

UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP - DAKAR

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

ANNEE 1987

N° 8



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

**MESURE DE L'ACTIVITE CHOLINESTERASIQUE  
CHEZ LES RUMINANTS  
APPLICATION AU DIAGNOSTIC DE L'INTOXICATION  
PAR LES INSECTICIDES ORGANOPHOSPHORES**

THESE

présentée et soutenue le 1<sup>er</sup> juillet 1987  
devant la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Dakar  
pour obtenir le grade de DOCTEUR VETERINAIRE  
(DIPLOME D'ETAT)

par

SIDO Souley

né en 1955 à KOYGOLO (NIGER)

- Président du Jury : Monsieur François DIENG,  
Professeur à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Dakar
- Rapporteur : Monsieur Alassane SERE,  
Professeur à l'E.I.S.M.V. de Dakar
- Membres : Monsieur Charles Kondi AGBA,  
Professeur Agrégé à l'E.I.S.M.V. de Dakar  
Monsieur Mamadou BADIANE,  
Professeur Agrégé à la Faculté de Médecine  
et de Pharmacie de Dakar
- Directeur de Thèse : Monsieur François Adébayo ABIOLA,  
Maître-Assistant à l'E.I.S.M.V. de Dakar

LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT

=====

POUR L'ANNEE UNIVERSITAIRE 1986 - 1987.

- PERSONNEL A PLEIN TEMPS

1. Anatomie-Histologie-Embryologie

Charles Kondi AGBA ----- Maître de Conférences  
Jean-Marie Vianney AKAYEZU----- Assistant  
Idrissa MOUSSA ----- Moniteur \*

2. Chirurgie-Reproduction

Papa El Hassan DIOP ----- Maître-Assistant  
Franck ALLAIRE ----- Assistant

3. Economie-Gestion

N.----- Professeur

4. Hygiène et Industrie des Derrées Alimentaires d'Origine Animale (HIDAQA)

Malang SEYDI ----- Maître-Assistant  
Serge LAPLANCHE ----- Assistant  
Ibrahima BANGANA ----- Moniteur

5. Microbiologie-Immunologie-Pathologie-Infectieuse

Justin Ayayi AKAKPO ----- Maître de Conférences  
Pierre SARRADIN ----- Assistant  
Pierre BORNAREL ----- Assistant de Recherches  
Soumaïla SINA ----- Moniteur \*

6. Parasitologie-Maladies Parasitaire-Zoologie

Louis Joseph PANGUI ----- Maître-Assistant  
Jean BELOT ----- Assistant  
Soumaïla SINA ----- Moniteur \*

7. Pathologie Médicale-Anatomie Pathologie et Clinique Ambulante

Théodore ALOGNINOUBA ----- Maître-Assistant  
Roger PARENT ----- Maître-Assistant  
Jacques GODEFROID ----- Assistant  
Idrissa MOUSSA ----- Moniteur \*

8. Pharmacie-Toxicologie

François Adébayo ABIOLA ----- Maître-Assistant  
Souley SIDO ----- Moniteur \*

9. Physiologie-Thérapeutique-Pharmacodynamie

Alassane SERE ----- Professeur  
Moussa ASSANE ----- Maître-Assistant  
Adam Yacoubou TOURE IDRISOU ----- Moniteur

10. Physique et Chimie Biologiques et Médicales

Germain Jérôme SAWADOGO ----- Maître-Assistant  
Souley SIDO ----- Moniteur \*

11. Zootechne - Alimentation

Ahmadou Lamine NDIAYE ----- Professeur  
Kodjo Pierre ABASSA ----- Chargé d'enseignement

Certificat Préparatoire aux Etudes Vétérinaires (CPEV)

Charles BONOU ----- Moniteur.

II - PERSONNEL VACATAIRE

Biophysique

René NDOYE ----- Professeur  
Faculté de Médecine  
et de Pharmacie  
UNIVERSITE Ch. A. DIOP

Mme Jacqueline PIQUET ----- Chargée d'enseignement  
Faculté de Médecine  
et de Pharmacie  
UNIVERSITE Ch. A. DIOP

Alain LECOMTE ----- Maître-Assistant  
Faculté de Médecine  
et de Pharmacie  
UNIVERSITE Ch. A. DIOP

Mme Sylvie GASSAMA ----- Maître-Assistante  
Faculté de Médecine  
et de Pharmacie  
UNIVERSITE Ch. A. DIOP

Botanique

Antoine NONGONIERMA ----- Professeur  
IFAN-Institut C. A. DIOP  
UNIVERSITE Ch.A. DIOP  
DAKAR

Agro-pédologie

P. Léopold SARR ----- Docteur ingénieur  
LNERV - HANN - DAKAR

---

\* Moniteurs affectés à edeux départements

Economie générale

Oumar BERTE -----

Maître-Assistant  
Faculté des Sciences  
Juridiques et Economiques  
Université Ch. A. DIOP  
DAKAR

Physiologie

Mamadou CISSE-----

Docteur d'Etat en Economie  
Physiologie Animale  
Faculté des Sciences  
Université Ch. A. DIOP  
DAKAR

Agrostologie

André GASTON -----

Docteur ès-Sciences  
LNERV - HANN - DAKAR

I - PERSONNEL EN MISSION (prévu pour 1986-1987)

Pathologie Médicale des Equidés et Carnivores

M. BIENFET -----

Professeur  
Ecole Vétérinaire  
de Curghem  
BRUXELLES

Parasitologie

Ph. DORCHIES -----

Professeur  
Ecole Nationale  
Vétérinaire  
TOULOUSE

S. GEERTS -----

Ph. D  
Institut de Médecine  
Tropicale  
ANVERS

Pathologie Bovine-Pathologie Aviaire et Porcine

J. LECOANET -----

Professeur  
Ecole Nationale  
Vétérinaire  
Nantes

Pharmacodynamie Générale et Spéciale

L. TOUTAIN -----

Professeur  
Ecole Nationale  
Vétérinaire  
TOULOUSE

pharmacie-Toxicologie

L. EL BAHRI -----

Maître de Conférences  
Agrégé  
E.N.V Sidi THABET  
TUNISIE

Zootchnie-Alimentation

R. PARIGI-BINI -----

Professeur  
Université de Padoue  
ITALIE

Pathologie Médicale

L. POZZI -----

Professeur  
Université de TURIN  
ITALIE

R . GUZZINATI -----

Technicien de laboratoire  
Université de Padoue  
ITALIE

Y. E. AMEGEE -----

Maître-Assistant  
Ecole d'Agronomie  
Université du Bénin  
TOGO

Sociologie Rurale

Dr GNARI KENKOU -----

Maître-Assistant  
Université du Bénin

Reproduction

Dr A. YENIKOYE -----

Maître de Confér. Agrégé  
Faculté d'Agronomie  
UNIVERSITE DE NIAMEY

JE

DEDIE

CE

TRAVAIL

- Au peuple Nigérien envers qui je suis fort redevable

- A mon père et à ma mère

Acceptez ce modeste travail comme un témoignage de mon affection filiale et de ma reconnaissance éternelle pour toutes les privations et les sacrifices que vous avez consentis.

- A mes oncles et tantes

Pour toute l'affection que vous portez en moi parfaite reconnaissance et attachement indéfectible,

- A mes grand - parents : "in memorium".

- A mes frères et soeurs :

J'ai vécu très peu auprès de vous mais vous êtes tout mon univers. Que ce modeste travail vous incite à mieux faire et qu'il soit pour vous un faible témoignage de l'affection de votre grand-frère.

- A mes cousins, cousines, neveux, nièces.

Pour l'unité de la famille.

- A mon ami Foulna GILBERT

Pour que notre amitié se traduise par une coopération étroite entre nos deux pays.

- A Mlle Ousseina A. DIALLO

Puisse ce travail consolider nos liens.

./.

- A Mr Salifou Boubacar Doro et Famille  
Avec vous j'ai vécu des moments inoubliables  
d'une vie familiale chaleureuse à DAKAR. Que  
ce travail vous apporte le faible témoignage  
de ma profonde affection.
  
- A Mr Sidikou Oumarou et Famille  
Profonde gratitude
  
- Aux Familles :  
Hamani, Berté, Doudou, Cissé, Kandine, Djibo,  
Moussa, Tchernaka.  
Tous mes remerciements.
  
- Au Docteur Sina Soumaïla et Famille  
Témoignage des années passées ensemble à DAKAR.  
Puisse ce travail consolider nos liens amicaux.
  
- Aux Docteurs Idrissa Moussa et Bangana Ibrahima.  
En souvenir des durs moments passés ensemble :
  
- A tous les Etudiants Nigériens à DAKAR  
Pour une solidarité efficace et prospère
  
- A tous mes promotionnaires :  
Pour les années passées ensemble.
  
- A tous les Vétérinaires Nigériens  
Pour une collaboration saine
  
- A tous ceux qui m'ont permis de réaliser ce travail.
  
- Au Pays Hôte : LE SENEGAL.



- A MONSIEUR LE PROFESSEUR MAMADOU BADIANE

Vous avez accepté avec plaisir et spontanéité de faire partie de notre jury de thèse. Trouvez-ici l'expression de notre profonde gratitude.

- A MONSIEUR ADEBAYO FRANCOIS ABIOLA

Vous nous avez inspiré ce sujet de thèse. Vos conseils de maître averti et rompu au travail bien fait, votre disponibilité sans limites ont été d'un précieux concours dans l'élaboration de ce travail. Profonde gratitude.

|   |    |
|---|----|
| <u>INTRODUCTION</u> .....   | 1  |
| <u>PREMIERE PARTIE : GENERALITES SUR LES INSECTICIDES ORGANOPHOSPHORES</u><br>===== | 3  |
| <u>CHAPITRE I : CARACTERES GENERAUX DES INSECTICIDES ORGANOPHOSPHORES</u>           | 4  |
| I.1 - Structure et propriétés physico-chimiques .....                               | 4  |
| I.1.1 - Structure .....   | 4  |
| I.1.2 - Classification des insecticides organophosphorés                            | 4  |
| I.1.2.1 - Les phosphates .....  | 6  |
| I.1.2.2 - Les thionophosphates ou phosphorothioates .....                           | 7  |
| I.1.2.3 - Les thionothiophosphates ou phosphorodithioates ...                       | 8  |
| I.1.3 - Les propriétés physico-chimiques des insecticides<br>organophosphorés ..... | 9  |
| I.1.3.1 - Les propriétés physiques .....  | 9  |
| I.1.3.2 - Les propriétés chimiques .....  | 9  |
| I.1.3.2.1 - L'hydrolyse .....   | 10 |
| I.1.3.2.2 - Les propriétés alkylantes .....   | 10 |
| I.1.3.2.3 - L'isomérisation des composés organophosphorés .....                     | 10 |
| <u>CHAPITRE II : USAGES DES INSECTICIDES ORGANOPHOSPHORES</u>                       | 12 |
| II.1 - Usages thérapeutiques .....  | 12 |
| II.1.1 - Traitement antiparasitaire externe .....                                   | 12 |
| II.1.2 - Traitement des différentes myiases .....                                   | 12 |
| II.1.3 - Traitement des helminthoses .....  | 13 |
| II.2 - Usages agricoles .....   | 13 |
| II.3 - Usages sanitaires .....  | 14 |
| <u>CHAPITRE III : INTOXICATION CHEZ LES ANIMAUX</u>                                 | 15 |
| III.1 - La toxicocinétique .....  | 15 |
| III.1.1 - Les voies d'absorption .....  | 15 |
| III.1.1.1 - La voie digestive .....   | 15 |
| III.1.1.2 - Le contact cutané .....   | 15 |

|              |   |    |
|--------------|---|----|
| III.1.2      | - Transport et distribution tissulaire .....  | 16 |
| III.1.2.1    | - Le transport des insecticides organo-<br>phosphorés dans l'organisme .....                  | 16 |
| III.1.2.2    | - La distribution des insecticides<br>organophosphorés. ....                                  | 16 |
| III.1.3      | - Les réactions de biotransformation des<br>insecticides organophosphorés .....               | 17 |
| III.1.3.1    | - Les réactions d'oxydation .....   | 17 |
| III.1.3.2    | - Les réactions d'hydrolyse .....   | 18 |
| III.1.3.3    | - Les réactions de conjugaison.....   | 18 |
| III.1.3.4.   | - Les variations en fonction des composés<br>organophosphorés .....                           | 18 |
| III.1.3.5    | - Les variations en fonction des espèces animales   | 19 |
| III.1.4      | - L'élimination des insecticides<br>organophosphorés .....                                    | 19 |
| III.2        | - Etude toxicologique des insecticides<br>organophosphorés .....                              | 21 |
| III.2.1      | - Circonstances des intoxications .....   | 21 |
| III.2.1.1    | - Intoxication d'origine accidentelle .....   | 21 |
| III.2.1.2    | - Intoxication d'origine thérapeutique .....  | 22 |
| III.2.2      | - Toxicité et facteurs de variation de la toxicité<br>des insecticides organophosphorés. .... | 22 |
| III.2.2.1    | - Les facteurs tenant à l'animal .....  | 22 |
| III.2.2.1.1. | - L'espèce animale .....  | 23 |
| III.2.2.1.2  | - La race .....   | 23 |
| III.2.2.1.3. | - Le sexe .....   | 23 |
| III.2.2.1.4  | - L'âge de l'animal .....   | 24 |
| III.2.2.2.   | - Facteurs tenant à l'environnement .....   | 24 |
| III.2.3      | - Etude clinique des intoxications des insecticides<br>organophosphorés .....                 | 25 |
| III.2.3.1.   | - Le mécanisme d'action toxique des insecticides<br>organophosphorés .....                    | 25 |
| III.2.3.1.1  | - Les cholinestérases .....   | 25 |
| A/           | - LES CHOLINESTERASES VRAIES OU ACETYLCHOLINESTERASES   | 25 |
| B/           | - LES PSEUDOCHOLINESTERASES OU CHOLINESTERASES  | 26 |
|              | NON SPECIFIQUES .....   | 26 |

|             | <u>Pages</u>  |
|-------------|---|
| III.2.3.1.2 | - Mécanisme d'hydrolyse de l'acétylcholine<br>par l'acétylcholinestérase ..... 26       |
| III.2.3.1.3 | - Mécanisme d'inhibition de l'acétylcholinestérase<br>par les organophosphorés ..... 29 |
| III.2.3.2   | - Symptômes des intoxications ..... 31  |
| III.2.3.2.1 | - Symptômes des intoxications à court terme ..... 31                                    |
| A/          | - SYNDROME MUSCARINIQUE ..... 32  |
| B/          | - SYNDROME NICOTINIQUE ..... 32   |
| C/          | - LES TROUBLES DU SYSTEME NERVEUX CENTRAL ..... 32                                      |
| III.2.3.2.2 | - Symptômes de l'intoxication à long terme ou retardé ..... 33                          |
| A/          | - LES TROUBLES DE NEUROTOXICITE RETARDEE ..... 33                                       |
| B/          | - LA DERMATOSE ALLERGIQUE ..... 34  |
| C/          | - L'EMBRYOTOXICITE ..... 34   |
| III.2.4     | - Le diagnostic des intoxications par les insecticides<br>organophosphorés ..... 34     |
| III.2.4.1   | - Le diagnostic clinique et épidémiologique ..... 34                                    |
| III.2.4.2.  | - Le diagnostic nécropsique ..... 35  |
| III.2.4.3   | - Le diagnostic de laboratoire ..... 35   |
| III.2.4.3.1 | - Détermination de l'acétylcholine ..... 36   |
| III.2.4.3.2 | - Dosage de l'acide acétique libéré en un temps donné ..... 38                          |
| A/          | - METHODE TITRIMETRIQUE ..... 38  |
| B/          | - MESURE D'UN DEGAGEMENT GAZEUX ..... 39  |
| C/          | - DETERMINATION D'UN ABAISSEMENT DE PH ..... 40   |
| III.2.5     | - Traitement des intoxications par les insecticides<br>organophosphorés ..... 43        |
| III.2.5.1   | - Traitement spécifique ..... 43  |
| III.2.5.1   | - Traitement éliminatoire et symptomatique, ..... 44                                    |

**DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE** .....

**CHAPITRE I : LE MATERIEL D'ETUDE** .....

**I .1 - Les insecticides organophosphorés** .....

**I.1.1. - Le chlorpyrifos** .....

./.

|  |  |          |
|--|--|----------|
| I.1.2  | - Le fénitrothion .....  | 48       |
| I.2  | - Les solutions .....  | 48       |
| I.2.1  | - La solution de saponine .....                                      | 48       |
| I.2.2  | - La solution tampon .....   | 49       |
| I.2.3  | - La solution de substrat .....                                      | 49       |
| I.2.4  | - La solution de sérum physiologique .....                           | 49       |
| I.3  | - Le matériel de laboratoire .....                                   | 49       |
| I.4  | - Les animaux .....  | 50       |
| I.4.1  | - Les ovins .....  | 50       |
| I.4.1.1.   | - Caractéristiques des ovins .....                                   | 51       |
| I.4.1.1.1  | - Race Touabire .....  | 51       |
| I.4.1.1.2  | - Age des ovins .....  | 51       |
| I.4.1.1.3  | - Le poids des ovins .....   | 52       |
| I.4.1.1.4  | - Mode d'entretien des ovins .....                                   | 54       |
| I.4.2  | - Les bovins .....   | 54       |
| I.4.2.1  | - Caractéristiques et âge .....                                      | 54       |
| I.4.2.2  | - Alimentation .....   | 54       |
| <br><u>CHAPITRE II : METHODE D'ETUDE DE L'ACTIVITE CHOLINESTERASIQUE</u> |  | <br>55   |
| II.1   | - Le prélèvement du sang .....                                       | 55       |
| II.2   | - Préparation des hématies .....                                     | 55       |
| II.3   | - L'hémolyse des globules rouges .....                               | 55       |
| II.3.1   | - La pesée des échantillons .....                                    | 56       |
| II.3.2   | - L'hémolyse des hématies .....                                      | 56       |
| II.4   | - Le mode opératoire du titrage .....                                | 56       |
| II.4.1   | - Conditions requises pour le titrage .....                          | 57       |
| II.5   | - Protocole de l'intoxication des animaux ....                       | 58       |
| II.5.1   | - Doses de l'insecticide administrées .....                          | 58       |
| II.5.2   | - La voie d'administration .....                                     | 59       |
| II.5.3   | - Protocole des prélèvements du sang des<br>animaux intoxiqués. .... | 60<br>60 |
| II.6   | - Recherche du niveau de référence .....                             | 62       |
| <br><u>CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS</u>                       |  | <br>63   |
| III.1  | - Les résultats .....  | 63       |
| III.1.1  | - Les valeurs de référence .....                                     | 63       |

|                          |  |    |
|--------------------------|--|----|
| III.1.2.                 | - Résultats après traitement aux organophosphorés..... | 69 |
| III.2                    | -- Discussions.....                                    | 81 |
| CONCLUSION GENERALE..... |  | 83 |
| BIBLIOGRAPHIE.....       |  | 85 |

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

## I N T R O D U C T I O N

=====

L'augmentation du nombre des habitants du globe et de leurs besoins impose, une intensification de la production vivrière. Pour résoudre ce problème en matière d'agriculture, le producteur a augmenté les surfaces cultivées. De la même manière, il a fait appel à l'utilisation de fumures minérales et l'emploi de souches sélectionnées (souvent aux dépens de leur rusticité), Dans ce cadre, le paysan a augmenté au maximum la densité des populations végétales, préparant ainsi un terrain favorable au développement des phyto-parasites. Face à ce développement, il s'est avéré nécessaire d'entreprendre une lutte intensive et organisée contre les différents déprédateurs des cultures. La protection chimique des végétaux a constitué le thème principal de plusieurs conférences mondiales organisées sous l'égide de la FAO/OMS et des Nations-Unies. Nous citerons comme exemples :

- la conférence mondiale de l'environnement humain tenu à STOCKHOLM en 1973,
- la conférence mondiale des populations tenue à BUCAREST en 1974,
- la conférence mondiale de l'alimentation tenue à ROME en 1974.

La résolution de la conférence de ROME, souligne très clairement l'importance de la protection des plantes pour l'approvisionnement mondial en denrées alimentaires. Parmi les insecticides actuellement utilisés, les insecticides organophosphorés occupent une place de choix. Néanmoins, l'utilisation à grande échelle des insecticides organophosphorés pose des problèmes notamment, l'impact sur l'environnement et la protection des manipulateurs, fabricants et pulvérisateurs.

De part le monde, des cas d'accidents sont signalés. Le traitement de ces intoxications, pour être efficaces, demande un diagnostic précoce, maintenant possible grâce à des mises au point ./.

de méthodes de laboratoire. Les méthodes mises au point par de nombreux chercheurs sont pour la plupart basées sur le dosage des cholinestérasés sanguines.

Le but de notre travail est d'adapter une méthode, notamment la mesure de l'activité cholinestérasique aux conditions de travail du laboratoire de toxicologie à l'Ecole Inter-Etats des Sciences et Médecine Vétérinaires (EISMV).

- La première partie abordera des généralités sur les insecticides organophosphorés en insistant, après les propriétés physico-chimiques, sur le mécanisme d'action et la toxicité.
  
- La deuxième partie sera consacrée à l'appréciation de l'activité cholinestérasique chez les ruminants dans les "conditions physiologiques", et ensuite, après intoxication expérimentale par deux des insecticides organophosphorés les plus utilisés par les services de la protection des végétaux du Sénégal : le chlorpyrifos que nous avons utilisé par la voie per os, et le fénitrothion que nous avons utilisé par la voie per cutanée. Les intoxications expérimentales nous permettraient de voir s'il y a une relation entre la mesure des cholinestérasés avec notre méthode.

