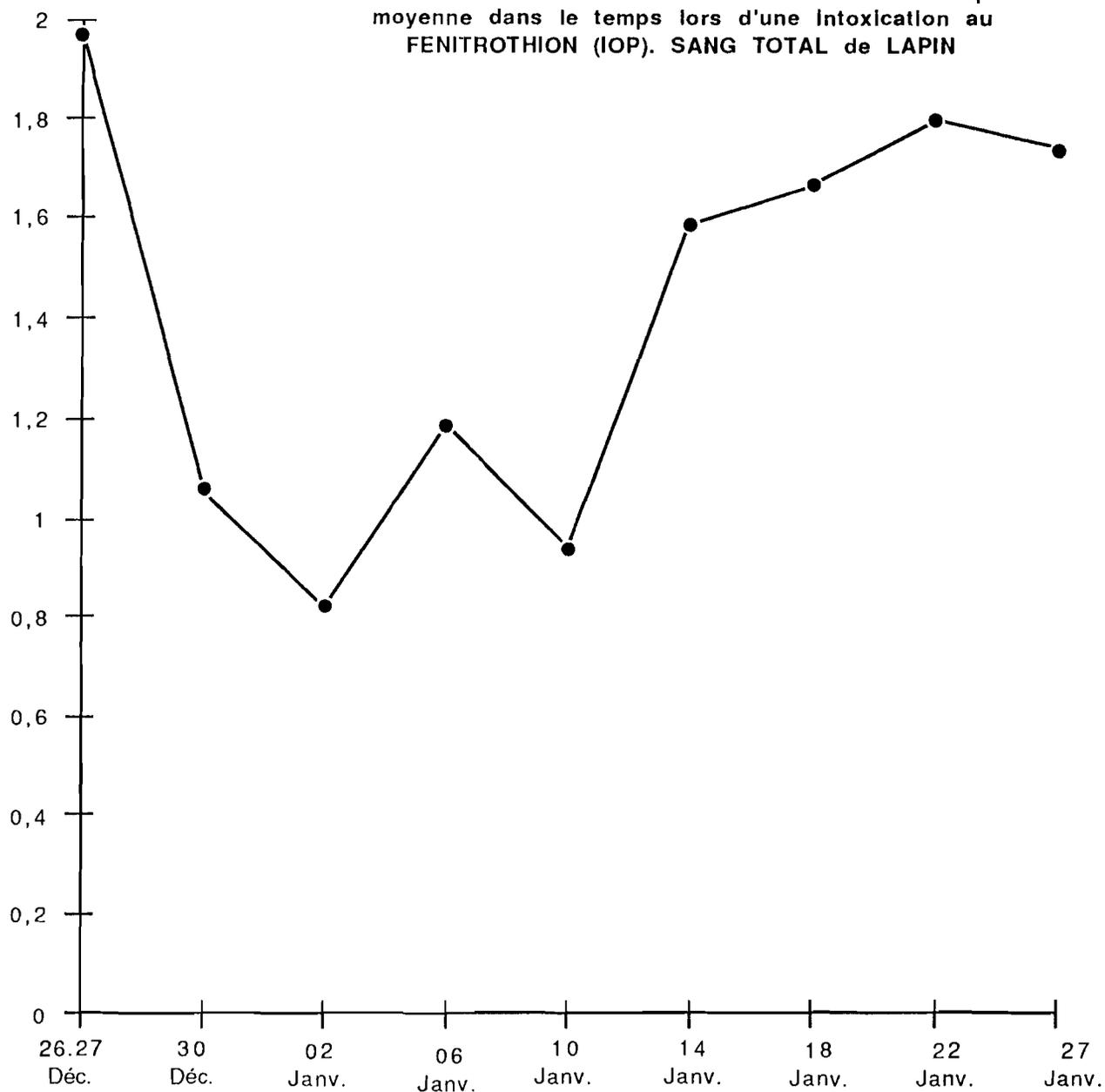
TABIEAU 17

EVOLUTION DU TAUX DES LIPOPROTEINES (LDL) ET HDL CHOLESTEROL)  
ET DE L'ACTIVITE CHOLINESTERASIQUE LORS D'UNE INTOXICATION  
AU FENITROTHION (IOP) - CHEZ LE LAPIN

Période et date des plmvs Paramètres	Pré-intoxi- cation	I N T O X I C A T I O N			P O S T I N T O X I C A T I O N				
	26-27/12/91	30/12/91	02/01/92	06/01/92	10/01/92	14/01/92	18/01/92	22/01/92	27/01/92
Activité cholinestérasique (sang total)	1,89	1,00	0,76	1,19	0,94	1,59	1,67	1,80	1,74
Activité cholinestérasique (plasma)	0,86	0,58	0,35	0,43	0,64	0,71	0,85	0,79	0,79
Activité cholinestérasique (érythrocytes)	1,91	1,06	0,78	0,87	0,94	1,56	1,72	1,57	1,81
HDL cholestérol	0,27	0,34	0,39	0,44	0,39	0,34	0,32	0,27	0,28
LDL cholestérol	0,44	0,28	0,27	0,23	0,23	0,25	0,25	0,32	0,36

