

UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR

★ ★ ★ ★ ★

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

★ ★ ★ ★ ★

ANNEE 1992

N° 37



UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP
DES SCIENCES ET MEDECINE
VETERINAIRES DE DAKAR
BIBLIOTHEQUE

**MESURE DE L'ACTIVITE CHOLINESTERASIQUE
CHEZ LES ANIMAUX DOMESTIQUES
AU SENEGAL**

THESE

Présentée et soutenue publiquement le 31 Juillet 1992
devant la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Dakar
pour obtenir le grade de
Docteur VETERINAIRE
(DIPLOME D'ETAT)

PAR

Alioune Badara DIOP
né le 21/02/1964 à Kaolack (SENEGAL)

PRÉSIDENT DU JURY :

Mr Samba DIALLO
Professeur à la faculté
de Médecine et Pharmacie de Dakar

RAPPORTEUR ET DIRECTEUR :

Mr François Adébayo ABIOLA
Maître de Conférence agrégé à
à l'E.I.S.M.V de Dakar

MEMBRES DU JURY :

Mr Malang SEYDI
Maître de Conférence agrégé
à l'E.I.S.M.V de Dakar

Mme Sylvie GASSAMA
Maître de Conférence agrégée à la
Faculté de Médecine et Pharmacie
de l'U.C.A.D

LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT

1 - PERSONNEL A PLEIN TEMPS

1 - ANATOMIE-HISTOLOGIE-EMBRYOLOGIE

Kondi	AGBA	Maître de Conférences Agrégé
Jacques	ALMARGOT	Assistant
Lahamdi	AMADOU	Moniteur

2 - CHIRURGI - REPRODUCTION

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

3 - ECONOMIE - GESTION

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

4 - HYGIENE ET INDUSTRIE DES DENREES

ALIMENTAIRES D'ORIGINE ANIMALE (HIDA OA)

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

5 - MICROBIOLOGIE-IMMUNOLOGIE

PATHOLOGIE INFECTIEUSE

Justin ayayi AKAKPO	Professeur titulaire
Jean OUDAR	Professeur
Rianatou (Mme) ALAMBEDJI	Assistante
Souaïbou FAROUGOU	Moniteur

6 - PARASITOLOGIE-MALADIES PARASITAIRES-ZOOLOGIE

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

7 - PATHOLOGIE MEDICALE-ANATOMIE PATHOLOGIQUE

CLINIQUE AMBULANTE

Yalacé Y. KABORET	Assistant
Pierre DECONINCK	Assistant
Papa Aly DIALLO	Moniteur

8 - PHARMACIE-TOSICOLOGIE

François A. ABIOLA	Maître de Conférences Agrégé
Boubacar DIATTA	Moniteur

9 - PHYSIQUE-THERAPEUTIQUE-PHARMACODYNAMIE

Alassane	SERE	Professeur Titulaire
Moussa	ASSANE	Maître de Conférences Agrégé
Nahar	MAHAMAT TAHIR	Moniteur

10 - PHYSIQUE ET CHIMIE BIOLOGIQUES ET MEDICALES

Germain Jérôme	SAWADOGO	Maître de Conférences Agrégé
Moussa	TRAORE	Moniteur

11 - ZOOTECNIE - ALIMENTATION

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

II. - PERSONNEL VACATAIRE (prévu)

- ECONOMIE

Cheikh LY Docteur Vétérinaire - Chercheur
FAO - BANJUL

- AGRO-PEDOLOGIE

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

- SOCIOLOGIE RURALE

Oussouby TOURE Sociologue
Centre de suivi Ecologique
Ministère du Développement Rural

III. - PERSONNEL EN MISSION (prévu)

- PARASITOLOGIE

Ph. DORCHIES Professeur
ENV - TOULOUSE (France)

DEDICACES.

Ce modeste travail est dédié :

- à ALLAH TOUT PUISSANT, CLEMENT et MISERICORDIEUX ;
- à son prophète MOUHAMED (P.S.L.) ;
- à feu mon père Papa Ibnou DIOP, ce couronnement est le fruit d'une émulation : devenir le vétérinaire que tu étais ;
A l'heure du sacre, nous regrettons beaucoup que tu sois absent :
Que la terre te soit légère ;
- à ma mère Awa DEME, ton dévouement dans les moments difficiles a été et sera encore notre source de motivation. Puisse ce travail être le fruit de tes prières. Que Le Seigneur te protège ;
- à mes frères et soeur . Bamba, Tapha, Laye, Titine, Mamadou, Birahim et Souleymane ;
- à mon amie (en attendant plus) Maïrame Bana SECK et à toute sa famille, pour une union durable ;
- à mes oncles et tantes ;
- à mes cousins et cousines ;
- à mes neveux et nièces ;
- à tous mes amis et camarades de l'EISMV notamment Papa Ali DIALLO, Boubacar DIAW, Nuhine DIEYE, Fatim DIOUF, Amadou GUEYE, Ndary NIANG et Matar SECK, à Babacar TALL
- à la 19e promotion de l'EISMV
- au Sénégal, ma patrie.

REMERCIEMENTS

Pour votre précieuse collaboration dans l'édification de ce travail :

- à Monsieur Abdoulaye DIAW, technicien de laboratoire à l'EISMV ;
- à Madame DIOUF, bibliothécaire à l'EISMV ;
- à Monsieur Doune Pathé NDOYE, responsable du Bureau du cheval à la Direction de l'Elevage ;
- à Monsieur NDOUR, du PRODELOV de Kaolack ;
- à tous les éleveurs encadrés par le CRZ de Kolda
- à Monsieur SAKHO, du service régional de l'Elevage de Kaolack.

A NOS MAÎTRES ET JUGES

- A Monsieur Samba DIALLO

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

- A Monsieur François Adébayo ABIOLA

Vous avez fait preuve de rigueur durant tout l'encadrement de ce travail, Sincères remerciements:

- A Monsieur Malang SEYDI

La disponibilité dont vous avez fait preuve en acceptant de juger ce travail nous a beaucoup touchés. Sincères remerciements.

- A Madame Sylvie GASSAMA

Malgré votre emploi du temps chargé, vous avez accepté de siéger dans notre jury. Toute notre reconnaissance.

"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".

INTRODUCTION

Pour des pays en développement comme le Sénégal, l'un des défis majeurs demeure l'autosuffisance alimentaire. Face à cette impérieuse nécessité, le secteur agricole doit être mieux rentabilisé. Pour ce faire, il fut instauré une nouvelle politique agricole qui vise entre autres objectifs une amélioration du rendement des récoltes devant nécessairement passer par la protection des végétaux contre les "nuisibles" à savoir les rongeurs, oiseaux, moisissures et insectes notamment les criquets.

Cette lutte phytosanitaire nécessite l'emploi de produits chimiques communément appelés pesticides, qui englobent les insecticides parmi lesquels on retrouve les organophosphorés. Ces insecticides organophosphorés (I.O.P.) occupent une place prépondérante dans cette lutte chimique en raison d'une part de leur grande efficacité antiparasitaire et d'autre part de leur faible rémanence dans le milieu extérieur.

C'est ainsi qu'au Sénégal, selon Diatta (14), plus de 75p.100 des surfaces cultivées reçoivent un traitement au moins de pesticide par an.

Les I.O.P doivent leur emploi de plus en plus courant à leurs avantages majeurs précités, mais dans le même temps cette lutte a entraîné l'apparition de difficultés nouvelles telles que la pollution de l'environnement et ses répercussions sur les populations non cibles. Ainsi, par la contamination des cours d'eau et des pâturages, les animaux domestiques sont souvent victimes d'intoxications liées à leur usage.

On comprend dès lors la nécessité de mettre en oeuvre des méthodes de mesure entrant dans le cadre globale du suivi de la pollution des différents écosystèmes par les pesticides.

Pour ce qui concerne les I.O.P, leur identification directe est difficile et justifie que l'on essaie de procéder à leur mise en évidence de façon indirecte notamment par des méthodes biologiques faisant intervenir des enzymes spécifiques : les cholinestérases (2). De nombreuses méthodes ont été mises au point à cet effet et parmi elles figure celle de Ellman (15).

Notre travail vise deux objectifs principaux :

- maîtriser, à l'Ecole Inter-Etats des Sciences et Médecine Vétérinaires (E.I.S.M.V), une méthode fiable de mesure de l'activité cholinestérasique chez les animaux domestiques ;
- déterminer des valeurs de référence de l'activité cholinestérasique chez les animaux domestiques de nos régions par la méthode utilisée.

Les résultats obtenus pourront permettre de faire des comparaisons de variation de l'activité cholinestérasique entre les différentes espèces d'une part et d'autre part de disposer des éléments de référence dans la région pendant les intoxications.

Deux parties composent notre démarche :

- la première, bibliographique, traite de généralités sur les pesticides et les I.O.P ;
- la deuxième, expérimentale, présente nos résultats et discussions.

PREMIERE PARTIE :

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

L'étude bibliographique comporte 2 chapitres :

- le premier chapitre est consacré à l'emploi des pesticides au Sénégal
- le deuxième chapitre à l'activité cholinestérasique et à la toxicité des I.O.P.

CHAPITRE I : EMPLOI DES PESTICIDES AU SENEGAL

1. GENERALITES SUR LES PESTICIDES

1.1. DEFINITION

On entend par pesticide toute substance destinée à prévenir, à détruire, à repousser ou à contrôler n'importe quel fléau y comprises les espèces de plantes ou d'animaux indésirées durant la production, l'emmagasinage, le transport, la distribution et le traitement des aliments, des productions agricoles ou animales ou toute substance qui peut être administrée pour le contrôle de l'ectoparasitisme (18).

1.2. TYPES DE PESTICIDES

Les produits phytosanitaires peuvent être classés en cinq groupes suivant leurs propriétés biologiques.

1.2.1. INSECTICIDES

Ce sont des substances utilisées pour lutter contre les insectes nuisibles. Dans ce groupe, on peut citer les organochlorés, les organophosphorés et les pyréthri-noïdes. Les organochlorés sont de moins en moins utilisés à cause de leur rémanence et effets néfastes. Ils sont de plus en plus remplacés par les organophosphorés et les pyréthri-noïdes.

1.2.2. FONGICIDES

Ce sont des substances capables de s'opposer aux maladies cryptogamiques des végétaux lorsqu'elles sont répandues sur les parties aériennes des végétaux, sur les sols ou sur les semences. Ce groupe comporte des composés organiques comme les dithiocarbamates, les dérivés quinoléïques, mais aussi des composés minéraux tels que les sels de cuivre et d'arsénite.

1.2.3. HERBICIDES

Ils sont utilisés pour la destruction et le contrôle des espèces végétales indésirables. Parmi ces substances, on peut citer les nitrophénols, les carbamates, les triazines, les chlorates, les ammoniums quaternaires, les dérivés de l'urée...

1.2.4. RODENTICIDES ET RATICIDES

Ils sont utilisés pour la destruction des rongeurs en particulier le rat. Actuellement, les produits les plus courants sont les anticoagulants avec les dérivés de la coumarine et l'indanedione.

1.2.5. MOLLUSCICIDES

Ce sont des substances utilisées pour la destruction des mollusques nuisibles à la production ; c'est le cas de la métaldéhyde.

1.3. ORIGINE DES PESTICIDES

1.3.1. FABRICATION LOCALE

Au Sénégal, on ne dispose pas d'unités industrielles équipées de laboratoires de chimie fine pour la synthèse des matières actives: Toutefois deux unités de formulation existent : la Société des Produits Industriels et Agricoles (S.P.I.A.) et les Industries Chimiques du Sénégal par sa filiale la SENCHIM. Ces sociétés importent les matières actives servant à la formulation. Elles formulent pour leur propre compte ou pour celui de firmes agropharmaceutiques étrangères représentées au Sénégal. Elles approvisionnent le marché Sénégalais et ouest-africains en pesticides (14).

Tableau 1 : Types de formulation, quantités et capacités
des unités de formulation

UNITES INDUSTRIELLES	TYPE DE FORMULATION	QUANTITES FORMULEES PAR AN	CAPACITES
S.P.J.A	Formulation UBV	200 à 300.000 l	50.000 l/j
	Formulation CE	300.000 l	50.000 l/j
	Formulation PP	3.500 t	50 t/j
	Formulation Granulée	250 t	1.000 t/j
SENCHIM	Formulation UBV	500.000 l	20.000 l/j
	Formulation CE	50.000 l	20.000 l/j
	Formulation PP	1.200 t	60 t/j

Source : Diatta (14)

N.B :
UBV: Ultra Bas Volume
CE : Concentré Emulsionnable
PP : Poudre pour poudrage

1.3.2. IMPORTATIONS

Elles se font par le canal de l'Etat ou par le canal des unités de formulation. L'Etat importe par le biais de la Direction de Protection de Végétaux (D.P.V.) des produits phytosanitaires dans le cadre de l'aide bilatérale (Japon, France, USA, Allemagne) et multilatérale (FAO, PNUD), du budget de fonctionnement du Ministère du Développement Rural et de l'Hydraulique et par ailleurs avec les sociétés de développement (SODEFITEX, SAED, SODAGRI...), les producteurs de tomate industrielle et les projets de développement agricole.

Les unités de formulation importent de la matière active mais aussi des produits formulés ; c'est le cas de certaines spécialités.

Toutes ces importations sont soumises au préalable à une autorisation dûment examinée par la D.P.V. en vue d'instaurer un meilleur contrôle et une meilleure application de la législation phytosanitaire en vigueur.

1.4. MARCHE DES PESTICIDES

1.4.1. CONSOMMATEURS

On peut retenir au Sénégal six secteurs principaux de consommateurs de pesticides :

- la protection des cultures ;
- la protection des stocks et des semences ;
- la protection des animaux et des locaux d'élevage ;
- la lutte contre les insectes vecteurs ;
- la lutte contre les rongeurs ;
- la lutte antiacridienne et antiaviaire.

La D.P.V. est la plus grande consommatrice au Sénégal puis suivent la Société des Fibres et Textiles (SODEFITEX) et la Compagnie Sucrière Sénégalaise (C.S.S.) (14)

1.4.2. DISTRIBUTION

Dans le cadre de la nouvelle politique agricole, l'Etat du Sénégal se désengage progressivement dans la distribution des pesticides.

La plupart des produits phytosanitaires vendus au Sénégal sont formulés sur place par la SENCHIM et la SIPA. Ces deux unités, avec certaines firmes représentées au Sénégal (Rhône-Poulenc, Matema et Tropicasem) ont implanté des points de distribution surtout dans la zone de Dakar et Thiès. Une extension du réseau de distribution est en cours pour couvrir tout le territoire.

1.5. REGLEMENTATION

1.5.1. REGLEMENTATION

Il existe au Sénégal une législation sur les pesticides. Différents arrêtés interministériels et lois régissent en matière de produits phytosanitaires : l'emballage (arrêté n° 04747 du 22 Avril 1971), l'autorisation provisoire (arrêté n° 8322 du 7 Août 1973), les conditions de distributions et de vente (loi n° 5381 du 20 Mai 1985, arrêté n° 7780 du 19 Juillet 1990) etc.....

Cette réglementation intéresse les importations, la formulation, la distribution mais concerne peu l'utilisation. En effet, les données comme la DL50, la rémanence et le délai d'attente n'ont aucune signification au niveau du paysan ; l'efficacité étant une question d'odeur ou de couleur et surtout de résultat immédiat. Ce maillon de la chaîne qu'est l'utilisateur des pesticides constitue l'étape la plus délicate dans la gestion des pesticides, ceci du fait de leur ignorance du danger que peuvent représenter les produits phytosanitaires. Ce volet réglementation doit donc être soutenu par une large information et vulgarisation au niveau du monde rural (18)

1.5.2. CONTRÔLE

La D.P.V. assure la supervision de ce volet contrôle. Celui-ci intéresse :

- les importations : elles doivent être conformes à la législation en vigueur ;
- les unités de formulation (emballage, homologation...) ;
- l'environnement et les productions.