## PREMIERE PARTIE

### GÉNÉRALITÉS SUR LES INSECTICIDES ORGANOPHOSPHORÉS

Cette première partie de notre travail est subdivisée en trois chapitres :

- les caractères généraux des insecticides organophosphorés
- usages des insecticides organophosphorés
- intoxication chez les animaux.

# CHAPITRE I : CARACTERES GENERAUX DES INSECTICIDES

## ORGANOPHOSPHORES.

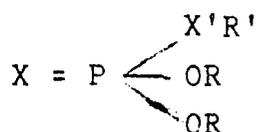
Ce chapitre abordera la nomenclature et les propriétés physico-chimiques des composés organophosphorés.

### I 1. STRUCTURE ET PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES

Depuis la préparation du pyrophosphate de tétraéthyle par MOSCHLIN en 1850, la chimie des composés organophosphorés n'a cessé de se développer, notamment avec MICHAELIS en Allemagne et ARBUZOV en URSS, in CISSE (7). C'est surtout après les travaux en 1934 du chimiste Allemand SCHRADER, que l'utilisation des esters phosphoriques comme insecticides a connu un grand essor.

#### I 1.1 - Structure

Les insecticides organophosphorés sont, du point de vue chimique, des esters ou des amides de l'acide orthophosphorique ( $H_3PO_4$ ). Leur structure générale est la suivante :



L'atome de phosphore pentavalent est directement lié à X qui est toujours, soit un atome de soufre ou un atome d'oxygène. X' est soit un atome d'oxygène ou de soufre. R et R' sont des radicaux organiques aliphatiques ou aromatiques. Cette structure nous permet d'établir une classification des insecticides organophosphorés.

#### I 1.2 - Classification des insecticides organophosphorés

Sur le plan chimique, nous pouvons regrouper les insecticides organophosphorés en trois classes principales comme nous le montre le tableau I.

TABLEAU N° 1 : LES PRINCIPALES CLASSES DES INSECTICIDES ORGANOPHOSPHORES

| DENOMINATION COMMUNE.                     | USAGE | NOM DEPOSE     | REMANENCE TEMPS DE DEGRADATION APPROXI. A 90 % | DL 50 RAT PER OS mg/kg | RUMINANTS DOSES MINIMUM TOXIQUE OU DOSE MINIMUM LETHALE (L.) | AUTRES ESPECES mg/kg | OISEAUX mg/kg | POISSONS mg/l | VOIE CUTANEE DL 50 RAT | TOXICITE CHRONIQUE C.M.S.E. |     |
|---|-------|----------------|--|------------------------|--|----------------------|---------------|---------------|------------------------|-----------------------------|-----|
| ORGANOPHOSPHORES                          |       |                |  |                        |  |                      |               |               |                        |                             |     |
| PHOSPHATES                                |       |                |  |                        |  |                      |               |               |                        |                             |     |
| Dichlorvos                                | V     | Vapona Atgard  | 2-5 j  | 25                     | 25   | 10                   | -             | 7-9           | 0,7                    | 59                          | 250 |
| Crotoxiphos                               | V     | Cyodrin, Vetac |  | 125                    |  |                      |               | 700           |                        | <300                        | 7   |
| Mevinphos                                 | P     | Phosdrin       | 3-7 j  | 3                      |  |                      |               | 1-4           | -                      | 3                           | 0,8 |
| Chlorphenvinphos                          | V     | Supona, Ectoc  | 15-30 j  | 12                     | 20   | 20                   | 712000 (CN)   |               |                        | 31                          |     |
| Phosphamidon                              | P     | Dimecron       | 15-30 j  | 15                     | 5  | 15                   |               | 2-3           | 8                      | 125                         | 2,5 |
| THIONOPHOSPHATES (Phosphothioates)        |       |                |  |                        |  |                      |               |               |                        |                             |     |
| Parathion                                 | P     |                | 15 j   | 3                      | 20 (L)   | 0,5                  | 3(CN)         | 2-5           | 0,4                    | 4                           | 1   |
| Coumaphos                                 | V     | Asuntol,, Cor  |  | 13                     | 25 (bov)   |                      |               | 30            |                        | 860                         | 5   |
| Fenthion                                  | V     | Tiguvon, Bay.  | 15-45 j  | 170                    | 25   |                      |               | 10-20         |                        | 275                         | 2   |
| Fenchlorphos                              | V     | Ectoral, Tro.  |  | 900                    | 125  | 125                  | 500(CN)       |               |                        | < 1000                      | 1   |
| Diazinon                                  | V     | -              | 15-30 j  | 66                     | 25   | 2,5                  |               | 3,5           | 0,0,3                  | 380                         | 1   |
| Chlorpyrifos                              | PP    | Dursban        | -  | 100                    | 500  | -                    | -             | 20-50         | -                      | < 2000                      | -   |
| Pirimifos ethyl                           | P     | -              | -  | 100-200                | -  | -                    | 25-50(CT)     | -             | -                      | 1000                        | -   |
| Pirimifos méth.                           |       |                |  | 1000                   | -  | -                    | 500(CT)       | 30-60         | -                      | 1000                        | -   |
| THIONOTHIOPHOSPHATE (Phosphorodithioates) |       |                |  |                        |  |                      |               |               |                        |                             |     |
| Malathion                                 | V     | Cythion, Zith  | 7-15 j   | 880                    | 100  | 20                   | -             | 400           | 0,02                   | 4000                        | 100 |
| Diméthoate                                | V     | Cygon, Dimetox | 15-30j   | 250                    | 15   | 5                    | -             | 40            | 9,5                    | 150                         | 5   |
| Carbophenothion                           | P     | Trithion       | 15-30j   | 6                      | 25   | -                    | -             | 120           | 0,2                    | 22                          | 5   |
| Azinphosméthyl                            | P     | Cusathion      | 15-30j   | 8                      | 25   | 0,5                  | -             | 75-100        | -                      | 220                         | -   |
| Phorate                                   | P     | Thinet         | -  | 1                      | 1  | 0,25                 | -             | 0,5-10        | -                      | 2                           | -   |
| Pholasone                                 | P     | -              | 15-30j   | 120                    | -  | -                    | -             | 290           | -                      | 390                         | -   |
| Temephos                                  | P     | Abate          | 60j  | 1000                   | -  | -                    | -             | -             | 1,5                    | > 1000                      | 2   |
| Phosphoramid.                             |       |                |  |                        |  |                      |               |               |                        |                             |     |
| Cruformate                                | V     | Ruélène        | -  | 660                    | 100  | 50                   | 15(PC)        | -             | -                      | -                           | 10  |
| Trichlorfon                               | V     | Néguvon, Var.  | 10-15j   | 450                    | 75-100   | 10                   | -             | -             | 0,16                   | 2800                        | 50  |

Source : Keck (17)

V = Usage vétérinaire

PC = Porc

P = Usage phytosanitaire

CV = Cheval

CN = Chien

ov = ovin

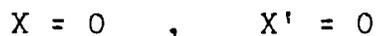
CT = Chat

bov = Bovin

C.M.S.E. = concentration maximale sans effet toxique au bout

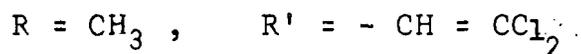
I<sub>1.2.1.</sub> - Les phosphates

Dans cette classe nous avons :

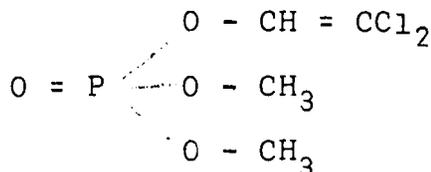


Comme exemples nous pouvons citer :

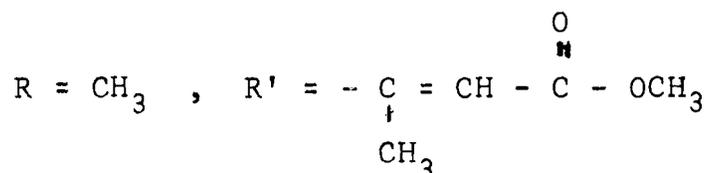
- le dichlorvos dans lequel



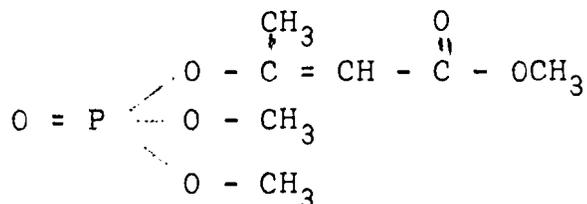
Cette structure lui confère le nom chimique de diméthyl-dichlorovinylphosphate.



- le mévinphos où nous avons



Cette structure conduit à la formule générale suivante



0,0 - diméthyl - 0 - (1 - carbométhoxy 1 propen - 2 yl)phosphate.

I<sub>1.2.2.</sub> - Les thionophosphates ou phosphorothioates

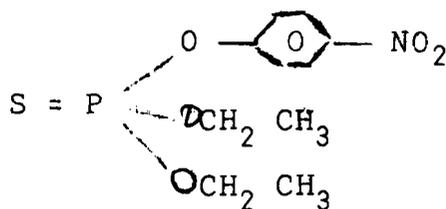
Dans cette classe nous avons :



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

Nous pouvons citer comme exemples:

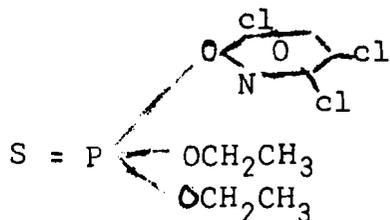
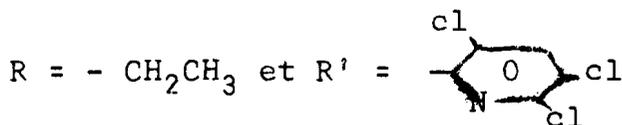
- le parathion avec R = - CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> et R' =  NO<sub>2</sub>



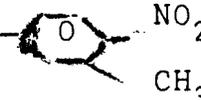
Cette structure lui confère le nom chimique de diéthyl-paranitrophényl thionophosphate.

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

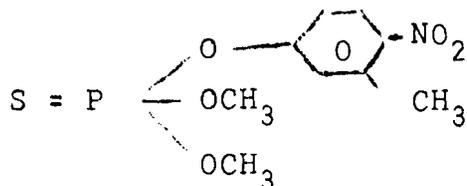
- le chlorpyrifos où nous avons :



Cette structure lui donne comme nom chimique le 0,0 - diéthyl - (3,5,6 trichloro 2 - pyridyl) thionophosphate.

- le fénitrothion avec  $R = CH_3$  et  $R' =$  

Sa nomenclature est la suivante



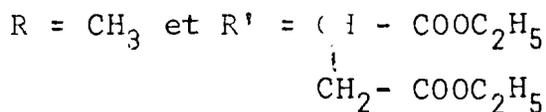
Cette structure générale lui confère la dénomination chimique de 0,0 - diméthyl - (4 - nitro - 3 méthylphényl) thionophosphate.

1.2.3 - Les thionothiophosphates ou phosphorodithioates

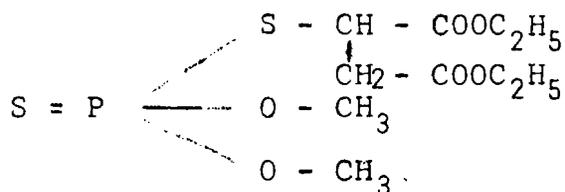
Dans cette classe nous avons :

$X = S$  et  $X' = S$ .

Comme exemple nous citerons le malathion où



Ainsi sa formule générale est la suivante :



Les dérivés à fonctions phosphoramides sont beaucoup plus rares, comme exemple nous citerons le cruformate.

De la même manière, les dérivés phosphonamides dans lesquels il existe une liaison phosphate-carbone sont peu fréquents. Le plus connu est le trichlorfon.

AU BILAN : Les insecticides organophosphorés sont des esters et amides de l'acide orthophosphorique que nous avons regroupés en trois classes chimiques, mais ces différents composés présentent des caractères physico-chimiques à peu près équivalents.

### I 1.3 - Les propriétés physico-chimiques des insecticides organophosphorés

Dans ce paragraphe nous étudierons d'abord les propriétés physiques et ensuite, les propriétés chimiques des insecticides organophosphorés.

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

#### I 1.3.1 - Les propriétés physiques

Les composés organophosphorés se présentent comme des liquides incolores ou brunâtres, visqueux ou comme des solides incolores cristallisés. Ils sont volatiles en général, avec une odeur alliagée désagréable. La solubilité dans l'eau de ces composés est en général faible. C'est ainsi que le chlopyriphos est pratiquement insoluble dans l'eau : de l'ordre de 2 ppm à 25°C. Cependant certains composés comme le trichlorfon, le DFP (di-isopropylfluorophosphate) et le mévinphos sont très solubles dans l'eau (17).

Néanmoins la solubilité de ces composés est assez élevée dans les solvants organiques, mais elle l'est moins dans les hydrocarbures aliphatiques. Les insecticides organophosphorés sont très solubles dans les lipides ce qui explique leur pénétration percutanée.

#### I 1.3.2 - Les propriétés chimiques

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

### I 1.3.2.1 - L'hydrolyse

La vitesse d'hydrolyse des composés organophosphorés dépend de la structure chimique et des conditions de réaction comme : le pH, la température, la nature du solvant utilisé ou l'existence de catalyseurs.

Les composés organophosphorés sont beaucoup plus stables en milieu alcalin. La vitesse d'hydrolyse s'accroît dès que le pH dépasse 7 et, à partir de p.8, l'augmentation de pH de chaque unité provoque dix fois l'accélération de la vitesse d'hydrolyse (22).

L'accroissement de la température lui aussi augmente la vitesse d'hydrolyse dans des proportions importantes.

MULMANN (21) en établissant le coefficient de la vitesse d'hydrolyse de vingt et un esters phosphoriques à 20°C et à 30°C a noté un accroissement de la vitesse d'hydrolyse de 4 fois par gradient de température de 10°C.

### I 1.3.2.2. - Les propriétés alkylantes

Ces propriétés alkylantes ont été largement développées par ETO (10) et 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 permettent la préparation de dérivés diméthylés des composés organophosphorés.

### I 1.3.2.3 - L'isomérisation des composés organophosphorés

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 para-thion peut ainsi contenir cinq à vingt pour cent d'isomères S - éthyl (7).

#### AU TOTAL

Les composés organophosphorés sont des substances qui se présentent sous forme de liquide incolore ou comme des solides cristallisés, d'odeur alliacée désagréable, peu solubles dans l'eau mais très solubles dans les lipides. Depuis leur découverte, ces composés ont connu de nombreuses utilisations.

## CHAPITRE II : USAGES DES INSECTICIDES ORGANOPHOSPHORES

Les insecticides organophosphorés sont actifs contre les insectes, qui ont des systèmes enzymatiques d'inactivation moins développés que chez les animaux supérieurs. Cela explique leur large utilisation dans les domaines thérapeutique , agricole et sanitaire.

### II<sub>1</sub> - USAGES THERAPEUTIQUES

Les principales indications des organophosphorés en médecine vétérinaire sont en thérapeutique antiparasitaire ;

- les ectoparasitoses dues aux arthropodes
- les différentes myiases cutanées, cavitaires ou gastriques
- les helminthoses.

#### II<sub>1.1</sub> - Traitement antiparasitaire externe

Les insecticides organophosphorés sont utilisés dans la lutte contre les parasites externes des animaux comme : les punaises, les puces, les poux de toutes espèces, les acariens des volailles et des animaux domestiques. Ces produits sont utilisés en poudrage, pulvérisation liquide, bains, ou en colliers insecticides à libération progressive. Des essais ont été effectués en utilisant l'action systémique générale de ces produits pour lutter contre les ectoparasites hématophages.

#### II<sub>1.2</sub> - Traitement des différentes myiases

Les insecticides organophosphorés ont été utilisés contre les myiases cutanées du mouton provoquées dans les pays chauds par les larves de *Lucilla séricata*. 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 gastérophiles ont été traitées au trichlorfon par la voie per os avec succès.

Chez le mouton, les larves cavitaires d'oestrus ovis ont été tuées par des applications locales de ruelène (8).

### II<sub>1.3</sub> - Le traitement des helminthoses par les insecticides organophosphorés

De nombreuses recherches ont porté ces dernières années sur le traitement des helminthoses qui, à elles seules présentent un vaste terrain d'essai aux insecticides organophosphorés. Cette étude est délicate car les effets varient avec le composé organophosphoré utilisé, la dose d'emploi, l'espèce de nématodes et son stade d'évolution. Pour cette thérapeutique, le trichlorfon, le ruelène, le coumaphos ont été employés, mais, pour être efficaces ils doivent être administrés à des doses subtoxiques. En revanche selon FALCY (11), avec l'haloxon par exemple, de bons résultats ont été obtenus contre les strongles du boeuf et du mouton à des doses de l'ordre de 50 mg/kg alors que la DL 50 (dose létale 50) est de l'ordre de 2000 mg/kg pour ce produit. Ainsi certains organophosphorés sont-ils d'un emploi, maintenant courant en parasitologie, mais, il faut remarquer que ces substances, choisies parmi les plus toxiques sont utilisées à des doses laissant une grande marge de sécurité.

L'apport des organophosphorés n'est pas négligeable en élevage, mais il est plus marqué dans la protection des végétaux.

### II<sub>2</sub> - USAGES AGRICOLES

Actuellement dans nos pays, l'usage agricole des insecticides organophosphorés s'avère la principale indication. Les insecticides organophosphorés sont utilisés dans la protection des semences, le traitement des cultures : les fruits, les légumes et les céréales. Comme exemple, nous citerons : le chlorpyrifos utilisé pour la protection des cultures maraîchères.

## Le fénitrothion contre les prédateurs des cultures.

Leur utilisation se fait sous forme de pulvérisation, d'émulsion ou de poudrage. Le traitement des cultures doit être réglementé pour réduire les risques d'intoxication pour les consommateurs et pour protéger les insectes utiles comme les abeilles. Dans de nombreux pays le traitement des cultures reste interdit selon KECK (17) :

- 7 à 15 jours avant la récolte pour les insecticides externes, exemples du diazinon, du malathion, du parathion.
- 2 mois avant la récolte pour les insecticides systémiques comme le diméthoate et le mévinphos.
- Pendant la période de floraison pour les produits toxiques pour les abeilles.

Malgré leur importance dans le domaine agricole, les insecticides organophosphorés ont aussi des usages sanitaires non négligeables.

### II<sub>3</sub> - 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. Dans ce domaine les insecticides organophosphorés sont utilisés sous diverses formes :

- la pulvérisation
- l'épandage de poudre, le blanchiment
- les plaquettes à libération progressive.

### AU TOTAL

Les organophosphorés, compte tenu de leur pouvoir insecticide et de leur faible rémanence dans le milieu extérieur, se sont substitués aux insecticides organochlorés. Mais quel que soit le mode d'emploi de ces insecticides, il persiste des risques pour l'homme, les animaux et les insectes utiles.

## CHAPITRE III : INTOXICATION CHEZ LES ANIMAUX

### III<sub>1</sub> - LA TOXICOCINETIQUE

Le devenir dans l'organisme des insecticides organophosphorés découle de deux propriétés essentielles : la liposolubilité et la faible stabilité chimique de ces produits. La liposolubilité va faciliter le passage à travers les membranes biologiques.

#### III<sub>1.1</sub> - Les voies d'absorption

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

##### III<sub>1.1.1.</sub> - la voie digestive

Par la voie digestive, les insecticides organophosphorés sont rapidement résorbés et sont décelables dans le sang moins d'une demi heure après (11). Lors de l'absorption intestinale le pH du milieu joue un grand rôle.

Suivant sa valeur, il se produit une hydrolyse plus ou moins grande. La vitesse d'hydrolyse, mais aussi la nature des alcools et phénols libérés est donc variable, et ce phénomène peut avoir des conséquences toxicologiques importantes.

##### III<sub>1.1.2</sub> - le contact cutané

Le contact cutané est important aussi bien en médecine humaine que vétérinaire. Chez l'homme des intoxications ont été fré-

quémment observées chez les ouvriers manipulant des insecticides agricoles. Le passage transcutané de ces produits est utilisé pour le traitement de certaines parasitoses internes par application externe. La vitesse et l'intensité de la pénétration transcutanée augmentent de façon notable avec la température ambiante, qui constitue de ce fait un facteur favorisant des intoxications. De la même manière les insecticides organophosphorés traversent facilement la cuticule des insectes et autres parasites.

### III<sub>1.2</sub> - Transport et distribution tissulaire

Nous étudierons dans ce paragraphe le transport et ensuite la distribution des insecticides organophosphorés dans l'organisme.

#### III<sub>1.2.1</sub> - le transport des insecticides organophosphorés dans l'organisme

Lorsque les insecticides organophosphorés ont pénétré l'organisme, ils sont véhiculés par le sang jusqu'aux divers organes où ils vont se localiser à des taux variables.

#### III<sub>1.2.2</sub> - la distribution des insecticides organophosphorés

La liposolubilité des insecticides organophosphorés conditionne en partie leur distribution dans l'organisme, notamment leur affinité pour les tissus riches en lipides qui sont :

- les tissus nerveux, où les insecticides organophosphorés exercent leur activité toxique aussi bien chez les invertébrés que chez les animaux supérieurs.
- les tissus adipeux avec un certain temps de latence.
- le foie, où ils subissent des biotransformations très intenses en général. ./.

