



Année Universitaire : 2014-2015

**Master Sciences et Techniques : CMBA
Chimie des Molécules Bio Actives**



MEMOIRE DE FIN D'ETUDES
Pour l'Obtention du Diplôme de Master Sciences et Techniques

**EXPOSITION AUX PESTICIDES DANS LA VILLE DE FES : EVALUATION
DE LA CONTAMINATION PAR LES ORGANOPHOSPHORES DANS LE
SANG ET LES URINES**

Présentée par:

DAHO IDRISSE SAMAH

Encadré par:

- | | |
|-------------------------|------------|
| ✓ Pr A. EL OUALI LALAMI | ISPITS Fès |
| ✓ Pr H. ALILOU | FST Fès |

Soutenu Le 24 juin 2015 devant le jury composé de:

- | | |
|-------------------------|------------|
| - Pr A. EL OUALI LALAMI | ISPITS Fès |
| - Pr H. ALILOU | FST Fès |
| - Pr O. SQUALLI | FST Fès |
| - Pr J. E HAZM | FST Fès |
| - Dr Y. BENNIS | BCH Fès |
| - Pr B. OUMOKHTAR | FMP Fès |





Remerciements

Que mes remerciements soient désignés à Mme R. SOULAYMANI Directrice du Centre Antipoison et de Pharmacovigilance du Maroc (CAPM) pour m'avoir fait confiance et accepter que j'effectue mon stage de fin d'étude au sein de son établissement.

Qu'il nous soit aussi permis de remercier vivement Pr EL OUALI LALAMI A., pour le soin qu'il a pris pour mon encadrement, la confiance et le soutien qu'il m'a toujours accordé durant toute la période de la réalisation de ce travail. Merci pour son aide qui m'a permis de progresser dans les meilleures conditions.

Qu'il nous soit aussi permis de remercier vivement Pr ALILOU.H., Je le remercie d'avoir accepté d'encadrer ce projet et de me faire part de son expérience. Qu'il reçoit ici l'expression de mes gratitude et de mes reconnaissances pour sa disponibilité, sa gentillesse et la qualité de ses précieux conseils qui m'ont permis de mener à bien ce projet de fin d'étude.

J'adresse mes vifs remerciements à PR J.E. HAZM, et O.SQUALLI Professeur à la Faculté des Sciences Et Techniques de Fès pour sa présidence du jury.

Un grand merci à Monsieur DR. BADRANE Responsable du laboratoire de toxicologie du CAPM pour son soutien durant l'exécution de cette étude.

Je n'oublie pas de remercier Mme NAIT DAOUD et M. GHANDI, technicien au laboratoire de toxicologie du CAPM, pour ses aides et encadrement pour l'aisance que dégagait le travail à ses côtés.

Je n'oublie pas de remercier Melle Elouadghiri K., pour ses aides et encadrement pour l'aisance que dégagait le travail à ses côtés.

Un grand merci à Monsieur DR. Y. BENNIS Directeur BCH Fès pour son soutien durant l'exécution de cette étude.

Ce travail ne serait mené à bien sans l'aide et l'appui du personnel du CAPM. Je les remercie vivement pour leur collaboration et leur aide précieuse. Je cite en particulier laboratoire de toxicologie. Mes remerciements vont également au corps professoral de la Faculté des Sciences et techniques Fès pour leur assistance durant ces deux années d'étude.

Enfin, un grand Merci à tous les étudiants du Master Chimie Des Molécules Bioactives, promotion 2014-2015, pour la bonne humeur qui ont su faire régner le long de ces années de formation.



Dédicace

"La vérité scientifique sera toujours plus belle que les créations de notre imagination et que les illusions de notre ignorance"

[Claude Bernard]

Par la cause, nous dédions ce modeste travail à :

Nos chers parents qui nous ont toujours épaulé et aidé tout au long de notre chemin de vie.

Tout le corps professoral de la Faculté des sciences et techniques Fès, et en particuliers les professeurs du Master : Chimie des molécules bioactives.

Nos frères et sœurs que nous aimons très fort.

Nos amis avec qui nous avons passé de bons moments dans la bonne humeur, l'offrande de vie à qui nous souhaitons un futur prometteur

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Appareillage utilisé.....	19
Tableau 2: Résultats de l'enquête sur l'exposition aux pesticides	24
Tableau 3 : Résultats de l'activité cholinestérasique.....	27
Tableau 4: Listes des OPs détectés dans la mixture à 50ppm	32
Tableau 5: Liste des OPs détectés dans la mixture à 5ppm	33
Tableau 6: Liste des OPs détectés dans la mixture à 1 ppm.	34
Tableau 7: Liste des POs détectés dans la mixture à 0,5 ppm	35
Tableau 8: Liste des OPs détectés dans la mixture avec extraction à 50 ppm	37
Tableau 9: Liste des OPs détectés dans la mixture avec extraction à 5 ppm	38
Tableau 10: Liste des OPs détectés dans la mixture avec extraction à 1 ppm.	38
Tableau 11: Résultats d'identification des OPs dans le sang.	40
Tableau 12: Résultats d'identification des OPs dans les urines	41

LISTE DES FIGURES

Chapitre I : Revue Bibliographique

Figure 1: Structure commune aux esters organophosphorés.....	5
Figure 2: Réaction d'oxydation enzymatique de Parathion	7
Figure 3: Réaction d'hydrolyse de Parathion	7
Figure 4: Schéma explicatif du principe de l'extraction liquide-liquide.....	10
Figure 5: Chromatographe à gaz	11
Figure 6: Principe du spectromètre de masse.....	15
Figure 7: Schéma d'un quadripôle	15

Chapitre II: Matériels et Méthodes

Figure 8: Le matériel utilisé pour le dosage de l'activité cholinestérasique.	19
Figure 9: Etapes d'analyses des OPs.....	21
Figure 10: Centrifugeuse (PK121R)	21
Figure 11: Hôte de concentration sous jet d'azote	22
Figure 12: Appareillage de couplage CPG/SM (appareil du CAPM).....	22
Figure 13: Tubes montrant deux phases d'extraction	23

Chapitre III: Résultats et discussion

Figure 14: Répartition d'âge des agents d'hygiène interrogés.	25
Figure 15: Années d'exposition des agents d'hygiène interrogés.....	25
Figure 16: Répartition des agents d'hygiènes interrogés selon leur sexe.....	26
Figure 17: Répartition (nombre) des agents d'hygiène par arrondissements.....	26
Figure 18: Chromatogramme d'identification de mixture des OPs à 50ppm.	29
Figure 19: Spectre de masse de Dimethoate.	30
Figure 20: Spectre de masse de Diazinon	30
Figure 21: Spectre de masse de Fenitrothion.	31
Figure 22: Spectre de masse de Malathion.....	31
Figure 23: Spectre de masse de Chlorpyriphos	32
Figure 24: Chromatogramme d'identification de mixture des OPs à 5ppm.	33
Figure 25: Chromatogramme d'identification de mixture des OPs à 1 ppm.	34
Figure 26: Chromatogramme d'identification de mixture des OPs à 0,5ppm.	35
Figure 27: Chromatogramme d'identification de mixture des OPs à 0.1ppm.	36
Figure 28: Chromatogramme d'identification de mixture avec extraction des OPs à 50ppm.	36
Figure 29: Chromatogramme d'identification de mixture avec extraction des OPs 5ppm.	37
Figure 30: Chromatogramme d'identification de mixture avec extraction des OPs à 1 ppm .	38
Figure 31: Chromatogramme d'identification de mixture avec extraction des OPs à 0,5ppm.	39
Figure 32: Chromatogramme d'identification de mixture avec extraction des OPs à 0.1ppm.	39

LISTES DES ABREVIATION

CAPM : Centre Anti Poison de Pharmacovigilance de Maroc

OP : Organophosphorés

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

IAP : Intoxications Aigues aux Pesticides

AchE : Acétylcholinestérase

BChE : Butyrylcholinestérase

CCM : Chromatographie en Couche Mince

CPG : Chromatographie en Phase Gazeuse

HPLC : Chromatographie Liquide Haute Performance

SM : Spectrométrie de Masse

LOQ : Limite de Quantification

EI : Ionisation Electronique

CI : Ionisation Chimique

SIM: Single Ion Monitoring

Sommaire

LISTES DES ABREVIATIONS	3
INTRODUCTION	1
I. DEFINITION ET CLASSIFICATION DES PESTICIDES	3
1. Historique.....	3
2. Définition.....	3
3. Classification.....	3
II. LES PESTICIDES ORGANOPHOSPHORES	4
1. Définition.....	4
2. Structure chimique et classification des OPs.....	5
3. Toxicocinétique	6
3.1 Absorption	6
3.2 Distribution.....	6
3.3 Activation métabolique.....	6
3.4 Elimination	7
4 Les cholinestérases	7
4.1 Généralité.....	7
4.2 Fonction physiologique et variabilité génétique	8
4.3 Cholinestérases et organophosphorés	8
5. Effet de solvant.....	9
III. METHODES D'ANALYSES DES PESTICIDES.....	9
2. Méthode d'extraction liquide-liquide	10
3. Chromatographie en phase gazeuse	11
4. Spectroscopie de masse	14
5. Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectroscopie de masse	16
IV. MATERIELS ET METHODES	17
1. Enquête sur l'exposition aux pesticides.....	17
2. Activité cholinestérasique	17
2.1 But de l'analyse de l'activité cholinestérasique.....	17
2.2 Méthode d'analyse de l'activité cholinestérasique.....	18
3. Dosage qualitatif des organophosphores.....	19
3.1 Matériels et réactifs utilisés pour le dosage des OPs.	19

3.2	Conditions d'analyse chromatographique.....	20
3.3	Méthode d'analyse des OPs.....	20
V.	RESULTAT	24
1.	Résultats de l'enquête sur l'exposition aux pesticides	24
2.	Résultat de l'activité cholinestérasique	27
3.	Résultats d'extraction de la mixture des OPs.....	28
3.1	Mixture des organophosphorés OPS.....	28
3.2	Extraction de la mixture des Organophosphorés	36
4.	Résultats du dosage qualitatif des OPs au niveau des échantillons des agents d'hygiène.....	40
	DISCUSSION	43
	CONCLUSION RECOMMANDATION ET PERSPECTIVE.....	47

INTRODUCTION

Les pesticides désignent tous les produits chimiques ou biologiques destinés à détruire des éléments vivants considérés comme nuisibles (microbes, vecteurs, animaux ou végétaux) ou destinés à s'opposer à leur développement.

L'usage des pesticides (insecticides, herbicides, fongicides, etc.) a permis d'améliorer les rendements et la diversité des cultures. Il a permis aussi de contrôler un certain nombre de maladies vectorielles (Paludisme, Leishmanioses, Dengue, Nle occidentale,.....), mais cela n'a pas été sans contre partie. En effet, l'utilisation de ses produits, comporte un risque pour l'homme et aussi pour l'environnement ^[1].

Selon le rapport de l'Organisation Mondiale de la Santé, le nombre annuel d'intoxications par les pesticides est estimé entre 1 et 5 millions, dont plusieurs milliers de cas mortels ^[2]. D'autres évaluations de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), montrent que chaque année il y a 1 million d'intoxications involontaires et 2 millions d'intoxications intentionnelles, dont 220 000 décès ^[3- 4].

Au Maroc, bien que peu d'études aient mis l'accent sur la place des pesticides dans la pathologie toxique, certaines d'entre elles ont montré qu'ils constituent une cause d'intoxication loin d'être négligeable. Selon les données du Centre Anti Poison et de Pharmacovigilance du Maroc (CAPM), les Intoxications Aigues aux Pesticides (IAP) occupent la 4ème position après les médicaments, les produits industriels et les aliments et, leur taux brut d'incidence au niveau national était de 2,3 pour 100 000 habitants en 2007 et 2,56 pour 100 000 habitants en 2008 ^[3]. Selon le CAPM, les létalités les plus élevées par les IAP étaient enregistrées dans la région de Tadla-Azilal (9%) suivie de la région de Doukala-Abda (5,5%) ^[5].

Ces chiffres sont suffisants pour confirmer l'existence d'un important problème de santé publique.

Les pesticides au Maroc et pareillement dans la ville de Fès, sont utilisés surtout par trois départements principaux qui sont l'intérieur (pour la lutte contre les moustiques nuisants), la santé (pour la lutte contre les vecteurs de maladies) et l'agriculture (pour la lutte contre les ravageurs de plantes).

Malheureusement, une très grande partie de ces pesticides répandus n'atteint pas leur cible. Une partie importante de ces produits est dispersée dans l'atmosphère, soit lors de leur

application, soit par évaporation ou par envol à partir des plantes ou des sols ce qui aura une influence sans doute sur la santé humaine^[6].

Certains effets néfastes sur la santé (irritations, allergies, intoxications chimiques, cancers...) dus à l'exposition à un pesticide peuvent se faire sentir immédiatement. Certains symptômes peuvent apparaître plusieurs heures après l'exposition. D'autres effets peuvent se manifester après plusieurs années, par exemple le cancer^[7].

C'est dans ce cadre que s'inscrit l'objectif principal de ce travail qui est l'évaluation de degré d'exposition aux pesticides notamment les organophosphorés (OPs), chez une population d'agents d'hygiène, manipulateurs quotidiens de ces produits, au niveau de six arrondissements de la ville de Fès.

Cet objectif général sera décliné en trois objectifs opérationnels à savoir :

1. Une enquête sur le degré et les années d'exposition aux pesticides, utilisés par les agents d'hygiène.
2. L'analyse de l'activité cholinestérasique sur des échantillons de sang prélevés des agents d'hygiène objet de cette étude.
3. Le dosage qualitatif des OPs dans des échantillons humains (sang et urine) de la population étudiée.

A notre connaissance, aucune étude auparavant n'a fait l'objet de ce type d'évaluation de la contamination de la matrice humaine (sang et urines) par les pesticides, dans la ville de Fès lieu de cette étude.

Après la revue bibliographique sur les OPs, présentée dans le premier chapitre, on présentera dans le deuxième chapitre, les méthodes d'analyse de ces composés au niveau des matrices humaines (sang et urine). Les résultats et leurs discussions seront sujets du dernier chapitre.

I. DEFINITION ET CLASSIFICATION DES PESTICIDES

1. Historique

Les premières descriptions de l'utilisation des pesticides remontent à mille ans avant JC avec le soufre. En Orient, dès le XVIème siècle, l'arsenic et la nicotine étaient utilisés. Au XIXème siècle, les premières études scientifiques mettent en évidence l'intérêt du sulfate de cuivre pour détruire les plantes adventices. L'utilisation des produits phytosanitaires connaît un réel essor à partir des années 40, période à laquelle les premiers pesticides de synthèse (lindane, DDT, aldrine, ...) apparaissent sur le marché. Les résultats, très positifs quant aux rendements agricoles, ont été immédiats, cependant les premières accusations d'atteinte à la santé humaine et à l'environnement se firent entendre dès les années 60 ^[8].

Dans les années 70 et 80, la mise sur le marché de molécules moins stables que les organochlorés n'a pas permis la diminution des contaminations. Au contraire, la consommation croissante des produits phytosanitaires en agriculture mais aussi dans d'autres secteurs d'activité a généré non seulement des contaminations des eaux de surface et souterraine mais également des brouillards et des eaux de pluie. En effet, dans les années 90, de nombreuses études scientifiques ^[9-10] ont relaté la présence de produits phytosanitaires dans les brouillards.

2. Définition

Les pesticides désignent tous les produits chimiques ou biologiques destinés à détruire des éléments vivants considérés comme nuisibles (microbes, animaux ou végétaux) ou destinés à s'opposer à leur développement, incluant les espèces non désirées des plantes ou d'animaux responsables de dommages durant ou interférant avec la production, le traitement, l'entreposage ou la commercialisation des aliments, des denrées agricoles, du bois, les vecteurs des maladies humaines ou animales et les organismes nuisibles des matériaux, locaux et habitats les pesticides désignent tout aussi bien la substance active, la spécialité commerciale ou préparation composée d'une ou plusieurs substances actives ainsi qu'un certain nombre d'adjuvants, solvants, ingrédients inertes, substances résiduelles et métabolites qui sont des molécules qui apparaissent au cours de la dégradation du produit.^[11]

3. Classification

Actuellement, les pesticides sont séparés en deux groupes, selon leurs utilisations:

- ❖ Les pesticides à usage agricole ou produits phytopharmaceutiques qui sont des substances chimiques minérales ou organiques, de synthèse ou naturelles. Elles sont utilisées pour la protection des végétaux contre les maladies et contrôles organismes nuisibles aux cultures.
- ❖ Les pesticides à usage non agricole ou biocides qui sont similaires aux premiers, utilisés par exemple en hygiène publique (lutte anti-vectorielle) et dans d'autres applications comme la conservation du bois, la désinfection, ou certains usages domestiques. Environ 300 à 350 matières actives sont autorisées au Maroc et entrent dans la composition de près de 1000 spécialités commerciales, dont plus de 80% homologuées pour utilisation agricole ^[12].

Les pesticides regroupent notamment ^[13] :

- Les acaricides : utilisés pour tuer les acariens ;
- Les bactéricides : utilisés pour tuer les bactéries ;
- Les corvicides ou corvifuges : utilisés pour tuer les corbeaux ;
- Les fongicides : pour tuer les champignons ou inhiber leur croissance ;
- Les herbicides, désherbants, phytocides ou débroussaillants : utilisés pour détruire les adventices (« mauvaises herbes ») ;
- Les insecticides : utilisés pour détruire des insectes ou prévenir leur développement ;
- Les molluscicides : qui tuent les limaces et les escargots (ou les éloignent dans le cas de répulsifs) ;
- Les nématicides : utilisés pour tuer les nématodes ;
- Les parasitocides : utilisés pour tuer les parasites ;
- Les rodenticides : utilisés pour tuer les rongeurs ;
- Les taupicides : utilisés pour tuer les taupes ;

II. LES PESTICIDES ORGANOPHOSPHORES

1. Définition

Les organophosphores (OP) sont des toxiques potentiellement létaux en cas d'intoxication aigue. Ces intoxications ouvrent volontaires sont fréquentes, particulièrement dans les pays en voie de développement avec une fréquence avoisinant trois million d'intoxications par an dans le monde, entier et une mortalité de l'ordre de 200 000 personnes par an ^[14—15].

2. Structure chimique et classification des OPs

Les composés OP ont une structure chimique et un mode d'action commun ^[16]. Leur formule générale a été définie par Schrader (Figure.1) ^[17].

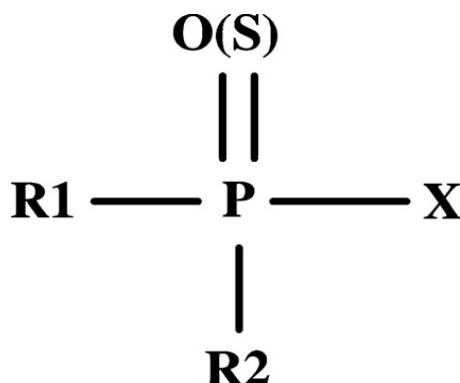


Figure 1: Structure commune aux esters organophosphoré ^[17].

Le substituant X est celui qui sera soumis à l'hydrolyse selon sa valeur, quatre classes principales d'importance variable peuvent être définies :

- La classe I ou X contient un ammonium quaternaire ; les OP de cette classe possèdent un puissant pouvoir toxique et ne sont pas utilisés en agriculture ;
- La classe II : X = F ; les OP de la classe II sont aussi toxiques que ceux de la classe I, ils possèdent, en outre, une forte tension de vapeur. Ces deux propriétés expliquent leur utilisation prédominante comme gaz de combat (tabun) tandis que peu d'entre eux ont été utilisés en agriculture tels que le Dimethoate et le Fenitrothion, responsables de la majorité des décès ^[15], et le Dichlorvos qui est à l'origine de la plupart des intoxications aiguës dans notre pays ;
- La classe III : X = CN, OCN, SCN ou un halogène autre que F ; les OP de la classe III ont une toxicité intermédiaire entre les classes II et IV. Certains, comme le sarin, ont été également utilisés comme gaz de combat ;
- La classe IV : X = autre substituant ; les OP de la classe IV regroupent la plupart des produits en agriculture.

Dans la plupart des cas, le substituant X est fixé par une liaison P—O ou P—S, plus rarement P—N ou P—C. Les produits de cette classe possèdent des composés R-diméthyle (2 C₂H₅), diméthyle (2 CH₃) ou isopropyl (S—C₃H₇) ^[18–19].

D'une part, on généralise les OP possédant la fonction P O sont des inhibiteurs directs et rapides des enzymes ^[20, 21,19]. Les OP contenant la fonction P S sont des inhibiteurs indirects qui sont métabolisés en leur composé actif P O comme le Parathion qui se transforme en Paraxon, son métabolite actif ^[20, 21,19]. Ces produits sont caractérisés par une forte

liposolubilité et une grande affinité aux tissus, en particulier au niveau du système nerveux central. Ces caractéristiques sont à l'origine d'une inactivation prolongée de l'enzyme et par conséquent d'intoxications graves ^[18] et surtout de complications neurologiques sévères en rapport avec l'anoxie cérébrale, rencontrées surtout avec le Parathion et le Dichlorvos ^[16].

3. Toxicocinétique

3.1 Absorption

- Voie cutanée : c'est sans doute la voie de pénétration la plus importante, lors d'intoxication professionnelle. Elle augmente par la température et les lésions cutanées.
- Voie pulmonaire : exposition à des aérosols des pesticides.
- Voie orale : il s'agit d'une ingestion accidentelle (enfants, aliments contaminés) ou volontaire ^[23].

3.2 Distribution

La plupart des produits sont rapidement distribués dans l'ensemble de l'organisme. Ils ne s'accumulent pas dans les graisses. Il est cependant possible, lors d'intoxications massives, au cours desquelles l'individu survit, l'accumulation du produit dans certains tissus, soit responsable de rechutes après quelques heures à quelques jours ^[23].

3.3 Activation métabolique

Après absorption, de nombreux OP doivent être activés par des oxydases, des hydrolases et des transférases au niveau hépatique avant d'être toxiques pour l'homme, la connaissance de ces mécanismes permettant de déterminer le délai d'apparition des manifestations toxiques. Par exemple, les phosphorothioates sont sans effet avant d'être activés en phosphorodithioates par oxydation de leur liaison $P=S$ et leurs effets cliniques seront toujours d'apparition plus tardive que les phosphates qui ont toujours une liaison $P=O$ ^[23].

Exemple :

Le Parathion est oxydé en Paraxon, puissant inhibiteur de la cholinestérase. Cette réaction a lieu dans le foie, le rein, l'intestin, le poumon ^[23].

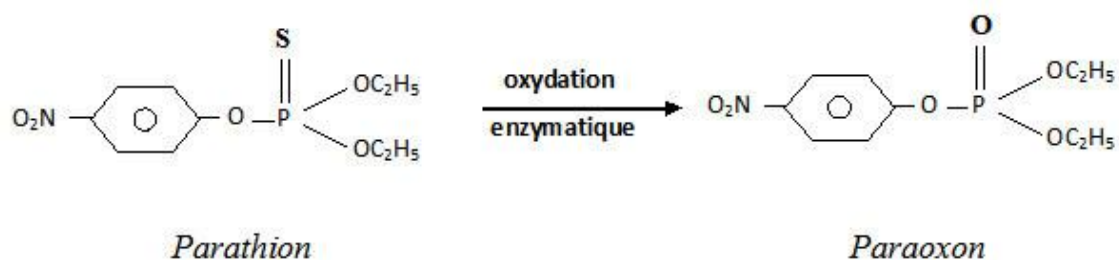


Figure 2: Réaction d'oxydation enzymatique de Parathion

Formation de paranitrophénol hydrosoluble, éliminé dans l'urine, il se forme aussi de le l'acide diéthylthiophosphorique, qui peut donner des dérivés soufrés minéraux^[23].

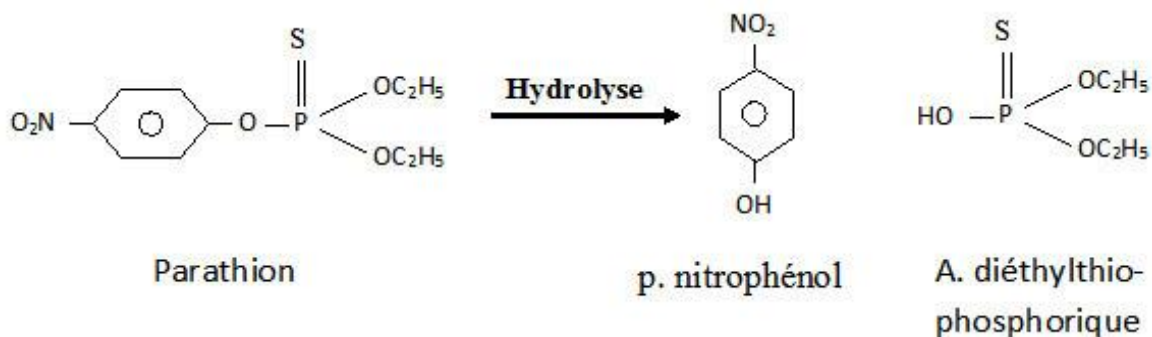


Figure 3: Réaction d'hydrolyse de Parathion

3.4 Elimination

L'excrétion des métabolites est essentiellement urinaire. L'étude de certains métabolites urinaires peut être utilisée pour le diagnostic des intoxications ou pour l'évaluation de l'importance d'une exposition récente. Parmi les produits usuellement dosés dans ce but, il peut s'agir du résidu correspondant au substituant X.

Ex : recherche du paranitrophénol, suite à l'exposition au Parathion^[23].

4 Les cholinestérases

4.1 Généralité

Le terme de cholinestérase a été proposé en 1932 pour décrire une enzyme capable d'hydrolyser l'acétylcholine^[24]. Quelques années plus tard, des commissions internationales de nomenclature biochimique ont entériné l'existence de deux formes distinctes de ChE qui diffèrent par leur origine, leur structure, leur spécificité d'action et leur fonction

physiologique ^[25]. Le terme de signe de sommais l'ensemble des enzymes capables d'hydrolyser les esters de la choline. Elles sont largement distribuées dans l'organisme :

- L'acétylcholinestérase (AChE), ou cholinestérase vraie, est une enzyme localisée principalement au niveau de la fente synaptique (systèmes nerveux central et périphérique) et également à la surface de certaines cellules dont les érythrocytes. Elle présente un grand polymorphisme et elle est le produit d'un gène unique ^[21]. Elle hydrolyse de manière optimale l'acétylcholine, et très faiblement les autres esters de choline ^[26].
- La butyrylcholinestérase (BChE), encore nommée cholinestérase sérique, plasmatique, ou pseudo cholinestérase, est extracellulaire. La forme plasmatique, est synthétisée par le foie. On en retrouve dans la plupart des tissus et organes (cerveau, jonction neuromusculaire, foie, muscle, pancréas, intestin). Elle existe également sous différentes formes moléculaires, solubles ou ancrées à la surface des cellules. La forme principale est un tétramère de sous unités monomériques identiques ^[26]. Son activité catalytique est moins spécifique puisqu'elle est capable d'hydrolyser de nombreux esters naturels ou synthétiques (acétylcholine, butyrylcholine, succinylcholine, mivacurium, acide acétylsalicylique ou cocaïne notamment) ^[27].

4.2 Fonction physiologique et variabilité génétique.

À l'arrivée de l'influx nerveux, la terminaison presynaptique libère le neurone diateur acétylcholine dans la fente synaptique. L'acétylcholine agit ensuite sur ses récepteurs (muscarinique ou nicotiques) présents dans la membrane post synaptique. L'AChE joue un rôle physiologique vital ^[28] en hydrolysant l'acétylcholine.

Informes de ce risque afin de pouvoir avertir l'anesthésiste s'ils devaient subir une intervention chirurgicale nécessitant l'usage d'un agent curarisant. L'usage de ces curares chez des victimes intoxiquées par les OP exposerait au même risque de curarisation prolongée ^[28].

4.3 Cholinestérases et organophosphorés

Les OP se fixent de façon covalente sur le site estérasique des ChE (AChE et BChE) où ils phosphorylent ou phosphonylent (selon le toxique considère) leur site actif ^[28]. Leur mécanisme d'action principal est le blocage de la dégradation de l'acétylcholine en choline et en acide acétique par inhibition essentiellement irréversible des deux formes de ChE. Il en résulte une accumulation d'acétylcholine à l'origine d'une véritable intoxication de l'organisme plus connue sous le terme de crise cholinergique. Quand elle est possible, l'hydrolyse spontanée de la liaison OP enzyme est très lente et ne permet pas de retour à la

normale sans un traitement désactivateur adapte (oxime). Après un temps variable selon l'OP en cause, la liaison avec l'AChE peut devenir insensible à l'action reactivatrice des oximes du fait d'une des alkylation de l'OP, entraînant une stabilisation du complexe enzyme OP : c'est le phénomène dit du vieillissement. Une fois les ChE inhibés de façon irréversible, voire vieilles, le retour à la normale de l'activité AChE est lent : 100 à 120 jours environ (1 % par jour par renouvellement des érythrocytes) ; il est plus rapide pour la BChE (environ 3–7 % par jour par synthèse hépatique ; deux à trois semaines environ seraient nécessaires pour une récupération totale) [29, 30, 28, 31]. La vitesse de régénération de l'AChE synaptique semble au moins Concernant les autres localisations cancéreuses étudiées, l'analyse de l'ensemble des études reste difficile. Plusieurs raisons peuvent être évoquées : une incidence faible (cancer du aussi rapide que celle de l'AChE érythrocytaire [31].

5. Effet de solvant

Le solvant est la matière dans laquelle s'effectue la réaction, qui est donc présente en large excès. Le solvant n'intervient pas dans la réaction, on dit qu'il est chimiquement inerte.

Cependant, le solvant n'est pas inactif pour autant, il peut stabiliser, ou déstabiliser, un état de la réaction. On l'appelle l'effet de solvant. La vitesse de réaction s'en trouve alors modifiée, parfois de manière très importante. La réaction peut alors n'être possible que dans certains solvants [32].

III. METHODES D'ANALYSES DES PESTICIDES

1. Aperçu général sur les techniques d'analyse des pesticides

De très nombreuses techniques analytiques sont proposées aujourd'hui pour l'analyse des pesticides et/ou leurs métabolites dans les milieux biologiques. Après traitement de l'échantillon, le plus souvent par extraction liquide-liquide, l'analyse instrumentale proprement dite fait appel aux méthodes chromatographiques classiques comme la chromatographie en couche mince (CCM), la chromatographie en phase gazeuse (CPG) ou la chromatographie liquide haute performance (HPLC) couplées toutes deux à la spectrométrie de masse simple (SM) ou en tandem (SM/SM). Certaines méthodes permettent la caractérisation de plusieurs pesticides appartenant à des familles différentes, mais elles restent rares.

La plupart des techniques se limitent à doser un groupe donné de pesticides dans des conditions expérimentales bien précises. La mise en évidence des pesticides dans le sang

requiert des techniques sophistiquées nécessitant un matériel souvent onéreux et des techniciens expérimentés.

Les concentrations toxiques sont très variables d'un composé à l'autre et justifient la recherche d'une limite de quantification (LOQ) parfois très faible. Il n'existe pas aujourd'hui de méthode universelle de dosage des pesticides dans le sang ^[33].

Le choix d'une technique parmi ces méthodes pour l'analyse d'un mélange des Pos dans le sang s'est porté sur (CPG/SM) ^[34] . Cette technique est un outil analytique qualitatif et quantitatif, très sensible et fiable.

2. Méthode d'extraction liquide-liquide

Principe

C'est une opération fondamentale de transfert de matière entre deux phases liquides non miscibles, sans transfert de chaleur. Cette opération est fréquemment utilisée pour séparer à partir d'un mélange liquide des constituants dont les volatilités sont faibles ou très voisines, ou qui donnent des azéotropes, ou encore qui sont thermo-dégradables. La séparation des phases s'obtient par décantation gravimétrique ou centrifuge.

Pour que l'opération soit réalisable il est nécessaire que :

- Les deux phases ne soient pas complètement miscibles
- Leur masse volumique soit différente
- Il n'existe pas de réactions chimiques entre les divers constituants du mélange ^[35].

Le passage du soluté dans le solvant aboutit théoriquement à un équilibre dans la composition des phases. L'obtention de cet équilibre est liée à la vitesse de diffusion du soluté d'une phase à l'autre.

Les vitesses d'extraction sont d'autant plus grandes que les différences de concentration en soluté des deux phases en contact sont grandes, et que la surface d'échange entre les deux phases est grande. L'agitation du milieu a pour effet d'augmenter la surface de contact entre les phases et de favoriser la diffusion du soluté au sein de chaque phase.

On obtient ainsi une phase riche en soluté qu'on appelle EXTRAIT et une phase pauvre en soluté appelée RAFFINAT comme montré sur le schéma suivant :

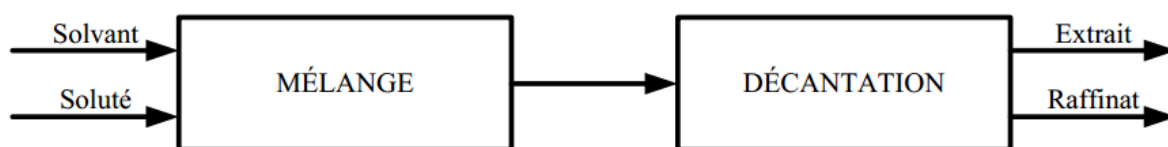


Figure 4: Schéma explicatif du principe de l'extraction liquide-liquide ^[35]

Le transfert du soluté du raffinat au sein de l'extrait, d'après le processus exposé ci-dessus, devrait aboutir théoriquement, à température et à pression constantes, à un état stationnaire, correspondant à l'équilibre du soluté entre les deux phases liquides. Cet état d'équilibre est l'état idéal. Cet état idéalité est très rarement atteint dans la pratique, ce qui oblige à définir une efficacité ou rendement et le coefficient de partage utiliser industriellement les résultats des calculs théoriques.

Avantages de l'extraction liquide-liquide

Parmi les avantages de l'extraction on trouve ^[36] :

- Grande capacité de production pour une consommation d'énergie réduite, ex :
séparation paraffinées / aromatiques dans l'industrie pétrolière.
- Sélectivité en particulier quand d'autres procédés (rectification) ne conviennent pas ou sont plus chers (investissement ou consommation d'énergie) par ex cas de production de pyridine anhydre.

3. Chromatographie en phase gazeuse

La chromatographie en phase gazeuse est rapidement devenue l'une des meilleures méthodes analytiques dans le domaine scientifique, autant en recherche que dans le domaine industriel (industrie pharmaceutique, agriculture, environnement, etc).

C'est également le seul type de chromatographie qui utilise un gaz comme phase mobile, ce qui nécessite un appareil spécial, appelé communément le chromatographe à gaz.

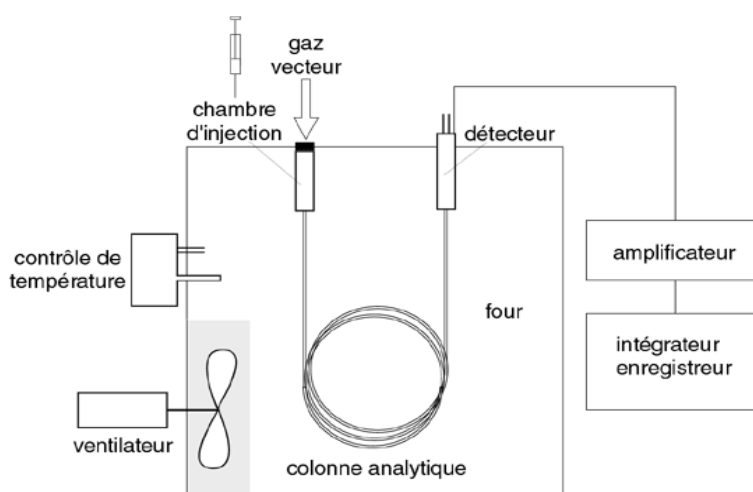


Figure 5: Chromatographe à gaz

Principe

Le mélange de composés est introduit à l'aide d'une seringue de façon à ce qu'il entre dans la colonne sous forme vapeur. La phase mobile est un gaz chimiquement inerte, appelé

gaz vecteur. Celui-ci entraîne avec lui le mélange de composés à travers la colonne qui contient une phase stationnaire. Les composés du mélange traversent la colonne à des vitesses différentes. Lorsqu'ils arrivent à la sortie de la colonne, ils sont détectés par un détecteur qui transmet un signal électrique à un enregistreur. Les résultats apparaissent sur le chromatogramme sous forme de pics.

Appareillage et matériaux

Quel que soit le chromatographe à gaz ; on retrouve toujours les principales composantes suivantes :

❖ phase mobile

La phase mobile entraînant les composés dans la colonne est un gaz de préférence chimiquement inerte. Les principaux sont l'hélium, l'argon, l'azote et le dioxyde de carbone. Ils sont livrés dans des bonbonnes surmontées d'un régulateur de pression. Ces gaz doivent être de pureté analytique, car les impuretés sont responsables de bruits de fond sur le chromatogramme. Le choix du gaz vecteur dépend principalement du type de détecteur de l'appareil.

❖ Chambre d'injection

La chambre d'injection est un compartiment placé entre la bonbonne du gaz vecteur et le four principal contenant la colonne. L'injection des échantillons se fait à l'aide d'une seringue graduée en microlitres qui est introduite dans la chambre à travers une rondelle en caoutchouc.

La plupart des injecteurs sont aujourd'hui équipés d'un régulateur électronique de débit. Ce dernier ajuste la pression du gaz en fonction de la température, de manière à ce que le débit gazeux dans la colonne soit constant, ce qui améliore considérablement les performances du chromatographe.

Pour les colonnes capillaires il y a trois types d'injection :

✓ Injection avec partage

L'injecteur avec partage « split » est un système produisant une vaporisation rapide de l'échantillon, une partie des vapeurs de cet échantillon va pénétrer dans la colonne tandis que la majeure partie de ces vapeurs va être évacuée à l'extérieur.

✓ Injection sans partage « splitless »

L'atout majeur de cette technique consiste à introduire l'échantillon complet dans la colonne, ce qui permet d'espérer une plus grande sensibilité que celle obtenue pour l'injection avec partage.

✓ Injection dans la colonne « on-Colum »

Grâce à une seringue, on injecte l'échantillon au travers de la vanne d'arrêt rotative dans une zone refroidie de la tête de colonne. Cette technique d'introduction de l'échantillon dans la colonne sans évaporation préalable offre de multiples avantages.

❖ **Four principal**

Le four principal est un compartiment placé entre la chambre d'injection et le détecteur qui contient la colonne chromatographique. Il est muni d'éléments chauffants pouvant contrôler la température du four avec une très grande précision.

❖ **Colonnes**

Les colonnes utilisées actuellement dans la CPG sont des colonnes dites « capillaires ». Les constituants d'un mélange sont séparés en fonction de leur polarité, leurs différences de propriétés physicochimiques leur confèrent des vitesses d'élution différentes. Confronté à un mélange mixte, on privilégie souvent le choix d'une colonne peu polaire, les phases stationnaires peu polaires étant généralement plus robustes et thermiquement beaucoup plus stables que leurs homologues polaires.

❖ **Détecteurs**

Le détecteur est situé dans un compartiment immédiatement à la sortie de la colonne. Comme la chambre d'injection, la chambre à détection est chauffée à des températures très élevées. Son rôle est de détecter les composés à la sortie de la colonne et de transmettre l'information sous forme d'un signal électrique à l'enregistreur.

Un détecteur est caractérisé principalement par sa sensibilité et sa capacité de donner une réponse proportionnelle à la concentration du composé détecté :

- **Sensibilité**

La sensibilité d'un détecteur est sa capacité de réagir à la réponse d'un composé. Plus un détecteur détecte de petites quantités de substances, plus il est sensible, la plus petite quantité de substance qu'un détecteur peut détecter se nomme le seuil de détection.

- **La linéarité de la réponse**

Un détecteur doit émettre un signal proportionnel à la concentration de substance détectée, et cela sur une gamme de concentration la plus élevée possible. La courbe d'étalonnage d'un composé sert à déterminer une zone de concentration où la réponse est

linéaire. Les principaux détecteurs de la CPG sont : le détecteur à capture d'électrons (ECD), le détecteur azote-phosphore et le détecteur à ionisation de flamme (FID).

Ces détecteurs sont spécifiques à des familles bien déterminées. Alors que le spectromètre de masse est un détecteur universel permettant l'analyse d'un mélange de différents composés dans diverses matrices.

4. Spectroscopie de masse

Principe

La spectrométrie de masse permet de transformer des molécules dans leur état naturel en ions à l'état gazeux et d'obtenir leur masse moléculaire m en analysant leur rapport de masse/charge, noté m/z , où m est la masse du composé et z sa charge. Cette méthode permet de séparer les différents ions et d'évaluer leur abondance respective.

Appareillage

Un spectromètre de masse est un appareil qui permet de mesurer le rapport masse /charge (m/z) des ions formés à partir de l'échantillon analysé (**figure 6**).

Il est constitué des parties suivantes :

Une source d'ions dans laquelle se produit le passage en phase gazeuse de l'échantillon à analyser, l'ionisation des molécules, mais aussi la décomposition des ions,

- Un analyseur qui permet de trier les ions en fonctions de leur rapport m/z ,
- Un détecteur qui compte les ions en leur associant leur rapport m/z ,
- Un enregistreur pour traitement du signal et la visualisation des spectres,
- Un système de calibration qui permet l'étalonnage entre la grandeur réelle mesurée et le rapport m/z .

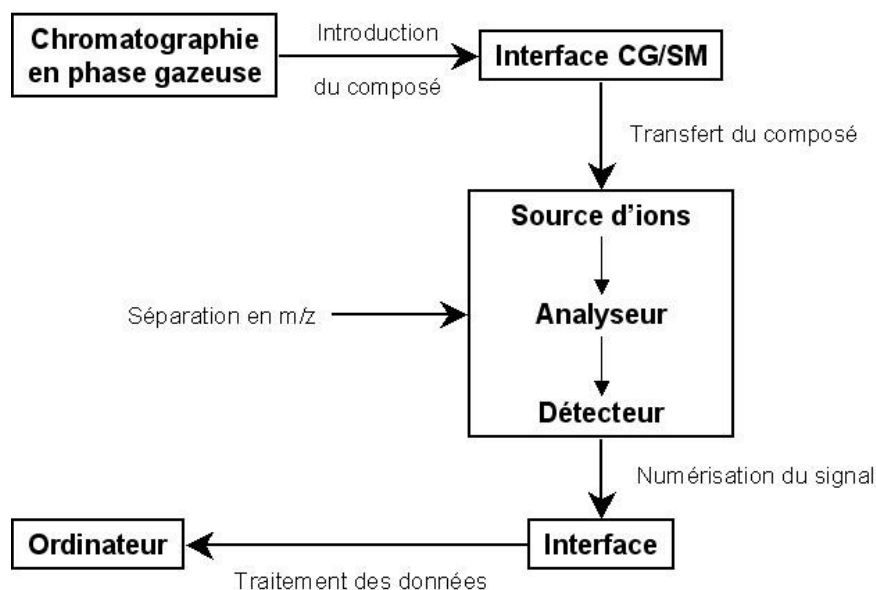


Figure 6: Principe du spectromètre de masse

- **La source (chambre d'ionisation)**

Dans la spectrométrie de masse, les sources utilisées sont dites à « ionisation électronique » on parle d'« EI » ou « ionisation chimique », de « CI ». Leur usage est réservé à l'analyse des composés gazeux facilement volatilisables (point d'ébullition n'excédant pas 400 °C). La source est maintenue à une température élevée (généralement comprise entre 100 et 250 °C) pour éviter la condensation des analytes

- **L'analyseur**

C'est la partie du spectromètre qui permet la séparation des ions. Il est soumis à un champ magnétique B uniforme et constant. Les ions pénétrants dans l'analyseur avec une vitesse v , une masse m et de charge z sont déviés en suivant une trajectoire circulaire de rayon r . Ainsi les ions ayant leur rapport m/z différent auront une trajectoire différente ce qui permet de les séparer. L'analyseur le plus utilisé dans la spectrométrie de masse est un quadripôle.

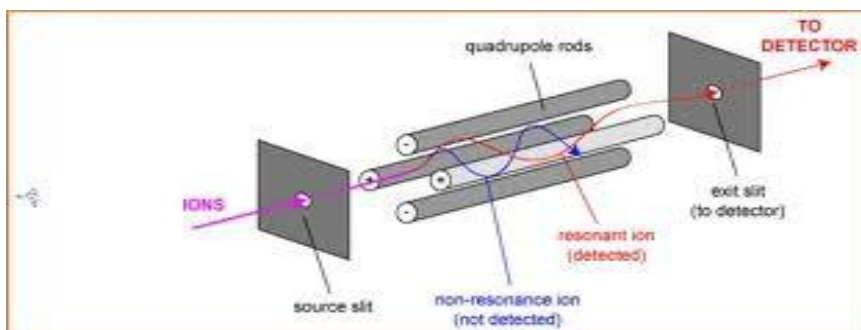


Figure 7: Schéma d'un quadripôle

Analyse spectrale par le logiciel d'acquisition

L'utilisation du logiciel permet d'acquérir les résultats selon le mode d'analyse choisis.
Les principaux modes d'analyses utilisés en spectrométrie de masse sont :

- ✓ Analyse en balayage ou « full scan »

Le mode dit « de balayage » ou « full scan » est utilisé lorsque l'on souhaite enregistrer des spectres dit « de source », c'est-à-dire des spectres où sont présents tous les ions produits dans la source à un instant donné.

- ✓ Analyses en « SIM » et « SIS »

Le terme « SIM » (« single Ion Monitoring ») est employé par les utilisateurs de quadripôles pour désigner l'opération qui consiste à ne détecter que un (ou quelques) ion (s). En SIM, le spectromètre de masse fonctionne comme un filtre ; il est programmé pour ne détecter que quelques ions caractéristiques des analytes étudiés.

Le gain de sensibilité est spectaculaire car SIM augmente le signal associé à la détection des analytes tout en diminuant le bruit de fond chromatographique.

5. Chromatographie en phase gazeuse couplée a la spectroscopie de masse

Appareillage

La colonne capillaire sort du chromatographe et entre dans le spectromètre de masse via une « ligne transfert », il s'agit d'un cylindre intensément chauffé (environ 300°C) de manière à éviter que les molécules éluées ne se recondensent pas entre les deux appareils. la figure suivante présente un schéma d'appareil de couplage CPG-MS.

Les atouts du couplage CPG/MS

L'association d'une méthode de séparation (CG) avec un détecteur très sensible (SM) a conduit à une technique d'analyse performante pour l'identification des molécules organiques. Ce couplage possède plusieurs atouts :

- ✓ Une très grande sensibilité.
- ✓ Quantification et confirmation des composés recherchés.
- ✓ Elimination des interférences en mode SIM en spécifiant les ions caractéristiques des molécules recherchées.

IV. MATERIELS ET METHODES

Dans ce chapitre nous allons présenter les méthodes de réalisation de nos trois objectifs :

- 1) L'enquête sur le degré et les années d'exposition aux pesticides utilisés par les agents d'hygiènes.
- 2) L'analyse de l'activité cholinestérasique d'échantillons de sang prélevés des agents d'hygiène objet de cette étude.
- 3) Le dosage qualitatif des OPs dans des échantillons humains (sang et urines) de la population étudiée.

1. Enquête sur l'exposition aux pesticides

1.1 But de l'enquête

Pour avoir une idée sur la possibilité d'existence d'une contamination par les pesticides notamment les OPs, dans les matrices humaines (sang et urines), nous avons jugé intéressant de réaliser une enquête, concernant le degré et les années d'exposition aux pesticides, au prés d'agents d'hygiènes, manipulateur quotidiens de ces produits.

L'étude a été réalisée dans la ville de Fès et a concerné une population d'agents d'hygiènes de six arrondissements de la ville de Fès (Fès médina, Zouagha, Sais, Jnane elward, Agdal et Marinyène).

1.2 Méthode de réalisation de l'enquête

Pour réaliser l'enquête, nous avons utilisé un questionnaire constitué des critères et des paramètres suivants : l'âge, le sexe, les années d'exposition aux pesticides, l'arrondissement, le degré d'exposition, la dernière date d'exposition et les pesticides utilisés. Avant de réaliser l'enquête, nous avons obtenu le constamment des agents d'hygiènes.

1.3 Méthode d'exploitation des résultats de l'enquête

L'exploitation des données de l'enquête (traitement et confection des graphiques) a été réalisée par le logiciel Excel 2007.

2. Activité cholinestérasique

2.1 But de l'analyse de l'activité cholinestérasique

Le but de cette analyse est de confirmer l'existence d'une intoxication due aux organophosphorés ou bien aux carbamates.

2.2 Méthode d'analyse de l'activité cholinestérasique

L'analyse de l'activité cholinestérasique a été effectuée au laboratoire de toxicologie au CAPM à la température ambiante de laboratoire (25°C).

La méthode d'analyse quantitative repose sur l'appareil «Test-mate ChE», méthode spectrophotométrique, le composant principale est un analyseur photométrique qui mesure les absorbances au cours de la procédure du dosage et calcul la concentration en cholinestérases dans le sang entier.

Un tube à essai contenant 2 ml de solution tampon a été introduit dans le «Test Mate», dans le but d'étalonner l'appareil. Le microprocesseur actualise et corrige ses valeurs en fonction de la température ambiante. Cette opération ne dure que 10 secondes, le tube est retiré après le bip sonore. Le sang est prélevé avec un micro capillaire hépariné de 10µl. par la suite il est introduit dans la solution tampon, après l'avoir agité pendant 15 seconde de telle sorte que le sang contenu dans le capillaire se dissipe dans la solution tampon. Le tube est introduit dans l'appareil en prenant toujours soins d'aligner le capillaire, au point noir matérialisé (détrompeur) sur le Test Mate (voir figure 8). Après le bip sonore qui intervient 10 secondes après, le tube est enlevé.

Le réactif pour l'AChE, substrat lyophilisé est dissous avec trois gouttes de solvant. Le mélange est introduit dans le tube contenant la solution tampon et les 10µl de sang, ensuite agité lentement (afin de prévenir l'hémolyse) le tube pendant 5 secondes. Le tube est de nouveau introduit dans le Test Mate de façon à ce que le capillaire se superpose au détrompeur de l'appareil. Les procédures du dosage de l'AChE (cholinestérase érythrocytaire) sont effectuées à température ambiante du laboratoire (25 à 28°C).

L'analyse utilisé pour AChP (cholinestérase plasmatique) est la même pour le dosage de l'AChE. ^[36] la figure suivante récapitule le matériel utilisé pour le dosage de l'activité cholinestérasique.

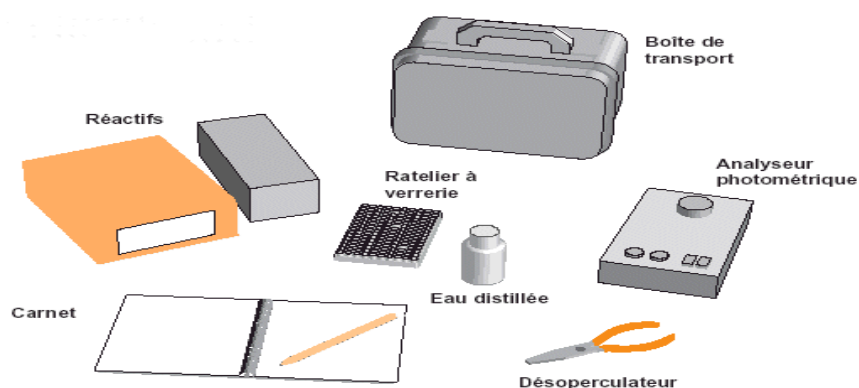


Figure 8: Matériel utilisé pour le dosage de l'activité cholinestérasiq

3. Dosage qualitatif des organophosphores

Ce dosage consiste à identifier des pesticides notamment les OPs dans les matrices humaines (sang et urine), pour cela nous avons vérifié et utilisé une méthode d'extraction selon Keiko kudo et al.,^[37].

3.1 Matériels et réactifs utilisés pour le dosage des OPs.

Nous avons utilisé les réactifs et le matériels suivants :

➤ Réactifs utilisés:

- ❖ Solvants d'extraction : Hexane,
- ❖ Solvants d'élution : Méthanol,
- ❖ Solution tampon : Acétate de Buffer pH=3,5,
- ❖ Prazépame,
- ❖ Plasma vierge,
- ❖ Gaz d'évaporation douce : Azote (N₂).

➤ Matériels utilisés:

Le tableau 1 illustre l'appareillage que nous avons utilisé dans cette extraction.

Tableau 1: Appareillage utilisé ^[37]

Appareillage	• Agitateur • Centrifugateur • Evaporateur sous vide • CPG/ SM • Sonificateur
--------------	---

3.2 Conditions d'analyse chromatographique

L'appareil utilisé est de type perkunElmerClarus 680 chromatographe en phase gazeuse, combinée à un spectromètre de masse en mode d'ionisation électronique énergie d'ionisation 70 eV Température d'ion source 250°C. Le type d'injection est split/splitless, colonne RESTEK RXI ® 5 ms, (30 m ×0,25mm de diamètre interne, épaisseur du film 250 µm, gaz vecteur est Hélium, avec un débit de 0,1.

3.3 Méthode d'analyse des OPs.

Les molécules pesticides standards sur lesquelles nous avons travaillé, ont été proposées par le laboratoire de toxicologie au CAPM, il s'agit de : Malathion, Fenitrothion, Diazinon, Chlorpyrifos, Dimethoate.

Avant d'entamer le dosage qualitatif des OPs, nous avons réalisé une vérification de la limite de détection d'une mixture de ces cinq molécules d'OPs.

Pour déterminer la limite de détection de ces composés par la CPG/SM, cinq concentrations (50ppm, 5ppm, 1ppm, 0,5ppm, 0,1ppm), ont été utilisées [36].

La mixture des standards a été préparée à partir de concentration initiale de 1000ppm dilué par le méthanol. Par exemple pour obtenir une concentration de 50ppm : on prend 5000µl de chaque standard et on l'ajoute avec 15000µl de méthanol.

3.3.1 Méthode d'analyse pour l'identification de la limite de détection.

Nous avons utilisé un plasma vierge qui a été dopé par le mélange des OPs et extrait selon la technique d'extraction liquide-liquide. L'extrait obtenu est ainsi concentré et ensuite analysé par la CPG couplée à la SM [37].

L'identification des composés dopés a été faite par la lecture du temps de rétention et l'abondance relative de la masse par le logiciel turbomass 6.0. La figure 9 récapitule les différentes étapes d'analyses des organophosphorés.

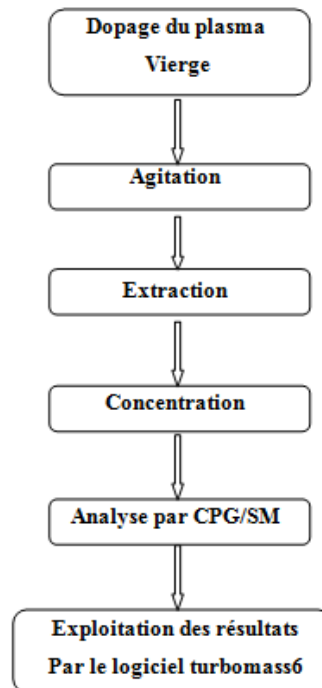


Figure 9: Etapes d'analyses des OPs

❖ Extraction

A l'aide d'une micropipette on prend 1ml du mélange des OPs, de concentration initiale de 50 ppm, 5ppm, 1ppm, 0,5ppm, 0,1ppm. On introduit dans un tube 1 ml du plasma vierge suivi d'une agitation pendant quelques minutes.

Par la suite on ajoute 100µl du standard interne (le Prazépame) avec une concentration de 10mg/µl et on continue l'extraction en ajoutant 1ml de la solution tampon d'acétate de Buffer et 1 ml du solvant d'extraction l'hexane. Ensuite on soniffié pendant 5min.

Le tube est automatiquement entrainé dans la centrifugeuse à 3000 rpm pendant 10min. on obtient alors deux phases. Les figures suivantes présentent la centrifugeuse de laboratoire.



Figure 10: Centrifugeuse (PK121R)

❖ Concentration

On récupère la phase organique dans un autre tube en pyrex qui sera ensuite entraîné sous l'hôte pour effectuer une évaporation sous un courant d'azote pendant 5 min. On obtient après évaporation un produit bien concentré. La figure suivante présente l'hôte sous jet d'azote.



Figure 11: Hôte de concentration sous jet d'azote

❖ Analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

Le produit obtenu après concentration est ensuite élué avec 100µl de méthanol. Une prise d'essai de 2µl est analysée par CPG/SM.



Figure 12: Appareillage de couplage CPG/SM (appareil du CAPM)

❖ Méthode d'exploitation des résultats de la limite de détection

L'exploitation des analyses de la limite de détection a été réalisée par le logiciel turbo mass 6.

3.3.2 Méthode d'analyse de dosage qualitatif des OPs des échantillons humaines (Urine et sang)

❖ Extraction

Nous avons introduit dans un tube, 1 ml du plasma ou d'urine. Par la suite on ajoute 100µl du standard interne (le Prazépame) avec une concentration de 10mg/µl et on continue l'extraction en ajoutant 1ml de la solution tampon d'acétate de Buffer et 1 ml du solvant d'extraction l'hexane. Ensuite on soniffié pendant 5min.

Le tube est automatiquement entraîné dans la centrifugeuse à 3000 rpm pendant 10min. on obtient alors deux phases. Les figures suivantes présentent la centrifugeuse de laboratoire et les phases obtenues après extraction liquide-liquide.



Figure 13: Tubes montrant deux phases d'extraction

❖ Concentration

On récupère la phase organique dans un autre tube en pyrex qui sera ensuite entraîné sous l'hôte pour effectuer une évaporation sous un courant d'azote pendant 5 min. On obtient après évaporation un produit bien concentré.

❖ Analyse par chromatographie en phase gazeuse couplé à la spectrométrie de masse

Le produit obtenu après concentration est ensuite élué avec 100µl de méthanol. Une prise d'essai de 2µl est analysée par CPG/SM.

❖ Méthode d'exploitation des résultats de la limite de détection

L'exploitation des analyses de la limite de détection a été réalisée par le logiciel turbo mass 6.

❖ Analyse et traitement des spectres

Par le logiciel turbo masse 6. Chaque pic figurant dans le chromatogramme est sélectionné puis comparé avec la bibliothèque spectrale. Toute probabilité, de correspondance du pic sélectionné à une molécule donnée, dépassant 70% est considérée approprié.

V. RESULTAT

Dans ce chapitre nous allons présenter les résultats concernant:

- L'enquête sur l'exposition des OPs,
- L'analyse de l'activité cholinestérasique de trente échantillons du sang prélevés d'agents d'hygiène,
- Les analyses de mixture d'extraction des cinq molécules d'organophosphorés pour la détection de la limite de ces composés et finalement,
- Les résultats de la recherche des OPs de trente échantillons de sang et trente échantillons d'urines prélevés des agents d'hygiène objet de cette étude.

1. Résultats de l'enquête sur l'exposition aux pesticides

Le tableau 2 présente les résultats de l'enquête, concernant l'exposition aux pesticides, réalisé au profit des agents d'hygiène. Les paramètres étudiés étaient : l'âge, le sexe, les années d'exposition aux pesticides, l'arrondissement, le degré d'exposition et la dernière date d'exposition.

Tableau 2: Résultats de l'enquête sur l'exposition aux pesticides

Arrondissement	Sexe	Age	Années d'exposition	Degré d'exposition	Dernière date d'exposition
Marinyène	M	51	10	+++	1H
	M	43	5	+	30min
	M	42	5	+++	1H
	M	51	23	+++	1H
	M	59	29	+++	1H
	M	39	1	++	2H
Zouagha	M	46	4	+	1H
	M	58	7	++	3H
	M	43	2	+++	1H
	M	27	17	+++	4H
	M	40	1	+++	2H
Jnane Ward	M	45	10	+++	1H
	M	44	8	+	20min
	M	59	20	+++	1H
	M	45	10	++	1H
Fès médina	M	54	17	+++	2H
	M	43	8	+++	2H
	M	40	4	+	3H
	M	40	5	+	2H
Agdal	M	48	22	+++	2H
	M	55	22	++	3H
	M	59	40	+++	1H
	M	56	32	+++	30min
	F	56	2	+	1H
Saïs	M	49	20	+	1H
	M	49	15	+++	2H
	M	49	31	+++	2H
	M	37	7	+++	1H
	M	53	7	+++	3H
	M	47	13	+	3H

NB : (+) : exposition faible ; (++) : exposition modérée et (+++) : exposition très élevée

L'exploitation des résultats et des données, présentées au niveau du tableau 2, concernant l'enquête sur l'exposition aux pesticides, est illustrée dans les figures suivantes :

La figure 14 montre la répartition d'âge des agents d'hygiène interrogés.

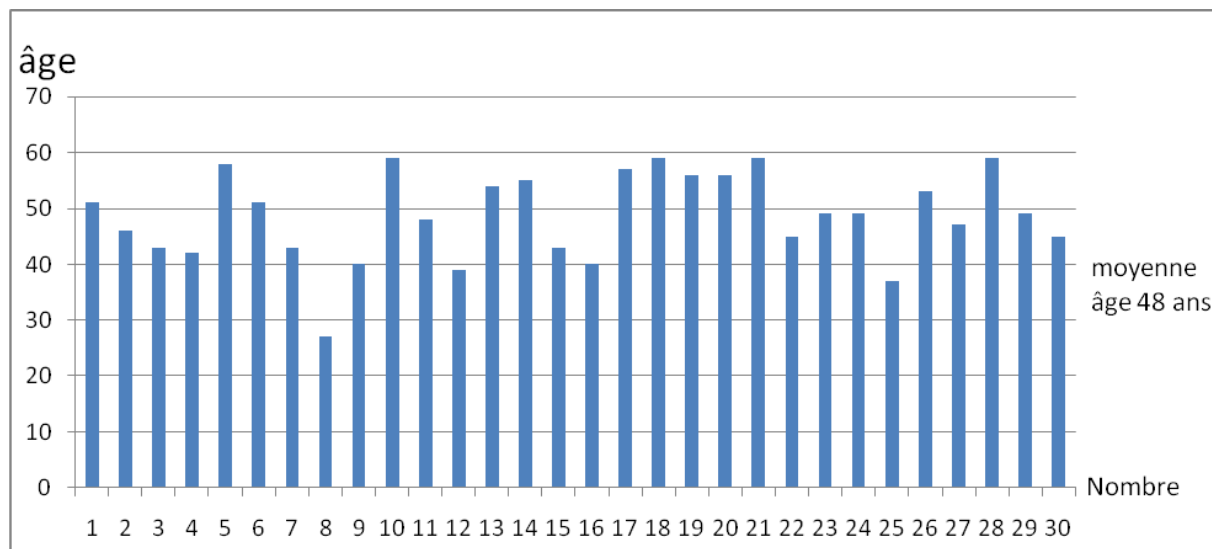


Figure 14: Répartition d'âge des agents d'hygiène interrogés.

D'après la figure 14, nous avons constaté que la différence d'âge entre les individus étudiés est faible. L'âge minimum est de 27 ans et le maximum est de 59 ans. L'âge moyen est de 48 ans.

La figure 15 présente les années d'exposition par ans pour chaque technicien d'hygiène interrogé.

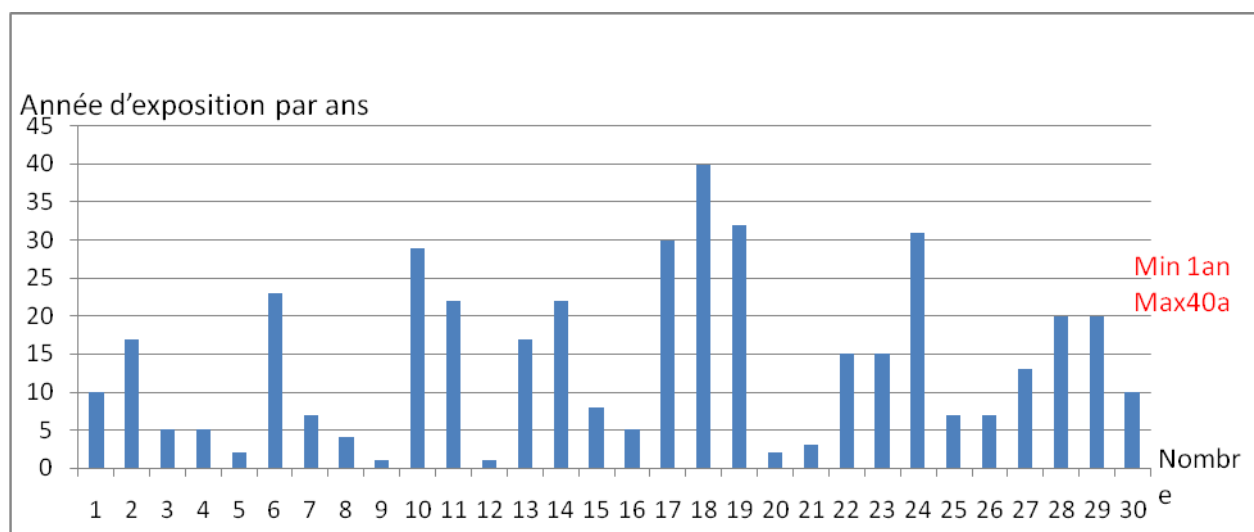


Figure 15: Années d'exposition des agents d'hygiène interrogés

Nous avons remarqué que les années de l'exposition des individus est différente, d'une part il y'a des individus ayant des années d'exposition très longue de 40 ans, et d'autre part il y a d'autres individus qui ont une durée très courte d'exposition aux pesticides de l'ordre d'un an.

La figure 16 présente la répartition des agents d'hygiènes interrogés selon leur sexe.

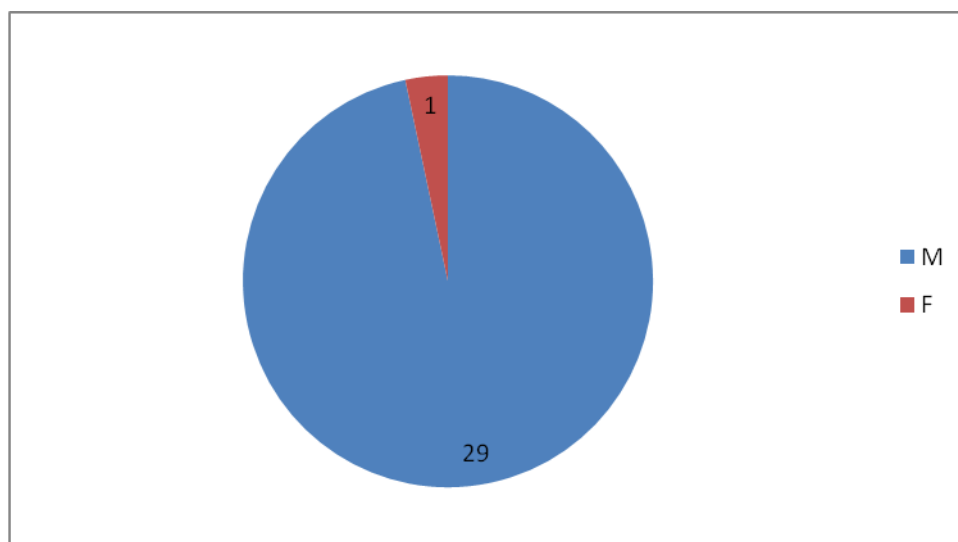


Figure 16: Répartition des agents d'hygiènes interrogés selon leur sexe

On remarque une prédominance du sexe masculin : 29 hommes (soit 96,66%) contre une seule femme (soit 3,33%).

La figure 17 montre le nombre des agents d'hygiène par arrondissements ayant participé à l'enquête sur l'exposition aux pesticides.

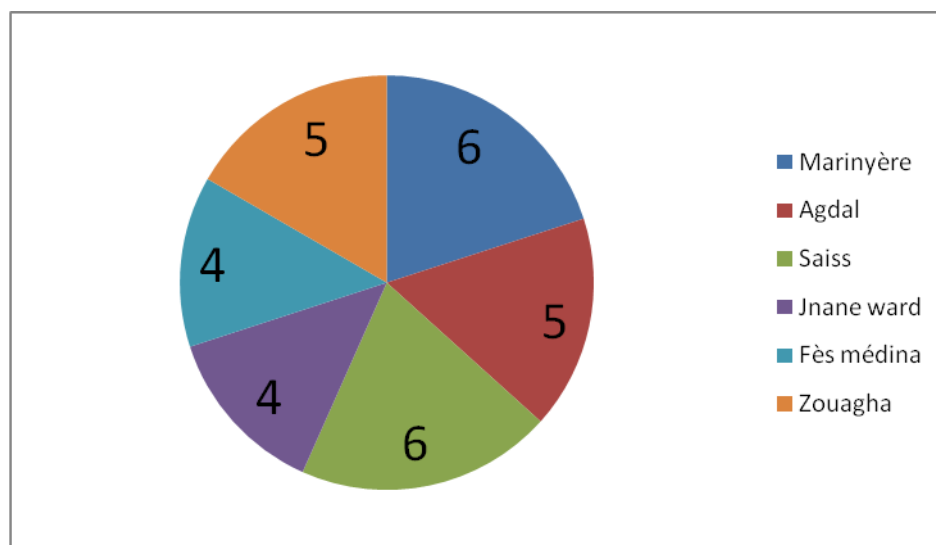


Figure 17: Répartition (nombre) des agents d'hygiène par arrondissements.

D'après la figure17 nous avons constaté que chaque arrondissement à été représenté. Le nombre minimum d'agents d'hygiène était de quatre.

L'interrogatoire réalisée au près du service de Bureau Municipal d'Hygiène (BMH) et des agents d'hygiène concernant les pesticides utilisés, a donné la liste des produits suivants appartenant à deux familles :

Organophosphorés: Temefos, Fenitrothion, Chlorpyriphos, Phosphorothioates.

Pyréthrinoïdes : Perméthrine, Bioallethrine, Bifenthrine, Cyperméthrine, Tetraméthrine, Alphacyperméthrine, Pyrethrine, Deltaméthrine, Alphacyperméthrine.

D'après cette liste, nous pouvons déduire que les pesticides les plus utilisés par le service de BMH de Fès sont de la famille des pyréthrinoïdes, suivi de la famille des OPs.

2. Résultat de l'activité cholinestérasique

Nous avons choisi de faire l'analyse de l'activité cholinestérasique dans le but de confirmer l'existence d'une intoxication due aux organophosphorés ou bien aux carbamates. Trente prélèvements du sang ont été collectés des agents d'hygiène, manipulateurs quotidiens des pesticides, au niveau de six arrondissements de la ville de Fès (Fès médina, Zouagha, Sais, Jnane elward, Agdal et Marinyère) et analysés par test mate.

Les résultats de l'étude de l'activité cholinestérasique sont présentés dans le tableau 3.

Selon (Mamadou et al., 2008), on peut parler d'un risque de manifestation toxique quand l'activité cholinestérasique érythrocytaire et plasmatique est inférieure à 50%. Les résultats que nous avons obtenus pour AchE et PchE sont compris entre 50% et 100%. Ces résultats indiquent l'absence d'intoxication.

Nous n'avons également constaté aucune variation de l'activité cholinestérasique érythrocytaire et plasmatique chez les agents d'hygiènes selon leurs répartitions d'âge, de sexe ou dans l'espace.

Tableau 3 : Résultats de l'activité cholinestérasique

Numéro d'ordre	Sexe	Age (ans)	Arrondissement	AchE (%)	PchE (%)
1	M	51	Marinyère	92	59
2	M	46		65	65
3	M	43		54	84
4	M	42		69	65
5	M	58		82	35
6	M	51		92	68
7	M	43	Zouagha	77	64

8	M	27		65	54
9	M	40		77	25
10	M	59		89	57
11	M	48		54	75
12	M	39	Jnane Ward	86	77
13	M	54		63	100
14	M	55		67	65
15	M	43		83	69
16	M	40	Fès médina	53	72
17	M	57		84	64
18	M	59		74	71
19	M	56		91	67
20	F	56	Agdal	50	71
21	M	59		73	61
22	M	45		54	86
23	M	49		58	92
24	M	49	Saïs	36	97
25	M	37		80	59
26	M	53		88	100
27	M	47		61	68
28	M	59		54	58
29	M	49		69	50
30	M	45		50	81

3. Résultats d'extraction de la mixture des OPs

Avant de réaliser l'extraction des OPs dans les trente prélèvements de sang et les trente prélèvements des urines, nous avons analysé la mixture des OPs standard par la CPG/SM et nous avons obtenu les chromatogrammes numéros 18, 24, 25, 26 et 27, composés des pics du mélange ainsi que ceux des impuretés.

3.1 Mixture des organophosphorés OPS

∞ **Mixture à 50 ppm :**

Le chromatogramme (figure 18) montre le résultat de l'analyse par CPG/SM de la mixture des OPs à 50ppm.

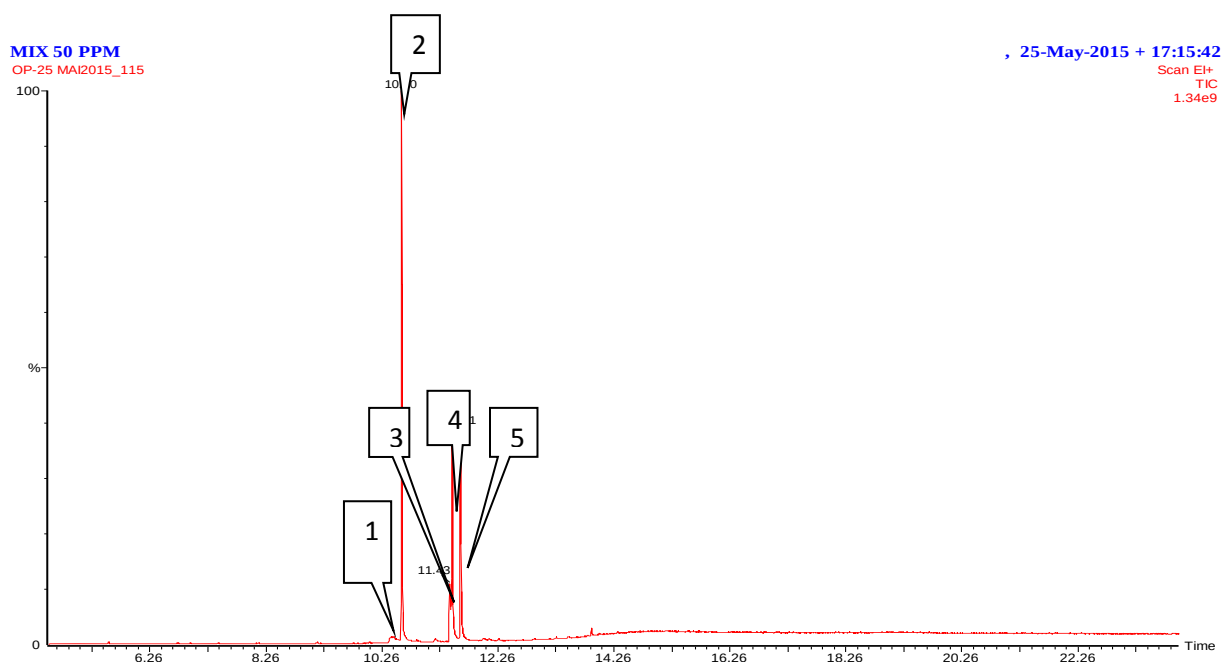


Figure 18: Chromatogramme d'identification de mixture des OPs à 50ppm.

Le chromatogramme figure 18 montre l'apparition de cinq molécules d'organophosphorés étudiées avec une bonne séparation. En se référant à la bibliothèque spectrale, les différents pics ont été identifiés aux cinq molécules suivantes : Dimethoate, Diazinon, Malathion, Chlorpyriphos et Fenitrothion.

Chaque pic dans le chromatogramme est associé automatiquement à un spectre de masse. Les spectres de masse obtenus sont présentés dans les figures 19, 20, 21, 22 et 23.

La figure 19 présente le spectre de masse de Dimethoate. D'après la bibliothèque spectrale, ce spectre correspond à la molécule de Dimethoate.

EXTRACTION HEXANE 50 PPM
OP-27 MAI2015_127 1167 (10.346)

, 27-May-2015 + 07:45:05

Scan E1+
1.33e7

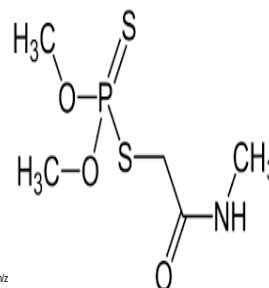
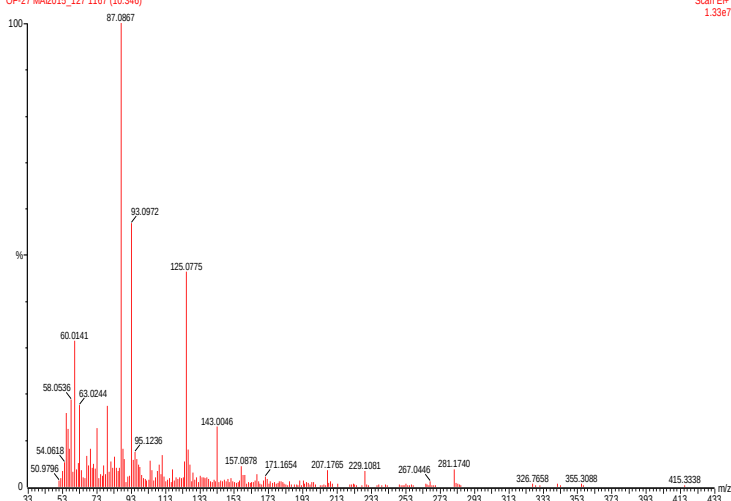


Figure 19: Spectre de masse de Dimethoate.

La figure 20 présente le spectre de masse de Diazinon. D'après la bibliothèque spectrale, ce spectre concorde à la molécule de Diazinon.

EXTRACTION HEXANE 50 PPM
OP-27 MAI2015_127 1216 (10.591)

, 27-May-2015 + 07:45:05

Scan E1+
5.67e7

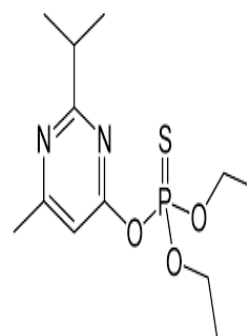
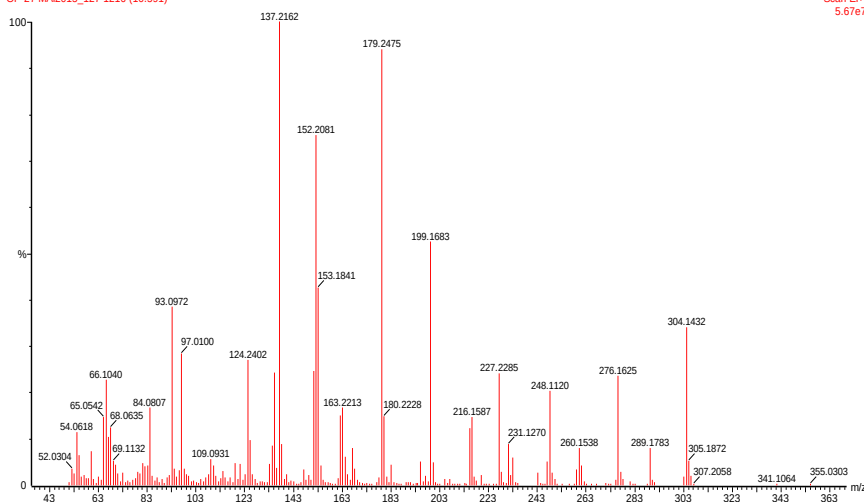


Figure 20: Spectre de masse de Diazinon

La figure 21 présente le spectre de masse de Fenitrothion. D'après la bibliothèque spectrale, ce spectre correspond à la molécule du Fenitrothion.

EXTRACTION HEXANE 50 PPM
OP-27 MA2015_127 1383 (11.426)

, 27-May-2015 + 07:45:05
Scan E1+
3.15e7

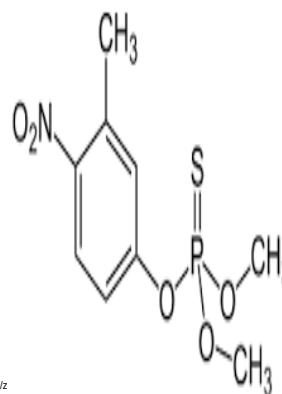
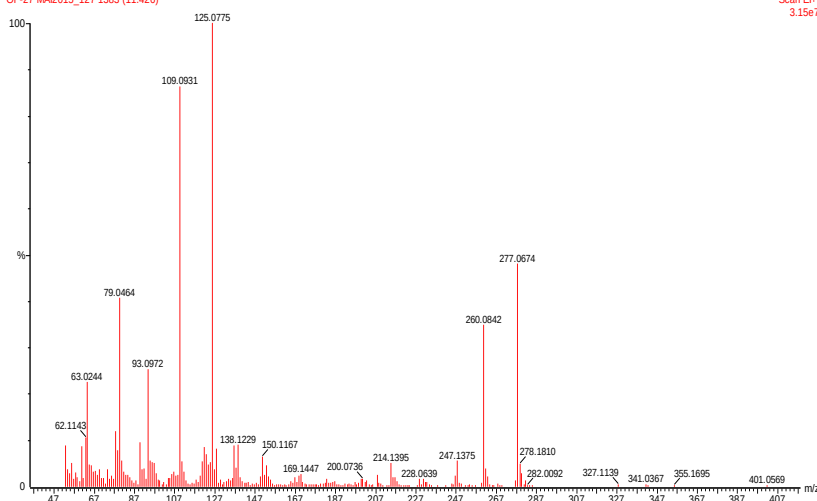


Figure 21: Spectre de masse de Fenitrothion.

La figure 22 présente le spectre de masse de Malathion. D'après la bibliothèque spectrale, ce spectre concorde à la molécule du Malathion.

EXTRACTION HEXANE 50 PPM
OP-27 MA2015_127 1393 (11.476)

, 27-May-2015 + 07:45:05
Scan E1+
3.19e7

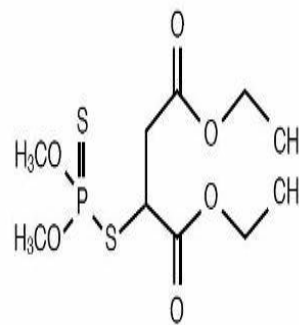
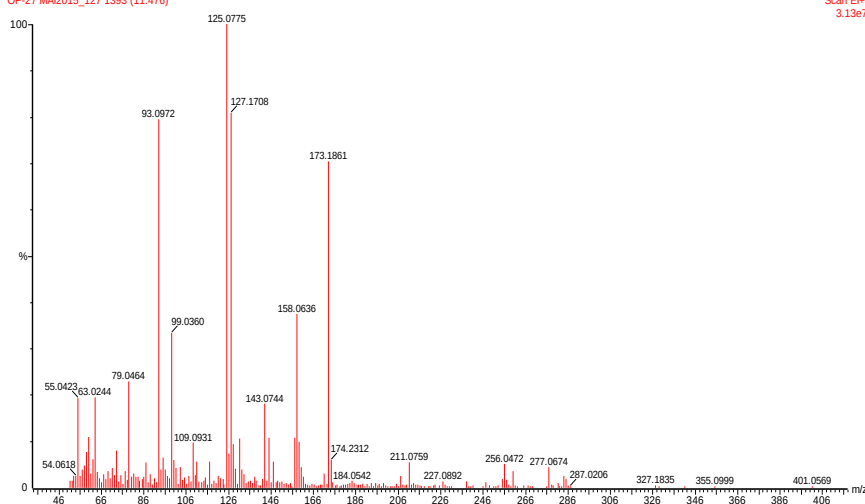


Figure 22: Spectre de masse de Malathion.

La figure 23 présente le spectre de masse de Chlorpyrifos. D'après la bibliothèque spectrale, ce spectre correspond à la molécule de Chlorpyrifos.

EXTRACTION HEXANE 50 PPM
OP-27 MAY2015_127 1419 (11.606)

, 27-May-2015 + 07:45:05
Scan E1+
3.33e7

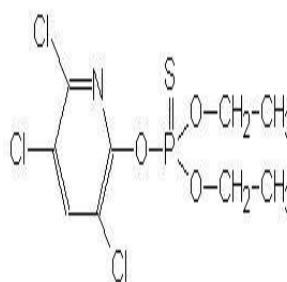
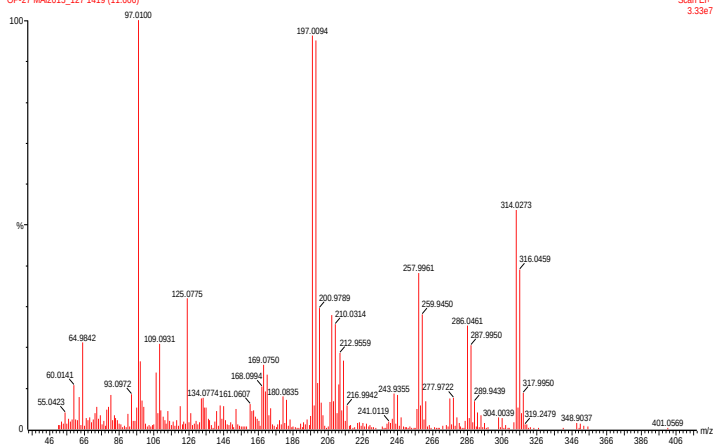


Figure 23: Spectre de masse de Chlorpyrifos

Le tableau 4 présente le temps de rétention et l'abondance de la série des OPs détectés

Tableau 4: Listes des OPs détectés dans la mixture à 50ppm

Numéro des pics	Molécules des OPs	Formule	Temps de rétention (TR) en mn	Abondance des pics en %
1	Dimethoate	C ₅ H ₁₂ NO ₃ PS ₂	10,43	96,1
2	Diazinon	C ₁₂ H ₂₁ N ₂ O ₃ PS	10,61	89
3	Fenitrothion	C ₉ H ₁₂ NO ₅ PS	11,42	94
4	Malathion	C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂	11,46	98,2
5	Chlorpyrifos	C ₉ H ₁₂ NO ₃ PS ₂	11,61	95,2

∞ **Mixture à 5ppm :**

Le chromatogramme (figure 24) montre le résultat de l'analyse par CPG/SM de la mixture des OPs à 5ppm.

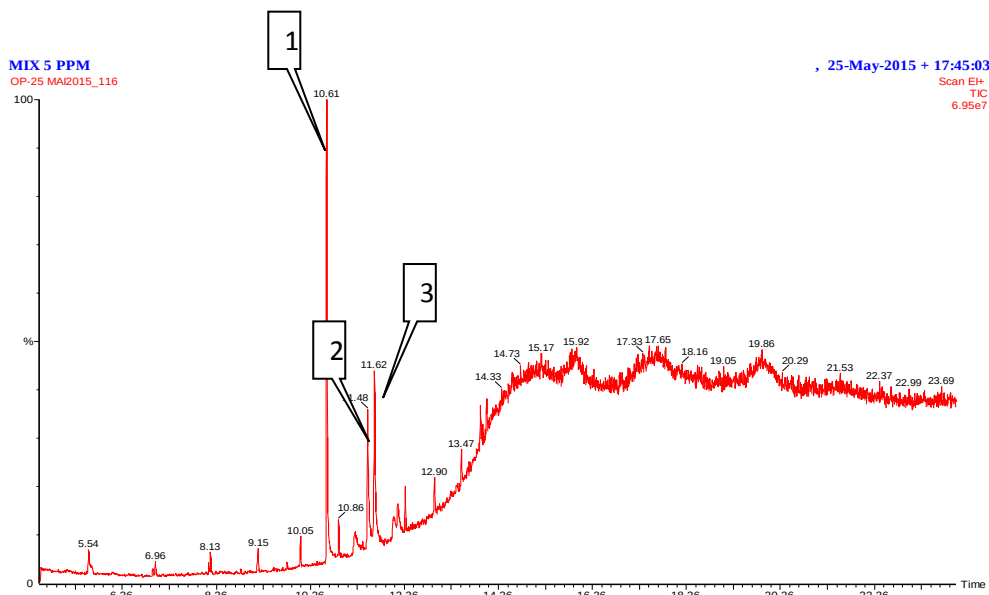


Figure 24: Chromatogramme d'identification de mixture des OPs à 5ppm.

Ce chromatogramme (figure 24) montre l'apparition de 3 molécules des OPs. D'après la bibliothèque spectrale, les trois pics ont été identifiés aux trois molécules suivantes : Diazinon, Malathion, Chlorpyrifos.

Le tableau 5 montre le temps de rétention et l'abondance de chaque pic des trois OPs.

Tableau 5: Liste des OPs détectés dans la mixture à 5ppm

Numéro des pics	Molécules des OPs	Formule	Temps de rétention (TR) en mn	Abondance des pics en %
1	Diazinon	<chem>C12H21N2O3PS</chem>	10,63	93,9
2	Malathion	<chem>C10H19O6PS2</chem>	11,47	94,3
3	Chlorpyrifos	<chem>C9H12NO3PS2</chem>	11,63	89,4

∞ Mixture à 1ppm :

Le chromatogramme (figure 25) montre le résultat de l'analyse par CPG/SM de la mixture des OPs à 1ppm.

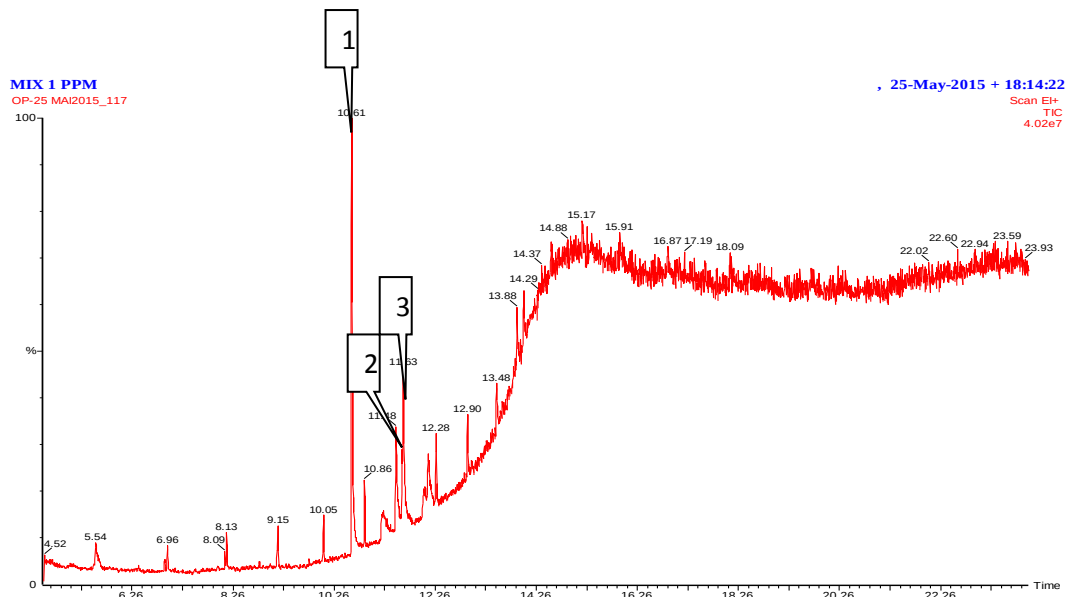


Figure 25: Chromatogramme d'identification de mixture des OPs à 1 ppm.

Dans ce chromatogramme (figure 25) apparait 3 molécules des OPs. Selon la bibliothèque spectrale, les trois pics ont été identifiés aux trois molécules suivantes : Diazinon, Malathion, Chlorpyriphos.

Le tableau 6 présente le temps de rétention et l'abondance de chaque pic.

Tableau 6: Liste des OPs détectés dans la mixture à 1 ppm.

Numéro des pics	Molécules des OPs	Formule	Temps de rétention (TR) en mn	Abondance des pics en %
1	Diazinon	$C_{12}H_{21}N_2O_3PS$	10,62	93,9
2	Malathion	$C_{10}H_{19}O_6PS_2$	11,48	94,3
3	Chlorpyriphos	$C_9H_{12}NO_3PS_2$	11,62	89,4

∞ Mixture à 0,5ppm:

Le chromatogramme (figure 26) montre le résultat de l'analyse par CPG/SM de la mixture des OPs à 0,5ppm.

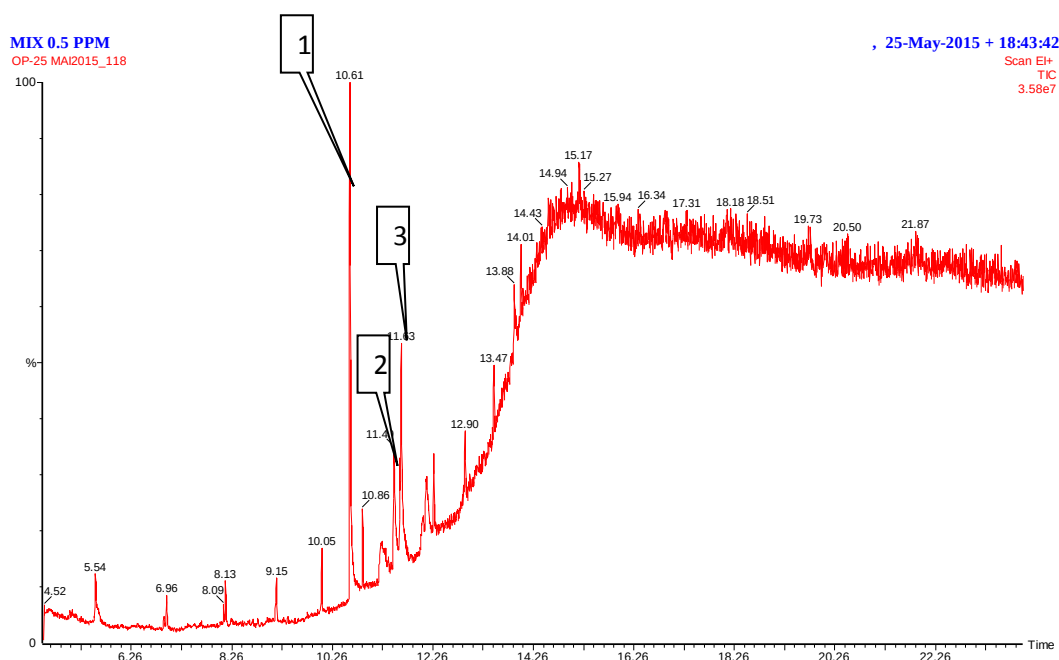


Figure 26: Chromatogramme d'identification de mixture des OPs à 0,5ppm.

Ce chromatogramme (figure 26) montre aussi 3 molécules des OPs, mais les pics ne sont pas bien séparés, ils sont chevauchés avec des bruits de fond dues à la GC/SM.

D'après la bibliothèque spectrale, les trois pics ont été identifiés aux trois molécules suivantes : Diazinon, Malathion, Chlorpyriphos.

Le tableau 7 présente le temps de rétention et l'abondance de chaque pic.

Tableau 7: Liste des POs détectés dans la mixture à 0,5 ppm

Numéro des pics	Molécules des OPs	Formule	Temps de rétention (TR) en mn	Abondance des pics en %
1	Diazinon	$C_{12}H_{21}N_2O_3PS$	10,60	88,29
2	Malathion	$C_{10}H_{19}O_6PS_2$	11,50	28,6
3	Chlorpyriphos	$C_9H_{12}NO_3PS_2$	11,62	90,3

∞ Mixture 0,1ppm:

Le chromatogramme (figure 27) montre le résultat de l'analyse par CPG/SM de la mixture des OPs à 0,1ppm.

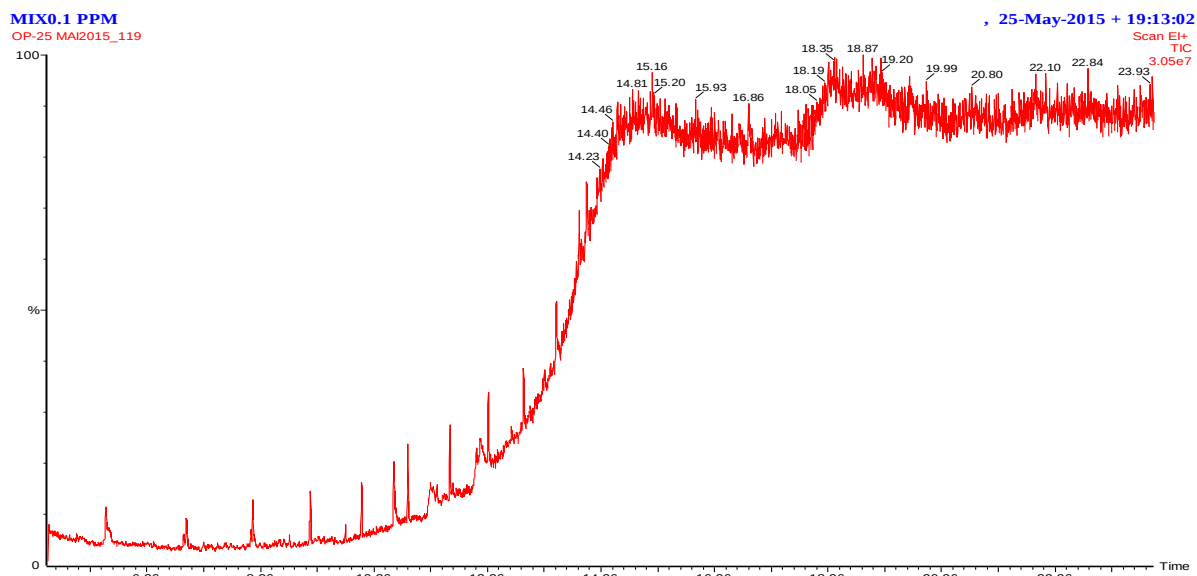


Figure 27: Chromatogramme d'identification de mixture des OPs à 0.1ppm

Dans ce chromatogramme (figure 27) aucune molécule n'a été détectée.

3.2 Extraction de la mixture des Organophosphorés

Nous avons réalisé l'extraction d'un plasma dopé par les cinq OPs selon la procédure illustrée dans le chapitre II, en adoptant les mêmes concentrations des mixtures qui sont : 50ppm, 5ppm, 1ppm, 0,5ppm, 0,1ppm.

∞ Extraction 50ppm :

Le chromatogramme (figure 28) montre le résultat de l'analyse par CPG/SM de l'extrait de la mixture des OPs à 50ppm.

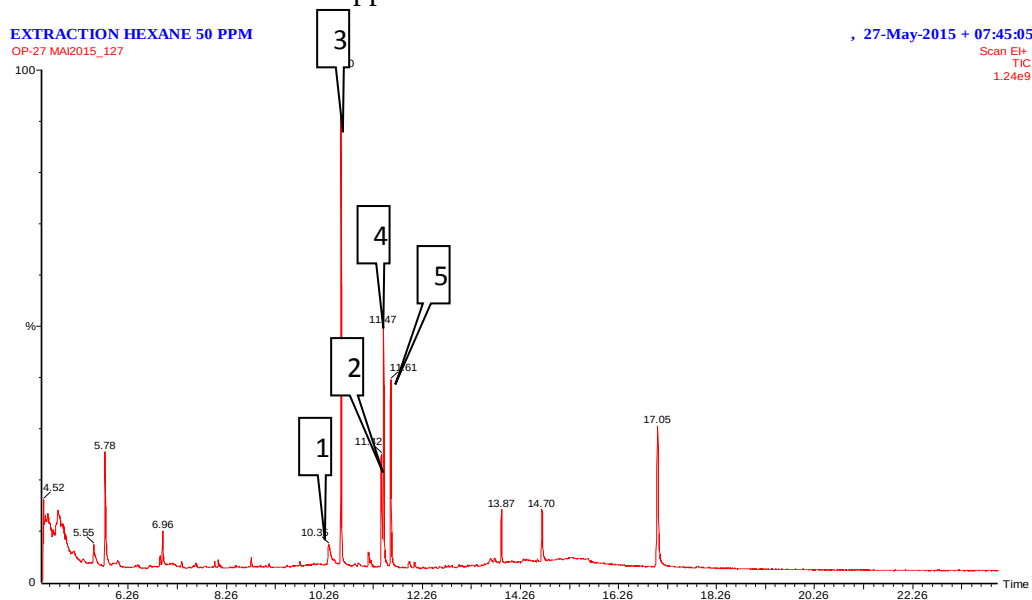


Figure 28: Chromatogramme d'identification de mixture avec extraction des OPs à 50ppm.

Dans ce chromatogramme (figure 28) apparait 5 molécules des OPs. Selon la bibliothèque spectrale, les cinq pics ont été identifiés aux cinq molécules suivantes : Dimethoate, Diazinon, Malathion, Fenitrothion, Chlorpyriphos.

Le tableau 8 montre le temps de rétention et l'abondance de chaque pic des 5 OPs.

Tableau 8: Liste des OPs détectés dans la mixture avec extraction à 50 ppm

Numéro des pics	Molécules des OPs	Formule	Temps de rétention (TR) en mn	Abondance des pics en %
1	Dimethoate	$C_5H_{12}NO_3PS_2$	10,36	36,2
2	Diazinon	$C_{12}H_{21}N_2O_3PS$	10,60	92,4
3	Fenitrothion	$C_9H_{12}NO_5PS$	11,41	92
4	Malathion	$C_{10}H_{19}O_6PS_2$	11,46	98,2
5	Chlorpyriphos	$C_9H_{12}NO_3PS_2$	11,60	89,4

∞ Extraction 5ppm :

Le chromatogramme (figure 29) montre le résultat de l'analyse par CPG/SM de l'extrait de la mixture des OPs à 5ppm.

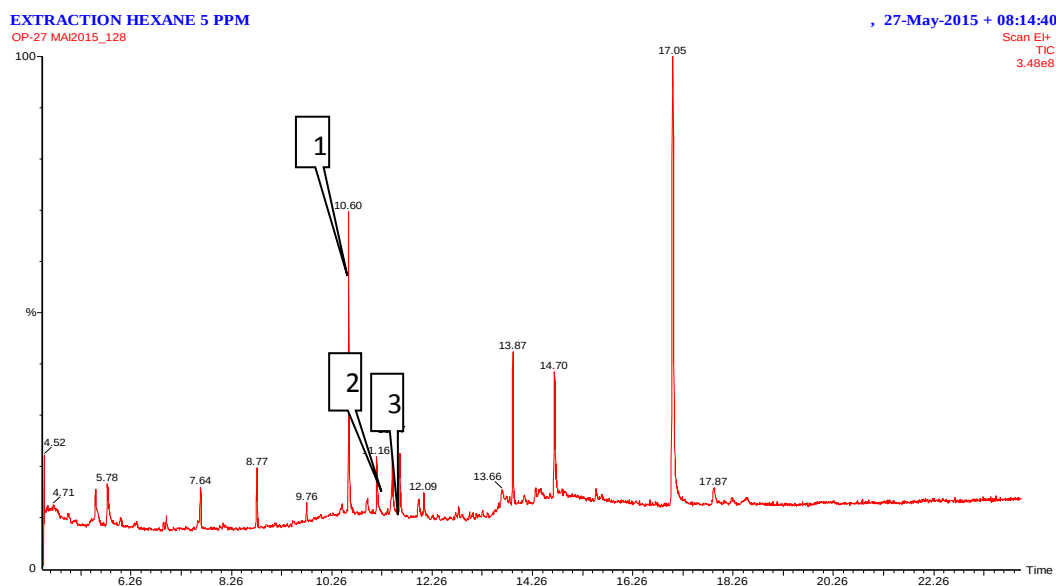


Figure 29: Chromatogramme d'identification de mixture avec extraction des OPs 5ppm.

Dans ce chromatogramme (figure 29) apparait 3 molécules des OPs. Selon la bibliothèque spectrale, les trois pics ont été identifiés aux trois molécules suivantes : Diazinon, Malathion, Chlorpyriphos

Le tableau 9 montre le temps de rétention et l'abondance de chaque pic des 3 OPs.

Tableau 9: Liste des OPs détectés dans la mixture avec extraction à 5 ppm

Numéro des pics	Molécules des OPs	Formule	Temps de rétention (TR) en mn	Abondance des pics en %
1	Diazinon	C ₁₂ H ₂₁ N ₂ O ₃ PS	10,61	38,2
2	Malathion	C ₁₀ H ₁₉ O ₆ PS ₂	11,47	62,2
3	Chlorpyrifos	C ₉ H ₁₂ NO ₃ PS ₂	11,61	76,20

∞ **Extraction 1ppm :**

Le chromatogramme (figure 30) montre le résultat de l'analyse par CPG/SM de l'extrait de la mixture des OPs à 1ppm.

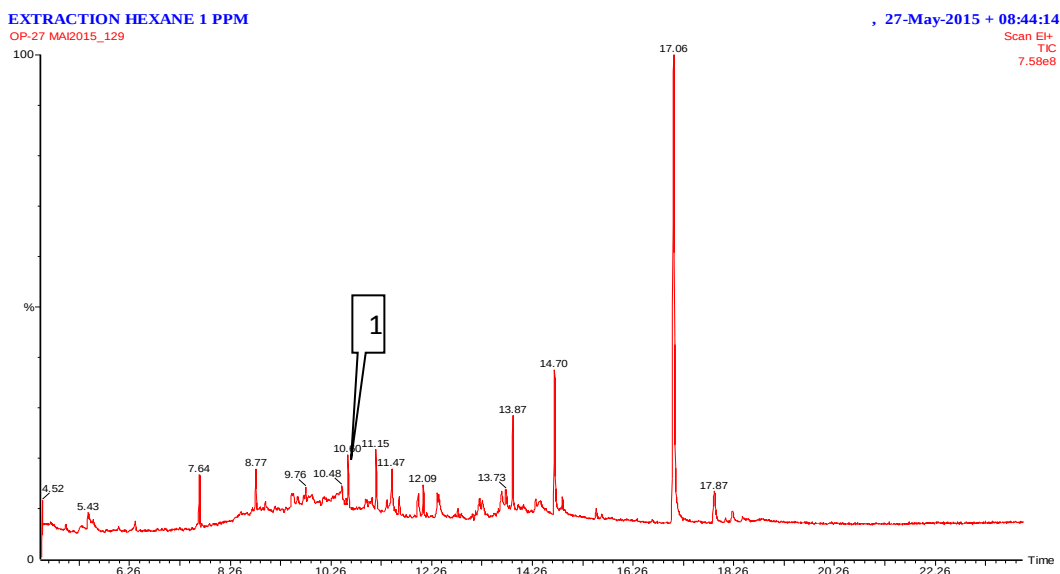


Figure 30: Chromatogramme d'identification de mixture avec extraction des OPs à 1 ppm

Dans ce chromatogramme (figure 30) apparaît une seule molécule des OPs. Selon la bibliothèque spectrale, le pic a été identifié est : Diazinon.

Le tableau 10 montre le temps de rétention et l'abondance de pic de 1 OP.

Tableau 10: Liste des OPs détectés dans la mixture avec extraction à 1 ppm.

Numéro des pics	Molécules des OPs	Formule	Temps de rétention (TR) en mn	Abondance des pics en %
1	Diazinon	C ₁₂ H ₂₁ N ₂ O ₃ PS	10,61	38,2

∞ **Extraction 0,5ppm :**

Le chromatogramme (figure 31) montre le résultat de l'analyse par CPG/SM de l'extrait de la mixture des OPs à 0,5ppm.

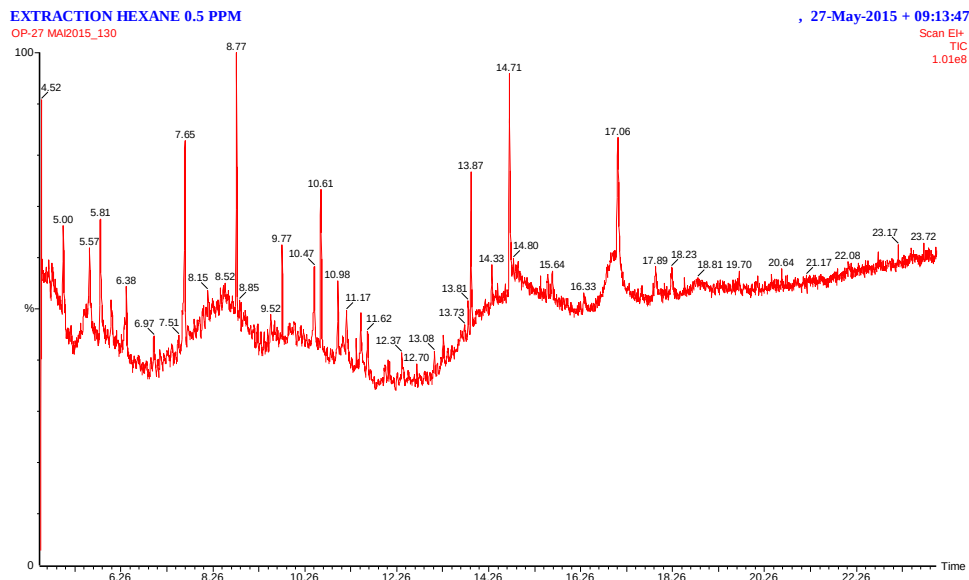


Figure 31: Chromatogramme d'identification de mixture avec extraction des OPs à 0,5ppm.

Dans ce chromatogramme (figure31) aucune molécule n'a été détectée.

∞ **Extraction 0,1 ppm :**

Le chromatogramme (figure 32) montre le résultat de l'analyse par CPG/MS de l'extrait de la mixture des OPs à 0,1ppm.

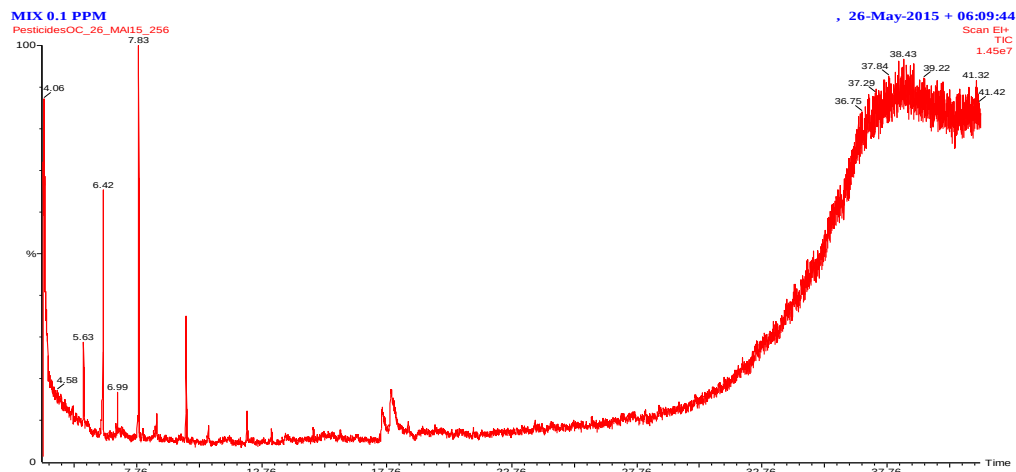


Figure 32: Chromatogramme d'identification de mixture avec extraction des OPs à 0,1ppm

Dans ce chromatogramme (figure32) aucune molécule n'a été détectée.

4. Résultats du dosage qualitatif des OPs au niveau des échantillons des agents d'hygiène

Les trente échantillons du sang et les trente échantillons d'urines étudiés ont été extraits par l'hexane, évaporé sous jet d'azote pour obtenir un résidu sec élué par le méthanol, et puis analysés par la CPG/SM. Les résultats obtenus sont illustrés dans les tableaux 11 et 12.

Tableau 11: Résultats d'identification des OPs dans le sang.

Numéro d'ordre	Sexe	Age	Résultats de CPG /SM
1	M	51	Négatif
2	M	46	Négatif
3	M	43	Négatif
4	M	42	Négatif
5	M	58	Négatif
6	M	51	Négatif
7	M	43	Négatif
8	M	27	Négatif
9	M	40	Négatif
10	M	59	Négatif
11	M	48	Négatif
12	M	39	Négatif
13	M	54	Négatif
14	M	55	Négatif
15	M	43	Négatif
16	M	40	Négatif
17	M	57	Négatif
18	M	59	Négatif
19	M	56	Négatif
20	F	56	Négatif
21	M	59	Négatif
22	M	45	Négatif
23	M	49	Négatif
24	M	49	Négatif
25	M	37	Négatif

26	M	53	Négatif
27	M	47	Négatif
28	M	59	Négatif
29	M	49	Négatif
30	M	45	Négatif

Tableau 12: Résultats d'identification des OPs dans les urines

Numéro d'ordre	Sexe	Age	Résultats de CPG /SM
1	M	51	Négatif
2	M	46	Négatif
3	M	43	Négatif
4	M	42	Négatif
5	M	58	Négatif
6	M	51	Négatif
7	M	43	Négatif
8	M	27	Négatif
9	M	40	Négatif
10	M	59	Négatif
11	M	48	Négatif
12	M	39	Négatif
13	M	54	Négatif
14	M	55	Négatif
15	M	43	Négatif
16	M	40	Négatif
17	M	57	Négatif
18	M	59	Négatif
19	M	56	Négatif
20	F	56	Négatif
21	M	59	Négatif
22	M	45	Négatif
23	M	49	Négatif

24	M	49	Négatif
25	M	37	Négatif
26	M	53	Négatif
27	M	47	Négatif
28	M	59	Négatif
29	M	49	Négatif
30	M	45	Négatif

Le résultat de dosage qualitatif des Organophosphorés dans les urines et dans le sang des agents d'hygiène, s'est révélé négatif.

DISCUSSION

Les pesticides, leur impact sur l'environnement et notamment leur contamination de la santé de l'Homme sont en effet devenu un sujet de préoccupation. Face à ce climat d'anxiété et parfois de défiance, il était indispensable de délivrer une information scientifique et objective sur un tel sujet.

C'est dans ce cadre que nous avons inscrits ce travail, ayant comme objectif principal l'évaluation de degré d'exposition aux pesticides notamment les organophosphorés (OPs), chez une population d'agents d'hygiène, manipulateurs quotidiens de ces produits, au niveau de six arrondissements de la ville de Fès.

Afin de déceler l'existence d'une contamination par les pesticides notamment les OPs, dans les matrices humaines (sang et urine) chez la population étudiée, nous avons jugé intéressant d'entamer cette étude par une enquête sur le degré et les années d'exposition aux pesticides et les familles de ces derniers, utilisés par les agents d'hygiène au niveau des six arrondissements de la ville de Fès.

Les résultats de l'enquête ont montré particulièrement que la population étudiée utilise beaucoup plus, les pesticides de la famille des pyréthrinoides, suivi de la famille des OPs. Les années de l'exposition des individus étudiés s'étalait de 1 à 40 ans avec plus de la moitié (soit 50%) d'individus étudiés qui sont exposés aux pesticides durant une période dépassant 10 ans.

Ces derniers résultats étaient très intéressants puisque ils ont répondu au but de notre enquête et aussi révélateurs pour suggérer la possibilité d'existence d'une contamination, des matrices humaines (sang et urine), par les pesticides notamment les OPs, utilisés par les services d'hygiène de département de l'intérieur (BMH).

Les résultats de l'enquête nous ont permis d'observer aussi une prédominance du sexe masculin : 29 hommes par rapport à une seule femme et un âge moyen de l'ordre de 48 ans avec un minimum de 27 ans et un maximum de 59 ans. Les travaux réalisés en Niger en 2008 par Mamadou et al. ^[36], ont trouvé également une prédominance de sexe masculin : 94 hommes par rapport à 9 femmes et une tranche d'âge variant de 26 à 50 ans.

Selon la littérature, les valeurs de l'activité cholinestérasique peuvent être influencées par l'âge et le sexe. En effet, selon l'hypothèse épidémiologique, on doit s'attendre à une baisse des valeurs moyennes de l'activité cholinestérasique chez les personnes de sexe masculin et surtout chez les hommes âgés (population la plus exposée aux insecticides) ayant subi une longue année d'exposition aux pesticides ^[38].

D'autres part, la susceptibilité ou la vulnérabilité des femmes (ou du sexe féminin) vis-à-vis de l'intoxication aux insecticides est souvent expliquée par plusieurs facteurs : fréquence croissante des femmes dans les travaux d'hygiène, analphabétisme élevé, peu de prise de précautions, statut hormonal et lipidique différent facilitant l'accumulation de certains produits ^[39-40].

L'ensemble de ces résultats obtenus de l'enquête, ont recommandé notre deuxième objectif opérationnel celui de réaliser, pour cette population exposée quotidiennement aux pesticides, une évaluation de l'activité cholinestérasique dans le sang.

En effet, nombreux auteurs ^[36-38-44-45] ont affirmé que lors de la surveillance de l'intoxication aux insecticides organophosphorés, la mesure de l'inhibition des cholinestérases a le plus grand d'intérêt. Le dosage de l'acétylcholinestérase dans les érythrocytes est ainsi un bon indicateur d'exposition professionnelle aux organophosphorés et aux carbamates.

Faut-il rappeler que l'intoxication par un neurotoxique organophosphoré se traduit généralement par une inhibition des cholinestérases qui aboutit à une véritable intoxication par l'acétylcholine endogène, celle-ci s'accumulant au niveau des synapses nerveuses et neuromusculaires ^[46].

Dans notre population étudiée, le dosage de l'activité cholinestérasique érythrocytaire et plasmatique a été trouvé compris entre 50% et 100%. Selon Mamadou et al. ^[36], on peut parler d'un risque de manifestation toxique quand l'activité cholinestérasique érythrocytaire et plasmatique est inférieure à 50%. L'OMS recommande le retranchement des ouvriers à l'exposition, en cas d'une inhibition des cholinestérases de 30 % ^[43].

Les résultats, supérieurs à 50%, que nous avons obtenus pour AchE et PchE chez les différents individus étudiés, indiquent l'absence d'intoxication.

Nos résultats concordent avec une étude réalisée en milieu rural marocain ^[38]. Cette enquête entreprise pour apprécier l'exposition chronique aux insecticides d'une population rurale de trois douars situés aux alentours de la ville de Settat, a porté sur 325 sujets. L'activité enzymatique sérique des cholinestérases a été dosée et aucun cas de diminution de l'activité enzymatique sérique des cholinestérases n'a été observé. Les mêmes auteurs ont accusé cela à la sous-utilisation des insecticides en milieu rural lieu de l'étude.

Notons également que nous n'avons constaté chez les agents d'hygiène étudiés, aucune variation de l'activité cholinestérasique érythrocytaire et plasmatique selon leurs répartitions d'âge et de sexe ou selon leur distribution dans l'espace.

Différemment à nos résultats, les données publiées en 2008 au Niger par Mamadou et al. ^[36] pour l'activité cholinestérase mesurée sur 103 personnes, toutes impliquées dans la

campagne de l'année 2006 de traitements phytosanitaires dans 4 des régions du Niger où le problème des acridiens se posait avec plus d'acuité, étaient entre 10%-80%. Dix sept personnes (soit 16,50%) sur 103 présentent une hypocholinestérasémie, puisque leur taux d'inhibition varie de 31% à 36%.

Dans notre étude, bien qu'aucun cas d'hypocholinestérasémie n'ait été observé, nous devons rester vigilants et nous n'écartons pas formellement l'intoxication chronique aux pesticides organophosphorés.

C'est le but escompté dans notre troisième objectif, qui était le dosage qualitatif des OPs dans des échantillons humains (sang et urine) des agents d'hygiène objet de cette étude.

Avant d'entamer ce dosage qualitatif des OPs dans les échantillons de sang et d'urines des agents d'hygiènes, nous avons procédé par vérifié et déterminé la limite de détection par CPG/SM d'une mixture de cinq organophosphorés : Dimethoate, Diazinon, Malathion, Fenitrothion, Chlorpyrifos, les standards utilisés par le laboratoire de toxicologie du CAPM. Cette détermination a été réalisée pour cinq concentrations à savoir : 50ppm, 5ppm, 1ppm, 0,5ppm, 0,1ppm.

Selon une étude, publiée par Lacassie et al. en 2001, traitant la détermination de 29 multi résidus de pesticides OPs au niveau du sang et des urines par CPG/SM, la limite de détection adoptée était de 0,005ppm à 0,025ppm. Les résultats obtenus par cette méthode étaient très satisfaisant.

En 2009 en Korea, Park et al., ont étudié la recherche de 66 pesticides en utilisant une limite de détection de 1ppm et 0,1ppm. Ils ont pu détecter des pesticides, à 1ppm, avec plus 70% pour 18 pesticides, 50 à 70% pour 15 pesticides.

Une étude publié en 2014 par Nishimiyimana FX et al., a développé une méthode d'analyse par GC-MS de résidus de pesticides dans la matrice biologique. La méthode a permis de déterminer des pourcentages significatifs de quatre pesticides : Chlorpyrifos, Dichlorvos, DDT et Hepatchlor.

Récemment en 2015, des travaux de recherche menés par Nuno IP Valente et al ^[48], en Portugal, ont révélé une limite de détection de l'ordre de 50 ng/ml (soit 0.066ppm) pour la détermination de 9 OPs par GC/SM: chlorfenvinphos, chlorpyrifos, diazinon, dimethoate, fenthion, malathion, parathion, phosalone, pirimiphos-methyl et quinalphos.

D'après ces travaux et notamment ceux de Park et al., notre limite de détection est conforme pour déceler l'un des cinq OPs recherchés.

La recherche des OPs dans les trente échantillons d'urine et les trente échantillons de sang des agents d'hygiène, s'est révélée négative. Ce résultat nous a permis de conclure et de

déduire deux hypothèses : soit que notre méthode de dosage des OPs, d'une limite de détection de 0,1ppm, est loin d'être sensible et performante, soit qu'aucun individus étudiés n'est contaminé par l'un des OPs recherchés. En confrontant les résultats de l'évaluation de l'activité cholinestérasique érythrocytaire et plasmatique et ceux de dosage des OPs dans les échantillons de sang et d'urines des agents d'hygiène, nous pouvons confirmer l'absence d'une contamination par les OPs.

Ce résultat ne permet pas surtout d'éliminer formellement une contamination aux insecticides organophosphorés. En tout état de cause, les utilisateurs doivent bénéficier d'une surveillance régulière et d'une formation relative aux règles d'hygiène, de protection, et de rationalisation de l'utilisation de ces produits.

Il faut rappeler que les intoxications par insecticides organophosphorés dépendent en grande partie de la dose ingérée. La littérature rapport qu'ils sont mortelles dans 4 à 30% de cas étudiés aux États-Unis (50 % de mortalité chez l'enfant, 10 % chez l'adulte) Ces insecticides ^[46] doivent être différenciés des organochlorés qu'ils ont remplacés ou des carbamates, avec lesquels ils ont en commun une activité anticholinestérasique. Mais contrairement à ces derniers, les composés organophosphorés inhibent les cholinestérases de façon irréversible, et ils passent la barrière hématoencéphalique : ils sont qualifiés de neurotoxiques. Au-delà de la toxicité de l'organophosphoré, il faut ajouter celle du ou des solvants associés, des émulsifiants et des surfactants qui entrent dans la composition du produit : ils interviennent pour une part non négligeable dans la toxicité ^[46].

Les centres antipoison et de toxicovigilance peuvent être appelés à tout moment pour aider à évaluer ces types d'intoxication ^[47].

La prévention des intoxications aux insecticides nécessite donc une bonne éducation des manipulateurs et utilisateurs. Ils doivent porter des bottes, des gants, une blouse et un masque protecteur ou à défaut des lunettes et un chapeau et se conformer aux règles strictes de pulvérisation ^[42-47].

Une surveillance et une sensibilisation des utilisateurs de pesticides sur les dangers potentiels encourus s'impose est devient nécessaire.

CONCLUSION RECOMMANDATION ET PERSPECTIVE

Les pesticides sont de nos jours à usage usuel, ils contribuent au développement économique et à l'augmentation de la qualité des produits certes. Mais ils continuent à être l'une des sources de pollution et d'intoxication humaine.

L'objectif de ce travail est d'apprécier le degré d'exposition aux pesticides, utilisés par les agents d'hygiène au niveau de six arrondissements de la ville de Fès par le biais d'une enquête concernant le degré et Les années d'exposition, ainsi que par l'évaluation de l'activité cholinestérasique et l'identification des pesticides notamment les organophosphorés dans leurs matrices humaines : sang et urine.

Les résultats de l'enquête ont montré une prédominance du sexe masculin avec une moyen d'âge de 48 ans, leur années d'exposition varie entre 1 an et 40 ans.

L'activité cholinestérasique érythrocytaire et plasmatique ont été trouvé comprise entre 50% et 100% ce qui prouve l'absence de toutes intoxications par ce type de pesticides. La recherche des pesticides dans les 30 échantillons du sang et les 30 échantillons d'urines des agents d'hygiène, s'est révélée négative.

Les informations obtenues dans le cadre de cette étude proposent aux intervenants notamment ceux de la santé des éléments et des outils pour aider à prévenir les risques des humains exposés aux insecticides de la famille des organophosphorés.

Ces résultats relatifs à la recherche des traces d'organophosphorés dans les matrices humaines (sang et urine), bien que préliminaires, doivent rassurer les personnes exposées et les autorités concernées. L'utilisation rigoureuse des moyens de protections afin de prévenir tout risque sanitaire grave doit être recommandée.

Cependant, il serait souhaitable d'élargir la gamme des analyses à d'autres familles de pesticides et d'utiliser des méthodes d'analyse plus sophistiqué tel que : LC/MS/MS ou CPG/SM/SM.

REFERENCES

- [1] Thiollet-scholtus M, Contribution d'un indicateur de qualité des eaux de surface vis-à-vis des produits phytosanitaire à l'échelle du bassin versant viticole. Institut National polytechnique de Lorraine (France), 206p, 2004
- [2] World Health Organization, WHO/FAO/UNEP, Joint note for the media - Children are facing high risks from pesticide poisoning, 2004. [Online] Available: <http://www.who.int> (September, 2004).
- [3] International Programme on Chemical Safety (IPCS). Environmental health criteria 63; organophosphorus insecticides. Geneva (Switzerland) : World Health Organization, 1986.
- [4] World Health Organization (WHO), United Nations Environment Program (UNEP). *Public health impact of pesticides used in agriculture. OPs and Suicide* Geneva: WHO; UNEP, 1990.
- [5] London L, Flisher AJ, Wesseling C, Mergler D, Kromhout H. Suicide and Exposure to Organophosphate Insecticides : Cause
- [6] M. Ait El Cadi, A. Mezzane, B. Meddah, Y. Khabbal, and L. Idrissi, "Intoxications mortelles aux pesticides au Maroc (2000–2005), " *Revue d'Epidémiologie et de Santé Publique*, vol. 57, n°. S1, pp. 6, 2009.
- [7] Schomburg C.J, Glotfelty D.E, Seiber J.N. Pesticide occurrence and distribution in fog collected near Monterey Californias 25:1 (1991) 155-160.
- [8] OMS/IPCS. The WHO recommended classification of pesticides by hazard and guidelines to classification 2004. Avril 2005.
- [9] Ghislaine B. Produits phytosanitaire. Biologie clinique EMC Elsevier. 2004; 0140:90-50.
- [10] AIDA KESRAOUI –ABDESSALEM/ Dégradation des pesticides chlortoluron, carbufurane et benztazone en milieux aqueux par les procédés d'oxydation avancée/Université Paris –Est et Tunis EL Manar/ en 2008/Tunisie/p : 8
- [11] Eddleston M, Phillips MR. Self-poisoning with pesticides. *BMJ* 2004; 328:42—4.
- [12] Eddleston M, Buckley NA, Eyer P, Dawson AH. Management of acute organophosphorus pesticide poisoning. *Lancet* 2008; 371:597—607
- [13] Biljana A, Safiyya MA, Sin Eng C. Interethnic variability of plasma paraxonase (PON1) activity towards organophosphates and PON1 polymorphisms among Asian populations: A short review. *Ind Health* 2008; 46:309—17.
- [14] Biljana A, Milos PS. Unequal efficacy of pyridinium oximes in acute organophosphate poisoning. *Clin Med Res* 2007; 5:71—82.

- [15] Roberts DM, Karunarathna A, Buckley N, Manuweera G, Rezvi Sheriff MH, Eddleston M. Influence of pesticide regulation on acute poisoning death in Sri Lanka; 81:789—98. Bull World Health Organ 2003.
- [16] Evgenidou E, Konstantinou I, Fytianos K, Albanis T. Study of the removal of dichlorvos and Dimethoate in a titanium dioxide mediated through the examination of intermediates and the reaction mechanism; 137:1056—64. J Hazard Mater 2006.
- [17] Milan Jokanovic, Milos P, Stojiljkovic. Current understanding of the application of pyridinium oximes as cholinesterase reactivators in the treatment of organophosphate poisoning; 553:10—7. Eur J Pharmacol 2006.
- [18] Eddleston M, Buckley NA, Eyer P, Dawson AH. Management of acute organophosphorus pesticide poisoning; 371:597—607. Lancet 2008.
- [19] Lejus C, Blanloeil Y, Burnat P, Souron R. Les Cholinestérases; 17:1122—35. Ann Fr Anesth Reanim 1998.
- [20] Cardon N, Vaillant C, Cren P, Gruffat B, Rappold J-P, Corbe´ H. Intoxication aigue au pesticide organophosphoré et activités des cholinestérases; 63:329—34. Ann Biol Clin (Paris) 2005.
- [21] Massoulie J, Anselmet A, Bon S, Krejci E, Legay C, Morel N, et al. The polymorphism of acetyl cholinesterase: post-translational processing, quaternary associations and localization; 14(29-42):119—20. Chem Biol Interact 1999.
- [22] Wilson BW. Cholinesterase Inhibition. In: Wexler P, editor. Encyclopedia of Toxicology. 2nd ed., Oxford: Elsevier; p. 588—99. 2005.
- [23] http://www.sfar.org/acta/dossier/archives/mu99/html/mu99_11/99_11.htm. le 16/06/15
- [24] Darvesh S, Hopkins DA, Geula C. Neurobiology of butyrylcholinesterase; 4:131—8. Nat Rev Neurosci 2003.
- [25] Lallement G, Ruttimann M, Dorandeu F. Les neurotoxiques organophosphores. In: Gourmelon P, Vidal D, Renaudeau C, editors. Menace terroriste, approche médicale. Montrouge. p. 327—36. John Libbey Eurotext; 2005.
- [26] Dorandeu F, Lallement G. Les agressifs chimiques de guerre. In: Viala A, Botta A, editors. Toxicologie. Paris: Lavoisier, Tec & Doc; p. 937—68. 2005.
- [27] Sidell FR, Newmark J, McDonough JH. Chapter 5. Nerve agent. In: Tuorinsky SD, Lieutenant Colonel MSN, AN, Army Medical Research Institute of Chemical Defense U.S., editors. The text book of military medicine. Medical aspects of chemical warfare. Washington, DC: Borden institute Walter Reed army medical center; p. 155—220. 2008.

- [28] Aurbek N, Thiemann H, Eyer F, Eyer P, Worek F. Suitability of human butyrylcholinestérase as therapeutic marker and pseudo catalytic scavenger in organophosphate poisoning: a kinetic analysis; 259:133–9. Toxicology 2009.
- [29] Garnier R, Kezirian P, Burnat P, Gervais P. Utilisation de lapseudo cholinestérase plasmatique comme indicateur de l'exposition aux insecticides organophosphorés; 56:529–34. Arch Mal Prof 1995.
- [30] Efsa. 2008 annual report on pesticides residues according to article 32 of regulation (EC) no. 396/2005. European food safety authority (EFSA), Parma, Italy. 2010.
- [31] Cours, extraction liquide-liquide, René Rhode, NOVEMBRE 98, France
- [32] Mon.ftp.a.moi.chez-alice.fr/Ecole/LSM3/organique .le 16/06/15
- [33] Hung Z., Li Y., Chen B., Yao S. Simultaneous determination of 102 pesticide residus in Chinese teas by gas chromatography mass spectrometry. J chromatogr B.853 p 154-162. (2007).
- [34] Cours, extraction liquide-liquide, René Rhode, NOVEMBRE 98, France
- [35] Extraction liquide-liquide, colonnes agitées, mélangeur décanteur, réacteurs multi-étage, génie chimique et thermique.
- [36] Mamadou A, Doumma A, Mazih A, Baba Moussa Coulibaly. exposition aux organophosphorés en milieu rural nigérien : étude de l'activité enzymatique érythrocytaire des cholinestérases comme indicateur biologique. VertigO – La revue en sciences de l'environnement, Vol8 no3, décembre 2008.
- [37] Keiko Kudo, Kumi Nagamatsu, Takahiro Umehara, Yosuke Usumoto, Naomi Sameshima, Akiko Tsuji, Noriaki Ikeda, Rapid and reliable screening method for detection of 70 pesticides in whole blood by gas chromatography–mass spectrometry using a constructed calibration-locking database, p 93–100, en Japan. Legal Medicine 14 (2012).
- [38] El Kettani S, El Mostapha A, Fennich O, El Haimouti A. Exposition aux insecticides en milieu rural marocain : étude de l'activité enzymatique sérique des cholinestérases comme biomarqueur. Cahiers Santé vol. 16, n° 3, juillet-août-septembre 2006
- [39] Garcia AM. Pesticide Exposure and Women's Health. Am J Ind Med 2003 ; 44 : 584-94.
- [40] Goldman L, Eskenazi B, Bradman A, Jewell NP. Risk Behaviors for Pesticide Exposure Among, PregnantWomen Living in Farmworker, Households in Salinas, California; 45 : 491-9. Am J Ind Med 2004.
- [41] El-Zemaity ME. Evaluation the contamination of sprayer Operators during application of pesticides; 20 : 34-9. Arab J Pl Prot 2002.

- [42] Organisation Mondiale de la Santé (OMS). Guidelines on the management of public health pesticides. Geneva : WHO ; CDS ; WHOPEs, 2003.
- [43] Lidwien AMS, Berna N, van-Wendel-de J, et al. Neurological Symptoms Among Sri Lankan Farmers Occupationally Exposed to Acetylcholinesterase-Inhibiting Insecticides; 44 : 254-64. Am J Ind Med 2003.
- [44] Aydin S. Ahmed. Evaluation of acetylcholine esterase activity in the blood of workers exposed to organophosphate and carbamate insecticides by an electrometric method. Kirkuk university journal. Vol 8, N°3, 2013.
- [45] Jalady A.-M., Dorandeu F. Intérêt du dosage des cholinestérases dans le cadre des intoxications aux organophosphorés. Annales françaises d'anesthésie et de réanimation. Volume 32, n° 12 pages 856-862. 2013.
- [46] Cardon N, Vaillant C, Cren P, Gruffat B, Rappold J.P, Corbé H. Intoxication aiguë au pesticide organophosphoré et activités des cholinestérases; 63 (3) : 329-34. Ann Biol Clin 2005.
- [47] Harry P. Intoxications par produits agricoles; 50 : 372-6. Rev Prat 2000.
- [48] Nuno I.P. Valente, S_onia Tarelho, Andr_e L. Castro, Armando Silvestre, Helena M. Teixeira. Analysis of organophosphorus pesticides in whole blood by GC-MS-mECD with forensic purposes. Journal of Forensic and Legal Medicine 33 28-34. 2015.

Annexe

Présentation du Centre Anti Poison et de Pharmacovigilance du

Maroc :

Le Centre Antipoison et de Pharmacovigilance du Maroc (CAPM) a été créé en 1989. C'est un service d'utilité publique mandaté par le Ministère de la Santé pour la gestion des Problèmes toxicologiques à l'échelle individuelle et collective.

Le CAPM veille sur la diminution du nombre total d'intoxications et d'effets indésirables, la Réduction des décès et des séquelles toxiques par l'amélioration de la prise en charge du Patient intoxiqué et l'évitement des erreurs médicamenteuses. Ces objectifs nécessitent l'élaboration d'une stratégie nationale de lutte et de prévention antitoxique dont les composantes sont :

Centraliser les déclarations et les informations sur les effets indésirables des médicaments et autres produits de santé en provenance des professionnels de santé, des industries pharmaceutiques et du public;

Répondre aux demandes d'informations sur les produits de santé en générale sur leurs effets indésirables en particulier;

- ✓ Créer des centres régionaux et coordonner leurs activités;
- ✓ Maîtriser la connaissance de l'état épidémiologique;
- ✓ Programmer des enquêtes de Pharmacovigilance;
- ✓ Participer à l'enseignement et à la formation en Pharmacovigilance et toxicologie du personnel médical et paramédical;
- ✓ Elaborer des conduites à tenir standardisées;
- ✓ Assurer la disponibilité des antidotes et des médicaments spécifiques à certains toxiques ;
- ✓ Générer les alertes.

I. Information toxicologique :

Le centre dispose d'un service téléphonique lancé en 1991. Ce dernier est assuré par un médecin Pharmacotoxicologue et fonctionne 24 heures sur 24 et 7 jours sur 7. C'est une unité médicale spécialisée qui consiste à délivrer l'information en réponse à une demande de renseignement en toxicologie, en pharmacologie ou à une situation d'intoxication. Elle donne des éléments de diagnostic, d'évaluation, de prise en charge thérapeutique et de pronostic.

II. La pharmacovigilance :

Le centre national de pharmacovigilance a été reconnu en 1992 comme le 34^{ème} membre du centre collaborateur de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), pour la surveillance des effets indésirables des médicaments (Uppsala Monitoring Centre : UMC).

II. La toxicovigilance :

La toxicovigilance est une spécialité médicale qui s'occupe de la détection, l'évaluation et la prévention des risques encourus par l'homme suite à un contact direct ou indirect par inhalation ou ingestion d'un agent toxique pouvant générer un effet nuisible. Le département s'occupe de l'identification, l'évaluation et de la prévention des risques de toxicité existants dans une communauté pour les réduire ou les éliminer et ceci selon l'analyse des déclarations.

IV. Laboratoire :

C'est un laboratoire de pharmacologie et de toxicologie. Ses attributions sont l'analyse toxicologique d'urgence (toxicologie médicale) et le dosage des médicaments pour le suivi thérapeutique. Le laboratoire est chargé de développer les analyses toxicologiques médico-légales et la recherche de certaines substances dopantes.

1. Personnel du Laboratoire

- 1 poste d'assistant médical
- 3 postes d'ingénieur d'état
- 2 postes de technicien de laboratoire

2. Locaux et équipements

□ Locaux

Le laboratoire est un département du centre antipoison. Il dispose des locaux (selon le plan du laboratoire) :

- Une salle destinée à l'activité de toxicologie
- Une salle destinée à l'activité de pharmacologie
- Une salle de traitement des échantillons (extraction, purification, caractérisation qualitative)
- Une salle de prélèvement
- Des bureaux
- Un hall d'accueil

- Une salle de Stock située dans le sous-sol du laboratoire.

□ Equipements

Les équipements essentiels sont les suivants :

- 1 CPG-SM (perkunElmerClarus 680)
- 3 HPLC (HPLC Merck Hitachi, HPLC Shimadzu, HPLC Agilent avec barrette de diode)
- 1 CPG (Agilent)
- 1 spectrophotomètre UV/Vis double faisceau (Hitachi).
- 1 spectrophotomètre UV/Vis mono faisceau (Milton Roy).
- 1 spectrophotomètre d'émission de Flamme (Corning).
- 3 balances de précision.
- 1 centrifugeuse de paillasse (ALC PK 121 R).
- 1 pH-mètre.
- 2 étuves (30°C-120°C).
- 2 réfrigérateurs (T°: 4 °c).
- 3 congélateurs (T°: -20 °c)
- 1 évaporateur rotatif.
- 2 distillateurs.
- 1 cuve à Ultrasons
- 2 bain-marie
- 2 agitateurs verticaux et 3 vortex
- 1 agitateur transversal
- Fongible et consommable réactifs.
- 10 PC et 2 imprimantes.

3. Prélèvement

Le laboratoire n'effectue pas de prélèvements. En toxicologie d'urgence, les prélèvements sont effectués au niveau du service demandeur et sont acheminés au laboratoire par un ambulancier ou par un proche du patient. Ces prélèvements doivent être, qualitativement et quantitativement, conformes aux normes fixées par le laboratoire.

- Si les prélèvements sont non conformes, une fiche de refus est remplie et le service demandeur est contacté aussitôt par le médecin de garde de l'information toxicologique du CAPM.

- En suivi thérapeutique, les prélèvements sont effectués et envoyés par les services demandeurs, les modalités de prélèvements sont décrites pour chaque type de dosage selon des procédures appropriées.

4. Réception des échantillons

A la réception, les échantillons sont identifiés, vérifiés pour la conformité et enregistrés soit dans le registre de toxicologie soit dans le registre de pharmacologie. Chaque prélèvement reçu, reçoit un numéro d'ordre qui est rapporté sur le registre, les flacons contenant les prélèvements, ainsi que sur la fiche résultats à archiver au niveau du laboratoire.

5. Stockage des échantillons

Après analyse, les prélèvements de la toxicologie d'urgence sont conservés une semaine au réfrigérateur (4° à 8°C) puis ils sont détruits selon la procédure de gestion des déchets du laboratoire.

Les prélèvements de suivi thérapeutique (plasma obtenu après centrifugation du sang) sont conservés au congélateur (ou freezer) à -18°C pendant 3mois et sont détruits après, comme pour les prélèvements de la toxicologie.

6. Sécurité

Le personnel est protégé contre les incendies par la présence d'extincteurs. Pour les risques biologiques, les blouses et les gants sont disponibles. Pour le risque chimique, le personnel du laboratoire est protégé par des hottes.

V. Cellule de communication et d'information.

Afin de promouvoir ses travaux scientifiques et techniques et de favoriser leur utilisation, le CAPM s'est doté d'une cellule de communication information qui est chargée de :

- Promouvoir les prestations du CAPM et de s'occuper de l'organisation de colloques, conférences, séminaires, congrès...
- Contribuer à la promotion des activités du CAPM. Elle gère les documents et outils d'information du CAPM ;
- Faciliter les contacts internes et externes pour le personnel du centre ;

VI. Assurance qualité

Il s'agit d'un département visant à installer une démarche qualité pour certifier la conformité du CAPM à un label de qualité internationalement reconnu : la norme ISO 9001 version 2000 pour les départements médicaux et ISO 17025 pour l'accréditation du laboratoire. Elle base son travail sur l'installation de procédures d'analyses, de gestion des ressources matérielles et humaines, de suivi de l'application et d'évaluation des actions pour

garantir l'amélioration des prestations, de rendement à coût moindre et de satisfaction du client.



Stage effectué à : Centre Anti-poison Et de Pharmacovigilance de Maroc

Mémoire de fin d'études pour l'obtention du Diplôme de Master Sciences et Techniques



Nom et prénom: Daho Idrissi Samah

Année Universitaire : 2014/2015

Titre: Exposition aux insecticides dans la ville de Fès : Evaluation de la contamination par les organophosphorés dans le sang et les urines

Résumé

Les organophosphorés sont très utilisés dans la lutte contre les moustiques nuisants et vecteurs de maladies. Cependant, la présence de ces substances dans les matrices humaine et environnementale pourrait entraîner des effets néfastes pour la santé de l'homme.

L'objectif de ce travail est d'apprécier le degré d'exposition aux pesticides, utilisés par les agents d'hygiène au niveau de six arrondissements de la ville de Fès par le biais d'une enquête concernant le degré et la période d'exposition, ainsi que par l'évaluation de l'activité cholinestérasique et l'identification des pesticides notamment les organophosphorés dans leurs matrices humaines : sang et urine.

Les prélèvements du sang et des urines ont été effectués, chez 30 personnes moyennant respectivement des tubes EDTA et des flacons. Les échantillons ont été acheminés dans des conditions appropriées au laboratoire du centre anti poison à Rabat pour analyse par CG-MS.

Les résultats de l'enquête ont montré une prédominance du sexe masculin avec un moyen d'âge de 48 ans, leur années d'exposition varie entre 1 an et 40 ans.

L'activité cholinestérasique érythrocytaire et plasmatique a été trouvée comprise entre 50% et 100% ce qui prouve l'absence de toutes intoxications par ce type de pesticides. La recherche des pesticides dans les 30 échantillons du sang et les 30 échantillons d'urines chez les agents d'hygiène, s'est révélée négative.

Ces résultats relatifs à la recherche des traces d'organophosphorés dans les matrices humaines (Sang et Urine), bien que préliminaires, doivent rassurer les personnes exposées et les autorités concernées. Cependant, il serait souhaitable d'élargir la gamme des analyses à d'autres familles de pesticides et recommander l'utilisation rigoureuse des moyens de protections afin de prévenir tout risque sanitaire grave.

Mots-clés : Organophosphorés, Contamination, Activité Cholinestérasique, Sang, Urine, Risque sanitaire, Fès-Maroc.