Cette dernière étape reflète l'impact de l'utilisation des pesticides et elle est la plus difficile à contrôler parce que nécessitant des moyens importants et surtout un laboratoire multifonctionnel. La D.P.V. est aidée dans cette tâche par :

- le laboratoire de chimie analytique de la faculté de Médecine et de Pharmacie de l'Université Cheikh Anta Diop de Dakar ;
- le laboratoire de Pharmacie-Toxicologie de l'Ecole Inter-Etats des Sciences et Médecine Vétérinaires de Dakar ;
- le laboratoire de l'Institut des Sciences de l'Environnement.

1.6. DANGER DE PESTICIDES

1.6.1. INTOXICATIONS

Ce sont les manifestations les plus visibles du danger de l'utilisation des pesticides. On distingue les intoxications aiguës et les intoxications chroniques.

Lorsqu'elles sont aiguës, elles revêtent un caractère accidentel mais quelquefois, elles sont le fait de la déviation de l'utilisation des produits phytosanitaires (empoisonnement, braconnage chimique).

Le bétail et la faune sont le plus souvent touchés. L'ignorance et les manquements à certaines précautions peuvent exposer aussi l'homme.

La DL50 permet d'apprécier la toxicité aiguë des produits et de les classer en différentes catégories (Tableau 2).

Tableau 2 : Classification des produits phytosanitaires en fonction de leur DL50

CLASSIFICATION ET CORRESPONDANCE	DL50 aiguë en mg de poids vif chez le rat			
	ORALE		DERMALE	
	SOLIDE	LIQUIDE	SOLIDE	LIQUIDE
Ia : Extrêmement dangereux "Très toxique"	5	20	10	40
Ib : Très dangereux "Toxique"	5-50	20-200	10-100	40-400
II : Modérément dangereux "Nocif"	50-500	200-2000	100-1000	400-4000
III : Peu dangereux "Attention"	500	2000	1000	4000

-Selon l'OMS

Source : Diatta (14)

L'exposition et/ou l'ingestion répétée de faibles doses sont à l'origine de l'intoxication chronique. Dans ce cas, le diagnostic est rendu difficile par l'absence de corrélation entre l'agent causal et la symptomatologie. A ce type d'intoxication, les professionnels et les manipulateurs des pesticides sont les plus exposés (6,37).

Par l'intermédiaire de l'environnement (air, eaux) et la nourriture (résidus), la santé publique est menacée. La portion la plus vulnérable est représentée par les femmes enceintes ou allaitantes, les enfants et les malades chroniques.

Aiguës ou chroniques, ces intoxications présentent des symptomatologies variées du fait même de la diversité des pesticides et de leurs mécanismes d'action (5, 19, 26).

Si les intoxications sont manifestes, la pollution l'est moins.

1.6.2. POLLUTION

Les pesticides , après leur utilisation, sont dispersés dans l'air, dans les eaux et sur le sol (6). La destruction des emballages et du reste du liquide de traitement constitue deux facteurs importants à considérer dans la contamination des différents écosystèmes. Le mouvement de l'air et des eaux contribue à l'extension de ce phénomène. Par différents vecteurs, les produits phytosanitaires atteignent les plantes, les invertébrés et les vertébrés. Toute la chaîne alimentaire étant ainsi affectée, l'homme au bout n'est pas épargné.

Les reptiles et les insectes entomophages et pollinisateurs sont souvent victimes de ces pesticides. Les poissons sont très sensibles à certains composés. L'accumulation des pesticides organochlorés dans les oeufs et les graisses de poisson entraîne des troubles de la reproduction.

Chez les oiseaux, l'accumulation de substances telles que le DDT entraîne la fragilisation de la coquille des oeufs et la dégénérescence des cellules reproductrices (34).

A ces exemples d'action directe s'ajoutent des actions indirectes par modification de l'environnement soit par une dégradation de l'habitat soit par la raréfaction de la nourriture.

L'amplitude écotoxicologique dépend de plusieurs facteurs (6) :

- type de pesticides ;
- formulation ;
- dose d'application ;
- mode d'action ;
- composition du réseau trophique.

Le "biomonitoring" est utilisé pour suivre l'impact des pesticides sur l'environnement (13).

A la pollution de l'environnement s'ajoute celle des productions. En effet, le non respect des règles de bonnes pratiques agricoles en matière de produits phytosanitaires se traduit par la présence de résidus de pesticides dans les productions. La rémanence du produit, la dose d'application et surtout le délai d'attente influent beaucoup sur le taux de résidu. Avec certaines pratiques, les productions agricoles et animales peuvent représenter un danger pour l'homme.

1.6.3. RESISTANCE

De nombreux insecticides sont connus pour entraîner dans un laps de temps relativement court, après leur introduction, le développement d'une résistance chez des ravageurs spécifiques (23). Le phénomène de résistance a été observé pour la première fois en 1908 chez une espèce de cochenille (Aspidiotus perniciosus) à l'égard d'un insecticide à base de sulfure de calcium dans l'Etat de Washington. Cette résistance se traduit par une insensibilité soudaine de certains ravageurs à un produit qui leur était toxique.

Cette résistance est le fait soit d'une mauvaise utilisation (dosage, abus), soit d'une absence de diversification des traitements qui permet aux ravageurs de s'accomoder à une substance et de développer finalement une résistance (7).

1.6.4. RISQUE POUR L'HOMME

Avant même la mise sur le marché des pesticides, certaines études sont menées pour évaluer la toxicité et les risques que peuvent entraîner ces substances. Ces études sont faites sur des animaux de laboratoire et intéressent :

- la toxicité aiguë ;
- la toxicité chronique ;
- l'irritation et la sensibilisation allergique ;
- l'effet mutagène ;
- la toxicité à court terme ou sub-chronique ;
- la toxicité à long terme et le pouvoir carcinogène ;
- l'embryotoxicité et les effets sur la reproduction.

Les résultats obtenus ne sont pas toujours transposables d'une espèce à une autre (3).

L'accumulation de certains produits au sein de l'organisme n'est plus à démontrer (11, 24, 27, 34). C'est pourquoi dans le cadre de l'O.M.S. et de la FAO, le risque est toujours considéré. Ainsi, certains paramètres sont définis pour minimiser ces risques à partir des productions animales et végétales (18, 28, 29, 30).

Force est de reconnaître que malgré tous ces dangers, l'emploi des pesticides est incontournable devant la menace représentée par les parasites des récoltes. La nécessité de minimiser ces risques explique la place prépondérante occupée par le I.O.P parmi les pesticides, ceci en raison de leur grande efficacité antiparasitaire doublée d'une faible rémanence dans le milieu extérieur.

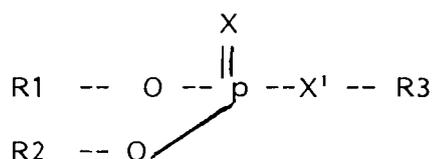
2. LES INSECTICIDES ORGANOPHOSPHORES (I.O.P)

Les I.O.P. sont une importante famille de composés de synthèse doués de propriétés anticholinestérasiques sur lesquelles reposent leur activité mais aussi leur toxicité. Ils sont caractérisés par leur liposolubilité leur permettant de traverser aisément les membranes biologiques, et par leur faible rémanence dans le milieu extérieur. Ces deux propriétés justifient leur large utilisation tant en agriculture, en médecine vétérinaire qu'en médecine humaine surtout dans le prophylaxie des maladies transmissibles par les insectes.

Ils provoquent des intoxications graves, le plus souvent aiguës, caractérisées par des symptômes parasymphomimétiques marqués.

2.1. STRUCTURE ET CLASSIFICATION

La classification des I.O.P. peut se faire selon plusieurs critères. L'un des critères est la structure. En effet, la classification chimique des organophosphorés se fait en fonction des chaînes liées à l'atome de phosphore figurant dans la structure de base. Cette structure de base s'écrit :



Les atomes X et X' sont soit du soufre, soit de l'oxygène. Les radicaux R1 et R2 sont souvent identiques mais presque toujours différents du radical R3.

A partir de cette structure de base, on a 3 classes principales :

- les phosphates, pour lesquels X = O et X' = O ;
- les thionophosphates, pour lesquels X = S et X' = O ;
- les thionothiophosphates, pour lesquels X = S et X' = S.

Signalons l'existence de deux autres classes qui constituent des cas particuliers par rapport à la formule générale. Ce sont :

- les phosphoramides, pour lesquels X' = N ;
- les phosphonates, pour lesquels X' n'existe pas.

Dans chaque classe, il existe des dizaines voire des centaines de molécules comprenant elles-mêmes des dizaines de spécialités.

2.2. PROPRIETES PHYSICOCHEMIIQUES DES I.O.P

2.2.1. PROPRIETES PHYSIQUES

Ses propriétés physiques concernent les caractères de couleur, d'odeur, de consistance, de solubilité et de volatilité. Ces propriétés varient beaucoup avec la molécule voire avec la spécialité. Ainsi, les I.O.P se présentent-ils sous forme de liquides incolores, jaunâtres ou brunâtres, visqueux ou comme des solides incolores cristallisés. Il sont volatiles en général, avec une odeur alliacée désagréable.

Leur solubilité dans l'eau est en général très faible ; c'est ainsi que le chlorpyrifos est pratiquement insoluble dans l'eau (de l'ordre de 2 ppm à 25°C) alors que le trichlorfon, le diisopropyl-fluoro-phosphate (D.F.P) et le mevinphos sont très solubles dans l'eau (36).

Si ces composés sont dans leur majorité peu solubles dans l'eau, il sont par contre très solubles dans les lipides, ce qui leur permet de traverser aisément les membranes biologiques.

Dans les solvants organiques (benzène, chloroforme...), ils sont en général assez solubles, plus que dans les hydrocarbures aliphatiques (essence, pétrole...).

2.2.2. PROPRIETES CHIMIQUES

Une des principales propriétés chimiques des I.O.P. qui conditionne leur stabilité dans le milieu extérieur est réaction d'hydrolyse.

La vitesse de celle-ci est fonction de la molécule et des conditions de réaction telles que le pH, la température, la nature du solvant...Ainsi, les dérivés oxygénés sont plus facilement hydrolysés que les dérivés soufrés. L'augmentation du pH, de même que celle de la température accroissent la vitesse de réaction.

Comme autres propriétés chimiques, citons les propriétés alkylantes et l'isomérisation des composés organophosphorés. Les premières permettent d'expliquer certaines activités biologiques des esters phosphoriques ainsi que de synthétiser certains dérivés (38). La seconde quant à elle, liée à la présence de cinq valences non identiques du phosphore, permet d'obtenir un mélange d'isomères sous l'effet de la température et ceci lors de la préparation de certains composés comme le parathion.

Une propriété non moins importante des organophosphorés est la réaction d'oxydation qui permet, in-vivo, de transformer certains dérivés soufrés en dérivés oxygénés plus actifs. C'est ainsi que dans l'organisme, le parathion est oxydé en paraoxon au niveau des microsomes hépatiques.

2.3. USAGE DES I.O.P

Le fait que les organosphosphorés aient une courte durée d'action, une faible toxicité à long terme et un faible taux de résidus explique leur large utilisation tant sur le plan vétérinaire que sanitaire et agricole.

- Sur le plan vétérinaire, c'est surtout comme antiparasitaire interne ou externe que les O.P. sont utilisés. Leur usage se fait sous forme de poudrage, de pulvérisation, de bains, de colliers insecticides ou de comprimés.

Ils sont utilisés à des doses laissant une grande marge de sécurité car l'action anticholinestérasique se manifeste aussi bien chez le parasite que chez l'hôte, bien que les invertébrés y soient infiniment plus sensibles.

- Sur le plan sanitaire, en élevage comme en médecine humaine, ces insecticides sont utilisés dans le cadre de la lutte pour l'amélioration générale du cadre de la vie, notamment dans la prophylaxie des maladies transmissibles par les insectes.

Un exemple en Afrique est le programme de lutte contre l'onchocercose, de l'O.M.S, qui vise l'éradication de cette affection par la lutte chimique contre Simulium damnosum, surtout à son stade larvaire, dans le bassin du fleuve Volta. Cette lutte antivectorielle se fait par l'épandage aérien selon un rythme hebdomadaire, de Téméphos dans les savanes (4, 12, 32).

- Sur le plan phytosanitaire, c'est surtout là que leur usage est important. En effet, les O.P. sont utilisés dans la protection des semences et dans le traitement des cultures contre les prédateurs.

Aujourd'hui, et ceci depuis quelques années, il s'y ajoute un domaine qui prend de plus en plus d'importance surtout dans la région subsaharienne : la lutte anti-acridienne.

CHAPITRE II : ACTIVITE CHOLINESTERASIQUE ET TOXICITE DES I.O.P.

1. LES CHOLINESTERASES

1.1. DEFINITION

Les cholinestérasés sont des glycoprotéines dont l'unité est un monomère globulaire. Du fait de l'adjonction d'un pont dissulfure S-S, les monomères peuvent s'organiser en dimères, puis en tétramères qui seront rattachés à une queue de collagène à trois brins.

La fonction essentielle de cette queue de collagène est de permettre aux cholinestérasés de s'ancrer dans les membranes cellulaires (41).

Afin de détacher les cholinestérasés pour les solubiliser et faciliter leur étude, il est nécessaire d'employer des enzymes protéolytiques ou des détergents (par exemple le Triton X 100).

En plus des esters qu'elles hydrolysent, les cholinestérases sont des estérases qui peuvent hydrolyser les peptides et les amides.

1.2. CLASSIFICATION ET CARACTERISTIQUES

Une classification fut proposée en 1943 par Mendel et Rudney permettant de distinguer deux catégories de cholinestérases en fonction de leur spécificité pour les substrats.

- Les "vrais cholinestérases", actives seulement vis à vis des esters de la choline ;
- Les "pseudocholinestérases", actives à la fois sur les esters de la choline et des esters d'autres alcools tels la tributyrine, le tripropionine et le butyrate de méthyl.

Les vraies cholinestérases hydrolysent l'acétylcholine à un taux plus élevé que le butyrylcholine et sont inhibées par l'excès de substrat.

Les pseudocholinestérases elles, ne sont pas inhibées par l'excès de substrat et hydrolysent la butyrylcholine à un taux plus élevé que l'acétylcholine.

Les travaux de Aldridge cités par Wattecamps (41) permirent de classer les cholinestérases dans le groupe des estérases qui sont inhibées par les organophosphorés. De ce point de vue, la différence entre cholinestérases et pseudocholinestérases repose sur l'utilisation d'inhibiteurs sélectifs.

1.3. REPARTITION DES CHOLINESTERASES DANS LES TISSUS

La distribution des cholinestérases varie d'un organe à l'autre. Ces organes peuvent se répartir en trois groupes en fonction de leur richesse en l'un ou l'autre type de cholinestérases (25).

- ceux qui contiennent surtout l'acétylcholinestérase (ACHE) ou cholinestérase spécifique : cerveau, muscle, glandes salivaires, globules rouges ;
- ceux où ACHE et pseudocholinestérases (PCHE) sont également présentes : estomac, foie, poumons ;
- ceux où prédominent les PCHE : plasma, coeur, intestin, peau.

En ce qui concerne le cas particulier du système nerveux central, la répartition des CHE en son sein n'est pas uniforme. Les teneurs en CHE varient d'une formation à l'autre (25).

