

UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES – FES
DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA VIE



PROJET DE FIN D'ETUDES

Licence en Sciences & Techniques :

Biologie & Santé

Dosage du phostoxin dans le sang et les viscères

Présenté Par : NABIH Zineb

Encadré par :

FSTF : TAHIRI JOUTI MOHAMMED ALI

Etablissement d'accueil : RACHID BENAACKAM

Soutenu le : 14 Juin 2011

Devant le jury composé de :

- TAHIRI JOUTI Mohammed Ali : Président
- BENAACKAME RACHID : Encadrant
- EL ABIDI ABDELLAH : Encadrant
- ELYAMANI JAMAL : Examineur

Année Universitaire : 2010-2011

Dédicace

Je dédie ce travail :

À ma chère mère,

Cet ange de tendresse, de patience et de générosité.

*Que Dieu le tout puissant, te comble de santé, de bonheur
Et t'accorde une longue vie.*

À mon cher père

Tes conseils, toujours judicieux, et ta bénédiction fortifié

*M'ont toujours accompagné. Tu m'as comblé d'amour et
D'affection.*

À mes chers frères Jaafar et Hassan

*Je prie Dieu pour qu'il vous ouvre la voie de la réussite et
exauce tous vos vœux.*

*À tous mes amis et à toutes les personnes à qui je réserve
une place dans mon cœur.*

REMERCIEMENTS

J'exprime mes profonds remerciements à

- Mes encadrants au sein de l'institut national d'hygiène Monsieur EL ABIDI Abdellah et Monsieur Rachid BENAACKAM, qui ont accepté de diriger ce travail, pour leurs précieux conseils, et leurs encouragements tout au long de la rédaction de ce rapport.
- Mme Naima MAHNINE Votre compétence et votre gentillesse ont contribué à
La réalisation de ce travail, Vous sentez nos besoins, nos problèmes et nos attentes.
- Mon professeur et mon Co-encadrent de faculté « FST » Pr TAHRI JOUTI Mohammed Ali pour l'aide qu'il m'a apportée, pour sa patience, sa compétence, ses conseils, sa disponibilité son encouragement ...
- Professeur ELYAMANI Jamal d'avoir accepté de juger mon travail
- Tous mes professeurs au sein de la « FST »
- Toute l'équipe de l'institut national d'hygiène, Rabat, Maroc.

Tout les amis et les collègues de la licence biologie et santé

A celles et ceux, dont je ne peux pas citer tous les noms, mais qui comptent beaucoup pour moi.

Sommaire

| | |
|------------------------------------------------------|-----------|
| I-Introduction générale..... | 3 |
| II-Présentation de l'INH..... | 5 |
| III-Introduction..... | 8 |
| a-Généralité..... | 8 |
| b-Propriétés physiques et chimiques..... | 11 |
| c-Mécanisme d'action..... | 11 |
| d-Devenir dans l'organisme..... | 12 |
| e-Toxicité..... | 12 |
| f-Intoxication aiguë..... | 14 |
| III-1-Donnée épidémiologique..... | 15 |
| III-2-Quantité et état du produit ingéré..... | 17 |
| III-3-Traitement..... | 18 |
| a-Charbon activé..... | 19 |
| b-Lavage gastrique..... | 19 |
| c-Antiacides..... | 19 |
| IV-Matériel et méthodes..... | 20 |
| 1-Matériel..... | 20 |
| a-Echantillons biologiques..... | 20 |
| b-Produits et réactifs..... | 20 |
| 2-Méthodes..... | 21 |
| 2-1-Technique des bandelettes..... | 21 |
| a-Principe..... | 21 |
| b-Mode opératoire..... | 21 |
| 2-2-Spectrométrie d'absorption atomique..... | 22 |
| a-Définition..... | 22 |
| b-Principe..... | 23 |
| V-Résultats et interprétations..... | 27 |
| VI-Discussion..... | 30 |
| VII-Conclusion..... | 31 |
| VIII-Perspective..... | 31 |
| VIII-Annexe..... | 32 |
| a-Précaution..... | 32 |
| b-Premiers secours..... | 33 |

Abréviations :

| | | |
|-----------------------|---|-------------------------------------|
| <i>AIP</i> | : | Phosphure d'aluminium |
| <i>PH₃</i> | : | Phosphine |
| <i>INH</i> | : | Institut national d'hygiène |
| <i>SAA</i> | : | spectrométrie d'absorption atomique |
| <i>CAPM</i> | : | centre anti poison du Maroc |

I-Introduction générale

En général on a tendance à lier les pesticides à des produits chimiques déversés sur les champs labourés seulement, l'heure est au complément d'informations.

Ces produits sont également présents au plus près de nous, au sein même de nos maisons. Et cette proximité ne fait qu'augmenter les risques qui y sont liés, notamment sur la santé.

Peu fréquentes dans les pays développés du fait de règles très strictes imposées et appliquées, les intoxications dues aux pesticides sont encore répandues dans les pays en développement comme le Maroc.

Dans notre pays l'emploi massif et anarchique des pesticides est souvent à l'origine d'intoxications aiguës et chroniques. Le profil des intoxications reflète souvent le mode de fonctionnement d'un pays et de ses citoyens, il traduit les insuffisances réglementaires et économiques et le niveau éducatif de la population. Pour ce qui des pesticides ; les conditions d'intoxication nous renseignent sur la banalisation avec laquelle les pesticides sont vendus, entreposés et utilisés, mais aussi nous informent sur l'existence d'une vente non réglementée voire illicite de produits très dangereux utilisé comme procédé de suicide.

Parmi les pesticides utilisés on trouve le phosphore d'aluminium qui constitue une cause de morbidité et de mortalité importante à travers le monde.

Au Maroc l'intoxication aiguë par le phostoxin constitue un réel problème de santé public de par sa fréquence, sa gravité potentielle et sa conséquence parfois tragique. Toutes les couches de la population sans distinction d'âge ni de sexe peuvent être touchées. Son emploi présente un danger permanent tant sur le plan individuel que collectif.

De plus, sa libre commercialisation le laisse à la portée d'utilisateurs inconscients du danger du produit qu'ils manipulent. Ce phénomène semble dominant dans les pays sous développés, ou les gens, s'intéressant à l'agriculture, sont dans leur majorité des analphabètes, à l'inverse des pays développés où l'utilisation de phosphore d'aluminium est régie par une réglementation stricte.

N'oublions pas son utilisation volontaire dans un but suicidaire ou criminel.

➤ **But de travail :**

Ce travail est effectué au sein de l'institut national d'hygiène et permet de chercher le phosphoxin dans un but médico-légal afin de chercher la cause de l'intoxication.

Ce travail est réalisé sur des échantillons de sang et de liquide gastriques prélevés lors de l'autopsie.

Durant ce stage les stagiaires n'ont pas le droit de travailler sur des échantillons récents car la loi l'interdit, mais on a fait des essais sur des échantillons anciens.

Les échantillons sont analysés par la technique des bandelettes et la SAA.

II-Présentation de l'INH

L'Institut d'Hygiène du Maroc a été inauguré le 30 décembre 1930 à Rabat dans le but de prendre en charge les problèmes d'hygiène et l'épidémiologie des maladies transmissibles du Maroc et de diffuser les notions élémentaires de l'hygiène et de la prophylaxie pour protéger la santé de la population. A l'aube de son inauguration, l'Institut d'Hygiène s'est penché sur les maladies sociales très urgentes de l'époque.



Figure 1 : Institut Nationale d'Hygiène (INH).

Au lendemain de l'indépendance et avec la création de Ministère de la Santé Publique, l'Institut d'Hygiène du Maroc devient Institut National d'Hygiène et constitue aujourd'hui la plateforme scientifique et technique de sécurité sanitaire et l'organe de référence en matière de biologie médicale et environnementale.

L'INH est sous la tutelle du Ministère de la Santé et comprend plusieurs départements, chacun dans son domaine. En plus de son activité de base relative aux analyses médicales et biologiques, les laboratoires de l'INH développent plusieurs axes de recherches dans des domaines en relation avec la santé et l'environnement, et qui ont donné lieu à des publications scientifiques dans des revues nationales et internationales spécialisées. Aussi, l'INH joue un rôle très important dans la production et la diffusion de l'information concernant la recherche en santé à l'échelle nationale.

➤ **Organisation de département**

Le département de toxicologie et d'hydrologie est constitué d'un ensemble de personnel entre cadres et techniciens de laboratoire. Le département est divisé en deux laboratoires dirigés par le professeur ABIDI.

✓ **Laboratoire d'Hydrologie et Toxicologie Alimentaire
qui contient :**

a-Unité d'hydrologie : où s'effectue

- l'analyse des métaux lourds.
- l'analyse physico-chimique des eaux.
- de la recherche des pesticides et des toxiques organiques dans

les eaux et les matrices biologiques.

b-Unité de Toxicologie alimentaire

Le service de Toxicologie permet :

- la Recherche des toxiques dans les aliments.
- La Recherche des toxiques dans les matrices biologiques (sang, urines, plantes et autres)

✓ **Laboratoire santé et environnement**

a-Unité de recherche médico-légale : assure les expertises Médico-légales auprès des Tribunaux.

b-Unité de l'environnement d'eaux de surface et eaux usées et différentes techniques : DCO, DBO, Azote total, phosphore total, matière en suspension

.....

➤ **Activités du Département**

Le Département de Toxicologie et Hydrologie, Environnementale et de recherches Médico-légales assure les activités suivantes :

- Prestations de service au grand public et aux différents départements ministériels (Agriculture, Pêches, Energie et mines, Intérieur, Environnement, Justice) dans les domaines de la toxicologie alimentaire, médico-légale, de l'hydrologie, de l'hygiène industrielle et environnementale ;
- Conseil et accompagnement pour la sécurité dans les secteurs de l'industrie chimique et agroalimentaire et évaluation des risques de contamination ;
- Support unique à l'échelle nationale en matière d'investigation d'hygiène industrielle et environnementale, d'hydrologie, de thermalisme, et de toxicologie ; notamment dans le cadre des intoxications collectives par les substances chimiques ;

- Support technique aux programmes du ministère de la santé dans les domaines de la toxicologie et de l'hydrologie.
- Recherche et développement dans tous les domaines de la toxicologie.

III-Introduction

a-Généralité



Figure2 : les comprimés de phostoxin.

Le phostoxin est un pesticide solide fumigeant, utilisé pour détruire les insectes et les rongeurs dans les entrepôts de céréales. Il peut être utilisé dans la lutte contre le hamster, au moyen de comprimés placés dans les terriers.

Il se présente sous forme de comprimés grisâtres, dosés à 3 grammes, enfermés dans des flacons hermétiques pour maintenir leur fraîcheur et leur activité.

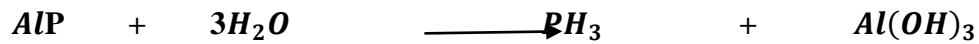
Chaque comprimé contient 56 % de phosphore d'aluminium et 44% de carbonate d'ammonium.

Le phostoxin est largement utilisé pour la désinfection des denrées stockées, du fait de son prix réduit, de son emploi facile et sa grande efficacité.

L'intoxication qu'il provoque est grave et fréquente au Maroc et dans de nombreux pays en voie de développement.

Cette intoxication est due :

*soit à l'inhalation de la phosphine (phosphure d'hydrogène) libérée au contact du phosphore d'aluminium avec l'eau ou l'humidité atmosphérique.



La même réaction aura lieu dans les sacs aériens pulmonaires dans le cas de l'inhalation de la poudre de phosphure d'aluminium.

* Soit à l'ingestion de phosphure d'aluminium qui libère la (PH_3) au contact de l'eau ou de l'acide chlorhydrique dans l'estomac.



Son emploi présente un danger permanent car les comprimés de phosphure d'aluminium dégagent en présence d'air humide, de l'hydrogène phosphoré ou phosphure d'hydrogène extrêmement toxique pour l'homme et les animaux et dont l'odeur alliacée n'est perceptible qu'à partir d'une concentration dans l'air de 0.002 partie pour mille.

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>Usages : fumigation des denrées stockées</p> <p>Usage agricole (produits alimentaires) :</p> | <p>céréales non transformées (orge, blé, riz, seigle ...)</p> <p>produits à base de céréales (pâte, biscuit, pain, semoule, farine)</p> <p>thé et produits assimilés</p> <p>épices et condiments</p> <p>graines oléagineuses</p> <p>légumineuses</p> <p>légumes séchés</p> <p>fruits séchés</p> <p>fruits à coques (noix)</p> <p>fèves de cacao</p> |
| <p>Usage agricole (produits non alimentaires)</p> | <p>rongeurs (campagnol, rat, taupe, lapin de garenne)</p> |
| <p>Usage non agricole (produits alimentaires)</p> | <p>viandes salée, séchée et transformée, produits à base de poisson, produits laitiers (lait en poudre, fromage ...)</p> <p>chocolat et produits à base de chocolat, bonbons et sucres transformés</p> |
| <p>Usages biocides</p> | <p>Fibres naturelles brutes et transformées (laine, coton, vêtements...) Cuir, articles en cuir, peaux d'animaux et fourrures, Plumes, Bois, copeaux de bois, meubles, bambou, rotin et produits dérivés Papier et produits dérivés, Plantes séchées et fleurs. Matériaux d'emballage (boites en carton, sacs en papier et jute, boites en bois...)</p> |

b- Propriétés physiques et chimiques

Le phosphure d'hydrogène est un gaz incolore, liquéfiable, solidifiable, inodore quand il est pur, mais le phostoxin, produit dérivé est caractérisé par son odeur nauséabonde rappelant celle de l'ail ou du poisson pourri.

La phosphine est un gaz explosif, s'enflamme spontanément dans l'air si la concentration dépasse sa limite inférieure d'inflammation qui est de 1,8%.

Il a la particularité de corroder certains métaux tels que le cuivre, l'argent et l'or.

Le phosphure d'hydrogène a une densité très proche de celle de l'air, d'où sa rapide diffusion qui nécessite sa mise en œuvre dans des locaux adaptés permettant de réaliser une enceinte étanche autour de la denrée soumise à la fumigation.

La phosphine est stable a une température ordinaire, Le produit se décompose à partir 37,5°C.

Il s'enflamme spontanément à l'air. Lorsque le gaz est très pur en présence de l'humidité de l'air, l'inflammation ne se produit que vers 100°C. Mais la présence naturelle d'impuretés (notamment de traces de di phosphines) le rend spontanément inflammable à des températures même inférieures a -15°C. (2, 4,5)

c-Mécanisme d'action :

Le mécanisme d'action de phosphure d'hydrogène est encore mal défini.

Il entraine un blocage non compétitif de la cytochrome-oxydase mitochondriale.

Il agit comme une toxine cellulaire par inhibition de la catalase. (8)

L'inhibition de transfert d'électrons stimule la production du radical d'oxygène libre dont la concentration est encore augmentée par l'accumulation, due à l'hypoxie cellulaire, des cofacteurs réduits.

L'induction du superoxyde dismutase et l'inhibition de la catalase vont entrainer une surcharge excessive en H_2O_2 .

Ce dernier franchit directement la membrane cellulaire, provoque la dénaturation des protéines et la peroxydation des lipides. Il peut réagir indirectement avec la membrane lipidique et produire des radicaux hydroxyles par différents mécanismes. Donc la peroxydation lipidique, une fois initié, produira d'avantage des radicaux d'oxygène, créant ainsi un cercle vicieux.

Enfin, le blocage de transfert d'électrons a comme conséquence la rupture de la chaîne respiratoire et donc l'inhibition de la phosphorylation oxydative qui se manifeste par une crise énergétique cellulaire.

d-Devenir dans l'organisme :

La cinétique de la phosphine dans le corps humain n'est pas encore bien élucidée. Après libération dans l'estomac, le phosphure d'hydrogène est rapidement absorbé dans le tractus gastro-intestinal par simple diffusion.

Il atteint tous les appareils : gastro-intestinal, cardiovasculaire, hépatobiliaire, respiratoire, rénal et le SNC.

Le phosphure d'hydrogène est métabolisé en phosphates, hypophosphite et phosphite.

Ces métabolites sont éliminés par voie urinaire, alors qu'une petite quantité est libérée sous forme inchangée par les poumons. (4)

e-Toxicité :



Figure3 : PHOSTOXIN P (Degesch) à base de phosphure d'aluminium.

Chaque comprimé de phostoxin peut libérer 1g de PH_3 .

Sur le plan international, le produit est connu pour ses accidents toxiques par inhalation ; cependant, chez le rat, l'inhalation d'air renfermant 0.68mg de PH_3 par litre provoque la mort dans un délai de l'ordre d'une heure. Une concentration de 2.8mg/litre est rapidement mortelle pour l'homme, alors qu'une

concentration de 0,56 à 0,84 mg par litre est mortelle après ½ heure à une heure d'exposition. (5)

Au Maroc le mode d'intoxication par ingestion volontaire, à but autolytique est le plus prépondérant, malgré une législation interdisant et contrôlant la vente du produit, cependant, la dose létale pour un adulte de 70 kg est de 0,5g.

Du fait de leur nature fumigène, les comprimés exposés à l'air et aux moisissures, dégagent la phosphine et perdent leur toxicité.

Evaluation de la gravité :

- Grade 0 : Aucun signe ou signe non en rapport avec l'intoxication
- Grade 1 : Signes spontanément régressifs
- Grade 2 : Signes prononcés
- Grade 3 : Intoxication sévère avec risque vital
- Grade 4 : Décès(14)

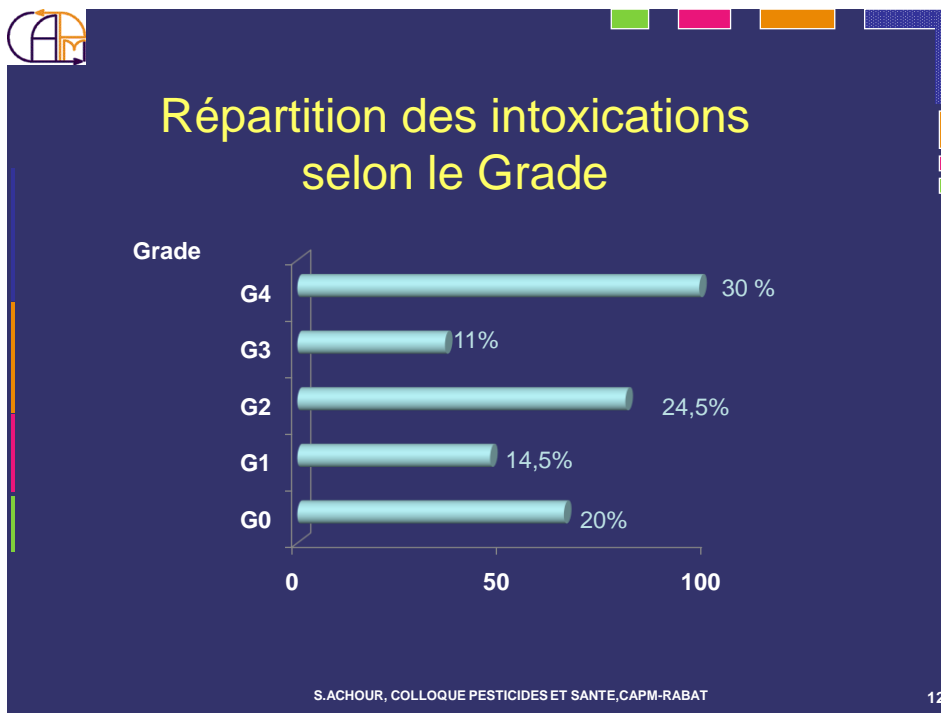


Figure4 : répartition des intoxications selon le grade :

f-Intoxication aigue :

Le phostoxin est devenue le moyen usuel d'intoxication dans les tentatives d'autolyse.

L'intoxication peut être aussi criminelle comme elle peut être accidentelle.

Mais la fréquence des intoxications suicidaires est de loin supérieure à celle des intoxications accidentelles ou criminelles.

Et comme ils contiennent du phosphore d'aluminium, les comprimés (ainsi que leur poussière résiduelle) réagissent à l'humidité de l'air, aux acides et à de nombreux autres liquides. Elles libèrent alors un gaz, le phosphore d'hydrogène (phosphine) (10)

Une *légère exposition* des voies respiratoires (inhalation) peut entraîner les symptômes suivants :

- ❖ malaise (sensation vague de trouble physiologique)
- ❖ bourdonnement dans les oreilles,
- ❖ fatigue,
- ❖ nausée et pression dans la poitrine.

Ces symptômes disparaissent si la personne quitte l'endroit fumigé pour aller à l'air frais.

Un *empoisonnement moyen* se traduit par les symptômes suivants :

- ❖ faiblesse,
- ❖ vomissements,
- ❖ douleurs abdominales,
- ❖ douleur dans la poitrine,
- ❖ diarrhée et dyspnée (respiration difficile).

Une *intoxication forte* peut mettre plusieurs heures à quelques jours à se déclarer. Elle peut causer :

- ❖ un œdème pulmonaire (accumulation de liquide dans les poumons) et entraîner des étourdissements, une cyanose (coloration bleue ou violacée de la peau),
- ❖ une perte de conscience et la mort.

Si la concentration dépasse un certain seuil, par exemple chez un adulte de 70Kg à une dose de 0,5 g, la phosphine affecte le foie, les reins, les poumons, le système nerveux et l'appareil circulatoire.

L'ingestion peut entraîner les symptômes aux poumons et au cerveau qui ont été détaillés plus haut, mais il est plus fréquent de voir des dommages aux organes des cavités corporelles.

III-1-Données épidémiologiques

Les intoxications mortelles sont en augmentation continue, elles représentent une des premières causes de décès des individus de moins de 30 ans dans les pays en voie de développement.

Parmi ces intoxications on trouve l'intoxication aux pesticides, et plus spécifiquement L'intoxication au phostoxin (phosphure d'aluminium), qui est assez fréquente en milieu marocain. Elle représente selon l'institut médico-légal du CHU Ibn Rochd de Casablanca 20 à 19% de toutes les morts par intoxications autopsiées durant une période comprise entre septembre 1999 et décembre 2006.

Une étude rétrospective des cas d'intoxications aiguës au Phostoxin® déclarés au niveau de CAPM a été réalisée entre 1989 et 2008. L'analyse descriptive a porté sur l'âge, le sexe, les circonstances et l'évolution.

Au total 336 cas d'intoxications au Phostoxin® ont été déclarés au CAPM, soit 3% de l'ensemble des intoxications aux pesticides.

| âge | adulte | But | Sexe ratio | Intoxication | décès |
|-----|--------|-----|------------|--------------|-------|
|-----|--------|-----|------------|--------------|-------|

| | | suicidaire | (M/F) | domicile | |
|-----------|-----|------------|-------|----------|-----|
| 25.5±13.5 | 59% | 77% | 0,85 | 96% | 36% |

Tableau2 : les cas d'intoxications aiguës au phostoxin déclaré au niveau de
CAPM
Entre 1989 et 2008

Différentes tranches d'âge peuvent être touchées par cet intoxication(14) :

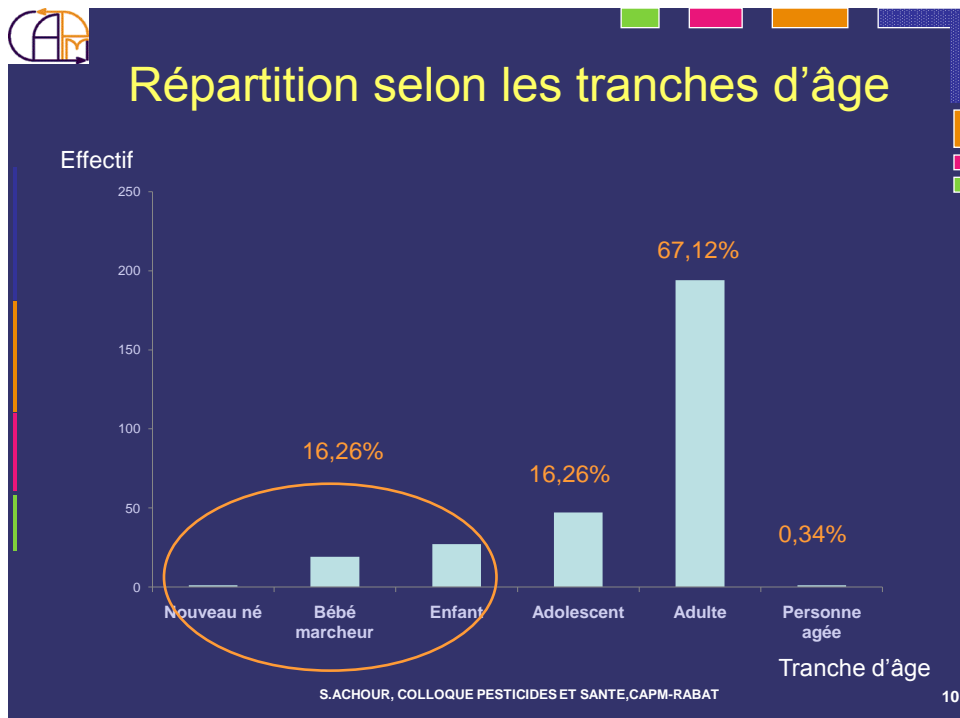


Figure5 : Répartition des intoxications selon les tranches d'âges.

On remarque que L'âge moyen des intoxiqués au phostoxin au Maroc est de 26ans. Cela est du à des difficultés socio-économiques et affectives : conflits familiaux, conjugaux, problèmes sentimentaux, échecs scolaire, chômage....

D'une autre part, le suicide est rare chez les personnes âgées, ceci est probablement du au rôle important que joue notre religion islamique, ainsi que la structure familiale encore relativement intacte dans notre société.

Les circonstances de l'intoxication sont très différentes et le diagramme suivant montre les différents modes d'intoxication(14) :

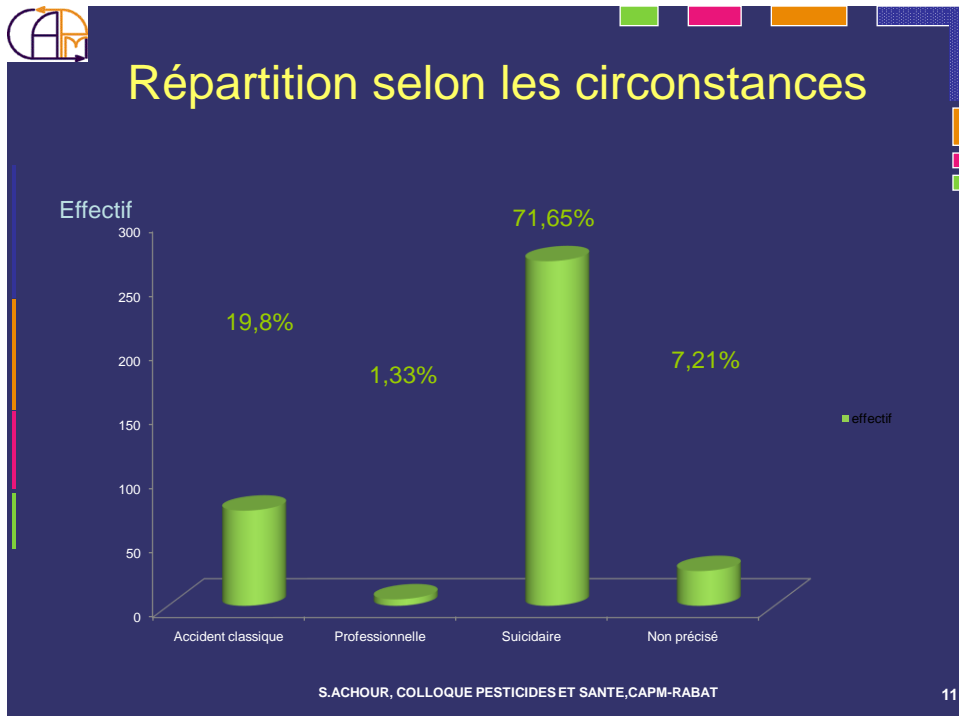


Figure 6 : Répartition des intoxications selon les circonstances.

III-2-Quantité et Etat du produit ingéré :

Ces deux paramètres influencent directement le pronostic.

La dose ingérée varie entre 1,5 et plus de 9g (1/2 et plus de 3 comprimés).

Le taux de mortalité, dans l'intoxication par le phosphore d'aluminium, dépend de la dose consommée et de la fraîcheur des comprimés.

Exemple rapporté par CHUGH (9) :

- 1 comprimé (3g) présentent une mortalité de 40%.
- 2 comprimés (6g) présentent une mortalité de 50%.
- 3 comprimés (9g ou plus) présentent une mortalité de 100%.

Une étude réalisée par Lowenthal en 1949 montre que des souris exposées pendant 2h à 50 ppm de phosphine meurent dans un délai de 24 heures.

Deux expériences séparées ont été réalisées. Les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau 3 : effet toxique de la phosphine

| Expérience | Concentration de PH3 (ppm) | Durée d'exposition (min) | Mortalité (%) |
|------------|----------------------------|--------------------------|---------------|
| A | 20 | 360 | 33,3 |
| | 40 | 240 | 66,6 |
| | 27 | 480 | 83,3 |
| | 40 | 360 | 100 |
| B | 33 | 360 | 16,6 |
| | 60 | 240 | 33,3 |
| | 33 | 480 | 83,3 |

Pour deux expériences indépendantes A et B (sur des rats femelles) on remarque que pour chaque expérience, la mortalité est en fonction de la dose et du temps d'exposition (13).

Le Délai entre l'intoxication et l'hospitalisation dépend de la rapidité avec laquelle les malades sont découverts, de la réaction de l'entourage face à la tentative d'autolyse et de la facilité d'accès à l'hôpital.

Le délai moyen a été de 7 heures, avec des extrêmes allant de 1 à 14 heures.

Du fait de la grande toxicité du phostoxin, un grand nombre de patients décèdent avant l'arrivée à l'hôpital.

III-3-Traitement

L'objectif principal du traitement est la lutte contre l'état de choc par des mesures appropriées et le maintien de la vie du patient jusqu'à l'excrétion complète de la phosphine par les reins sous forme de phosphatides, et par les poumons sous forme inchangé.

Les moyens utilisés pour atteindre ces objectifs sont :

a-Charbon activé

L'administration de charbon activé absorbant s'est imposée de plus en plus comme la base du traitement pour la plupart des ingestions toxiques.

Le charbon activé pratiquement dénué d'effet secondaire, peut être donné sans restriction de temps et pour toute ingestion toxique à l'exception des contre indications classiques.

Au cours de l'intoxication au phostoxin, le schéma le plus souvent recommandé est de 0,5 à 1g/kg toutes les 4 à 6h jusqu'à la disparition des signes toxiques.

b-Lavage gastrique

Le lavage est répété deux à trois fois afin d'éliminer et oxyder le poison inabsorbé.

c- Les Anti-acides

L'utilisation judicieuse d'antiacides est recommandée pour diminuer le degré d'acidité de la sécrétion gastrique par leur pouvoir tampon et par neutralisation de l'acide chlorhydrique ; et donc pour réduire les symptômes digestifs et éviter l'apparition de complications.

IV-Matériel et méthodes

1-Matériel

a-Echantillons biologiques

➤ le sang

- ❖ Les recherches sont pratiquées sur sang total (l'anticoagulant le plus employé est l'héparine).
- ❖ cet échantillon devra être transporté avec beaucoup de précautions afin d'éviter toute hémolyse susceptible de gêner la recherche toxicologique.
- ❖ Toute médication administrée au sujet intoxiqué devra être mentionnée sur la fiche de demande d'examen toxicologique car elle peut influencer sur les résultats de l'analyse en augmentant le taux de l'aluminium (par exemple les antiacides)

➤ le liquide gastrique :

Cet échantillon inclut tout aussi bien les vomissures que le produit de lavage gastrique ou encore d'aspiration gastrique.

Le liquide gastrique est tout à fait indiqué pour la recherche qualitative, car obtenu à grand volume et offrant une plus grande concentration en toxique que le sang, ce qui est due à la présence de l'acide chlorhydrique qui catalyse la libération de la phosphine.

b-produits et réactifs

*gants en double car on manipule avec le sang, qui peut contenir des virus comme l'hépatite ou VIH.

*Masque

*Hôte

*bandelettes de papier filtre (hauteur 7cm*longueur 0,5cm)

*bain-marie

*bêcher de 100ml

*pipette de 5ml en verre.

*pissette

*solution saturée de nitrate d'argent dans le méthanol (50g/l)

*solution aqueuse d'acétate de plomb (100g/l)

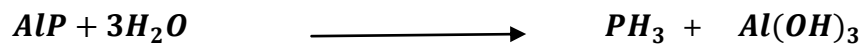
*Spectrométrie d'absorption atomique.

2-Méthodes

2-1- Technique des bandelettes

a-principe

Le principe de la méthode est basé sur le pouvoir réducteur de l'hydrogène phosphoré qui transforme le nitrate d'argent en argent donnant aux bandelettes une coloration noire caractéristique :



b- Mode opératoire

*On plonge une bandelette de papier wattman de type série 4 (utilisé comme support de réaction) dans la solution de nitrate d'argent et on sèche à la température ambiante.

*On plonge une autre bandelette dans la solution de plomb, puis on sèche à la température ambiante.

* 5ml d'échantillon du sang à analyser sont placés dans un tube à essai qu'on ferme avec bouchon tout en coinçant alternativement les 2 bandelettes.

*Le tube bouché est chauffé au bain marie à 60°C pendant 20 min.

*parallèlement un tube témoin négatif non chargé en phosphore est soumis au même protocole.

Le noircissement du seul papier au nitrate d'argent met en évidence la présence de phosphore d'aluminium dans l'échantillon analysé.

Les sulfures donnent la même coloration noire aux 2 bandelettes. Par conséquent, le noircissement de ces deux bandelettes indique que les sulfures peuvent être présents et le résultat n'est pas concluant.

Pour la confirmation des résultats, la spectrométrie d'absorption atomique est utilisée.

2-2-spectrométrie d'absorption atomique

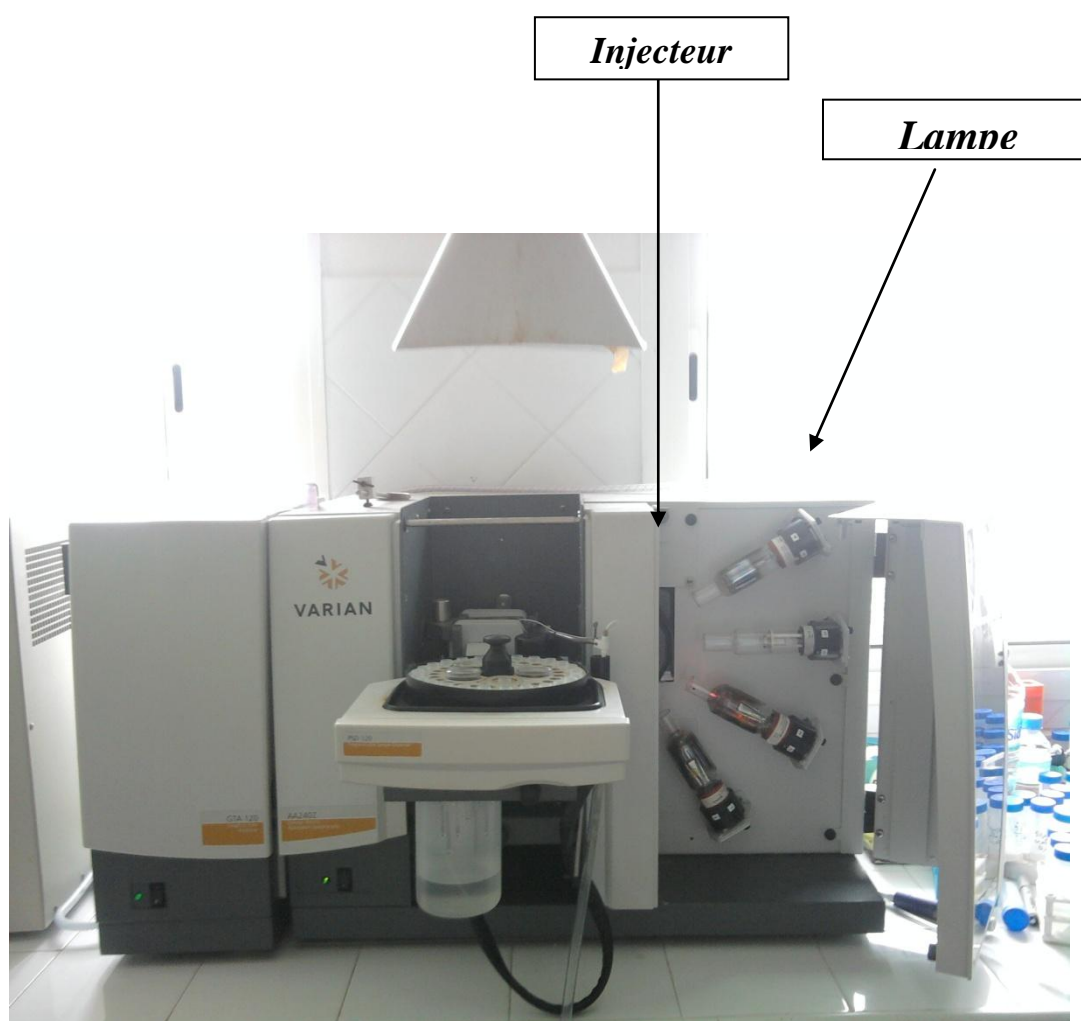


Figure7 :la spectrométrie d'absorption atomique à four utilisé au dosage des traces métalliques de type Varian

a- Définition

La spectrométrie atomique étudie les émissions ou absorptions de lumière par l'atome libre, c'est à dire lorsque celui-ci voit son énergie varier au cours d'un passage d'un de ses électrons d'une orbite électronique à une autre.

Généralement seuls les électrons externes de l'atome sont concernés. Ce sera le cas si les énergies mises en jeu sont modérées.

La spectrométrie par absorption permet de doser une soixantaine d'éléments Chimiques à l'état de traces. L'analyse se base sur l'absorption de Photons par des atomes à l'état fondamental Cette méthode est :

- * quantitative

- * relative : il faut donc faire une courbe d'étalonnage qui est préparée à partir d'une solution standard de 1000mg/l d'aluminium de type Merck.

Cette méthode présente de nombreux avantages :

- * Elle est très sélective

- * la technique est simple si on sait préparer les solutions initiales.

- * elle est très documentée : tous les pièges sont connus et répertoriés dans le Manuel livré avec l'appareil.

Cependant, on peut noter pour des raisons technologiques et non de principes, certains éléments, Comme les gaz rares, les halogènes... ne peuvent être analysés par Spectrométrie, leur énergie d'absorption n'étant pas comprise entre 180 et 1000 nm).

b-Principe

C'est une technique utilisée couramment pour le dosage des métaux lourds dans différentes matrices que ce soit l'eau, aliment, sang, urines.

La SAA étudie les émissions ou absorptions de lumière par l'atome libre, c.à.d. les atomes absorbent leur propre énergie par le passage d'un de ses électrons d'une orbite électronique à une autre. Généralement seuls les électrons externes de l'atome sont concernés.

La SAA fonctionne avec 2 procédés différents :

*la flamme : pour l'analyse des éléments en abondance, le gaz vecteur ainsi utilisé

est L'acétylène.

* le four : pour l'analyse des éléments à l'état de traces, il utilise l'argon comme

gaz Vecteur.

SAA à flamme



SAA à four





Figure8 : la spectrométrie d'absorption atomique de four et de flamme de type Varian

La différence entre les 2 méthodes c'est que la SAA avec four est plus sensible que SAA avec flamme.

-dosage de l'aluminium :

➤ Minéralisation :

Avant de doser l'aluminium par la spectrométrie d'absorption atomique, il faut tout d'abord minéraliser les échantillons pour éliminer les matières organiques, la minéralisation se fait dans des tubes contenant 1ml de l'échantillon à analyser

et 4 ml de l'acide nitrique, les tubes sont laissés pendant une nuit ; puis ils sont chauffés au bain marie 3 à 4h à 80°C.

Parallèlement un tube témoin contenant 5 ml d'acide nitrique est soumis au même protocole.

Puis une dilution de 1/50^{ème} est réalisée.

➤ **Lecture :**

La courbe d'étalonnage est préparée à partir d'une solution standard de 1000 mg/l d'Aluminium de type MERCK.

Une solution de 50mg/l est préparée à partir d'une solution intermédiaire, on injecte cette solution dans l'appareil, des solutions de 25mg/l et 15mg/l sont préparées automatiquement,

Une courbe d'étalonnage est tracée à partir de ces trois points.

Une fois l'échantillon est introduit (1ml), il subit les transformations physiques suivantes :

***Evaporation** : permet l'élimination de l'eau par une augmentation de la température jusqu'à 110°C.

***Calcination** : pour éliminer le reste de la matière organique à une température de 500°C.

***Atomisation** : une augmentation de la température jusqu'à 2600°C, et formation d'un nuage atomique.

La loi d'absorption en absorption atomique

L'intensité de l'absorption dépend directement du nombre de particules absorbant la lumière selon la loi de Beer Lambert selon laquelle l'absorbance est proportionnelle au coefficient d'absorption spécifique a , au trajet optique b et à la concentration c .

$$\text{Abs} = abc \quad \text{ou} \quad \text{Abs} = DO = \epsilon cl$$

Où $A = \log I_0/I$.

I = intensité après absorption par les atomes.

I_0 = intensité initiale de la source lumineuse.

Le tableau suivant représente les normes d'aluminium et de phosphore dans les différentes matrices biologiques :

Tableau4 : teneur en phosphore et en aluminium totaux dans les différents échantillons biologiques(15)

| Milieu biologique | Phosphore totale | Valeurs usuelles | Aluminium totale | Valeurs usuelles |
|-------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| Sang | 76,3mg/l | 25-45mg/l | 1537µg/g | 9-15µg/l |
| Urines | 564mg/l | 681-1300mg/l | <0,1µg/l | <0,1µg/l |
| Cerveau | 4.3mg/g | 2,36±0,5mg/g | 36µg/g | 2±1µg/l |
| Cœur | 1,37mg/g | 1,27±0,30mg/g | 4,6µg/g | <1µg/g |
| Surrénales | 4.52mg/g | ** | 44µg/g | ** |
| Foie | 8,22mg/g | 2±0,05mg/g | 75µg/g | 3±1µg/g |
| Rein | 2,05mg/g | 1,75±0,05mg/g | 3µg/g | 3±1µg/g |

V-Résultats et interprétation

Dans le but de déterminer la présence de phosphine, des analyses ont été faites sur des échantillons de sang et de liquide gastrique chez trois patients.

Le test des bandelettes par la technique expliquée plus haut, a donné les résultats suivants :

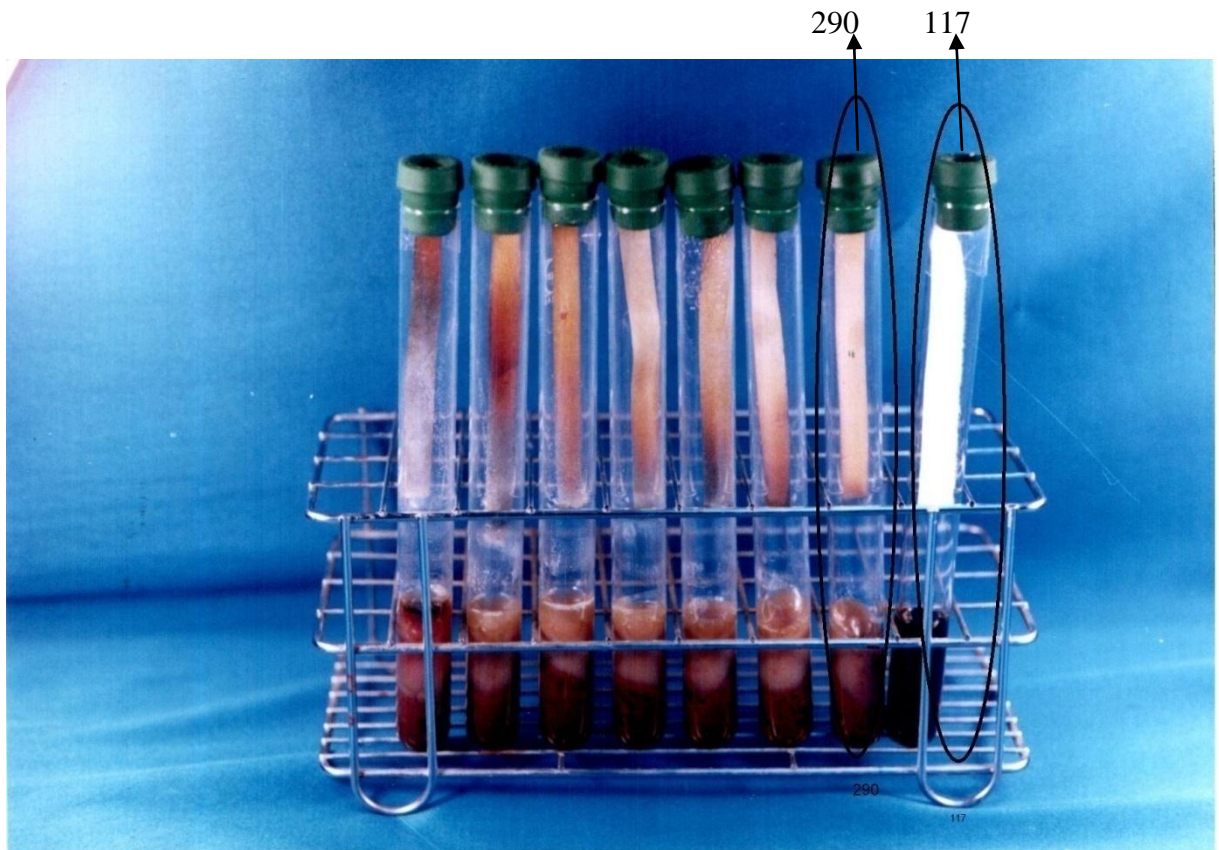


Figure9 : Photos de l'analyse du sang par la technique des bandelettes

- On voit que les résultats des bandelettes sont négatifs (pas de noircissement) se qui signifie que la phosphine est absente.

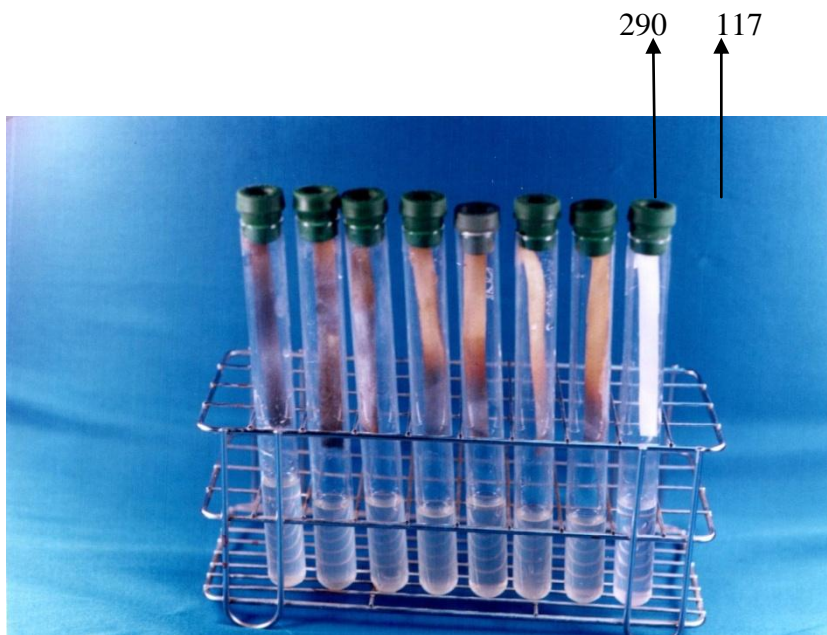


Figure10 : Photo de l'analyse de liquide gastrique des patients 117 et 290
par la technique des bandelettes.

- Les résultats sont négatifs ce qui signifie que la phosphine est absente.

Sang

LG





Figure11 : Photo de l'analyse du sang et liquide gastrique du patient 292 par la technique des bandelettes

- Noircissement des bandelettes donc le test est positif, ce qui signifie la présence de la phosphine.

Les valeurs suivantes représentent les résultats obtenues après le dosage par la spectrométrie d'absorption atomique avec une dilution de 1/50 :

Tableau4 : Résultats du dosage de l'aluminium par SAA.

| Echantillon | Concentrations initials($\mu\text{g/l}$) | Concentrations Finales($\mu\text{g/l}$) |
|---------------------------------|----------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|
| 117 sang | 33,36 | 136,35 |
| 117liquide gastrique | 28,54 | 82,7 |
| 290sang | 11,96 | * |
| 290liquide gastrique | 14,51 | 12,1 |
| 292 sang | 25,10 | 65,05 |

-pour les échantillons 117 et 290 le taux de l'aluminium est élevé par rapport à la valeur normale qui est entre 9-15µg/l.

-pour l'échantillon 292 le taux de l'aluminium est normal.

-*: constitue une valeur qui est probablement due à une dilution des réactifs.

➤ Les valeurs obtenues ne confirment pas les résultats des bandelettes

VI-Discussion

Pour les échantillons 117et 290 le test des bandelettes est négatif mais le taux de l'aluminium est élevé, cela est peut être du aux conditions de prélèvement, ou l'évaporation de la phosphine lors du prélèvement.

Pour détecter les toxiques dans les liquides biologiques, le laboratoire doit tout d'abord disposer d'échantillons adéquats. Le prélèvement est une étape essentielle dans la pratique d'une analyse toxicologique et la qualité d'un prélèvement affecte directement la qualité de l'analyse et par conséquent la crédibilité des résultats et la fiabilité de la méthode.

Le dosage de l'aluminium est particulièrement délicat en raison de l'ubiquité de cet élément trace et des risques majeurs de contamination ; il est nécessaire de prendre des précautions rigoureuses lors du prélèvement et de l'acheminement (conservation, transport) au laboratoire.

Pour détecter la présence du phostoxin, les médecins se basent surtout sur les symptômes présents lors de l'autopsie.

Ces symptômes sont ensuite confirmés par les analyses au laboratoire de toxicologie, et je n'ai pas eu la possibilité de travailler sur des échantillons nouveaux.

Les résultats suivants ne sont que des archives. (Congelé)

Pour l'échantillon 292 le test des bandelettes était positif, alors que le taux de l'aluminium est normal.

- Alors on peut dire que dans les échantillons 117 et 292, le phostoxin est ingéré.
- Dans l'échantillon 290 le phostoxin est inhalé.

VII-Conclusion

Au Maroc, l'intoxication aigue au phostoxin constitue un réel problème de santé publique de par sa fréquence, sa gravité potentielle et sa conséquence parfois tragique. Toutes les couches de la population sans distinction d'âge ni de sexe, peuvent être touchées.

L'analyse toxicologique est basée sur une recherche de la phosphine libérée après l'ingestion de phosphure d'aluminium dans le sang et/ou le liquide gastrique. En effet, c'est une technique colorimétrique purement qualitative, simple à réaliser, précise, et surtout rapide.

La symptomatologie est brutale avec apparition de signes digestifs et de troubles nerveux. Le pronostic immédiat est déterminé par l'existence d'un œdème pulmonaire ou d'un choc car diogénique. L'atteinte hépatique apparaît secondairement.

La prévention semble donc être le moyen idéal pour diminuer la mortalité par ingestion de produits toxiques : elle devra viser essentiellement l'éducation large de la population et l'application rigoureuse de la législation régissant la commercialisation de ces produits.

VIII-Perspective

D'autre méthode peut être utilisé pour le dosage de l'aluminium c'est l'Ériochrome Cyanine R.

Le principe général de cette méthode est que l'aluminium dilué dans une solution tampon de pH 6 réagit avec l'Ériochrome cyanine R et produit un complexe rose.

L'intensité maximale de la Coloration ainsi obtenue est détectée à une longueur d'onde de 535 nm par le colorimètre.

Après avoir fait réagir le réactif avec les solutions, la procédure est la même que pour la méthode Précédente, c'est-à-dire qu'il faut tracer une courbe d'étalonnage. En se référant à cette courbe, il est ensuite possible de déterminer la concentration en aluminium d'un échantillon, après avoir mesuré son absorbance.

Mais cette technique reste moins fiable que la spectrométrie d'absorption atomique, cette dernière reste la plus utilisé pour le dosage de l'aluminium, et au Maroc est la plus utilisé pour confirmer une intoxication par le phostoxin après l'utilisation des bandelettes.

VIII-ANNEXE

-Résumé des consignes de sécurité

a-Précautions :



Figure12 : photo des vêtements de protection

Par leur fréquence et leur gravité, les intoxications aiguës au phostoxin posent un problème préoccupant.

La prévention de ces intoxications reste le meilleur moyen de lutte et ne peut se faire qu'au prix d'efforts permanent portant sur :

- Une réglementation et un contrôle plus efficace de la commercialisation de ce produit.
- La création d'un corps de délivreurs, de façon que le pesticide soit délivré avec tous les conseils indispensables à l'emploi, tant en ce qui concerne les utilisateurs que les tiers susceptibles d'en subir les préjudices.
- Une meilleure information des usages sur les dangers de manipulation du phostoxin, et sur les précautions d'usage.
- Port de gants, masques, lunettes, manipulations prudentes, bonne hygiène corporelle (lavage des mains, du visage, du corps...)
- Un information adéquate du public, ceci par l'intermédiaire des moyens radio visuels, sur la toxicité de ce produit, sur la nécessité de le tenir de manière à ce qu'il ne soit pas à la portée des

enfants, et surtout sur les premiers gestes à faire et ceux à éviter en cas d'intoxication.

- Une amélioration des conditions de vie des personnes et la compréhension des problèmes des jeunes et leur intégration socioprofessionnelle.
- Se laver les mains après avoir utilisé le phostoxin. Aérer les gants/vêtements contaminés dans une zone bien ventilée avant de les laver.

b-Premiers secours

1- Inhalation : En cas de maux de tête, vertiges, gêne respiratoire, nausées, quitter immédiatement la zone de danger et se rendre à l'air libre, consulter un médecin ; inhaler des produits pour traitement acut selon l'exposition aux gaz brûlés.

2- Contact avec les yeux : Enlever les résidus du produit avec du coton non-ducteux ; rincer avec beaucoup d'eau et mettre des gouttes de collyres liquides, lorsque toute trace de poudre résiduelle a disparu.

3- Contact avec la peau : Brossez la poudre résiduelle et seulement après laver avec de l'eau.

4- Ingestion : En cas d'ingestion accidentelle, consulter immédiatement un médecin. Provoquer le vomissement (pas à faire si la victime est inconsciente). Ne pas manger, boire et fumer pendant le travail.

X-Bibliographie :

1-Thèse numéro 24 de Hasna Benjrad pour l'obtention du doctorat en pharmacie
Rabat.

- Expérience du Centre Anti Poison du Maroc (CAPM) (1989-2008)

2-Degesch America

Materiel safety data sheet: aluminium phosphide, May 1996.

3-Environmental protection agency (EPA)

Extension toxicology network: aluminium phosphide, January 1994.

4-Environmental protection agency (EPA).

Fumigants: aluminium phosphide, Décembre 1997.

5-TRUHAUT R

Sur une demande d'utilisation de la phosphine à base de phosphore
d'aluminium pour la désinfection des denrées stockées.

Bull.Acad.NATLE.Méd, 1985, 169(6) :897-907.

6-SINGH RB, SINGH D, WIG N, JIT I

Aluminium phosphide ingestion: a clinico- pathologic study.

J.toxicol. clin.toxicol, 1996, 34(6):703-706.

7-YADAV J

Need for antidote for aluminium phosphide poisoning.

Indian.J.Physiol.Pharmacol, 1997, 41(2): 189-190

8-GOSWAMI M, BINDAL M, SEN P

Fat and oil inhibit phosphine release from aluminium phosphide- its
clinical implication.

Indian journal of experimental biology, 1994, 32(9):647-649.

9-CHUGH SN, JAGGAL KL, SHARMA A

Magnesium levels in acute cardio toxicity due to aluminium
phosphide

Poisoning.

Indian journal of medical research, 1991, 94(12):437-439

10-DEGESCH AMERICA, INC

11-Standard methods for the examination of water and wastewater. «
Eriochrome Cyanine R Methods », American Public Health Association,
Washington, États-Unis, 1971, p. 57-62.

12- 4ème JOURNEE DE LA SOCIÉTÉ MAROCAINE DE TOXICOLOGIE
CLINIQUE ET ANALYTIQUE

"Les Intoxications mortelles : Gestion et Prise en Charge"

25 octobre 2007, Institut National d'Administration Sanitaire (INAS) - Rabat

13- INERIS, 2008 – Emissions accidentelles des substances chimiques dangereuses dans l'atmosphère seuil de toxicité aigue. INERIS – DRC – ETSC – N° 47021 – 06DR071.

14-le 2ème colloque scientifique de pesticides et santé Rabat, le Maroc 27 avril
2011

15-TOXICORAMA,vol. XI, n°4, 1999

Intoxication fatale par ingestion de phosphure d'aluminium