De même, on trouve un taux très faible de ces produits dans les muscles.

La faible stabilité chimique des insecticides organophosphorés explique qu'ils vont subir dans l'organisme des réactions de biotransformation variées, rapides et intenses.

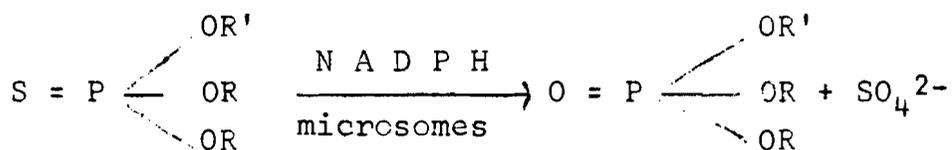
### III<sub>1.3</sub> - Les réactions de biotransformation des insecticides organophosphorés

Dans l'organisme les insecticides organophosphorés subissent trois principaux types de réactions qui sont :

- les réactions d'oxydation
- les réactions d'hydrolyse
- les réactions de conjugaison.

#### III<sub>1.3.1</sub> - Les réactions d'oxydation

Ces réactions d'oxydation s'effectuent surtout dans le foie grâce aux systèmes enzymatiques microsomaux. De nombreuses réactions oxydatives peuvent entrer en jeu comme : les réactions de désalkylation et les réactions d'hydroxylation, nous nous intéresserons en particulier aux réactions de désulfuration oxydative. Ces dernières transforment les insecticides organophosphorés soufrés en dérivés oxydés qui représentent la forme active (et toxique) ; c'est une bioactivation.

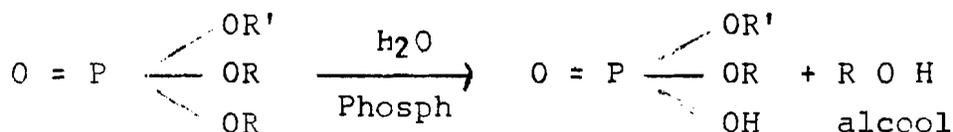


Ainsi, le parathion est oxydé en paroxon qui possède une activité anticholinestérasique mille fois supérieure, du fait

de l'augmentation du caractère électrophile de l'atome de phosphore et donc de la réactivité biologique. La conséquence toxicologique de cette réaction est que, les insecticides organophosphorés soufrés, ne deviendront actifs et toxiques qu'après une activation métabolique qui se fait de façon progressive.

### III<sub>1.3.2</sub> - Les réactions d'hydrolyse

Contrairement aux réactions d'oxydation, les réactions d'hydrolyse donnent naissance à des métabolites beaucoup moins toxiques que les composés de départ et constituent donc, des réactions de détoxification vraies. Ces réactions d'hydrolyse s'effectuent grâce à des estérases de différents types, ou à des amidases et se localisent surtout dans le foie, le plasma et à moindre degré dans le tube digestif.



### III<sub>1.3.3</sub> - Les réactions de conjugaison

Des réactions de glucurono et sulfo conjugaisons peuvent s'effectuer sur les métabolites d'oxydation, d'hydrolyse ou de réduction. Elles aboutissent en règle générale à une inactivation ou à une élimination rapide des dérivés conjugués.

Certaines variations s'observent dans la rapidité et l'intensité des réactions de biotransformation.

### III<sub>1.3.4</sub> - Variations en fonction des composés organophosphorés

L'hydrolyse des insecticides organophosphorés soufrés s'effectue en moyenne moins rapidement que pour les insecticides organophosphorés oxygénés. Ceci confère aux insecticides organophos-

phorés soufrés une persistance un peu plus importante, aussi bien dans le milieu extérieur que dans les organismes. De la même façon, les dérivés à liaison amide comme le trichlorfon sont moins rapidement hydrolysés que les dérivés à liaison ester. De ce fait, on utilise souvent les insecticides organophosphorés soufrés ou à liaison amide comme anti-parasitaires systématiques.

### III<sub>1.3.5</sub> - Les variations en fonction des espèces animales

Certains insecticides organophosphorés, notamment le malathion sont très peu toxiques pour les animaux supérieurs mais sont par contre très actifs contre les insectes. Ceci, du fait d'une différence importante d'inactivation contre les estérases, qui sont très abondantes chez les premiers mais, beaucoup plus réduites chez les seconds. Après leurs biotransformations, les insecticides organophosphorés doivent être éliminés.

### III<sub>1.4</sub> - L'élimination des insecticides organophosphorés

L'élimination des insecticides organophosphorés de l'organisme se fait essentiellement sous forme dégradée. Nous avons vu que les réactions de biotransformation augmentaient considérablement l'hydrosolubilité de ces produits. Cette élimination des composés organophosphorés se fait surtout par la voie urinaire, beaucoup moins par la voie biliaire. Elle est en général très rapide. Quarante huit heures après l'administration, plus de 90p.100 de la dose absorbée est éliminée (17).

L'élimination de ces produits, bien que relativement faible et de courte durée, impose de respecter un temps d'attente après le traitement des animaux.

EN RESUME

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

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

### III<sub>2</sub>. ETUDE TOXICOLOGIQUE DES INSECTICIDES ORGANOPHOSPHORES.

Pour se faire une idée de la toxicité des insecticides organophosphorés, il suffit de se référer aux usages militaires que l'on en avait fait. Les intoxications qu'ils entraînent sont d'autant plus redoutables qu'elles évoluent très vite. Ces intoxications surviennent dans diverses circonstances.

#### III<sub>2.1</sub> - Circonstances des intoxications

Les intoxications par les insecticides organophosphorés peuvent s'observer chez toutes les espèces animales. Elles frappent surtout les ruminants, plus particulièrement les bovins (17). Les animaux sauvages sont également atteints. Ces intoxications sont soit d'origine accidentelle, soit consécutive à un traitement anti-parasitaire.

##### III<sub>2.1.1</sub> - Intoxication d'origine accidentelle

Diverses circonstances sont possibles dont, l'ingestion directe de produits ou de préparations insecticides (sacs, récipients ayant servi au mélange, distribution par erreur dans l'alimentation à la place de condiments minéraux...).

L'exposition des animaux au pâturage lors d'un traitement phytosanitaire effectué sur des cultures, surtout lors de traitements aériens mal conduits avec les produits ULV (Ultra Low Volume). Cette intoxication est surtout fréquente chez les animaux sauvages. L'ingestion d'herbes ou de fourrages traités, ou plus rarement la consommation d'eau polluée lors de ruissellement à partir de surfaces traitées peuvent causer des accidents. Dans ce même cadre, on peut remarquer une contamination importante des milieux aquatiques entraînant des mortalités massives de poissons.

### III<sub>2.1.2</sub> - Les intoxications d'origine thérapeutique

Ces intoxications surviennent surtout lors de traitements antiparasitaires interne et externe. A l'heure actuelle, en Europe la grande majorité des intoxications par les insecticides organophosphorés provient du traitement des animaux par la méthode "pour on".

Qu'il s'agisse d'intoxication accidentelle ou thérapeutique, certaines conditions interviennent de façon importante dans le déclenchement des intoxications.

### III<sub>2.2</sub> - Toxicité et facteurs de variation de la toxicité des insecticides organophosphorés

La toxicité des insecticides organophosphorés est extrêmement variable. Si nous prenons comme repère la DL 50 (dose létale 50) chez le rat par voie per os, nous distinguons (voir tableau I) :

- des insecticides hautement toxiques avec une DL 50 rat inférieure à 50 mg/kg. Nous citerons comme exemple : le parathion, le mévinphos, le carbophénouthion, le phorate, le dichlorvos...
- des insecticides moyennement toxiques avec une DL 50 rat comprise entre 50 et 500 mg/kg. Comme exemple nous donnons le crotoxiphos, le diméthoate, le fenthion...
- des insecticides faiblement toxiques, dont la DL 50 rat est supérieure à 500 mg/kg avec exemple le malathion.

La sensibilité des animaux aux insecticides organophosphorés dépend de certains facteurs.

#### III<sub>2.2.1</sub> - Les facteurs tenant à l'animal

Pour ce qui concerne l'animal nous verrons l'espèce, la race, le sexe et l'âge.

### III<sub>2.2.1.1.</sub> - L'espèce animale

Des études ont montré que les ruminants en particulier, se montrent plus sensibles que le rat aux organophosphorés considérés comme peu toxiques, exemple du malathion et du trichlorfon, comme l'indiquent les chiffres du tableau I. Les doses toxiques chez les ruminants adultes sont, pour ces dérivés de l'ordre de 100 mg/kg de poids vif en moyenne. La sensibilité aux composés fortement toxiques est superposable à celle admise chez le rat.

Chez les carnivores, le chat présente une sensibilité supérieure par rapport au chien, d'où un dosage plus faible de l'insecticide organophosphoré dans les colliers insecticides (3p.100 chez le chat contre 9p.100 chez le chien).

Les volailles représentent une sensibilité relativement élevée au dichlorvos, qui est d'ailleurs contre indiqué chez ces espèces.

### III<sub>2.2.1.2.</sub> - La race

En Europe on a observé que, la grande majorité des accidents survient dans la race charollaise et ses croisements. En effet dans la plupart des pays Européens de nombreuses enquêtes sur la toxicité de ces composés ont été effectuées.

Chez le chien, certaines races de levriers comme le greyhound, le wippet semblent particulièrement sensibles aux colliers insecticides à base d'organophosphorés.

### III<sub>2.2.1.3.</sub> - Le sexe

D'après certains auteurs, chez les bovins, les femelles seraient plus sensibles que les mâles à certains organophosphorés comme le malathion.

### III<sub>2.2.1.4</sub> - L'âge de l'animal

Les jeunes animaux sont nettement plus sensibles que les adultes comme le montre le tableau I. En prenant pour exemples les bovins et comme insecticides le malathion nous avons :

|                | Dose minimale toxique de malathion |
|----------------|------------------------------------|
| bovins adultes | 100 mg/kg                          |
| veau           | 20 mg/kg                           |

Cette sensibilité peut s'expliquer par des possibilités de détoxification inférieures chez les jeunes, mais surtout, par un taux de cholinestérase inférieur .

### III<sub>2.2.2</sub> - Facteurs tenant à l'environnement

Des auteurs ont montré que, la température élevée (cas de nos pays) augmente les risques d'intoxication par les insecticides organophosphorés, ceci en raison :

- d'une part de la volatisation plus importante permettant la pénétration par la voie respiratoire.
- d'autre part d'une augmentation de l'absorption per cutanée de l'insecticide.

La stagnation de l'air est aussi un facteur favorisant des intoxications par les insecticides organophosphorés, en réalisant une concentration plus élevée d'insecticide.

### III<sub>2.3</sub> - Etude clinique des intoxications des insecticides organophosphorés.

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

### III<sub>2.3.1</sub> - Le mécanisme d'action toxique des insecticides organophosphorés

Ce mécanisme d'action a été étudié par de nombreux auteurs, tels que BELLON (3), RIGOLE (27) et O'BRIEN (22). Ces différentes études nous montrent que, si cette pharmacodynamie reste peu comprise chez les insectes, elle est par contre suffisamment établie chez les vertébrés (23). Chez les vertébrés, il est admis que du fait d'une analogie structurale avec l'acétylcholine, les insecticides organophosphorés inhibent les cholinestérases, en se fixant fortement sur elles. Les cholinestérases une fois inhibées perdent leur pouvoir de détruire l'acétylcholine. Nous savons que l'acétylcholine est le médiateur chimique qui est nécessaire au transfert de l'influx nerveux à différents niveaux et, médiateur du système parasympathique.

Avant d'aborder l'étude du mécanisme d'action des insecticides organophosphorés, il nous a paru nécessaire de donner un aperçu sur la nature des cholinestérases ainsi que le mécanisme de l'hydrolyse de l'acétylcholine par les cholinestérases.

#### III<sub>2.3.1.1</sub> - Les cholinestérases

Il existe deux types d'enzymes capables d'hydrolyser les esters de la choline. Ces estérases diffèrent en fonction de la distribution et de la spécificité du substrat.

##### A/ - LES CHOLINESTERASES VRAIES OU ACETYLCHOLINESTERASES -----

Elles présentent une affinité plus grande pour l'acétylcholine que tous les autres esters. Ce sont des enzymes très spécifiques, qui ne réalisent que l'hydrolyse de l'acétylcholine. Elles sont localisées au niveau des terminaisons nerveuses cholinergiques, des jonctions neuro-musculaires, des hématies.

B/ - LES PSEUDOCHOLINESTERASES OU CHOLINESTERASES NON SPECIFIQUES

---

Ce sont des enzymes peu spécifiques. Elles hydrolysent non seulement l'acétylcholine, mais également d'autres esters de la choline. Elles se localisent surtout dans le système nerveux central et le plasma.

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 hématies alors que chez le chien et l'homme, l'activité cholinestérasique est aussi importante dans le plasma que dans les hématies. Les études sur les inhibiteurs de l'acétylcholinestérase ont permis une représentation de l'aspect des centres actifs de l'enzyme.

La partie active de l'acétylcholinestérase comprend 2 sites:

- un site anionique chargé négativement. Il facilite l'activité de l'enzyme en attirant, liant et orientant l'ion ammonium (ion N<sup>+</sup> de l'acétylcholine).
- un site cationique ou estérasique où les esters sont hydrolysés. Le site d'après FEATHERSTONE (12) contient deux groupes essentiels: une fonction acide et un groupe basique nucléophile.

III<sub>2.3.1.2</sub> - Mécanisme d'hydrolyse de l'acétylcholine par l'acétylcholinestérase

Quelle que soient leur localisation et leur spécificité les cholinestérases provoquent la rupture de la liaison ester de l'acétylcholine selon la réaction générale de la figure n° 1.

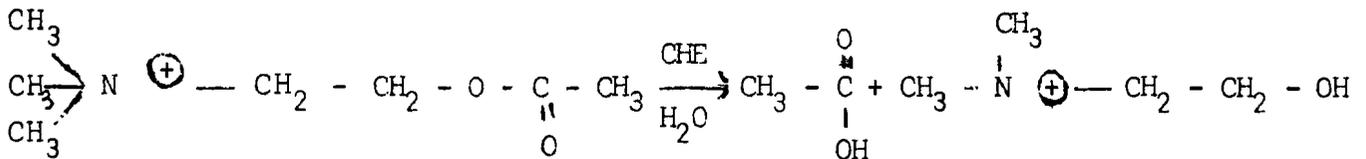


FIGURE N° 1 : HYDROLYSE DE L'ACÉTYLCHOLINE

Sur le plan moléculaire, les évènements qui se déroulent au niveau de l'enzyme ont été bien décrits.

Les 2 sites du centre actif de la cholinestérase sont séparés par une zone intermédiaire hydrophobe dont le rôle est moins important. Le site anionique est constitué par la fonction carboxylique de l'acide glutamique.

La constitution du site cationique est plus complexe et on pense qu'un noyau imidazole apporté par l'histidine et un groupement hydroxyle de la sérine intervient probablement. Le complexe enzyme - substrat se forme d'une manière classique.

Dans un premier temps l'acétylcholine se fixe sur le centre actif de la cholinestérase grâce à l'attraction de l'azote chargé positivement par le site anionique. L'OH de la sérine, grâce au doublet libre de l'oxygène opère une attaque nucléophile sur le carbone du radical acétyle chargé positivement, comme le montre la figure n° 2.

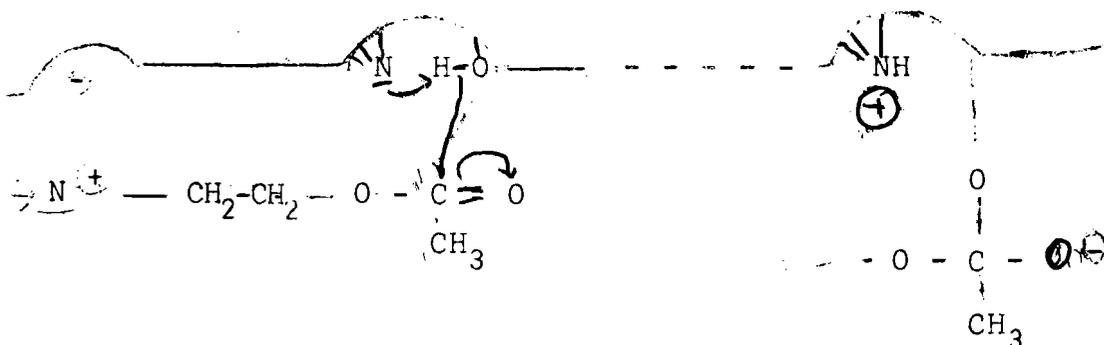


FIGURE N° 2 : FORMATION DU COMPLEXE ENZYME -  
SUBSTRAT

Les 2 électrons de la liaison covalente OH partent sur l'oxygène et servent à former une nouvelle liaison covalente avec le carbone. Ce dernier déjà tétravalent doit rompre une de ses liaisons avec l'oxygène terminal en lui cédant un électron. Cet oxygène prend alors une charge négative. Le proton libéré lors de la scission du groupement OH de la sérine vient se fixer sur l'azote de l'histidine qui l'attire grâce à son doublet libre.

L'azote se charge alors positivement. Aussitôt s'effectuent des remaniements électroniques aboutissant à la libération de la choline et de l'acétylation de la cholinestérase.

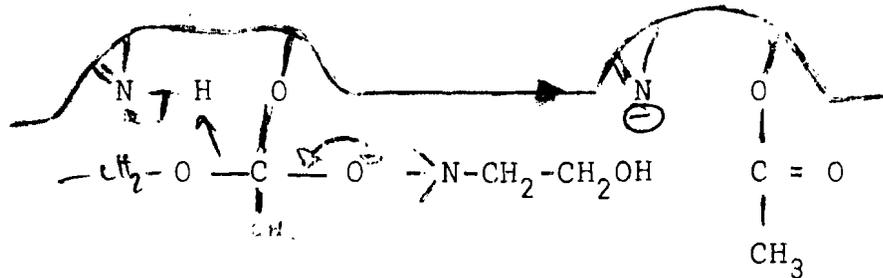


FIGURE N° 3 : ACÉTYLATION DE L'ENZYME

La liaison entre le carbone et l'oxygène de la choline se reforme entre l'oxygène et l'hydrogène fixé sur l'histidine qui rend un électron à l'azote. Le carbone désormais déficitaire d'un électron forme une seconde liaison avec l'oxygène acétylique qui dispose d'un électron libre.

L'hydrolyse peut alors s'effectuer. Le groupement OH de l'eau opère une attaque nucléophile sur le carbone du reste comme le montre la figure n° 4. La double liaison C = O redevient une liaison simple, le doublet étant reporté sur l'oxygène, ce qui permet au groupement OH de l'eau de se fixer sur l'atome de carbone désormais déficitaire d'un électron.

Le proton H se trouve attiré par l'azote de l'histidine.

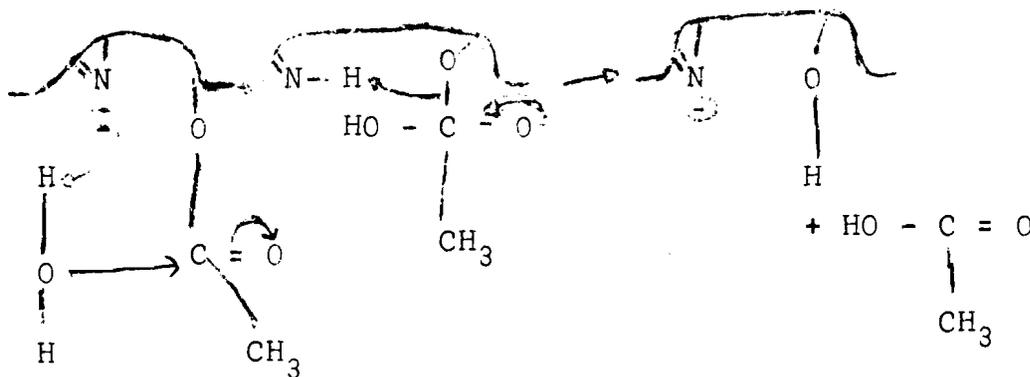


FIGURE N° 4 : HYDROLYSE DE L'ENZYME

Puis, un réarrangement des liaisons se produit aboutissant à la formation d'acide acétique et à la restitution de l'enzyme libre.

Ces deux dernières phases durent plus longtemps. Mais, on peut les considérer comme rapides par rapport aux phénomènes qui évoluent lors d'interaction avec les organophosphorés comme nous allons le voir maintenant.

### III<sub>2.3.1.3</sub> - Mécanisme d'inhibition de l'acétylcholinestérase par les organophosphorés

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

En règle générale, la ressemblance ne conduit qu'à l'occupation du site estérasique du fait de l'absence de fonction ammonium quaternaire dans la grande majorité des organophosphorés.

La réaction générale peut s'écrire de la même façon que précédemment en 3 étapes sur le plan moléculaire. Il se forme tout d'abord un complexe enzyme - substrat, c'est la figure n° 5

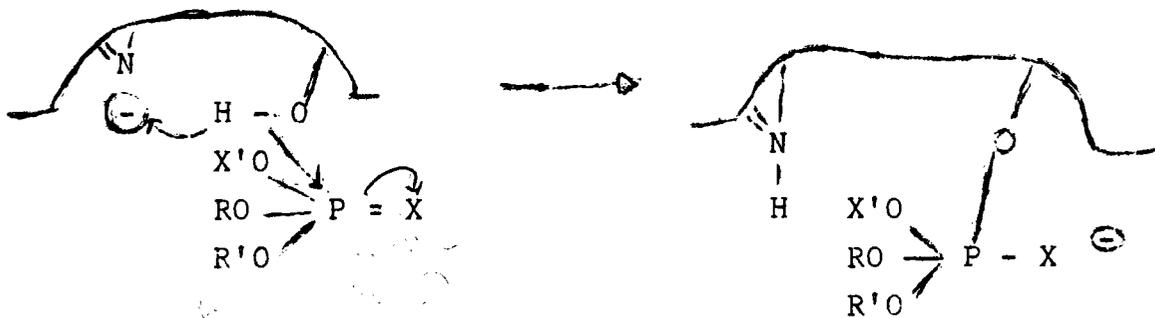


FIGURE N° 5 : FORMATION DU COMPLEXE.

Puis l'enzyme est phosphorylée comme le montre la figure n° 6

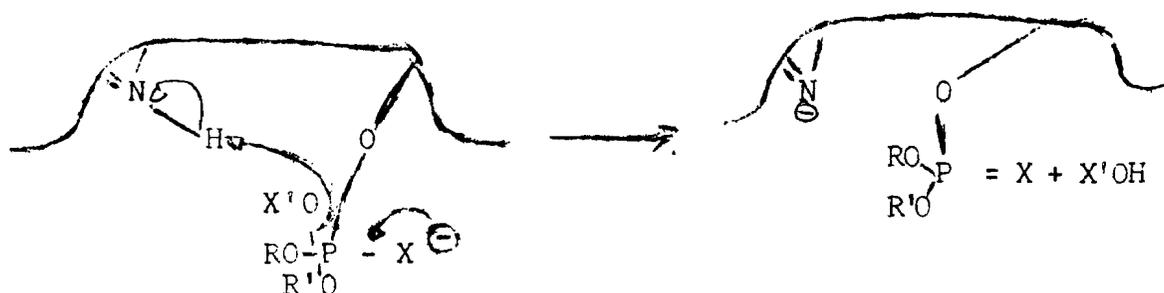


FIGURE N° 6 : PHOSPHORYLATION DE L'ENZYME

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 pratiquement irréversible survient. La régénération de l'activité enzymatique dépendra exclusivement de la synthèse de nouvelles molécules d'enzyme ou comme nous le verrons lorsque nous allons aborder le chapitre du traitement, de l'action d'un groupe particulier de molécules chimiques.

Ainsi l'accumulation d'acétylcholine se traduit par une excitation de tous ses récepteurs, en fonction de leur sensibilité au neurotransmetteur.

L'excitation des récepteurs muscariniques entraînera des signes de type parasympathomimétique (syndromes muscarinique). Celle des récepteurs nicotiques situés au niveau des plaques motrices, entraînera des signes neuromusculaires (syndrome nicotinique). En dehors de ces réactions au niveau des cholinestérases, les insecticides organophosphorés présentent également une affinité importante pour d'autres estérases comme les carboxyestérases et les atpases qu'ils inhibent. Cette action peut être en relation avec les phénomènes de neurotoxicité observés.

Le mécanisme d'action anticholinestérasique des insecticides

organophosphorés permet de comprendre les symptômes observés lors des intoxications, symptômes dus essentiellement comme nous venons de le voir à l'accumulation d'acétylcholine.

### III<sub>2.3.2</sub> - Symptômes des intoxications

Les insecticides organophosphorés donnent lieu à de nombreux cas d'intoxication chez les animaux, par suite de leur large utilisation.

La toxicité de ces composés repose sur leur liposolubilité et leurs propriétés anticholinestérasiques (22).

En fonction du temps d'apparition des symptômes nous pouvons distinguer deux types d'intoxication d'importance inégale :

- l'intoxication à court terme, regroupant les symptômes aigus et suraigus, survient rapidement après l'exposition. Ce sont d'ailleurs les plus fréquents.

- l'intoxication à long terme, effets dus à la toxicité retardée mais beaucoup plus rare (3).

#### III<sub>2.3.2.1</sub> - Symptômes de l'intoxication à court terme

L'intoxication par les insecticides organophosphorés provoque des symptômes théoriquement identiques chez les différentes espèces. L'accumulation d'acétylcholine induite par l'action anticholinestérasique de ces composés, entraîne trois types de manifestations, qui peuvent s'imbriquer les unes dans les autres.

- un syndrome muscarinique
- un syndrome nicotinique
- des troubles du système nerveux central.

A/ - SYNDROME MUSCARINIQUE  
=====

Ce syndrome est composé de troubles de type parasympho-  
mimétique. Ce sont les signes les plus précoces. Ils correspondent à  
une stimulation exagérée du système parasymphatique avec :

- une augmentation des sécrétions aboutissant à une hypersali-  
vation, du jetage, du larmoiement et de l'hypersudation.
- du myosis
- des signes digestifs, avec des vomissements, des coliques, de  
la diarrhée profuse, dus à une augmentation du péristaltisme  
et des sécrétions digestives.
- des signes respiratoires avec de la dyspnée, de la toux, dues à une  
bronchostriction et à une augmentation des sécrétions bronchiques
- des signes cardiaques avec de la bradycardie
- l'incontinence urinaire, suite à un relâchement des sphincters.

B/ - SYNDROMES NICOTINIQUE  
=====

Ces signes sont en principe plus tardifs, mais peuvent se  
superposer aux signes muscariniques. Il s'agit de troubles neuro-  
musculaires, dus à l'hyperstimulation des récepteurs nicotiques  
des plaques motrices. Il se produit d'abord, une stimulation de  
l'activité musculaire, avec fasciculation musculaire, d'abord lo-  
calisée à la face, les paupières, la langue, puis une généralisa-  
tion progressive. Les contractions musculaires involontaires, en-  
traînent une démarche raide, évoluant vers une hypertonicité mus-  
culaire avec tétanisation. Ensuite au fur et à mesure que l'acé-  
tylcholine s'accumule au niveau des jonctions neuro-musculaires,  
on remarque une dépression de l'activité musculaire, avec faiblesse  
musculaire et une paralysie.

C/ - LES TROUBLES DU SYSTEME NERVEUX CENTRAL  
=====

Les troubles du système nerveux central varient avec l'es-

pèce voire avec l'individu. En effet, on note une dépression plus ou moins intense notamment 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 qui est due à une paralysie spasmodique des muscles respiratoires, à une bronchostriction et parfois à un œdème pulmonaire. Dans les cas favorables la convalescence dure plusieurs semaines donnant lieu aux symptômes de l'intoxication à long terme.

### III<sub>2.3.2.2</sub> - Symptômes de l'intoxication à long terme ou retardée

Ces symptômes retardés sont d'observation rare. Divers types d'effets sont signalés, survenant plusieurs jours à plusieurs semaines après l'exposition de l'animal. Nous pouvons citer :

- la neurotoxicité retardée
- les réactions allergiques
- les effets embryotoxiques.

#### A/ - LES TROUBLES DE NEUROTOXITE RETARDEE =====

Ces troubles peuvent survenir quelques jours à quelques semaines, soit après une intoxication immédiate, soit après une exposition des animaux à des doses plus faibles ne déterminant pas de signes immédiats. Ces signes sont relativement peu fréquents, ils surviennent surtout avec certains insecticides organophosphorés, comme le triarylphosphate, le tri-ortho crésylphosphate.

Fondamentalement il y a un délai de 8 à 10 au maximum 21 jours après l'exposition avant de voir apparaître les signes. Chez l'homme les signes attribués à cet empoisonnement sont, un léger désordre gastro-intestinal ou une diarrhée qui dure deux ou trois

Jours (30).

Des signes similaires ont été retrouvés chez les animaux (30). On remarque de temps en temps des pertes de doigts chez l'homme (30) et des pertes de sabots chez les animaux (1).

Préférentiellement chez des espèces déterminées comme les ruminants, les volailles, l'homme, le chat, on note une *dégénérescence* axonale et une demyelinisation (17). Ceci est probablement lié à la formation d'un complexe "neurotoxique" entre une enzyme carboxyestérase et certains organophosphorés, qui induirait une perturbation du métabolisme cellulaire. Il en découle, une faiblesse musculaire, de l'ataxie, de la parésie, évoluant fréquemment vers une paralysie du train postérieur.

B/ - LA DERMATOSE ALLERGIQUE  
=====

Ces symptômes surviennent lors de contact cutané prolongé avec un organophosphoré, en particulier avec les colliers insecticides à base de dichlorvos chez les carnivores domestiques.

C/ - L'EMBRYOTOXICITE  
=====

Expérimentalement des auteurs ont montré que certains organophosphorés peuvent provoquer chez les rongeurs de laboratoire et les volailles des malformations foetales, des résorptions foetales et une hypertrophie foetale et placentaire. La fréquence des intoxications des animaux nous impose des moyens de diagnostic précis et rapide afin d'appliquer une thérapeutique efficace.

III<sub>2.4</sub> - Le diagnostic des intoxications par les insecticides organophosphorés.

Le diagnostic de l'intoxication par les insecticides organophosphorés repose essentiellement sur quatre éléments :

- le diagnostic clinique
- le diagnostic épidémiologique
- le diagnostic nécropsique
- le diagnostic de laboratoire.

III<sub>2.4.1</sub> - Le diagnostic clinique et épidémiologique

Le diagnostic clinique de l'intoxication par les insecticides organophosphorés serait difficile dans un cas isolé. En général plusieurs animaux sont atteints en même temps, ce qui facilite ./.

les choses car, dans ce cas, les symptômes sont caractéristiques. Comme dans tous les cas d'intoxication chez les animaux, les comomératifs sont très importants. Ainsi, la rapidité d'apparition des symptômes, l'observation de salivation, de larmoiments, de signes respiratoires, avec syndrome nerveux d'allure parasymphaticomimétique, survenant après des pulvérisations d'insecticides, peuvent mettre sur la voie du diagnostic.

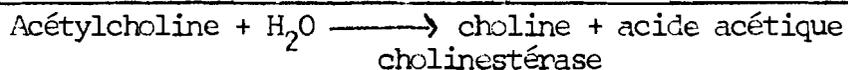
### III<sub>2.4.2</sub> - Le diagnostic nécropsique

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

### III<sub>2.4.3</sub> - Le diagnostic de laboratoire

Le diagnostic de laboratoire permet d'établir la certitude de l'intoxication par les insecticides organophosphorés. Pour rechercher la présence des insecticides orgaphosphorés dans les liquides biologiques, diverses méthodes de laboratoire peuvent être utilisées.

Les insecticides organophosphorés 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 dus au passage de l'organophosphoré dans l'organisme. Les méthodes d'analyse consistent à apprécier le degré d'inhibition des cholinestérases de l'animal suspect d'intoxication en mesurant l'activité cholinestérasique soit de l'encéphale, soit du sang. Pour le sang, le dosage se fait selon les espèces, soit au niveau des érythrocytes, soit au niveau du plasma, ou des deux. Cette mesure repose sur la réaction d'hydrolyse de l'acétylcholine.



./.

En évaluant la vitesse d'hydrolyse d'une quantité connue et en la comparant à un témoin normal, on mesure l'activité cholinestérasique du sujet suspect. Un certain nombre de méthodes de dosage ont été mis au point sur ce principe. Elles dosent pour la plupart la quantité d'acide acétique libéré par détermination en continue du pH, par colorimétrie, potentiométrie ou par titrimétrie. Nous classons ces méthodes en deux groupes :

- le premier groupe des méthodes est utilisé pour la détermination de l'acétylcholine.
- le deuxième groupe, rassemble des méthodes de dosage de l'acide acétique libéré en un temps donné.

### III<sub>2-4-3-1</sub>. Détermination de l'acétylcholine.

L'adaptation de la méthode de dosage colorimétrique de l'acétylcholine, selon HESTRIN (16) au dosage de la cholinestérase décrite par VINCENT et SEGONZAC en 1958 (32) est une technique très utilisée. Elle s'applique au plasma et aux globules rouges et même, grâce à l'inhibition sélective de la pseudocholinestérase par le diparcol, permet le dosage séparé des cholinestérases : globulaires et plasmatiques dans le sang total. On mesure au bout d'un temps donné la quantité d'acétylcholine non hydrolysée par formation d'un complexe ferrique hydroxamique coloré en pourpre.

Des variantes de la méthode de HESTRIN (16) ont été étudiées chez les ruminants.

- la variante de ROBBINS et Collaborateurs (28), sur le sang total des ruminants (la lecture se fait au bout de 10 minutes à 37°C).
- la variante de PETTY et LOWEL (24) la lecture se fait au bout de 10 minutes à 25°C.
- la méthode de RUCKEBUSCH (29) que nous décrirons.

Le principe de la méthode est simple. Par action de l'hydroxylamine sur l'acétylcholine non hydrolysée, en milieu alcalin, il se forme un acide hydroxamique qui donne avec le chlorure

ferrique une coloration rose pourpre, obéissant à la loi de BEER.  
Le protocole de la méthode est résumé dans le tableau II.

TABLEAU N° II : PROTOCOLE DE LA METHODE DE RUCKEBUSCH

| ( | ! | ESSAI                                     | ! | TEMOIN       | ! | REACTIF | ) |
|---|---|---|---|--------------|---|---------|---|
| ( | ! |   | ! |              | ! |         | ) |
| ( | ! | -----                                     |   |              |   |         | ) |
| ( | ! |   | ! |              | ! |         | ) |
| ( | ! | 0,4 ml de sang dans 3,6 ml                | ! |              | ! |         | ) |
| ( | ! | d'eau distillée, ph 7,0.....              | ! | 0,5 ml       | ! | -       | ) |
| ( | ! | Tampon véronal ph 7,4.....                | ! | 0,5 ml       | ! | 1 ml    | ) |
| ( | ! |   | ! |              | ! | 1,5 ml  | ) |
| ( | ! |   | ! | 5 mn à 38°C  |   |         | ) |
| ( | ! | -----                                     |   |              |   |         | ) |
| ( | ! |   | ! |              | ! |         | ) |
| ( | ! | Chlorure d'acétylcholine (ACH)            | ! |              | ! |         | ) |
| ( | ! | à 1p.1000.....                            | ! | 1 ml         | ! | 1 ml    | ) |
| ( | ! |   | ! |              | ! | -       | ) |
| ( | ! |   | ! |              | ! |         | ) |
| ( | ! |   | ! | 30 mn à 38°C |   |         | ) |
| ( | ! |   | ! |              | ! |         | ) |
| ( | ! | Hcl.....                                  | ! | 0,2 ml       | ! | 0,2 ml  | ) |
| ( | ! |   | ! |              | ! | 0,2 ml  | ) |
| ( | ! | Solution alcaline NH <sub>2</sub> OH..... | ! | 0,4 ml       | ! | 0,4 ml  | ) |
| ( | ! |   | ! |              | ! | 0,4 ml  | ) |
| ( | ! | Solution acide de chlorure fer-           | ! |              | ! |         | ) |
| ( | ! | rique.....                                | ! | 0,4 ml       | ! | 0,4 ml  | ) |
| ( | ! |   | ! |              | ! | 0,4 ml  | ) |
| ( | ! | Eau distillée.....                        | ! | ml           | ! | 3 ml    | ) |
| ( | ! |   | ! |              | ! | 3 ml    | ) |
| ( | ! | Acide trichloracétique 20p.100            | ! | 1 ml         | ! | 1 ml    | ) |
| ( | ! |   | ! |              | ! | 1 ml    | ) |
| ( | ! | -----                                     |   |              |   |         | ) |
| ( | ! | F I L T R E                               |   |              |   |         | ) |
| ( | ! | -----                                     |   |              |   |         | ) |

LECTURE AU FILTRE 520 mu

Dans un premier temps, on utilise 0,5 ml d'une dilution de sang au 1/10. L'hydrolyse enzymatique, mise en route au moment de l'addition du chlorure d'acétylcholine est bloquée 30 minutes après. La réaction colorée est effectuée sur la solution témoin contenant 1 mg d'acétylcholine puis sur les essais. La solution réactif sert à la mise à zéro du photomètre. Le pouvoir d'hydrolyse en 30 minutes est égale à la densité optique (D.O)

$$\text{densité optique de : } \frac{\text{témoin-essai}}{\text{témoin}} = X \text{ mg de chlorure d'acétylcholine}$$

A noter que l'addition d'acide trichloracétique comme agent de précipitation des protéines entraîne une réduction de l'intensité de la coloration de 20p.100 environ, mais n'affecte en rien le résultat final, puisque la même réduction s'observera chez le témoin.

### III 2.4.3.2. - Dosage de l'acide acétique libéré en un temps donné

#### A/ - METHODES TITRIMÉTRIQUES =====

Ces méthodes consistent à ~~tit~~rer l'acide libéré au cours de l'hydrolyse au moyen d'un alcalin standard. Cette titration se fait, soit avec un indicateur externe, soit avec un indicateur interne, ou bien avec un potentiomètre.

- Méthode avec indicateur interne :

On ajuste par NaOH 0,01 N à pH = 0,8 (coloration rose léger du rouge crésol).

Après addition de l'enzyme, on effectue soit la titration continue en maintenant constamment le pH à sa valeur initiale, par addition de NaOH 0,01 N, soit la titration disconti-

nue, en laissant le pH s'abaisser (coloration jaune du rouge de crésol) et en le rétablissant à chaque intervalle de 5 minutes par addition de soude 0,01 N. Cette technique est plus pratique pour les dosages en série (31). L'activité cholinestérasique est déterminée par le volume de solution sodique utilisée en 20 minutes.

- Méthode avec indicateur externe : le principe est le même.

L'indicateur, le bleu de bromothymol, est disposé par gouttes sur une plaque de porcelaine. Sans rentrer dans les détails, disons simplement que cette méthode, à l'inverse de la précédente, est applicable pour les globules rouges, car leur teinte ne gêne pas dans ce cas l'observation du virage de l'indicateur (5).

- Méthode utilisant le potentiomètre. On emploie pour le titrage un pH mètre à électrodes de verre.

B/ - MESURE D'UN DEGAGEMENT GAZEUX : METHODE D'AMMON  
=====

On mesure à l'appareil de WARBURG le dégagement du gaz carbonique formé en milieu tamponné bicarbonaté. L'acide acétique agit sur le liquide de RINGER bicarbonaté en atmosphère d'azote, contenant 5p.100 de gaz carbonique.

Cette méthode est de loin la plus précise pour l'étude de la cinétique enzymatique (11). Chez les bovins, en présence d'iodure d'acétylcholine, à température de 38°C, cette méthode a permis de montrer que :

- le plasma possède non pas une activité nulle, mais seulement faible, celle-ci pouvant être inhibée par l'ésérine ;
- le sang total présente une activité cholinestérasique croissante en fonction du vieillissement et au delà de 48 heures après les prélèvements ;

- l'activité cholinestérasique du sang peut varier dans des proportions allant du simple au double, d'un individu à un autre.

C/ - DETERMINATION D'UN ABAISSEMENT DU PH.  
=====

Pour la détermination de l'abaissement du pH deux méthodes sont utilisées. La méthode électrométrique et la méthode colorimétrique.

- La méthode électrométrique

La méthode la plus largement utilisée est la méthode de MICHEL (19). La vitesse d'hydrolyse de l'acétylcholine par un échantillon de sang (hématies ou plasma) à éprouver, est mesurée par l'abaissement du pH provoqué en milieu tamponné, par la libération d'acide acétique.

Des variantes de la méthode de MICHEL (19) sont proposées par HANSON (14) (15). Cette méthode est adaptée au sang des bovins. Elle a été reprise par CHARY et Collaborateurs (6) et par RADELEFF et ses Collaborateurs (26). En plus de ces méthodes citées, nous avons aussi la méthode de ELLMAN (9)

- Méthodes colorimétriques

L'abaissement du pH est ici suivi au moyen d'un indicateur coloré. Toutes ces méthodes dérivent de celle initialement proposée par LIMPEROS et RANTA pour le contrôle des cholinestérasés du personnel employé à l'épandage des insecticides.

Pour cette expérience on constate que la solution de bleu de bromothymol vire au bleu-vert ou au jaune-brun en fonction de l'activité d'une goutte de sang (0,01 ml) réagissant avec une solution d'acétylcholine pendant 25 à 30 minutes. On réalise maintenant une série de 9 étalons colorés, correspondant à l'éventail de 0 à 100p. 100 d'activité cholinestérasique totale dans un sang normal.

Nous décrivons ici la méthode électrométrique utilisée pour

le sang des bovins par RADELEFF (26), dont les conditions expérimentales se rapprochent le plus de celle de la méthode initiale de MICHEL (19). Pour cette expérience 6 solutions sont nécessaires :

- 1 - Solution saline : 0,9p.100 de chlorure de sodium
- 2 - Saponine : 0,01p.100 dans l'eau distillée
- 3 - Solution tampon :
  - 4,1236 g de barbital sodique
  - 0,5446 g de phosphate monopotassique
  - 44,73 de chlorure de potassium

Dissoudre dans 900 ml d'eau distillée, et ajouter approximativement 28 ml d'acide chlorhydrique pour ramener le pH final à 8,10 à 25°C. Compléter au litre avec l'eau distillée.

- 4 - Acétylcholine : 2 mg de chlorure d'acétylcholine dans 100 ml d'eau distillée.
- 5 - Solution standard pour pH mètre.
- 6 - Solution d'héparine à 10 mg/ml.

#### P R O T O C O L E

- 5 ml de sang sont mis dans un tube à centrifugation gradué, contenant 0,1 ml de la solution d'héparine : on centrifuge à 1600t/mn pendant 15 mn, on élimine le plasma.
- les cellules sont mélangées à 2 ou 3 volumes de solution saline, on centrifuge pendant 15 minutes. Après avoir enlevé le surnageant, on répète l'opération et on centrifuge pendant 20 mn. On note le volume résiduel des cellules. On rajoute de la solution saline et on mélange de façon à avoir une solution de cellules à 50p.100.
- 0,4 ml de cette suspension cellulaire sont hémolysés dans 9,6 ml de la solution de saponine.
- 1 ml de la solution de cellules hémolysées, représentant 0,02 ml de cellules, est additionné de 1 ml de solution tampon dans une

coupelle de 5 ml. On mélange et on place cette coupelle dans un bain-marie à 25°C. Attendre 10 minutes pour que l'équilibre se réalise.

- le pH initial  $pH_1$  est mesuré au pH mètre à 0,1 près, puis on ajoute 0,2 ml de la solution d'acétylcholine, et on enregistre le temps. La réaction est poursuivie pendant une heure et le pH final  $pH_2$  mesuré.
- on mesure sur un tube témoin sans liquide d'hémolyse la variation de pH non enzymatique  $\Delta pH$ .
- on obtient l'activité cholinestérasique en unité pH/heure.

$$A = (pH_2 - pH_1) - \Delta pH \text{ non enzymatique}$$

### RESULTATS

Les auteurs concluent à l'absence de cholinestérase plasmatique chez les bovins et donnent des résultats de l'activité cholinestérasique érythrocytaire en variation d'unité de pH par heure.

Ces méthodes analytiques d'appréciation de l'activité cholinestérasique revêtent une importance certaine dans le diagnostic des intoxications par les insecticides organophosphorés. Elles représentent souvent l'un des seuls moyens d'établir la certitude de l'intoxication par les insecticides organophosphorés.

### III<sub>2.5</sub> - Traitement des intoxications par les insecticides organophosphorés.

Le traitement de l'intoxication par les insecticides organophosphorés découle de leur mécanisme d'action. Ce traitement dans les cas d'intoxication aiguë doit être rapide.

#### III<sub>2.5.1</sub> - Traitement spécifique

Pour ce traitement deux actions sont menées :

- combattre l'effet de l'acétylcholine
- et lever l'inhibition des cholinestérases.

Pour cela dans un premier temps, on fait appel aux parasympatholytiques, surtout le sulfate d'atropine. Ce produit est efficace pour combattre les manifestations muscariniques. L'atropine n'est efficace qu'au début des intoxications par les insecticides organophosphorés. Elle n'aura plus d'effet lorsque la phase nicotinique est atteinte. Le sulfate d'atropine est utilisé à la dose de 0,5 à 1 mg/kg de poids vif. Un quart de la dose est utilisé par la voie veineuse et le reste par la voie intra-musculaire ou sous cutanée. Ce protocole est répété toutes les 3-4 heures pendant 1-2 jours jusqu'à atropinisation qui se manifeste par une mydriase, une sécheresse des muqueuses (17). A l'atropine, CECILF<sup>r</sup> et FOURNEL (4) conseillent d'associer la diéthazine (ND Diparcol<sup>R</sup>) par la voie intra-musculaire. Ce dérivé doué d'action ganglioplégique, agit sur les effets nicotiniques des insecticides organophosphorés (asthénie, fibrillations musculaires, convulsions).

Pour lever l'inhibition des cholinestérases, on administre des réactivateurs des cholinestérases. Ces réactivateurs sont des molécules qui présentent une forte affinité pour les cholinestérases et sont porteuses d'un groupement fortement nucléophile, capable de déplacer l'organophosphoré de sa liaison avec l'enzyme. Ce processus aboutit à la libération et à la réactivation des cholinestérases. On utilise essentiellement des composés type oxime de forme:

$R - CH = N - OH$ . Le plus connu de ces composés est la pralidoxime (CONTRATHION<sup>ND</sup>). Elle est utilisée sous la forme de chlorure ou d'iode, à la dose de 50 mg/kg par la voie intraveineuse (1), (34). Ce produit sert à réduire aussi les quantités de l'atropine et accélère la reconversion des signes cliniques de l'intoxication. La pralidoxime peut être administrée pendant toute l'évolution, tou- ./.

tefois son efficacité est très supérieure en début d'évolution, pendant les premières 24 heures (17).

Comme dans tout traitement d'intoxication, le traitement éliminatoire et symptomatique sont aussi importants que le traitement spécifique.

### III 2.5.2 - Traitement éliminatoire et symptomatique

Ce traitement consiste à favoriser l'élimination du toxique. La décontamination de la peau se fait par un lavage abondant à l'eau savonneuse. Certains auteurs préconisent de couper les poils des animaux. En cas d'ingestion, on effectue un lavage de l'estomac au moyen d'eau bicarbonatée, puis on administre du charbon activé. Pour ce qui est de la contamination oculaire, on préconise d'irriguer abondamment les yeux avec du sérum physiologique.

Le traitement symptomatique est basé sur l'administration des analeptiques cardio-respiratoires (caféine, solucamphre) et de barbiturique pour combattre les convulsions.

Ce traitement ainsi décrit est souvent tardif en raison de la difficulté d'établir avec certitude le diagnostic d'une manière rapide par un non habitué.

CONCLUSION DE LA PREMIERE PARTIE

---

En conclusion, nous pouvons retenir de cette première partie que les insecticides organophosphorés, sont des esters ou des amides de l'acide orthophosphorique, qui se présentent comme des liquides incolores brunâtres, visqueux ou comme des solides incolores cristallisés. Ils sont volatiles, avec une odeur alliacée désagréable. Les insecticides organophosphorés sont en outre très peu solubles dans l'eau, mais solubles dans les solvants organiques et les lipides. Ce sont des produits instables dans l'organisme qui causent des intoxications aiguës. Le diagnostic de ces intoxications est surtout expérimental basé sur les méthodes de laboratoire.

## DEUXIEME PARTIE

### ETUDE EXPERIMENTALE

La deuxième partie de notre travail, purement expérimentale comprendra trois chapitres.

- Dans le premier chapitre, nous indiquerons le matériel dont nous avons fait usage au cours de nos expériences.
- Dans le deuxième chapitre, nous présenterons la méthode utilisée.
- Dans le troisième chapitre, nous donnerons les résultats obtenus en même temps que nous les discuterons pour en dégager les conclusions nécessaires.

## CHAPITRE I : LE MATERIEL D'ETUDE.

Le matériel utilisé au cours de nos expériences sont variés et comprend :

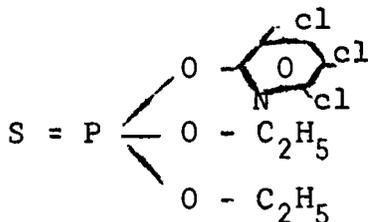
- les insecticides organophosphorés
- les solutions
- le matériel de laboratoire
- les animaux.

### I<sub>1</sub> - LES INSECTICIDES ORGANOPHOSPHORES

Pour nos expériences nous avons choisi deux insecticides organophosphorés couramment utilisés par les services de la protection des végétaux du SENEGAL, le chlorpyriphos et le fénitrothion.

#### I<sub>1.1</sub> - le chlorpyriphos

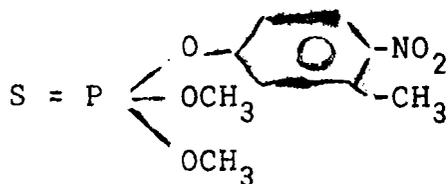
C'est un thionophosphate qui a la structure suivante :



Il se présente sous forme de concentré émulsifiable à 400 g/l de chlorpyriphos - éthyl, commercialisé sous le nom de PROCIBAN 480. Le produit est utilisé par les maraîchers contre les cochenilles. Le mode d'utilisation indiqué par le commerçant est de 10 ml par litre d'eau c'est-à-dire 400 mg de principe actif par litre. Cet insecticide se procure au niveau des grands magasins de la place sans formalités particulières.

## I<sub>1.2</sub> - Le fénitrothion

Le fénitrothion est un thionophosphate de structure générale :



C'est un insecticide de contact utilisé en agriculture et en horticulture. Il a une DL 50 rat de 250 - 500 mg/kg (25). Cet insecticide est converti partiellement en dérivé oxydé dans l'organisme (20). Lorsqu'il est administré au bétail, une faible proportion est excrétée par le lait, sous forme de dérivé aminé, et éliminé dans les urines sous la forme du dérivé initial, d'un dérivé aminé et de 4 - nitro-méta crésol (18)

Cet insecticide nous a été procuré par les services de la protection des végétaux du Sénégal. C'est un produit ULV (Ultra Low Volume) concentré à 500 g/l. Le mode d'utilisation se fait par des pompes ou bien par épandage aérien.

## I<sub>2</sub> - LES SOLUTIONS

Les solutions nécessaires à nos dosages sont variées.

### I<sub>2.1</sub> - La solution de saponine

Sa composition est la suivante :

Saponine ----- 1 g  
eau distillée qSq ---- 1 000 ml.

Cette solution de saponine à 0,1p.100, se garde au maximum un mois au réfrigérateur à + 4°C. Nous utiliserons 49,5 ml pour l'essai et 10 ml pour le blanc (témoin).

### I.2.2. - La solution tampon

Cette solution est composée par du :

- Barbitol sodique ----- 0,315 g
- Chlorure de potassium ----- 68
- Bleu de bromothymol ----- 0,142 g
- Eau distillée qsp-----1000 ml.

La solution de tampon se garde au maximum 5 jours au réfrigérateur à + 4°C. Nous utiliserons 8 ml de cette solution pour l'essai et le même volume pour le témoin. De coloration verte, son pH doit être de 8,10 environ.

Certains auteurs comme, FALCY (11) s'étaient rendus compte que le pH de cette solution conservée, pouvait descendre à 7,4. Il vaut donc mieux la préparer extemporanément. C'est ce que nous avons fait.

### I.2.3 - La solution de substrat

- Chlorure d'acétylcholine ----- 1 g
- Eau distillée qsp -----100 ml

Cette solution de chlorure d'acétylcholine à 10 mg par ml peut être conservée sans inconvénient plusieurs jours au réfrigérateur à + 4°C. Nous utiliserons 2 ml pour l'essai ; et le même volume pour le témoin.

### I.2.4 - La solution de sérum physiologique

Elle est composée par du :

- chlorure de sodium ----- 9 g
- eau distillée qsp ----- 1000 ml.

Cette solution peut<sup>être</sup> conservée pendant plusieurs semaines sans inconvénients au réfrigérateur.

### I.3 - LE MATERIEL DE LABORATOIRE

Le matériel de laboratoire comprend les objets de verrerie, les appareils et les divers. Nous ne nous étendrons pas sur la description du matériel ordinaire du laboratoire, mais nous citerons comme matériel utilisé :

- pH mètre : CORNING" de marque Américaine. Cet appareil a une sensibilité au dixième.
- un bain thermostatique : cet appareil nous permet de garder une température constante au cours de nos manipulations.
- une centrifugeuse, pour la séparation des éléments du sang
- un thermomètre, pour prendre la température des solutions à doser.
- des pipettes graduées et des pipettes "pasteur".
- des verres de montre.
- une balance, très sensible utilisée pour la pesée des échantillons
- des tubes "vénojects", contenant de l'héparinate de lithium comme anticoagulant, pour la récolte du sang.
- des aiguilles stériles.
- des flacons en verre, servant à contenir les solutions de titrage. Ces flacons conduisent à notre avis mieux la chaleur. Ceci dans le souci de réaliser nos dosages à température désirée et constante.

#### I<sub>4</sub> - LES ANIMAUX

Nos expériences ont été effectuées sur des ruminants, notamment les ovins et les bovins.

##### I<sub>4.1</sub> - les ovins

Nous avons utilisé 35 ovins pour nos expériences, subdivisés en trois groupes :

- un premier groupe d'ovins dans l'enceinte de l'Ecole Inter-Etats des Sciences et de Médecine Vétérinaires (EISMV). Ce lot est composé

de neuf moutons : cinq femelles et quatre mâles. C'est le troupeau EISMV.

- un deuxième groupe appartenant à un éleveur de la périphérie de DAKAR. C'est le troupeau DIALLO composé de huit femelles et cinq mâles.

- le troisième groupe appartenant à l'éleveur DIOUF, est composé de sept mâles et de six femelles. C'est le troupeau DIOUF.

Ce sont des moutons de race touabire, communément appelés moutons locaux.

#### I<sub>4</sub>.1.1 - Caractéristiques des ovins

##### I<sub>4</sub>.1.1.1 - Race touabire

C'est un mouton maure à poils ras. Selon DOUTRESSOU, LE cité par YEMANDJE (33), "c'est un mouton hypermétrique, convexe ligne. La taille varie de 0,75 mètre à 0,90 mètre chez le mâle, 0,65 mètre à 0,80 mètre chez la brebis.

Le poids se situe entre 30 à 45 kg". La peau de cet animal est fine. La robe est blanche ou à fond blanc plus ou moins taché de noir ou de roux. La couleur foncée occupe en général l'avant-main. Les pendeloques sont fréquentes. Les jambes longues et grêles sont terminées par de longs sabots. C'est un bon animal de boucherie. Comme toutes les races locales, le mouton touabire résiste aux différentes intempéries.

##### I<sub>4</sub>.1.1.2 - Age des ovins

Les trois groupes d'animaux utilisés sont composés par des animaux hétérogènes. L'âge varie d'un an à cinq ans. Cette détermination approximative de l'âge est faite à partir de l'examen de la dentition.

L'animal de 0 à 1 an a 8 dents de lait.

Celui de 2 ans a 6 dents de lait et 2 dents d'adulte. ./.

Celui de 3 ans a 4 dents de lait et 4 dents d'adulte.  
Celui de 4 ans a 2 dents de lait et 6 dents d'adulte.  
L'animal de 5 ans et au-delà a 8 dents d'adulte.

#### I<sub>4</sub>1.1.3 - Le poids des ovins

Le poids des animaux est un facteur prépondérant dans la détermination de la posologie des insecticides organophosphorés à administrer.

Pour nos expériences, seuls les ovins du groupe I ont fait l'objet d'une pesée. Cette pesée a été effectuée individuellement et de façon précise. Pour ce lot nous résumerons les caractéristiques dans le tableau III.

)

)

TABLEAU N° III : SEXE, AGE, POIDS DES OVINS DU GROUPE I  
(Groupe EISMV)

| GROUPE I | Désignation<br>numéro | Sexe     | Age en<br>Année | Poids<br>(kg) |
|----------|-----------------------|----------|-----------------|---------------|
|          | 1                     | mâle     | 3               | 31,5          |
|          | 2                     | "        | 3               | 34,           |
|          | 3                     | "        | 1               | 19            |
|          | 4                     | "        | 1               | 17,5          |
|          | 5                     | femelle. | 1               | 18,5          |
|          | 6                     | "        | 1               | 19            |
|          | 7                     | "        | 2               | 23            |
|          | 8                     | "        | 1               | 20            |
|          | 9                     | "        | 2               | 23            |

#### I<sub>4.1.1.4</sub> - Mode d'entretien des ovins

Les moutons du groupe I vivent en stabulation libre dans une bergerie à l'Ecole Inter-Etats des Sciences et Médecine Vétérinaires. La journée, ils se promènent dans l'enceinte de l'Ecole. L'alimentation est constituée par la paille du parcours naturel. Ils reçoivent à volonté de l'eau contenue dans des bassines.

Les moutons des deux autres groupes vivent en permanence dans leur bergerie et reçoivent comme alimentation la fane d'arachide. Comme ceux du premier groupe, ils reçoivent l'eau à volonté.

#### I<sub>4.2</sub> - les bovins

##### I<sub>4.2.1</sub> - Caractéristiques et âge

L'échantillon de bovins est représenté par 15 animaux d'âge différent et de sexe différent. Nous avons utilisé 5 taurillons d'un an ; 5 génisses de 3 ans et 5 vaches laitières de 5 ans. Ce sont des hybrides de race locale et de race pakistanaise : 7/8 de pakistanaise et 1/8 de Djakoré. Pour leur identification, ces animaux portent des boucles aux oreilles.

##### I<sub>4.2.2</sub> - Alimentation des bovins

Cette alimentation est très simple. Elle est constituée par le parcours naturel et un complément de paille de brousse en deuxième moitié de saison sèche. Les vaches laitières reçoivent en plus un complément à base de tourteaux d'arachide.

Ces animaux sont bien suivis sur le plan sanitaire. Ils ont été vaccinés contre les maladies suivantes : la peste bovine, le charbon symptomatique, la pasteurellose. Ce sont des animaux qui sont déparasités à intervalles réguliers.

#### AU BILAN

Notre étude a porté sur 35 ovins de race touabire, divisés en 3 groupes et sur 15 bovins choisis dans un troupeau bien suivi par le service de clinique ambulante de notre Etablissement.

## CHAPITRE II : METHODE D'ETUDE DE L'ACTIVITE CHOLINESTERASIQUE

Dans ce chapitre, nous étudierons :

- la technique des prélèvements de sang
- la préparation des hématies
- le mode opératoire du titrage
- le protocole de l'administration des insecticides organophosphorés.

### II<sub>1</sub> - LES PRELEVEMENTS DE SANG

Les prélèvements de sang sont effectués à la jugulaire à l'aide d'aiguilles stériles. Le sang est recueilli dans des tubes "vénojets" sous vide contenant de l'héparinate de lithium comme anticoagulant. De nombreux auteurs ont en effet montré que l'héparine interfère peu avec l'activité cholinestérasique. Nous prélevons 10 ml par animal. Après la récolte, on fait tourner légèrement le tube pour éviter la coagulation. Ces prélèvements sont effectués à la même heure, en début de matin et sont soit traités immédiatement ou alors stockés à + 4°C au réfrigérateur pendant 48 heures. Ce qui nous a permis d'étudier la stabilité de l'activité cholinestérasique.

### II<sub>2</sub> - PREPARATION DES HEMATIES

Après la récolte du sang, on laisse reposer quelques minutes avant de centrifuger, pour avoir une bonne séparation. Nous faisons une première centrifugation de 15 minutes à 3000 tours/minute. Nous éliminons le plasma surnageant. Ensuite nous procédons à un lavage du culot de centrifugation avec du sérum physiologique. Nous terminons par une deuxième centrifugation de 15 minutes à 3000 tours/minute. Le surnageant est de nouveau éliminé.

### II<sub>3</sub> - L'HEMOLYSE DES GLOBULES

Ici nous procédons à deux opérations successives : la pesée des échantillons et l'hémolyse proprement dite.

### II<sub>3.1</sub> - La pesée des échantillons

Du fait des difficultés d'aspirer les hématies à l'aide des pipettes graduées, nous avons choisi de peser l'équivalent de 0,5 ml d'hématie. Après une série de pesées, nous avons estimé ce volume à 0,530 mg. Cette pesée est effectuée dans des verres de montre sur une balance très sensible. Le prélèvement des hématies est effectué au fond du culot à l'aide des pipettes "pasteur". Les différents échantillons sont ensuite hémolysés.

### II<sub>3.2</sub> - L'hémolyse des hématies

L'hémolyse des hématies est effectuée en les portant dans 49,5 ml d'une solution aqueuse de saponine à 0,1p.100. On obtient ainsi un hémolysat au centième.

### II<sub>4</sub> - LE MODE OPERATOIRE DU TITRAGE

La réaction de titrage est effectuée à la température de 25°C. Cette température est maintenue stable grâce à un bain thermostaté. Avant chaque série de dosage, il convient de vérifier que la température affichée dans le bain est identique à celle de la solution contenue dans les flacons de dosage. Il est important alors d'attendre que l'équilibre thermique se réalise, surtout lorsque les solutions de saponine, de tampon ou du substrat viennent d'être retirées du réfrigérateur.

Le titrage est effectué dans des petits flacons qui conduisent bien la chaleur. Nous avons chaque fois vérifié que la température de 25°C est maintenue entre le bain et les solutions des flacons. Les mesures électrométriques sont effectuées à l'aide du pH mètre. Les quantités de réactif utilisées sont les suivantes :

- A 10 ml d'hémolysat, nous ajoutons 8 ml de la solution tampon. Les flacons contenant les solutions de titrage sont plongés dans le bain thermostaté. Nous attendons que la température soit stabilisée.

- Ensuite le flacon est porté sur le plateau du pH mètre en y plongeant les électrodes.
- 2 ml de substrat (solution de chlorure d'acétylcholine à 1p.100) sont versés dans le flacon tout en agitant. Nous notons immédiatement le pH qui servira de pH d'origine au temps zéro.
- Nous opérons ensuite de la même manière sur toute une série d'échantillons, de façon qu'au temps  $t = 30$  minutes et  $t = 60$  minutes nous puissions mesurer le pH final du premier échantillon, puis celui des autres 30 minutes et 60 minutes, exactement après la première mesure.

En toute rigueur, il faut effectuer au début et à la fin de chaque série, un titrage dans un flacon témoin. Pour cela, à 8 ml de la solution tampon, on ajoute à la place de l'hémolysat 10 ml de la solution de saponine,, puis 2 ml de substrat, en effectuant des mesures dans les mêmes conditions. Ceci permet de mesurer la variation de pH imputable à l'hydrolyse spontanée de l'acétylcholine, sans intervention de l'enzyme. Certaines conditions sont à observer au cours du titrage.

#### II<sub>4.1</sub> - Conditions requises pour le titrage

Pour nos expériences, il faut que certaines conditions soient remplies pour avoir de bons résultats.

- la concentration du substrat : la vitesse de réaction est proportionnelle à la concentration en substrat.
- la nature du substrat : la vitesse d'hydrolyse varie avec le substrat utilisé. Nous avons utilisé principalement le chlorure d'acétylcholine qui est souvent recommandé.
- le pH du tampon : le pH optimum du tampon d'hydrolyse est de 7,5 à 8,5. Pendant la détermination, son pH ne doit pas varier.
- la température du milieu : il importe de maintenir la température du milieu constante pendant toute la durée du titrage.

- présence d'ions métalliques : la présence d'ions  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Mg}^{++}$  dans le plasma ou les globules rouges, semble suffisante, à condition, lors des prélèvements du sang de choisir l'héparine comme anticoagulant.
- la conservation des échantillons : il est préférable de réaliser le dosage des échantillons dans les 48 heures qui suivent le prélèvement. En effet, nos études préliminaires ne nous ont pas montré des variations importantes au bout de 48 heures, si les échantillons sont bien conservés, à + 4°C.

## II<sub>5</sub> - PROTOCOLE DE L'INTOXICATION DES ANIMAUX

Pour déterminer l'action des insecticides organophosphorés sur l'activité cholinestérasique, nous avons intoxiqué un échantillon de moutons. Seuls les ovins du groupe I (EISMV) ont fait l'objet de cette intoxication expérimentale. Les doses administrées sont variables d'un animal à l'autre.

### III<sub>5.1</sub> - Doses de l'insecticide administrées

Les animaux une fois identifiés et pesés la veille, la détermination des doses est faite en fonction de leurs poids respectifs. Pour éviter une intoxication aiguë nous avons utilisé un dixième (1/10) de la DL 50 (dose létale 50) pour chacun des deux produits utilisés. Les doses sont consignées dans le tableau IV. Pour aboutir à ces doses, des calculs ont été nécessaires. Nous prenons pour exemple la dose de chlorpyriphos administrée à l'animal n° 1. La DL 50 du chlorpyriphos pour les petits ruminants est de 500 mg/kg per os. Nous administrons 1/10 de la DL 50 ; ce qui revient à 50 mg/kg.

L'animal n° 1 pesant 31,5 kg la dose nécessaire est de  $31,5 \times 50 = 1575$  mg. Le chlorpyriphos a une concentration de 400 mg/ml, alors, le volume total à administrer sera de 3,93 ml.

Le deuxième produit, le fénitrothion est concentré à 500 mg/ml. N'ayant pas de DL 50 mouton pour ce produit, nous avons par extrapolation pris la DL 50 souris par la voie per cutanée qui est de 1300 mg/kg. Le dixième de la DL 50 est alors de 130 mg/kg.

La brebis n° 6 que nous prenons comme exemple pèse 19 kg. La dose à administrer sera alors de  $19 \times 130 = 2470$  mg soit en volume 4,94 ml.

La voie d'administration joue un rôle important dans la toxicité du produit.

## II<sub>5.2</sub> - La voie d'administration

Comme voie d'administration nous avons fait appel aux deux principales par lesquelles, les intoxications par les insecticides organophosphorés sont les plus fréquentes : la voie per cutanée et la voie per os. Le chlorpyrifos est administré par la voie orale car ce produit est utilisé par les maraîchers, donc les risques d'intoxication par ingestion devraient à notre avis être les plus fréquents.

Le fénitrothion a été utilisé par la voie per cutanée. Le produit étant utilisé par pulvérisation aérienne par les services de la protection des végétaux, nous pensons que les risques d'intoxication par contact seraient plus importants. En plus, c'est un produit ULV donc très concentré et dans un solvant huileux.

Pour administrer le chlorpyrifos nous avons procédé de la manière suivante. Les solutions sont préparées dans des bouteilles, chaque mouton avec sa bouteille. Une fois l'animal maîtrisé, l'abreuvement est fait au goulot pour éviter les pertes.

Pour le fénitrothion le produit est appliqué sur la ligne dorsale. Nous avons pris le soin de bien raser ce lieu pour permettre une bonne pénétration. Après la dernière application ce lieu a été lavé à l'eau, abondamment.

./.

TABLEAU N° IV : DOSES ET VOIE D'ADMINISTRATION DU CHLORPYRIPHOS  
ET DU FENITROTHION AUX ANIMAUX D'EXPERIENCE

| NUMEROS DES ANIMAUX | INSECTICIDE UTILISE      | VOIE D'ADMINISTRATION | POIDS DES ANIMAUX EN (kg) | QUANTITE A INJECTER (mg / kg) | VOLUME TOT. A INJECTER (ml) |
|---------------------|--------------------------|-----------------------|---------------------------|-------------------------------|-----------------------------|
| 1                   | Chlorpyriphos            | per os                | 31,5                      | 1575                          | 3,9                         |
| 2                   | "                        | "                     | 34                        | 1700                          | 4,25                        |
| 3                   | "                        | "                     | 19                        | 950                           | 2,4                         |
| 4                   | "                        | "                     | 17,5                      | 875                           | 2,2                         |
| 5                   | Fénitrothion, 500 mg /ml | per cutané            | 18,5                      | 2450                          | 4,9                         |
| 6                   | "                        | "                     | 19                        | 2470                          | 4,9                         |
| 7                   | "                        | "                     | 23                        | 2990                          | 5,9                         |
| 8                   | "                        | "                     | 20                        | 2600                          | 5,2                         |
| 9                   | "                        | "                     | 23                        | 2990                          | 5,9                         |

II<sup>5.3</sup> - Protocole des prélèvements du sang des animaux intoxiqués.

L'intoxication avec le chlorpyriphos a commencé le 30 décembre 1986 et a duré 7 jours. Les prélèvements se font tous les trois jours et ont duré 26 jours.

Pour le fénitrothion, elle a commencé le 21 janvier 1987 et a duré 7 jours. Les prélèvements se font tous les 3 jours durant les 4 premières semaines et une semaine d'intervalle pour les deux dernières semaines. Ces prélèvements ont duré 42 jours. Le protocole est résumé dans la figure 7.



Le détail des résultats est consigné dans notre prochain chapitre.

## II<sub>6</sub> - RECHERCHE DU NIVEAU DE REFERENCE

Avant de réaliser les intoxications, nous avons apprécié le niveau de référence chez les animaux du groupe I. Pour ce faire, sur chaque animal, nous avons réalisé 3 dosages à une semaine d'intervalle. Ceci nous a permis, outre d'avoir une idée sur le niveau de référence, de voir, les variations possibles d'un jour à l'autre. Ensuite, ce niveau de référence des animaux du groupe I a été comparé à celui des animaux des 2 autres groupes.

## CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS

Dans ce chapitre, nous présenterons les résultats obtenus pour ensuite les discuter.

### III<sub>1</sub> - LES RESULTATS.

Les résultats du dosage de l'activité cholinestérasique érythrocytaire chez les animaux des groupes I avant et après intoxication, du groupe II et du groupe III sont consignés dans les tableaux V, VI, VII, IX, X.

Dans un premier temps nous présentons les valeurs de référence, ensuite les valeurs trouvées après intoxication.

#### III<sub>1.1</sub> - Valeurs de référence

Pour les ovins du groupe EISMV nous avons présenté dans le tableau V les valeurs de référence et les variations individuelles.

Les tableaux VI, VII, VIII représentent les résultats des valeurs de référence des ovins du groupe II et III et ceux des bovins.

TABLEAU N° V : VALEURS DE REFERENCE DES OVINS DU GROUPE I (groupe EISMV)

ET LES VARIATIONS INDIVIDUELLES

| NUMERO | AGE<br>(année) | pH 30 et 60 mn (température : 25°C) |             |             |         |      |      |      |      |                 |      |
|--------|----------------|-------------------------------------|-------------|-------------|---------|------|------|------|------|-----------------|------|
|        |                | 1er contrôle                        | 2e contrôle | 3e contrôle | moyenne |      |      |      |      |                 |      |
| 1      | 3              | 0,60                                | 1,00        | 0,55        | 1,00    | 0,55 | 1,10 | 0,55 | 1,05 | $\sigma = 0,03$ | 0,06 |
| 2      | 3              | 0,60                                | 1,05        | 0,65        | 1,05    | 0,60 | 1,15 | 0,60 | 1,05 | $\sigma = 0,03$ | 0,06 |
| 3      | 1              | 0,50                                | 0,95        | 0,50        | 1,00    | 0,50 | 1,10 | 0,50 | 1,05 | $\sigma = 0,03$ | 0,06 |
| 4      | 1              | 0,45                                | 0,85        | 0,45        | 0,90    | 0,45 | 1,00 | 0,45 | 0,90 | $\sigma = 0,08$ | 0,08 |
| 5      | 1              | 0,55                                | 1,15        | 0,55        | 1,10    | 0,55 | 1,10 | 0,55 | 1,10 | $\sigma = 0,03$ | 0,03 |
| 6      | 1              | 0,45                                | 1,05        | 0,50        | 1,05    | 0,55 | 1,10 | 0,50 | 1,05 | $\sigma = 0,04$ | 0,02 |
| 7      | 2              | 0,50                                | 1,15        | 0,45        | 1,00    | 0,55 | 1,05 | 0,50 | 1,05 | $\sigma = 0,04$ | 0,06 |
| 8      | 1              | 0,50                                | 1,15        | 0,50        | 1,00    | 0,50 | 1,00 | 0,50 | 1,05 | $\sigma = 0,07$ | 0,07 |
| 9      | 2              | 0,55                                | 1,20        | 0,60        | 1,05    | 0,55 | 1,15 | 0,55 | 1,10 | $\sigma = 0,02$ | 0,06 |

$\sigma$  = écart type

TABLEAU N° VI : VALEUR DE REFERENCE DES OVINS  
DU GROUPE II (troupeau DIALLO)

| Numero | Sexe    | Age (année) | $\Delta$ pH à (25°C) |       |
|--------|---------|-------------|----------------------|-------|
|        |         |             | 30 mn                | 60 mn |
| 11     | mâle    | 2           | 0,60                 | 1,15  |
| 12     | mâle    | 1,5         | 0,55                 | 1,20  |
| 13     | mâle    | 1,5         | 0,55                 | 1,10  |
| 14     | mâle    | 2           | 0,60                 | 1,15  |
| 15     | mâle    | 1,5         | 0,60                 | 1,05  |
| 16     | femelle | 3           | 0,50                 | 1,10  |
| 17     | femelle | 2           | 0,45                 | 0,90  |
| 18     | femelle | 5           | 0,60                 | 1,5   |
| 19     | femelle | 2           | 0,50                 | 1,00  |
| 20     | femelle | 2           | 0,45                 | 1,00  |
| 21     | femelle | 1,5         | 0,45                 | 0,90  |
| 22     | femelle | 3           | 0,60                 | 1,10  |
| 23     | femelle | 3           | 0,55                 | 1,15  |

TABLEAU N° VII : VALEURS DE REFERENCE DES OVINS  
DU GROUPE III (troupeau DIOUF).

| Numéro | Sexe    | Age (Année) | $\Delta$ pH : Température (25°C) |       |
|--------|---------|-------------|----------------------------------|-------|
|        |         |             | 30 mn                            | 60 mn |
| 31     | mâle    | 3           | 0,55                             | 1,00  |
| 32     | mâle    | 3           | 0,5                              | 0,95  |
| 33     | femelle | 5           | 0,60                             | 1,05  |
| 34     | femelle | 3           | 0,55                             | 1,00  |
| 35     | femelle | 2           | 0,60                             | 1,05  |
| 36     | mâle    | 2           | 0,40                             | 0,80  |
| 37     | femelle | 5           | 0,40                             | 0,75  |
| 38     | femelle | 2           | 0,55                             | 1,00  |
| 39     | mâle    | 1           | 0,40                             | 0,85  |
| 40     | femelle | 2           | 0,50                             | 1,05  |
| 41     | mâle    | 2           | 0,45                             | 1,00  |
| 42     | mâle    | 3           | 0,45                             | 0,95  |
| 43     | mâle    | 1           | 0,60                             | 1,10  |

Nous notons les faits suivants :

Les valeurs moyennes de l'activité cholinestérasique normale des 35 ovins obtenus par la méthode que nous avons décrite sont de 0,50 exprimée en variation de pH en 30 minutes et de 1,05 exprimée en variation de pH en 60 minutes et à 25°C.

Les écarts types sont, pour la variation de pH en 30 minutes de 0,05 et, pour la variation de pH en 60 minutes de 0,10. Si maintenant nous suivons les différentes mesures chez un même animal comme le montre le tableau IV, nous constatons que les variations individuelles sont fort peu importantes. Les mesures effectuées successivement sur les 35 animaux ne nous montrent pas là non plus des variations très importantes.

A 30 minutes les valeurs vont de 0,40 à 0,65 avec une moyenne sur l'ensemble, de 0,50, écart type de 0,05, tandis qu'à une heure les valeurs vont de 0,75 à 1,20 avec un écart de 0,10. Nous avons donc préféré garder le temps à 30 mn pour les mesures après l'intoxication.

A notre avis, il n'y a pas de grandes variations individuelles qui puissent interférer avec l'inhibition des cholinestérases par les insecticides organophosphorés.

TABLEAU N° VIII : VALEURS OBTENUES CHEZ LES BOVINS

| Numéro | Sexe    | Age (année) | pH : Température (25°C) |       |
|--------|---------|-------------|-------------------------|-------|
|        |         |             | 30 mn                   | 60 mn |
| 51     | mâle    | 1           | 0,75                    | 1,35  |
| 52     | mâle    | 1           | 0,75                    | 1,25  |
| 53     | mâle    | 1           | 0,70                    | 1,05  |
| 54     | mâle    | 1           | 0,85                    | 1,40  |
| 55     | mâle    | 1           | 0,80                    | 1,40  |
| 56     | femelle | 3           | 0,80                    | 1,35  |
| 57     | femelle | 3           | 0,70                    | 1,15  |
| 58     | femelle | 3           | 0,50                    | 0,80  |
| 59     | femelle | 3           | 0,75                    | 1,25  |
| 60     | femelle | 3           | 0,80                    | 1,30  |
| 61     | femelle | 5           | 0,70                    | 1,25  |
| 62     | femelle | 5           | 0,80                    | 1,35  |
| 63     | femelle | 5           | 0,75                    | 1,35  |
| 64     | femelle | 5           | 0,75                    | 1,40  |
| 65     | femelle | 5           | 0,80                    | 1,40  |

Nous notons les faits suivants :

Les valeurs moyennes de l'activité cholinestérasique normale des bovins, obtenues par la méthode que nous avons décrite est de :

0,75 exprimée en variation de pH en 30 minutes et, de 1,25 exprimée en variation de pH en 60 minutes avec, des écarts types pour 30 minutes de 0,05 et pour 60 minutes de 0,15.

### III<sub>1.2</sub> - Résultats après traitement aux organophosphorés

Les résultats obtenus après intoxication par le chlorpyrifos par voie per os et le fénitrothion par voie cutanée, sont consignés dans les tableaux IX et X et, représentés sur les graphiques I,II, III et IV pour l'intoxication per os par le chlorpyrophos et V, VI, VII et VIII pour l'intoxication par voie per cutanée par le fénitrothion.

TABLEAU N° IX : VARIATIONS DE PH APRES INTOXICATION PAR LE  
CHLORPYRIPHOS ET POURCENTAGE DE L'ACTIVITE  
CHOLINESTERASIQUE

| Ani-<br>mal<br>N° | Valeur de<br>référence | VALEURS APRES INTOXICATION |        |      |      |      |      |      |      |         |  |
|-------------------|------------------------|----------------------------|--------|------|------|------|------|------|------|---------|--|
|                   |                        | 31.12.86                   | 3.1.87 | 6    | 9    | 12   | 15   | 18   | 21   | 24.1.87 |  |
| 1                 | * 0,55                 | * 0,30                     | 0,25   | 0,20 | 0,20 | 0,30 | 0,35 | 0,40 | 0,45 | 0,50    |  |
|                   | **100                  | **54,5                     | 45,4   | 36,3 | 36,3 | 54,5 | 63,6 | 72,7 | 81,8 | 90,9    |  |
| 2                 | * 0,60                 | * 0,30                     | 0,20   | 0,15 | 0,15 | 0,25 | 0,35 | 0,40 | 0,45 | 0,50    |  |
|                   | **100                  | **50                       | 33,3   | 25   | 25   | 41,7 | 58,3 | 66,7 | 75   | 83,3    |  |
| 3                 | *+ 0,50                | * 0,25                     | 0,15   | 0,05 | 0,10 | 0,20 | 0,25 | 0,35 | 0,45 | 0,45    |  |
|                   | **100                  | **50                       | 30     | 10   | 20   | 40   | 50   | 70   | 90   | 90      |  |
| 4                 | * 0,45                 | * 0,30                     | 0,20   | 0,10 | 0,15 | 0,25 | 0,30 | 0,35 | 0,35 | 0,40    |  |
|                   | **100                  | **66,7                     | 44,4   | 22,2 | 33,3 | 55,6 | 66,7 | 77,8 | 77,8 | 88,8    |  |

\* : Variation du ph en 30 mn

\*\* : Pourcentage de l'activité cholinestérasique

TABLEAU N° X : VARIATIONS DE PH OBTENUE APRES INTOXICATION PAR LE FENITROTHION  
ET POURCENTAGE DE L'ACTIVITE CHOLINESTERASIQUE

| Anim. N° | Valeur de référ. | VALEURS           |                   |              |              |                  |              |              |              |              |              |              |  |
|----------|------------------|-------------------|-------------------|--------------|--------------|------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--|
|          |                  | 22.0.87           | 25                | 28           | 31           | 03/02            | 6            | 9            | 12           | 15           | 25           | 03.03.87     |  |
| 5        | * 0,55<br>** 100 | * 0,50<br>** 90,9 | * 0,50<br>** 90,9 | 0,45<br>81,8 | 0,35<br>63,6 | MORT DE L'ANIMAL |              |              | N° 5         | -            | -            | -            |  |
| 6        | * 0,50<br>** 100 | 0,45<br>90        | 0,35<br>70        | 0,20<br>40   | 0,15<br>30   | 0,20<br>40       | 0,25<br>50   | 0,30<br>60   | 0,35<br>70   | 0,35<br>70   | 0,35<br>70   | 0,35<br>70   |  |
| 7        | * 0,50<br>** 100 | 0,50<br>100       | 0,40<br>80        | 0,35<br>70   | 0,20<br>40   | 0,20<br>40       | 0,30<br>60   | 0,35<br>70   | 0,40<br>80   | 0,40<br>80   | 0,45<br>90   | 0,45<br>90   |  |
| 8        | * 0,50<br>** 100 | 0,45<br>90        | 0,40<br>80        | 0,35<br>70   | 0,20<br>40   | 0,30<br>60       | 0,30<br>60   | 0,35<br>70   | 0,40<br>80   | 0,45<br>90   | 50<br>100    | 50<br>100    |  |
| 9        | * 0,55<br>** 100 | 0,50<br>90,9      | 0,45<br>81,8      | 0,30<br>54,5 | 0,20<br>36,3 | 0,20<br>36,3     | 0,25<br>45,4 | 0,30<br>54,5 | 0,35<br>63,6 | 0,45<br>81,8 | 0,45<br>81,8 | 0,45<br>81,8 |  |

\* : Variation du ph en 30 mn  
 \*\* = Pourcentage d'activité cholinestérasique.

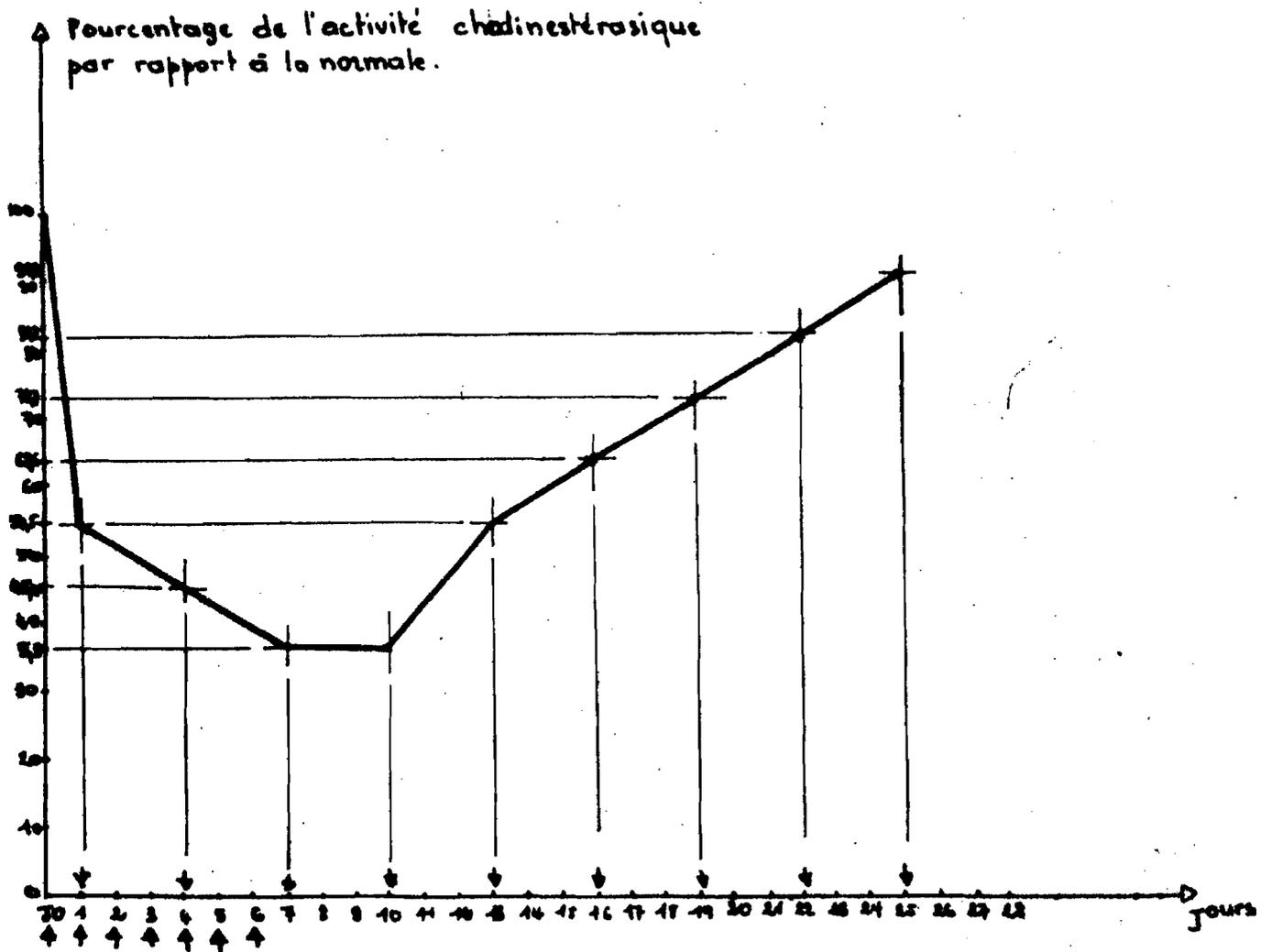
Nous signalons que le mouton n° 5 du groupe I est mort au cours de nos expérimentations. Cette mort n'est pas consécutive à l'administration du fénitrothion.

En effet, celui-ci est mort des mauvais traitements que lui ont fait subir des enfants à la suite d'une divagation hors de l'enceinte de notre Etablissement.

L'animal n° 6 a été le plus touché durant les expérimentations. Il commença une diarrhée le deuxième jour des intoxications qui prit fin 13 jours après, sans traitement.

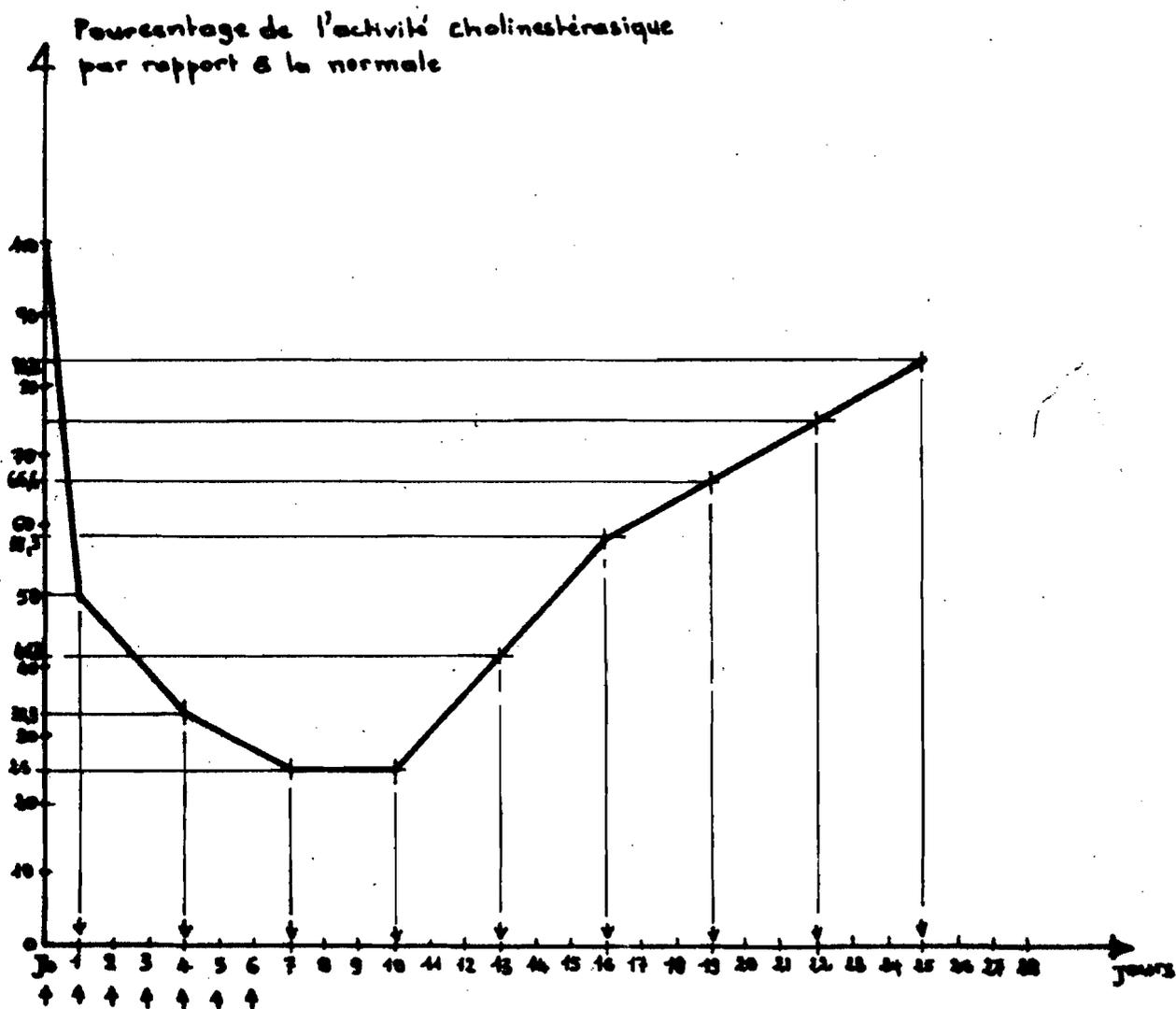
Malgré les quantités importantes absorbées durant les sept jours d'intoxication, les autres moutons n'ont présenté aucun signe particulier.

Nous avons particulièrement recherché des signes d'intoxication chronique caractérisés par des variations dans la démarche et même par des paralysies.



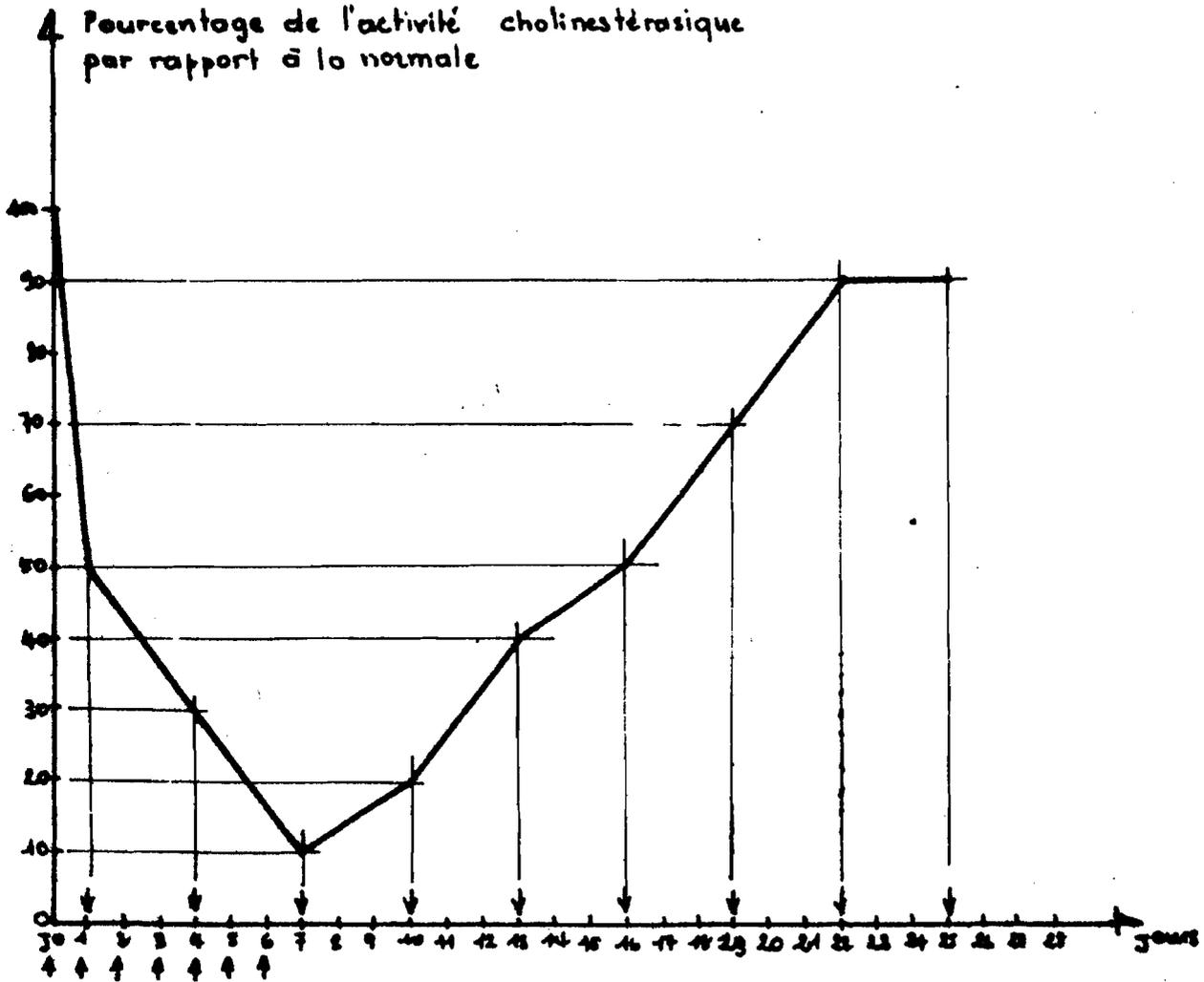
Graphique I: évolution de l'activité cholinestérasique chez le mouton N°1 après intoxication per os par le chlorpyrifos

- ↓ Prélèvement
- ↑ traitement avec 50mg/kg de chlorpyrifos voie per os.



Graphique I : évolution de l'activité cholinestérasique chez le mouton n°2 après intoxication per os par le chlorpyrifos.

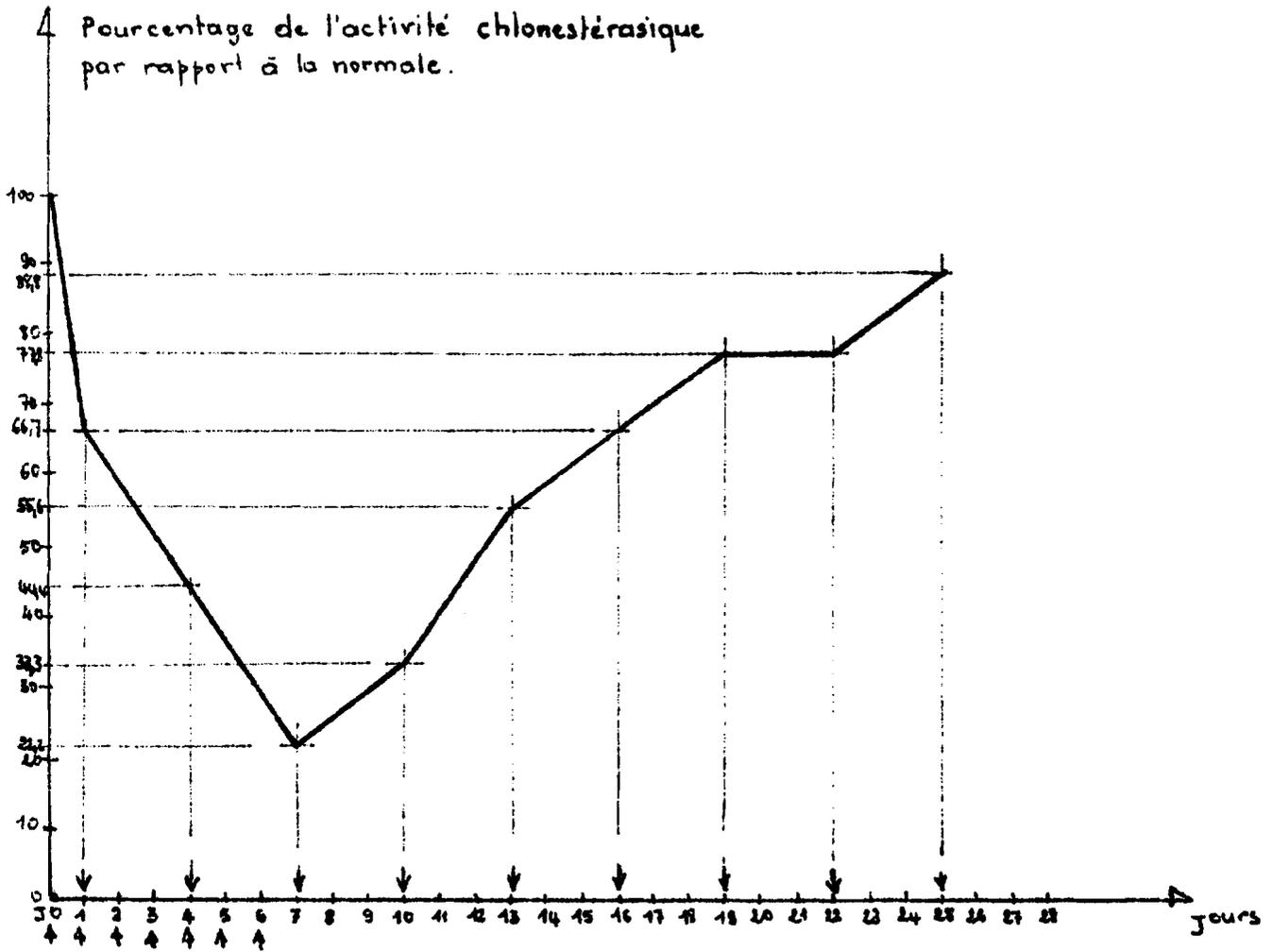
- ↓ prélèvement
- ↑ traitement avec 50 mg/kg de chlorpyrifos, voie per os.



Graphique III : évolution de l'activité cholinestérasique chez le mouton N°3 après intoxication per os par le chlorpyrifos

- ↓ Prélèvement

- ↑ traitement avec 50 mg / kg de chlorpyrifos voie per os.



Graphique IV : évolution de l'activité cholinestérasique chez le mouton N°4 après intoxication per os par le chlorpyrifos.

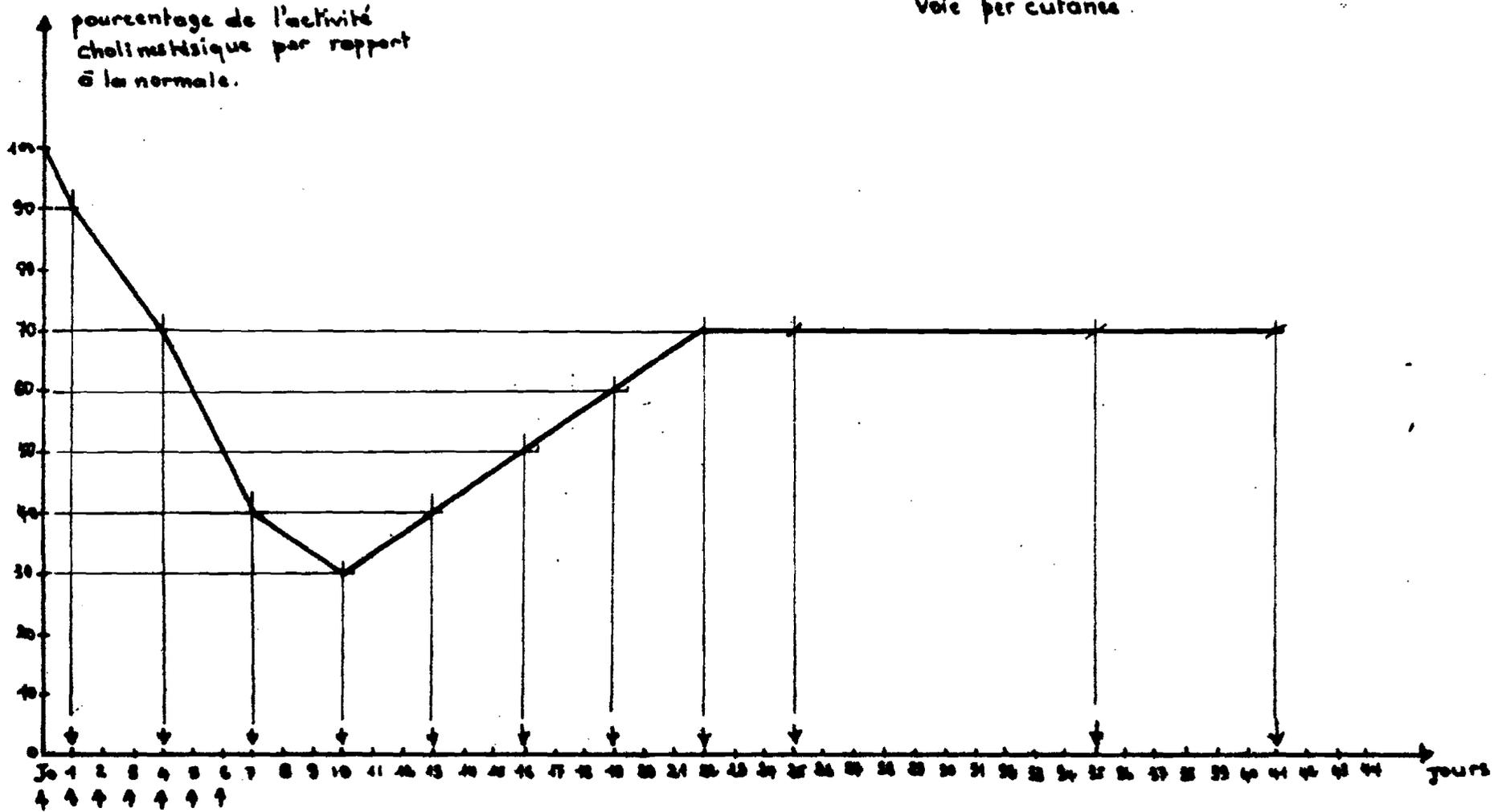
- ↓ Prélèvement
- ↑ traitement avec 50mg/kg de chlorpyrifos voie per os.

**Graphique V :** Evolution de l'activité cholinestérasique  
 chez la brebis N° 6 après intoxication  
 per-cutanée par le fénitrothion

- ↓ Prélèvement

- ↑ traitement avec 150 mg/kg de Fénitrothion :  
 Voie per-cutanée.

- 77 -

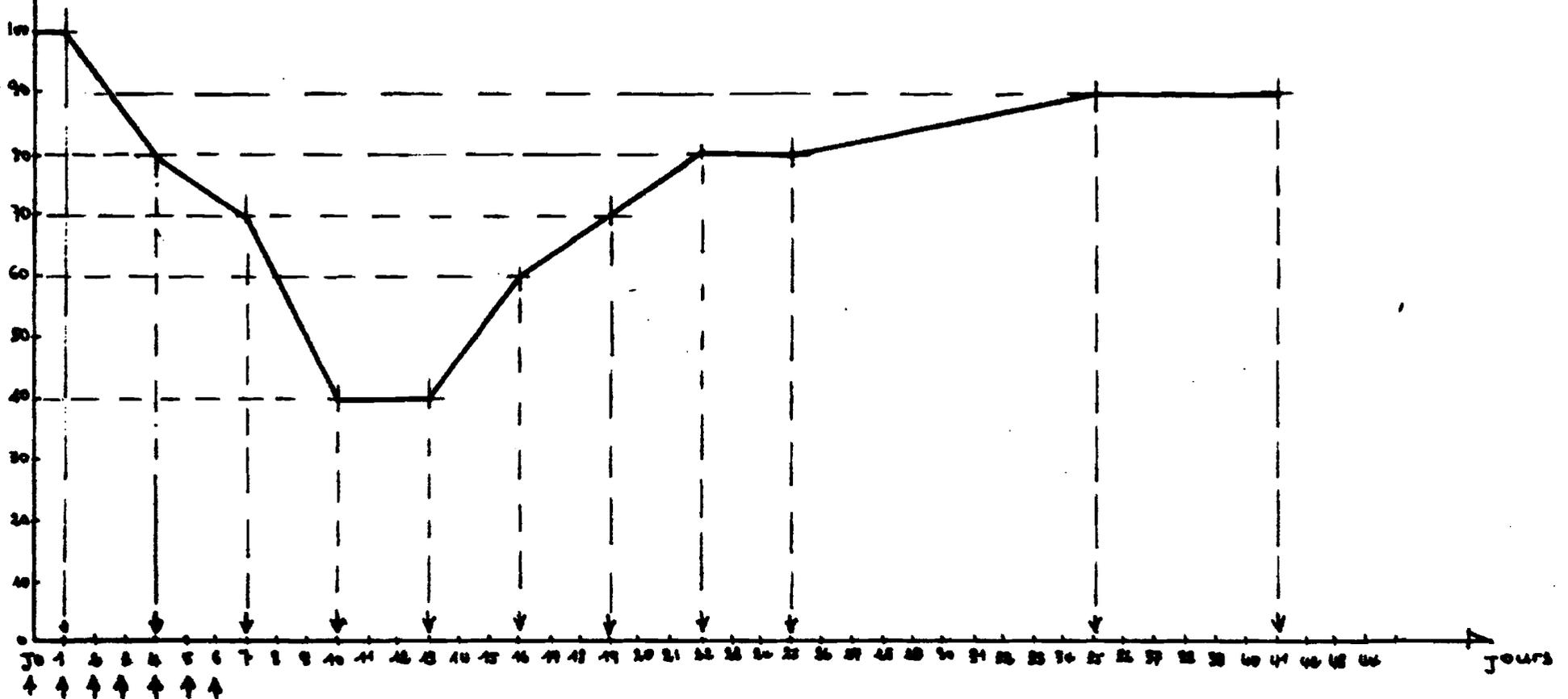


Graphique VI : Evolution de l'activité cholinestératique  
 chez la brebis N27 après intoxication  
 per cutanée par le fénitrothion.

- ↓ prélèvement
- ↑ traitement avec 130 mg/kg de fénitrothion  
 voie per cutanée

▲ Pourcentage de l'activité cholinestératique  
 par rapport à la normale.

- 78 -

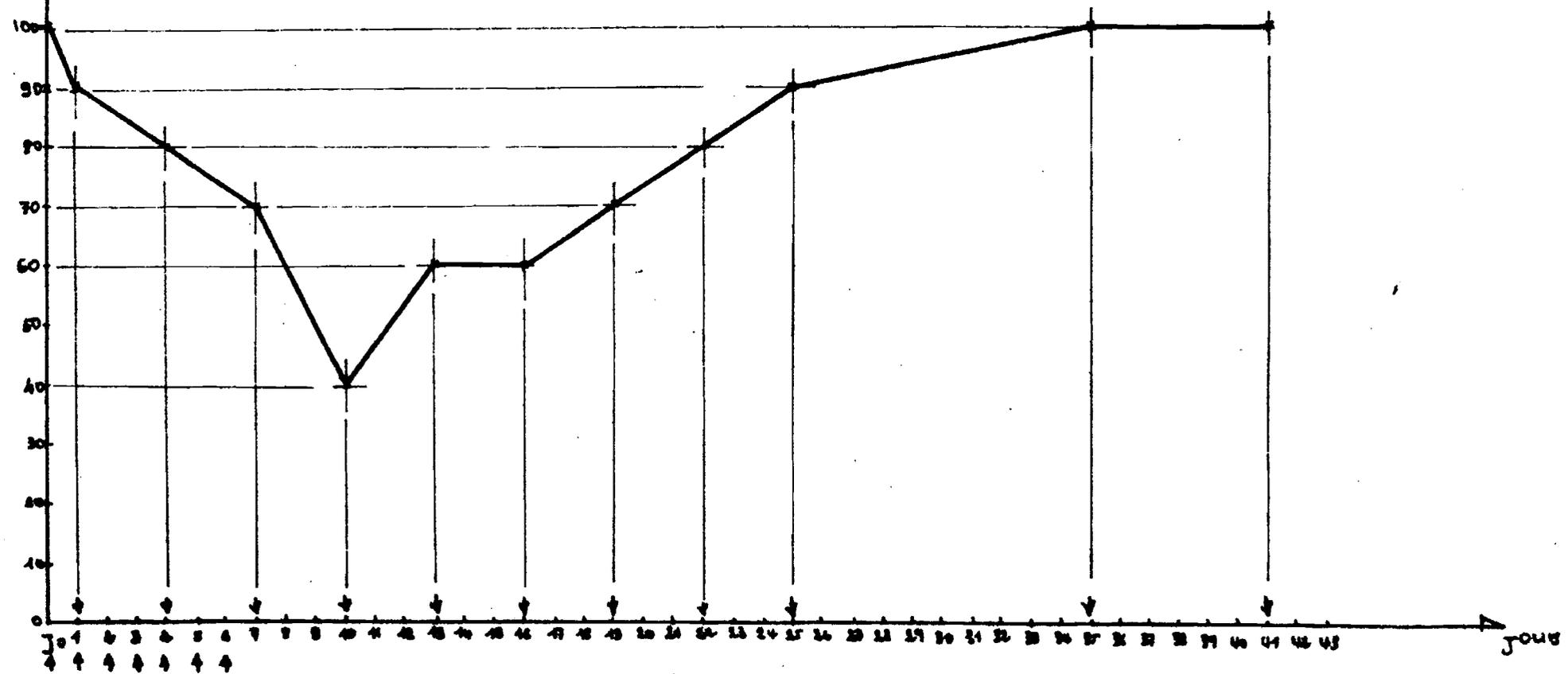


Graphique VII : Evolution de l'activité cholinestérasiq  
 chez le brebis n°8 après intoxication  
 per cutanée par le fénitrothion.

↓ Prélèvement

↑ traitement avec 130mg/kg de fénitrothion:  
 voie per cutanée.

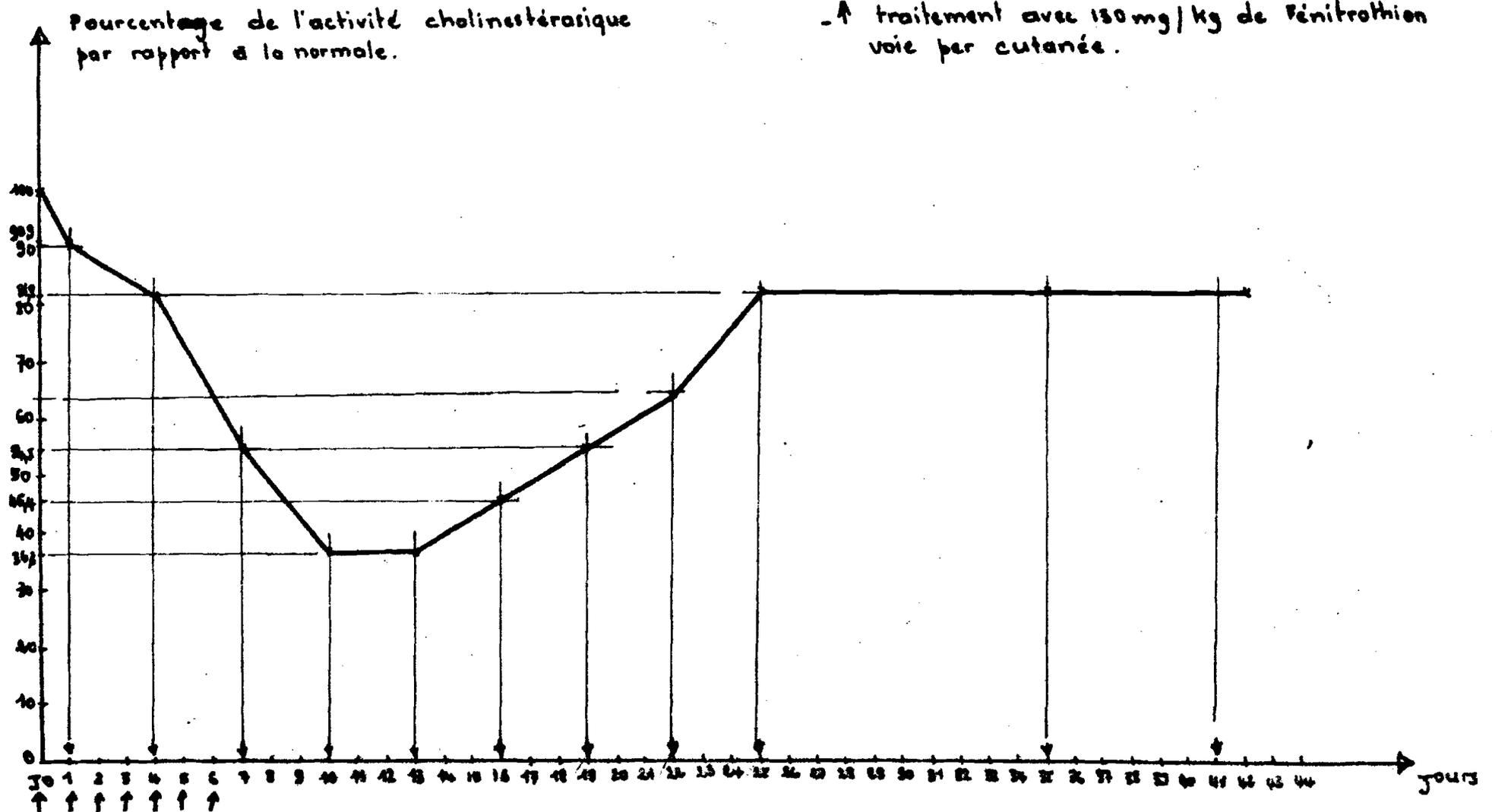
▲ Pourcentage de l'activité cholinestérasiq  
 par rapport à la normale.



Graphique VIII : Evolution de l'activité cholinestérasique  
 chez la brebis N°9 après intoxication  
 par cutanée par la fénitrothion.

- ↓ prélèvement.

- ↑ traitement avec 150 mg/kg de fénitrothion  
 voie per cutanée.



### III<sub>2</sub> - DISCUSSION :

Nous remarquons qu'avec le chlorpyrifos, utilisé par la voie per os, la dépression de l'activité cholinestérasique érythrocytaire est rapide. En analysant les graphiques I, II, III et IV, nous constatons déjà une diminution importante après la première dose de 50 mg/kg.

Après 4 doses, la dépression de l'activité cholinestérasique dépasse 50p.100 et atteint même 90p.100 pour le mouton n° 3.

Après l'arrêt de l'intoxication, nous remarquons que la reprise est plus ou moins rapide. Cette remontée de l'activité cholinestérasique s'étale dans le temps. Nous remarquons que 20 jours après l'arrêt des intoxications, l'activité cholinestérasique n'est pas revenue à son niveau initial. Nous savons que la dépression de l'activité cholinestérasique sanguine est un témoin de la sévérité de l'intoxication par les insecticides organophosphorés. Cependant comme le montre l'analyse de nos résultats, son importance n'est pas toujours en relation directe avec le tableau clinique.

La réduction sévère (90p.100 pour l'animal n° 3) peut être tolérée sans signe de toxicité clinique observable.

En ce qui concerne le fénitrothion utilisé par la voie per cutanée, nous constatons que la dépression est très lente en début de traitement. L'action d'une seule dose est souvent peu perceptible. La dépression est progressive et ne dépasse 50p.100 que 7 jours après le début des intoxications. La reprise de l'activité cholinestérasique, comme lors de la dépression est très lente après les intoxications. Nous pouvons expliquer ici que cette reprise longue et lente est due au fait que même après l'arrêt de l'intoxication l'animal continue à s'intoxiquer avec de petites doses du produit qui continue certainement de diffuser.

La récupération complète de l'activité cholinestérasique est longue. Nous avons constaté que 35 jours après l'arrêt des intoxications, seul l'animal n° 8 a récupéré complètement.

Si nous comparons les voies d'administration, nous pouvons dire que la dépression est plus rapide avec l'utilisation du produit par la voie orale, mais aussi que la récupération se fait plus rapidement que l'administration du produit par la voie per cutanée.

Pour les deux voies, nous remarquons que la réduction importante de l'activité enzymatique est tolérée sans signe de toxicité, si l'organophosphoré est administré à petites doses pendant un temps prolongé.

C O N C L U S I O N     G E N E R A L E

=====

La connaissance de l'activité cholinestérasique du sang, chez les ruminants "normaux" est utile pour le diagnostic de l'intoxication par les composés organophosphorés. Ces produits font l'objet de nos jours, d'une large utilisation sur le plan sanitaire agricole et vétérinaire.

Nous avons décrit diverses méthodes utilisables et choisi la méthode électrométrique de MICHEL (19) en y apportant des modifications pour l'adapter aux conditions de travail du laboratoire de toxicologie de l'Ecole Inter-Etats des Sciences et Médecine Vétérinaires de DAKAR.

Ce travail a porté sur 35 moutons de race locale et 15 bovins hybrides.

- Il s'agissait d'abord de mesurer l'activité cholinestérasique des animaux dans les conditions physiologiques sans contact récent connu avec les insecticides organophosphorés.
- Il s'agissait ensuite, après administration à 4 moutons, de 50 mg/kg par jour et pendant 7 jours par la voie orale de chlorpyrifos, d'apprécier l'activité cholinestérasique érythrocytaire.
- Il s'agissait enfin, après administration à 5 moutons, de 130 mg/kg par jour et pendant 7 jours par la voie per cutanée de fénitrothion, d'apprécier l'activité cholinestérasique érythrocytaire.

A la lumière de nos résultats, il ressort que :

- les valeurs moyennes de l'activité cholinestérasique érythrocytaire normale" des 35 ovins sont de :  $0,50 \pm 0,05$   
exprimée en variation de pH en 30 minutes et de  $1,05 \pm 0,10$   
exprimée en variation de pH en 60 minutes et à la température de 25°C.  
Alors que ces moyennes sont pour les 15 bovins de  $0,75 \pm 0,05$  exprimée en variation de pH en 30 minutes et de  $1,25 \pm 0,15$  exprimée en varia-

tion de pH en 60 minutes. Ces valeurs ne peuvent malheureusement pas être comparées à d'autres dans la sous-région puisque peu de travaux y sont pour le moment consacrés à notre connaissance.

la dépression de l'activité cholinestérasique érythrocytaire est plus marquée et rapide avec le chlorpyriphos utilisé par la voie orale.

la récupération de l'activité cholinestérasique érythrocytaire se fait plus lentement avec le fénitrothion administré par la voie percutanée. Cette récupération complète est obtenue à un peu plus de 40 jours après l'arrêt de l'intoxication.

une réduction sévère, voire une disparition de l'activité enzymatique, peut être tolérée sans signe de toxicité, si le composé organophosphoré est administré à petites doses, pendant un temps prolongé.

Ces expérimentations préliminaires méritent d'être poursuivies afin d'améliorer si possible ce protocole, qui est parfaitement adapté aux conditions de travail du laboratoire de toxicologie de l'EISMV. La mesure de l'activité cholinestérasique sur d'autres animaux permettrait alors de se faire une idée plus large sur les valeurs de référence des ovins d'une part, et des bovins d'autre part.

Notre souhait pour finir, est de voir ce travail confirmé en augmentant par exemple la sensibilité au niveau du pH mètre ; ce qui déjà, est le souci du laboratoire. Ceci permettra nous le pensons, de poser plus rapidement le diagnostic d'une intoxication par les insecticides organophosphorés et de prendre dans ce cas les mesures qui s'imposent.

L'objet essentiel de notre travail était de contribuer à la mise au point d'une méthode d'appréciation de l'activité cholinestérasique érythrocytaire, adaptée à des conditions de travail données. Il nous sera très agréable de constater que notre contribution soit le début de nombreuses études sur les insecticides organophosphorés au niveau de l'Ecole Inter-Etats de Sciences et Médecine Vétérinaires de DAKAR.

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

=====

1. ANDERSON (P.H.) and MACHIN (A.F.)  
The organophosphorus warble fly dressings : some aspects  
of their toxicity to cattle including antidote therapy  
Vet. Rev, 1969, 85, 484.
2. BARRETT (D.S) and OEHME (F.W)  
A review of organophosphorus ester induced delayed  
neurotoxicity  
Vet. Human Toxicol, 1985, 27 (1), 22 - 40
3. BELLON (P.)  
Résistance aux insecticides des arthropodes importants  
en médecine humaine et vétérinaire.  
Thèse Méd. Vet : Toulouse, 1972, N° 34.
4. CECILE (J.) et FOURNEL  
Prévention des intoxications par les produits orga-  
nophosphorés  
Bull. Acad. Nat. Méd : 1964, N° 11-12, p 198 - 201.
5. CHAMBON (M.)  
Aspects toxicologiques de la manipulation des insecti-  
cides organophosphorés  
Journal de Médecine de Bordeaux : 1958, 5, 2, 642-8
6. CHARY (R.) ; BOCQUET (P.) : JAYOT (R.)  
Contribution à la toxicologie du bétail : titrage de  
l'activité cholinestérasique sanguine des bovins.  
Bull. Acad. Vet, 167 - 174.
7. CISSE (B.S)  
Lutte chimique contre le quéléa (mange-mil) en  
Afrique de l'Ouest.  
Thèse - Pharm. DAKAR : 1981 N° 16.

8. DRUMMOND (R.O)  
Destruction des larves d'oestrus ovis par les insecticides systémiques.  
Journal of parasitology, 1962, 48, 211 - 214
9. ELLMAN (G.L) ; COURTNEY (K.D)  
A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity.  
Biochemical Pharmacology 1961, 7, 88 - 95.
10. ETO (M.)  
Organophosphores pesticides : organic and biological chemistry,  
C R C Press, Cleveland, OHIO, USA, 1974.
11. FALCY (J.C)  
Mesure de la cholinestérase sanguine chez les bovins  
Thèse - Méd. Vét. Lyon : 1969, N° 22.
12. FEATHERSTONE (R.M.)  
A guide to molecular pharmacology toxicology  
Marcell DECKER INC., New-York 1973 Part I
13. HALL (G.) ; LUCAS (C.)  
A titrimetric method of determination of the approximate cholinesterase activity of blood.  
J. pharmacol - exper - therap., 1937, 61, 10.
14. HANSSON (C.H.)  
Acta pharmacol and toxicol. 1956, 12, 142.
15. HANSSON (C.H.)  
Acta pharmacol and toxicol. 1957, 13, 142 - 154.
16. HERSTRIN (S.)  
The reaction of acetylcholine and other carboxylic acid derivatives with Hydroxylamine and Its analytical application.  
J. Biol - Chem., 1949, 180, 249.

17. KECK (G.)  
Toxicologie des insecticides organophosphorés et  
des carbamates  
Notes de toxicologie vétérinaire du C.N.I.T.V., 1980, (7)  
375 - 396.
  
18. LEUCK (D.B) ; JOHNSON (J.C) ; BOWMAN (M.C.) ;  
KNOX (F.E.) and BEROZA (M.)  
Residue of fenthion and five of its metabolites their  
persistence on corn and grass forage.  
J. econom. ent., 1971, 1394.
  
19. MICHEL (H.O)  
An electrometric method for the determination of red  
blood Cell and plasma cholinesterase activity.  
J. lab. Clin. Med., 1949, 34, 1564.
  
20. MIYAMOTO (J.)  
Mechanism of low toxicity of sumithion toward mammals.  
Residue - Red, 1969, 25, 251.
  
21. MULLMANN (R.) ; SCHRADER (C.)  
Hydrolyse der insektiziden phosphosäure  
2. Naturforsch., 1957, 12b, p.196.
  
22. OBRIEN (R.D.)  
Toxic. phosphorus esters.  
Academic - Press, New-York, 1960, 292 p.
  
23. PARE (M.)  
L'utilisation actuelle des pesticides au Burkina Faso.  
Thèse - méd. vét. DAKAR 1985 N° 11.
  
24. PETTY (Ch. S) and LOWELL (M.P)  
Cholinesterase activity of bovine blood  
Am. J. Vet. Res., 1958, 64, 836, 839.

25. POLOZ (D.D) and TRONDINA (G.A)  
Veterinary 1972, 1, 73.
26. RADELEFF (R.D) and WOODARD (G.T)  
Cholinesterase activity of normal blood of cattle  
and sheep  
Vet. Med., 1956, 51, 512 - 514.
27. RIGOLE (B.E.J)  
L'intoxication des animaux domestiques par les insecticides organophosphorés.  
Thèse - Méd. Vét. Toulouse : 1960, N° 16.
28. ROBBINS (W.E) ; HOPKINS (Th. L.) ; and ROTH (A.R)  
application of the colorimetric whole method  
to the measurement of bovine red blood Cell  
cholinestérase activity.  
J. econ. ent., 1958, 51, N° 3, 326 - 329.
29. RUCHEBUCH (Y.) et RUCHEBUCH (M.)  
Mesure de l'activité cholinestérasique du sang chez  
les animaux domestiques.  
Rev. Méd. Vét., Août - septembre 1959, tome CX, 627.
30. STUART (L.D.) and OEHME (F.W)  
Organophosphorus delayed neurotoxicity : A ~~neuromyelopa-~~  
thy of animals and MAN.  
Vet. Hum. toxicology : 1982, 24, 107 - 115.
31. VINCENT (D.) et SEGONZAC (G.)  
Méthode pratique de dosage simultané des cholinestérases  
plasmatiques et globulaires dans le sang total.  
Ann. biol. clin., 1965, 23, 353.
33. YEMADJE (P. L)  
Dosage du chloramphénicol par la voie biologique : Appli-  
cation à la détermination des concentrations plasmati-  
ques chez le mouton.  
Thèse - Méd. Vét. DAKAR : 1985, N° 14.

34. YOUNGER (R.L.) and 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 déontologique de mon pays.
- De prouver par ma conduite, ma conviction, que la fortune consiste moins dans le bien que l'on a, que dans celui que l'on peut faire.
- De ne point mettre à trop haut prix le savoir que je dois à la générosité de ma patrie et à la sollicitude de tous ceux qui m'ont permis de réaliser ma vocation.

QUE TOUTE CONFIANCE ME SOIT RETIREE

S'IL ADVIENNE QUE JE ME PARJURE".

VU  
LE DIRECTEUR  
DE L'ECOLE INTER-ETATS  
DES SCIENCES ET MEDECINE VETERINAIRES

LE CANDIDAT  
LE PROFESSEUR RESPONSABLE DE  
L'ECOLE INTER-ETATS DES SCIENCES ET  
MEDECINE VETERINAIRES

VU  
LE DOYEN DE LA  
FACULTE DE MEDECINE ET DE  
PHARMACIE

LE PRESIDENT DU JURY

VU ET PERMIS D'IMPRIMER \_\_\_\_\_

DAKAR, LE \_\_\_\_\_

LE RECTEUR PRESIDENT DU CONSEIL PROVISOIRE DE L'UNIVERSITE DE DAKAR.