Dans les fibres cholinergiques, la CHE est localisée à plusieurs niveaux

:

- dans le soma : à l'intérieur de l'ergastoplasme, parfois dans la membrane du noyau ;
- dans les fibres : sur les membranes des axones et des terminaisons présynaptiques.

Ceci est en accord avec les expériences de centrifugation fractionnées qui montrent que l'ACHE se trouve principalement dans les couches où sédimentent les membranes soit axoniques soit nucléaires et d'où elle peut être libérée par un traitement par les détergents (25).

La médiation de l'influx nerveux parasympathique entre deux éléments cellulaires s'effectue au niveau de structures particulièrement spécialisées : les synapses. On en distingue deux types :

- la synapse neuroneuronique : entre deux neurones
- la synapse neuromusculaire : entre un neurone et un muscle. Elle constitue la plaque motrice.

La plaque motrice est formée de 3 éléments (25) :

- les rameaux nerveux terminaux qui serpentent dans des gouttières creusées dans le sarcolemme musculaire dites gouttières synaptiques.
- la fibre musculaire
- la tétroglie qui recouvre l'ensemble

Sur les parois de la gouttière synaptique se trouve l'appareil sous neural de Couteaux, ensemble de lamelles qui sont en fait des replis de la fibre musculaire. C'est surtout à leur niveau que l'on trouve les CHE synaptiques. Dans cette localisation, ces enzymes jouent un rôle important dans la médiation de l'influx nerveux.

1.4. MODE D'ACTION

Lors du passage de l'influx nerveux au niveau d'une synapse, il y a une libération importante d'acétylcholine (ACH.) par la terminaison présynaptique. Une fois que l'ACH. agit sur la membrane post-synaptique, il est rapidement hydrolysé par l'acétylcholinestérase (ACHE) afin d'éviter une prolongation excessive de son effet post-synaptique (figure 1).

La connaissance de ce mode d'action permet de comprendre la toxicité des I.O.P.

2. MECANISME D'ACTION TOXIQUE DES I.O.P

Les I.O.P tiennent l'essentiel de leurs propriétés toxicologiques de leur capacité d'inhiber les cholinestérases, ce qui entraîne une hyperactivité vagotonique due à l'accumulation d'ACH qui est le neuromédiateur du système nerveux parasymphatique.

Avant d'en arriver au mécanisme d'action proprement dit, faisons quelques rappels sur la transmission nerveuse cholinergique.

2.1. RAPPELS PHYSIOLOGIQUES SUR LA TRANSMISSION NERVEUSE CHOLINERGIQUE

2.1.1. L'ACETYLCHOLINE (ACH)

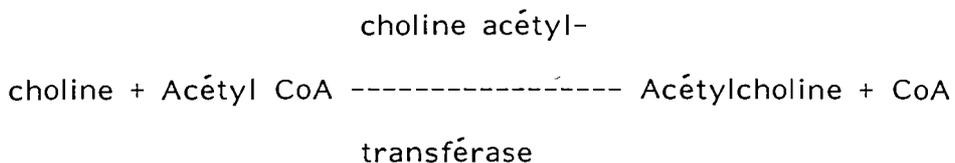
L'acétylcholine est le médiateur chimique nécessaire au transfert de l'influx nerveux à différents niveaux du système nerveux parasymphatique. Il se trouve dans les fibres nerveuses cholinergiques avant d'être libéré au niveau de la synapse au moment de la transmission. Les tissus qui en sont riches sont ceux contenant de nombreuses terminaisons cholinergiques (ganglions sympathiques en particulier). Il en est de même avec les

formations contenant de nombreuses fibres cholinergiques (racines ventrales de la moelle épinière, nerfs purement moteurs tels que le nerf phrénique, les fibres sympathiques préganglionnaires et le nerf X). Certaines structures du système nerveux central contiennent également des quantités notables d'ACH.

Dans la cellule nerveuse, l'ACH n'est pas libre dans le protoplasme mais contenue dans des fibres dites vésicules synaptiques de 469\AA , elles-mêmes contenues dans des vésicules plus grandes de 0,02 à 0,08 M qui sont les synaptosomes de Whittaker.

La synthèse de l'ACH se fait par un processus enzymatique anaérobie qui estérifie la choline par l'acide acétique grâce à la choline acétyltransférase qui assure le transfert du radical de la coenzyme A sur la choline.

La réaction peut s'écrire :



L'enzyme se trouve en grande partie dans les synaptosomes qui les libèrent après leur rupture (25).

2.1.2. MECANISME DE LA TRANSMISSION SYNAPTIQUE

Au niveau des plaques motrices d'un muscle au repos et en l'absence de toute excitation, il se produit des potentiels miniatures de plaque motrice, résultat de la libération de quantités constantes, ou quanta, d'ACH, échappées des terminaisons nerveuses. Ils ne peuvent pas produire de contractions des fibres musculaires. Pour qu'elle se produise, il faut la libération simultanée d'un grand nombre de quanta d'ACH.

La CHE synaptique détruit l'ACH libérée par l'influx nerveux présynaptique pour ne pas prolonger exagérément son effet post-synaptique. Et pour Felberg "la distribution très large des CHE dans l'organisme, notamment sa présence dans le sang, fait que l'ACH est rapidement détruite et ne peut diffuser ni produire des effets ailleurs qu'au point où elle apparaît":

Le mécanisme de cette hydrolyse de l'ACH par les CHE a été bien étudié et décrit par divers auteurs.

Quelles que soient leur localisation et leur spécificité, les CHE provoquent la rupture de la liaison de l'ACH selon la réaction générale suivante :

- 2) Formation de l'enzyme acétylée : il y a hydrolyse et libération de la choline mais la liaison covalente persiste au site estérasique.
- 3) Régénération de l'enzyme avec libération de l'acide acétique.

2.2. MECANISME DE LA TOXICITE DES I.O.P.

La réaction décrite ci-dessus dure 80 Ms à l'état physiologique, mais lors de la liaison entre CHE et O.P., il se forme un complexe stable par liaison covalente au niveau du pôle estérasique. La liaison oxygène-phosphore, de type covalente, est plus forte que la liaison oxygène-carbone de la CHE acétylée du fait du caractère plus électrophile du phosphore par rapport au carbone. La régénération de l'enzyme se trouve ainsi être difficile et ceci entraîne une inhibition quasi-irréversible de la CHE par l'O.P. et une accumulation d'ACH non dégradée. Ce phénomène d'inhibition irréversible est encore plus renforcé par un phénomène appelé "vieillessement". Il a été vérifié qu'avec ce phénomène l'union O.P - CHE se modifie de telle sorte que l'enzyme n'est plus récupérable (8, 39).

En dehors du "vieillessement", la remontée de l'activité cholinestérasique chez un sujet exposé à des O.P. survient par la synthèse de nouvelles molécules ou par l'intervention d'un groupe de molécules chimiques particuliers. Cependant, les CHE plasmatiques sont remplacées plus rapidement que les CHE globulaires. Synthétisées par le foie, ces CHE

plasmiques sont remplacées plus lentement chez les animaux souffrant de troubles hépatiques (39). Chez l'homme, l'activité plasmatique réapparaît pour 10 P. 100 dans les premières 24 heures (régénération spontanée) puis plus lentement en 30 - 40 jours pour atteindre le taux normal (39).

Au niveau des globules rouges, les CHE sont fixées à la surface de la membrane cytoplasmique, ce qui fait que l'activité cholinestérasique globulaire est proportionnelle à la quantité de globules rouges. Il est plus bas chez le nouveau-né.

Les CHE globulaires n'ont aucune régénération spontanée et leur taux ne remonte que du fait de l'apparition d'hématies jeunes très riches en CHE.

Ainsi le retour à la normale ne se fait qu'après 90 à 100 jours chez l'homme soumis à une exposition prolongée, à raison de 1p.100 par jour (41). Chez les applicateurs d'I.O.P., Abiola et col. (18) ont montré qu'un mois après la fin des pulvérisations, seulement 70 à 80p.100 du niveau basal ont été récupérés.

Chez les bovins, la récupération de l'activité cholinestérasique érythrocytaire se fait plus lentement avec le fénitrothion administré par voie cutanée qu'avec le chlorpyrifos administré par voie orale ; ces administrations étant faites à petites doses prolongées. La récupération complète est obtenue à un peu plus de 40 jours après l'arrêt de l'intoxication (38).

3. METHODES DE MESURES UTILISABLES

La plupart des techniques de détermination des activités cholinestérasiques sont basées, soit sur la mesure de l'acétylcholine restant après action de l'enzyme, soit sur la mesure de l'acide acétique libéré au cours de l'hydrolyse enzymatique d'une quantité connue de substrat.

3.1. METHODES BASEES SUR LA DETERMINATION DE L'ACETYLCHOLINE

L'adaptation de la méthode de dosage colorimétrique de l'acétylcholine, selon Herstein (22), au dosage de la cholinestérase décrite par Vincent et Ségonzac en 1958 (40) 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 hydrolysé par formation d'un complexe ferrique hydroxamique coloré en pourpre.

Des variantes de la méthode de Herstein (22) ont été étudiées chez les ruminants :

- la variante de Robbins et collaborateurs (35), sur le sang total des ruminants : la lecture se fait au bout de 10 minutes à 37°C ;
- la variante de Petty et Lowel (33) : la lecture se fait au bout de 10 mn à 25°C ;

- la méthode de Ruckebusch (36), dont le principe est basé sur l'action de l'hydroxylamine sur l'acétylcholine non hydrolysé, en milieu alcalin, avec formation d'un acide hydroxamique qui donne avec le chlorure ferrique une coloration rose pourpre, obéissant à la loi de Beer.

3.2. METHODES BASEES SUR LE DOSAGE DE L'ACIDE ACETIQUE LIBERE EN UN TEMPS DONNE

3.2.1. METHODES TITRIMETRIQUES

Ces méthodes consistent à titrer 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.

3.2.1.1. METHODE AVEC INDICATEUR INTERNE

Après addition de l'enzyme, on effectue soit la titration continue en maintenant constamment le pH à sa valeur initiale, par addition de NaOH 0,01N, soit la titration discontinue, 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 0,01N. Cette technique est plus pratique pour les dosages en séries (40). L'activité cholinestérasique est déterminée par le volume de solution sodique utilisé en 20 minutes.

3.2.1.2. METHODE 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, avec Sido (38), 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 (9).

3.2.1.3. METHODE UTILISANT LE POTENTIOMETRE

On emploie, pour le titrage, un pHmètre à électrodes de verre.

II-3-2-2 : METHODE D'UN DEGAGEMENT GAZEUX

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 (16).

3.2.3. DETERMINATION D'UN ABAISSEMENT DE pH

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

3.2.3.1. METHODE ELECTROMETRIQUE

La plus largement utilisée est la méthode de Michel (31). 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 sont proposées par Hansson (20, 21). Cette méthode est adaptée au sang des bovins. Elle a été reprise par Chary et collaborateurs (10). En plus de ces méthodes, il y a celle de Ellman (15).

3.2.3.2. METHODES COLORIMETRIQUES

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 cholinestérases 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 (0,1 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.

4. IMPORTANCE DU DOSAGE

L'intérêt que présente la mesure de l'activité de la pseudo-cholinestérase plasmatique et surtout celle de la cholinestérase érythrocytaire est énorme selon Ruckebush et Ruckebuch (36).

- En pharmacodynamie : elle permet de révéler le pouvoir anticholinestérasique d'un médicament, encore que les résultats obtenus n'aient qu'une valeur très relative en elle-même : le bleu de méthylène et l'ésérine inhibent tous deux fortement, in-vitro, le pouvoir cholinestérasique du sang et présentent, cependant, des propriétés biologiques très différentes.

c'est in-vivo que la méthode risque d'être significative.

- En physiologie : elle reflète, à côté de variations individuelles, des variations d'espèces : l'exemple le plus manifeste étant le très faible pouvoir cholinestérasique du sang chez les ruminants.
- En toxicologie : une méthode sûre permettrait de confirmer ou d'infirmer une intoxication des animaux par des insecticides anti-cholinestérasiques.

DEUXIEME PARTIE :

ETUDE EXPERIMENTALE

Cette deuxième partie comprend deux chapitres .

- le premier chapitre traite du matériel et de la méthode d'étude ;
- le deuxième présente nos résultats et discussions

CHAPITRE I : MATERIEL ET METHODES D'ETUDE

1. MATERIEL

1.1. LES ANIMAUX

Cinq espèces d'animaux domestiques ont été utilisées : cheval, âne, bovin, ovin et caprin. Dans chaque espèce, du sang a été prélevé sur 30 animaux (pour les chevaux, il a été prélevé deux fois sur le même animal : avant et après l'effort physique).

Les chevaux sont élevés à Thiaroye banlieue de Dakar). Ce sont des chevaux de trait, tous des mâles âgés de 4 à 20 ans. Ils sont élevés dans les maisons de leurs propriétaires où ils se nourrissent de paille, de son de mil et d'eau ad libitum, généralement. Ils sont de race Mbayard.

Les ânes sont choisis au foirail de Kaolack. Ils sont 25 mâles et 5 femelles, âgés de 3 à 9 ans. Leur alimentation se compose essentiellement de paille, d'herbe sèche, de foin et d'eau ad libitum. Ils sont de race locale.

Les bovins sont ceux du Centre de Recherche Zootechnique (C.R.Z) de Dahra, avec 16 mâles et 14 femelles âgés de 3 à 5 ans. Ils se nourrissent sur les différentes parcelles du Centre où ils sont laissés en pâturage libre ; ils s'abreuvent au forage du village. Ce sont des zébus de race gobra.

Les ovins sont ceux du Projet de Développement de l'Elevage Ovin (PRODELOV) de Kaolack. Ils sont de race Touabir. Ce sont 8 mâles et 22 femelles âgés de 7 à 9 ans, se nourrissant de paille, de tourteaux d'arachide et d'eau ad libitum.

Les caprins sont issus du CRZ de Dahra. Ce sont des chèvres de race peul, avec 6 mâles et 24 femelles nourris comme les bovins du CRZ. Ils sont âgés de 2 à 3 ans:

1.2. LE MATERIEL TECHNIQUE ET DE LABORATOIRE

1.2.1. LE MATERIEL TECHNIQUE

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

- Le matériel de prélèvement se compose de :

- * tubes "vénoject" sous vide de 5 ml ;
- * aiguilles stériles à usage unique ;
- * portoirs.

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

- La congélation maintient par la suite les pI_{asma} dans un parfait état de fraîcheur avant les dosages.

1.2.2. LE MATERIEL DE LABORATOIRE

1.2.2.1. LES APPAREILS

- une centrifugeuse ;
- une balance de précision ;
- un spectrophotomètre ;
- un agitateur type vortex ;
- un bain thermostaté ;
- un chronomètre ;

1.2.2.2. LES REACTIFS

Quatre types de réactifs ont été utilisés pour le dosage des cholinestérases par la méthode de Ellman (15).

Il s'agit de la solution tampon, la solution de dithiodinitrobeuzoate (D.T.N.B.), le substrat et les enzymes:

- La solution tampon :

* peser 8,83 g de sodium phosphate monosodique (PM = 138) et le dissoudre dans 800 ml d'eau déminéralisée. Amener la solution à pH8 en ajoutant progressivement 60 ml de NaOH.1N;

- * verser la solution dans un ballon jaugé de 1l;
- * ajuster au trait de jauge avec de l'eau déminéralisée;
- * transvaser dans une bouteille et conserver au réfrigérateur.