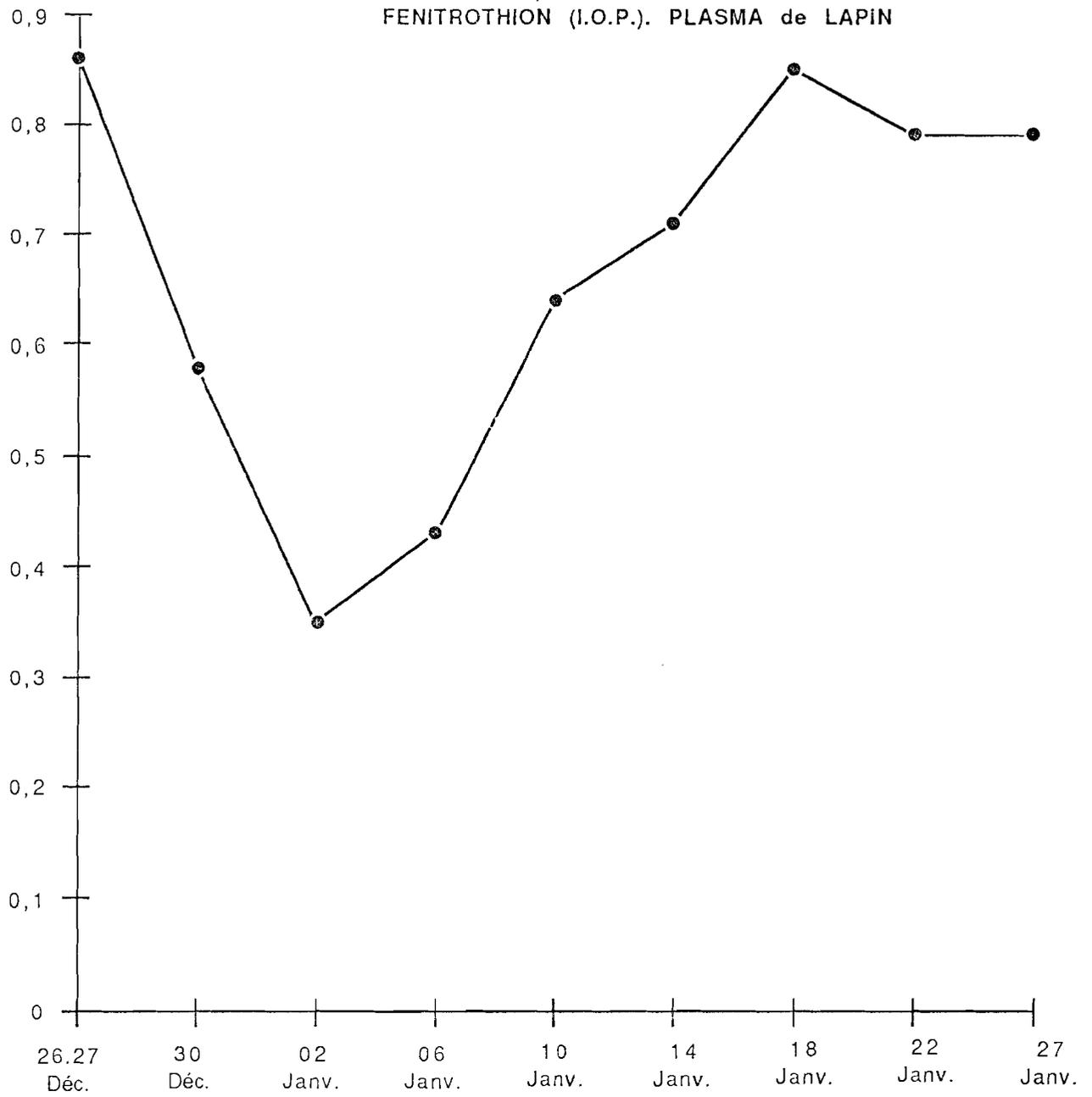
$\mu$ mole de substrat hydrolysé /  
mn/ml de sang total

FIGURE 3 : Evolution de l'activité cholinestérasique  
moyenne dans le temps lors d'une intoxication au  
FENITROTHION (IOP). SANG TOTAL de LAPIN



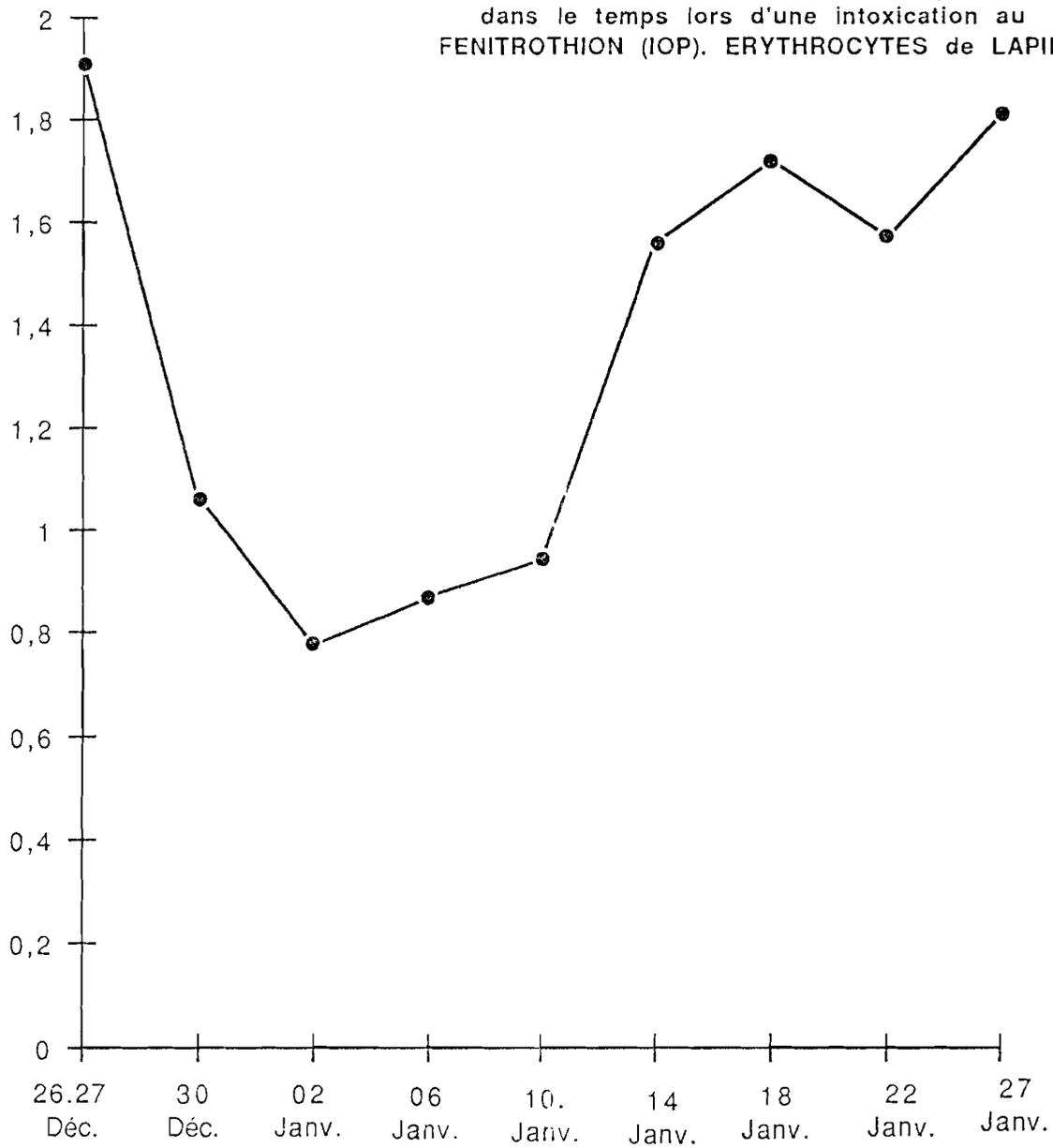
$\mu$ mole de substrat hydrolyse /  
mn/ml de plasma

FIGURE 4 : Evolution de l'activité cholinestérasique  
dans le temps lors d'une intoxication au  
FENITROTHION (I.O.P.). PLASMA de LAPIN



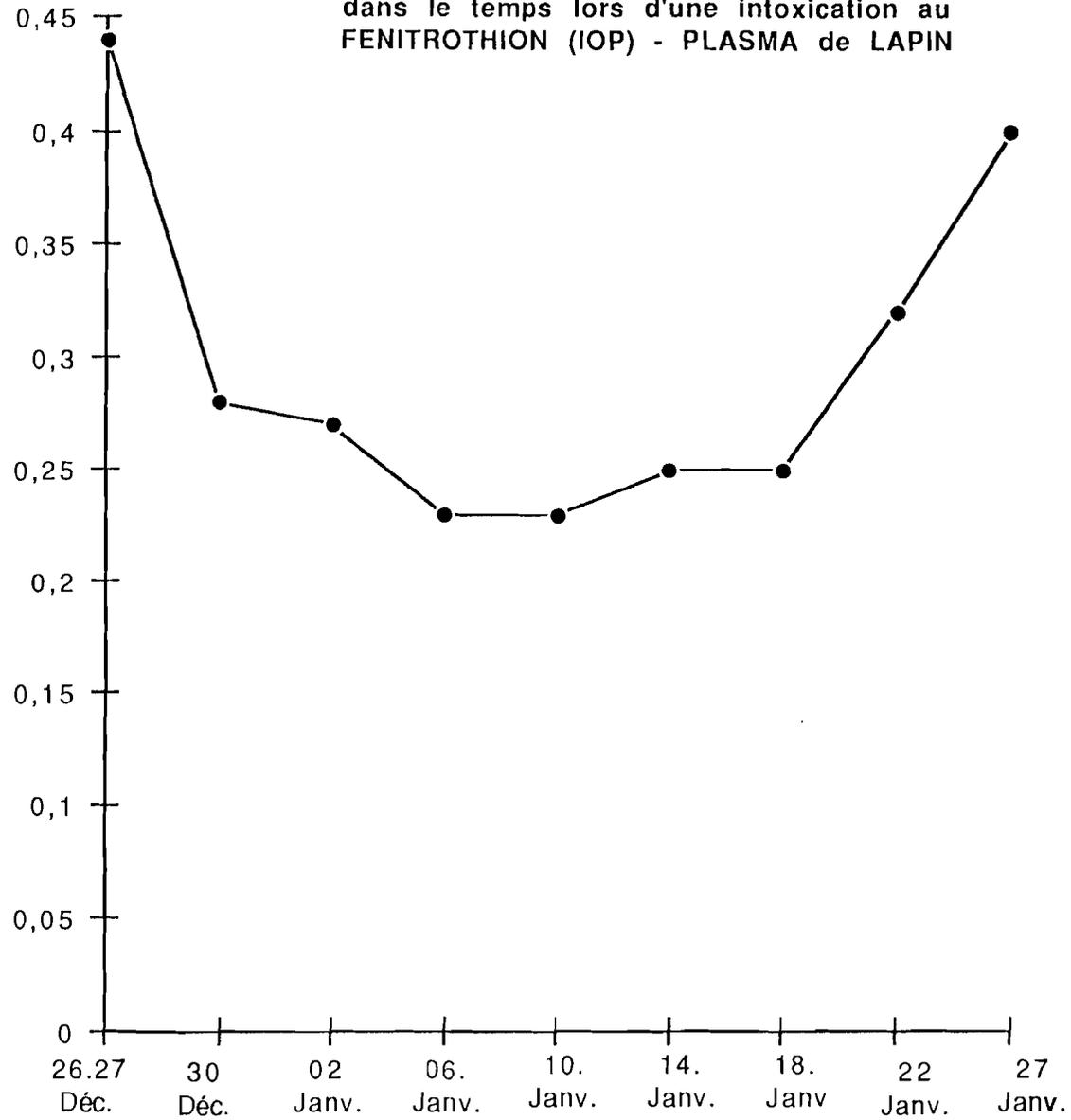
$\mu\text{mole}$  de substrat hydrolysé /  
mn/ml d'érythrocytes

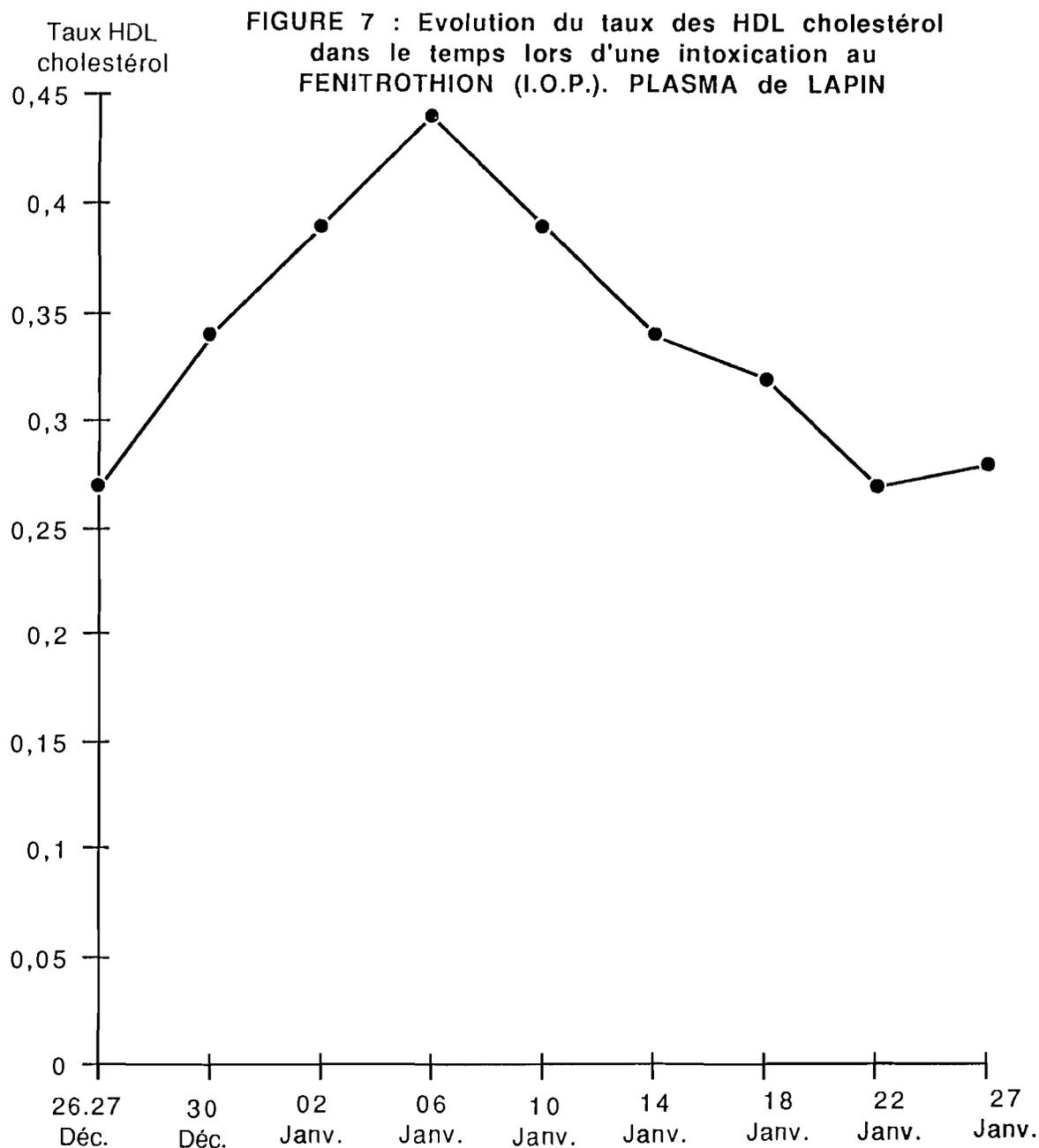
FIGURE 5 : Evolution de l'activité cholinesterasique  
dans le temps lors d'une intoxication au  
FENITROTHION (IOP). ERYTHROCYTES de LAPIN



Taux LDL  
cholestérol (g/l)

FIGURE 6 : Evolution du taux des LDL cholesterol  
dans le temps lors d'une intoxication au  
FENITROTHION (IOP) - PLASMA de LAPIN





RESULTATS - DISCUSSIONS

II. 1. Résultats

II. 1.1. Résultats du dosage de l'activité cholinestérasique

Pour les trois éléments auxquels nous nous sommes intéressés à savoir le sang total - le plasma - les érythrocytes. les résultats sont consignés dans les tableaux 7 - 8 - 9 respectivement. Les résultats sont donnés en tenant compte de l'animal et des trois périodes du protocole d'intoxication qui sont :

- \* la période pré-intoxication ;
- \* la période d'intoxication ;
- \* la période post-intoxication.

Pour chaque échantillon on a effectué deux dosages. C'est la moyenne des valeurs obtenues qui figure au niveau des tableaux.

II. 1.2. Résultats du dosage des lipoprotéines

Ils concernent les deux paramètres étudiés que sont :

- HDL cholestérol ;
- LDL cholestérol .

Voir les tableaux 13 et 14.

II. 1.3. Etude comparée de l'évolution des paramètres lipoprotéiques et de l'activité cholinestérasique en fonction des trois périodes du protocole d'intoxication .

Voir tableau 17.

II. 2. Discussions

II. 2.1. Du choix des animaux

Cette étude rentre dans les préoccupations du Département de Pharmacie-Toxicologie de l'Ecole qui a déjà travaillé sur les ruminants, l'homme et les chiens. Les présents résultats permettront des comparaisons avec les lapins, animaux de choix pour les expérimentations de laboratoire. ./...

## II. 2.2. De la conduite des expériences

- On pourrait penser que le nombre des animaux est faible. Mais cet handicap n'est pas majeur parce que finalement chaque animal est son propre témoin.

- Nous avons perdu quelques animaux en cours d'expérience. De 9 au départ, nous avons terminé avec 6 lapins.

## II. 2.3. Des résultats

### II. 2.3.1. De l'activité cholinestérasique

les valeurs de l'activité cholinestérasique obtenues seront discutées en prenant en compte chacun des éléments dosés à savoir : le sang total, le plasma, les érythrocytes, et les périodes du protocole d'intoxication.

#### II. 2.3.1.1. Sang total

##### a/ Période pré-intoxication

Le tableau 7 montre que la valeur moyenne de l'activité cholinestérasique pendant cette période (période de référence) est de 1,97  $\mu\text{mole/mm/ml}$ . En dehors d'un seul animal qui est à 2,71, on peut considérer que les valeurs individuelles vont de 1,50 à 2,03.

##### b/ Période d'intoxication

Nous notons une baisse de l'activité cholinestérasique au niveau de tous les animaux et durant toute cette période. Cette chute commence dès le premier jour qui suit l'intoxication. Nous avons le minimum d'activité, c'est à dire 41,62 p. 100 situé au milieu de cette période. (tableau 10). Ce qui correspond à une inhibition de 58,38 p. 100.

##### c/ Période post-intoxication

L'activité cholinestérasique amorce une croissance notable durant cette période. La figure 3 montre que la courbe remonte à partir du 10 Janvier pour subir une légère baisse le 27 Janvier.

Cette diminution est sans grande influence, car absente aussi bien au niveau du plasma, que des érythrocytes. Le recouvrement de l'activité cholinestérasique n'est total à la fin des expériences que pour l'animal N° 3. L'activité cholinestérasique du sang total subit plus de variations en fonction des paramètres du sang (hématocrite par exemple) et constitue un mauvais indicateur.

./...

II. 2.3.1.2. Plasma

a/ Période pré-intoxication

Le tableau 8 montre que l'activité cholinestérasique varie de 0,77 à 1,01  $\mu$ -mole/mm/ml et que la valeur moyenne est de 0,86  $\mu$ -mole/mm/ml. Cette activité est plus faible que celle du sang total.

b/ Période d'intoxication

Nous constatons une baisse généralisée de l'activité durant toute cette période. Comme pour le sang total, le taux minimum d'activité est observé au milieu de cette période. La figure 4 visualise cette situation. Nous avons 40,69 p. 100 d'activité par rapport à la référence, soit un taux d'inhibition de 59,31 p. 100 (tableau 11).

c/ Période post-intoxication

La figure 4 nous montre qu'une croissance nette s'amorce à la fin de l'intoxication pour atteindre son maximum 98,83 p. 100 au milieu de cette période.

A la fin de cette période, le recouvrement n'est total que pour les animaux 1 et 2.

II. 2.3.1.3. Les érythrocytes

a/ Période pré-intoxication

Le tableau 9 montre que la valeur moyenne de l'activité cholinestérasique pendant cette période est de 1,91  $\mu$ -mole/mm/ml.

Les valeurs de l'activité pour les 6 lapins vont de 1,56 à 2,66.

L'activité cholinestérasique érythrocytaire est plus forte que l'activité plasmatique. Chez le lapin, l'activité cholinestérasique est érythrocytaire.

b/ Période d'intoxication

Autant que pour le sang total et le plasma, nous notons une baisse d'activité généralisée. La valeur moyenne de la période pré-intoxication qui est de 1,91 passe au milieu de la période d'intoxication à 0,78 soit si nous regardons le tableau 12 des pourcentages, un passage de 100 p. 100 d'activité à 40,83 p. 100 soit une inhibition de 59,17 p. 100. La figure 5 nous montre ce phénomène par un minimum situé au 02 Janvier.

./...

c / Période post-intoxication

Le recouvrement de l'activité commence dès l'arrêt de l'intoxication si nous considérons les pourcentages du tableau 12, 45,54 p. 100 (dernier prélèvement de la période d'intoxication) et 49,21 p. 100 (premier prélèvement de la période post-intoxication). Cette phase de croissance continue jusqu'au dernier jour où le recouvrement tend vers la totalité, c'est à dire 100 p. 100. Nous avons 94,76 p. 100 de moyenne.

En résumé, le FENITROTHION (IOP) administré par la voie per-cutanée chez le lapin à la dose de 65 mg/Kg/j pendant une semaine entraîne une forte dépression de l'activité cholinestérasique, aussi bien au niveau du sang total, du plasma, que des érythrocytes.

Cette inhibition atteint respectivement 58,38 p. 100 ; 59,31 p. 100 ; 59,17 p. 100 de l'activité initiale.

II. 2.3.1.4. Confrontation avec les résultats bibliographiques

Nos résultats obtenus avec le plasma peuvent être comparés à ceux d'EZIN (14) qui a travaillé chez le chien avec le même élément.

Cet auteur note qu'avec le FENITROTHION utilisé par la voie per-cutanée à la dose de 130 mg/Kg/j pendant 7 jours chez le chien, la dépression de l'activité cholinestérasique est rapide. Ce qui est en conformité avec nos données, même si nous avons utilisé la moitié de cette dose.

Cependant, à la fin de nos expériences, le taux de recouvrement moyen obtenu (91,86 p. 100) est inférieur à celui d'EZIN (107,6 p. 100).

L'interprétation qu'il faut donner à ce résultat, hormis la différence de sensibilité liée à l'espèce est que l'activité cholinestérasique est plasmatique et érythrocytaire chez le chien tandis qu'elle est surtout érythrocytaire chez le lapin.

Cette thèse est toutefois à nuancer d'autant qu'avec le sang total et les érythrocytes, le recouvrement moyen est aussi incomplet. La raison que nous pouvons évoquer est que le recouvrement est lent, une fois l'activité cholinestérasique déprimée au niveau des hématies.

Un autre auteur SIDO (35) qui a travaillé chez les ovins et dans les mêmes conditions que les nôtres a noté une dépression très lente et un recouvrement lent de l'activité. Chez les ovins, l'activité est exclusivement érythrocytaire.

Sur le plan clinique, nos résultats ne concordent pas. Nous avons eu des morts. Bien entendu, les lapins sont une espèce très sensible. La dose que nous avons utilisée est le 1/10 de la DL 50 souris par la voie per-cutanée

### II. 2.3.2. Des lipoprotéines

Le dosage des HDL cholestérol et LDL cholestérol a donné les taux figurant aux tableaux 13 et 14.

#### Valeurs moyennes

HDL cholestérol :  $0,27 \pm 0,09$  (g/l)

LDL cholestérol :  $0,44 \pm 0,07$  (g/l)

La littérature nous fournit peu de données relatives à ces éléments. Nous trouvons généralement le taux du cholestérol total ou celui des fractions lipoprotéiques dans leur globalité, c'est à dire les taux de VLDL - LDL - HDL - chylomicrons.

Toutefois, LACOMBE et NIBBELINK<sup>(23)</sup> ont trouvé chez le lapin, des valeurs presque identiques aux nôtres.

HDL cholestérol : 0,24 g/l

LDL cholestérol : 0,31 g/l.

De plus, le taux du cholestérol total est généralement supérieur chez toutes les espèces aux taux des HDL et LDL cholestérol.

#### EZIN (14) travaillant chez le chien

cholestérol total 2,33 g/l

HDL cholestérol 1,45 g/l

LDL cholestérol 1,93 g/l

#### Chez l'homme

cholestérol total 1,4 - 2,7 g/l

HDL cholestérol 0,41 - 0,75 g/l

LDL cholestérol 1,80 - 1,88 g/l.

Chez le lapin, le taux de cholestérol total peut atteindre 0,8 g/l. Ce qui est supérieur à ceux des LDL et HDL cholestérol qu'on a trouvés.

Compte tenu de ce qui précède, nous pouvons considérer nos résultats comme fiables. Ce qui nous permet d'aborder la troisième partie de la discussion des résultats.

./...

II. 2.3.3. Comparaison des fluctuations de l'activité cholinestérasique et des taux lipoprotéiques

L'examen du tableau 17 montre que :

les valeurs de l'activité cholinestérasique comme nous l'avons déjà vu, subissent une dépression pendant la phase d'intoxication pour ensuite tendre vers leur taux initial à l'arrêt du protocole d'intoxication.

Les LDL cholestérol varient dans le même sens que l'activité cholinestérasique comme le montre la figure 6. Seulement la phase de dépression des LDL cholestérol est plus longue, car elle continue après l'arrêt des intoxications. La phase de recouvrement ne commence que le 22 Janvier, alors que pour l'activité cholinestérasique, elle débute une semaine avant (14 Janvier).

Ce tableau 16 nous montre que la dépression des LDL cholestérol peut atteindre 52,27 p. 100 de la valeur initiale. Les HDL cholestérol évoluent en sens inverse de l'activité cholinestérasique et des LDL cholestérol. Ils augmentent lors de la phase d'intoxication, et peuvent atteindre un taux de 162,96 p. 100. Ceci est mentionné dans le tableau 15.

La figure 7 visualise un pic qui est atteint à la fin de la phase d'intoxication.

Au terme de cette analyse comparée des fluctuations de l'activité cholinestérasique et des taux lipoprotéiques lors d'une intoxication au FENITROTHION (IOP) chez le lapin, il ressort que la dépression de l'activité cholinestérasique s'accompagne de celle du taux des LDL cholestérol, tandis que les HDL cholestérol subissent une augmentation.

Ces résultats sont en contradiction avec ceux obtenus par EZIN (14) qui a travaillé chez le chien et avec ceux de HOUETO (19) qui a étudié la même chose chez l'homme. Mais ils sont en conformité avec les conclusions de REIJO (31) qui comme nous a travaillé chez le lapin.

Par conséquent, l'existence d'une inter-relation entre les cholinestérasiques et les lipoprotéines peut être considérée comme existante chez les lapins.

## C O N C L U S I O N

L'amélioration des moyens de diagnostic lors d'intoxication par les insecticides organophosphorés (IOP) demeure depuis quelques temps, l'une des préoccupations principales du laboratoire du Département de Pharmacie-Toxicologie de l'Ecole.

Ainsi, des paramètres biologiques tels que les lipoprotéines sont utilisés en vue de disposer d'autres outils de diagnostic en dehors de la mesure de l'activité cholinestérasique.

Pour ce faire, les résultats des travaux de certains auteurs nous serviront de support. Il s'agit notamment :

\* CHU et collaborateurs (6) selon lesquels, l'activité des pseudo-cholinestérasas augmenterait proportionnellement à celle des triglycérides et du cholestérol :

\* LAWRENCE et MELNICK (24) qui ont montré que les pseudocholinestérasas s'associeraient quelquefois aux lipides et lipoprotéines pour former un complexe ;

\* REIJO et collaborateurs (31) selon lesquels la dépression de l'activité cholinestérasique s'accompagnait de celle des taux de cholestérol et de LDL chez des lapins intoxiqués au dichlorvos.

Ils ont noté également une remontée de ces paramètres dès l'arrêt du processus d'intoxication.

C'est dans ce contexte d'étude des rapports existant entre les cholinestérasas et pseudocholinestérasas et les lipoprotéines que se situent nos travaux.

Nous avons d'abord déterminé les valeurs de référence :

\* Pour l'activité cholinestérasique en  $\mu$ mole de substrat hydrolysé/mu

- sang total	1,97 $\pm$ 0,42
- plasma	0,86 $\pm$ 0,08
- érythrocytes	1,91 $\pm$ 0,41

\* Pour les lipoprotéines en g/l

- HDL cholestérol	0,27 $\pm$ 0,09
- ldl cholestérol	0,44 $\pm$ 0,07

Nous avons administré par la suite, du FENITROTHION (IOP) à la dose de 65 mg/Kg/j pendant une semaine par la voie per-cutanée à des lapins. Puis, nous nous sommes intéressés à l'examen des différents paramètres précités pendant et après l'intoxication.

Pendant l'intoxication, l'activité cholinestérasique est inhibée à tous les niveaux étudiés qui sont : le sang total, le plasma, les érythrocytes. Cette inhibition atteint respectivement 58,38 p. 100 ; 59,31 p. 100 ; 59,17 p. 100 de l'activité initiale.

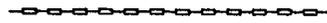
Quant aux paramètres lipoprotéiques, nous observons une baisse considérable des LDL cholestérol pouvant atteindre 52,27 p. 100 de la valeur initiale. Les HDL cholestérol augmentent. Augmentation pouvant atteindre 62,96 p. 100.

Après l'intoxication, nous constatons que l'activité cholinestérasique tend vers son taux initial de même que les paramètres lipoprotéiques. C'est dire que les phénomènes observés sont réversibles.

En définitive, l'administration du FENITROTHION (IOP) par la voie per-cutanée à la dose de 65 mg/ Kg/j pendant une semaine à des lapins, entraîne une inhibition des cholinestérases et pseudocholinestérases. Les LDL cholestérol diminuent parallèlement à l'activité cholinestérasique, quant aux HDL cholestérol, ils évoluent en sens inverse.

Voir ce travail s'améliorer est notre souhait. C'est dans ce sens que nous suggérons sa poursuite qui prendrait en compte les constituants lipidiques.

B I B L I O G R A P H I E



**1. ANDERSON ET MACHIN (A.F.)**

The organophosphorus warble fly dressings : some aspects of their toxicity to cattle including the antidote.  
Vet. Rev, 1969, 85, 484.

**2. BELLON (P)**

Résistance aux insecticides des arthropodes importants en médecine humaine et vétérinaire.  
Thèse Méd. Vét. Toulouse, 1972, N° 34.

**3. BROWN (M.S.) KOVANEN (P.T.) ET GOLDSTEIN (J.L.)**

Regulation of plasma cholesterol by lipoprotein receptors  
Science 1981, 212, 628 - 635.

**4. CECILE (J) ET FOURNEL**

Prévention des intoxications par les produits organophosphorés  
Bull. Acad. Nat. Red. 1964, 11-12 ; 198 - 201.

**5. CHAPMAN (M.J.)**

Animal lipoproteins : chemistry, structure and comparative aspect  
J. lipid. res. 1980, 21, 789 - 853.

**6. 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.

**7. CISSE (B.S.)**

Lutte chimique contre le quélea (mange-mil) en Afrique de l'Ouest.  
Thèse pharm. Dakar 1981, N° 16.

**8. DRUMOND (R.O.)**

Destruction des larves d'Oestrus ovis par les insecticides systémiques.  
Journal of parasitology 1962, 48, 211 - 214.

**9. DUBBS (C.A.)**

Ultrasonic effects on isoenzymes  
Clin. Chim. Acta, 1966, 12, 181 - 186.

**10. EISENBERG (S)**

Very low density in lipoprotein metabolism  
Prog. Biochem. Pharmacol, 1979, 15, 139 - 165.

**11. EISENBERG (S) ET LEVY (R.I.)**

Lipoprotein metabolism  
Adv. Lipid. Res. 1975, 13, 1 - 89.

**12. ELLMAN (G.L.)**

A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity  
Biochemical pharmacology 1961, 7, 88 - 95.

**13. ETO (M)**

Organophosphorus pesticides organic and biological chemistry  
CRC Press, Cleveland, Ohio, USA 1974.

**14. EZIN (A)**

Relation entre cholinestérases et lipoprotéines durant les intoxications  
par le FENITROTHION (IOP) chez le chien.  
Thèse Méd. Vét. Dakar, 1990, N° 9

**15. FALCY (J.C.)**

Mesure de l'activité cholinestérasique chez les ruminants  
Application au diagnostic de l'intoxication par les insecticides organophosphorés.  
Thèse Méd. Vét. Lyon. 1969, N° 22.

**16. FEATHERSTONE (R.M.)**

A guide to molecular pharmacology toxicology. Part I  
Marcell DECKER INC. NEW YORK 1973

**17. FIELDING (C.J.) ET HAVEL (R.J.)**

Lipoprotéine lipase  
Arch. Pathol. Lab. Med. 1977, 101, 225 - 229.

**18. GREEN (P.H.R.) ET GUCKMAN (R.M.)**

Intestinal Lipoprotein Metabolism  
J. Lipid. Res. 1981, 22, 1153 - 1173.

**19. HOUE TO (P.E.T.)**

Etude des cholinestérases et du métabolisme lipoprotéique chez les applicateurs de pesticides au Sénégal.

Thèse pharm. Dakar, 1990, N° 26

**20. KECK (G)**

Toxicologie des insecticides organophosphorés

Notes de toxicologie vétérinaire du C.N.I.T.V., 1980, 7, 375 - 396

**21. KUFFY (K.M.) ET ACHARAYA (C.D.)**

serum cholinesterase and lipoproteins : a possible relationship

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

**22. KUFFY (K.M.), ROWSEN (G) ET COW (A.R.)**

Inter relationship between serum Blipoprotein and Cholinesterase

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

**23. LACOMBE (C) ET NIBBELINK (M)**

Influence de l'insuline sur l'hyperlipoprotéinémie induite par un régime semi-synthétique riche en graisses saturées chez le lapin.

Diabète- Métabolisme, 1983, 9, 35 - 41.

**24. LAWRENCE (S.H.) ET MELNICK (P.J.)**

Enzymatic activity related to human betalipoprotein, histochemical, immuno-electrophoretic and quantitative studies.

Soc. Exp. Bid. Med. 1961, 107, 998 - 1001.

**25. LORGUE (G), DELATOUR (P)**

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

Rev. de Méd. Vét. 1973, 124, 1211 - 1218

**26. MICHEL (H.O.)**

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

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

**27. NICOLL (A), MILLER (N.E.) ET LEWIS (B)**

High density lipoprotein metabolism

Adv. Lip. Res., 1980, 17, 53 - 106.

**28. NILSSON - EILE (P), GARFINKEL (A.S.) ET SQUOIS (M.C.)**

Lipolytic enzymes and plasma lipoproteins metabolism.

Ann. Rev. Biochem. 1980, 49, 667 - 693.

**29. PARE (M)**

L'utilisation actuelle des pesticides au Burkina Faso

Thèse Méd. Rev. Vét. Dakar 1985 N° 11

**30. PITMAN (R.C.), ATTLIE (A.D.), CAREW (T.E.) ET STEINBERG (A)**

Tissues sites of degradation of low density lipoprotein

Application of a method for determining the fate of plasma

Proc. Natl. Acad. Sci. 1979, 76, 5345 - 5349.

**31. REIJO RYHANEN, JARI HERRANEN, KALLE KORHONEN, JIRKA PENTILLA,  
MAARIT POLVILAMPI ET EINO PUUKAINEN**

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

Int. J. Biochem. 1984, 16, 687 - 690.

**32. RIGOLE (B.E.J.)**

L'intoxication des animaux domestiques par les insecticides organophosphorés

Thèse Méd. Vét. Toulouse 1960, N° 16.

**33. SCANU (A.M.), BYRNE (R.E.) ET MIHOVILOVIC (M)**

Functional Roles of plasma high density lipoproteins

Crit. Rev. Biochem, 1982, 13, 109 - 140.

**34. SCHMITZ (G) ET ASSMAN (G)**

Isolation of human serum HDL<sub>1</sub> by zonal ultra centrifugation

J. Lipid. 1982, 23, 903 - 910.

**35. 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

**36. SMITH (L.C.) ET SCOW (R.O.)**

Chylomicrons. Mecanism of transfer of lipolytic products to cells

Prog. Biochem. Pharmacol, 1979, 15 - 109 - 139

**37. STUART (L.O.) ET OEHME (F.W.)**

Organophosphorus delayed neurotoxicity  
A neuromyelopathy of animals and men  
Vét. Hum. Toxicology, 1982, 24, 107 - 115.

**38. TERPSTRA (A.H.M.) ET SANCHEZ MUNIZ (F.J.)**

Time of the development of hypercholesterolemia in rabbits fed semi-purified  
diets containing casein or soy bean protein  
Atherosclerosis, 1981, 39, 217 - 227.

**39. TERPSTRA (A.H.M.), SANCHEZ-MUNIZ (F.J.), WEST (C.E.) ET WOODWARD (J.A.C.)**

The density profile and cholesterol concentration of serum lipoproteins in  
domestic and laboratory animals.  
Comp. Biochem. Physical, P.T.B., 1982, 71, 669 - 674.

**40. VINCENT (D) ET SEGONZAC (G)**

Méthode pratique de dosage simultané des cholinestérases plasmatique et globu-  
laires dans le sang total.  
Ann. Biol. Clin. 1965, 23, 353.

**41. YOUNGER (R.C.) ET WRIGHT (F.C.)**

Acute coumaphos toxicosis in cattle : antidotal therapy with pralidoxime  
chloride and atropine and related alteration of blood and serum enzymatic  
activities  
Am. J. Vet. Res. 1974, 32, 1053.

## SERMENT DES VETERINAIRES DIPLOMES DE DAKAR



Fidèlement attaché aux directives de CLAUDE BOURGELAT, 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 toutes circonstances, les principes de correction et de droiture fixés par le code de déontologie 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 ADVIENNE QUE JE 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 DE L'ASSEMBLEE DE  
L'UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR**