

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET
POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE HADJ LAKHDAR BATNA
INSTITUT DES SCIENCES VETERINAIRES
ET SCIENCES AGRONOMIQUES
DEPARTEMENT VETERINAIRE



MÉMOIRE

Pour l'obtention du diplôme de

MAGISTER

Filière

Sciences Vétérinaires

Option

Pathologie générale des ruminants

Présentée par :

BOUFEDDA Nadia

Thème

**Modifications Biochimiques, Hématologiques et Interactions
avec les éléments essentiels (Zn et Cu) chez la brebis de la
race Ouled-Djellal, après une exposition réitérée au Plomb
et /ou au Cadmium.**

Jury :

| | | | Grade Et Université |
|--------------|---------------|------------|----------------------------------|
| Président : | B. MAMACHE | Professeur | Université El-Hadj Lakhdar Batna |
| Rapporteur : | S. MEHENNAOUI | Professeur | Université El-Hadj Lakhdar Batna |
| Examineurs: | M. TLIDJANE | Professeur | Université El-Hadj Lakhdar Batna |
| | A. MEDDOUR | M.C.A | Université Badji Mokhtar Annaba |

Année universitaire 2014-2015

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé au laboratoire d'Environnement, Santé et Production Animale (L.E.S.P.A) de l'Institut des Sciences Vétérinaires et Sciences agronomiques de l'université EL-Hadj Lakhdar Batna.

Mes remerciements les plus sincères et les plus chaleureux s'adressent :

A mon promoteur **Mr. Mehennaoui Smail**, Professeur à l'université EL HADJ LAKHDAR- BATNA, j'adresse l'expression de ma gratitude et respect pour m'avoir encadré et dirigé dans mon travail; pour l'aide précieuse, et chaleureuse, et qui m'a permis de réaliser ce travail de recherche dans les meilleures conditions. Il m'a prodigué de fructueux conseils et encouragements. Je le remercie pour sa disponibilité et le temps qu'il a bien voulu me consacrer et sans qui ce mémoire n'aurait jamais vu le jour. J'espère que vous trouverez dans l'accomplissement de ce travail, le produit bénéfique de votre encadrement.

A **Monsieur Mamache Bakir**, Professeur à l'université de Batna Pour avoir accepté de présider et d'évaluer la valeur scientifique de notre travail. Hommage respectueux,

A **Monsieur Tidjane Madjid**, Professeur à l'université de Batna pour avoir fait l'honneur de juger notre travail. Sincères remerciements.

A **Monsieur Meddour Abderrafik**, Maitre de conférence à l'université d'Annaba Qu'il me soit permis aussi de le remercier sincèrement pour avoir bien voulu examiner et juger ce travail, Hommage respectueux, Je ne peux oublier d'adresser mes remerciements les plus vifs et sincères à **Madame Sellaoui Sassia** Maitre assistante à l'université de Batna pour son aide irremplaçable, ses louables contributions inlassables et ses encouragements durant le travail. Hommage respectueux,

Toute ma gratitude va également à **Monsieur Boudaoud Amine**. Maitre assistant à l'université de Batna pour sa contribution efficace de cette recherche et ces encouragements. Mes sincères remerciements.

Mes remerciements vont à **Madame Arab Hadda**, Maitre assistante à l'université de Batna et à **Monsieur Bendaiikha Abdel wahab** technicien du laboratoire et à **Monsieur Titaouin Nadhir** ingénieur informaticien pour leurs aides.

Je tiens à remercier vivement tous mes enseignants du département vétérinaire de Batna pour tout le savoir qu'ils m'ont prodigué et leur soutien moral.

A **Madame Boukrousse**, médecin chef du laboratoire de biochimie et à **Monsieur Nassim** chef de service d'hématologie (CHU Batna), pour m'avoir accueilli et supporté, pour leur aide, pour leur disponibilité et leur gentillesse dans la réalisation de ce travail. Sincères remerciements.

Je remercie également Messieurs **Khelifi Nacer** et **Djamel** responsable de l'animalerie du département vétérinaire pour leur aide et leur disponibilité et les nombreux services durant la réalisation de ce travail. Je ne remercierai jamais assez aux étudiants (**Ballà W, Bouali F, Merrad S, Salfi Z, Malki O, Touati M et Bensaadi Y**) de département vétérinaire pour leur aide en particulier lors d'administration et lors des prélèvements sanguins.

Ma reconnaissance va également à tout le personnel de l'administration de département vétérinaire.

DEDICACE

Je dédie ce travail

A toute ma famille

A mes parents : tout mon amour.

A mes très chers frères en témoignage de mon affection que

dieu vous garde pour moi.

A ma grand-Mère que Dieu la protège.

A mes camarades.

LISTE DES ABREVIATIONS

% : Pourcentage

MS : Matière sèche

Cr : Chrome

Pb : Plomb

Cd: Cadmium

Hg: Mercure

Zn :Zinc

Cu : Cuivre

Co : Cobalt,

Mn : Manganèse

Mo : Molybdène

Fe : Fer

Se : Sélénium

Ca²⁺ : Calcium

ALA : Aminolévulinate .

PBG : Porphobilinogène.

ARN :Acide ribonucléique

CIRC :Centre international de recherche sur le cancer

ETM : Eléments en traces Métalliques

ET : élément trace

ML : métaux lourds

µm : micromètre

µg : micro-gramme

OMS : Organisation mondiale de la santé

USEPA: United.States.Environmental Protection Agency

LD : La limite de détection

Kg : Kilo-gramme

Mg : Mili-gramme.

INSERM : Institut National de la santé et de la recherche scientifique

Cm :Centimètre

C° : degré Celsius

Nm : Nano-mètre

INERIS : Institut national de l'environnement industriel et des risques

ALAT :l'alanine amino transférase

ASAT : l'aspartate amino transférase

INRA : Institut National de la Recherche Agronomique

ml : Millilitre

ug/l : micro-gramme par litre

EDTA : Acide éthylène diamine tétra acétique

Hb : l'hémoglobine

Ht : l'hématocrite.

ppm : partie par million

PV : poids vif

TGO : transaminase glutamique oxaloacétique

TGP : transaminase glutamique pyruvate

SOMMAIRE

Introduction **page**

PREMIERE PARTIE

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 1 : Les éléments traces métalliques

| | |
|---|----|
| 1. Caractéristiques | 01 |
| 1.1. Les éléments traces métalliques | 01 |
| 1.1.1. Les éléments traces essentiels | 03 |
| 1.1.2. Les éléments traces toxiques..... | 03 |
| 2. Origine des ETM dans l'environnement | 03 |
| 2.1. Sources naturelles | 04 |
| 2.2. Sources anthropiques..... | 04 |

Chapitre 2: Le Plomb

| | |
|---|----|
| 1. Données générales sur le plomb..... | 06 |
| 2. Propriétés physico-chimique..... | 07 |
| 3. Sources de plomb..... | 08 |
| 3.1. Pollution de l'environnement..... | 08 |
| 3.1.1. Pollution naturelle..... | 08 |
| 3.1.2. Pollution industrielle | 08 |
| 3.1.3. Pollution automobile | 09 |
| 3.2. Circonstances d'intoxication accidentelles | 09 |
| 3.2.1. Ingestion de Pb métallique..... | 09 |
| 3.3.3. Inhalation..... | 09 |
| 4. La cinétique du plomb dans l'organisme..... | 09 |
| 4.1. Absorption..... | 09 |
| 4.2. Distribution..... | 10 |
| 4.2.1. Dans le sang..... | 10 |
| 4.2.2. Dans les tissus mous et les organes | 10 |
| 4.3. La biotransformation..... | 11 |
| 4.4. Elimination..... | 11 |
| 5. La toxicité du plomb..... | 11 |
| 5.1. Mécanisme de l'action toxique..... | 12 |

| | |
|---|----|
| 5.1.1. Des perturbations enzymatiques..... | 12 |
| 5.1.2. Une compétition avec le calcium..... | 14 |
| 5.1.3. Effets sur le système nerveux..... | 15 |
| 5.1.4. Effets rénaux..... | 15 |
| 5.1.4.1. Une néphropathie subaiguë..... | 15 |
| 5.1.4.2. Une néphropathie tardive..... | 15 |
| 5.1.5. Effets hépatiques..... | 16 |
| 5.1.6. Des modifications biochimiques du sang..... | 16 |
| 5.1.7. Cancérogénicité..... | 16 |
| 6. Signes d'intoxication par le plomb chez les petits ruminants..... | 17 |
| 6.1. Forme aiguë..... | 17 |
| 6.2. Forme chronique..... | 17 |
| 7. Les interactions entre le plomb et les éléments minéraux essentiels..... | 18 |

Chapitre 3 : Le Cadmium

| | |
|---|----|
| 1. Données générales sur le cadmium..... | 19 |
| 2. Propriétés physico-chimiques..... | 19 |
| 2.1. Propriétés physiques..... | 20 |
| 2.2. Propriétés chimiques..... | 20 |
| 3. Utilisation..... | 20 |
| 4. la cinétique du cadmium..... | 21 |
| 4.1. Absorption..... | 21 |
| 4.1.1. Inhalation..... | 21 |
| 4.1.2. Absorption gastro-intestinale..... | 21 |
| 4.2. Transport et distribution tissulaire..... | 22 |
| 4.3. Elimination..... | 23 |
| 5. Toxicité du cadmium..... | 23 |
| 5.1. Effets aigus..... | 24 |
| 5.2. Effets chroniques..... | 24 |
| 6. Biomarqueurs de l'exposition au cadmium..... | 24 |
| 6.1. Cadmium dans les phanères..... | 24 |
| 6.2. Cadmiémie..... | 25 |
| 7. les interactions entre le cadmium et les éléments minéraux essentiels..... | 25 |

DEUXIEME PARTIE
ETUDE EXPERIMENTALE
Chapitre 1 : Matériels et Méthodes

| | |
|---|----|
| 1. Matériels..... | 26 |
| 1.1.Lieu de l'expérimentation..... | 26 |
| 1.2.Animaux | 26 |
| 1.2.1 .Exposition aux métaux toxiques | 27 |
| 1.2.2.Voie d'administration..... | 27 |
| 1.2.3.Modalités d'administration des gélules..... | 27 |
| 1.2.4.Nature et rythme des prélèvements | 28 |
| 1.2.4.1.Prélèvements destinés à contrôler l'alimentation | 28 |
| 1.2.4.2.Prélèvements sanguins destinés au dosage des métaux toxiques..... | 28 |
| 1.2.4.3. Prélèvements sanguins destinés au dosage des paramètres biochimiques..... | 28 |
| 1.2.4.4. Prélèvements sanguins destinés au dosage des paramètres hématologiques..... | 28 |
| 1.2.4.5. Prélèvements sanguins destinés au dosage (Cuprémie et Zincémie) | 28 |
| 1.2.4.6 .Prélèvements de laine destinés à doser le Zinc et le Cuivre | 29 |
| 2.Méthodes analytiques..... | 30 |
| 2.1 .Methodologie analytique de la minéralisation en vue du dosage du plomb, cadmium, zinc et du cuivre dans l'aliment | 30 |
| 2.1.1. Préparation de l'échantillon | 30 |
| 2.1.2.Préparation de la verrerie | 30 |
| 2.1.3.Extraction des éléments minéraux | 30 |
| 2.1.3.1. La calcination sèche..... | 30 |
| 2.1.3.1.1. Le mode opératoire | 31 |
| 2.1.3.2.Extraction par la digestion humide | 32 |
| 2.1.3.2.1. Mode opératoire..... | 33 |
| 2.1.4.Préparation des solutions | 33 |
| 2.1.4.1.Préparation des solutions mères..... | 33 |
| 2.1.4.1.2.Préparation d'une solution intermédiaire multi-élément de 10mg/l..... | 34 |
| 2.1.4.1.3.Préparation d'une solution multi-élément(étalons, filles) de 1mg/l..... | 34 |
| 2.2. Méthode analytique en vue du dosage des métaux toxique dans le sang..... | 36 |
| 2.2.1. Dosage du Plomb et du Cadmium dans le sang | 36 |
| 2.3.Méthode analytique appliquée au dosage du cuivre et zinc plasmatique..... | 37 |
| 2.4 .Mesure des paramètres hématologiques | 39 |

| | |
|--|----|
| 2.4.1. Dosage de l'hémoglobine..... | 39 |
| 2.4.2.Dosage de l'hématocrite | 39 |
| 2.4.2.1. Mode opératoire | 39 |
| 2.5.Méthode analytique en vue du dosage des paramètres biochimiques..... | 41 |
| 2.5.1. Matériels utilisés | 41 |
| 2.5.2.Analyse des enzymes hépatiques (les transaminases)..... | 41 |
| 2.5.2.1.l'alanine amino transférase (ALAT ou TGP)..... | 41 |
| 2.5.2.2.l'aspartate amino transférase(ASAT ou TGO)..... | 42 |
| 2.5.2.3. Les protides totaux | 42 |
| 2.5.2.4. La Créatinine plasmatique | 43 |
| 2.6. Méthode analytique en vue du dosage du zinc et du cuivre dans la laine..... | 44 |
| 2.6.1. Lavage de la laine | 44 |
| 2.6.2. Minéralisation sèche | 44 |
| 2.6.3. Les solutions étalons..... | 45 |
| 2.7 .Analyse statistique | 45 |

Chapitre 2 : Résultats

| | |
|--|----|
| 1. Dans l'alimentation..... | 46 |
| 2 .Dans le sang..... | 47 |
| 2.1.Plombémie..... | 47 |
| 2.2. Paramètres hématologiques | 50 |
| 2.3. Paramètres biochimiques | 54 |
| 2.4. Zincémie et Cuprémie..... | 60 |
| 3.Dans la laine | 63 |
| 3.1.Teneur en zinc dans la laine des brebis..... | 63 |
| 3.2.Teneur en cuivre dans la laine des brebis..... | 64 |
| 4.Etude des corrélations | 66 |

Chapitre 3 : Discussion

| | |
|--|----|
| 1.Du protocole expérimentale | 68 |
| 2. Ration alimentaire..... | 69 |
| 2 .1. Teneurs en métaux toxiques..... | 69 |
| 2.2. Teneur en éléments minéraux | 70 |
| 3 .Dans le sang..... | 71 |
| 3.1. La plombémie | 71 |
| 3.2.Les paramètres hématologiques..... | 73 |

| | |
|--|----|
| 3.3.Les paramètres biochimiques..... | 74 |
| 3.4. Cuprémie et Zincémie..... | 75 |
| 3.4.1.Cuprémie..... | 75 |
| 3.4.2 .Zincémie..... | 76 |
| 4.Dans la laine..... | 77 |
| 4.1.Teneurs en cuivre dans la laine..... | 78 |
| 4.2.Teneurs en zinc dans la laine..... | 78 |

Conclusion

Annexe

Références bibliographiques

INDEX DES TABLEAUX

| | Page |
|--|-------------|
| Tableau 1. Classification de quelques métaux lourds selon leur densité et leur toxicité | 02 |
| Tableau 2. Sources industrielles et agricoles des métaux présents dans l'environnement | 05 |
| Tableau 3. Solubilité dans l'eau des composés du plomb | 07 |
| Tableau 4. Effets du plomb sur les enzymes de la biosynthèse de l'hème..... | 13 |
| Tableau 5. Posologie administrée pendant 7 semaines (mg/kg/j rapporté au métal)..... | 27 |
| Tableau 6. Conditions et destinée des prélèvements de sang..... | 29 |
| Tableau 7. Caractéristiques du programme thermique pour les dosages sanguins..... | 36 |
| Tableau 8. Gamme d'étalonnage du plomb et du cadmium..... | 36 |
| Tableau 9. Teneurs moyennes en minéraux (Moyenne \pm écartype) de l'alimentation destinée aux animaux pendant l'expérimentation..... | 47 |
| Tableau 10. Variations des plombémies moyennes ($\mu\text{g/l}$) chez le lot témoin et le lot Plomb..... | 48 |
| Tableau 11. Variations des plombémies moyennes ($\mu\text{g/l}$) chez le lot témoin et le lot Plomb-Cadmium..... | 49 |
| Tableau 12. Valeurs moyennes des paramètres hématologiques (Hb, Ht) (moyenne \pm S.D) dans le lot témoin et le lot Plomb..... | 51 |
| Tableau 13. Valeurs moyennes des paramètres hématologiques (Hb, Ht) (moyenne \pm S.D) dans le lot témoin et le lot Plomb-Cadmium..... | 53 |
| Tableau 14. Variations du taux d'hémoglobine (g/100ml) chez lot Pb et le lot Pb-Cd..... | 53 |
| Tableau 15. Variations d'hématocrite (%) chez lot Pb et lot Pb-Cd..... | 54 |
| Tableau 16. Valeurs moyennes des paramètres biochimiques (moyenne \pm S.D) dans le lot témoins et le lot Plomb | 55 |
| Tableau 17. Valeurs moyennes des paramètres biochimiques (moyenne \pm S.D) dans le lot témoin et le lot Plomb-Cadmium..... | 58 |
| Tableau 18. Valeurs moyennes des Zincémies ($\mu\text{g}/100\text{ml}$) (moyenne \pm S.D) dans le lot Pb, Pb-Cd et les témoins..... | 60 |
| Tableau 19. Valeurs moyennes des Cuprémies ($\mu\text{g}/100\text{ml}$) (moyenne \pm S.D) dans le lot Pb, Pb-Cd et les témoins..... | 62 |
| Tableau 20. Valeurs moyennes en Zinc (ppm) dans la laine chez le lot Pb, Pb-Cd et les témoins | 63 |
| Tableau 21. Valeurs moyennes en Cuivre (ppm) dans la laine chez le lot Pb et Pb-Cd et les témoins..... | 65 |
| Tableau 22. Matrice de corrélation | 66 |

INDEX DES FIGURES

| | |
|---|----|
| Figure 1. Synthèse de l'hème. Le plomb inhibe l'ALA déshydratase, l'hème-synthétase et à un moindre degré, la coproporphyrinogène-décarboxylase..... | 14 |
| Figure 2. Droites d'étalonnage du (Cu)-(Zn)-(Cd)-(Pb) en milieu aqueux..... | 35 |
| Figure 3. Droites d'étalonnage du (Cd)-(Pb) en milieu sanguin..... | 37 |
| Figure 4. Droites d'étalonnage pour le dosage du Cu et Zn plasmatique..... | 38 |
| Figure 5. Droites d'étalonnage en milieu aqueux pour le dosage du Cu et du Zn dans la laine..... | 45 |
| Figure 6. Evolution des plombémies ($\mu\text{g/l}$) dans le lot Pb avant et après exposition quotidienne des brebis à des doses de 2.5mg/kg/j | 48 |
| Figure 7. Evolution des plombémies ($\mu\text{g/l}$) dans le lot Pb-Cd avant et après exposition quotidienne des brebis à des doses de 2.5mg /kg/j | 49 |
| Figure 8. Evolution des plombémies ($\mu\text{g/l}$) chez les deux lots expérimentaux (lot Pb et lot Pb-Cd) | 50 |
| Figure 9. Evolution du taux d'hémoglobine (g/100ml) dans le lot Pb, Pb-Cd et les témoins..... | 51 |
| Figure10. Evolution du taux d'hématocrite (%) dans le lot Pb, Pb-Cd et les témoins..... | 52 |
| Figure11. Evolution des TGP(ALAT) (UI/L) dans le lot Pb, Pb-Cd et les témoins..... | 56 |
| Figure12. Evolution des TGO (ASAT) (UI/L) dans le lot Pb,Pb-Cd et les témoins..... | 56 |
| Figure13 . Evolution de la Créatinine (mg/l) dans le lot Pb, Pb-Cd et les témoins..... | 59 |
| Figure 14. Evolution des protides totaux (g/l) dans le lot Pb, Pb-Cd et les témoins..... | 59 |
| Figure15. Evolution de la Zincémie ($\mu\text{g}/100\text{ml}$) dans le lot Pb, Pb-Cd et les témoins..... | 61 |
| Figure16. Evolution de la Cuprémie ($\mu\text{g}/100\text{ml}$) dans le lot Pb, Pb-Cd et les témoins..... | 62 |
| Figure17. Teneurs moyennes en zinc dans la laine (ppm) chez les deux lots expérimentaux (Pb et Pb-Cd) et les témoins | 64 |
| Figure18. Teneurs moyennes en cuivre dans la laine (ppm) chez les deux lots expérimentaux (Pb et Pb-Cd) et les témoins | 65 |

INDEX DES PHOTOS

| | |
|--|----|
| Photo 1. Un four à moufle (LESPA)..... | 31 |
| Photo 2 . Une étuve pour séchage (LESPA)..... | 31 |
| Photos 3. Centrifugeuse (LESPA)..... | 39 |
| Photo 4. Centrifugeuse à hématocrite (LESPA)..... | 40 |
| Photo 5. Tubes à hématocrite(LESPA)..... | 40 |

INTRODUCTION

L'industrialisation a provoqué une augmentation phénoménale de la quantité de contaminants présents dans l'environnement et de leur diversité. La contamination de l'environnement par les Eléments traces métalliques (ETM) est une préoccupation majeure et universelle, compte tenu de la possibilité de leurs passage dans la chaîne du vivant, leurs conséquences sur la santé animale et leur impact sur la santé de l'homme.

L'évaluation des effets néfastes de ces polluants métalliques est un problème d'actualité tant chez l'homme que chez l'animal. Cependant si chez l'homme l'abondance des études et la puissance des moyens d'investigations ont permis d'établir des normes aboutissant à la fixation assez précise des conditions et des limites d'exposition tolérable, il n'en va pas de même chez les animaux. Pour ces derniers on s'est en effet beaucoup plus préoccupé des intoxications cliniquement exprimées que du dépistage.

Les métaux lourds sont les plus préoccupants de tous les contaminants de l'environnement réputés pour leur toxicité et ubiquité. Ces métaux peuvent affecter plusieurs systèmes et fonctions du corps. Certains métaux lourds (cadmium, plomb) possèdent des activités toxicologiques sur plusieurs organes et fonctions (systèmes nerveux, hépatique, rénal, digestif ...).

L'évaluation du risque passe donc nécessairement par la mesure de l'exposition et ses conséquences métaboliques après que le sujet ait ingéré des doses infratoxiques mais cumulatives qui simulent le niveau de contaminations des fourrages destinés aux animaux.

L'objectif défini de cette étude est de mettre en évidence les biomarqueurs d'effets suite à une exposition répétée au plomb et ou au cadmium, et de cerner plus exactement l'activité de métaux toxiques et leurs conséquences sur certains paramètres y compris les paramètres hématologiques, biochimiques, ainsi que certaines interactions avec deux éléments essentiels (zinc et cuivre).

Nous allons rendre compte du protocole expérimental mis en œuvre suivi des résultats obtenus et de leurs discussions. Les données relatives au cadmium feront l'objet d'un rapport à part.

Auparavant des informations relatives à la contamination de l'environnement par les métaux lourds et son impact sur la santé animale et publique ainsi que les aspects toxicologiques du Pb et du Cd en particulier les effets à long terme sont rapportés en 1^{ère} partie. Une deuxième partie est consacrée à l'étude expérimentale qui expose le matériel, les méthodes et les techniques de travail.

CHAPITRE I : LES ELEMENTS TRACES METALLIQUES

1. Caractéristiques

1.1. Les éléments traces métalliques :

Un métal est un élément chimique issu le plus souvent d'un minerai doté d'un éclat particulier, bon conducteur de chaleur et d'électricité, ayant des caractéristiques de dureté et de malléabilité, se combinant ainsi aisément avec d'autres éléments pour former des alliages utilisés par l'homme depuis l'Antiquité. Les métaux lourds font partie des composants élémentaires de la lithosphère et ils ne peuvent pas être désignés à priori comme des substances polluantes (**Baize, 1997**).

Anciennement, les chimistes nommaient "métaux lourds" les métaux dont les sulfures précipitaient. Actuellement, en chimie, les métaux lourds sont en général définis sur la base de propriétés spécifiques (poids moléculaire élevé ; densité > 5 ; capacité à former des cations polyvalents, ...).

A la différence de la plupart des contaminants organiques, les métaux lourds sont des constituants naturels dans les roches et dans les gisements minéraux (**Callender, 2003**).

Ils sont définis comme les éléments chimiques dont la teneur dans la croûte terrestre est inférieure à 0,1%. En sciences de la vie, leur concentration, par rapport à la matière sèche (MS) de l'organisme, est en dessous de 0,01%. (**Michel et Baize, 2004**).

Parmi, les éléments traces on peut distinguer les éléments traces métalliques comme le chrome(Cr), le plomb(Pb), le cadmium(Cd), le mercure(Hg), le zinc (Zn), le cuivre (Cu)...

Ces éléments sont présents en faible concentration dans l'environnement et une augmentation de leur teneur résulte généralement des activités humaines. Mais certains comme Co, Cu, Mn, Mo, Zn sont indispensables en très faible concentration pour le développement des plantes et des animaux (**Alloway, 1995**).

Aujourd'hui, la présence des métaux lourds dans les substances comestibles pose un risque sanitaire globalement dû à leurs effets toxiques et mutagène même aux concentrations très basses (**Gupta et al., 2010**). Les métaux lourds sont présents dans tous les compartiments de

l'environnement, mais en général en quantités très faibles. On dit que les métaux sont présents « en traces ».

La classification en métaux lourds, est souvent discutée car certains métaux toxiques ne sont pas particulièrement « lourds » (ex : le zinc), tandis que certains éléments toxiques ne sont pas des métaux mais des métalloïdes (ex : l'arsenic). Pour ces différentes raisons, la plupart des scientifiques préfère à l'appellation métaux lourds, l'appellation «Eléments en traces Métalliques» (ETM) ou par extension « éléments traces » (ET) (Miquel, 2001).

Les ETM sont considérés comme des polluants bio-accumulables d'origine naturelle ou anthropique (Pierre et al.,1998) ; l'industrialisation, et l'utilisation aveugle des produits chimiques, les engrais et les agents de contrôle des parasites, sont la source primaire d'une contamination des sols agricoles par les ETM . En plus, ils sont souvent considérés comme toxiques pour l'homme et les animaux à l'image du plomb, du mercure, de l'arsenic et du cadmium. D'autres comme le cuivre, le zinc, le chrome, pourtant nécessaires à l'organisme en petites quantités, peuvent devenir toxiques à doses plus importantes. Il n'existe pas de définition internationalement reconnue, chaque discipline scientifique développant une approche propre. (Adriano et al., 1986 cités par Boulkrah,2008).

Le tableau (1) rassemble des informations relatives à la classification des ETM et de leur toxicité.

Tableau 1. Classification de quelques métaux lourds selon leur densité et leur toxicité (D'après Bliefert et Perraud, 2003 cité par Kadem ,2005)

| Métaux | Plantes | Animaux | Densité g/Cm ³ |
|--------|---------|----------------|---------------------------|
| Cd | T | T ^a | 8.65 |
| Cr | - | E | 7.20 |
| Cu | ET | ET | 8.92 |
| Ni | T | T | 8.90 |
| Pb | T | T | 11.34 |
| Zn | ET | E | 7.14 |
| Mn | ET | E | 7.20 |

T : Toxique.

E : Essentiel

1.1.1. Les éléments traces essentiels

Beaucoup d'éléments traces (ET) ont une fonction essentielle pour la santé de l'homme et de tous les organismes vivants (**Michel et Baize, 2004**). Parmi ces éléments qui sont essentiels (micronutriments), sont indispensables au déroulement des processus biologiques mais à de très faibles quantités et dont l'absence entrave le fonctionnement ou empêche le développement d'un organisme, on trouve Fe, Mn, Zn et Cu pour les plantes et les animaux. Par ailleurs, Co, Cr et Se sont essentiels seulement pour les animaux, alors que Mo est un micronutriment pour les végétaux. Ces éléments constituent des enzymes et protéines qui sont très importantes dans les processus métaboliques des organismes (**Alloway et Ayres, 1997**). Toutefois, si ces éléments essentiels se trouvent être en fortes concentrations, ils peuvent devenir toxiques pour les organismes (**Underwood et Suttle, 1999**).

1.1.1. Les éléments traces toxiques

Ils n'ont pas de rôle biologique connu ; Ces derniers sont nommés toxiques tels que le plomb (Pb), le cadmium (Cd), le mercure (Hg).

Ces éléments traces sont des micropolluants de nature à entraîner des nuisances, même quand ils sont rejetés en quantités très faibles. Leurs toxicités se développent par bioaccumulation le long de la chaîne alimentaire. Ces derniers se sont fortement accumulés depuis la période industrielle que ce soit dans les sols, dans la mer voire même chez les êtres vivants. La toxicité des métaux varie aussi selon la dose et la durée d'exposition.

Une exposition de courte durée à des concentrations élevées cause des syndromes aigus, alors que l'exposition de longue durée à de faibles concentrations provoque des troubles chroniques. La gastroentérite, la pneumonie et l'insuffisance rénale et hépatique sont les troubles les plus fréquemment observés en cas d'exposition de longue durée à un certain nombre de métaux (cadmium, cuivre, plomb, zinc). Certains éléments peuvent entraîner un effet cancérigène... (**Chiffolleau et al., 2001**).

2. Origine des ETM dans l'environnement

Une quantité importante de métaux lourds est introduite dans l'environnement par l'intermédiaire de sources naturelles et des activités humaines.

1.2.Sources naturelles

Les métaux lourds sont présents dans l'eau, l'air et les sols. Comme tous les minerais, ils sont présents dans les roches.

Ces réserves naturelles ne constituent pas en elles-mêmes un danger mais l'exploitation des gisements, l'érosion, les incendies de forêts, les prélèvements d'eau ou les éruptions volcaniques, vont répandre des traces de ces éléments dans l'environnement. Ils peuvent alors devenir toxiques s'ils se retrouvent en quantités suffisantes dans les organismes vivants (**Miquel.2001**).

I.2.2.Sources anthropiques

Outres ces phénomènes naturels, l'activité humaine, même si elle ne crée pas de métaux lourds, participe à leur diffusion dans l'environnement :

- Les effluents d'extractions minières.
- Les effluents industriels.
- Les effluents domestiques et ruissellement orageux urbain.
- Lessivage des métaux provenant de décharges d'ordures ménagères et de résidus solides.
- Apports de métaux provenant de zones rurales, par exemple les métaux contenus dans les pesticides.
- Sources atmosphériques, par exemple combustion de carburants fossiles, incinération des déchets et émissions industrielles.
- Fertilisation phosphatée (source principale d'apport de cadmium) (**Petit, 2007**).

Le tableau (2) présente quelques exemples de sources industrielles et agricoles d'où peuvent provenir les métaux présents dans l'environnement.

Tableau 2. Sources industrielles et agricoles des métaux présents dans l'environnement (Biney *et al.*, 1991)

| Utilisations | Métaux |
|--|--|
| Batteries et autres appareils électriques | Cd, Hg, Pb, Zn, Mn, Ni |
| Pigments et peintures | Ti, Cd, Hg, Pb, Zn, Mn, Sn, Cr, Al, As, Cu, Fe |
| Alliages et soudures | Cd, As, Pb, Zn, Mn, Sn, Ni, Cu |
| Biocides (pesticides, herbicides, conservateurs) | As, Hg, Pb, Cu, Sn, Zn, Mn |
| Agent de catalyse | Ni, Hg, Pb, Cu, Sn |
| Verre | As, Sn, Mn |
| Engrais | Cd, Hg, Pb, Al, As, Cr, Cu, Mn, Ni, Zn |
| Matières plastiques | Cd, Pb |
| Produits dentaires et cosmétiques | Sn, Hg |

CHAPITRE II : LE PLOMB

1. Données générales sur le plomb

Le plomb est un métal lourd largement utilisé dans les activités métallurgiques dès l'antiquité et redécouvert au moment de la révolution industrielle, le plomb est désigné comme matériau d'écriture, les Grecs et Romains l'ont employé pour produire des céramiques.

D'après **Garnier (2005)**, les Romains se servaient aussi de l'acétate de plomb comme édulcorant et conservateur du vin, et aussi comme un métal pour les conduites d'eau, pour les poids-étalons, pour des tablettes d'écriture et pour des pièces de monnaie...etc.

Depuis 1970, le développement de nouvelles technologies ainsi que la prise en compte des problèmes d'environnement et de santé publique, ont conduit à la diminution ou l'arrêt de l'utilisation du plomb dans certaines applications (batteries et piles (64%), canalisation d'eau (7%), pigment dans peinture (10%), additif dans l'essence (3%), pesticides).

Le plomb est l'un des métaux lourds les plus toxiques, c'est pourquoi il est souvent pris comme modèle biochimique et clinique (**Delphine, 2001**), Les intoxications massives aiguës et chroniques par le plomb ont été bien documentées en milieu professionnel. Mais le plomb est également un polluant environnemental, surtout dans les sols et l'atmosphère au voisinage de sites industriels (fonderies, usines de fabrication et de recyclage de batteries...) et dans les zones de fort trafic automobile, en particulier avant l'entrée en vigueur de la législation sur l'essence plombée. Les poussières et les peintures des habitats anciens et dégradés, mais aussi l'eau de boisson et, à un degré moindre, l'alimentation, sont des sources rémanentes, souvent insidieuses, d'exposition des populations au plomb (**INSERM, 1999**).

Le plomb est un métal si répandu et si utilisé que les occasions d'intoxications sont innombrables, que ce soit chez l'homme ou chez les animaux. L'intoxication chronique par le plomb ou saturnisme est l'une des plus fréquentes chez les animaux domestiques puisque il a été largement employé à des fins commerciales et qu'il demeure très longtemps dans l'environnement (**Pelletier et al., 1997**).

2. Propriétés physico-chimiques

Les propriétés physico-chimiques du plomb sont très importantes pour la compréhension des mécanismes de biodisponibilité et d'action de ce métal.

- Le plomb est un élément chimique de la famille des cristallogènes, c'est un produit naturel de la désintégration de l'uranium (**Matias, 2008**). C'est un élément chimique métallique dense et ductile, d'un gris bleuâtre, il est mou, malléable, flexible de symbole Pb et de numéro atomique 82. Il fait partie du groupe 14 (ou IV a) du tableau périodique.
- Il présente une faible résistance à la traction et est mauvais conducteur.
- Une surface de plomb fraîchement coupée présente un aspect brillant, argenté, rapidement terne, d'un gris bleuâtre caractéristique (**Delphine, 2001**).
- Le plomb fond à environ 328 degrés, bout à 1740 et à une densité de 11,34 ; sa masse atomique est égale à 207,20. De par sa configuration électronique, il a tendance à former un ion de degré d'oxydation 2 ou 4 (**Callender, 2003**). Ce métal est lentement dissous par l'acide chlorhydrique, beaucoup plus rapidement par l'acide nitrique (**INSERM, 1999**).

L'eau ordinaire contient souvent des sels de calcium qui se déposent sur les conduites, empêchant ainsi la formation de l'hydroxyde de plomb soluble (**Delphine, 2001**).

Tableau 3 : Solubilité dans l'eau des composés du plomb (Delphine, 2001).

| Composé | solubilité |
|--------------------|------------|
| Plomb métal | - |
| Acétate de plomb | +++ |
| Bromure de plomb | ++ |
| Carbonate de plomb | - |
| Chlorure de plomb | ++ |
| Chromate de plomb | - |
| Citrate de plomb | + |
| Fluorure de plomb | + |
| Iodure de plomb | + |
| Oxyde de plomb | - |
| Molybdate de plomb | - |
| Nitrate de plomb | +++ |
| Sulfate de plomb | + |
| Sulfure de plomb | - |

Toute fois, du fait de l'acidité gastrique on peut observer une ionisation du composé, ce qui modifie sa biodisponibilité.

3.Sources de plomb:

Les apports naturels de plomb dans l'environnement ne représentent qu'environ 4% des émissions totales et se font essentiellement sous forme inorganique (**Nriagu, 1978 ; 1979 cité par Matias, 2008**). Les émissions de cet élément sont donc notamment liées à des activités anthropiques, l'industrie minière, la métallurgie et la sidérurgie représentant environ 80% des émissions de Pb dans l'environnement.

Le saturnisme est l'une des intoxications les plus communément rencontrées chez les ruminants particulièrement les bovins qui, à cause de leurs habitudes alimentaires et de leur comportement, sont les plus fréquemment atteints (**Benleulmi, 1987**).

3.1.Pollution de l'environnement

Le plomb est l'un des polluants les plus important à l'heure actuelle du fait de sa nondegradabilité et de son aspect cumulatif dans les milieux naturels et dans les organes (**Verloo,2003**).

Trois sources de pollutions sont à distinguer :

3.1.1.Pollution naturelle

Due aux sols naturellement riche en Plomb (terrains plombifères) notamment sous forme de sulfure (galène).

3.1.2.Pollution industrielle

Due à la longue utilisation industrielle du Plomb et de ses dérivés :

usines de traitement des minerais, usines de transformation, fonderies, fabrication des batteries, Plomb de chasse, peintures.....etc. (**I.U.M.T,1999**). Le rejet de plomb se fait dans l'atmosphère sous forme de particules plombifères, du fait du poids atomique élevé du Pb, ces particules retombent à proximité des usines, d'où une pollution relativement localisée autour de ces industries et sur les terrains et les pâtures avoisinantes peuvent entraîner une intoxication à long terme chez les animaux (**Delphine,2001**).

3.1.3. Pollution automobile

Provient de l'incorporation d'un additif antidétonant : le plomb tétra-éthyle, c'est un dérivé organique huileux très liposoluble donc de toxicité élevée. Le plomb n'intervient pas directement, car il subit une combustion dans les moteurs et il est transformé en dérivés moins toxiques (oxyde et carburants) qui sont rejetés dans les gaz d'échappement des voitures (**Picot, 2003**).

A côté de ces sources de pollution générales ils existent également des sources d'exposition accidentelles dont les répercussions sont plus directement visibles.

3.2. Circonstances d'intoxication accidentelles

Constituent le principal aspect étiologique en médecine vétérinaire en relation avec les divers types d'utilisation du Pb sous forme de Pb métallique et surtout sous forme de peinture de Pb.

3.2.1. Ingestion de Pb métallique

Peintures, huiles, graisses de vidange contenant du plomb , Ceci inclut notamment les huiles de moteurs usagées qui sont vidées près des pâtures, où elles sont facilement accessibles pour le bétail (**Lorgue, 1984. cités par Delphine, 2001**). Le plomb est aussi souvent utilisé dans les batteries des voitures. La principale étiologie d'intoxication au plomb chez les ruminants est représentée par les vieilles batteries dont on se débarrasse dans les pâtures. Ceux-ci sont attirés par les cosses sulfatées (salées) des batteries.

3.3.3. L'inhalation

Cette source d'apport en plomb est vraiment mineure chez les bovins, Seuls les animaux consommant le foin contaminé présentaient des signes cliniques de saturnisme alors que ceux vivants dans la même zone mais nourris avec un foin non contaminé ne développaient aucun signe, ceci tend bien à montrer qu'un air chargé en particules de plomb ne contribue pas significativement à l'absorption de plomb par l'animal.

4. La cinétique du plomb dans l'organisme

4.1. Absorption

Chez les bovins, la principale voie d'entrée est la voie orale. Le plomb est absorbé dans le duodénum, au niveau duquel il entre dans les cellules épithéliales de la muqueuse (**Conrad et**

Barton, 1978 cités par Delphine, 2001). Il est admis que le plomb est faiblement absorbé. Ceci dépend en fait de la forme chimique sous laquelle se trouve le plomb, de la taille des particules ingérées, de l'espèce, de l'âge et du régime alimentaire. Si on a affaire à un composé soluble dans l'eau ou un composé qui peut se dissoudre dans un milieu acide, il sera plus absorbé qu'un composé insoluble (**Joly et al., 1987 cités par Delphine, 2001**).

De nombreux facteurs peuvent favoriser l'absorption du plomb:

Le facteur le plus important est le mécanisme de compétition avec le calcium.

Toute carence ou tout besoin supplémentaires en Ca^{2+} favorise l'absorption du plomb (**Hamir, (1986),INSERM, (1999). cité par Delphine (2001)**), a montré que le zinc peut réduire de manière significative la proportion de plomb absorbée.

- Selon **Ito et al. ,(1987) cités par INSERM (1999)**, les carences en vitamines B1 et en fibres végétales, peuvent favoriser l'absorption du plomb.

- La vitamine D, augmente l'absorption du plomb dans le tractus digestif car elle augmente l'absorption du calcium qui est en compétition avec le plomb au niveau des récepteurs.

4.2. Distribution

4.2.1. Dans le sang

Une fois absorbée, la quasi- totalité du plomb est fixée aux globules rouges, plus de 90% du plomb inorganique , On peut noter des différences interspécifiques dans les proportions de plomb transportées par les globules rouges: 85à 90 % chez le mouton et 63 à 70 % chez les bovins. Il est transporté sous forme de plomb diphosphate (**Garnier, 2005**), à la fois dans le cytoplasme pour 90% et dans la membrane du stroma pour les 10% restants.

La plupart est liée aux albumines sériques, et moins de 1% est présent sous forme de plomb libre. Seule cette fraction est disponible et peut avoir une action sur l'organisme car c'est la seule à pouvoir pénétrer dans les tissus sans phénomènes de transports actifs (**Humphreys, 1991**).

4.2.2. Dans les tissus mous et les organes

Le plomb est transporté vers les tissus mous, et tout particulièrement vers le foie et les reins où il peut être stocké .A long terme, on aura dans l'organisme, 25% de plomb dans le foie, 4% dans les reins , 3% dans le foie et 4% dans les autres tissus du corps. Après quelque semaines 90% du plomb conservé dans l'organisme est stocké dans les os ou dans les dents ou il peut rester des dizaines d'années s'il n'est pas remobilisé (gestation, lactation, vieillesse) de même certaines pathologies (ostéoporose, fracture) pourraient entraîner une mobilisation intense du plomb osseux (**Mehennaoui, 1995**).

4.3. La biotransformation

Le plomb inorganique, la forme le plus souvent impliquée dans les cas d'intoxications qui ne subit pas de biotransformations (**Garnier, 2005**), alors que le plomb tétraéthyle subit une désalkylation au niveau du foie pour donner le plomb tri-éthyle qui est le métabolite toxique.

4.4. Elimination

Elle se fait par les principaux émonctoires naturels; les matières fécales en excrètent une quantité considérable, directement ou par voie biliaire (**Laperche et al., 2004**).

La desquamation cutanée, les phanères peuvent également servir à l'élimination d'une petite quantité; la voie salivaire présente une importance diagnostique. La voie d'élimination la plus intéressante demeure l'excrétion urinaire qui dépend directement de la fonction rénale ; la concentration de plomb dans l'urine reflétant celle dans le plasma.

D'après **Mehennaoui (1995)**, les bovins et les ovins ont une capacité supérieure à celle de l'homme pour mobiliser les éléments minéraux à partir de l'os, au sein duquel a lieu une ostéolyse, surtout de l'os profond, libérant conjointement plomb et calcium dans le sang, en particulier en période de lactation.

L'excrétion du plomb semble répondre à un mécanisme physiologique semblable à celui du calcium, ce qui explique que l'excrétion soit sensible à toute réduction de la fonction rénale.

Une lésion rénale, même minime, tendra à favoriser une accumulation tissulaire du toxique alors même que la plomburie reste normale ou sub-normale (**INSERM, 1999**).

5. La toxicité du plomb

Il ne semble pas que le plomb soit nécessaire ou utile à une quelconque fonction métabolique à l'inverse de nombreux oligo-éléments. Cependant, à l'état normal, le milieu biologique contient une quantité faible mais non négligeable de cet élément. Cette présence inévitable provient des conditions d'environnement et de l'ubiquité de ce métal, mais l'absorption des doses toxiques ou infra-toxique à long terme provoque l'apparition d'action toxique multiple puisque le plomb est un toxique cumulatif dont l'intoxication à long terme est le saturnisme.

Le saturnisme désigne l'ensemble des manifestations de l'intoxication par le plomb. Les coliques de plomb sont les effets toxiques les plus connus du métal mais ses principaux organes cibles sont : le système nerveux, les reins, le foie et dans le sang (**Miquel, 2001**).

5.1. Mécanisme de l'action toxique

L'effet toxique du plomb relève de trois phénomènes :

- Une affinité particulière pour les groupements thiols qui explique la distribution dans les phanères mais aussi l'altération de l'activité de nombreuses enzymes dont celles entrant en jeu dans la biosynthèse de l'hème.
- Une ressemblance de l'ion Pb^{2+} et de l'ion Ca^{2+} .
- Une affinité pour les groupements phosphates des acides nucléiques.

5.1.1. Des perturbations enzymatiques

Le plomb libre ionisé modifie les propriétés de nombreuses protéines cytosoliques et membranaires, en se liant de façon réversible avec les groupements thiols. Il inhibe ainsi l'activité de nombreuses enzymes. Un point d'impact majeur se situe au niveau des enzymes de la biosynthèse de l'hème (**INSERM, 1999**).

Le plomb bloque plusieurs enzymes nécessaires à la synthèse de l'hémoglobine. Ces effets sanguins aboutissent à une diminution du nombre des globules rouges et à une anémie.

L'inhibition de la synthèse de l'hème est le principal mécanisme de l'anémie saturnine, qui résulte aussi d'une hyper hémolyse due à une déplétion érythrocytaire en glutathion et à une toxicité membranaire directe, d'une inhibition de la synthèse de la globine, du transport du fer et de la production d'érythropoïétine (**Garnier, 2005**) donc il interfère avec la synthèse de l'hème.

L'hème est synthétisé à partir de Succinyl-CoA et de glycine au terme de huit réactions enzymatiques. Les précurseurs des porphyrines, δ -aminolévulinate (ALA) et porphobilinogène (PBG) sont d'abord formés, puis les porphyrinogènes et porphyrines et, enfin, l'hème par incorporation de fer dans la protoporphyrine IX (**INSERM, 1999**).

Les effets du plomb sur la biosynthèse de l'hème se caractérisent par une altération de l'activité de certaines enzymes et par l'augmentation de la production de différents précurseurs de l'hème. La première enzyme de la voie est l'acide aminolévulinique synthétase. Plusieurs études ont démontré que cette enzyme est activée indirectement par le plomb (**Jaime et al., 2012**). Cette action n'est pas la plus importante. En effet, ce qui est le plus remarquable, c'est que le plomb inhibe l'activité de trois enzymes :

- L'acide δ aminolévulinique déshydratase, la coproporphyrinogène oxydase et l'hème synthétase Il semble que c'est l'action thioloprive du plomb qui est responsable de cet effet toxique.
- Le plomb inhibe aussi l'activité de la coproporphyrinogène oxydase dans la mitochondrie. De cette inhibition résulte une augmentation de l'excrétion urinaire de coproporphyrinogène, qui peut être directement relié à la plombémie (**Jaime et al., 2012**).
- Enfin le plomb inhibe la ferrochelatase, le fer n'est pas incorporé dans l'hème d'où une accumulation de sidéroblastes (**Moore et al., 1980 cités par le Delphine, 2001**), et aussi une accumulation plus importante de protoporphyrines dans les erythrocytes c'est une caractéristique importante de l'intoxication par le plomb.

Un niveau élevé de protoporphyrine dans le sang et le résultat d'un dysfonctionnement de l'enzyme dans l'erythrocyte .

L'inhibition de l'hème synthétase est responsable :

- d'une augmentation de la concentration sanguine en protoporphyrine zinc.
- d'une diminution de la concentration en hémoglobine de l'hématie ce qui réduit sa capacité à transporter l'oxygène
- Un dépôt de fer sous forme de ferritine ou d'hémosidérine dans la moelle osseuse.

Etant donné tous ses effets sur la biosynthèse de l'hème, il est prévisible que le plomb soit à l'origine d'anémie, qui n'est cependant observée que pour de forts niveaux de plomb .

Le tableau ci-dessous résume les effets du plomb sur les enzymes de la biosynthèse de l'hème.

Tableau 4: Effets du plomb sur les enzymes de la biosynthèse de l'hème
(D'après Casarett et al., 1991 cités par Delphine, 2001)

| Enzyme | produit | Groupement SH | Inhibition par le plomb |
|---------------------------|--------------|---------------|-------------------------|
| δ ALA synthétase | δ ALA | - | - |
| δ ALA déshydratase | PBG | + | +++ |
| UPG I Synthétase | UPG I | - | - |
| UPG III cosynthétase | UPG III | | |
| UPG décarboxylase | CPG III | + | ++ |
| CPG oxydase | PPG IX | - | - |
| Hème synthétase | Hème | + | +++ |

La δ ALAD est l'enzyme la plus affectée par cette inhibition ; elle est très sensible au plomb et est inhibée pour de faibles plombémies.

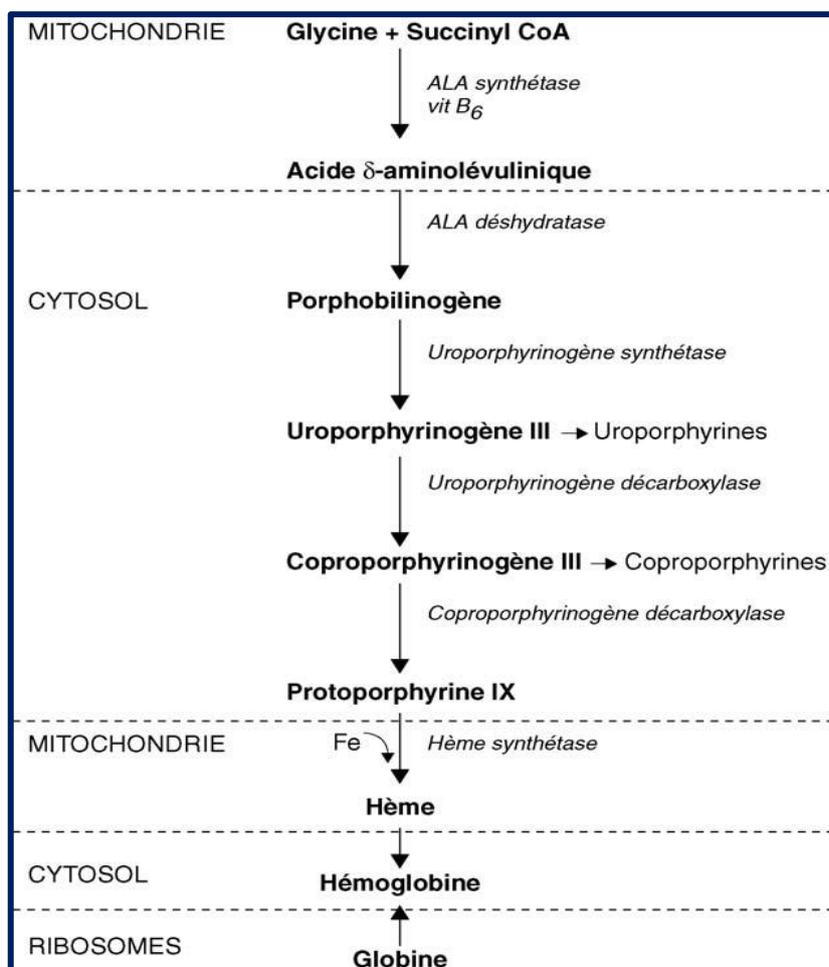


Figure 1 : Synthèse de l'hème. Le plomb inhibe l'ALA déshydratase, l'hème-synthétase et à un moindre degré, la coproporphyrinogène-décarboxylase (D'après Garnier, 2005).

5.1.2. Une compétition avec le calcium

Le plomb altère l'homéostasie calcique et interfère sur les processus cellulaires et moléculaires médiés par le calcium aux niveaux membranaire et cytoplasmique.

Au niveau de la membrane cellulaire, le plomb entre en compétition avec le calcium au niveau des systèmes de transports membranaires comme les canaux calciques voltage dépendants, (Busselberg *et al.* 1994 cités par INSERM, 1999) et les Ca²⁺ ATPases membranaires (Bettaiya *et al.* 1996 cités par INSERM, 1999) qui sont des éléments importants dans le maintien de l'homéostasie calcique.

Au niveau intra-cytoplasmique, le calcium ionisé joue un rôle majeur de messenger intracellulaire en se liant sur divers récepteurs et effecteurs. Le plomb interfère avec ces processus dépendants

du calcium en prenant sa place sur des sites spécifiques au niveau des protéines liant spécifiquement le calcium (**Simons, 1986 cités par INSERM, 1999**).

5.1.3. Effets sur le système nerveux

Au niveau du système nerveux central, le plomb inhibe également certaines enzymes (ALA déshydratase, hexokinase, deshydrogénase succinique) entraînant des perturbations du métabolisme glucidique (très important pour la cellule nerveuse) et de la respiration cellulaire. Il en résulterait des microlésions vasculaires et des troubles de l'excitabilité nerveuse. Le plomb inhibe également l'adénylcyclase, pouvant interférer avec le métabolisme des catécholamines (**Delphine, 2001**).

5.1.4. Effets rénaux

Comme les reins ont un rôle important dans l'excrétion du plomb, on observe des changements au niveau des tubules proximaux. L'augmentation de l'urée et de la créatinine indique un mauvais fonctionnement du rein lié au saturnisme (**Garnier, 2005**).

Lors d'intoxication aiguë, on aura une irritation et une nécrose de la muqueuse digestive à l'origine des signes digestifs observés lors de saturnisme ainsi qu'une dégénérescence des tubules rénaux. L'atteinte des tubules rénaux proximaux est réversible si l'intoxication est peu importante et on constate alors de l'aminoacidurie, de la glycosurie et une hyper phosphaturie relative avec hypophosphatémie. Cependant, si l'exposition est chronique et prolongée la néphrite interstitielle chronique peut aboutir à une défaillance rénale (**Meschy, 2010**).

Deux types de néphropathie sont induits par l'exposition au plomb: néphropathie subaiguë et néphropathie tardive.

5.1.4.1. Une néphropathie subaiguë

Qui survient précocement après le début de l'exposition au plomb. Elle est histologiquement caractérisée par une atteinte des cellules tubulaires proximales qui sont hyperplasiques avec une atteinte mitochondriale et des inclusions intranucléaires.

5.1.4.2. Une néphropathie tardive

Qui s'observe après 10 à 30 ans. L'atteinte est cette fois tubulo-interstitielle et glomérulaire. Elle est définitive. Elle peut être transitoirement améliorée par l'arrêt de l'exposition et/ou un traitement chélateur, mais à moyen terme, elle continue de s'aggraver, même après l'éviction du

risque (INSERM, 1999). Par contre, on n'observe pas de variations pour la créatinine dans le cas d'intoxication aiguë (Milhaud et al., 1979).

La créatinine peut atteindre des niveaux élevés dans le cadre d'intoxication chronique par le plomb sévère (Bernard et Becker, 1988 cités par Delphine, 2001). Ceci reflète les effets néphrotoxiques du plomb. Ce changement est très spécifique d'atteintes rénales mais ce n'est pas un test sensible.

5.1.5. Effets hépatiques

La cytolysé hépatique est un signe d'intoxication aiguë par le plomb. Elle ne s'observe qu'après des contaminations massives (Garnier, 2005). De plus, ces variations biochimiques sont non spécifiques du plomb, des modifications des enzymes hépatiques sont aussi notées, mais de manière plus inconstante ; Il semble que les transaminases (ASAT, ALAT) et les phosphatases alcalines augmentent lors d'intoxication chronique. Cependant, aucun seuil n'a encore été fixé pour cet effet (Swarup et al., 1991).

5.1.6. Des modifications biochimiques du sang :

Les granulations basophiles des globules rouges constituent une importante caractéristique de l'intoxication par le plomb chez les bovins (George et al., 1881 cités par Delphine, 2001), chez le mouton comme chez d'autres espèces.

Ces hématies à granulations basophiles (ou hématies ponctuées) sont des hématies immatures, qui contiennent des résidus d'acide ribonucléique (ARN) ribosomal. Ceux-ci prennent les colorants basiques, ce qui confère un aspect ponctué aux hématies sur les frottis. La persistance d'ARN ribosomal résulte de l'inhibition de la pyrimidine-5'-nucléotidase, enzyme qui catalyse la dégradation de cet acide nucléique. Les hématies à granulations basophiles sont le premier indicateur biologique utilisé pour la surveillance de l'exposition au plomb ; leur intérêt historique est indéniable, mais elles ne doivent plus être utilisées pour la surveillance biologique de l'exposition au plomb, parce que l'on dispose d'autres indicateurs plus sensibles et plus spécifiques (Garnier, 2005).

5.1.7. Cancérogénicité

Expérimentalement, l'administration répétée d'acétate et de sous-acétate de plomb par voies orale, sous-cutanée ou intrapéritonéale chez le rat, celle de phosphate par voies sous-

cutanée et intrapéritonéale dans la même espèce et celle de sous acétate, par voie orale chez la souris ont induit des tumeurs rénales

6. Signes d'intoxication par le plomb chez les petits ruminants

L'intoxication par le plomb se traduit par un tableau clinique à dominante nerveuse et digestives d'allure le plus souvent aiguë et parfois chronique (**Gonzalez,2000**).

L'intoxication par le plomb chez le mouton est somme toute assez similaire à ce qui est observé chez les bovins (**Neathery et Miller, 1976 cités par Delphine, 2001**).

6.1.Forme aiguë

L'intoxication aiguë par le plomb est toujours accidentelle (ingestion de corps étrangers riches en plomb) ; elle se traduit par des troubles gastro-intestinaux, une nécrose du foie et des reins. (**Garnier ,2005**). La plus fréquente dominée par des troubles nerveux (90% des cas) par l'hyperexcitabilité, des convulsions, et la cécité généralement accompagnée des troubles digestifs (dans 60% des cas), et des diarrhées, ptyalisme, ...

6.2.Forme chronique

La toxicité chronique du plomb résulte de son accumulation dans le tissu osseux, et à un moindre degré dans le foie et le rein. Dans sa forme chronique, les atteintes digestives ne sont pas observées (**Underwood et Suttle, 1999**).Les principaux signes cliniques sont l'anémie provenant de la diminution de la synthèse d'hémoglobine, les troubles nerveux et le dysfonctionnement rénal et se traduit par des signes très peu spécifiques avec une incidence zootechnique, la brebis gestante apparait plus sensible aux effets chroniques du plomb et des malformations squelettiques peuvent apparaitre sur des agneaux exposés. Le taux d'avortement peut augmenter considérablement. Le plomb a aussi des effets sur la fertilité des brebis (**Sharma et Buck, 1973 Cité par Delphine, 2001**).Lors d'intoxication chronique on observe des tremblements musculaires, de la faiblesse, une atonie du rumen et des troubles respiratoires.

D'après **Carson et al.,(1973) cité par Delphine (2001)**, ont observé une diminution de l'hématocrite sur des moutons ayant reçu dans leur ration tous les jours du plomb (1000ppm de plomb métal). Les animaux ayant reçu 500 à 1000ppm de plomb sous forme d'acétate par jour ne présenteront pas de signes cliniques, mais une augmentation des concentrations dans le foie.

7. Les interactions entre le plomb et les éléments minéraux essentiels

Plusieurs études menées chez l'animal montrent que l'absorption intestinale du plomb est diminuée par le fer, le zinc et le cuivre ce qui apporterait une protection contre la toxicité du plomb (**Couzy *et al.*,1988**). Pour limiter l'entrée du plomb dans l'organisme il faut augmenter les apports en minéraux antagoniste .

L'ajout de zinc semble favoriser l'élimination corporelle du plomb sans augmenter son excrétion par le lait (**Mehennaoui,1995**), et l'interaction du zinc avec le métabolisme du plomb ne se situerait pas au niveau de l'absorption mais au niveau de la distribution et de l'élimination.

Il semble que le zinc déplace le plomb des enzymes en particulier l'acide delta amino-lévulinique déshydratase (ALAD).

Willoughby(1972) cité par Mehennaoui(1995), constate que l'addition du zinc dans l'alimentation protège les chevaux contre les effets toxiques du plomb.

CHAPITRE III : LE CADMIUM

1. Données générales sur le cadmium

Le cadmium est un polluant lié à plusieurs processus industriels modernes, c'est l'un des métaux les plus toxiques non essentiel dans l'environnement, en plus il se produit sur la région agricole comme contaminant des engrais phosphoreux et en boue d'épuration qui est également utilisé pour la fertilisation (**Prankel et al., 2004**).

Est connu pour de nombreux effets indésirables sur la santé des animaux et les êtres humains (**Jennifer et al., 2008**) ; chez les mammifères il s'accumule principalement dans le foie et les reins qui sont deux organes cibles en lesquels la toxicité systémique de ce métal est exprimée. (**Jelena et al., 2010**).

Le cadmium fut découvert en 1808 par Magnus Martin, mais c'est en 1817 que l'allemand Friedrich Stromeyer le prépara pour la première fois (**Mahan, 1987 cité par Matias, 2008**).

Le nom de Cadmium vient du latin *cadmia* « calamine », ancien nom donné au carbonate de zinc. Le cadmium était extrait de ce minerai aux environs de la ville de Thèbes, qui fut fondée par Cadmos, et dont la citadelle porte le nom de *kadmeia*, (en français Cadmée). Le cadmium est un métal blanc, mou et malléable. Il ternit au contact de l'air (**Callender, 2003**).

Au début du siècle, la demande de cadmium était minime, et on ne faisait aucune tentative pour le récupérer au cours de la métallurgie du zinc. Par conséquent, le cadmium contaminait les objets en zinc ou était rejeté dans l'environnement au cours du grillage du minerai de zinc (**Matias, 2008**).

Depuis les années 1930, la demande mondiale de cadmium a augmenté constamment, au point qu'actuellement sa consommation est limitée en fait par la faible concentration de ce métal dans les minerais de zinc cadmifères et par la production de zinc affiné.

2. Propriétés physico-chimiques

Le cadmium est un élément relativement rare et n'existe pas naturellement à l'état natif. Il est présent dans la croûte terrestre à des concentrations d'environ 1 à 2 ppm, où il est souvent associé au zinc et au plomb. Il est également obtenu comme sous-produit de raffinage du plomb et du cuivre (**Pichard, 2005**).

2.1. Propriétés physiques

Le cadmium est un métal blanc argenté ayant des propriétés physiques proches de celle du zinc. Il fond à 320.9°C et bout à 767°C. Lors de l'ébullition du cadmium, il se dégage des vapeurs jaunes toxiques. Sa masse spécifique (densité) est de 8 650 kg/m³.

Il est ductile (résistance à l'étirement), malléable (résistance à l'aplatissement) et résiste à la corrosion atmosphérique, ce qui en fait un revêtement de protection pour les métaux ferreux. (Andujar, 2010).

2.2. Propriétés chimiques

Les propriétés chimiques du cadmium sont semblables à celles du zinc. L'ion cadmium est déplacé par le zinc métallique en solution.

- Il s'oxyde très peu à la température ambiante et brûle dans l'air en donnant de l'oxyde anhydre CdO, insoluble dans un excès d'hydroxyde de sodium.
- Il réagit avec les acides et les bases. Le cadmium est soluble dans l'acide nitrique dilué et dans les acides chlorhydrique et sulfurique concentrés et chauds.
- La masse molaire atomique du cadmium est de 112.4 g/mol.

Du fait de ses propriétés, le cadmium métallique est utilisé comme anticorrosif pour le fer et comme alliage dans l'industrie automobile. Ses dérivés sont utilisés comme pigments (surtout sulfure de Cd), comme stabilisants pour les plastiques, dans la fabrication de batteries alcalines, de fongicides, d'accumulateurs Ni-Cd et de photopiles pour réacteurs nucléaires.

Cette utilisation diversifiée a amené à une contamination de plantes comestibles, par lesquelles le Cd parvient dans la chaîne alimentaire (Miquel, 2001).

3. Utilisation

Le cadmium sert surtout en électroplastique pour la protection d'autres métaux ou alliages contre la corrosion. Il est largement employé dans la fabrication d'alliages à bas point de fusion, de cuivre à faible teneur en cadmium et comme composant des baguettes de soudage ou de brassage, on utilise aussi le cadmium pour la fabrication du savon de cadmium, un stabilisant des plastiques et notamment du chlorure de polyvinyle, et des pigments. Parmi les produits nécessitant un apport moindre en cadmium, on cite : les fongicides pour pelouses de golf, les barres de commande et les écrans de protection des réacteurs nucléaires, les luminophores des écrans de télévision, les accumulateurs au nickel- cadmium, les huiles à moteur et les activateurs pour la vulcanisation du caoutchouc. Une analyse signale que l'emploi des produits à base de cadmium a augmenté de 5 à

10 % au cours de ces dernières années, et que le potentiel de croissance est très élevé (**Matias, 2008**).

4. Cinétique du cadmium

4.1. Absorption

L'épithélium intestinal et pulmonaire représente respectivement les premières barrières biologiques devant être franchies par le métal ingéré ou inhalé avant son entrée dans la circulation systémique (**Jumarie, 2005**).

4.1.1. Inhalation

L'inhalation du cadmium est associée la plupart du temps à des expositions professionnelles (ouvrier des fonderies et industries de l'électroplacage, mineurs...) (**Foulkes, 1986 cité par Craste, 1995**). Cependant, les populations humaines et animales vivant à proximité des sources industrielles de cadmium peuvent subir une exposition pulmonaire (**Craste, 1995**).

Comme pour tous les aérosols, les particules de cadmium se déposent plus ou moins dans le tractus respiratoire (**Friberg *et al.*, 1974 cités par Lavoix, 1978**). L'absorption varie en fonction de la taille des particules inhalées, seules les particules qui ont un diamètre aérodynamique inférieur ou égal à 5µm peuvent pénétrer dans le compartiment pulmonaire (**OMS, 1980**).

L'absorption varie aussi en fonction de la solubilité et de diverses propriétés physicochimiques (ainsi l'oxyde de cadmium est plus absorbé que le sulfure). Elle dépend également de l'état fonctionnel du tractus respiratoire (**Friberg *et al.*, 1974 cités par Lavoix, 1978**). En fonction de ces deux facteurs (taille des particules et solubilité du composé inhalé), le taux d'absorption par voie respiratoire varie de 10 à 40% (**Friberg *et al.*, 1986 cités par Craste, 1995**).

4.1.2. Absorption gastro-intestinale

Elle a lieu principalement dans le duodénum (**Lavoix, 1978**). D'après **OMS, (1980)**, le taux d'absorption du cadmium est directement lié à sa forme chimique. Ce taux d'absorption peut être augmenté lors de carences alimentaires en calcium, en fer, en zinc, en cuivre ou en protéines (**Pichard, 2005**).

Cette absorption dépend aussi de la solubilité des sels de cadmium aux valeurs du pH à ce niveau. L'absorption percutanée du cadmium, est considérée comme négligeable (**OMS, 1980**).

4.2. Transport et distribution tissulaire

Jumarie et son groupe (2005), ont montré qu'en présence de ligands organiques, d'acides aminés ou de peptides, le cadmium peut former des complexes organiques possiblement absorbés, par mimétisme moléculaire, c'est-à-dire en empruntant la voie de transport normalement destiné au ligand. L'efficacité de ce transport à travers les cellules ainsi que sa vitesse varie en fonction de la spéciation du métal (**Jumarie et al., 2005**).

La concentration plasmatique diminue, ce qui correspond à la fixation du cadmium par les tissus et les érythrocytes (**Lavoix, 1978**). Le cadmium est transporté dans le sang fixé à l'hémoglobine ou aux métallothionéines (**Pichard, 2005**). Ainsi plus de 70 % du cadmium présent dans la circulation sanguine se trouve dans les globules rouges (**OMS, 1980**).

Le cadmium plasmatique est constitué de deux fractions :

- L'une liée aux albumines et constitué du cadmium récemment absorbé.
- l'autre lié aux métallothionéines et constitué du cadmium lentement relargué par le foie (et pour une moindre part, par les autres organes). (**Craste, 1995**).

Le cadmium se concentre principalement dans le foie et les reins (entre 50 % et 70 % de la charge totale). Il est également retrouvé dans le pancréas, la glande thyroïde, les testicules et les glandes salivaires (**Pichard, 2005**). Dans les différents tissus, le cadmium se fixe sélectivement sur les métallothionéines. Celles-ci sont des protéines dont la synthèse est directement stimulée par l'exposition au cadmium. Cependant, les capacités de synthèse ne semblent pas être les mêmes en fonction des types de cellules considérées.

Ainsi, les cellules rénales produisent deux fois moins d'ARN messager codant pour les métallothionéines que les cellules hépatiques, ce qui pourrait expliquer l'existence d'une néphrotoxicité plutôt qu'une hépatotoxicité suite à une exposition excessive au cadmium (**OMS, 1992 cité par Craste, 1995**).

La distribution du cadmium se fait en deux phases. Dans une première phase, le cadmium sanguin est distribué essentiellement vers le foie, mais aussi d'autres organes (rate, pancréas...); puis secondairement, ce cadmium est lentement relargué dans le sang, fixé à la métallothionéine, et capté par le rein où il se concentre (**OMS, 1992 cité par Craste, 1995**).

4.3. Elimination

L'élimination du cadmium se fait principalement par la voie fécale via la bile et par la voie urinaire. Mais cette élimination ne représente que 0.01 à 0.03 % de la charge corporelle totale (**Friberg *et al.*, 1986 cités par Craste, 1995**). Ces taux très faibles d'élimination expliquent la demi-vie biologique très longue du cadmium de l'ordre de 20 à 30 ans dans le rein et de 30 jours dans le sang (**Pichard, 2005**), et le fait qu'il soit bioaccumulable (**OMS, 1992 cité par Craste, 1995**). En l'absence de lésions rénales, l'excrétion urinaire du cadmium est proportionnelle à la charge corporelle aux niveaux rénal et hépatique.

Le cadmium peut être aussi éliminé dans les phanères et le lait, mais ces voies sont insignifiantes d'un point de vue quantitatif.

5. Toxicité du cadmium

L'intoxication au cadmium peut se faire de manière aiguë ou chronique, avec des lésions essentiellement pulmonaires, osseuses et rénales (**Andujar, 2010**).

Sa toxicité est connue depuis les années 50 ; très toxique sous toutes ses formes (métal, vapeur, sels, composés organiques), le cadmium est l'un des rares éléments n'ayant aucune fonction connue dans le corps humain ou chez l'animal. Il faut éviter son contact avec des aliments. Les effets toxiques du Cd ne le sont pas seulement pour l'homme, mais aussi pour les végétaux et les animaux (**Benito *et al.*, 1999**).

Le cadmium est considéré comme le métal le plus apte à s'accumuler dans les chaînes alimentaires (**Milhaud *et al.*, 1998**). Dans le biotope terrestre il existe une corrélation positive entre la teneur du sol en Cd et celle des végétaux, influencée par la nature du sol, son pH, l'espèce végétale ou la partie de la plante considérée (**Burgat Sacaze *et al.*, 1996**).

Chez les animaux de rente, la teneur des abats en Cd reflète parfaitement le Cd que l'animal trouve dans son alimentation et son environnement ; ainsi l'influence des amendements par des boues résiduaires est à prendre en compte (**Burgat Sacaze *et al.*, 1996**).

Seul le cadmium libre est à l'origine des effets toxiques observés (**Pichard, 2005**). Le cadmium lié à la métallothionéine est biologiquement inerte (**Foulkes, 1986 cité par Craste, 1995**).

5.1. Effets aigus

Les symptômes de toxicité du cadmium à la suite d'une exposition aiguë incluent une gastro-entérite avec crampes épigastriques, des vomissements, des diarrhées et des myalgies.

L'effet émétique du cadmium est un facteur pouvant expliquer la faible mortalité par cette voie (**Andujar, 2010**). La dose orale aiguë estimée de cadmium pour les humains est de l'ordre de 5 à 500 mg/kg de masse corporelle (**USEPA, 1988**).

Chez les animaux, l'administration de fortes doses de cadmium (essentiellement par voie parentérale) peut provoquer des effets toxiques au niveau de nombreux organes : les reins, le foie, les testicules, les ovaires, le système nerveux, le pancréas, l'appareil cardio-vasculaire et le placenta. On observe aussi des sarcomes aux points d'injection et des effets tératogènes (**OMS, 1980**).

5.2. Effets chroniques

Les principaux effets toxiques lors d'une exposition prolongée au cadmium sont une dysfonction rénale et une atteinte pulmonaire. Parmi les autres altérations toxiques signalées, on peut citer des altérations osseuses et une légère anémie. L'administration parentérale de cadmium peut provoquer chez le rat un cancer au point d'injection et l'apparition de tumeurs des cellules interstitielles des testicules (**OMS, 1980**). **Jumarie (2005)**, a mentionné qu'à l'heure actuelle, on reconnaît que le cadmium ingéré cause des problèmes d'insuffisance rénale et de fragilité osseuse. Le cadmium inhalé est corrèle avec des maladies comme l'emphysème et le cancer du poumon. Effectivement, l'intoxication au cadmium provoque des accumulations de liquide alvéolaire dans les poumons, ce qui diminue l'efficacité des échanges respiratoires.

6. Biomarqueurs de l'exposition au cadmium

Le cadmium peut être dosé dans les poils, la laine, les cheveux, le sang et les urines. Les effets toxiques du cadmium sur les reins peuvent être détectés par la présence dans les urines de différentes protéines de bas poids moléculaire (**Heyman et al., 2008**).

6.1. Cadmium dans les phanères

Les phanères retiennent le cadmium pendant leur croissance en raison de leur forte teneur en kératine comprenant des ponts soufrés. La concentration capillaire de cadmium constitue un bon indicateur de l'exposition passée au cadmium en l'absence de contamination externe des phanères (**Heyman et al., 2008**).

6.2. Cadmiémie

En cas d'exposition modérée au cadmium, la concentration sanguine reflète principalement l'exposition des derniers mois. Quand l'exposition est faible, le cadmium sanguin est un indicateur de la charge corporelle mais il est influencé de façon importante par le tabagisme chez l'homme et par l'aliment contaminé chez les animaux.

Plusieurs mois après la fin de l'exposition et lorsque la durée cumulée est faible, la cadmiémie peut être un indicateur adéquat de la dose interne avec les réserves habituelles concernant (Heyman *et al.*, 2008) ;(Houpert *et al.*,1997).

7. Interactions entre le cadmium et les éléments minéraux essentiels

En raison de leur configuration électronique proche, le cadmium et le cuivre, le fer et surtout le zinc sont concurrents à l'égard des protéines de transport intestinal; l'excès de cadmium peut diminuer leur absorption et induire des carences. L'absorption du cadmium est supérieure lorsque les réserves en fer, zinc et le cuivre dans l'organisme sont faibles, donc ces trois minéraux sont des inhibiteurs de l'absorption intestinale du cadmium.

D'après Lamand (1991), la diminution de l'utilisation digestive du zinc par des apports élevés en cuivre ou en cadmium car ces éléments, en stimulant la synthèse de métallothionéine, qui freinent le transport du zinc de l'entérocyte vers le sang.

Alors que le zinc stimule l'expression des métallothionéines (MT) qui forment un complexe avec le cadmium, moins indisponible et moins toxique (Lin *et al.*, 1995). D'autre part, il est possible de considérer que le zinc entre en compétition avec le cadmium au niveau du système de transport membranaire ce qui diminue l'accumulation cellulaire de cadmium.

CHAPITRE I : MATERIELS ET METHODES

1. Matériels

1.1. Lieu de l'expérimentation :

Le travail a été réalisé en partie au niveau:

- De l'animalerie (local utilisé en guise de bergerie) du département vétérinaire, de l'institut des sciences vétérinaires et sciences agronomiques (Université de Batna).
- Du Laboratoire de recherche en environnement, santé et productions animales du département vétérinaire.
- Du CHU de Batna pour les analyses biochimiques et hématologiques.

1.2. Animaux :

Le mouton a été choisi comme modèle animal d'expérimentation ; dix(10) brebis de la race (Ouled-Djellal), d'un poids moyen de 40 kg et d'un âge moyen de deux ans ont été utilisées ; les animaux sont répartis en deux lots de **cinq(5)** sujets par randomisation.

Chaque lot a été identifié par des numéros et des boucles de couleur différente :

- **Lot témoins** : ensemble des animaux avant exposition.

Les résultats obtenus pour ces animaux seront considérées comme les valeurs «Témoins».

- **Lot Plomb** : Constitué de 5 brebis et identifiés par des boucles vertes et les numéros suivants :

N° :1168(01), 1169(02),1171(12),1179(13) et 1170(15).

- **Lot Plomb-Cadmium**: Constitué de 5 brebis et identifiés par des boucles rouges et les numéros suivants :

N°:3579(06), 84(07), 63(08), 3578(09), 83(14).

Pendant toute la durée de l'expérimentation, la ration alimentaire correspondait à une alimentation standard pour l'entretien des brebis non gravides, composée de foin et de concentré; l'abreuvement était libre.

1.2.1. Exposition aux métaux toxiques :

- **Une période d'acclimatation** (4 semaines) : Au cours de laquelle les animaux sont vermifugés (Ivomec-D).
- **Une période d'exposition aux métaux toxiques** : Les différents traitements ont été effectués pendant 7 semaines.

1.2.2. Voie d'administration :

Les métaux ont été administrés sous forme des sels métalliques, pesés et préparés dans des gélules et administrées par voie orale.

Les gélules contenant du Plomb ont été préparées à partir des nitrates de plomb ($\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$), pour obtenir 2.5mg de Pb/kg de PV. Dans chaque gélule, la quantité nécessaire de sels de Pb est de 0.159g ; sachant que le poids moléculaire est de 331.2mg.

La quantité totale journalière administrée à une brebis de 40kg est de l'ordre de **159mg**.

Les gélules contenant du Cadmium ont été préparées à partir du chlorure du cadmium hémipenta fois hydraté ($\text{CdCl}_2, 2.5\text{H}_2\text{O}$), pour obtenir 2mg de Cd /kg de PV. Dans chaque gélule, la quantité nécessaire de sels de Cd est de 0.162g, sachant que le poids moléculaire est de 228.31mg.

La quantité journalière administrée pour une brebis de 40kg est de **162mg**.

Les gélules contenant du Plomb et du Cadmium à raison de (159mg de nitrate de Pb+162mg de Chlorure de Cd hémipenta fois hydraté).

1.2.3. Modalités d'administration des gélules

Les sels métalliques ont été administrés tous les jours à partir de J0, le matin, à la même heure, pendant une période de 7 semaines, sous forme d'une gélule par sujet et une fois par jour selon la posologie indiquée dans le tableau (5).

**Tableau 05 : Posologie administrée pendant 7 semaines
(mg/kg/j rapporté au métal)**

| | Plomb | Plomb + Cadmium |
|-------|-------|-----------------|
| Lot 1 | 2.5 | - |
| Lot 2 | - | 2.5 +2 |

1.2.4. Nature et rythme des prélèvements :

1.2.4.1. Prélèvements destinés à contrôler l'alimentation :

Afin d'évaluer les apports en plomb et en cadmium dans l'alimentation et de contrôler l'équilibre minéral en (Cu, Zn, Fe, Ca) de la ration, des prélèvements de fourrage (le foin, environ 250 g) et de l'aliment concentré constitué d'orge de son et de maïs (environ 250g) servis dans la bergerie ont été prélevés dans des sacs en plastiques (non ouvert au préalable) pour analyse.

1.2.4.2. Prélèvements sanguins destinés au dosage des métaux toxiques : Immédiatement stocké à 4°C en attendant le dosage.

Le tableau (6) indique le type des tubes et les destinés des examens sanguins.

Les prélèvements de sang ont été réalisés à la veine jugulaire gauche le matin avant l'administration des sels métalliques.

1.2.4.3. Prélèvements sanguins destinés au dosage des paramètres biochimiques

Les dosages ont porté sur les constantes biologiques (protéines totales, créatinine, TGO, TGP).

1.2.4.4. Prélèvements sanguins destinés au dosage des paramètres hématologiques particulièrement l'hémoglobine et l'hématocrite.

Remarque : les analyses hématologiques et biochimiques ont été effectuées immédiatement juste après le prélèvement (sur le sang frais), puisque ce sont des paramètres très sensibles.

1.2.4.5. Prélèvements sanguins destinés au dosage des paramètres plasmatiques (Cuprémie et Zincémie) :

Le sang recueilli a été centrifugé, à 3000 tours / min pendant 15 minutes. Le plasma a été recueilli dans des tubes secs et traité selon la méthode décrite par **Lamand, (1978a)**.

Tableau 6: Conditions et destinée des prélèvements de sang

| Prélèvement (substrat à utiliser) | Examens pratiqués |
|--|---|
| Sang sur tube citraté | - Dosage des métaux lourds (Plombémie). |
| Sang sur EDTA (Acide Ethylène Diamine Tétracétique) | - Pour les paramètres hématologiques (Hémoglobine, Hématocrite) |
| Sang sur tube hépariné | - Pour les paramètres biochimiques - Le Cuivre et le Zinc plasmatiques |

Le rythme des prélèvements a été le suivant (en jours) pendant les périodes d'expérimentation :

- **Période avant d'exposition** : (4 prélèvements par sujet par semaine, pendant 4 semaines):
Les jours (-J21 ; -J14 ; -J7 et J0).
- **Période d'exposition** : (4 prélèvements par sujet par semaine pendant 7 semaines) :
 - Les sels métalliques ont été administrés à partir de j0, une semaine après l'administration ont été effectués les prélèvements aux jours(J7 ; J14 ; J21 ; J28 ; J35 ; J42 ; J49).
 - Le calendrier des prélèvements pour le dosage des métaux toxique est le même que celui des prélèvements destinés à la biochimie, l'hématologie et les Cuprémies, Zincémies.

1.2.4.6. Prélèvements de laine destinés pour doser le Zinc et le Cuivre :

Les phanères présentent l'avantage d'une conservation exceptionnelle ce qui permet de disposer d'information sur le statut minéral et ou toxicologique et diagnostiquer donc une éventuelle intoxication ou carence. L'évaluation des teneurs minérales dans les phanères est largement utilisée pour déterminer le degré d'exposition de l'homme et de l'animal aux différents contaminants de l'environnement.

Environ 10 g de laine par sujet à j0 et j49 ont été prélevés au niveau de l'encolure de chaque animal puis placés dans un sac en plastique et numéroté.

2. Méthodes analytiques :

2.1. Méthodologie analytique de la minéralisation en vue du dosage du Plomb, Cadmium, Zinc et du Cuivre dans l'aliment :

2.1.1. Préparation de l'échantillon (Shen, 2005): Les différents aliments ont été placés dans des plateaux en papier dans une étuve ventilée (marque Memmert) (**photo2**) à 70°C pendant 48 heures, dans le but de les préparer à une bonne conservation et faciliter leur broyage.

Après le séchage les aliments ont été broyés finement dans un micro broyeur (type Culatti) muni une grille de 1 mm de diamètre puis ils ont été conservés dans des pots étiquetés et clos jusqu'au jour de leur analyse.

2.1.2. Préparation de la verrerie : la verrerie nécessaire doit subir obligatoirement un traitement avant chaque manipulation :

- Lavage avec un détergent.
- Rinçage à l'eau déminéralisée.
- Trempage dans un bain d'acide nitrique pendant une nuit (20ml d'acide nitrique dans 1l d'H₂O déminéralisée).
- Rinçage à l'eau déminéralisée puis séchage dans l'étuve.

2.1.3.Extraction des éléments minéraux : deux techniques ont été utilisées et comparées : Minéralisation par calcination sèche et digestion humide.

2.1.3.1.La calcination sèche : Le matériel suivant a été utilisé :

- Four pour calcination (marque Heraeus) (**photo 01**): il est équipé d'un revêtement en inox et est à une température programmable.
 - La balance de précision.
 - Une étuve (**Photo 02**).
 - Des capsules en porcelaine.
 - Des fioles jaugées (50 ml).
 - Entonnoirs.
 - Papier filtre.
 - Micropipettes.
 - Dessiccateur.
 - Flacons pour conserver les étalons et les échantillons.

- Appareillage : les éléments sont dosés par spectrophotométrie d'absorption atomique à flamme et au four graphite (type Shimadzu AA6800).



Photo 1 : Un four à moufle (LESPA)



Photo2 : Une étuve pour séchage (source LESPA)

Les réactifs utilisés sont :

- Acide nitrique 68% : HNO_3 pur (densité : 1,41).
- Acide perchlorique : HClO_4 ,70%.
- H_2O distillée : préparée au niveau du laboratoire à l'aide d'un distillateur.

2.1.3.1.1. Mode opératoire :

3 prises d'essai d'un même échantillon, chacune de 1g environ, sont placées dans des capsules en porcelaine.

La calcination se fait par *paliers successifs* jusqu'à 450°C, dans le but d'éviter une inflammation brutale du prélèvement et qui provoquerait des pertes ; après la pesée exacte pour chaque prélèvement (paille, son, orge, maïs), on allume le four à moufle à température réglable.

- On laisse l'échantillon à l'intérieur pendant 1 heure à 100°C, 1 heure à 200°C, 1 heure à 300°C et 16 heures à 450°C.
- A la sortie des échantillons du four, il faut s'assurer qu'il a refroidi pour éviter un choc thermique qui risquerait de casser les capsules et entraînent la perte de l'échantillon.
- Le résultat doit être des cendres blanches. Dans le cas contraire on doit refaire la calcination, en augmentant toujours la température par paliers successifs de la même façon que précédemment.
- Une fois que les cendres sont bien blanches, on procède par une attaque à l'acide (2 ml d'HNO₃ 5N) pour faire dissoudre les cendres en chauffant légèrement dans un bain de sable (type Gerhardt).
- Le liquide obtenu est filtré sur papier filtre spécial pour métaux (Whatman N :540 et de 90 mm de diamètre) dans une fiole de 50ml, puis avec de l'eau distillée on rince bien la capsule et on ajuste la fiole à son volume final.

2.1.3.2. Extraction par la digestion humide (Perkin Elmer, 1994 et Arab, 2006) : la procédure de la digestion humide par deux acides est utilisée pour la détermination de plusieurs éléments minéraux. Elle est basée sur les propriétés oxydantes des acides : nitrique (HNO₃) et perchlorique (HClO₄)

Le matériel et les réactifs utilisés sont les suivants :

- Bêchers.
- Spatule.
- Des verres de montre.
- Balance de précision.
- Une plaque chauffante ou un bain de sable.
- Papier filtre sans cendres.
- Fioles de 50ml.
- Pipettes.
- Entonnoirs.
 - Acide nitrique pur, HNO₃ à 60% sa densité est (d)=1.38.
 - Acide perchlorique pur, HClO₄ à 70%.

2.1.3.2.1. Mode opératoire :

- Environ 1 g de matière sèche du matériel végétal est placé dans un bécher préalablement taré; l'échantillon est préparé avec trois répétitions.
- 10ml d'acide nitrique pur sont additionnés.
- Couvrir le bécher par un verre de montre et laisser toute une nuit à une température ambiante, dans un deuxième temps le bécher est placé sur un bain de sable et chauffé jusqu'à cessation de la production des fumées rouge- orange de NO_2 .
- Laisser refroidir un petit moment.
- Ajouter 3 ml d'acide perchlorique à 70% puis chauffer sur un bain de sable jusqu'à la réduction des 2/3 du volume initial.
- Laisser refroidir puis l'échantillon minéralisé est filtré dans une fiole de 50 ml laquelle est ajustée à son volume final jusqu'au trait de jauge.
- Conserver ces fioles dans un réfrigérateur à 2°C jusqu'au moment d'analyse par spectrophotomètre d'absorption atomique équipé d'un brûleur à flamme (Shimadzu AA 6800).

2.1.4.Préparation des solutions :

2.1.4.1. Préparation des solutions mères :

Les solutions mères sont à 1000 ppm (1 g/l). Dans 1 litre d'eau déminéralisée ont dissout une certaine quantité de telle façon à obtenir 1 gramme de l'élément minéral.

Pour chaque élément à doser nous devons préparer des solutions étalons à des concentrations connues, à partir de la solution mère de 1g /l pour chaque élément,

- **La solution mère de cuivre** : a été préparée à partir du sulfate de cuivre 5 fois hydraté ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$). Ainsi, 3.93g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ exactement pesés et dissous dans 5ml d'eau distillée, afin d'obtenir une concentration en cuivre de 1g/l.
- **La solution mère de plomb** : a été préparée à partir du nitrate de plomb afin d'obtenir une concentration en plomb de 1g/l.
- **La solution mère de cadmium** : a été préparée à partir du sulfate de cadmium 8 fois hydraté ($3\text{Cd SO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$) pour obtenir une concentration de 1g/l.
- **La solution mère de zinc** : a été préparée à partir du chlorure de zinc (Zn Cl)₂ pour une concentration de 1g/l.

Une petite quantité d'acide nitrique 5 N (HNO_3 -5 N) est ajoutée dans les solutions préparées pour la gamme d'étalonnage, afin d'être dans les mêmes conditions que les solutions inconnues à doser, et pour mieux solubiliser ces sels en milieu acide.

2.1.4.1.2. Préparation d'une solution intermédiaire multi-élément de 10mg/L

Dans une fiole de 1000 ml, et à l'aide de pipette graduée de 10ml, on prépare une solution multiélément de cuivre, zinc, cadmium et de plomb comme suite : 10ml d'une solution mère de cuivre + 10 ml d'une solution mère de zinc + 10ml d'une solution mère de cadmium + 10 ml d'une solution mère de plomb + quantité suffisante pour 1000 ml.

2.1.4.1.3. Préparation d'une solution multiélément (étalons, filles) de 1mg/l

0.5mg/l (0.5ppm) = 5ml de solution intermédiaire + QSP 100ml.

1mg/l (1ppm) = 10ml de solution intermédiaire + QSP 100ml.

2mg/l (2ppm) = 20ml de solution intermédiaire + QSP 100ml.

5mg/l (5ppm) = 50ml de solution intermédiaire + QSP 100ml.

La zone de linéarité pour ces éléments est comprise entre 0.5 et 5 mg/l

Les courbes d'étalonnages du zinc, cuivre, cadmium, et plomb sont présentées dans la **figure (02)**.

Les droites d'étalonnage montrent une relation linéaire et proportionnelle entre les concentrations choisies et leurs absorbances respectives.

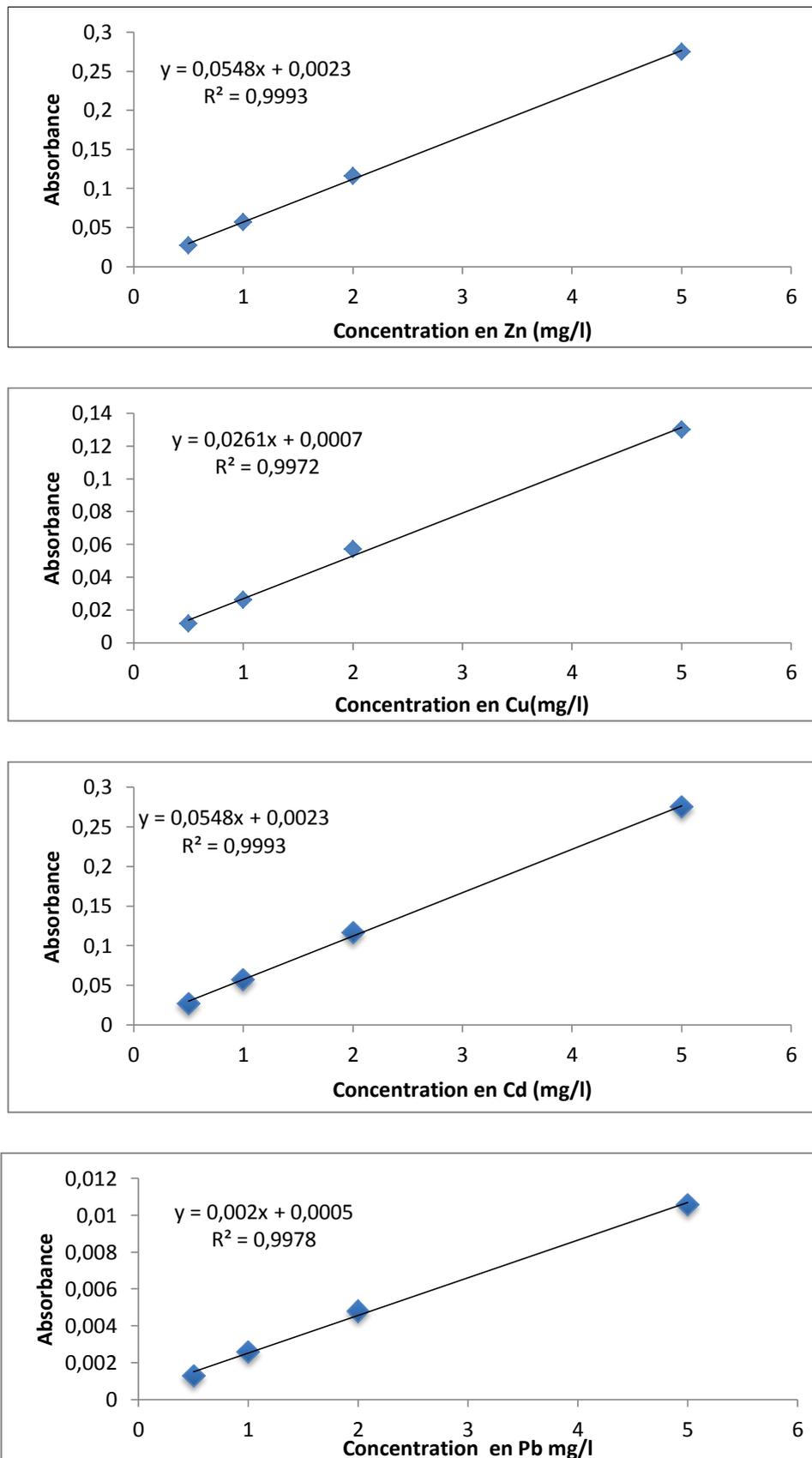


Figure 2 : Droites d'étalonnage en milieu aqueux du Zinc (Zn), Cuivre (Cu), Cadmium (Cd), et Plomb (Pb).

2.2. Méthode analytique en vue du dosage du plomb et de cadmium dans le sang :

2.2.1. Dosage du plomb et du cadmium dans le sang : La mesure des concentrations de deux métaux toxiques, le plomb et le cadmium ayant un caractère cumulatif permet de caractériser le danger.

Le dosage a été réalisée selon la méthode décrite par **Mehennaoui *et al.*, (1997)**, par spectrophotométrie d'absorption atomique à four graphite avec plate forme de L'vov et compensation de l'absorption non spécifique par lampe au deutérium. Les concentrations ont été déterminées à l'aide d'un spectrophotomètre Perkin Elmer Analyst 100 par dosage direct après dilution des prises d'essai de 100 µl de sang total au 1/10^{ème} par du Triton X à 0.5% et de l'acide nitrique ultrapur à 0.05N.

Les programmes thermiques utilisés pour le dosage des deux métaux sont indiqués dans le tableau suivant :

Tableau 7 : Caractéristiques du programme thermique pour les dosages sanguins

| | Plomb | Cadmium |
|------------------------------|--------|---------|
| Température de séchage | 200°C | 150 °C |
| Température de décomposition | 700°C | 500 °C |
| Température d'atomisation | 1800°C | 1400 °C |

Les gammes d'étalonnage étaient préparées quotidiennement de la même façon que les échantillons en utilisant du sang de mouton non contaminé afin d'éviter les variations liées à la matrice selon les modalités précisées dans le tableau suivant :

Tableau 8 : Gamme d'étalonnage du plomb et du cadmium

| Sang Total | 100 µl d'une solution étalon de | | TritonX0.5% | HNO ₃ 0.05N |
|------------|---------------------------------|--------------------|-------------|------------------------|
| | Nitrate de plomb | Nitrate de cadmium | | |
| 100 µl | 0 µg/L | 0 µg/L | 400 µl | 400 µl |
| 100 µl | 50 µg/L | 10 µg/L | 400 µl | 400 µl |
| 100 µl | 100 µg/L | 20 µg/L | 400 µl | 400 µl |
| 100 µl | 250 µg/L | 40 µg/L | 400 µl | 400 µl |
| 100 µl | 500 µg/L | 50 µg/L | 400 µl | 400 µl |

Les droites d'étalonnage pour le cadmium et le plomb sont illustrées dans la figure suivante :

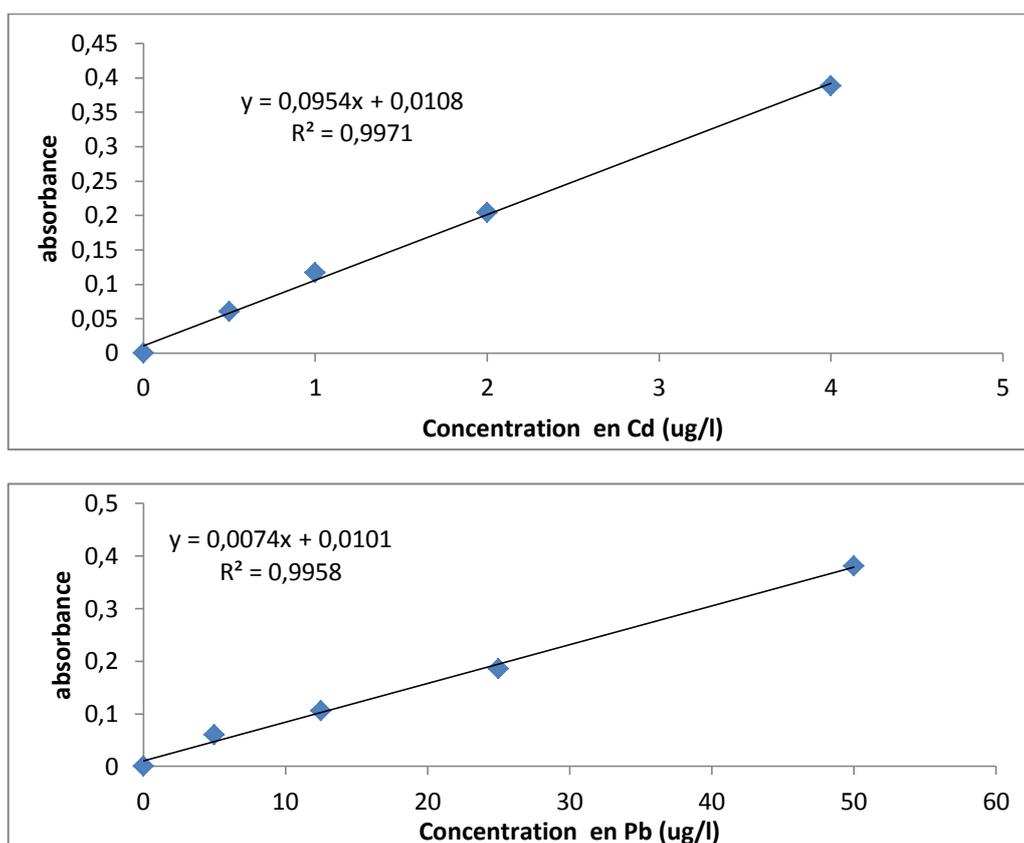


Figure 3 : Droites d'étalonnage du (Cd) -(Pb) en milieu sanguin

Les zones de linéarité de la courbe d'absorbance par rapport à la concentration sont comprises entre 5 et 50 $\mu\text{g/L}$ pour le plomb et 0,5 $\mu\text{g/L}$ et 5 $\mu\text{g/L}$ pour le cadmium. Les coefficients de corrélation (r) entre les concentrations et les absorbances varient entre 0,995 et 0,996 ; la pente de la droite de régression varie d'un dosage à un autre entre 0,006 et 0,008 pour le plomb ; pour le cadmium le coefficient de corrélation varie entre 0,995 et 0,998 et la pente entre 0,087 et 0,115 (**figure 3**) calculés grâce au logiciel Excell sur Windows.

2.3. Méthode analytique appliquée au dosage du cuivre et zinc plasmatiques : (Lamand, 1978a)

L'analyse a été réalisée au laboratoire de l'Environnement, Santé et Production Animale (E.S.P.A) de l'Université El Hadj Lakhdar Batna. Le mode opératoire adopté, est celui préconisé par *Lamand (1978a)*:

Les teneurs en cuivre et en zinc dans le plasma sanguin sont dosées par spectrophotométrie d'absorption atomique sur une prise d'essai de 1 ml diluée au 1/5. Les protéines du plasma sont précipitées selon la procédé suivant :

- Prélever 1 ml de plasma et ajouter lentement 0.5 ml d'acide chlorhydrique. Agiter, attendre 10 minutes.
- Ajouter de même 0.5 ml d'acide trichloracétique (20%). Agiter, attendre 10 minutes.
- Ajouter 3 ml d'eau déminéralisée. Agiter.
- Centrifuger à 4500 tour/ minutes pendant 20 minutes.
- Prélever le surnageant dont on mesure l'absorbance.

Préparation des étalons: Dans 1 litre d'eau déminéralisée on dissout une certaine quantité de telle façon à obtenir 1g de métal :

- Du cuivre à partir de sulfate de cuivre 5fois hydraté ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$).
- Du zinc à partir de chlorure de zinc (ZnCl_2).

Les étalons ont été préparés aux concentrations de 0.5,1,2 et 5 mg/l à partir d'une solution mère à 1000ppm(1g/l) de cuivre et de zinc, on prélève 1ml de chaque étalon qui est traité comme les plasmas sans attendre 10 minutes pour avoir la même viscosité .

Les courbes d'étalonnages du cuivre et du zinc du plasma sont présentées dans la figure(5) et la zone de linéarité est comprise entre 0.5 et 5 mg/l.

Les droites d'étalonnage montrent une relation linéaire et proportionnelle entre les concentrations choisies et leurs absorbances respectives.

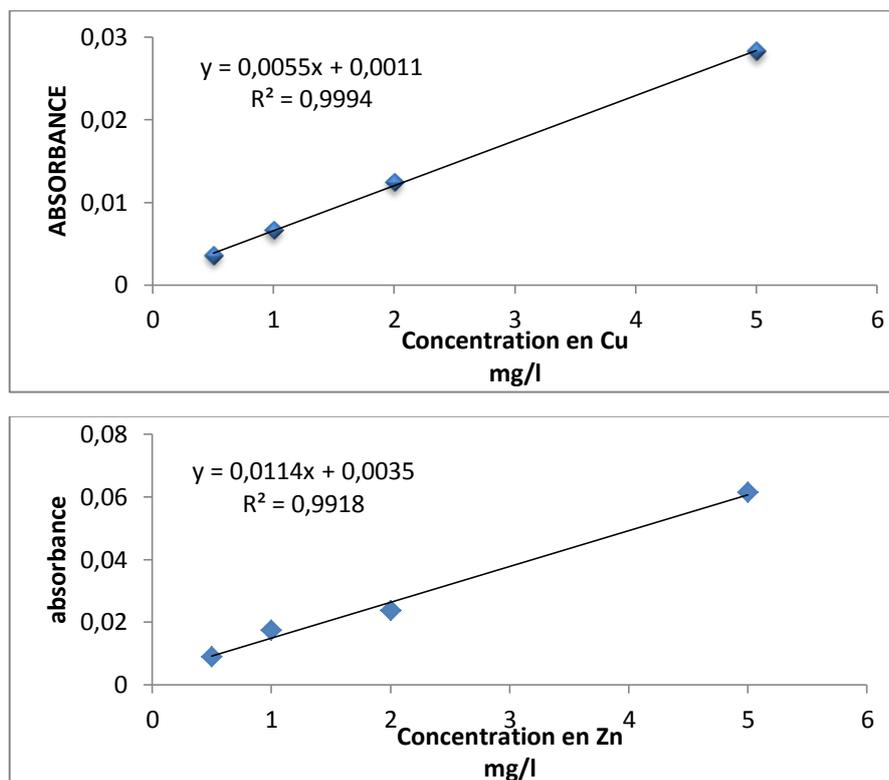


Figure 4 : Droites d'étalonnage pour le dosage du Cu et Zn plasmatiques



Photo 3. Centrifugeuse (LESPA)

2.4. Mesure des paramètres hématologiques :

La détermination de deux paramètres hématologiques (Ht, Hb) a été réalisée dans le but d'apprécier l'état anémique ou normal des brebis qui sont exposées aux métaux toxiques.

2.4.1. Dosage de l'hémoglobine :

Le dosage de l'hémoglobine a été réalisé à l'aide d'un automate d'hématologie au niveau de service des urgences du CHU de Batna.

La méthode classique de détermination du taux d'hémoglobine se fait après hémolyse d'une quantité donnée de sang et addition de cyanure, par mesure photométrique de la concentration en cyanométhémoglobine.

2.4.2. Dosage de l'hématocrite :

Le dosage de l'hématocrite a été réalisé en partie au niveau :

- Du CHU de Batna, service des urgences.
- Du Laboratoire de recherche en environnement, santé et production animale au sein du département vétérinaire/ Institut des sciences vétérinaires et sciences agronomiques de l'université de Batna.

2.4.2.1. Mode opératoire :

La centrifugation est la méthode de référence en matière de détermination de l'hématocrite. Elle permet de séparer les composants solides du sang des composants liquides.

Le sang prélevé sur anticoagulant(EDTA) est introduit dans un capillaire à micro hématocrite. Lors du remplissage, il faut veiller à ce que l'extrémité du tube capillaire opposée à l'extrémité de remplissage reste sèche.

Pour la détermination de l'hématocrite, les tubes capillaires sont remplis à environ 75%, puis le capillaire est bouché avec la pâte à modeler, avant d'être centrifugé à 5000 ou 10000 tours par minutes dans l'appareil à micro hématocrite (**Photo4**).

Le résultat, obtenu en quelques minutes est lu grâce aux grilles spécifiques, en comparant la hauteur de la colonne d'érythrocytes par rapport à la colonne totale de sang.



Photo 4. Centrifugeuse à hématocrite (LRESPA)



Photo 5. Tube à hématocrite (LRESPA)

2.5. Méthode analytique au dosage des paramètres biochimiques : les analyses ont été réalisées au laboratoire de biochimie du CHU de Batna, par des kits commerciaux .

2.5.1. Matériels utilisés :

- Embouts
- Portoirs
- Une centrifugeuse
- Automates :type INTEGRA.
- Réactifs pour integra 400 « Roche » (COBAS®)
- Tests contrôle positifs et négatifs (Normal)

Les prélèvements sanguins ont été réalisés dans des tubes sous-vide vacutainer à héparinate de lithium.

- Le sang recueilli a été transporté dans une glacière avec des poches de glace puis ont été centrifugés à 3000 tours pendant 15 mn pour récupérer le sérum.
- Les dosages ont porté sur les constantes biologiques (protéines totales, créatinine), et deux principales enzymes analysées en routine pour évaluer la fonction hépatique qui sont l'alanine aminotransférase (ALAT ou TGP), l'aspartate amino transférase (ASAT ou TGO), Ces enzymes se regroupent respectivement sous les termes **transaminases**.

2.5.2. Analyse des enzymes hépatiques (les transaminases) :

La fonctionnalité du foie peut être mesurée par les enzymes appelés transaminases (ASAT-ALAT) qui sont des enzymes importants de l'organisme dont le rôle est de transférer un groupe amine lors de nombreux processus chimiques se déroulant au niveau hépatique.

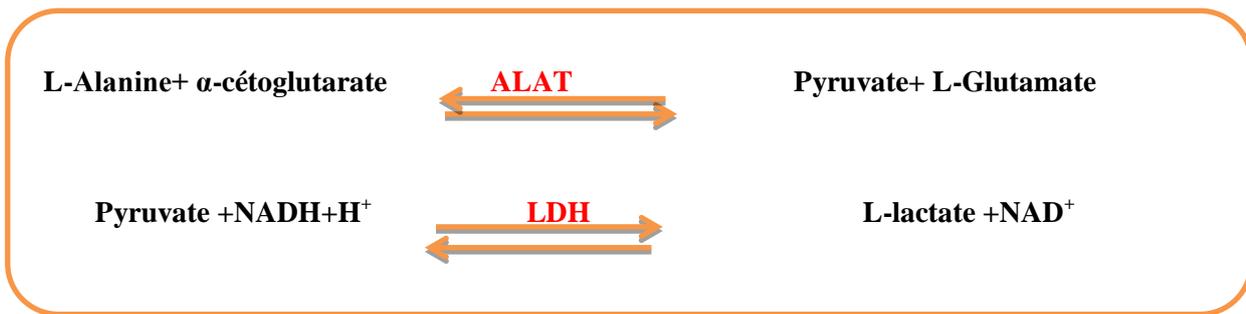
Ils catalysent en présence d'une coenzyme, le pyridoxal-5-phosphate, le transfert des groupes d'alpha-aminés de l'acide - aspartique ou de l'alanine sur le groupe alpha-cétonique de l'acide - céto glutarique pour produire l'acide oxaloacétique et l'acide pyruvique. Nous avons donc :

2.5.2.1. L'alanine amino transférase (ALAT ou TGP) ou Glutamate Pyruvate transaminase

Bien qu'abondant dans le foie, on le trouve dans le rein, le cœur, les muscles squelettiques, la rate, les poumons.

Une altération de la fonction hépatique résulte d'une augmentation de ces enzymes dans le sang.

*Méthode de dosage de l'ALAT : la cinétique enzymatique se déroule comme suit :

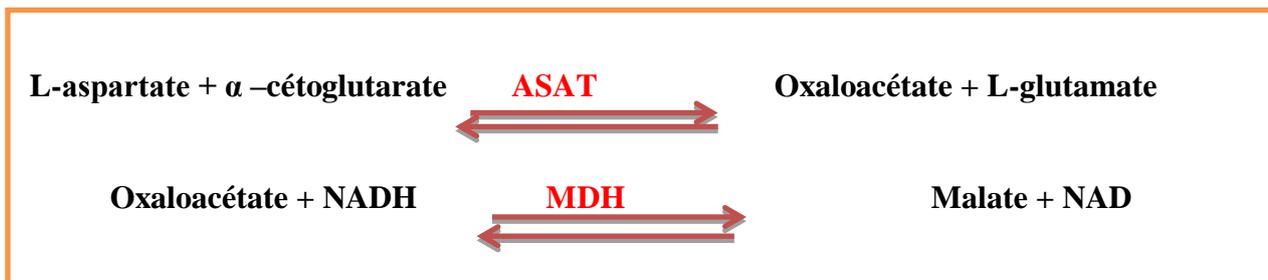


On mesure la vitesse de disparition du NADH qui est proportionnelle à l'activité catalytique de l'ALAT.

2.5.2.2.L'aspartate amino transférase (ASAT ou TGO) ou Glutamate Oxaloacétique transaminase.

Il se retrouve dans le cœur, le foie, les muscles squelettique, le rein, le pancréas, la rate, les poumons, les globules rouges.

Méthode de dosage de l'ASAT : la cinétique enzymatique est décrite dans les équations suivantes



L'ASAT catalyse la réaction de L-aspartate et α -cétoglutarate en oxalate et L-glutamate.

L'oxaloacétate est converti en malate et en NADH est oxydée en NAD⁺ par le catalyste **Malate déshydrogénase (MDH) :**

2.5.2.3.Les protides totaux

Une protéine, ou aussi appelé protide, est une macromolécule composée par une chaîne (ou séquence) d'acides aminés liés entre eux par des liaisons peptidiques. En général, on parle de protéine lorsque la chaîne contient 100 acides aminés. Dans le cas contraire, on parle de peptides et polypeptides. Les protéines remplissent des fonctions très diverses : de catalyse, transport, communication, signalisation, reconnaissance.

La détermination de sa valeur peut orienter le clinicien à diagnostiquer les troubles suivants : Maladies du foie, des reins et de la moelle osseuse ; troubles métaboliques et nutritionnels.

***Méthode de dosage :**

La méthode de dosage des protéines totales est une modification de la réaction de Biuret.

Dans la réaction de biuret, la solution protéique est traitée à l'aide d'ions de cuivre {Cu (II)} dans un milieu très alcalin.

Du tartrate de sodium et de potassium et de l'iodure de potassium sont ajoutés afin d'empêcher respectivement la précipitation de l'hydroxyde de cuivre et l'auto - réduction du cuivre. Les ions Cu (II) réagissent créant des liens peptides entre les atomes d'oxygène carbonyle et d'azote amidé afin de former un complexe coloré Cu-protéine.



La quantité de protéine totale présente dans l'échantillon est directement proportionnelle à l'absorbance du complexe Cu-protéine.

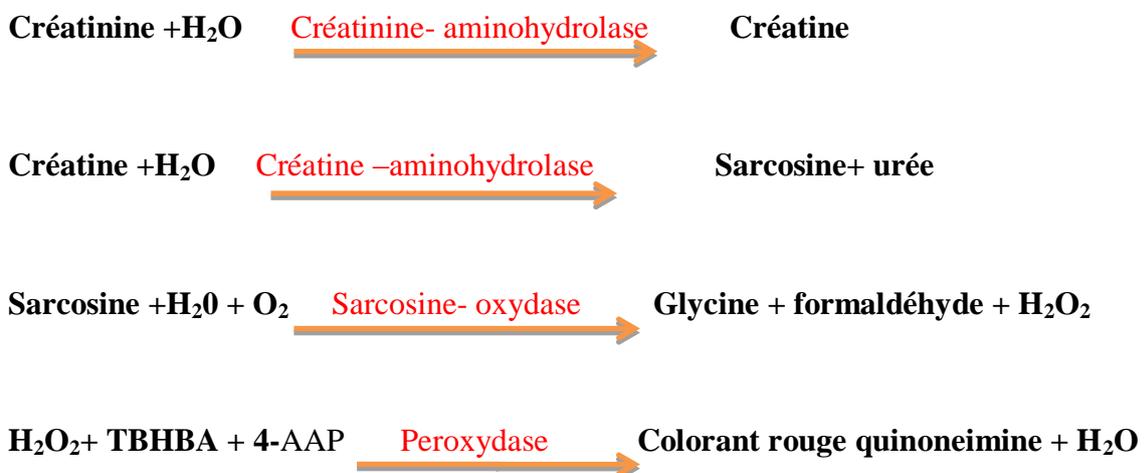
2.5.2.4. La Créatinine

La créatinine est le catabolite de la créatine et de la phospho-créatine d'origine musculaire.

La créatinine est exclusivement éliminée par les reins, ce qui en fait un très bon marqueur de la fonction rénale.

***Méthode de dosage :** La méthode de Jaffé, est toujours utilisée de façon courante pour déterminer les niveaux de créatinine dans le sang.

La concentration de créatinine est proportionnelle à l'intensité de la couleur rouge produite.



2.6 Méthode analytique en vue du dosage du zinc et du cuivre dans la laine :

2.6.1. Lavage de la laine :

La technique de lavage est une étape très importante, car elle doit éliminer les contaminations externes tout en respectant les métaux qui sont incorporés dans la kératine. Le lavage de la laine est effectué selon le procédé décrit par **Afri-Mehennaoui *et al.*, (2001)**, la laine est trempée dans l'eau chaude et laissée ainsi toute une nuit, pour que les matières fécales ou toute autre souillure collées se détachent; on procède ensuite à un rinçage à l'eau déminéralisée et au besoin un broissage pour enlever toute particule macroscopique. La laine est lavée avec un détergent non ionique le Triton X100 à 1 % puis rincée deux à trois fois avec de l'eau déminéralisée jusqu'à disparition complète de la mousse, et obtention d'une eau claire. On égoutte les échantillons par pressage et on les laisse sécher dans l'étuve. Une fois que les échantillons de laine sont secs, toutes les particules macroscopiques sont éliminées à l'aide d'une pince puis sont coupés en petits fragments de 1 cm environ. Chaque échantillon est placé dans une capsule en porcelaine.

2.6.2. Minéralisation sèche :

La calcination sèche adoptée est réalisée selon la méthode décrite par **Milhaud et Mehennaoui (1988)**

Environ 1g de laine bien séchée et coupée en petits morceaux sont placés dans une capsule en porcelaine. La calcination se fait par paliers successifs jusqu'à 450°C, dans le but d'éviter une inflammation brutale du prélèvement et qui provoquerait des pertes, après la pesée exacte pour chaque prélèvement on allume le four à moufle (marque Heraeus) (**photo 1**) à température réglable. On laisse les échantillons à l'intérieur pendant 1 heure à 100°C, 1 heure à 200°C, 1 heure à 300°C et 16 heures à 450°C. A la sortie des échantillons du four, il faut s'assurer qu'il a refroidi pour éviter un choc thermique qui risquerait de casser les capsules. Le résultat doit être des cendres blanches. Dans le cas contraire on doit refaire la calcination, en augmentant toujours la température par paliers successifs de la même façon précédente. Une fois que les cendres sont bien blanches, on procède par une attaque à l'acide nitrique, 2ml d'HNO₃ 5N pour faire dissoudre les cendres en chauffant légèrement. Le liquide obtenu est filtré sur du papier filtre sans cendre dans une fiole de 50ml, puis avec de l'eau déminéralisée on rince bien la capsule et on ajuste la fiole à son volume final.

Le dosage a été réalisé par spectrophotomètre d'absorption atomique équipé d'un brûleur à flamme (**Shimadzu AA 6800**).

2.6.3. Préparation des solutions étalons : Les concentrations choisies pour les solutions étalons sont :

- Pour le cuivre : 0.5, 1, 2, 5 mg/l.
- Pour le zinc : 0.5, 1, 2,5 mg/l.

Les courbes d'étalonnage du Cu et du Zn sont illustrées dans la **figure(5)** et la zone de linéarité pour le zinc est comprise entre 0.5 et 5 mg/l pour le cuivre elle se situe entre 0.5 et 5 mg/l.

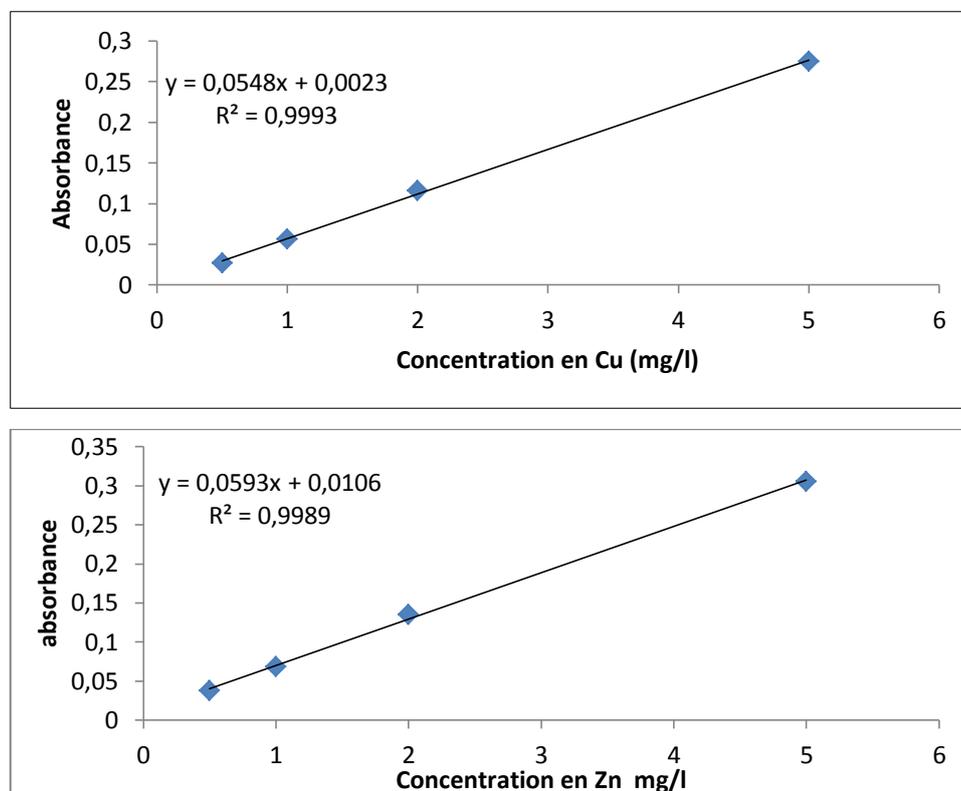


Figure 5 : Droites d'étalonnage du(Cu)-(Zn) en milieu aqueux pour le dosage du Zn et du Cu dans la laine.

2.7. L'analyse statistique :

L'analyse a été effectuée grâce aux logiciels Med calc Version 12.7.1.0 et EXCEL pour le calcul:

- Des moyennes et des écart-types.
- Des corrélations afin d'établir les liaisons deux à deux entre les paramètres.

Le Test T Student pour petits échantillons et pour séries appariées est effectué à fin de comparer les moyennes pour chaque paramètre.

La probabilité de signification est fixée à $p < 0.05$.

CHAPITRE II : RESULTATS

Dans ce chapitre, nous allons présentons et commentons successivement nos résultats des dosages dans l'alimentation des brebis, dans le sang, et dans la laine.

1. Dans les aliments

Les résultats des dosages des éléments minéraux effectués sur les échantillons de la ration alimentaire des principaux aliments servis à bergerie sont indiqués dans le tableau (9).

Le tableau 9 représente les concentrations en éléments minéraux (moyenne \pm SD) des différents composants de la ration exprimées en g/kg de MS pour les macroéléments et en mg/kg de MS pour les oligo-éléments.

Les quantités journalières ingérées par animal sont calculées en prenant en considération la ration théorique des animaux : c'est à dire 1kg de foin, 0.2kg d'orge, 0.2kg de maïs et 0.2kg de son et enfin l'eau est donnée à volonté.

D'après les résultats obtenus nous notons que les quantités de Plomb et de Cadmium apportées par l'alimentation des animaux sont très faibles et négligeables et non détectables par rapport aux doses administrées.

Les quantités ingérées en éléments minéraux ne sont pas en excès ; cette alimentation correspond à la ration d'une brebis vide (non gravide) qui doit couvrir les besoins d'entretien.

Tableau 9 : Teneurs moyennes en minéraux (Moyenne \pm écart type) de l'alimentation destinée aux animaux pendant l'expérimentation.

| Ration | Unités | Foin | Mais | Orge | Son | Quantité ingérée /j |
|---------|-----------------|--------------------|------------------|-----------------|--------------------|---------------------|
| Minéral | | | | | | |
| Cuivre | mg/kg MS | 4.7 \pm 0.4 | 4.1 \pm 0.7 | 6.7 \pm 0.6 | 2.6 \pm 0.36 | 7.4mg |
| Zinc | mg/kg MS | 19 \pm 3.8 | 27 \pm 2.7 | 23 \pm 5.1 | 51.3 \pm 1.3 | 39.4mg |
| Fer | mg/kg MS | 106.5 \pm 0.3 | 70 \pm 0.02 | 73.5 \pm 0.04 | 87 \pm 0.02 | 141.9mg |
| Calcium | g/kg MS | 0.5 \pm 5.3 | 3.8 \pm 0.9 | 3.5 \pm 0.4 | 6.03 \pm 0.07 | 3.1g |
| Cadmium | mg/kg MS | <LD | <LD | <LD | <LD | - |
| Plomb | mg /kg MS | <LD | <LD | <LD | <LD | - |

LD : Limite de Détection.

2 .Dans le sang:

Les variations au cours du temps des concentrations des métaux étudiés seront présentées en premier. Elles seront suivies des résultats obtenus sur les paramètres hématologiques et biochimiques explorés.

2.1. Plombémie :

Les résultats de la plombémie dans les deux lots expérimentaux sont rassemblés dans les tableaux(10) et (11) et sont illustrées dans les figures (6),(7) et (8).

Les plombémies avant administration des traitements pour les deux lots sont inférieures aux limites de détection de la méthode analytique $\leq 4\mu\text{g/l}$.

Pendant l'exposition les valeurs moyennes des plombémies varient entre 114 et 304 $\mu\text{g/l}$ chez le lot plomb et entre 183 et 445 $\mu\text{g/l}$ chez le lot plomb-cadmium. On constate pour les deux lots traités une augmentation sensible de la plombémie pendant les premières semaines pour atteindre une valeur maximale de 304 $\mu\text{g/L}$ (lot Plomb) et 445 $\mu\text{g/L}$ pour le lot Plomb-Cadmium à J₄₂. L'évolution des plombémies chez le lot Plomb-Cadmium est plus élevée par rapport aux lots Plomb car le plateau est autour de 445 $\mu\text{g/L}$ contre 304 $\mu\text{g/L}$. L'administration conjointe des deux sels métalliques suggère une biodisponibilité plus élevée pour le plomb et donc une activité toxicologique plus importante

Tableau 10 : Variations des plombémies moyennes ($\mu\text{g/l}$) chez le lot témoin et le lot Plomb.

| Lots | Lot Témoin (J0) | Lot Plomb | | | | | | |
|---|-----------------------|----------------|----------------|-------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| | | J7 | J14 | J21 | J28 | J35 | J42 | J49 |
| Plombémie ($\mu\text{g/l}$) (moyenne \pm Ecartype) | $\leq 4\mu\text{g/l}$ | 235.6 \pm 44 | 134.6 \pm 57 | 171 \pm 9 | 269.2 \pm 99 | 258.6 \pm 48 | 304.6 \pm 92 | 114.3 \pm 83 |

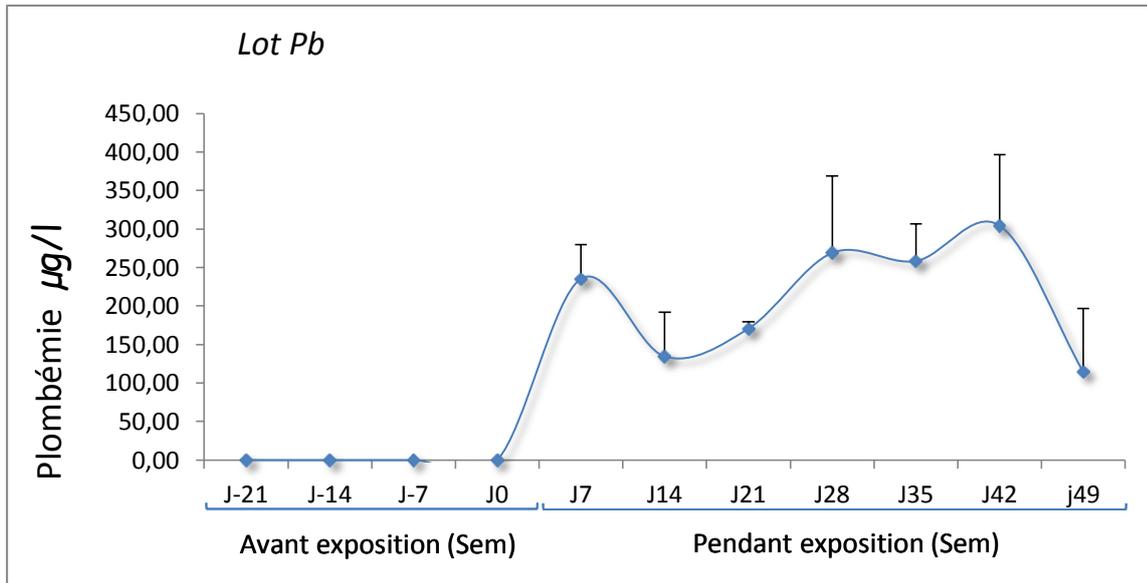


Figure 6 : Evolution des plombémies dans le lot Pb avant et après exposition quotidienne des brebis à des doses de 2.5mg/kg/j.

Tableau 11 : Variations des plombémies moyennes (µg/l) chez le lot témoin et le lot Plomb-Cadmium.

| Lots | Lot Témoins J0 | Lot Pb- Cd | | | | | | |
|---|----------------------|------------|--------|---------|---------|-----------|-----------|-----------|
| | | J7 | J14 | J21 | J28 | J35 | J42 | J49 |
| plombémie (µg/l) (Moyenne± Ecartype) | ≤ 4µg/l | 319±117 | 199±40 | 318±204 | 396±374 | 377.6±217 | 445.2±293 | 183.6±141 |

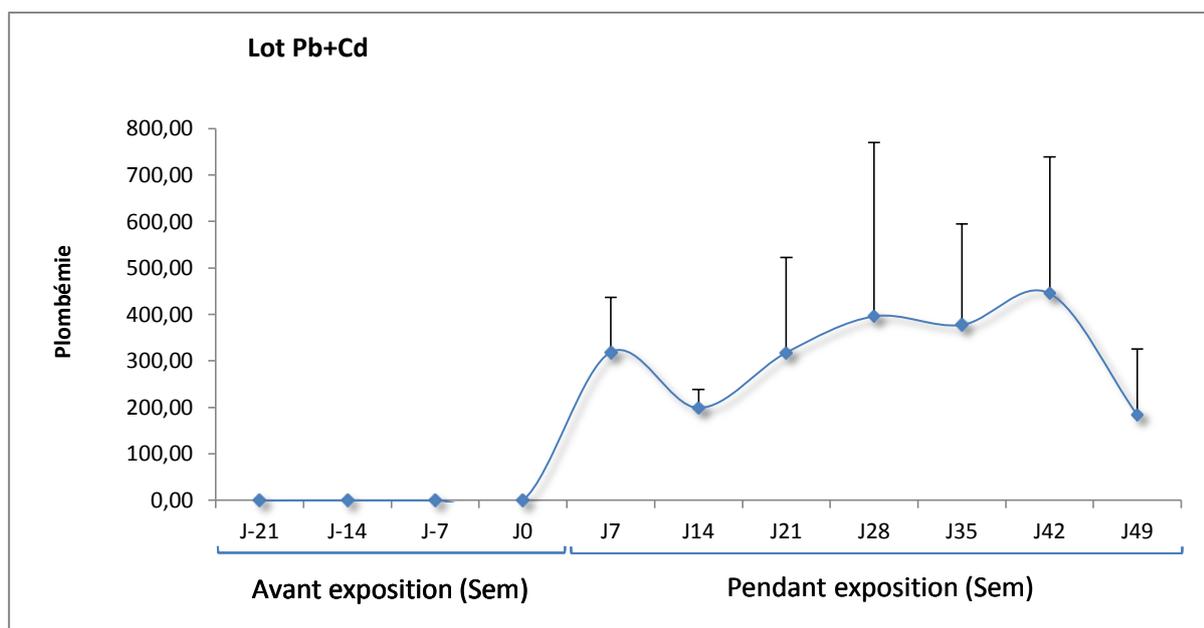


Figure 7 : Evolution des plombémies moyennes dans le lot Pb-Cd avant et après exposition quotidienne des brebis à des doses de 2.5mg/kg/j.

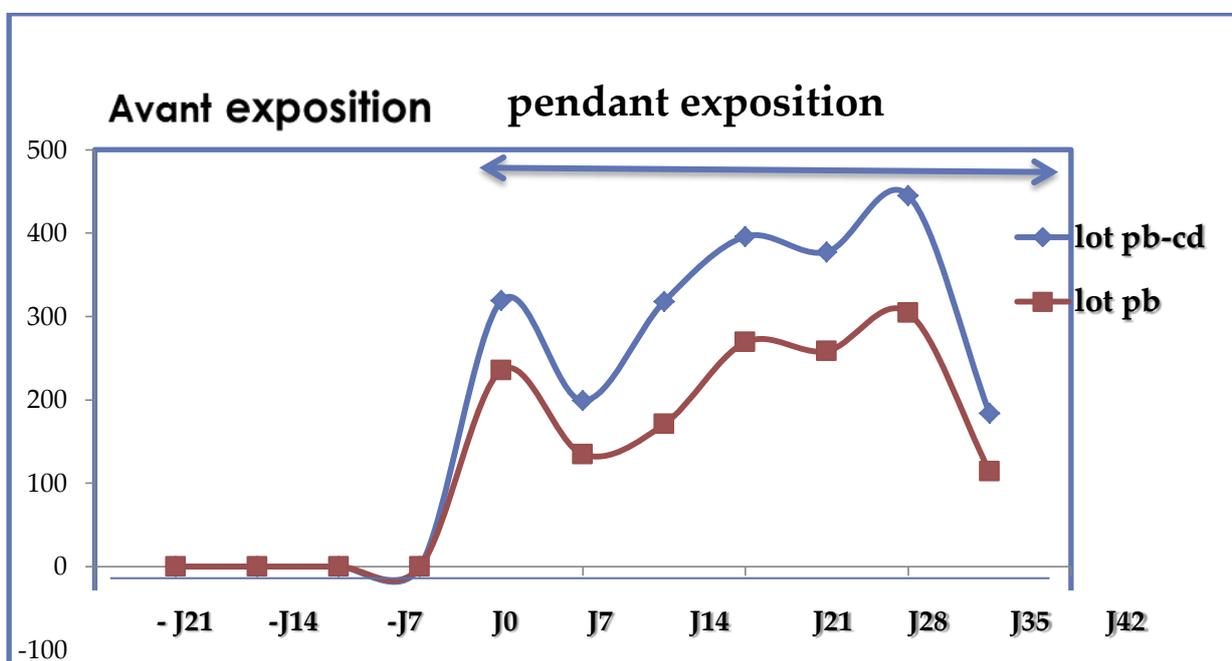


Figure 8 : Evolution des plombémies moyennes dans le lot Pb, Pb-Cd avant et après exposition quotidienne des brebis à des doses de 2.5mg/kg/j.

2.2. Paramètres hématologiques : Les valeurs moyennes et écart-types de l'hémoglobine et de l'hématocrite pour chaque lot sont regroupés dans les tableaux (12) et (13) et illustrés dans les figures (9) et (10).

Le tableau (12) indique les variations moyennes d'hémoglobine et d'hématocrite chez lot témoins et lot Pb.

Les valeurs témoins sont celles obtenues avant exposition pour les mêmes lots, et leurs concentrations moyennes en hémoglobine relevées sont dans l'intervalle physiologique (10.4 g/100ml). Dans le lot plomb les teneurs en hémoglobine sont voisines à celles des témoins et varient entre 9.7 et 11.1 g /100ml. Le test T Student montre aucune variation significative ($P>0.05$) avec le lot témoin. Bien qu'une diminution vers la fin de l'exposition soit observée (**Figure 9**).

Les valeurs moyennes d'hématocrite (%) dans le lot témoins est de (32.8%) ; Cette valeur se situe dans l'intervalle physiologique. Chez le lot Pb nous notons une augmentation significative ($p<0.05$) par rapport à la valeur moyenne des témoins de l'hématocrite au bout de la 1^{ère} semaine puis une légère diminution. Ces valeurs sont très voisines des précédentes et les différences ne sont pas statistiquement significatives ($p>0.05$). (**Figure 10**)

Tableau 12: Valeurs moyennes des paramètres hématologiques (Hb, Ht) (moyenne± S.D) dans le lot témoin et le lot Plomb.

| Lots | Témoins | Lot plomb | | | | | | |
|--------------------|----------|-----------|----------|----------|----------|----------|----------|---------|
| | J0 | J7 | J14 | J21 | J28 | J35 | J42 | J49 |
| Hémoglobine (g/dl) | 10.4±0.2 | 11.2±1.2 | 11.1±0.9 | 10.5±0.5 | 10.8±0.6 | 11.2±1.2 | 10.8±1.1 | 9.7±0.7 |
| Hématocrite (%) | 32.9±0.7 | 37.8*±2.6 | 37±3.1 | 32±2.6 | 33.6±3.1 | 34.2±3.2 | 33±2.8 | 31±2 |

NS : $p>0.05$; * : Significative $p<0.05$.

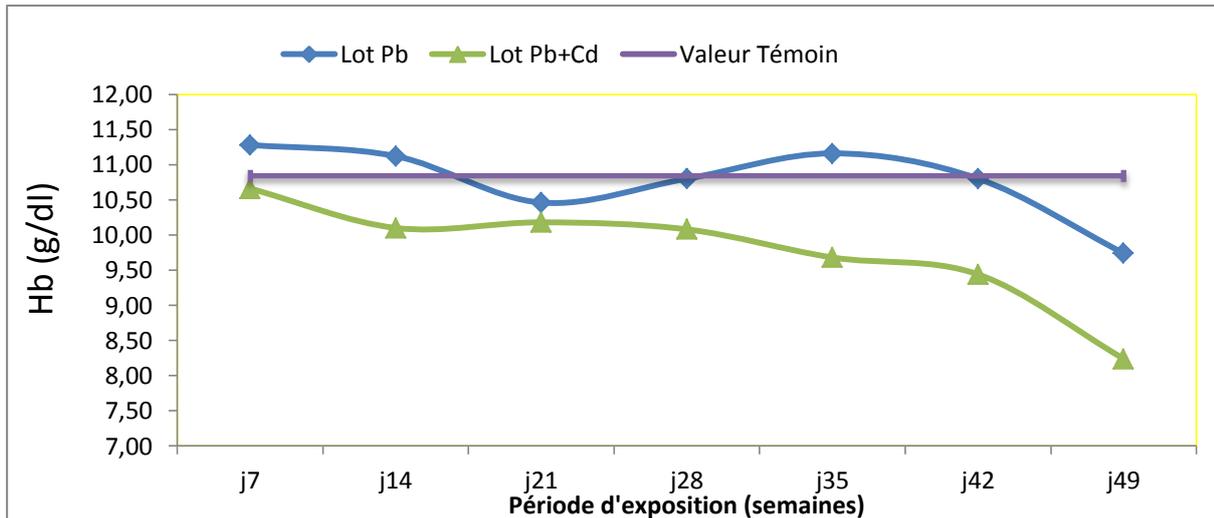


Figure 9 : Evolution du taux d'hémoglobine (g/dl) dans le lot Pb, Pb-Cd et les témoins.

Le taux d'hémoglobine moyen chez le lot témoins est de (10.6g /100ml) et celui du lot traité par le Plomb - Cadmium varie entre 8.3 et 10.6g/100ml. Nous remarquons une légère diminution significative ($p < 0.05$) à J21 ; J42 et J49 mais très significative ($P < 0.01$) à J35 (**Figure 9**).

Le taux d'hématocrite (%) chez le lot traité varie entre (27.8% et 35.4%), des diminutions très significatives ($p < 0.01$) à J35 ; J42, et hautement significative ($p < 0.001$) vers la fin d'exposition ont été observées (**Figure 10**).

Ces valeurs moyennes sont incluses dans l'intervalle physiologique et sont analogue à celles des témoins (34.2%).

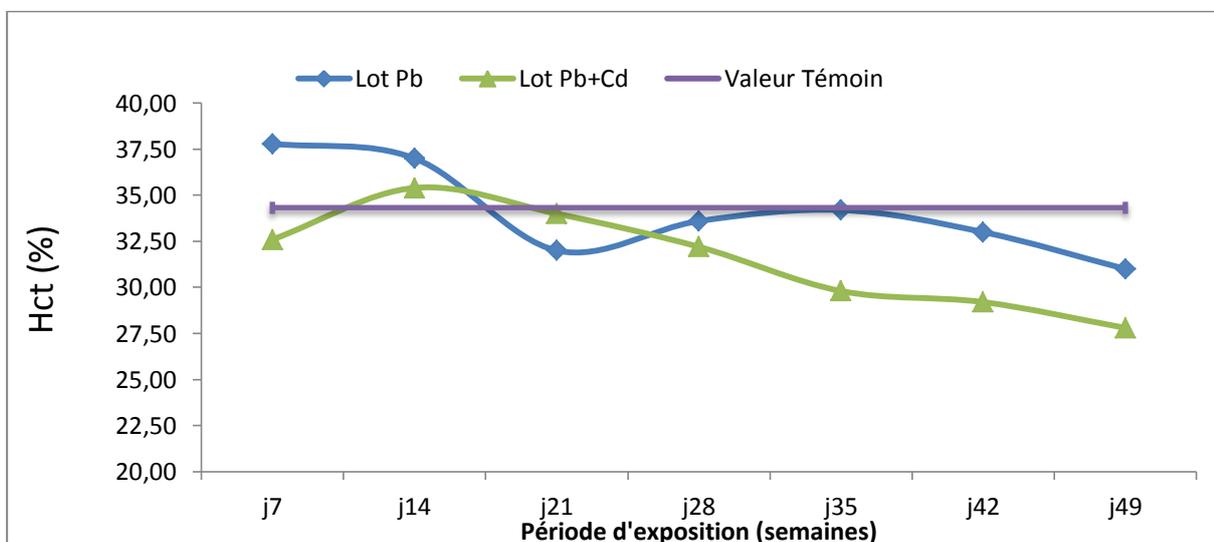


Figure 10. Evolution du taux d'hématocrite (%) dans le lot Pb, Pb-Cd et les témoins.

Le tableau 13 regroupe les valeurs moyennes en hémoglobine et en hématocrite chez le lot témoin et le lot exposé au Pb-Cd.

Tableau 13 : Valeurs moyennes des paramètres hématologiques (Hb,Ht) (moyenne± S.D) dans le lot témoin et le lot Plomb-Cadmium.

| Lots | Témoins | Lot Plomb- Cadmium | | | | | | |
|--------------|----------|--------------------|----------|---------|--------|-------------|------------|-----------|
| | J0 | J7 | J14 | J21 | J28 | J35 | J42 | J49 |
| Hb (g/dl) | 10.6±0.5 | 10.6±1 | 10.1±0.7 | 10.2*±1 | 10.1±1 | 9.7**±0.4 | 9.4*±0.9 | 8.2*±1.4 |
| Ht (%) | 34.2±1.2 | 32.6±3 | 35.4±4.3 | 34±3.8 | 32.2±9 | 29.8***±1.5 | 29.2**±1.5 | 27.8***±1 |

NS : Différence non significative (P> 0.05) ;* : P<0.05 ;** : P<0.01 ,*** : P<0.001.

Chez le lot Plomb, une diminution du taux d'Hb est révélée mais elle n'est pas statistiquement significative (P>0.05).En revanche chez le lot Pb-Cd celle-ci présente une signification importante (p<0.05) comparativement au lot Pb, à partir de J21. (Tableau 14).

Tableau 14: Variations moyennes du taux d'hémoglobine (g/100ml) chez lot Pb et le lot Pb-Cd

| Les jours | J7 | J14 | J21 | J28 | J35 | J42 | J49 |
|-----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|----------|
| Lot Pb | 11.2 ±1.2 | 11.1±0.9 | 10.5±0.5 | 10.8±0.6 | 11.2±1.2 | 10.8±1 | 9.7±0.7 |
| Lot Pb-Cd | 10.6±0.7 | 10.1±0.7 | 10.2*±0.7 | 10.1±1.1 | 9.7**±0.4 | 9.4*±0.9 | 8.2*±1.4 |

NS : Différence non significative (P> 0.05) ;* : P<0.05 ;** : P<0.01

Le tableau 15 ressemble l'évolution de l'hématocrite chez les 2 lots expérimentaux.

Au début d'exposition l'évolution du taux d'hématocrite est analogue chez les deux lots. Le test T Student a révélé une diminution très significative ($p < 0.01$) chez le lot Pb-Cd à J35 et J42 et hautement significative ($P < 0.001$) à J49. Celle notée chez le lot Pb la diminution est moins intense mais statistiquement non significative ($P > 0.05$) (Tableau 15).

Tableau 15: Variations moyennes du taux d'hématocrite(%) chez lot Pb et lot Pb-Cd.

| Les jours | J7 | J14 | J21 | J28 | J35 | J42 | J49 |
|-----------|----------|----------|---------|----------|------------|------------|-----------|
| Lot Pb | 37.8*±3 | 37±3.1 | 32 ±2.6 | 33.6±3.1 | 34.2 ±3.2 | 33±2.8 | 31±2 |
| Lot Pb-Cd | 32.6±3.2 | 35.4±4.3 | 34±3.8 | 32.2±9 | 29.8**±1.5 | 29.2**±1.5 | 27.8***±1 |

NS : Différence non significative ($P > 0.05$) ; * : $P < 0.05$; ** : $P < 0.01$; *** : $P < 0.001$.

2.3. Paramètres biochimiques : Les valeurs moyennes et écart-types de ces paramètres pour chaque lot sont rassemblés dans les tableaux (16) et (17) et illustrés dans les figures (11),(12),(13)et (14).

Le tableau (16) présente les variations moyennes des paramètres biochimiques (TGP, TGO, créatinine, protides totaux) chez les lot témoins et le lot plomb.

Nous constatons chez les témoins les valeurs des TGP, TGO, protéines totales, créatinine sont des valeurs physiologiques comparativement chez le lot plomb une augmentation non significative ($p > 0.05$) surtout les transaminases (TGP, TGO) au début d'exposition est notée Elles varient respectivement entre 17 et 26 UI/l ; 71 et 85 UI/l .Une élévation significative ($p < 0.05$) de TGP est constatée à J35 et J42, est très significative ($p < 0.01$) vers la fin d'exposition(J49).En revanche, la TGO a augmenté significativement ($P < 0.05$) vers la fin d'exposition (j49).Malgré l'augmentation des transaminases chez le lot Pb ; ces valeurs restent dans l'intervalle physiologique.

La créatinine et les protides totaux chez le lot témoins étaient de l'ordre de 10.6 mg/l et 68.5 g/l respectivement dans l'intervalle physiologique. Chez le lot traité au plomb les valeurs varient entre 9.4 et 10.4 mg/l pour la créatinine et de 67 et 72.4g/l pour les protides totaux. La

comparaison des moyennes a montré que ces valeurs sont proche à celles des témoins et aucune variations significative ($p>0.05$) n'a été révélée.

Tableau 16 : Variations des valeurs moyennes des paramètres biochimiques (moyenne± S.D) dans le lot témoin et le lot plomb.

| Lots | Témoins | Lot Plomb | | | | | | |
|--------------------------|-----------|-----------|----------|----------|----------|-----------|-----------|------------|
| | J0 | J7 | J14 | J21 | J28 | J35 | J42 | J49 |
| ALAT(TGP) (UI/l) | 15.6 ±1.1 | 17.4±1.8 | 18.4±1.5 | 19.6±1.8 | 20.2±2.4 | 21.8*±1.3 | 23.4*±1.1 | 26.2**±2.4 |
| ASAT(TGO) (UI/l) | 73.3±7.2 | 79±7.1 | 83.8±10 | 71.2±9.8 | 71.6 ±8 | 78.8±7.9 | 81.6±8.2 | 85.2*±7.6 |
| Créatinine (mg/l) | 10.6±0.4 | 10±0.7 | 9.8±1.5 | 10.4±1.1 | 10.2±1.3 | 9.8±1.6 | 9.8±1.8 | 9.4±1.3 |
| Protides totaux (g/l) | 68.4±2.5 | 67±2.1 | 67.4±2.7 | 70.6±3.7 | 72.4±2.5 | 69.8±4.1 | 69.8±3.9 | 69±4 |

NS : $P>0.05$, * : $P<0.05$, ** : $P<0.01$

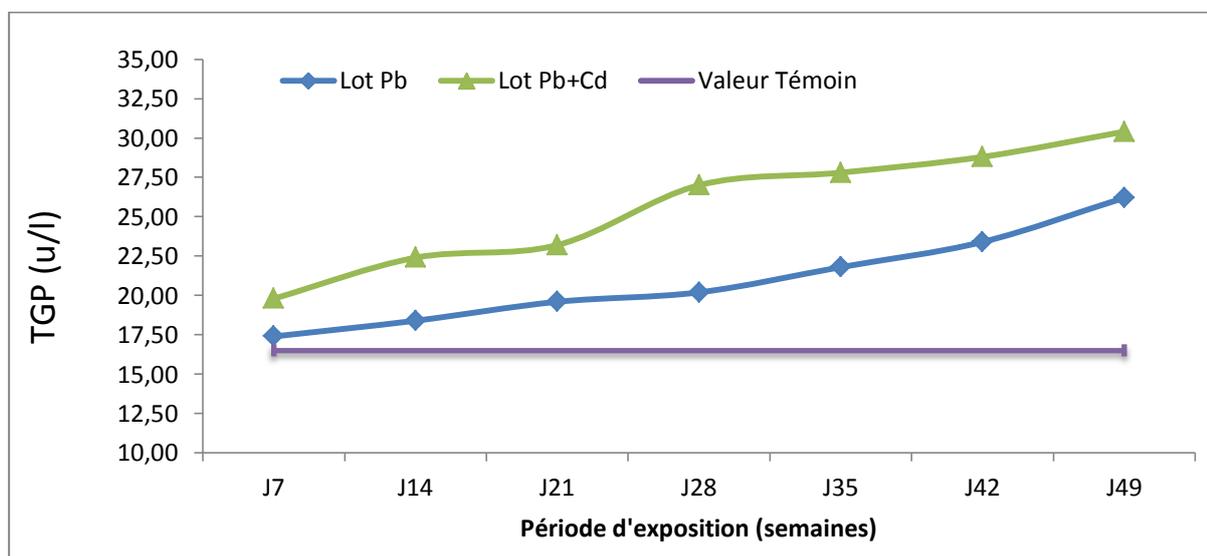
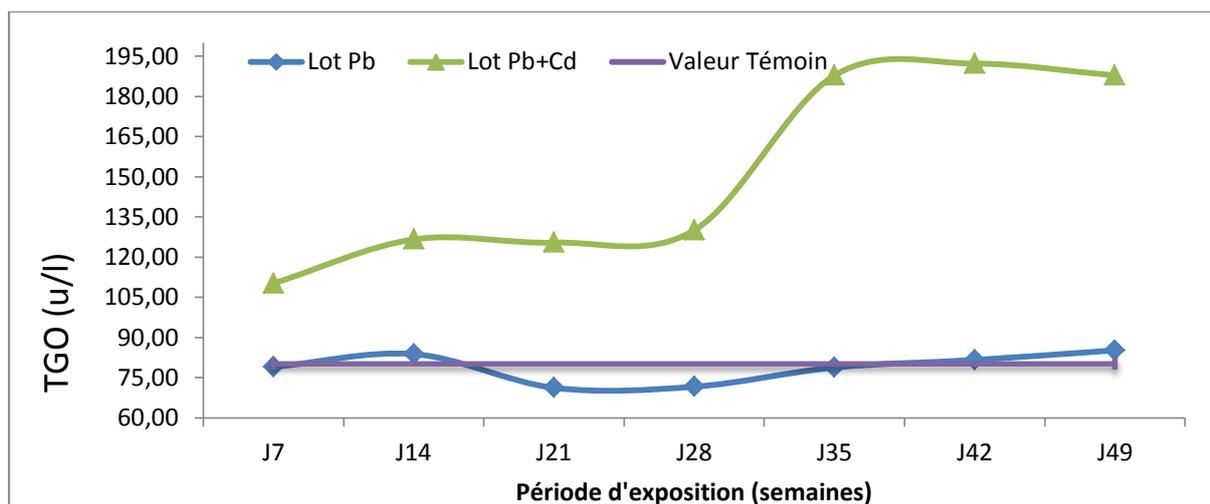


Figure 11: Evolution des TGP(ALAT) (UI/L) chez le lot Pb, Pb-Cd et les témoins.**Figure 12:** Evolution des TGO (ASAT) (UI/L) chez le lot Pb, Pb-Cd et les témoins.

Le tableau (17) rassemble les variations moyennes des paramètres biochimiques chez le lot témoin et le lot exposé au Plomb et au Cadmium.

Les valeurs chez les témoins pour l'ensemble des paramètres sont incluses dans l'intervalle physiologique ; Par contre chez le lot Pb-Cd nous remarquons une augmentation intense des enzymes hépatiques qui sont des indicateurs de l'intégrité fonctionnelle du foie.

Les teneurs en TGP sont comprises entre 19.8 et 30.4 UI/L, celles en TGO entre 110 et 192 UI/L. Une élévation de TGP est notée à partir de la 1^{ère} semaine pour atteindre une valeur maximale à J49. Le test T Student montre une différence significative ($p < 0.05$) à J14 puis une augmentation très significative ($p < 0.01$) dans les quatre dernières semaines d'exposition. Le taux des TGP sensiblement augmenté dès la 2^{ème} semaine d'exposition pour atteindre un taux maximal à J49 (**Figure 11**).

L'évolution du taux des TGO pour le lot Pb est stable et comparable à ceux relevés chez les témoins. En revanche pour le lot Pb-Cd une nette élévation de ce taux dès la 1^{ère} semaine pour devenir plus intense dès la 4^{ème} semaine (**Figure 12**).

Les valeurs moyennes des TGO au cours des 3 dernières semaines d'exposition sont de l'ordre de 187 et 192 UI/L et supérieures à celles des témoins. Le test T montre une augmentation significative ($P < 0.05$) pendant les deux premières semaines d'exposition.

Pour la créatinine et les protides totaux, les valeurs respectivement c'est entre 9.8 et 8.8mg /l et 61.4 et 69.6g /l .Les teneurs moyennes en Créatinine dans le sang sont très variables. Nous notons une diminution très significative ($p<0.01$) de la créatinémie comparativement au lot témoin à J14, à partir de J21 la différence est significative ($p<0.05$). (**Figure 13**).

Le taux des protides totaux sont de 71g/l pour les témoins, et de 61 et 69g/l pour le lot Pb-Cd. Nous constatons une diminution très significative ($p<0.01$) dans la 1^{ère} semaine puis devient significative ($p<0.05$) à J14. ;à partir de la 3^{ème} semaine d'exposition nous notons une augmentation légère des valeurs qui sont voisines au témoins. (**Figure 14**).Malgré cette diminution les valeurs restent dans l'intervalle physiologique.

Tableau 17: valeurs moyennes des paramètres biochimiques (moyenne± S.D) dans le lot témoin et le lot Plomb-Cadmium.

| Lots | Témoins | Lot Plomb-Cadmium | | | | | | |
|--------------------------|-----------|-------------------|-----------|------------|----------|------------|-------------|-------------|
| | Jo | J7 | J14 | J21 | J28 | J35 | J42 | J49 |
| ALAT(TGP) (UI/l) | 15.3±0.9 | 19.8±4 | 22.4*±3.4 | 23.2±4.4 | 27**±4.2 | 27.8**±1.9 | 28.8**±3.7 | 30.4**±3.2 |
| ASAT (TGO) (UI/l) | 83.2±5.3 | 110*±25.8 | 126.6*±43 | 125.4±60.7 | 130±62.3 | 187.8±114 | 192.2±110.5 | 187.8±102.7 |
| Créatinine (mg/l) | 11.05±0.6 | 9.8± 0.8 | 8.8**±1.1 | 9.6* ±1.9 | 9*±2.1 | 9*±2.4 | 9.2*±1.9 | 9.4±2.8 |
| Protides totaux (g/l) | 71.8±2.5 | 61.4**±1.8 | 62*±2.7 | 66.4±5.7 | 66.6±2.6 | 67.6±7.3 | 67±7.4 | 69.6 ±5.7 |

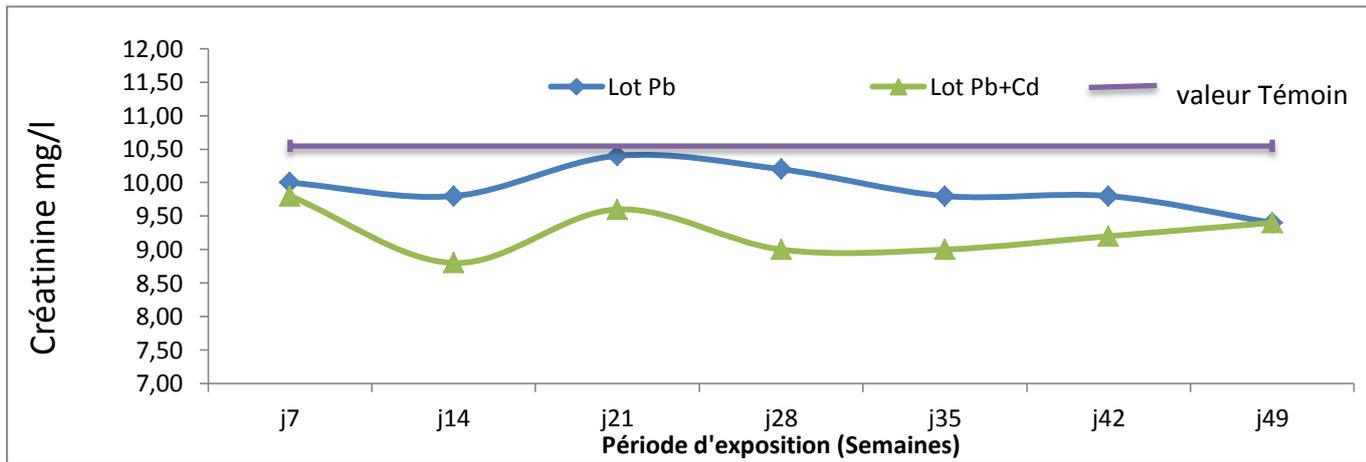


Figure13 : Evolution de la créatinine (mg/l) chez le lot Pb, Pb-cd et les témoins.

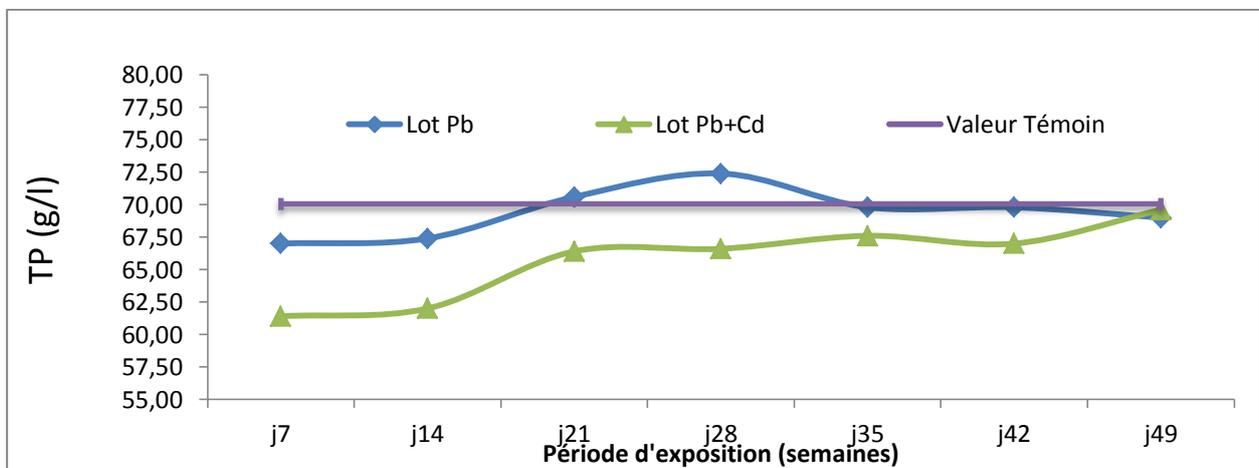


Figure 14 : Evolution des protides totaux (g/l) chez le lot Pb, Pb-Cd et les témoins.

2.4. Zincémie et Cuprémie :

Les valeurs moyennes et écart-types de ces paramètres pour chaque lot sont rassemblés dans les tableaux (18) et (19) et illustrés dans les figures (15) et (16).

Le tableau (18) regroupe les valeurs moyennes des zincémies ($\mu\text{g}/100\text{ml}$) chez le lot Pb et lot Pb-Cd et les témoins.

La zincémie moyenne des témoins sont de l'ordre de 77 et $78\mu\text{g}/100\text{ml}$ sont comprises dans l'intervalle physiologique (**$70\text{-}120\mu\text{g}/100\text{ml}$**). Au début d'exposition, les animaux traités au plomb et au plomb-cadmium ont présenté une zincémie normale dans les 4 semaines qui suivent l'exposition qui sont respectivement de l'ordre de 79 et $96\mu\text{g}/100\text{ml}$ pour le lot Pb et de 86 et $100\mu\text{g}/100\text{ml}$ pour le lot Pb-Cd. Ces valeurs restent dans l'intervalle physiologique, Par contre nous constatons que le taux de zinc plasmatique baisse nettement au bout de la 5^{ème} semaine pour atteindre une valeur de $44\mu\text{g}/100\text{ml}$ pour le lot Pb et $38\mu\text{g}/100\text{ml}$ pour le lot Pb-Cd respectivement et se maintenir à un niveau bas pendant le reste d'administration.

Le test T Student a révélé une diminution très significative ($p<0.01$) de la zincémie à J35 et J42 d'exposition chez le lot Pb mais hautement significative ($p<0.001$) pour le lot Pb-Cd, qui sont situés au-dessous des normes physiologiques.

Tableau 18: Valeurs moyennes des zincémies ($\mu\text{g}/100\text{ml}$) (moyenne \pm S.D) dans le lot Pb, Pb-Cd et les témoins.

| Lots | Zincémie ($\mu\text{g}/100\text{ml}$) | | | | | | | |
|-----------|---|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|-------------------|--------------------|-----|
| | J0 | J7 | J14 | J21 | J28 | J35 | J42 | J49 |
| Lot Pb | 77.4 \pm 18.1 | 96.8 \pm 5 | 92.2 \pm 8.2 | 79.8 \pm 27.9 | 90.6 \pm 15.3 | 44.3*** \pm 4.1 | 28.6*** \pm 17.2 | - |
| Lot Pb-Cd | 78.3 \pm 3.1 | 91.2 \pm 10.9 | 91.1* \pm 7.3 | 86.3 \pm 11.6 | 100.7 \pm 31.3 | 38.5*** \pm 8.5 | 19.1*** \pm 1.3 | - |

NS : non significative ($p>0.05$) ; * : Significative ($p<0.05$) ; **Très significative ($p<0.01$) ; *** hautement significative ($p<0.001$).

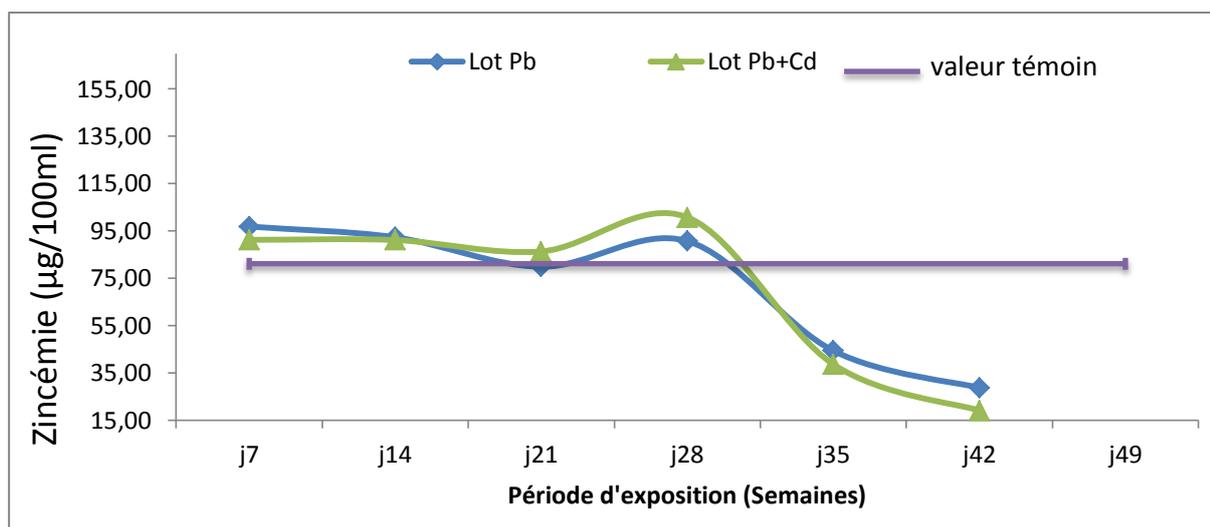


Figure 15 : Evolution de la zincémie ($\mu\text{g}/100\text{ml}$) chez le lot Pb, Pb-Cd et les témoins.

Le tableau 19 indique les valeurs moyennes de la cuprémie ($\mu\text{g}/100\text{ml}$) chez le lot Pb, Pb-Cd et les témoins.

A partir des résultats obtenus les cuprémies moyennes des témoins sont entre 80 et 82 $\mu\text{g}/100\text{ml}$ généralement sont comprises dans les normes physiologiques (70-120 $\mu\text{g}/100\text{ml}$). Pour le lot Pb les cuprémies moyennes varient entre 46.3 et 95.7 $\mu\text{g}/100\text{ml}$. Nous constatons que le taux du cuivre plasmatique baisse à partir de la 5^{ème} semaine d'exposition pour atteindre une valeur inférieure aux normes physiologiques qui est 58 $\mu\text{g}/100\text{ml}$.

L'étude statistique a révélé une diminution significative ($p < 0.05$) de la cuprémie du lot plomb à J21 comparativement à celle des témoins et une diminution non significative ($p > 0.05$) à J35. Par contre ; entre J42 et la fin nous notons une diminution très significative ($p < 0.01$) de la cuprémie.

Chez le lot traité par le plomb et le cadmium nous constatons une légère diminution de la cuprémie au bout de la 1^{ère} semaine (64.71 $\mu\text{g}/100\text{ml}$) cette valeur est inférieure à la limite de carence puis on note une augmentation des valeurs à partir de J14 et reste dans les normes physiologiques pendant 3 semaines. Une diminution très importante de la cuprémie à partir de J35 jusqu'à la fin d'exposition et les valeurs sont inférieures à la limite de carence.

Tableau 19: Valeurs moyennes des Cuprémies ($\mu\text{g}/100\text{ml}$) (moyenne \pm S.D) dans le lot Pb, Pb-Cd et les témoins.

| Lots | Témoins | Cuprémie ($\mu\text{g}/100\text{ml}$) | | | | | | |
|-----------|-----------------|---|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-------------------|-------------------|
| | J0 (témoins) | J7 | J14 | J21 | J28 | J35 | J42 | J49 |
| Lot Pb | 80.5 \pm 19 | 91.6 \pm 21.1 | 95.7 \pm 25.6 | 78.8 \pm 11.2 | 71.7 \pm 9.8 | 58.9 \pm 9.4 | 52.4** \pm 7.3 | 46.4** \pm 16 |
| Lot Pb-Cd | 82.4 \pm 11 | 64.7 \pm 6.8 | 80.9 \pm 30.5 | 73.8 \pm 2.9 | 77.1 \pm 32.2 | 41.8 \pm 11.2 | 47.3*** \pm 6.1 | 44.8*** \pm 4.6 |

NS : Non Significative ($p>0.05$) ; * Significative ($p<0.05$) ; **Très Significative ($p<0.01$) ; *** Hautement Significative ($p<0.001$).

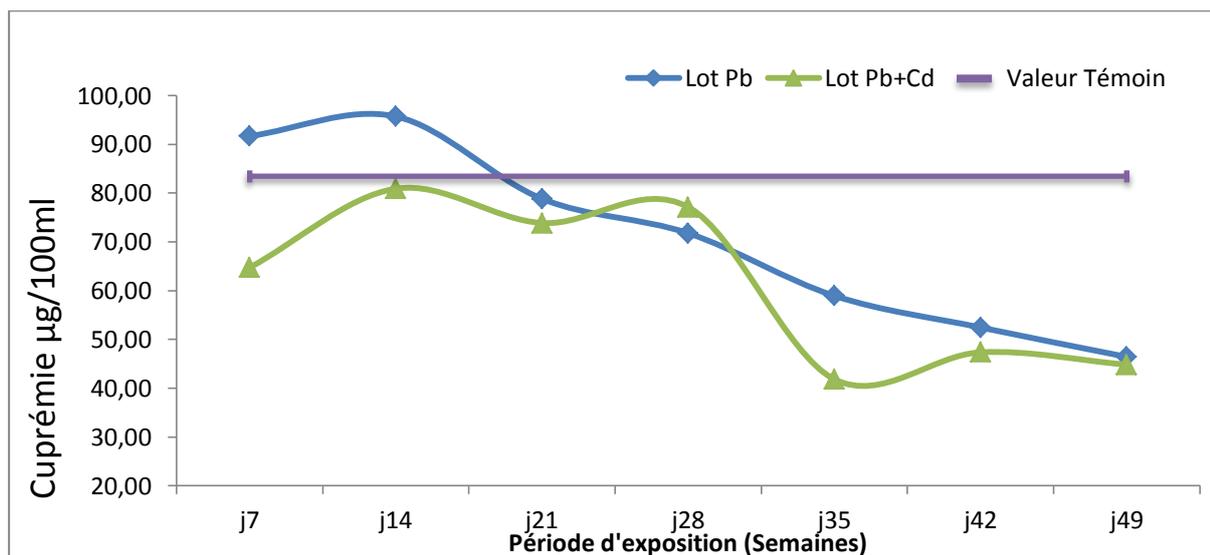


Figure 16 : Evolution de la cuprémie ($\mu\text{g}/100\text{ml}$) chez le lot Pb, Pb-Cd et les témoins.

3. Dans la laine

Les variations des teneurs en zinc et en cuivre dans la laine des brebis témoins et des brebis exposées aux Pb et /ou au Pb-Cd sont rassemblées dans les tableaux (20) et (21) et illustrées dans les figures (17), (18).

3.1. Teneur en zinc dans la laine des brebis

Le tableau (20) représente les teneurs moyennes en zinc chez les 2 lots expérimentaux et les témoins.

Au regard des résultats, les valeurs moyennes des témoins sont comprises dans les normes physiologiques est d'ordre 153 et 96ppm. Pendant la durée d'exposition, nous constatons un abaissement léger en zinc chez le lot Pb de 153 à 93ppm. A contraire une nette diminution chez le lot Pb-Cd est observée de 96 à 49ppm, cette dernière représente une indication de carence. Malgré cette diminution, l'analyse statistique par le test T Student n'a pas révélé de différence significative, liée aux très grandes variations d'un individu à l'autre comme le montre les grandes valeurs des écart-types correspondants.

Tableau 20 : Valeurs moyennes en zinc (ppm) dans la laine chez le lot Pb, Pb-Cd et les témoins.

| Lots | Témoins | Zinc de la laine (ppm) | |
|-----------|---------|------------------------|----|
| | J0 | J49 | |
| Lot Pb | 153 ±42 | 93±15.9 | NS |
| Lot Pb-Cd | 96±50.3 | 49±23.2 | NS |

NS : Non significative (P<0.05).

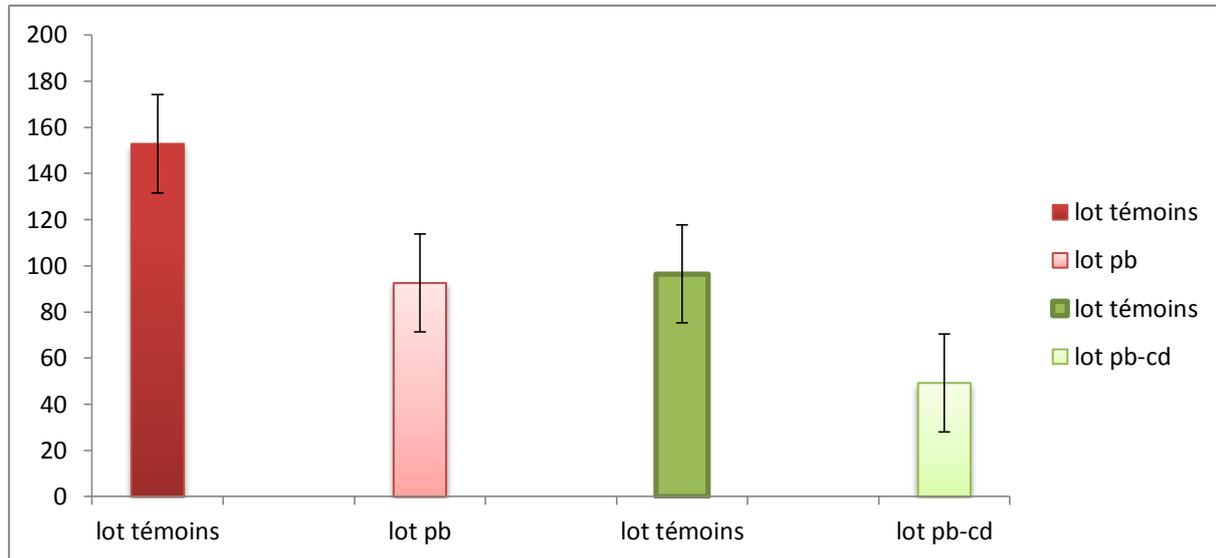


Figure 17: Teneurs moyennes en zinc dans la laine (ppm) chez les deux lots expérimentaux (lot plomb, lot plomb –cadmium) et les témoins.

3.2. Teneur en cuivre dans la laine des brebis :

Le tableau (21) regroupe les teneurs moyennes en cuivre dans la laine chez les lots Pb et Pb-Cd et les témoins.

Les teneurs moyennes en cuivre dans la laine des témoins sont d'ordre 5 et 4ppm légèrement inférieure aux valeurs physiologiques. Pour le lot Pb et Pb-Cd elles sont respectivement 4.2 et 3.2ppm, seule la diminution de la teneur en Cu pour le lot Pb-Cd est statistiquement significative ($p < 0.05$).

Enfin nous concluons que les teneurs en cuivre dans la laine chez les animaux exposés aux traitements et celles des témoins sont des valeurs inférieures aux valeurs physiologiques.

Tableau 21 : Valeurs moyennes en cuivre (ppm) dans la laine chez le lot Pb et Pb-Cd et les témoins.

| Lots | Témoins | Cuivre de la laine (ppm) | |
|-----------|---------|--------------------------|----|
| | J0 | J49 | |
| Lot Pb | 5±0.5 | 4.2±0.5 | NS |
| Lot Pb-Cd | 4±0.8 | 3.2*±0.9 | |

* : Significative (p<0.05).

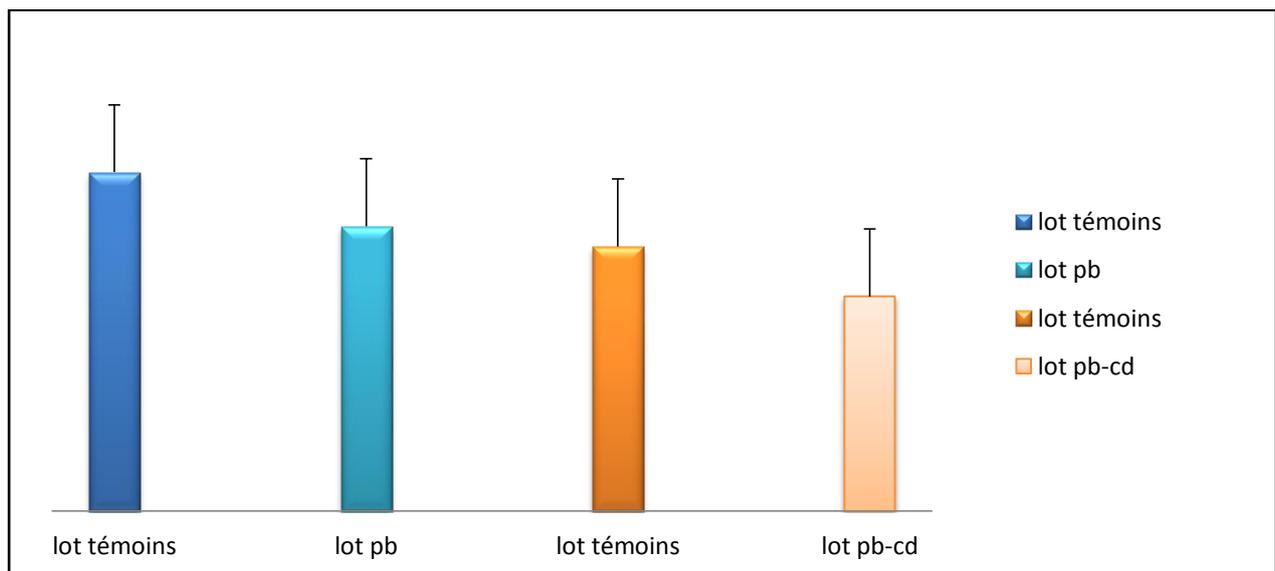


Figure 18 : Teneurs moyennes en cuivre dans la laine (ppm) chez les deux lots expérimentaux (Pb et Pb-Cd) et les témoins.

4. Etude des corrélations

Afin d'établir des liaisons deux à deux entre les différents paramètres sanguins, les coefficients de corrélations ont été calculés.

Tableau 22. Matrice de corrélation.

Corrélations significatives marquées à $p < 0.05$. Avec p : probabilité corrélation (ddl=12 ; r théorique : 0.532).

| | Pbémie | CREA | TGO | TGP | TP | Hb | Ht | Zincémie | Cuprémie |
|----------|---------------|---------------------------------|---------------|---------------------------------|---------------|--------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|----------|
| Pbémie | 1 | | | | | | | | |
| CREA | 0.294 | 1 | | | | | | | |
| TGO | -0.356 | -0.923 P=0.003 | 1 | | | | | | |
| TGP | -0.092 | -0.652 | 0.389 | 1 | | | | | |
| TP | 0.388 | 0.437 | -0.692 | 0.238 | 1 | | | | |
| Hb | 0.521 | 0.333 | -0.143 | -0.762 P=0.04 | -0.275 | 1 | | | |
| Ht | 0.116 | 0.109 | 0.143 | 0.803 P=0.03 | 0.641 | 0.844 p=0.017 | 1 | | |
| Zincémie | -0.76 | 0.471 | -0.281 | -0.925 P=0.008 | -0.219 | 0.131 | 0.516 | 1 | |
| Cuprémie | -0.190 | 0.514 | -0.231 | -0.955 P=0.001 | -0.422 | 0.604 | 0.789 p=0.03 | 0.900 p=0.015 | 1 |

D'après les résultats obtenus, les corrélations observées entre les paramètres sanguins montrent des corrélations significatives marquées à $p < 0.05$ entre :

TGO et Créatinine ($r = -0.923$, $p = 0.003$)** .corrélation très forte et très significative.

Hémoglobine et TGP ($r = -0.762$, $p = 0.04$)*corrélation significative.

Hématocrite et TGP ($r = 0.803$, $p = 0.03$)* corrélation forte et significative.

Zincémie et TGP ($r = -0.925$, $p = 0.008$) corrélation très forte et très significative.**

Cuprémie et TGP ($r = -0.955$, $p = 0.001$) * corrélation très forte et hautement significative.**

Hématocrite et hémoglobine($r = 0.844$, $p = 0.02$)*.corrélation forte et significative.

Cuprémie et hématocrite($r = 0.789$, $p = 0.03$)*.corrélation moins forte et significative.

Cuprémie et Zincémie ($r = 0.900$, $p = 0.01$)*corrélation forte et très significative.

n

II. Discussion

1. Du protocole expérimental

Ce protocole expérimental a été réalisé afin d'étudier les incidences néfastes des métaux toxiques particulièrement le plomb et le cadmium et leurs conséquences sur la santé animale, car ces deux métaux toxiques cumulatifs ont des activités toxicologiques sur plusieurs organes, systèmes et fonctions (l'activité hépatique, l'intégrité rénale, système nerveux, et sur l'activité hématologique y compris la synthèse de l'hémoglobine...) et des interactions avec les oligo-éléments tels que le cuivre et le zinc.

Les ruminants organismes bio-accumulateurs de ces éléments toxiques sont souvent utilisés comme espèces sentinelles de la contamination métallique et sont les espèces les plus touchées par les intoxications en particulier par le plomb.

Dans cette étude, les brebis de la race Ouled-Djellal sont choisies comme modèle animal, et qui sont largement appréciées par les consommateurs qui se trouvent ainsi exposés. La brebis est un animal facile à manipuler, moins onéreux que la vache. Les résultats ne sont pas directement transposables à l'ensemble des ruminants, mais ils présentent un double intérêt, car d'une part les denrées alimentaires d'origine ovine constituent une part non négligeable de la ration alimentaire, notamment dans les pays méditerranéens, d'autre part les études réalisées chez la brebis sont une étape préliminaire intéressante pour des études réalisées chez les bovins **Mehennaoui,(1995)**. Le choix de l'effectif a été conditionné par le nombre de dosages à effectuer et le cout prohibitif des animaux sur le marché à bestiaux.

Afin de cerner plus exactement l'activité de ces métaux lourds (Plomb, et Cadmium) et leurs conséquences sur les fonctions hématologiques, biochimiques, ainsi que ces métaux sont susceptibles de présenter comme interactions métaboliques entre eux et avec des éléments essentiels de la ration, nous avons réalisé l'analyse de l'apport alimentaire en éléments minéraux et en éléments toxiques avec un grand nombre des prélèvements biologiques particulièrement le sang qui est un bon témoin immédiat et confirmatif d'une ingestion d'un élément toxique ou au contraire un indicateur de carence.

La laine comme prélèvement biologique présente l'avantage d'une conservation exceptionnelle ce qui permet de disposer d'information sur le statut minéral (un stock des oligo-éléments) ou toxicologique et diagnostiquer donc une éventuelle intoxication ou carence (**Goullé et al.,1996**).

Le foie et les reins représentent les organes cibles de bioaccumulation des éléments traces métalliques, et sont de ce fait une source non négligeable d'apport exogène d'origine alimentaire d'où l'intérêt d'effectuer des analyses biochimiques pour explorer l'intégrité hépatique et la fonction d'épuration rénale.

L'évaluation du risque passe donc nécessairement par la mesure de l'exposition et ses conséquences métaboliques après que le sujet ait ingéré des doses infratoxiques mais cumulatives qui simulent le niveau de contaminations des fourrages destinés aux animaux.

Les doses administrées ont été choisies pour atteindre les objectifs suivants :

- Se rapprocher des niveaux de contamination des fourrages dans des zones polluées .
- Ne pas entraîner d'intoxication clinique .
- Donner des concentrations en plomb et en cadmium dans le sang quantifiables et détectables.

2. Ration alimentaire.

2.1. Teneurs en métaux toxiques

D'après les résultats obtenus nous notons que les quantités de Plomb et de Cadmium apportées par l'alimentation des animaux sont très faibles et négligeables par rapport aux posologies administrées et correspondent aux teneurs habituellement retrouvées dans une alimentation non contaminée qui sont généralement inférieure à 1mg/kg de MS dans des régions non contaminées (**Mehennaoui *et al.*, 1988; Underwood et Suttle, 1999**).

D'après **Logonathan *et al.*, (1995); Wilkinson *et al.*, (2001)**, la concentration en cadmium dans l'alimentation des animaux sont généralement des concentrations autorisées. En revanche, les concentrations en cadmium augmentent lorsque ce dernier est employé dans leur production.

Les aliments destinés aux moutons (foin et concentré) ne sont pas contaminés par le plomb et cadmium et donc ne contribuent pas d'une façon substantielle à la posologie définie (administration orale répétée pendant 7 semaines de plomb et de cadmium sous forme de sel dans des gélules).

Selon **Milhaud et Mehennaoui (1988)**, le niveau de contamination des fourrages au voisinage d'une fonderie de Pb peut atteindre des concentrations de 455 ± 93 mg/kg alors qu'il est inférieur à

1mg/kg dans un fourrage non contaminé. Il est fréquent d'observer des niveaux de pollution plus faibles de l'ordre de 50 à 100 mg/kg (**Leita et al., 1991**), ce qui correspond à des posologies de 1.6-3.2 mg/kg/j pour deux kg de fourrage ingérés quotidiennement.

Les doses tolérables en Cd et en Pb dans l'alimentation sont de l'ordre de 0.5mg/Kg et 30mg/kg respectivement chez les animaux domestiques (**Liu, 2003**).

Ces métaux sont susceptibles de présenter des interactions métaboliques entre eux et avec les autres éléments minéraux de la ration (**Rothe et al., 1982; Reedy et al., 1987**) ; c'est la raison pour laquelle nous avons réalisés des analyses de la ration.

2.2. Teneurs en éléments minéraux :

La détermination des teneurs minérales des aliments est plus importante car elle peut révéler des insuffisances en oligo-éléments chez l'animal (**Grace et Clark, 1991**).

Les valeurs obtenues en Cu et en Zn dans le foin sont de l'ordre de 4.7 ppm et 19 ppm respectivement ; elles sont inférieures à celles obtenues par **Mallam (2006)**, pour le même type d'aliment pour le Cu (6-8 ppm) et (24-25ppm) pour le Zn mais des zones géographiques différentes.

L'analyse de l'aliment concentré a révélé des teneurs moyennes en Cu et en Zn de l'ordre de 5.3 ppm et 25ppm respectivement ; il est constitué d'orge et de maïs avec une teneur très faible en son qui est d'ordre de 2.6ppm pour le Cu et plus élevé pour le Zn qui est de 51ppm.

Nos valeurs cuprique sont plus proches à celles retrouvées par **Mallam (2006)**, (4.3-5.5 ppm); **Osman et al.,(2003)**,(4.5ppm). Ces résultats restent au-dessous des valeurs bibliographiques rapportées par **Blood et Henderson(1976)**, (11 mg/Kg Ms) et au-dessous de la limite de carence qui est égale à 7ppm chez tous les ruminants (**Lamand,1973**).

Le zinc est connu par son effet antagoniste vis à vis du cuivre. Ainsi de hauts niveaux de zinc apportés par la ration interfèrent avec l'absorption du cuivre et son stockage hépatique.

Les teneurs en zinc dans l'aliment consommé par les animaux doivent être mesurées car dans le cas d'une carence en cuivre par exemple, elle peut être secondaire et due à un excès d'éléments antagonistes tels que le zinc.

Les concentrations en zinc trouvées dans l'aliment concentré sont dans la fourchette des valeurs courantes (25-50 mg/Kg Ms) selon **Coïc et Coppenet (1989)** ; **Mallam (2006)** (26-31.7ppm), mais restent faibles pour le foin de l'ordre de 19ppm.

La valeur moyenne du zinc est aussi au-dessous de la limite de carence pour les animaux estimées à 45 mg /Kg Ms indiquée par (**Lamand,1978a**).

Le foin et l'aliment concentré ont présenté les teneurs en Fe les plus élevées 106mg/kg de Ms et 73mg/kg de Ms respectivement, elles sont supérieures à celles déterminées par **Mehennaoui (1995)**, (58 mg/Kg de Ms et 39 mg/Kg de Ms) respectivement, mais inférieures à celles obtenues par **Djaalab (2010)**, respectivement 157 et 87 mg/Kg de Ms, la nature du sol différente suggère cette différence de concentration.

La teneur en Ca obtenue pour l'aliment concentré était de l'ordre de 3.6g/Kg de Ms supérieure à celles rapportées par **Jarrige (1988)**;**Rekik et al.,(2010)**, 0.7.g/kg de Ms pour les deux auteurs ; est proche avec celles obtenues par **Abbeddou et al., (2010)**, (4.8g/kg Ms).

Le foin présente des teneurs basses en Ca (0.5 g/kg Ms). Nos résultats sont proches de celles rapportées par **Jarrige (1988)**;**Laabassi (2006)**, soit respectivement une teneur de 1g/kg Ms et 0.52g/kg Ms.

3. Dans le sang

3.1. La plombémie :

Le meilleur indicateur de l'exposition au plomb est la plombémie. À l'état d'équilibre, c'est aussi un bon indicateur de la dose interne du métal. En pratique, la plombémie est l'indicateur de référence pour mettre en évidence une contamination par le plomb (**Garnier, 2005**).

C'est le paramètre qui a le plus varié tout au long de l'expérimentation. La mesure des concentrations de plomb ayant un caractère cumulatif permet de caractériser le danger.

La plombémie est le paramètre d'exposition fréquemment déterminé chez les animaux. Leur présence dans l'organisme animal entraîne des modifications hématologiques et biochimiques. Il s'agit donc de révéler quels sont les paramètres les plus sensibles et les plus démonstratifs rendant compte d'une exposition réitérée à une pollution mixte par le Plomb et le Cadmium.

Les concentrations sanguines en Pb relevées chez les témoins sont inférieures ou égales à la limite de détection de la méthode analytique mise en œuvre ($\leq 4\mu\text{g/l}$). La limite de détection qui

correspond à la plus petite quantité d'analyte pouvant être détectée dans un échantillon mais pas nécessairement quantifiée comme une valeur exacte. Elle est considérée comme égale à 3 fois l'écart-type des mesures à blanc ou 3 fois le rapport signal/ bruit.

La limite de quantification exprime la plus petite concentration (ou masse) d'analyte qui peut être déterminée quantitativement avec une incertitude acceptable. Elle correspond à 4 fois la limite de détection.

Bires *et al.*, (1991), ont trouvés des plombémies légèrement plus élevées chez des ovins témoins, respectivement 21 et 6 $\mu\text{g/l}$. Ces valeurs sont nettement inférieures à celles observées chez les bovins non exposés : 34 $\mu\text{g/l}$ (**Milhaud *et al.*, 1978**).

On peut remarquer que les données récentes présentent les teneurs en plomb dans le sang les plus faibles; Ceci est probablement lié à l'amélioration des techniques analytiques, et les méthodes récentes sont plus spécifiques que les anciennes méthodes. Les limites de détections du plomb dans le sang en utilisant une détermination directe, sans extraction préalable.

Les plombémies augmentent rapidement après le début de l'administration des sels métalliques pendant la première semaine pour atteindre une valeur maximale à J42 de l'ordre 304 $\mu\text{g/l}$ chez le lot Pb et 445 $\mu\text{g/l}$ pour le lot Pb-Cd.

Les plombémies individuelles moyennes présentent de grandes variations d'un animal à un autre chez le lot Pb et Pb-Cd et sont de l'ordre de (55-420 $\mu\text{g/l}$) et (80 -1025 $\mu\text{g/l}$) respectivement.

Aucun signe clinique d'intoxication n'a été observé ni chez le lot Pb; ni chez le lot traité au Pb-Cd qui présente des concentrations plus élevées comparativement au lot Pb.

Contrairement, d'après **Mehennaoui (1995)**, les plombémies moyennes chez le lot Pb-Cd sont plus faible comparativement au lot Pb, même observation chez **Nilson *et al.*, (1990)**, des constatations des plombémies chez les rats traités par le Pb-Cd étaient plus faibles que celles des rats traités au Pb seul; s'explique que le Cadmium modifie le devenir du Plomb dans l'organisme.

Nos résultats montrent que l'évolution des plombémies chez le lot Pb-Cd est plus élevée par rapport au lot Pb car le plateau est autour 445 $\mu\text{g/l}$ contre 304 $\mu\text{g/l}$.L'administration conjointe des deux sels métalliques suggère une biodisponibilité plus élevée pour le Plomb et donc une activité toxicologique plus importante.

Les concentrations maximales des plombémies sont supérieures au seuil critique pour lequel s'exprime le saturnisme ($350\mu\text{g/l}$) (**Jaime et al., 2012**), chez les ruminants, malgré cela nous n'avons pas observés des signes d'intoxication par le Plomb ; s'explique que les signes cliniques ne sont pas toujours en corrélation avec les plombémies (**Waldner et al., 2002**). Pour le plomb la posologie susceptible d'entraîner une intoxication chronique chez les ruminants est de l'ordre de $6\text{-}7\text{mg/kg/j}$; aucun effet n'est observé avec une posologie de 3 à 3.5mg/kg/j pendant 3 mois (**Mehennaoui,1995**).

La solubilité de sel dans l'eau qui détermine aussi partiellement la toxicité de ces différents composés du plomb (**Delphine,2001**). Le nitrate de plomb a une solubilité supérieure par rapport aux autres sels métalliques, ce qui explique une biodisponibilité plus élevés et donc des plombémies supérieures à celles observées par **Mehennaoui et al. (1997)**, lorsque des sels de chlorure de Pb ont été administrés à des brebis à des posologies (2.3mg/Kg/J) pendant 2 mois.

Les études réalisées chez les bovins avec des posologies de 2.4mg/kg/j (**Pinault et al., 1983**) et de 2.3mg/kg/j , (**Mehennaoui et al., 1997**), donnent des concentrations sanguines suffisamment élevées pour être quantifiables. De plus, les plombémies s'élèvent rapidement pour atteindre un plateau apparent au bout de 3 semaines.

Pour le cadmium, la posologie susceptible d'entraîner des manifestations cliniques est difficile à fixer avec précision chez les ovins. La toxicité de ce métal varie en fonction de la voie d'administration, de la forme chimique et de la durée d'exposition (**Craste, 1995; Andujar, 2010**).

Houpert et al.(1995), n'ont pas observé de manifestations toxiques avec une posologie de 2mg/kg pendant 21 jours de cadmium suivi de 1.5mg/kg pendant 19 jours.

3.2.Les paramètres hématologiques.

La détermination de la concentration en hémoglobine est d'un grand intérêt car elle reflète la capacité de l'érythron à transporter l'oxygène. C'est un élément primordial pour l'appréciation d'une anémie d'une façon fiable, car le plomb inhibe l'activité de nombreuses enzymes. Un point d'impact majeur se situe au niveau des enzymes de la biosynthèse de l'hème (**INSERM, 1999**).

Il bloque plusieurs enzymes nécessaires à la synthèse de l'hémoglobine. Ces effets sanguins aboutissent à une diminution du nombre des globules rouges et à une anémie. L'inhibition de la synthèse de l'hème est le principal mécanisme de l'anémie saturnine (**Garnier,2005**).

Pour le lot Pb et le lot Pb-Cd, le taux d'hémoglobine et d'hématocrite sont compris dans l'intervalle physiologique proposé par **Kramer (2000)**; **Al-Busadah (2004)**, pour les concentrations normales en hémoglobine et en hématocrite des ovins et qui sont situés entre 9 et 15 g/dl ; 27 et 45% respectivement.

Nos résultats sont similaires à ceux établis par **Miranda *et al.*(2006)**, qui ont déterminé les effets toxiques du plomb sur certains paramètres hématologiques et biochimiques chez les génisses. Nos résultats révèlent de légères diminutions en hémoglobine et en hématocrite mais ces valeurs restent dans les normes physiologiques.

-Par ailleurs, **Liu *et al.*, (2003)**, rapportent des valeurs en hémoglobine et en hématocrite plus basses chez les ovins intoxiqués par le Plomb, analogues à celles obtenues par **Berrahal *et al.*,(2007)**.

3.3. Les paramètres biochimiques

D'après **Mehennaoui,(1995)**, chez la brebis, des modifications biochimiques sans manifestations cliniques apparaissent avec des quantités ingérées de plomb comprises entre 0.3-3mg/kg/j. L'exposition au Pb et au Cd peut avoir une incidence nuisible sur les paramètres biochimiques (**Bires *et al.*,1995**). Parmi les incidences, la cytolyse hépatique est un signe d'intoxication aiguë par le plomb. Elle ne s'observe qu'après des contaminations massives (**Garnier, 2005**;**Berrahal *et al.*,2007**).

A partir des résultats obtenus nous remarquons une augmentation légère des transaminases chez le lot Pb mais reste dans l'intervalle physiologique ; cette élévation est plus importante et dépasse les normes physiologiques pour le lot Pb-Cd .Le Cadmium et le Plomb s'accumulent principalement dans le foie et les reins (**Lopez *et al.*, 2005**) et exercent leurs toxicités parce que leurs taux d'élimination dans ces organes est relativement bas, et partiellement dû à l'attache du cadmium au métallothionéines dans les tissus(**Garcia,1996**).

L'administration d'acétate de Plomb pendant 8 semaines chez le rat montre une augmentation significative des transaminases (TGO, TGP) qui s'explique par une hépatotoxicité (**Mehana *et al.*, 2012**) .

Le taux des protides totaux sont comparables à ceux établis chez les brebis par **Miranda(2006)**, et sont compris dans les normes physiologiques. Ceci suggère que la toxicité du Pb et/ou Cd n'est pas orienté vers la synthèse des protides totaux.

D'après **Shalan et al.,(2005)**, l'administration de plomb et /ou de cadmium chez le rat perturbe la synthèse des protéines plasmatiques, car ces métaux toxiques ont une affinité vers le groupe thiol des acides aminés(**Patra et al.,2001**) .

L'intégrité rénale est mise en évidence entre par la mesure de la créatinine dans le sang ; d'une façon générale, le rein est un organe cible des éléments traces métalliques. Notre étude sur l'intégrité rénale a montré que la dose choisie de Pb et de Cd n'entraîne pas une augmentation du taux de la créatininémie. L'ingestion répétée de sels de Pb et ou de Cd peut engendrer une néphrotoxicité ; cette activité toxicologique peut engendrer une néphrite avec pour conséquences une diminution de l'activité fonctionnelle du rein .Certains auteurs ont décrit une taux de créatinine dans le sang plus élevé chez des sujets intoxiqués par les métaux lourds (Pb et Cd) (**Guimarães et al., 2012**).

D'après **Hfaïedh et al.(2005)**,chez les rats intoxiqués ; on note une augmentation de créatininémie entre 10^{ème} et le 16^{ème} de traitement , ce qui témoigne de l'installation d'une insuffisance rénale, avec baisse de la filtration glomérulaire puisque l'intoxication par ces métaux toxiques induit un dysfonctionnement tubulaire ou une néphropathie tubulo-interstitielle, qui évolue vers une insuffisance rénale. En effet le rein est particulièrement sensible à l'action toxiques, en raison de son intense activité métabolique et de ses multiples fonctions, notamment celle d'excrétion .

Pour évaluer l'intégrité rénale nous avons les valeurs de la créatininémie qui sont des valeurs physiologiques chez les deux lots et nos résultats sont analogues à ceux obtenus par **Berrahal et al.(2007)**.

3.4. Cuprémie et Zincémie:

3.4.1.Cuprémies :

Le cuivre plasmatique est un bon témoin de l'ingestion par excès d'un élément toxique ou d'une carence. En plus est un bon reflet de l'état nutritionnel de l'animal.

Le taux de Cu dans le plasma est en relation avec les variations de la composition des fourrages (**Maach et al.,2000**).Avant d'exposition les valeurs de la cuprémie sont des valeurs physiologiques quoique l'analyse de l'aliment ont révélé des valeurs cupriques inférieures à la limite de carence qui sont rapportées par différentes sources bibliographiques (<7ppm).Ces valeurs plasmatiques sont en accord avec celles retrouvées par **Meziane (2001)**,

(62.42- 91.71 μ g/100ml) ; (**Zemoura et al.(2006)**, (61-84 μ g/100ml) ; **Mallam (2006)**(67.65-96.13 μ g/100ml).

Pendant l'exposition, nous constatons une nette diminution de la cuprémie chez le lot Pb et Pb-Cd qui est inférieure à la limite de carence. Chez les différentes catégories des ruminants, la plage de variation du cuivre plasmatique est relativement limitée pour des animaux non carencés **(0,8 à 1,5 mg/L)**.

Le foie représente l'organe central de l'homéostasie du cuivre chez les ruminants ; les fluctuations de la cuprémie sont régulées soit par stockage (sous forme de métallothionéines) soit par mobilisation des réserves hépatiques.

L'hypocuprémie explique que la concentration du cuivre sanguin dépend de la quantité du cuivre stocké dans le foie (**Shen et al., 2005**) ; et signifie un épuisement des réserves hépatiques due aux altérations de la fonction hépatique par ces métaux toxiques cumulatifs puisque le foie c'est l'un des organes cibles pour ces métaux toxiques.

D'autre part l'hypocuprémie est due à la diminution de la biodisponibilité et de résorption de cuivre liée à la présence de certaines substances qui interfèrent avec le cuivre et pouvant diminuer sa biodisponibilité (**Jankovsk,2012**).Ainsi que son passage dans la circulation sanguine (**Quiroz-Rocha et al., 2001**), certains minéraux en excès limitent l'absorption du cuivre comme le calcium, le soufre et le cadmium et molybdène, En raison de leur configuration électronique proche, le cadmium et le cuivre, le fer et surtout le zinc sont concurrents à l'égard des protéines de transport intestinal; l'excès de cadmium peut diminuer leur absorption et induire des carences **Lamand(1991)**.

3.4.2. Zincémie

Le dosage du zinc plasmatique est très couramment utilisé, et représente un indicateur précoce et sensible de la carence en zinc (**Lamand, 1991**). Des précautions sont à prendre lors du prélèvement. En effet, l'hémolyse invalide le résultat, la concentration en zinc dans les hématies étant 5 fois plus élevée que dans le plasma. De plus, les bouchons en caoutchouc (très riche en zinc) sont à proscrire pour la fermeture des tubes de prélèvement. Une situation infectieuse (ou de stress) entraîne une diminution de la zincémie sans relation avec le statut nutritionnel.

Les valeurs de la zincémie chez les témoins (Avant d'exposition) sont des valeurs physiologiques ; et la plage de variation normale d'animaux sains se situe entre **0,8 et 1,2 mg/L (Puls, 1994);Ewing et Charlton, 2005**), et il n'y a pas de différence notable entre les

espèces de ruminants. La limite de carence est établie à 0,6 mg/L, et celle de la toxicité à 3 mg/L (**Puls, 1994**).

L'analyse de la ration alimentaire montre des valeurs obtenues en zinc qui sont au-dessous de la limite de carence pour les animaux est estimée à 45 mg/Kg Ms (**Lamand, 1978a**); mais nous constatons des teneurs physiologiques en zincémie chez les témoins et sont en accord avec les valeurs établies par **Lamand(1986)**, (80 à 120µg /100ml). Pendant l'exposition sous l'effet des métaux toxiques nous notons une diminution de la zincémie chez ces animaux, et à partir de J35 une diminution très nette chez les deux lots et reste inférieure au limite de carence vers la fin d'exposition.

La diminution de la zincémie, s'explique par l'altération de la fonction hépatique sous l'effet des métaux toxiques. Cette observation nous permet de penser qu'il existe des interactions entre les sels métalliques et l'élément essentiel qui est le zinc; ces métaux exacerbent la toxicité de l'un ou l'autre élément par l'amorce d'une diminution de la teneur en zinc, élément essentiel à certaines réactions biochimiques endogènes chez l'animal.

Ces métaux toxiques en stimulant la synthèse de métallothionéine, qui freinent le transport du zinc de l'entérocyte vers le sang ; Alors que le zinc stimule l'expression des métallothionéines (MT) qui forment un complexe avec le cadmium, moins indisponible et moins toxique (**Lin et al., 1995**). D'autre part, il est possible de considérer que le zinc entre en compétition avec le cadmium au niveau du système de transport membranaire ce qui diminue l'accumulation cellulaire de cadmium.

4. Dans la laine :

Les phanères présentent l'avantage d'une conservation exceptionnelle ce qui permet de disposer d'information sur le statut minéral et ou toxicologique et diagnostiquer donc une éventuelle intoxication ou carence (**Goullé et Kintz, 1996**). L'évaluation des teneurs minérales de la laine est largement utilisée pour déterminer le degré d'exposition de l'animal aux différents contaminants de l'environnement (**Wilhelm, 1994 cité par Pereira et al., 2004**).

De notre part nous avons utilisé la laine pour évaluer le statut minéral (Cu et Zn) des brebis en complément des analyses de sang et des aliments des mêmes animaux. Les échantillons de laine avant d'être analysés sont lavés afin d'éliminer la partie contaminante d'origine exogène et de garder uniquement la fraction d'origine endogène ou encore dite réserves endogènes (**Katarzyna et al., 2009**).

4.1. Teneurs en cuivre dans la laine :

Les processus de la pigmentation et de la kératinisation de la laine semblent être les premiers affectés par une faible teneur cuprique (**Kulcu et Yur,2003**).

Nos résultats (avant et pendant d'exposition) sont inférieures à la limite de carence proposée par **Lamand (1978a)**, pour le cuivre dans les phanères située entre 8 et 15ppm. En effet le cuivre du poil ou de la laine est utilisé comme indicateur de statut cuprique de l'animal (**Underwood, 1977**).Et par la capacité du poil à accumuler les métaux durant de longues périodes (**Mallam,2006**),il permet de retracer l'histoire de l'exposition à la carence ou l'intoxication de l'animal (**Goullé et kintz, 1996 ; Katarzyna et al., 2009**), la plus faible teneur cuprique de la laine enregistrée pourrait être le témoin d'une hypocuprémie, le profil de consommation de l'animal tout au long de la période de pousse de la laine, surtout que l'analyse de la ration alimentaire a révélé une faible teneur en cuivre.

A partir des données rapportées dans le tableau (21), les teneurs cupriques de la laine lavée au Triton X 100 sont dans la marge des valeurs proposées par **Afri-Mehennaoui et al., (2001)**, (3.5-7.9 ppm);Elles sont inférieures à celles retrouvées par **Kadi(2002)**, (8.08-9.5 ppm);**Mallam(2006)**, (7.7-9.6ppm),**Bey et al. (2005)**, $(7.17 \pm 5.15\text{ppm})$; **Djaalab(2010)**, (6.9ppm) ; mais presque proche de celles rapportées par **Zemoura et al.(2006)** (4.96-5.89) ; alors que pour **Martin et al., (1991)**, les teneurs adéquates en cuivre dans la laine sont entre 2.8 et 10ppm. Nos résultats sont inférieurs à la limite de carence proposée par **Lamand, (1978 a)** pour le cuivre dans les phanères qui se situé entre 8 et 15 ppm.

4.2.Teneurs en zinc dans la laine :

L'intervalle physiologique proposé par **Lamand (1978a)**; **Katarzyna et al. (2009)**, pour le zinc dans les phanères se situe entre (120-200 ppm) et (98,5-189 ppm).Nos résultats des témoins (**96-153ppm**) sont comprises dans cet intervalle, mais pour le lot Pb la teneur est légèrement inférieure à la limite de carence qui est de l'ordre 96ppm, contrairement chez le lot Pb-Cd une nette diminution de zinc dans la laine (49ppm).

En revanche, ces teneurs chez les témoins est proches à celles qui rapportées par **Afri-Mehennaoui et al.(2001)**, (109-115ppm) ; et légèrement supérieures à celles retrouvées par **Kadi,(2002)**, (71,88-80,8ppm) ; **Zemoura et Athmani (2006)**, (77.53-94.2ppm) ; et proches de celles de **Mallam (2006)**, (89.32-105.28) ; mais sont supérieures aux nôtres résultats chez le lot

Pb-Cd. La chute de la laine observée en période d'exposition pourrait être un signe précurseur de cette carence en Zinc comme signalé par **Yakup *et al.*(1999)**.

La baisse du zinc de la laine des brebis est due à une carence en zinc dans l'alimentation (**Lamand,1978a**), ou bien due à d'autres facteurs comme les différents types d'interactions entre les éléments soit minéraux soit toxiques.

CONCLUSION

Au terme de notre étude est réalisée sur les brebis de la race Ouled-Djellal, nous avons déterminé les indicateurs d'exposition suite à une exposition réitérée au plomb et /ou au cadmium par la voie orale ; et les manifestations sub-cliniques comme conséquence de l'exposition, il ressort que :

- L'évolution de la plombémie chez le lot Plomb-Cadmium est plus élevée par rapport aux lot Plomb car le plateau est atteint au bout de trois semaines d'exposition autour de 450 µg/L contre 300 µg/L, l'administration conjointe des deux sels métalliques suggère une biodisponibilité plus élevée pour le plomb et donc une activité toxicologique plus importante.
- Il apparait que les données hématologiques restent dans les intervalles physiologiques en particulier le taux d'hémoglobine et le taux d'hématocrite pour l'ensemble des animaux malgré une diminution des valeurs.
- Les modifications biochimiques ont révélé les mêmes tendances particulièrement les transaminases (TGO, TGP) qui ont présenté des taux plus élevés chez le lot Pb-Cd traduisant par là une atteinte hépatique. En revanche les taux en créatinine dans le sang et en protéines totales restent dans les normes rapportées par la littérature.
- L'effet de l'administration répétée du Pb et /ou du Cd a engendré une diminution de la Zincémie et la Cuprémie dès la 5^{ème} semaine d'exposition illustrant les interactions entre éléments toxiques et élément essentiels.
- Les aliments destinés aux moutons (foin et concentré) ne sont pas contaminés par le plomb et cadmium et donc ne contribuent pas d'une façon substantielle à la posologie définie (administration orale répétée pendant 7 semaines de plomb et de cadmium sous forme de sel dans des gélules.
- La laine est bon indicateur biologique ; c'est un prélèvement qui est considéré comme examen complémentaire aux analyses sanguines ; Nos résultats sont inférieures aux normes physiologiques rapportées par différentes sources bibliographiques.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1. Abbeddou S. ; Riwahi S.;Iniguez L.; Zaklouta M.; Hess H.D. ; Kreuzer M.(2010).**
Ruminal degradability, digestibility, energy content, and influence on nitrogen turnover of various Mediterranean by-products in fat-tailed Awassi sheep.
Anim. Feed Sci. Technol.1-12.
- 2. Afri-Mehennaoui F.Z.; Kadi M.F.; Amri S.; Mehennaoui S.(2001).**
Significations biologiques des teneurs en plomb, cadmium, zinc et cuivre dans la laine de mouton de la race Ouled Djellel. Revue Sciences &Technologie 1 05,109-112.
- 3. Ahmed M.M.M. ;Hamed T.F.M. ; Barri M.E.S.(2001).**
Variation of zinc and copper concentration in the plasma of Nubian goats according to physiological state. Small Ruminants Research 39,189-193.
- 4. Al-Busadah K.(2004).**
Blood and his function in camel.
Science and Technology, **70** : 24-28.
- 5. Alloway B.J. (1995).**
Heavy metals in soils .Blackie .Assemblée National, N° 261 Sénat.365p.
- 6. Alloway B.J.; Ayres D.C. (1997).**
Chemical Principles of Environmental Pollution.Blackie Academic and Professional, an imprint of Chapman and Hall, London, 394 pp. N.V. d'Alfort Paris 141p.
- 7. Andujar P.; Bensefa-Colas L.; Descatha A.(2010).**
Intoxication aiguë et chronique au cadmium. *Acute and chronic cadmium poisoning.*
La Revue de médecine interne 31 (2010) 107–115.
- 8. Arab H. (2006).**
Evaluation de la valeur nutritive des principaux fourrages des zones arides et semi-arides.
Mémoire de Magister en sciences vétérinaire .Batna. p103.

9. Baize D. (1997).

Teneurs totales en éléments traces métalliques dans les sols (France). Références et stratégies d'interprétations. INRA Éditions, Paris, 409 p.

10. Benito V.; Devesa V.; Munoz O.; Suner M.A.; Montoro R.; Baos R.; Hiraldo F.; Ferrer M.; Fernandez M.; Gonzalez M.J.(1999).

Trace elements in blood collected from birds feeding in the area around Donana National Park affected by the toxic spill from the Aznalcollar mine.

Science of The Total Environment, 242(1-3): 309-323.

11. Benleulmi A.(1987) .

Etude comparative des protoporphyrinémies mesurées par HPLC et avec un hématofluorimètre chez les bovins exposés au plomb : application au dépistage du saturnisme.

Thèse de doctorat vétérinaire, Université de Nantes, 77p.

12. Berrahal A.A.; Nehdi A. ; Hajjaji N. ; Gharbi N. ; El-Fazâa S.(2007).

Antioxidant enzymes activities and bilirubin level in adult rat treated with lead. C. R.

Biologies 330 (2007) 581–588.

13. Bey D. ; Laloui S. (2005).

Teneurs en cuivre dans les poils et l'alimentation des chèvres dans la région d'El-Kantara.

Mémoire de docteur vétérinaire. Université de Batna. p59

14. Biney Ch. ; Amazu A.T.; Calamari D.; Kaba N.; Mbome I.L.; Naeve H.; Chumba O.; Osibanjo O.; Radegonde V.; Massad A.H.S. (1991).

Etude des métaux lourds présents dans l'environnement aquatique africain. Rapport de la troisième session du groupe de travail sur la pollution et les pêches Accra, Ghana, 25-29, novembre 1991.

15. Bires J.; Dianovsky J.; Bartko P.; Juhasova Z.(1995).

Effects on enzymes and the genetic apparatus of sheep after administration of samples from industrial emissions.

Bio-Metals 1995; 8:53-58.

16. Bires J. ; Kovac G. ; Vrzuile L. (1991).

Mineral profile and serum in experimental copper intoxication of sheep from industrial emissions. Vet. Hum. Toxicol., 33(5), 431-435.

17. Blood D.C.; Henderson J.A.(1976).

Médecine Vétérinaire, 2ème édition. Vigot Frères Editeurs, Paris, 1077 P.

18. Boulkrah H. (2008).

Etude comparative de l'adsorption des ions plomb sur différents adsorbants. p140.

Mémoire de Magister. Université de Skikda 140P.

19. Burgat-Sacaze V. ; Craste L. ; Guerre P. (1996).

Le cadmium dans les chaînes alimentaires.

Rev. Méd. Vét.147 (10),671-680.

20. Callender E. (2003).

Heavy Metals in the Environment-Historical Trends.In: B.S., Environmental Geochemistry. Treatise on Geochemistry. Elsevier-Pergamon, Oxford, pp. 67-105.Centre Régional de Documentation Pédagogique D'Aquitaine, 150p.

21. Chiffolleau J.F.; Claisse D.; Cossa D.; Ficht A.; Ganzalez J.L. ; Guyot T. ; Michel P. ; Miramand P. ; Oger C. ; Petit F. (2001).

La contamination métallique, Ifremer, 39p.

22. Coïc, Y. ; Coppenet M. (1989).

Les oligo-éléments en agriculture et élevage incidence sur la nutrition humaine.

Ed. INRA. Paris, 114 P.

23. Couzy F.(1988).

Les oligo-éléments en nutrition , rapport d'un comité d'experts de L'OMS,532,1988

24. Craste L. (1995).

Les cervidés sauvages bio-indicateurs de pollution par le cadmium : Etude bibliographique.

Thèse de doctorat vétérinaire E.N.V. de Toulouse 125p.

25. Delphine D. (2001).

Intoxication par le plomb chez les bovins : Données bibliographiques et présentation des résultats du laboratoire de toxicologie de Lyon de 1998 à 2001.

Thèse doctortat., Université Claude Bernard- Lyon I 87p.

26. Djaalab I.(2010).

Statut minéral des brebis reproductrices en relation avec leurs rations alimentaires.

Mémoire Magister en sciences vétérinaire. Batna. p147.

27. Dubreuil P.;Arsenault J.;Belanger D.:(2005).

Biochemical reference ranges for groups of ewes of different ages.

Vet Rec. 2005 May 14; 156 (20):636-8.Ed. INRA. Paris, 114 P.

28. Elmer P.(1994).

Analytical methods for atomic absorption spectrometry.

The Perkin Elmer Corporation, USA.300pp.

29. Ewing W.N.; Charlton S.J.:(2005).

The Minerals Directory, Context, Packington, UK, pagination multiple.

30. Galez. (2008).

Techniques spectroscopiques d'analyse /Absorption atomique &émission de flamme.

Mesures Physiques Annecy, 19p.

31. Garcia-Fernandez A.J.;S´anchez-Garc´ia J.A.; Gomez-Zapata M.; Luna A. (1996).

Distribution of cadmium in blood and tissues of wild birds. Arch Environ .

Contam.Toxicol; 30:252-258.

32. Garnier R. (2005) :

Toxicité du plomb et de ses dérivés. Toxicity of lead and lead compounds Consultation de pathologie professionnelle et environnementale, EMC-Toxicologie Pathologie2 (2005) 67–88.

33. Gonzalez M. (2000).

Les intoxications professionnelles provoquées par le plomb et ses dérivés.
Faculté de médecine - Université Louis Pasteur-Strasbourg.

34. Goullé G.P. ; Kintz P.(1996).

Un nouveau moyen d'investigation biologique : l'analyse des cheveux.
Intérêt en Pratique médicale.17 :826-835

35. Grace N.D.; Clark R.G.;(1991).

Trace elements requirements, diagnosis and prevention of deficiencies in sheep and cattle. Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants.
Proceedings of the 7th International Symposium on Ruminant Physiology.
Academic, Press.Ed.**115**:321-346.

36. Guimarães D.;Carvalho M. L.; Gerales V.; Rochac I.; Alves L.U.;Santosa J.P.(2012).

Lead in liver and kidney of exposed rats: Aging accumulation study.
Journal of Trace Elements in Medicine and Biology 26 (2012) 285– 290.

37. Gupta S.; Pandotra A.P.; Gupta J.K.; Dhar G.; Sharma G.; Ram M.K.; Husain Y.; Bedi S. (2010).

Volatile (As and Hg) and non-volatile (Pb and Cd) toxic heavy metals analysis in rhizome of Zingiber officinale collected from different locations of North Western Himalayas by Atomic Absorption Spectroscopy.
Food and Chemical Toxicology 48 (2010) 2966–2971.

38. Heyman C. ; Haeghebaert S. ; Farvacques C.; Kalache N. (2008).

Pertinence d'un dépistage du saturnisme et de mesures de l'imprégnation de la population en cadmium sur le secteur de Montagne-du-nord. Institut de veille sanitaire.

Rapport final, 42p.

39. Hfaïedh N.; Allaqui M.S.; Croute F.; Soleilhavoup J.P.; Jammoussi K.; Makni Ayadi F.; Kammoun A.; El Feki A.(2005).

Interaction du jeûne intermittent sur les effets cytotoxiques rénaux du nickel chez le rat pubère C. R. Biologies 328 (2005) 648–660.

40. Houpert P .; Mehennaoui S.; B Joseph-Enriquez .; B Federspiel. ; G Milhaud. (1994).

Cadmium and lead elimination through milk in the ewe in: contaminated soils, biogéochimie of traces elements, Ed. INRA, Paris, 317-324.

41. Houpert P.;Mehennaoui S.;Federspiel B.; Joseph-Enriquez B.; Milhaud G. (1995).

Pharmacokinetics of cadmium following intravenous and oral administration to non – lactating ewes. Vet Res,26,145-154.

42. Humphreys, D. J. (1991).

Effect of exposure to excessive quantities of lead on animals.

Br.Vet. J. 147, 18–30.

43. INSERM. (1999).

Plomb dans l'environnement - Quels risques pour la santé ? Expertise Collective.

Les Editions ISBN 2 85598-745-8.

44. Institut universitaire de médecine du travail (I.U.M.T).(1999).

Intoxication professionnelle par le plomb (revue).I.U.M.T. de Rennes.

45. Jaime R-E.; José A. B.; Rafael M.(2012).

Blood Pb and &-ALAD inhibition in cattle and sheep from a Pb-polluted mining area.

Environmental Pollution 160 (2012) 118-124.

- 46. Jankovska I .; Szakova J.; Lukešova D.; Langrova I.; Valek P.; Vadlejch J .; adkova Z. C.; Petrty M.(2012).**
Effect of lead in water on the absorption of copper, iron, manganese and zinc by sheep infected with sheep tapeworm (*Moniezia expansa*) .
Experimental Parasitology 131 (2012) 52–56.
- 47. Jarrige R.(1988).**
Alimentation des bovins, ovins et des caprins. Ouvrage collectif –INRA.
Edition, Paris, 476 P.
- 48. Jelena S.; Ivana M.; Sandra B.; Mirosla V.; Aleksandra P.(2010).**
Gender Differences in Pulmonary Inflammation Following Systemic Cadmium Administration in Rats.
Biomédical and environmental sciences 23,293-299 (2010).
- 49. Jennifer T.; John B .(2008).**
Cadmium: toxic effects on the reproductive system and the embryo .Reproductive toxicology 25.304-315.
- 50. Jumarie C. (2005).**
Des métaux lourds qui menacent la santé humaine et environnementale. UQAM Sciences Express. www.sciences.uqam.ca.
- 51. Kadem D.(2005).**
Evaluation et comportement des métaux lourds (Cd, Cr, Cu, Ni, Pb, Zn et Mn) dans les sols à vocation agricole et à végétation naturelle soumis à une pollution atmosphérique .(EL-HADJAR- ANNABA-EST ALGERIEN).influence de la végétation sur la dynamique de ces métaux .
Thèse doctorat en écologie .Université de Constantine .76p.
- 52. Kadi M.F.(2002).**
L'étude des poils de bovins et de la laine de moutons en tant qu'indicateurs d'exposition à la pollution par le plomb, le cadmium, le cuivre et le zinc, dans la région de Batna.
Thèse de Magister en sciences vétérinaire. Université de Batna, p90.

53. Katarzyna A.R.; Jerzy M.; Andrzej G.(2009).

Lead, cadmium, arsenic, copper, and zinc contents in the hair of cattle living in the area contaminated by a copper smelter in 2006-2008. *Bull Vet Inst .Pulawy* 53,703-706.

54. Kramer J. W., (2000).

Normal Hematology of Cattle, Sheep and Goats. In : «Schalm's Veterinary Hematology, 5th edition». Feldman, B.F; Zinkl, J.G.; Jain, N.C. editors.

Lippincott williams and wilkins, Philadelphia, U.S.A. 1075-1084.

55. Kulcu R.; Yur F.(2003).

A Study of some Serum Mineral Levels before and During Pregnancy and During Lactation Period of Sheep and Cattle. *Biological Trace Element Research* .Vol.92,275-279.

56. Laabassi F.(2006).

L'influence de l'âge, de la saison et de la race du cheval de course sur certains paramètres sanguins.

Thèse de Magister en sciences vétérinaire Batna. p 81.

57. Lamand M. (1991).

Les oligo-éléments en médecine vétérinaire. *In* : Les oligo-éléments en médecine et biologie (P. Chappuis, ed.),

Lavoisier Tech Doc, Paris 76-110.

58. Lamand M.(1978).Les oligo-éléments.

Dalfoz, Ed.Paris,p78.

59. Lamand M.(1986).

La carence en zinc chez les ruminants dans « le zinc en médecine et biologie » Favier et al. Eds.

Ed. Médicales internationales,291-301.

60. Lamand M. ; Perigand S. ; Bellanger J. ;(1973).

Enquête sur la fréquence et la répartition géographique des carences en oligo-éléments en France. Cah. Méd. Vet. **42** : 155-175.

61. Laperche V. ; Dictor M.C. ; Clozel-Leloup B. ; Baranger Ph. (2004) .

Guide méthodologique du plomb, appliqué à la gestion des sites et sols pollués. BRGM/RP-BRGM/RP-52881-FR, 136 p., 40 ill.

62. Lavoix M P. (1978).

Contribution à l'étude écotoxicologique du cadmium.

Thèse, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Faculté de médecine de Créteil. 69p.

63. Leita L. ;EnneG. ; DE Nobili M. ; Baldini M. ;Sequi P. (1991).

Heavy metal bioaccumulation in lamb and sheep bred in smelting and mining areas of SW Sardinia (Italy). Bull.Environm.Contam.Toxicol.,1991,46,887-893.

64. Liu Z.P,(2003).

Lead poisoning combined with cadmium in sheep and horses in the vicinity of non-ferrous metal smelters. The Science of the Total Environment 309 (2003) 117–126.

65. Logonathan P.;Mackay A.D.; Lee J.; Hedley M.J.; (1995).

Cadmium distribution in hill pastures as influenced by 20 years of phosphate application and sheep grazing. Aust. J. Soil Sci. 33, 859–871.

66. Lopez Alonso M.; Benedito J.L.; Miranda M.; Castillo C.;Hernandez.; J Shore.; R F(2000).

Arsenic, cadmium, lead, copper and zinc in cattle from Galicia, NW Spain.

The Science of the Total Environment 246 .237.248.

67. Maach L.; Chadli M.; Alali S.; Zouagui Z.; Sysavane F.M.(2000).

Essai de prévention de l'ataxie enzootique de l'agneau au Maroc.

Revue, Méd.Vét. 151:421-428.

68. Mallam M.(2006).

Statut cuprique des ovins de deux zones distinctes (montagne et plaine) dans la région de Batna.

Thèse de Magister en sciences vétérinaire. Université de Batna, p131.

69. Martin W.B.; Aitken I.D.(1991).

Diseases of sheep, 2^{ème} edition.

Blackwell Scientific Publication, London, 418 P.

70. Matías Miguel Salvarredy Aranguren.(2008).

Contamination en métaux lourds des eaux de surface et des sédiments du Val de Milluni (Andes Boliviennes) par des déchets miniers. Approches géochimique, minéralogique et hydrochimique.

Thèse doctorat de l'université de Toulouse.P 498.

71. Mehanaa E.E.; Abdel Raheim M.A ;. Meki Fazili K. H.(2012).

Ameliorated effects of green tea extract on lead induced liver toxicity in rats.

Experimental and Toxicologic Pathology 64 (2012) 291– 295.

72. Mehennaoui S. (1995).

Toxicité du plomb chez les ruminants : I. Surveillance biologique du saturnisme subclinique chez les bovins. II. Toxicocinétique chez la brebis en lactation : modifications provoquées par le zinc et le cadmium.

Thèse de doctorat vétérinaire, Université de Paris VII 132p.

73. Mehennaoui S. ; Charles E. ; J- Enriquez B. ;Claun M. ; Milhaud G. (1988).

Indicators of lead, zinc and cadmium exposure in cattle: II- Controlled feeding and recovery. Vet. Hum. Toxicol. 30 (6), 550-555.

74. Mehennaoui S.; Houpert H. ; Federspiel B. ; Joseph-Enriquez B. ;Kolfclaun M. ;Milhaud G. (1997).

Toxicokinetics of lead in the lacting ewe: Variations induced by cadmium and zinc environmental sciences. Vol 5, 2.65-78.

75. Mehennaoui S.(1985).

Dosage du plomb, du cadmium, du zinc et du cuivre dans le sang et les poils de bovins.
Mémoire de DEA de Toxicologie, Paris, VII 64 P.

76. Meschy F. (2010).

Nutrition minérale des ruminants, Éditions Quæ c/o Inra, RD 10, 78026 Versailles Cedex
© Éditions Quæ, 2010.

77. Meziane T.(2001).

Contribution à l'étude de la salinité de l'eau de boisson et d'un régime à base de paille
chez la brebis de la race Ouled-Djellal dans les hauts plateaux Sétifien.
Thèse de Doctorat, Constantine, 162 p.

78. Michel M.; Baize D.(2004) .

Contamination des sols et de nos aliments d'origine végétale par les éléments en traces.
Mesures pour réduire l'exposition. Courrier de l'environnement de l'INRA n°52,
septembre 2004.

**79. Milhaud G. ; Vassal L. ; Federspiel B. ; Delacoroix- Buchet A. ; Mehennaoui S. ;
Charles E. ; Enriquez B. ; Colf-Clauw M. (1998).**

Devenir du cadmium du lait de brebis dans la crème et les caillés présure ou lactique. Le
Lait78 689-698.

80. Milhaud G.; Mehennaoui S.(1988).

Indicators of lead and cadmium exposure In cattle : I- Results in polluted area.
Vet. Hum. Toxicol.30: 513-517.

81. Milhaud G. ; Pinault L.; Parent B.(1979).

Résultats d'observations effectuées sur des bovins élevés dans une zone polluée par des
émissions industrielles de plombs, zinc et cadmium.
Rec. Méd. Vét. 155: 955-962.

82. Miquel G. (2001).

Rapport sur les effets des métaux lourds sur l'environnement et la santé. (Office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques, N° 2979. Nationale Vétérinaire d'Alfort, Faculté de médecine de Créteil. 69p.

83. Miranda M.; Lopez-Alonso M.; Garcí'a-Partida P.; Velasco J and J. L. Bénédicto J.L.(2006).

Long-term Follow-up of Blood Lead Levels and Haematological and Biochemical Parameters in Heifers that Survived an Accidental Lead Poisoning Episode J. Vet. Med.A 53, 305–310 (2006).

84. Nilson V.; Attwell R.; Chistofferson J.D.; Schultz A.; Ahlgren L.; Skerfving S.; Matson J.(1990).

Kinetics of lead in bone and blood after end of occupational exposure. Pharmacol. Toxicol., 68(6), 477-484.

85. OMS (ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE). (1980).

Exposition aux métaux lourds : limites recommandées d'exposition professionnelle à visée sanitaire. Genève.

Série de rapports techniques 647. 132p.

86. Osman N.I.E.D. ; Johnson E.H. ; Al-Busaidi R.M. ; Suttle N.F.(2003).

Effects of breed, néonatal age and pregnancy on the plasma copper status of goats in Oman.

Veterinary Research communications, 27. 219-229.

87. Patra RC.; Swarup D.; Dwivedi S.K.(2001).

Antioxidant effects of alpha-tocopherol, ascorbic acid and l-methionine on lead induced oxidative stress to the liver, kidney and brain in rats.

Toxicology 2001; 162:81–8.

88. Pelletier S.; Taillefer M.; Tremblay A. (1997).

Intoxication au plomb chez le bovin. Notes de toxicologie clinique vétérinaire. MEV 2030. Univ. Montréal. Fac.med.vet.

89. Pere J. P. (1999).

Techniques spectroscopiques en biochimie analytique. Bordeaux: Centre Régional de Documentation Pédagogique D'Aquitaine, 150p.

90. Pereira R.; Ribeiro R.; Gonçalves F.(2004).

Scalp hair analysis as a tool in assessing human exposure to heavy metals (S.Domingos mine, Portugal).

91. Petit B. K. M. (2007).

Actualisation des connaissances sur les éléments biologiques et minéraux persistants dans les boues des stations d'épuration. Impact sur la santé publique.

Thèse de doctorat vétérinaire, E.N.V. d'Alfort Paris 141p.

92. Pichard A. (2005).

Cadmium et ses dérivés. Fiche INERIS- DRC-01-25590-00DF249_Version 2-3- doc, p.1-60.

93. Picot A. (2003).

Intoxication de l'organisme par les métaux lourds et autres toxiques. Le mercure, le plomb et le cadmium trois métaux traces toxiques. Conférence ADNO Paris 14p.

94. Pierre G.(2010).

Les sources de pollution des sols: Essai de quantification des risques dus aux éléments traces.Association Française pour l'Etude du Sol - www.afes.fr – 2010.

95. Pierre M.; Denis F.; Daniel B.; Jean-Claude G.; Florence C. (1998).

Heavy metal concentrations (Cd, Cu, Pb, Zn) at different levels of the pelagic trophic web collected along the gradient of salinity in the Seine estuary. Académie des sciences / Elsevier, Paris.

96. Prankel S.H.; Nixon R.H.; Philips C. J. C.(2004).

Méta-analysis of feeding trials investigating cadmium accumulation in the livers and kidneys of sheep. Environmental Research 94,171,183(2004).

Revue de Médecine Interne, **17**: 826-835

97. Puls R.(1994).

Mineral Levels in Animal Health, Sherpa International, Clear brook, Canada, 2nd edition, 240 p.

98. Quevauviller. (2006).

Métrologie en chimie de l'environnement. 2^{ème} édition. 277 p. Rapport final, 42p.

99. Quiroz-Rocha G.F. ; Bouda J. ;(2001).

Fisiopatología de las deficiencias de cobreen ruminantes y su diagnostico.
Vet. Mex. **32** : 289-296.

100. Reddy C.S.;Mohammad F.K.;GanjamVK.;Martino M.A.; BrownE.M. (1987).

Mobilization of tissue cadmium in mice and calves and reversal of cadmium induced tissue damage in calves by zinc.Bull.Environm.Contam.Toxicol.,39(2),350-357.

101. Rekik M.; Ben Salem H.; Lassoued N.; Chalouati H.; Ben Salem I.(2010).

Ruminal degradability, digestibility, energy content, and influence on nitrogen turnover of various Mediterranean by-products in fat-tailed Awassi sheep.
Anim. Sci. Technol. 1-12. Science of the Total Environment, 327:81-92.

102. Rothe S.;Kollmer W.E.; Rambeck W.A.(1992).

Influence de certains facteurs élémentaires sur la rétention du cadmium.
Revue Méd.Vét.,3,255-260.

103. Shalan M.G.;Mostafa M.S.; Hassouna M.M.; El-Nabi S.E.(2005).

Amelioration of lead toxicity on rat liver with vitamin C and Silymarin supplements.
Toxicology 2005; 206(1):1–15.

104. Shen X.Y.; Du, G.Z.; Li H. (2005).

Studies of naturally occurring molybdenum-induced copper deficiency in the yak.
The Veterinary Journal, **171**: 352-357.

105. Shore R.F.;Douben P.E.T.(1994).

The ecotoxicological significance of cadmium intake and residues in terrestrial small mammals. *Ecotoxicol. Environ. Saf* 1994; 29:101-112.

106. Soltner D. (1999).

Alimentation des animaux domestiques .Tome 1 : Les principes de l'alimentation pour toutes les espèces. Ed. Sciences et techniques agricoles, Saint-Gemmes-sur-Loire. pp129.

107. Swarup D.; Maiti S.K.(1991) .

Changes in some biochemical constituents in blood and cerebrospinal fluid of lead intoxicated calves. *Indian journal of Animal Sciences* 61(9), 942-945.

108. Underwood N.; Suttle F. (1999).

Mineral Nutrition of Livestock, CAB International. Université Claude Bernard- Lyon I 87p.

109. Underwood E.J.(1977).

Copper In : «Trace elements in human and animal nutrition» 4th edition. Academic Press, London, 56-82.

110. USEPA (United States Environmental Protection Agency) (1988).

Cadmium, dans *Reviews of environmental contamination and toxicology*.
Vol. 107. Springer-Verlag, New York.

111. Verloo M. (2003).

Les métaux lourds dans les denrées alimentaires: origine et évolution des teneurs. Symposium "Les oligo-éléments dans l'alimentation en Belgique – Données récentes" 3p. *Veterinary Research communications*, 27.219-229.

112. Waldner C.; S. Checkley.; B. Blakley.; C. Pollock.; and B. Mitchell.(2002).

Managing lead exposure and toxicity in cow-calf herds to minimize the potential for food residues. *J. Vet. Diagn. Investig.* 14,481-486.

113. Wilkinson J.M.;Hill J.;Livesey C.T. (2001).

Accumulation of potentially toxic elements by lambs grazed on grassland given repeated applications of sewage sludge. Anim. Sci. 72.

114. Yokus B.;Cakir U.D.(2006).

Seasonal and physiological variations in serum chemistry and mineral concentrations in cattle.Biol trace Element Res 109:255-266.

115. Zemoura H.; Athmani M. (2006).

Détermination des teneurs en cuivre et en zinc dans l'alimentation, le plasma et les poils des chèvres de la région d'Arris (W. Batna).

Mémoire de docteur vétérinaire. Batna. P83

La spectrophotométrie d'absorption atomique.

1. Domaines d'application de la spectrophotométrie d'absorption atomique

Ce sont tous les domaines où se pratiquent des dosages des métaux, ce qui est très vaste.

Selon **PERE (1999)**, nous retiendrons plus particulièrement les domaines suivants :

- Analyses biologiques, exemple dosage du calcium et de magnésium.
- Analyses des eaux ; eaux de boisson, de source, d'infiltration, de rivière, de mer, industrielles ou usées sont couramment analysées par absorption atomique dans le cadre de contrôles divers.
- Industries agro- alimentaires : Le dosage des traces de métaux dans les produits alimentaires est important, tant sur le plan nutritionnel que toxicologique.
- Agriculture : Les éléments peuvent être dosés dans des extraits de sol, de plantes, dans les engrais...
- Autres industries.

2. Principe de fonctionnement

La spectrophotométrie d'absorption atomique consiste à porter les éléments à doser à leur état atomique sur le trajet d'un rayonnement UV- visible et à mesurer l'absorbance de la vapeur à une longueur d'onde spécifique (**PERE, 1999**).

3. Eléments constitutifs de spectrophotomètre d'absorption atomique

Tout instrument d'absorption atomique contient les mêmes éléments de base (figure 20 ci-dessus):

- Source de lumière qui produit une radiation caractéristique de l'élément à doser à la longueur d'onde spécifique.
- Un système pour moduler le rayonnement provenant de la source.
- Un atomiseur dont le rôle est de produire un nuage d'atomes à l'état fondamental.
- Un monochromateur à réseau isole ensuite la raie de résonance à partir du rayonnement en général complexe qui lui parvient de la vapeur atomique.
- Un récepteur photométrique transforme le flux non absorbé par la vapeur atomique en un signal électrique traité électriquement afin d'afficher l'absorbance.

Nous retiendrons dans cette description le schéma d'un spectrophotomètre d'absorption atomique bifaisceau, car l'appareil **Shimadzu AA 6800** utilisé pour le dosage de nos minéralisats est un model bifaisceau.

Avec l'appareil bifaisceau, le réglage du zéro d'absorbance est beaucoup plus stable et les mesures plus reproductibles. Ainsi ce type d'appareil bifaisceau est idéal pour travailler sur des grandes séries (PERE, 1999).

L'appareil est schématisé ci-dessous :

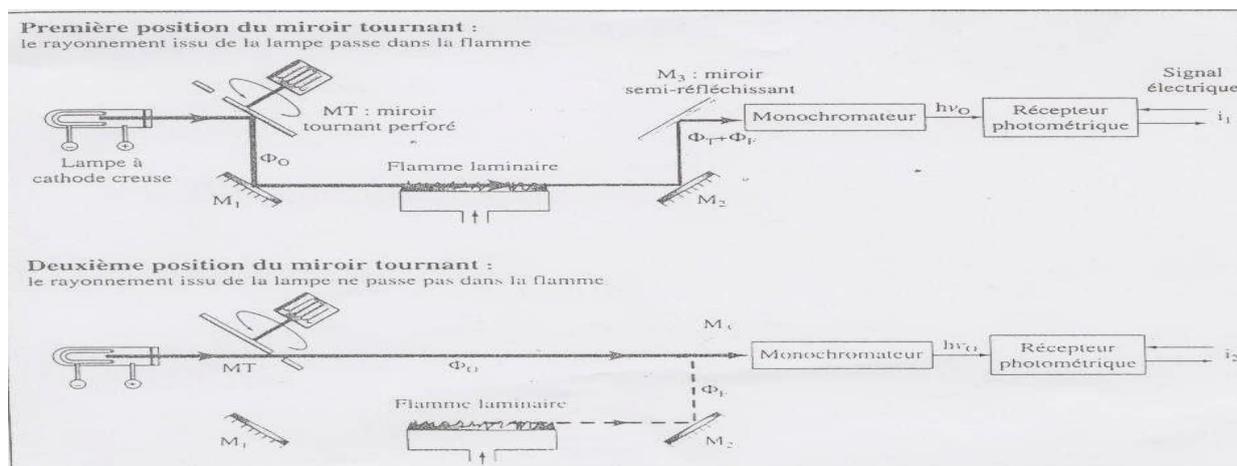


Figure 20: Spectrophotomètre d'absorption atomique bifaisceau

Source : (PERE, 1999).

Description :

Selon PERE, (1999), sur la figure 20, deux faisceaux sont successivement fournis par le modulateur MT qui est un miroir tournant perforé. M3 est un miroir semi-argenté.

Dans la première position (figure 20), le faisceau de flux Φ_0 est dirigé par MT vers la vapeur atomique et le récepteur photométrique reçoit un faisceau de mesure qui peut se décomposer en deux, Φ_T ET Φ_F :

- Φ_T : représente la partie du faisceau de flux Φ_0 et de fréquence ν_0 que la vapeur atomique transmet.
- Φ_F représente le flux du rayonnement non modulé mais continu émis par et dans la flamme qui parvient à sortir du monochromateur.
- Dans la deuxième position (figure 3), le faisceau de flux Φ_0 va directement sur le récepteur photométrique en formant un faisceau de référence. Il y a toujours le faisceau de flux Φ_F qui se dirige vers le récepteur photométrique.

Les faisceaux de flux Φ_0 et Φ_T sont modulés par MT alors que le faisceau de flux Φ_F est continu. En accordant, fréquence et en phase, amplificateur et modulateur, la composante modulée des signaux électriques est amplifiée, tandis que leur composante continue est éliminée. L'électronique est ensuite capable de séparer et d'utiliser ces signaux amplifiés qui correspondent donc à Φ_0 et Φ_T .

Mesures des transmittances et calculs d'absorbances

L'absorption atomique d'un échantillon affaiblit \emptyset_0 qui devient \emptyset_T . Les signaux électriques successifs retrouvés après l'amplificateur sont, l'un proportionnel à \emptyset_T (IT) et l'autre proportionnel à \emptyset_0 (IO).

Le rapport **IO/ IT** mesuré par l'appareil lui permet d'afficher des transmittances. Le calcul de **log IO/ IT** conduit aux absorbances.

3.1. Source de lumière

Son rôle est de produire une radiation lumineuse à la longueur d'onde caractéristique de l'élément à doser.

Les plus répandues de ces sources sont représentées par les lampes à cathode creuse (**figure 21**).

Celles-ci fournissent des raies très fines de la longueur d'onde des raies d'émission des atomes qui la constituent. Et sont formées de :

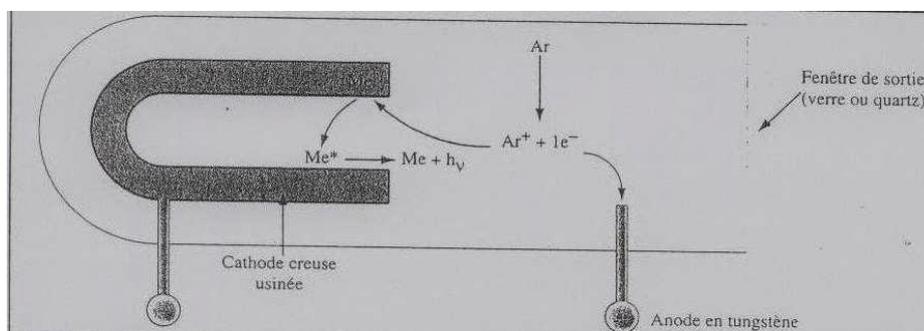


Figure 21 : Lampe à cathode creuse.

D'un tube en verre rempli d'un gaz rare sous faible pression et muni de deux électrodes (**Figure 21**).

L'anode est un simple fil de tungstène alors que la cathode est un petit cylindre creux réalisé dans (ou recouvert par) le même élément que celui qu'on cherche à doser dans l'échantillon. Les métaux durs sont usinés directement en forme de cathode creuse (fer, cuivre...): sinon une cathode creuse en aluminium tapissée intérieurement par une feuille du métal à exciter. Une lampe sert en général au dosage d'un seul élément.

Lorsqu'une tension électrique est appliquée entre l'anode et la cathode (300 à 400 V), il se produit une ionisation du gaz rare. Les cations (Ar^+) ainsi formés bombardent la cathode creuse et les atomes métalliques qui la composent sont arrachés et excités (M^*). Leur désexcitation se fait par émission de photons spécifiques formant le spectre de raies de l'élément excité ces photons pourront être absorbés par des atomes du même élément, à l'état fondamental, dans la vapeur atomique.

La fenêtre de sortie est en quartz surtout pour les raies de résonance inférieures à 320 nm environ L'intensité de l'émission de ces lampes dépend de la tension appliquée entre anode et cathode, il faudra la stabiliser pour avoir une émission constante (**PERE, 1999**).

L'appareil permet souvent de préchauffer plusieurs lampes, de 2 à 8 lampes (**photo 7**) par exemple, afin de pouvoir doser sans perte de temps plusieurs éléments successivement.

Le positionnement sur l'axe optique est manuel ou automatique



Photo6 : Une lampe à cathode creuse

Source : LESPA (photo originale).



Photo 7 : Une tourelle de huit lampes (source LESPA).

3.2. Modulation du rayonnement émis par la source :

Une modulation mécanique peut être par exemple obtenue par un disque perforé tournant qui hache avec une grande régularité le rayonnement émis entre la source et la vapeur atomique.

Une modulation électrique est obtenue par une alimentation électrique intermittente de la source qui entraîne donc une émission discontinue. On parle de source pulsée (PERE, 1999).

3.3. Système de production de vapeur :

Pour casser les liaisons (ioniques ou covalentes) engagées en solution par l'élément à doser, il faut les hautes températures d'une flamme ou d'un four. Exceptionnellement, certains éléments peuvent exister à l'état atomique sous forme de vapeur froide: c'est le cas du mercure (PERE, 1999).

Le rôle de l'atomiseur est de produire des atomes, mais ceux-ci doivent se trouver à l'état fondamental pour pouvoir absorber les photons provenant de la source. On distingue essentiellement deux types d'atomiseurs; la flamme et le four en graphite (électrothermique).

3.3.1. Nébuliseur et brûleur

Le nébuliseur assure la nébulisation de la solution contenant l'élément à doser, sous l'action de gaz comburant : air, oxygène ou diazote oxyde (N₂O). Il doit fournir un nébulisat fin, homogène et régulier. Les plus fines gouttelettes restent en suspension et sont mélangées au gaz combustible avant d'atteindre le brûleur (figure 22)

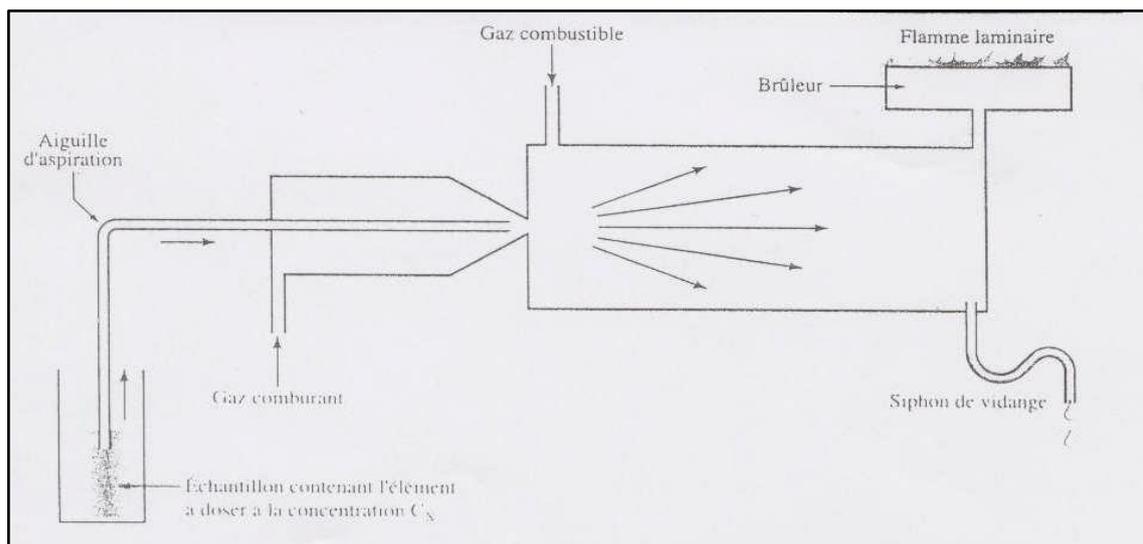


Figure 22: Ensemble nébuliseur- brûleur (proportion non respectée)

Source : (PERE, 1999).

Le brûleur est très allongé de 10 à 15 cm (photo 4) et assez étroit. Cette flamme laminaire permet d'augmenter la longueur du trajet du rayonnement issu de la source dans la vapeur atomique.

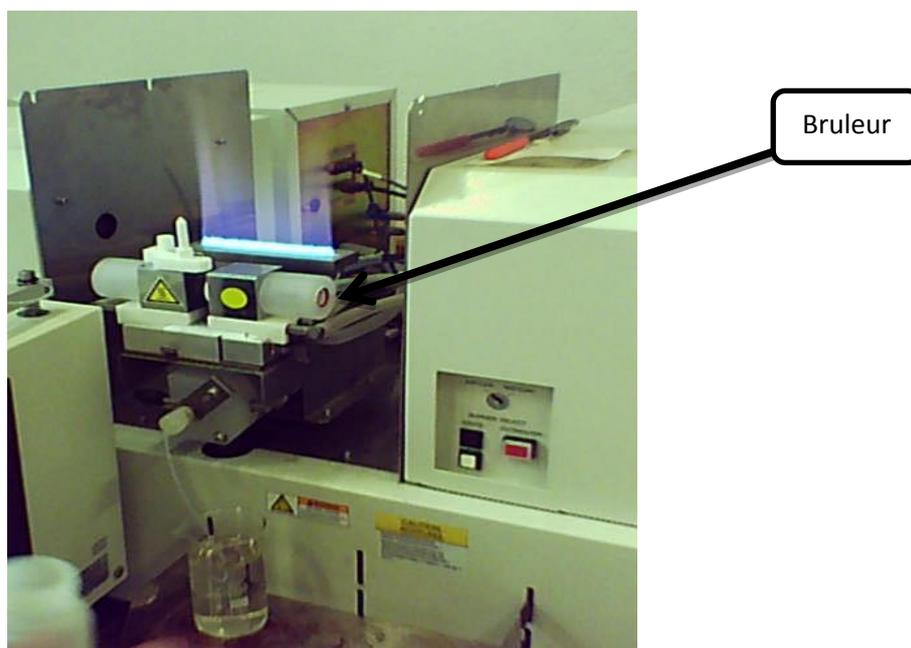


Photo 8 : Atomisation par flamme(LESPA).

En absorption atomique à flamme, c'est généralement l'acétylène qu'est utilisé comme combustible. Le gaz comburant est soit l'air (2300 K), soit l'oxygène (3200 K) soit le diazote (3200 K également).

Dans la flamme se produit l'évaporation du solvant (avec éventuellement combustion), la fusion puis l'évaporation des composés métalliques, et en fin une dissociation moléculaire libérant les atomes qui peuvent alors absorber (**PERE, 1999**).

Remarque importante

Lorsque la flamme est allumée, il est absolument nécessaire qu'un liquide soit aspiré par le nébuliseur –eau distillée ou solution échantillon –sous peine d'endommager la tête du brûleur. De même, avant d'éteindre la flamme, il faut nettoyer le brûleur en aspirant de l'eau distillée pendant quelques minutes (**Galez, 2008**).

3.3.2. Four en graphite

L'appareil est constitué par un petit cylindre creux en graphite de quelques centimètres de longueur et d'environ 1 cm de diamètre interne. Il est chauffé par effet joule et traversé par le rayonnement issu de la source (**figure 23**).

L'atomisation y est réalisée par réduction des oxydes métalliques par le carbone à haute température (**PERE, 1999**), comme la montre la (**photo 8**).

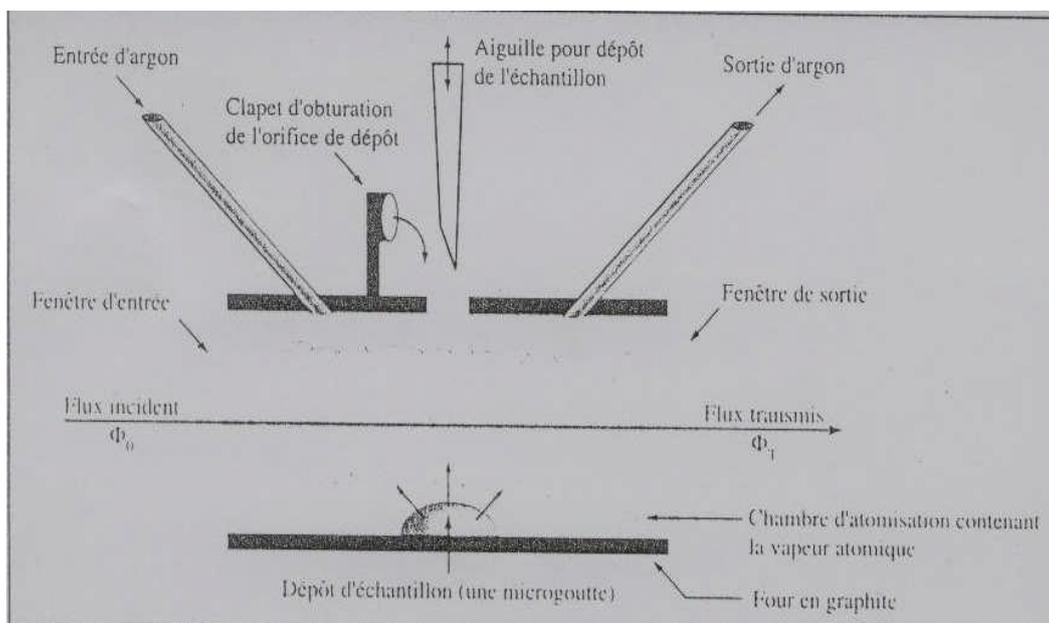


Figure 23 : Schéma du four graphite

Source : (PERE, 1999).

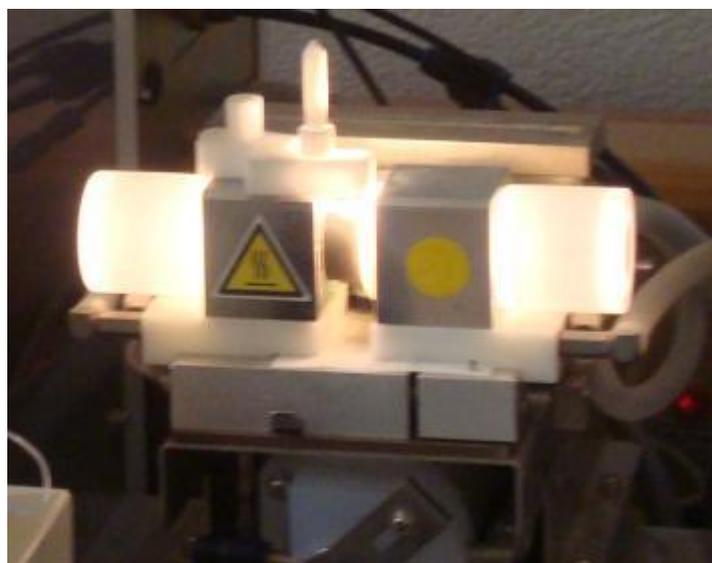


Photo 9: Four graphite en phase d'atomisation.

Source : LESPA

Le cycle de température ; Quelques microlitres de solution à analyser sont introduits dans le four qui est chauffé selon un cycle programmable. Il y a successivement :

- Désolvatation; c'est- à- dire évaporation de la phase liquide (jusqu'à une température de 100°C environ si la solution est aqueuse). Cette étape doit être effectuée lentement mais ne prend que 20 à 40 secondes environ.
- Minéralisation par formation d'oxydes; à une température dépendant de la nature des métaux présents (20 à 40 secondes environ).

- Production de la vapeur atomique par réduction des oxydes ; à une température comprise entre 200 et 2600°C (quelques secondes).
Il faut veiller à ne pas dépasser une température au-delà de laquelle une ionisation excessive des atomes diminuerait le nombre de ceux qui peuvent absorber.
- Purge du système ; par un courant d'argon à une température supérieure à 2000°C (maximum 3000°C).
- Refroidissement ; par circulation d'eau autour du four.

- **Le rôle de l'argon**; Si l'on ne prenait pas de précautions, le graphite du four brûlerait à de telles températures. Il faut éviter tout contact entre le graphite chauffé et l'oxygène (et donc l'air). Pour cela, le four est parcouru par un courant d'argon lors de la montée en température.

Ce courant gazeux emporte les vapeurs de solvant, les éventuelles fumées et les éléments volatilisés avant que la température d'atomisation de l'élément à doser soit atteinte. On arrête cependant le courant d'argon juste avant d'atteindre la température d'atomisation de l'élément à doser.

L'atomisation se produit donc dans une enceinte remplie d'argon, ce qui permet d'atteindre des concentrations atomiques élevées.

Le courant d'argon reprend lors de la purge. L'absorbance dans le four évolue au cours du temps (**figure 24**). Les éventuelles fumées produites lors de la minéralisation donnent une absorbance mesurable. L'atomisation se fait ensuite à une température choisie en fonction de l'élément à doser et donne un pic que l'on espère isoler et spécifique, dont on utilise la hauteur H , ou plutôt l'aire A , pour l'analyse quantitative. La purge peut aussi donner lieu à une forte absorbance.

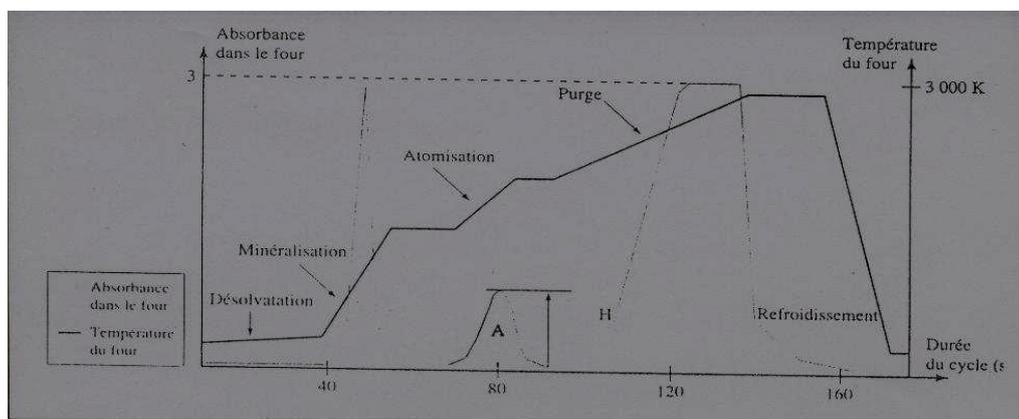


Figure 24: Evolution de l'absorbance dans un four en graphite au cours d'un cycle

Source : (PERE, 1999).

3.4. Le monochromateur

Le rôle du monochromateur consiste à éliminer toute la lumière, quelle que soit son origine, ayant une longueur d'onde différente de celle à laquelle on travaille (**Galez, 2008**).

3.5. Le détecteur

Le détecteur est situé à la sortie du monochromateur. Son rôle est de mesurer les intensités lumineuses nécessaires au calcul des absorbances. Cette absorbance est proportionnelle d'après la loi de Beer-Lambert à la concentration de l'élément dans la solution (**Galez, 2008**). Pratiquement tous les appareils à l'heure actuelle sont équipés d'un tube photomultiplicateur.



Photo10: Spectrophotomètre d'Absorption Atomique de type Shimadzu AA 6800.

(Photo originale):**Source** LESPA.

4. Grandeurs caractéristiques

4.1. La sensibilité

En spectrométrie d'absorption atomique, la sensibilité ou concentration caractéristique est la concentration exprimée en mg/L qui conduit à une absorption de 1% c'est-à-dire une absorbance égale à 0,0044 (**Galez, 2008**).

$$\text{Sensibilité (mg/L)} = \text{Concentration étalon (mg/L)} \times 0,0044 / \text{absorbance mesurée}$$

4.2. Les limites de détection et de quantification :

La limite de détection est définie comme la plus petite quantité d'analyte pouvant être détectée dans un échantillon mais pas nécessairement quantifiée comme une valeur exacte (**Quevauviller, 2006**).

Elle dépend bien sûr de la sensibilité mais également de la stabilité du signal d'absorbance. La concentration qui donne une absorbance trois fois supérieure au bruit de la ligne de base (sans analyte). Celui-ci est égal à l'écart type d'une série de dix mesures d'absorbance de la ligne de base (**Quevauviller, 2006**).

La limite de quantification exprime la plus petite concentration (ou masse) d'analyte qui peut être déterminée quantitativement avec une incertitude acceptable. Elle correspond à 4 fois la limite de détection (**Quevauviller, 2006**).

Modifications Biochimiques ,Hématologiques et Interactions avec les éléments essentiels (Zn et Cu) chez la brebis de la race Ouled-Djellal, après une exposition réitérée au Plomb et /ou au Cadmium.

Résumé :

L'étude a pour objectif de mettre en évidence les effets toxiques après une exposition à long terme au Plomb et /ou au Cadmium, un protocole expérimental a été mis en œuvre on utilisant des brebis de la race Ouled Djellal. Celle-ci ont été exposées d'une façon réitérée par la voie orale pendant 7 semaines à des doses de l'ordre 2.5mg /kg/j de Pb et/ ou 2mg/kg/j de Cd.

La détermination de la plombémie a permis de suivre leur évolution en fonction de temps. Les teneurs observées pendant 7 semaines d'exposition varient de 114µg/l à 304 µg/l pour le lot Pb et de 183µg/l à 445 µg /l pour le lot Pb- Cd. Une différence dans la cinétique du Pb lorsque le Cd est administré en même temps a été observée.

Les bio-indicateurs biochimiques sont plus élevés particulièrement les transaminases (ALAT, ASAT) pour le lot Pb-Cd.

Les résultats hématologiques obtenus pendant 7 semaines d'exposition révèlent des taux de l'hématocrite et de l'hémoglobine diminués particulièrement pour le lot Pb-Cd respectivement de 32.6 % à 27.8% et de 10.66 mg/dl à 8.24 mg/dl.

L'administration conjointe de Pb et de Cd a eu pour conséquence une diminution significative des teneurs plasmatiques en zinc et cuivre.

Mot clé : Pb, Cd, Administration orale répétée, bio indicateur d'exposition.

Biochemical, hematologic modifications and interactions with the essential elements (Zn ,Cu) in the ewe of the breed Ouled- Djellal after an exposure reiterated to Pb and/or Cd.

Abstract

The study aims were to highlight the toxic effects after a long-term exposure to lead and/or cadmium.

An experimental design was conducted using Ouled -Djellal ewes. Two groups: a lead group and a lead-cadmium group of five animals each were used; the lead group received lead nitrate orally at a dose of 2.5mg Pb/kg/day during 7weeks;the lead-cadmium group, in addition to lead, received cadmium chloride orally at a dose of 2mg Cd/kg/day.

The determination of blood lead made it possible to follow their evolution according to time. Blood levels during 7 weeks of exposure varied from 114µg/l to 304µg/l for the lead group and from 183µg/l to 445µg/l for the lead-cadmium group.

A difference in the kinetics of Pb when Cd is administrated at the same time was observed.

The biochemical bio-indicators are high particularly transaminases (ALAT, ASAT) for Pb-Cd group.

The hematologic results obtained during 7 weeks of exposure revealed rates of hematocrit and hemoglobin decreased particularly for Pb-Cd group respectively from 32.6 % to 27.8%, from 10.66 mg/dl to 8.24 mg/dl.

The co-administration of Cd and Pb had a consequence of a significant reduction in the plasmatic contents of zinc and copper.

Key word:Pb, Cd, repeated oral Administration, indicators of exposure.

ملخص:

الهدف من هذه الدراسة هو توضيح آثار التسمم بعد التعرض طويل المدى إلى كميات من مادتي الرصاص والكاديوم وذلك بإتباع مجموعة من الخطوات التجريبية على مجموعة من رؤوس الماشية من فصيلة أولاد جلال. فقد قمنا بتعرض عينات الدراسة ولمدة سبع أسابيع متواصلة لجرعات تتراوح بين 2.5 ملغ/كلغ/يوم من الرصاص و 2 ملغ/كلغ/يوم بالنسبة للكاديوم وذلك بواسطة الاستهلاك عن طريق الفم.

معرفة تأثير الرصاص سمح لنا بمتابعة تطوره حسب عامل الزمن، الكمية الملاحظة لمدة سبعة أسابيع تتغير من 114 ميكروغرام/لتر إلى 304 ميكروغرام/لتر من الرصاص، ومن 183 ميكروغرام/لتر إلى 445 ميكروغرام /لتر بالنسبة لمزيج الرصاص والكاديوم. كما تم التوصل إلى أن هناك علاقة وطيدة لتغير كمية الرصاص بالنسبة لتغير كمية الكاديوم.

المتغيرات البيوكيميائية جد مرتفعة وبصفة خاصة ALAT و ASAT بالنسبة للمزيج رصاص-كاديوم.

النتائج المتعلقة بفحص الدم والمتحصل عليها خلال سبعة أيام من التجارب تظهر أن **hématocrite** و **hémoglobine** تتناقص بصفة عند العينة المعرضة للمزيج رصاص-كاديوم بقسمة 22.3% إلى 27.8% و 10.66 ملغ/دل إلى 8.2 ملغ/دل على الترتيب.

التعرض لمزيج الرصاص/الكاديوم له نتائج سلبية في انخفاض كمية النحاس والزنك في البلازما.

الكلمات المفتاحية: رصاص، كاديوم، استهلاك فموي، المتغيرات البيولوجية للاستهلاك.