- La solution de D.T.N.B.: Peser 0,13 g de DTNB et l'ajouter à 1l de tampon phosphate ; conserver la solution au réfrigérateur (4°C) dans une bouteille brune (à l'abri de la lumière).

- Le substrat : on utilise pour nos dosages l'iodure d'acétylthiocholine (ASCHL) comme substrat. Pour préparer la solution mère d'ASCHL qui est à 1,25 mM, nous avons pesé 0,2892 g d'ASCHL que nous avons mis dans 25 ml d'eau déminéralisée. Cette solution est répartie et congelée dans 10 tubes à hémolyse à raison de 2,5 ml par tube.

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

- Les enzymes : il s'agit des cholinestérases situées au niveau du sang total, des érythrocytes et du plasma.

1.2.2.3. AUTRES MATERIELS

Il s'agit :

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

2. METHODE D'ETUDE

Cette étude traitera successivement de :

- la technique de prélèvement de sang ;
- le mode de dosage de l'activité cholinestérasique.

2.1 TECHNIQUE DE PRELEVEMENT DU SANG

Les prélèvements sont réalisés au niveau de la jugulaire à l'aide d'aiguilles stériles et collectés dans des tubes "vénoject" héparinés de 5 ml. Ces tubes sont préalablement identifiés à l'aide d'un code composé du numéro d'ordre de prélèvement, de l'espèce, du sexe et de l'âge de l'animal.

Les prélèvements, pour chaque espèce, sont effectués dans les mêmes conditions, à la même heure. Ils sont ramenés le plus rapidement possible et sous le couvert du froid au laboratoire pour y être aussitôt analysés. Avant de centrifuger à 3000 tours/minute pendant dix minutes pour récupérer le plasma et les érythrocytes qui serviront au dosage des cholinestérases dans ces deux compartiments sanguins, l'activité cholinestérasique au niveau du sang total est d'abord mesurée.

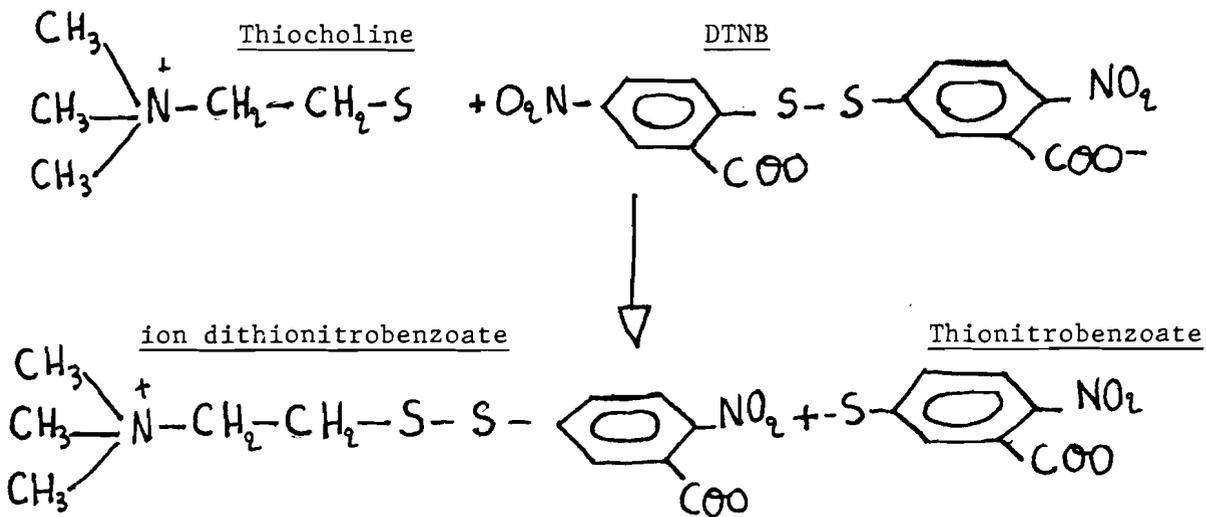
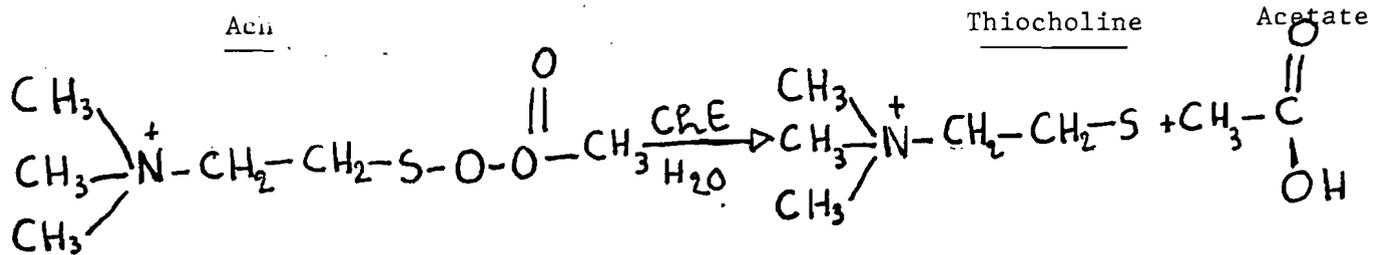
2.2. MODE DE DOSAGE DE L'ACTIVITE CHOLINESTERASIQUE

Les différentes méthodes de dosage des cholinestérases ont été exposées précédemment. La méthode que nous avons utilisée est celle de Ellman (15).

2.2.1. PRINCIPE

Il s'agit d'une méthode de détermination photométrique de l'activité cholinestérasique. Elle repose sur le principe suivant : les cholinestérases hydrolysent l'iodure d'actéylthiocholine (ASCHL) en thiocholine et en acétate ; la thiocholine libérée réagit avec le D.T.N.B. pour former un ion dithionitrobenzoate et le thionitrobenzoate de coloration jaune. La vitesse d'apparition de cette coloration jaune et son intensité sont mesurées au spectrophotomètre à la longueur d'onde de 405 nm. Elles sont en corrélation positive avec l'activité de l'échantillon étudiés.

La réaction chimique peut s'écrire :



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

2.2.2. METHODES

L'activité cholinestérasique a été mesurée au niveau de trois compartiments : sang total, plasma et érythrocytes.

Le spectrophotomètre est d'abord branché au secteur, de même que le bain-marie thermostaté dans lequel baignent des tubes à hémolyse contenant 3 ml de tampon phosphate/D.T.N.B.

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

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

- sang total dilué au 1/100 ;
- plasma dilué au 1/20 ;
- érythrocytes dilués au 1/100.

— Cette quantité de substance est ajoutée aux 3 ml de tampon phosphate/D.T.N.B. Ce mélange Enzyme-D.T.N.B. est homogénéisé au vortex.

Ajouter 0,1 ml de substrat et homogénéiser encore.

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

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

2.2.3. CONDITIONS REQUISES POUR UN BON DOSAGE

Pour minimiser les sources d'erreur, il faut prendre certaines précautions :

1. Le spectrophotomètre doit être stabilisé avant de commencer toute mesure ; pour cela attendre au moins 30 mn après l'avoir branché.
2. La longueur d'onde étant fixé à 405 nm, prendre le soin de mettre l'appareil au zéro avec de l'eau distillée avant toute mesure.
3. Toutes les mesures ont faites à une température de 37°C.
4. Pour éviter les inter-contaminations entre réactifs, réserver toujours le même embout pour le même réactif.
5. Le contenu d'un tube est toujours homogénéisé au vortex avant d'en pipeter le contenu.
6. Un substrat décongelé est utilisé dans les 48 heures car son activité diminue avec le temps du fait de l'hydrolyse spontanée.
7. Toute enzyme décongelée est analysée sur-le-champ et n'est plus utilisée pour des analyses ultérieures.

2.2.4. DETERMINATION DE L'HYDROLYSE NON ENZYMATIQUE DU SUBSTRAT

En l'absence de toute enzyme, l'ASCHL subit une hydrolyse spontanée selon le même schéma réactionnel décrit plus haut. Cette réaction intervient surtout au pH du milieu réactionnel qui est de 8 donc légèrement basique. Il est donc nécessaire d'évaluer cette hydrolyse non enzymatique. Cela est réalisé à travers la mesure de l'activité optique du "blanc", dont la procédure est la suivante :

- à 3 ml du mélange tampon phosphate - D.T.N.B., ajouter 0,1 ml de substrat ; homogénéiser le mélange final, puis lire les variations de densité optique à 1 mn puis à 3 mn ;

- calculer la densité optique/mn (DO/mn). Celle-ci sera soustraite de la D.O. du mélange comprenant l'enzyme afin de ne prendre en compte que l'activité de cette dernière. Ceci nous donne la densité optique nette par minute (D.O. nette/mn) qui nous permet de calculer l'activité cholinestérasique de chaque échantillon.

2.2.5. METHODE DE CALCUL DES ACTIVITES CHOLINESTERASIQUES

La variation de densité optique de chaque échantillon est convertie en unité qui représente le nombre de micromoles de substrat hydrolysé par minute et par ml d'échantillon. Cette unité est fonction de la dilution de l'enzyme, du coefficient d'extinction du D.T.N.B., de la D.O nette/mn.

2.2.4. DETERMINATION DE L'HYDROLYSE NON ENZYMATIQUE DU SUBSTRAT

En l'absence de toute enzyme, l'ASCHL subit une hydrolyse spontanée selon le même schéma réactionnel décrit plus haut. Cette réaction intervient surtout au pH du milieu réactionnel qui est de 8 donc légèrement basique. Il est donc nécessaire d'évaluer cette hydrolyse non enzymatique. Cela est réalisé à travers la mesure de l'activité optique du "blanc", dont la procédure est la suivante :

- à 3 ml du mélange tampon phosphate - D.T.N.B., ajouter 0,1 ml de substrat ; homogénéiser le mélange final, puis lire les variations de densité optique à 1 mn puis à 3 mn ;

- calculer la densité optique/mn (DO/mn). Celle-ci sera soustraite de la D.O. du mélange comprenant l'enzyme afin de ne prendre en compte que l'activité de cette dernière. Ceci nous donne la densité optique nette par minute (D.O. nette/mn) qui nous permet de calculer l'activité cholinestérasique de chaque échantillon.

2.2.5. METHODE DE CALCUL DES ACTIVITES CHOLINESTERASIQUES

La variation de densité optique de chaque échantillon est convertie en unité qui représente le nombre de micromoles de substrat hydrolysé par minute et par ml d'échantillon. Cette unité est fonction de la dilution de l'enzyme, du coefficient d'extinction du D.T.N.B., de la D.O nette/mn.

$$A = \frac{\text{D.O. nette/mn}}{1,36 \cdot 10^4} \times \frac{3,2 \times \text{Dilution de l'échantillon}}{0,1} \times 10^6$$

avec :

- A = Activité cholinestérasique (en umoles de substrat hydrolysé/mn/ml d'échantillon) ;
- D.O. nette/mn = Densité optique nette par minute ;
- $1,36 \cdot 10^4$ = Coefficient d'extinction du DTNB ;
- $3,2/0,1$ = Taux de dilution de l'enzyme dans la cuvette ;
- 10^3 = Moles de substrat/ml ;
- 10^6 = umoles de substrat/ml.

CHAPITRE II : RESULTATS ET DISCUSSIONS

1. RESULTATS

1.1. RESULTATS DU DOSAGE DE L'ACTIVITE CHOLINESTERASIQUE PAR ESPECE

Le dosage de l'activité cholinestérasique a été effectué au niveau du sang total, des globules rouges et du plasma. Pour chaque échantillon, deux dosages ont été effectués et seule la moyenne a été retenue.

Pour chaque espèce, les valeurs de référence sont consignées dans les tableaux N° 3, N° 4, N° 5, N° 6 et N° 7.

Les histogrammes des activités cholinestérasiques correspondant à chaque espèce sont représentés par les figures N° 2, N° 3, N° 4, N° 5 et N° 6.

1.2. COMPARAISON DE L'ACTIVITE CHOLINESTERASIQUE SANGUINE ENTRE ESPECES

L'activité cholinestérasique a été comparée au niveau du sang total, des érythrocytes et du plasma entre les différentes espèces. Les histogrammes correspondants sont représentés par les figures N° 7, N° 8 et N° 9.

Tableau 3 : Valeurs de référence de l'activité cholinestérasique
chez le bovin
(en umoles de substrat hydrolysé par mn/ml d'échantillon)

Nº Echantillon (prélèvement du 25 - 03 - 92)	valeurs dans le sang total	valeurs dans les globules rouges	valeurs dans le plasma
1 (5 ans,m)	3,35	5,53	0,17
2 (3 1/2 ans,m)	2,82	5,18	0,21
3 (3 1/2 ans,m)	3,59	6,23	0,20
4 (5 ans,f)	0,94	5,70	0,20
5 (3 1/2 ans,m)	3,82	7,12	0,20
6 (3 ans,f)	3,59	5,11	0,22
7 (5 ans,f)	3,12	5,53	0,15
8 (3 1/2 ans,m)	3,47	6,17	0,17
9 (5 ans,m)	3,29	5,82	0,20
10 (3 1/2 ans,m)	4,59	6,53	0,29
11 (3 1/2 ans,m)	5,59	8,64	0,24
12 (5ans,f)	2,94	4,76	0,34
13 (5 ans,m)	4,99	7,88	0,38
14 (5 ans,m)	3,53	6,35	0,31
15 (3 1/2 ans,f)	3,82	5,17	0,43
16 (5 ans,f)	4,88	6,94	0,22
17 (3 1/2 ans,f)	3,29	5,41	0,29
18 (5 ans,m)	2,59	4,41	0,17
19 (3 1/2 ans,m)	3,76	5,99	0,38
20 (3 1/2 ans,f)	2,99	5,88	0,36
21 (3 1/2 ans,m)	3,47	4,41	0,34
22 (5 ans,m)	2,18	6,29	0,38
23 (5 ans,m)	3,94	6,41	0,34
24 (5 ans,f)	3,18	5,47	0,29
25 (5 ans,f)	3,88	6,88	0,38
26 (3 1/2 ans,f)	3,11	5,59	0,31
27 (3 1/2 ans,f)	3,82	5,82	0,34
28 (3 1/2 ans,m)	2,94	4,59	0,34
29 (3 1/2 ans,f)	3,23	5,36	0,36
30 (3 1/2 ans,f)	3,23	5,76	0,41
Moyennes	3,46	5,89	0,29
Ecart Type	0,86	0,95	0,08

NB : m = mâle
f = femelle

Tableau 4 : Valeurs de référence de l'activité cholinestérasique
chez la chèvre
(en umoles de substrat hydrolysé par mn/ml d'échantillon)

Nº Echantillon (prélèvement du 24 - 03 - 92)	valeurs dans le sang total	valeurs dans les globules rouges	valeurs dans le plasma
1 (2 ans, f)	1,24	2,35	0,09
2 (2 ans, f)	1,53	3,29	0,08
3 (3 ans, f)	2,12	4,11	0,16
4 (2 ans, f)	0,94	2,29	0,07
5 (2 ans, f)	0,59	1,53	0,08
6 (3 ans, m)	1,18	2,17	0,11
7 (2 ans, m)	1	1,76	0,12
8 (2 ans, f)	1,06	2,76	0,08
9 (3 ans, f)	0,94	1,99	0,10
10 (3 ans, m)	1	1,99	0,10
11 (2 ans, f)	1	2,23	0,23
12 (2 ans, f)	1,23	2,94	0,36
13 (2 ans, f)	1	2,17	0,32
14 (3 ans, f)	2,18	2,29	0,47
15 (3 ans, f)	1,35	2,88	0,25
16 (2 ans, m)	1,12	3,29	0,42
17 (3 ans, f)	0,94	1,88	0,44
18 (2 ans, f)	2,18	3,35	0,47
19 (2 ans, f)	1,12	1,99	0,28
20 (2 ans, m)	0,76	3,41	0,23
21 (3 ans, f)	0,88	2,58	0,35
22 (3 ans, f)	1,24	2,58	0,28
23 (2 ans, f)	1,12	1,94	0,40
24 (2 ans, f)	0,94	1,88	0,37
25 (2 ans, f)	1,24	3,17	0,32
26 (2 ans, f)	1,29	2,82	0,32
27 (2 ans, m)	1,29	3,11	0,40
28 (2 ans, f)	1,65	3,58	0,56
29 (2 ans, f)	0,94	1,76	0,32
30 (2 ans, f)	0,76	1,94	0,24
Moyennes	1,19	2,53	0,27
Ecart Type	0,39	0,65	0,14

NB : m = mâle
f = femelle

Tableau 5 : Valeurs de référence de l'activité cholinestérasique
chez les ovins
(en umoles de substrat hydrolysé par mn/ml d'échantillon)

Nº Echantillon (prélèvement du 08 - 04 - 92)	valeurs dans le sang total	valeurs dans les globules rouges	valeurs dans le plasma
1 (7 ans,m)	1,23	2,70	0,25
2 (7 ans,f)	1,47	3,06	0,30
3 (8 ans,f)	1,82	3,12	0,32
4 (7 ans,f)	1,58	2,18	0,29
5 (7 ans,f)	1,41	2,41	0,29
6 (7 ans,f)	1,47	2,41	0,34
7 (9 ans,f)	1,76	3,23	0,29
8 (8 ans,f)	1,64	2,82	0,27
9 (7 ans,m)	1,35	1,94	0,36
10 (7 ans,f)	1,64	3,70	0,29
11 (7 ans,f)	1,58	2,53	0,27
12 (8 ans,f)	1,58	2,70	0,25
13 (7 ans,f)	0,76	1,99	0,27
14 (7 ans,f)	1,88	4,23	0,36
15 (7 ans,f)	1,35	2,47	0,29
16 (7 ans,m)	0,99	2,76	0,27
17 (7 ans,f)	2,23	2,88	0,55
18 (8 ans,m)	1,23	2,53	0,27
19 (7 ans,m)	0,99	2,65	0,29
20 (7 ans,m)	2,23	3,82	0,41
21 (7 ans,m)	1,88	3,12	0,36
22 (8 ans,f)	1,18	2,18	0,34
23 (8 ans,f)	1,18	2,99	0,38
24 (7 ans,f)	1,35	3,35	0,19
25 (7 ans,f)	2,23	2,99	0,34
26 (7 ans,f)	1,29	2,41	0,25
27 (7 ans,f)	1,41	2,41	0,25
28 (7 ans,m)	1,76	4,18	0,39
29 (7 ans,f)	1,41	3,82	0,32
30 (7 ans,f)	1,41	2,76	0,29
Moyennes	1,51	2,88	0,31
Ecart Type	0,36	0,60	0,07

NB : m = mâle
f = femelle

Tableau 6 : Valeurs de référence de l'activité cholinestérasique
chez l'âne
(en umoles de substrat hydrolysé par mn/ml d'échantillon)

Nº Echantillon (prélèvement du 04 - 06 - 92)	valeurs avec le sang total	valeurs avec les globules rouges	valeurs avec le plasma
1 (7 ans,m)	6,47	3,82	6,89
2 (6 ans,m)	5,70	3,65	6,05
3 (6 ans,m)	4,41	4,12	4,40
4 (4 ans,f)	5,35	3,23	5,91
5 (8 ans,m)	4,82	3,99	4,47
6 (7 ans,m)	5,65	3,76	5,27
7 (9 ans,m)	6,65	4,59	5,76
8 (5 ans,f)	5,94	3,38	6,26
9 (7 ans,m)	5,41	3,82	5,67
10 (3 ans,m)	5,26	3,88	5,62
11 (6 ans,m)	4,65	3,72	6,35
12 (5 ans,f)	4,82	4,06	5,34
13 (6 ans,m)	5,25	3,99	5,76
14 (5 ans,m)	5,65	3,49	6,33
15 (5 ans,m)	5,05	3,85	4,47
16 (8 ans,m)	5,30	3,88	5,34
17 (3 ans,m)	4,70	3,70	6,61
18 (6 ans,m)	4,66	4,06	5,50
19 (5 ans,m)	5,52	3,88	5,76
20 (3 ans,m)	5,67	3,61	5,30
21 (7 ans,m)	5,92	4,06	6,09
22 (3 ans,m)	4,94	3,38	5,30
23 (5 ans,m)	4,46	3,53	6,09
24 (5 ans,m)	6,21	3,78	4,87
25 (3 ans,m)	5,45	3,59	5,97
26 (4 ans,f)	4,34	3,82	4,82
27 (5 ans,f)	5,70	3,99	6,35
28 (3 ans,m)	4,76	3,82	5,90
29 (4 ans,m)	4,70	3,62	4,63
30 (5 ans,m)	5,73	3,76	5,88
Moyennes	5,30	3,81	5,63
Ecart Type	0,60	0,25	0,65

NB : m = mâle
f = femelle

Tableau 7 : Valeurs de référence de l'activité cholinestérasique et sa variation après l'effort chez le cheval (en umoles de substrat hydrolysé μ /mn/ml d'échantillon)

N° Echantillon (prélèvement du 06 -03 - 92)	valeurs avec le sang total		valeurs avec les globules rouges		valeurs avec le plasma	
	I	II	I	II	I	II
1 (10 ans,m)	3,06	2,41	3,18	1,64	2,83	2,96
2 (8 ans,m)	2,59	2,89	3,23	2,05	2,94	3,44
3 (20 ans,m)	4,82	3,53	0,88	2,35	4,58	4,65
4 (7 ans,m)	3,35	3,06	0,24	1,88	3,37	3,35
5 (13 ans,m)	3,35	3,06	1,77	2,05	3,62	4,08
6 (10 ans,m)	1,89	2,12	0,47	1,23	2,89	3,18
7 (10 ans,m)	2,76	2,70	0,65	2,11	3,05	3,01
8 (9 ans,m)	3,35	2,65	0,71	2,52	4	2,48
9 (5 ans,m)	2,94	3,18	1,47	1,47	2,85	4,41
10 (6 1/2 ans,m)	3,47	2,23	0,53	1,23	3,42	3,71
11 (10 ans,m)	3,12	3,29	2,29	2,17	3,61	3,88
12 -	2,29	-	1,65	-	2,92	-
13 (10 ans,m)	0,59	2,06	1,11	1,29	2,71	3,01
14 (7 ans,m)	1,41	1,99	1,17	1,35	2,69	2,75
15 (16 ans,m)	1,47	2,23	1,58	1,47	2,03	2,55
16 (8 ans,m)	1,76	3,53	1,82	2,17	5,35	5,84
17 (16 ans,m)	1,12	2,59	2,29	2,23	3,10	3,28
18 -	1,06	-	2,05	-	3,10	-
19 (6 ans,m)	1,41	2,65	1,58	1,64	4,38	3,96
20 15 ans,m)	1,41	2,47	1,94	1,94	3,07	2,78
21 (4 ans,m)	1,41	3,56	1,94	2,11	4,75	4,81
22 (8 ans,m)	0,94	2,23	1,58	1,64	3,27	3,14
23 (12 ans,m)	1,53	2,82	2,32	2,47	3,32	3,04
24 (8 ans,m)	1,18	2,94	2,47	2,52	3,72	3,75
25 (10 ans,m)	1,18	2,53	2,23	1,99	3,37	3,23
26 (4 ans,m)	1,41	3,35	1,94	2,23	4,30	3,88
27 (4 ans,m)	3,23	2,94	1,64	1,47	5,28	5,15
28 (7 ans,m)	1,06	2,94	2,76	2,35	3,51	3,76
29 (10 ans,m)	0,88	2,88	2,70	2,99	3,04	2,77
30 (10 ans,m)	1,65	2,11	1,99	2,23	2,38	2,52
Moyennes	2,05	2,74	1,74	1,96	3,45	3,55
Ecart Type	1,05	0,47	0,77	0,45	0,79	0,83

NB : m = mâle

I = activité chez le cheval avant effort (valeurs de référence)

II = activité chez le cheval après effort

Figure 2 : Activité cholinestérasique selon le milieu chez les bovins

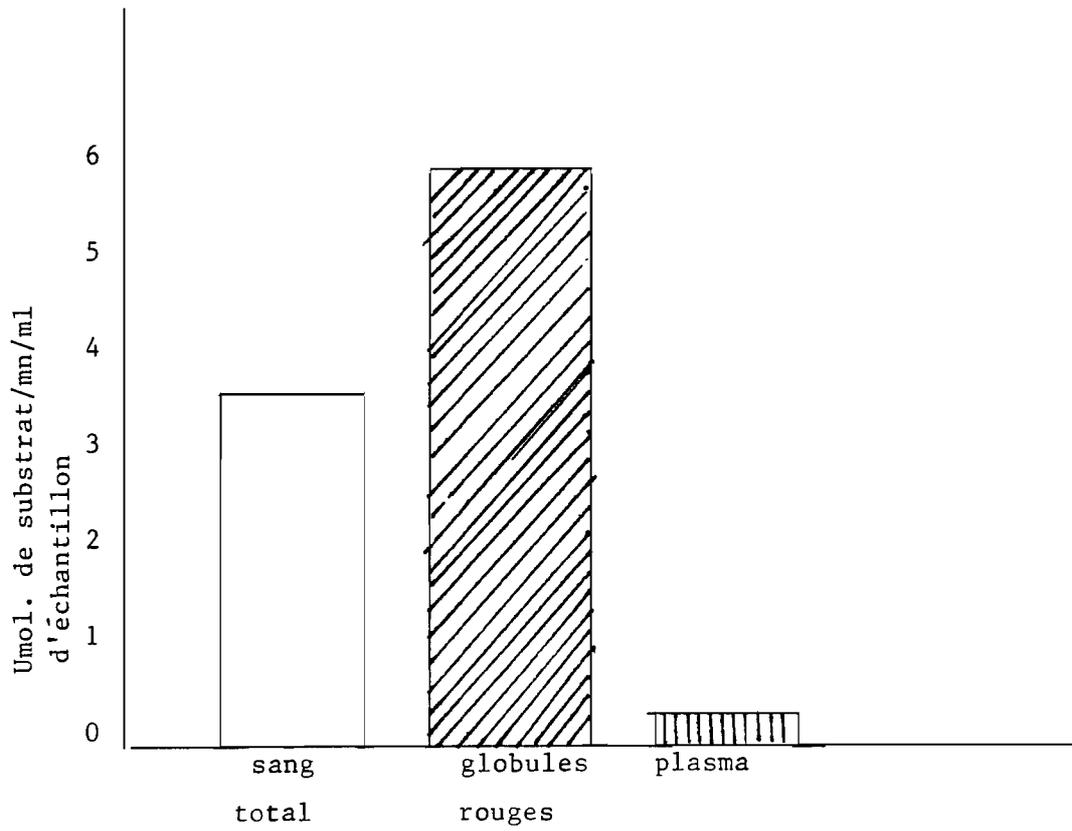


Figure 3 : Activité cholinestérasique selon le milieu
chez les caprins

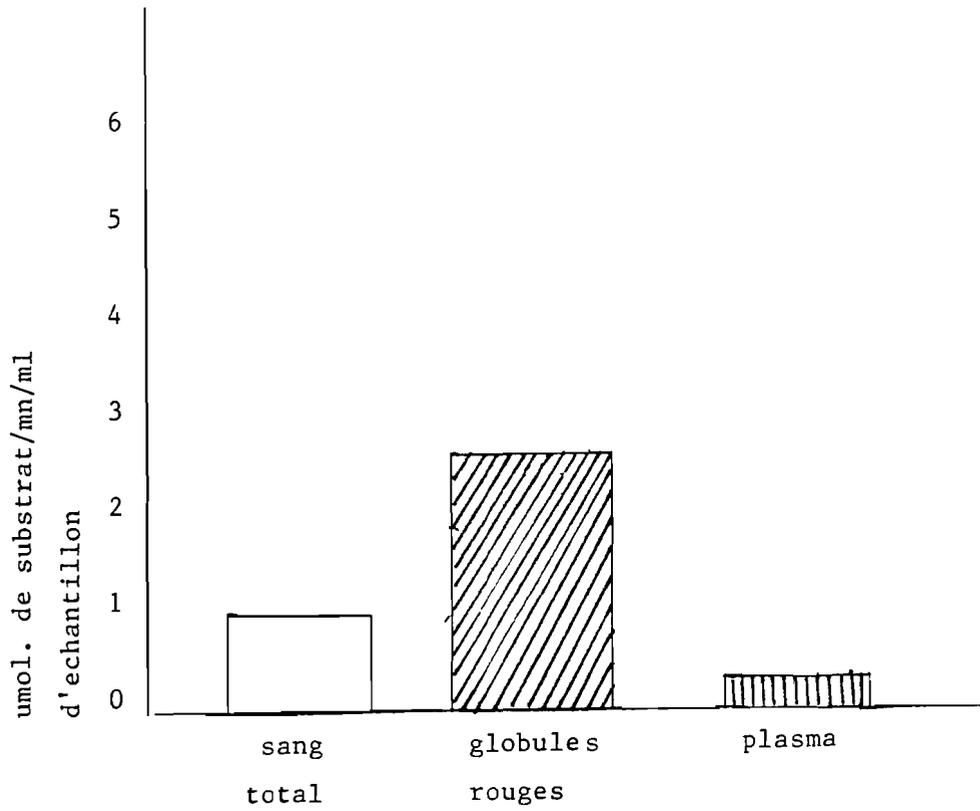


Figure 4 : Acitivité cholinestérasique selon le milieu
chez les ovins

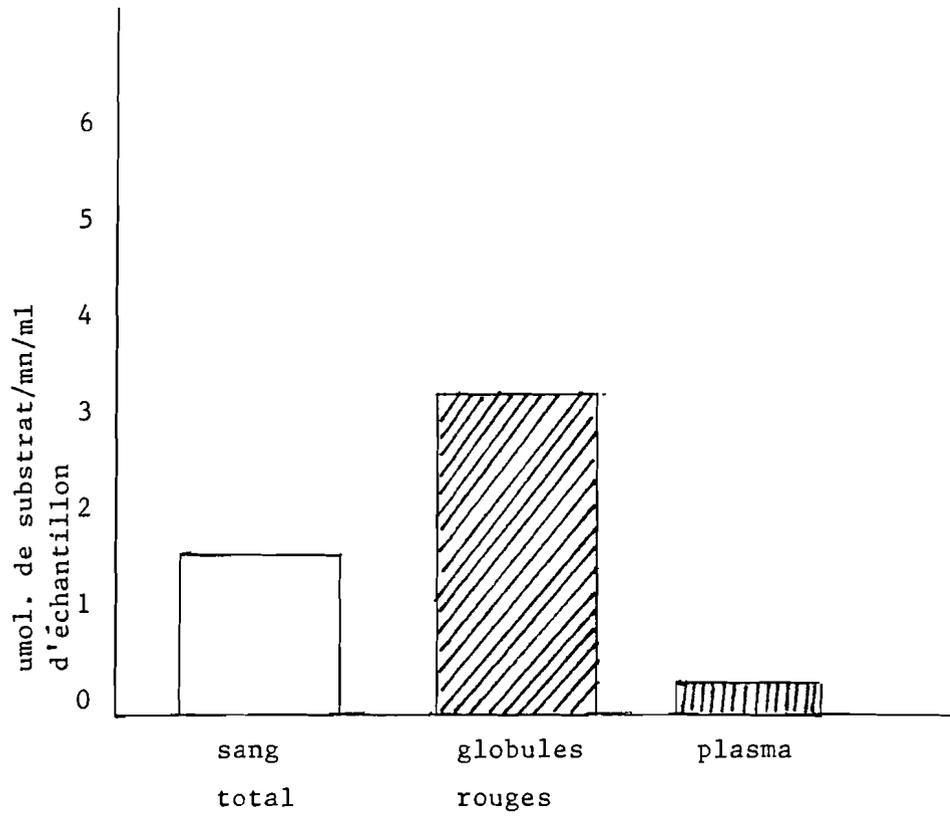


Figure 5 : Activité cholinestérasique selon le milieu
chez les chevaux

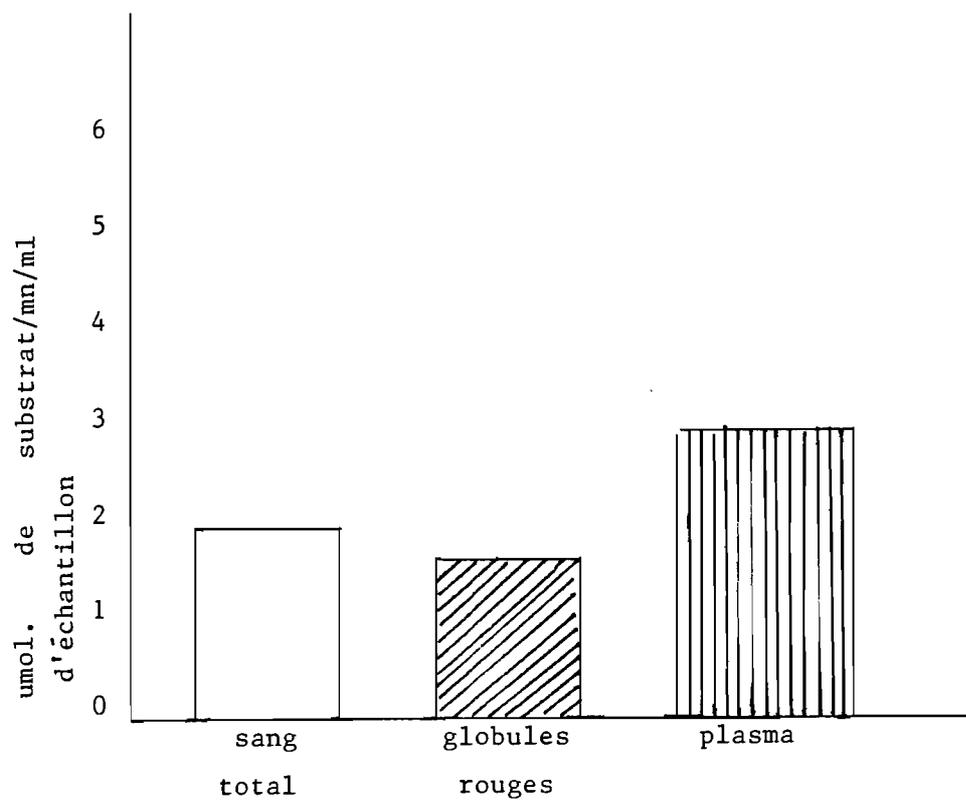


Figure 6 : Activité cholinestérasique selon le milieu
chez les ânes

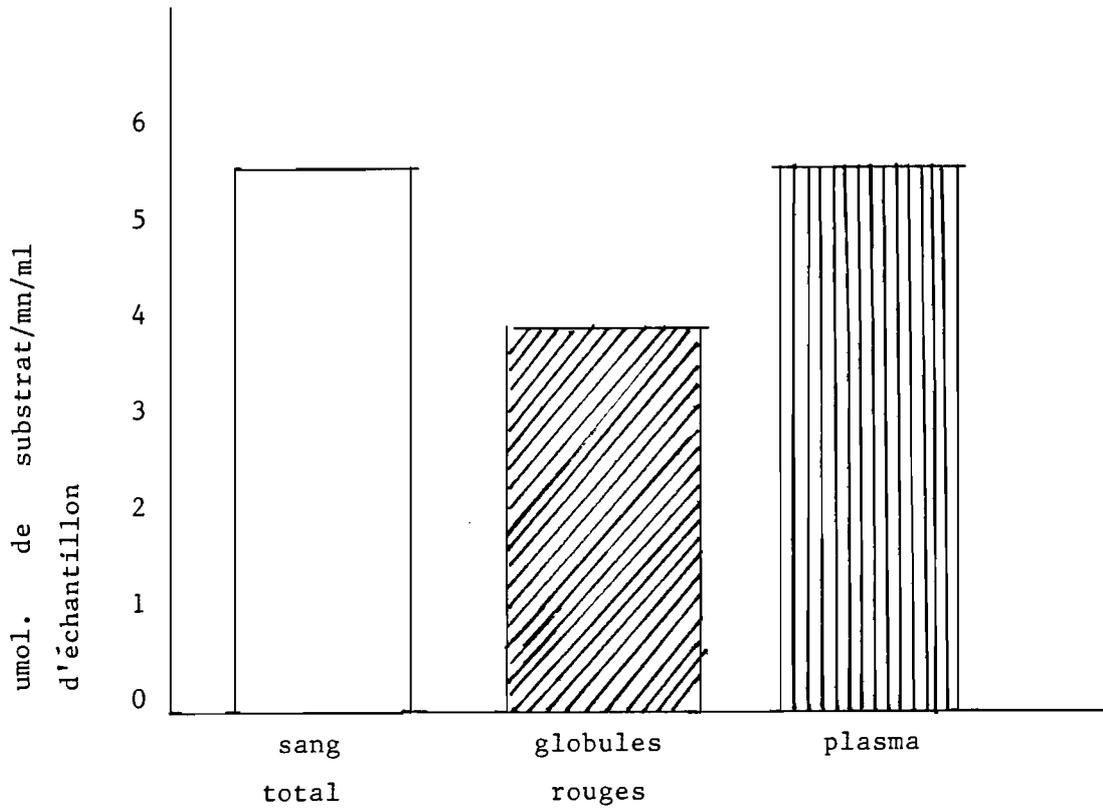


Figure 7 : Comparaison de l'activité cholinestérasique du sang total chez les animaux domestiques

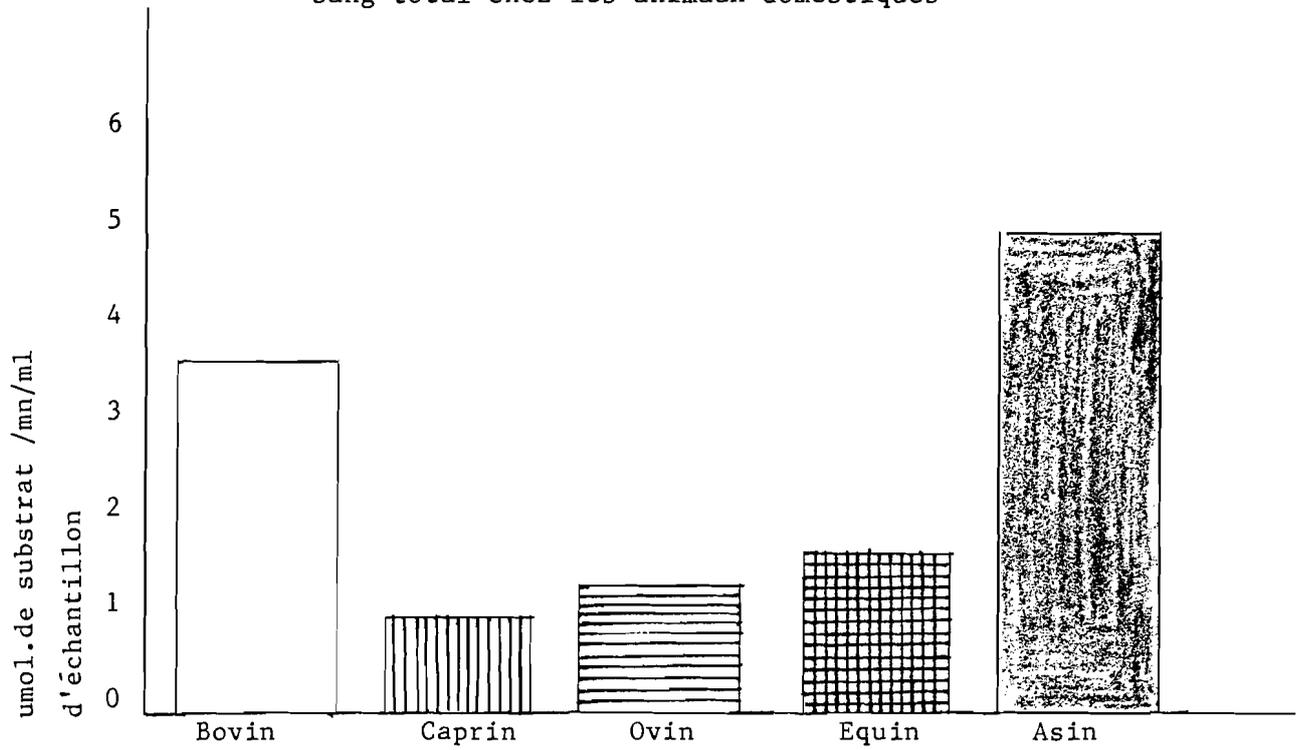


Figure 8 : Comparaison de l'activité cholinestérasique
des globules rouges chez les animaux domestiques

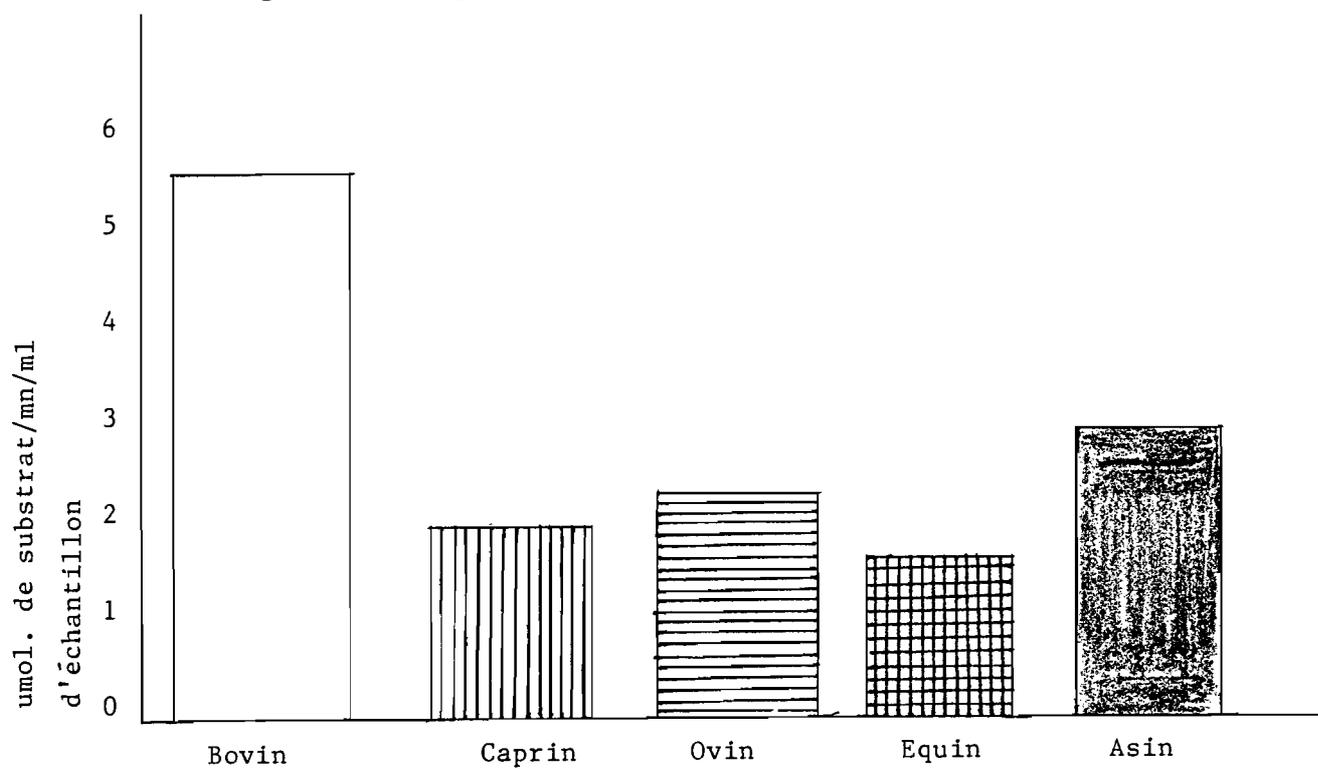


Figure 9 : Comparaison de l'activité cholinestérasique plasmatique chez les animaux domestiques

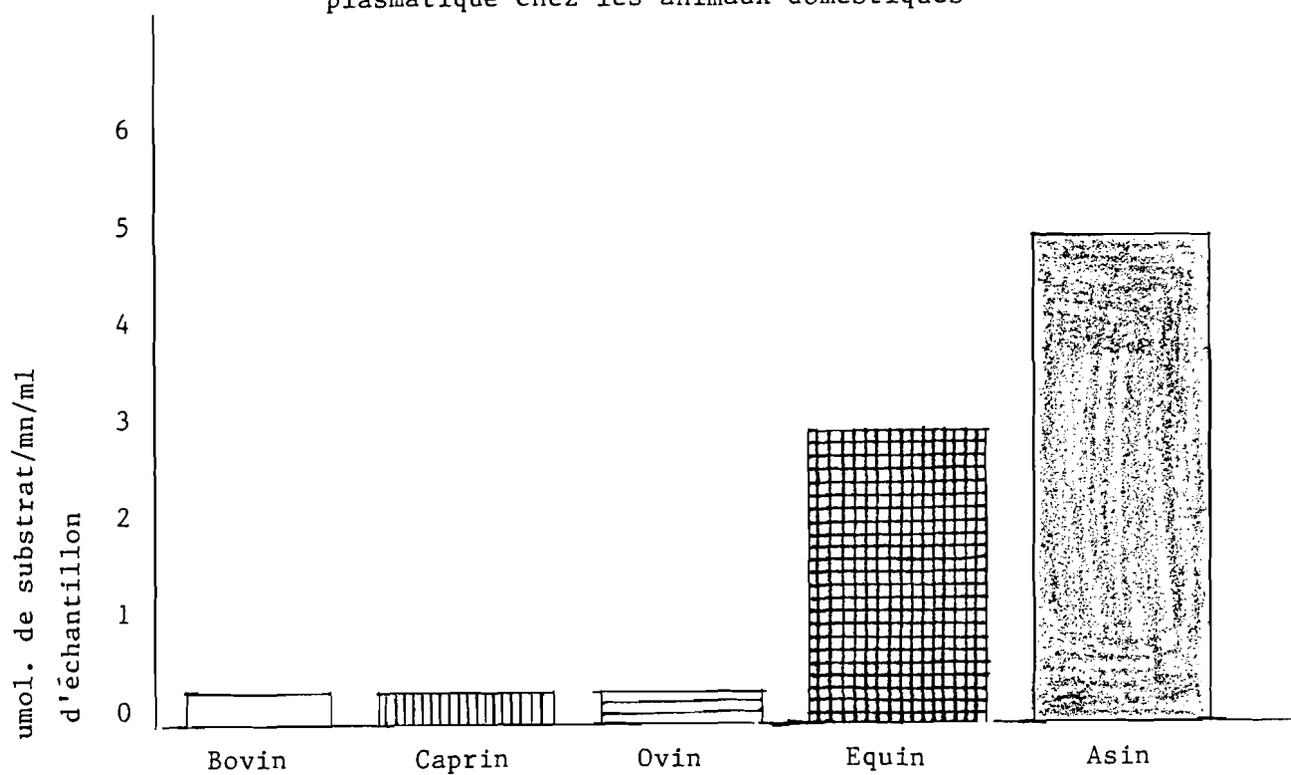
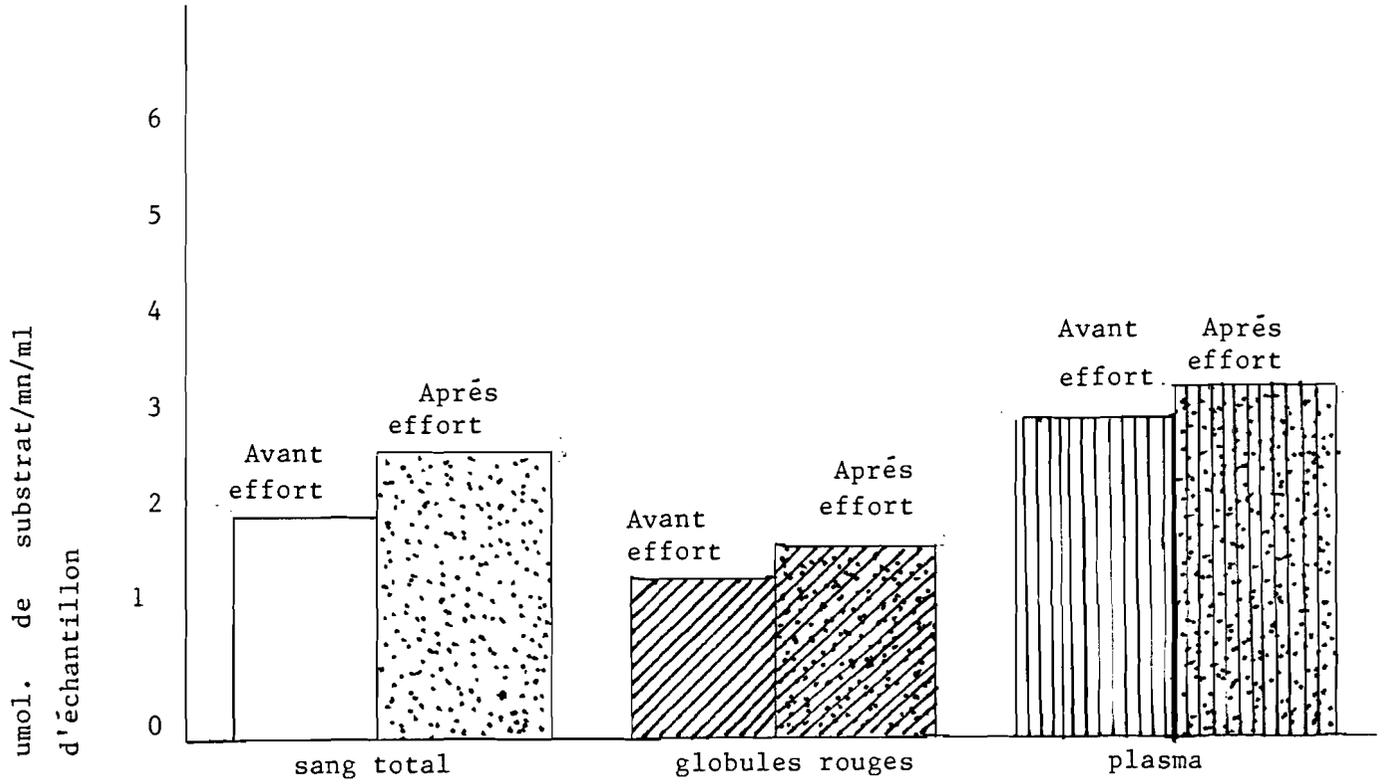


Figure 10 : Activité cholinestérasique avant et après l'effort et selon le milieu chez le cheval



1.3. INFLUENCE DE L'EFFORT SUR L'ACTIVITE CHOLINESTERASIQUE SANGUINE CHEZ LE CHEVAL

A côté des valeurs de référence de l'activité cholinestérasique nous nous sommes intéressés à l'influence que l'effort physique peut avoir sur l'activité cholinestérasique.

L'étude a porté sur des chevaux de trait sur lesquels nous avons effectué des prélèvements avant (valeurs de référence) et après l'effort. Cet effort a consisté à transporter des charges (sacs de riz, sacs de ciment, briques, fûts d'huile et autres ravitaillements alimentaires) sur des distances variables.

Les variations de l'activité cholinestérasique notées sont consignées dans le tableau N° 7 et les histogrammes correspondants représentés sur la figure N° 10.

2. DISCUSSION

2.1. DU CHOIX DES ANIMAUX

Notre travail étant une modeste contribution au suivi de la pollution de l'environnement par les pesticides, nous avons estimé qu'il fallait porter notre choix sur les animaux qui sont le plus souvent en contact avec cet environnement à travers les pâturages et les cours d'eau. Tout en étant des sources de nutrition et d'abreuvement pour les animaux,

ces lieux demeurent de véritables réceptacles pour les produits polluants, exposant les animaux domestiques à des risques d'intoxication non négligeables. Il faut alors disposer de certaines valeurs qui pourraient servir de référence pour des comparaisons lors des pollutions.

Chez les animaux domestiques, les plus exposés à ce risque sont les chevaux, les ânes, les bovins, les ovins et les caprins compte tenu du fait que ce sont des herbivores.

2.2 DES LIEUX DE PRELEVEMENT

L'une des précautions majeures à prendre pour la fiabilité de nos résultats est de soustraire préalablement les animaux ciblés de tout contact avec des facteurs anticholinergiques. Pour répondre à ce souci, nous avons veillé à effectuer nos prélèvements sur des animaux dont l'alimentation est contrôlée, du moins pour la majorité d'entre eux (au PRODELOV pour les ovins, au CRZ de Dahra pour les bovins et caprins). Pour les autres animaux, élevés par des particuliers, les enquêtes préliminaires menées avant les prélèvements et portant sur les conditions d'élevage portent à croire que ceux-ci (chevaux et ânes) n'ont pas été en contact avec des facteurs anticholinestérasiques pendant la période précédant les prélèvements.

2.3. DES RESULTATS

2.3.1. DU DOSAGE DE L'ACTIVITE

CHOLINESTERASIQUE PAR ESPECE

Ces résultats nous permettent de disposer de valeurs de références de l'activité cholinestérasiques pouvant servir lors d'intoxication des animaux domestiques de nos régions.

C'est ainsi que pour les chevaux, cette activité cholinestérasique est surtout plasmatique avec une valeur moyenne $3,55 \pm 0,83$ umol. de substrat/mn/ml de plasma. Pour le sang total, elle est de $2,05 \pm 1,05$ et pour les érythrocytes de $1,74 \pm 0,77$.

Pour les bovins, les valeurs de référence sont : $3,46 \pm 0,86$ pour le sang total ; $5,89 \pm 0,95$ pour les érythrocytes et $0,29 \pm 0,08$ umol. de substrat/mn/ml de plasma. L'activité cholinestérasique est donc surtout érythrocytaire et demeure faible dans le plasma.

Pour les ovins, les valeurs de référence sont : $1,51 \pm 0,36$ pour le sang total ; $2,88 \pm 0,60$ pour les érythrocytes et $0,31 \pm 0,07$ pour le plasma. Ici aussi, l'activité est surtout érythrocytaire et demeure faible dans le plasma.

Pour les caprins, les valeurs sont : $1,19 \pm 0,39$ pour le sang total ; $2,53 \pm 0,65$ pour les érythrocytes et $0,27 \pm 0,14$ umol./mn/ml de plasma. Elle est donc surtout érythrocytaire et faible au niveau du plasma.

Pour les ânes, les valeurs de référence sont : $5,30 \pm 0,60$ pour le sang total ; $3,81 \pm 0,25$ pour les érythrocytes et $5,63 \pm 0,65$ pour le plasma. Cette activité cholinestérasique est donc importante dans tous les compartiments sanguins avec prédominance dans le plasma puis le sang total et enfin les érythrocytes.

Notons que pour les espèces étudiées et au nombre d'échantillon considéré, les facteurs tels que l'âge et le sexe ne semblent avoir aucune influence sur l'activité cholinestérasique.

2.3.2. DE LA COMPARAISON DES ACTIVITES CHOLINESTERASIQUES ENTRE ESPECES

Cette comparaison est faite en tenant compte des compartiments sanguins (sang total, érythrocytes, plasma).

Pour le sang total, l'activité cholinestérasique est plus importante chez l'âne avec $5,63 \pm 0,65$ umol. de substrat/mn/ml de sang total, suivi du bovin avec $3,46 \pm 0,86$ puis du cheval avec $2,05 \pm 1,05$; des ovins avec $1,51 \pm 0,36$ et enfin des caprins avec $1,19 \pm 0,39$ umol./mn/ml de sang total.

Pour les érythrocytes, l'activité la plus importante revient aux bovins : $5,89 \pm 0,95$ umol. de substrat/mn/ml d'érythrocytes puis l'âne avec $3,81 \pm 0,25$; les ovins avec $2,88 \pm 0,60$; les caprins avec $2,53 \pm 0,65$ et enfin les chevaux avec $1,74 \pm 0,77$.

Pour le plasma, l'âne a la plus importante activité cholinestérasique avec $5,63 \pm 0,65$ umol. de substrat/mn/ml de plasma, puis les chevaux avec $3,45 \pm 0,79$, puis les ovins : $0,31 \pm 0,07$; les bovins : $0,29 \pm 0,08$ et les caprins $0,27 \pm 0,14$.

Au terme de cette comparaison on peut tirer les observations suivantes :

- l'âne présente l'activité cholinestérasique la plus élevée, suivi du cheval puis du bovin, de l'ovin et du caprin ;
- les ânes et les chevaux présentent le même profil d'activité cholinestérasique (prédominance au niveau du plasma, puis du sang total puis des érythrocytes) alors que les ruminants présentent leur profil propre (prédominance des érythrocytes puis du sang total puis du plasma) ;
- l'activité cholinestérasique plasmatique est très faible chez les ruminants et très importante chez les monogastriques.

2.3.3. DE LA VARIATION DE L'ACTIVITE CHOLINESTERASIQUE AVEC L'EFFORT CHEZ LE CHEVAL

L'effort physique a induit chez le cheval une augmentation de l'activité cholinestérasique au niveau des 3 échantillons sanguins. C'est ainsi que dans le sang total l'activité passe de $2,05 \pm 1,05$ à $2,74 \pm 0,47$

umol de substrat/mn/ml de sang total, soit une augmentation de 33,6 p.100. Au niveau des érythrocytes, elle varie de $1,74 \pm 0,77$ à $1,96 \pm 0,45$ umol. de substrat/mn/ml d'érythrocytes, soit une augmentation de 12,56 p.100. Au niveau du plasma, l'activité passe de $3,45 \pm 0,79$ à $3,55 \pm 0,83$ umoles de substrat/mn/ml de plasma, soit une augmentation de 2,86p.100.

Ces augmentations de l'activité cholinestérasique pourraient s'expliquer par la sollicitation des muscles et l'augmentation du rythme cardiaque et donc de la masse sanguine lors de l'effort physique.

Les cholinestérases du sang total semblent les plus sensibles à l'effort physique alors que celles plasmatiques le sont moins.

Il est rassurant que la variation importante après l'effort soit au niveau du sang total. Ceci renforce l'hypothèse selon laquelle ce milieu serait peu indiqué pour le suivi de l'activité cholinestérasique.

CONCLUSION

Au Sénégal, le secteur agricole demeure le principal support de l'économie. Toutefois, à l'instar des autres pays sahéliens, cette agriculture est l'objet d'agressions comme la sécheresse et l'action dévastatrice des insectes notamment les invasions acridiennes. Ces différents fléaux ont comme corollaire la faim, la malnutrition, les maladies des végétaux et des animaux.

Cette situation périlleuse justifie la mise en place d'une lutte phytosanitaire à travers l'emploi des pesticides parmi lesquels les insecticides organophosphorés occupent une place importante. En dépit des avantages qu'on peut en tirer, ces produits ne sont pas exempts de reproches notamment la pollution de l'environnement inhérente à leur emploi et leurs effets sur des organismes non cibles.

Pour les raisons que voilà, nous estimons que l'emploi de plus en plus courant des insecticides organophosphorés rend urgente la connaissance d'une méthode permettant d'appuyer un diagnostic par des résultats de laboratoire d'une part et d'autre part la nécessité de disposer de valeurs de référence de l'activité cholinestérasique pour les animaux de nos régions, étant donné que le mode d'action essentiel de ces insecticides organophosphorés est celui d'une inhibition des cholinestérases.

Au département de Pharmacie-Toxicologie de l'Ecole Inter-Etats des Sciences et Médecine Vétérinaires de Dakar, la maîtrise de méthodes de suivi de la pollution de l'environnement demeure l'un des principaux axes d'orientation de la recherche en matière de toxicologie. Le présent travail a pour objectifs d'établir et de comparer l'activité cholinestérasique sanguine de différents animaux domestiques par un même procédé de mesure. Ainsi, nous avons choisi les animaux domestiques qui ont le contact le plus direct avec l'environnement, source de leur alimentation et de leur abreuvement : cheval, âne, bovin, ovin et caprin. Pour chaque espèce, 30 animaux ont été sélectionnés. Les prélèvements se sont déroulés en saison sèche (du 06 Mars au 04 Juin 1992) et au niveau de 3 villes du Sénégal : Dakar (à Thiaroye, pour les chevaux), Kaolack (au Projet de Développement de l'Elevage ovin, pour les ovins ; au foirail, pour les ânes) et Dahra (au Centre de Recherche Zootechniques, pour les bovins et les caprins).

La mesure des cholinestérases par la méthode d'Ellman au niveau du sang total, des érythrocytes et du plasma a abouti aux conclusions suivantes :

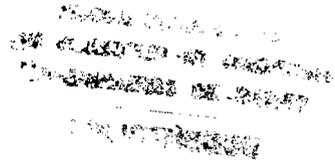
- les valeurs de référence de l'activité cholinestérasique pour les animaux domestiques, selon notre technique de mesure, sont :

. pour les ânes : de $5,30 \pm 0,60$ umol. de substrat/mn/ml de sang total ; $3,81 \pm 0,25$ umol./mn/ml d'érythrocytes et $5,63 \pm 0,65$ umol./mn/ml de plasma ;

- . pour les chevaux : de $2,05 \pm 1,05$ umol/mn/ml de sang total ; $1,74 \pm 0,77$ umol/mn/ml d'érythrocytes et $0,29 \pm 0,08$ umol/mn/ml de plasma ;
- . pour les bovins : de $3,46 \pm 0,86$ umol/mn/ml de sang total ; $5,89 \pm 0,95$ umol/Mn/ml d'érythrocytes et $0,29 \pm 0,08$ umol/mn/ml de plasma ;
- . pour les ovins : de $1,51 \pm 0,36$ umol/mn/ml de sang total ; $2,88 \pm 0,60$ umol/mn/ml d'érythrocytes et $0,31 \pm 0,07$ umol/mn/ml de plasma ;
- . pour les caprins : de $1,19 \pm 0,39$ umol/mn/ml de sang total, $2,53 \pm 0,65$ umol/mn/ml d'érythrocytes et $0,27 \pm 0,14$ umol/mn/ml de plasma.

L'examen de ces valeurs de référence nous permet de faire les comparaisons suivantes :

- les ânes présentent l'activité cholinestérasique la plus élevée, suivis des bovins, puis des ovins et enfin des caprins ;
- on a noté deux types de profil de l'activité cholinestérasique avec d'une part les ânes et les chevaux chez lesquels on a la prédominance de cette activité au niveau du plasma, puis du sang total puis des érythrocytes et d'autre part les bovins, ovins et caprins chez lesquels l'activité prime au niveau des érythrocytes puis du sang total et enfin du plasma ;



- l'activité cholinestérasique plasmatique est très faible chez les ruminants mais très importante chez les monogastriques sélectionnés pour notre étude.

Par ailleurs, l'effort physique chez le cheval induit une augmentation de l'activité cholinestérasique plus accusée dans le sang total que dans les érythrocytes et dans le plasma.

Au terme de ce travail, notre souhait est que les valeurs trouvés ici puissent aider dans le suivi de la pollution de l'environnement par les anticholinestérasiques en constituant des activités "repère".

BIBLIOGRAPHIE

1. ABIOLA, F.A.

Pollution de l'environnement par les effluents industriels ;
Dosage des fluorures, du calcium et du chrome en milieu marin ;
Mémoire : Diplôme d'Etudes Approfondies (DEA) : Toxicologie
fondamentale appliqués : Paris VII : 1986.

2. ABIOLA, F.A. ET CISSE P.

Mesure des cholinestérases chez Tilapia nilotica avant et après une
campagne agricole au Sénégal
Rev. Elev. Med. Vet. pays trop. , 1990, 43 (4) : 515 - 518.

3. ABIOLA ET COLL.

Effet de l'endosulfan sur la biotransformation hépatique de la perdrix
grise .
Gibier faune sauvage, 1989, 6 : 69 -78

4. ANTWI, L.A.K.

Fish head cholinestérase activity after aerial application of Temephos
in two rivers in Burkina-Faso, West Africa ;
Bull. of Envir. contam. and toxicol, 1987, 38 : 461 - 466.

5. BARRET, D.S. ET OEHME, F.W.

A review of organophosphorus ester induced delayed neurotoxicity.
Vet. human toxicol., 1985, 27 : 22 - 40.

6. BELANGER, A.

Danger des pesticides pour l'être humain et l'environnement ;
Séminaire de formation d'emploi des médicaments vétérinaires et des
produits phytosanitaires en Afrique.
Dakar : E.I.S.M.V., 1991.

7. BELLON, P.

Resistance aux insecticides des arthropodes importants en médecine
humaine et vétérinaire ;
Thèse : Méd. vét. : Toulouse : 1972 ; 34

8. BUCK, W.B. ET OSWEILER, G.D.

Clinical and diagnostic veterinary toxicology
2nd ed., Garry A. Van Gelder, 1980.

9. CHAMBON, M.

Aspects toxicologiques de la manipulation des insecticides organophosphorés ;

Journal de Médecine de Bordeaux, 1958, 5 (2) : 642 - 648.

10. CHARY, R.; BOCQUET, P. et JAYOT, R.

Contribution à la toxicologie du bétail : titrage de l'activité cholinestérasique sanguine des ovins ;

Bull. acad. vét., 167 - 174.

11. DAVIES, J.E.

Pesticides residue in man ;

Environmental pollution by pesticide, plenum press Londres ;

New York : 1973, 313 - 333

12. DEJOUX, G.

Hydrobiological evaluation of side effects of laricide treatments against Simulium damnosum in West Africa.

Office de Recherches Scientifiques et Techniques d'Outre-Mer (ORSTOM) ; réunion de travail sur la limnologie africaine ;

Nairobi : 16 - 23 Décembre 1979.

13. DEMBELE, A.

"Biomonitoring" des pesticides dans un écosystème tropical.

Séminaire de formation d'emploi des médicaments vétérinaires et des produits phytosanitaires en Afrique ;

Dakar : EISMV, 1991.

14. DIATTA, F.

Gestion des pesticides au Sénégal

Séminaire de formation d'emploi des médicaments vétérinaires et des produits phytosanitaires en Afrique ;

Dakar : EISMV, 1991.

15. ELLMAN, L. ET COLL.

A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity ;

Biochemical pharmacology, 1961, 7 : 88 - 95.

16. FALCY, J.C.

Mesure de la cholinestérase sanguine chez les bovins ;

Thèse : Méd. vét : Lyon : 1969 ; 22.

17. FALL, M.

Etude de l'évolution des résidus de deux produits phytosanitaires (Endosulfan et Diméthoate) sur deux types de cultures maraîchers (Tomate et Laitue) au Sénégal.

Thèse : Méd. vét. : Dakar : 1991 ; 24

18. F.A.O (FOOD AND AGRICULTURE ORGANISATION) / W.H.O (WORLD HEALTH ORGANISATION)

Codex maximum limits for pesticides résidus ;

F.A.O./W.H.O Codex alimentarius Commission

2e éd., Rome : FAO, 1986, vol.13

19. GOH, K.T. ET COLL.

Acute organophosphorus food poisoning caused by contaminated green leafy vegetables ;

Arch. Environ. Health, 1990, 45 : 180 - 184

20. HANSSON, C.H.

Cholinesterase and muscle relaxants ;

Acta pharmacol. and toxicol., 1956, 12 : 142

21. HANSSON, C.H.

*Blood and muscle cholinesterase activities in domestic animals ;
Acta pharmacol. and toxicol., 1957, 13 : 142 - 154*

22. HERSTEIN, S.

*Réaction of acetylcholine and other carboxylic acid derivatives with
hydroxylamine and its analytical application.
J.biol. Chem., 1949, 180 : 249*

23. HOECHST

*Information produit : Thiodanr ; données actualisées sur ses
propriétés et son comportement ;
Frankfort : Hoechst Artiengesellschaft Marketing Agriculture, 1990 -
35p.*

24. KARAKAYA, A.E. ET AZOLP, S.

*Organochlorine pesticide in human adipose tissues collected in Ankara
(Turkey), 1984 - 1985.
Bull. Environ. Contam. Toxicol. ; 1987, 38u : 941 - 945.*

25. KAYSER, C.

*Physiologie : Système nerveux, muscles ;
2e éd. Paris : Flammarion, 1969, Tome 2, 1467 p.*

26. KECK, G.

Toxicologie des insecticides organophosphorés et carbamates ;
Note de toxicologie vétérinaire du C.N.I.T.V., 1980, 7 : 375 - 396

27. LOKKEN, P. ET COLL.

Organochlorine pesticides in human milk from different areas of
Kenya ;
J. Toxicol. Environ. Health, 19 : 449 - 464.

28. LOMBARDO, P.

The F.D.A. pesticides program : goals and new approach ;
J. Assoc. Off. Anal. Chem., 1989, 72 : 518 - 520.

29. LU, F.C.

Acceptable daily intake : inception, evolution and application ;
Regul. Toxicol. Pharmacol., 1988, 8 : 45 - 60.

30. MAYBUURY, R.B.

Codex alimentarius approach to pesticide residue standard ;
J. Assoc. Off. Anal. Chem., 1989, 72 : 538 - 541.

31. MICHEL, H.O.

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

J. lab. clin. med., 1949, 34 : 1564.

32. PARE, M.

Utilisation des pesticides au Burkina-Faso

Thèse : Méd. Vét. : Dakar : 1985 ; 11

33. PETTY, Ch. S. ET LOWELL, M.P.

Cholinesterase activity of bovine blood ;

Am. J. Vet. Res., 1958, 64 : 836 - 839.

34. RAMADE, F.

Ecotoxicologie

2e éd. Paris : Masson 228 p.

35. ROBBINS, W.E.; HOPKINS, Th. L. ET ROTH, A.R.

Application of the colorimetric whole blood method to the measurement of bovine red blood cell cholinesterase activity ;

J. econ. ent., 1958, 51 (3) : 326 - 329.

36. RUCKEBUSH, Y. ET RUCKEBUSH, M.

Mesure de l'activité cholinestérasique du sang chez les animaux domestique ;

Rev. Méd. Vét, 1959, 110 : 627

37. SHARINOV, I.K.; VISHNEUSKATA, S.S ET MERGEMBAEVA, K.

Chromosomes aberrations in hote house worker coming in contract with pesticides.

Tsitol. Genet., 1989. 23 : 60 - 63.

38. SIDO, S.

Mesure de l'activité cholinestérasique chez les ruminants ;

Application au diagnostic de l'intoxication par les I.O.P ;

Thèse : Méd. Vét. : Dakar : 1987; 8

39. TOURTE, C.

Insecticides et Environnement : résidus et toxicité dans les écosystèmes. Situation actuelle et perpective d'avenir de la lutte contre les insectes, agents et vecteurs de maladies ;

Thèse : Méd. : Paris V : 1972 ; 140

40. 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

41. WATTECAMPS, D.

Inhibition des cholinestérases par les insecticides organophosphorés :
détermination des paramètres réactionnels.

Mémoire gradué en biochimie : Irchunwelz : 1988, 7801.

TABLE DES ILLUSTRATIONS

PAGES

A - Tableaux

Tableaux 1 : Type de formulation, quantités et capacités des unités de formulation	8
" 2 : Classification des produits phytosanitaires en fonction de leur DL50 ..	14
" 3 : Valeurs de référence de l'activité cholinestérasique chez les bovins	54
" 4 : Valeurs de référence de l'activité cholinestérasique chez les caprins	55
" 5 : Valeurs de référence de l'activité cholinestérasique chez les ovins	56
" 6 : Valeurs de référence de l'activité cholinestérasique chez les ânes	57
" 7 : Valeurs de référence de l'activité cholinestérasique chez les chevaux et sa variation après l'effort	58

B - Figures

Figure 1 : Mécanisme Ach/AchE au niveau d'un synapse....	29
" 2 : Activité cholinestérasique selon le milieu chez les bovins	59
" 3 : Activité cholinestérasique selon le milieu chez les caprins	60
" 4 : Activité cholinestérasique selon le milieu chez les ovins	61
" 5 : Activité cholinestérasique selon le milieu chez les chevaux.....	62
" 6 : Activité cholinestérasique selon le milieu chez les ânes	63
" 7 : Comparaison de l'activité cholinestérasique du sang total chez les animaux domestiques...	64
" 8 : Comparaison de l'activité cholinestérasique des globules rouges chez les animaux domestiques	65
" 9 : Comparaison de l'activité cholinestérasique du plasma	66
" 10 : Activité cholinestérasique avant et après l'effort et selon le milieu chez le cheval...	67

TABLE DES MATIERES

	<u>PAGES</u>
<u>INTRODUCTION</u>	1
<u>PREMIERE PARTIE</u> : Etude bibliographique	4
<u>CHAPITRE I</u> : Emploi des pesticides au Sénégal	5
1 : Généralités sur les pesticides	5
1.1. Définition	5
1.2. Types de pesticides	5
1.2.1. Insecticides	5
1.2.1. Fongicides	6
1.2.3. Herbicides	6
1.2.4. Rodenticides et Raticides	6
1.2.5. Molluscicides	6
1.3 Origine des pesticides	7
1.3.1. Fabrication locale	7
1.3.2. Importations	9
1.4. Marché des pesticides	9
1.2.1. Consommateurs	9
1.4.2. Distribution	10
1.5. Règlementation	11
1.5.1. Règlementation	11
1.5.2. Contrôle	12
1.6. Danger des pesticides	13
1.6.1. Intoxications	13
1.6.2. Pollution	15

1.6.3. Résistance	17
1.6.4. Risque pour l'homme	18
2. Les insecticides organophosphorés (I.O.P.).....	19
2.1. Structure et classification	20
2.2. Propriétés physicochimiques	21
2.2.1. Propriétés physiques	21
2.2.2. Propriétés chimiques	22
2.3. Usage des IOP	23

CHAPITRE II : Activité cholinestérasique et toxicité

des I.O.P.	24
1. Les cholinestérasés	24
1.1. Définition	24
1.2. Classification et caractéristiques	25
1.3. Répartition des cholinestérasés	
dans les tissus	26
1.4. Mode d'action	28
2. Mécanisme d'action toxique des I.O.P.	30
2.1. Rappels physiologiques sur la transmission	
nerveuse cholinergique	30
2.1.1. L'acétylcholine (Ach)	30
2.1.2. Mécanisme de la transmission	
synaptique	32
2.2. Mécanisme de la toxicité des I.O.P... ..	34
3. Méthodes de mesure utilisables	36
3.1. Méthodes basées sur la détermination	
de l'acétylcholine	36

3.2. Méthodes basées sur le dosage de l'acide acétique libéré en un temps donné	37
3.2.1. Méthodes titrimétriques	37
3.2.1.1. Méthode avec indicateur interne.....	37
3.2.1.2. Méthode avec indicateur externe	38
3.2.1.3. Méthode utilisant le potentiomètre	38
3.2.2. Méthode d'un dégagement gazeux	38
3.2.3. Détermination d'un abaissement de pH.....	38
3.2.3.1. Méthode électrométrique	39
3.2.3.2. Méthodes colorimétriques	39
4. Importance du dosage	40

DEUXIEME PARTIE : Etude expérimentale

<u>CHAPITRE I</u> : Matériel et méthodes d'étude.....	42
1. Matériel	42
1.1. Les animaux	42
1.2. Le matériel technique et de laboratoire.....	43
1.2.1. Le matériel technique	43
1.2.2. Le matériel de laboratoire	44
1.2.2.1. Les appareils	44
1.2.2.2. Les réactifs	44
1.2.2.3. Autres matériels	46
2. Méthodes d'étude	46
2.1. Technique de prélèvement de sang	46

2.2. Mode de dosage de l'activité	
cholinestérasique.....	47
2.2.1. Principe	47
2.2.2. Méthode	48
2.2.3. Conditions requises pour un	
bon dosage	50
2.2.4. Détermination de l'hydrolyse non	
enzymatique du substrat	51
2.2.5. Méthode de calcul des activités	
cholinestérasiques	51
CHAPITRE II : Résultats et discussions	52
1. Résultats	52
1.1. Résultats du dosage de l'activité	
cholinestérasique par espèce	52
1.2. Comparaison de l'activité cholinestérasique	
entre les espèces	53
1.3. Influence de l'effort sur l'activité	
cholinestérasique sanguine chez le cheval	68
2. Discussions	68
2.1. Du choix des animaux	68
2.2. Des lieux de prélèvement	69
2.3. Des résultats	70
2.3.1. Du dosage de l'activité	
cholinestérasique par espèce	70
2.3.2. De la comparaison des activités	
cholinestérasiques entre espèces	71

2.3.3. De la variation de l'activité cholinestérasique avec l'effort chez le cheval	72
<u>CONCLUSION</u>	74
<u>BIBLIOGRAPHIE</u>	78
<u>TABLE DES ILLUSTRATIONS</u>	88

SERMENT DE VETERINAIRES
DIPLOMES DE DAKAR

Fidèlement attaché aux directives de Claude Bourgelat, fondateur de l'enseignement vétérinaire dans le monde, je promets et 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 retirée s'il advienne que je me parjure.

L E C A N D I D A T

VU

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

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

VU

LE DOYEN
DE LA FACULTE DE MEDECINE
ET DE PHARMACIE

LE PRESIDENT DU JURY

VU ET PERMIS D'IMPRIMER _____
DAKAR, LE _____

LE RECTEUR, PRESIDENT DE L'ASSEMBLEE DE
L'UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR