



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère De l'Enseignement Supérieur Et
De la Recherche Scientifique



Université Abbès Laghrour Khenchela
Institut des Sciences de la Nature Et de la Vie

Département :BIOLOGIE

Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Master II professionnel
Option: Protection et décontamination des eaux et des sols pollués

Thème

***Impacts et évaluation de solvant (toluène) sur
quelques paramètres biochimiques chez les lapins
mâle***

Soutenu le: 02 / 07 / 2012

Présenté par
BOUSSAADA Karima

Devant le jury

Président :	M^{me} : L RAIS (MAA)	Univ. Abbès Laghrour - Khenchela
Encadreur :	M^{me} : R DJEMIL (MAB)	Univ. Abbès Laghrour - Khenchela
Examineur:	M^{me} : A BOUAKKAZ (MAA)	Univ. Abbès Laghrour - Khenchela

2011-2012

Remerciements

Au nom de Dieu clément, le grand merci lui revient de nous avoir aidé
à réaliser ce travail

Nos chaleureux remerciement et le grand respect vont à :

Notre encadreur M^{me} .DJEMIL-R ; qui nous a prodigué, a tout moment,
conseils et aide.

Un grand merci pour M^{me} . RAIS-L ; qui a bien voulu accepter de
président notre jury.

Merci à notre examinateur M^{me} 'BOUAKKAZ-A

Nous tenons à remercier toutes les personnes qui nous ont apporté leur
aide et leur soutien.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à Ma mère pour m'avoir mis au monde et pour m'avoir accompagné tout le long de ma vie. *pour ta présence dans mes moments les plus difficiles, et si j'en suis arrivée là ce n'est que grâce à toi ma maman adorée.*

A mon très cher père aucun mot ne saurait exprimer tout mon amour et toute ma gratitude. Merci pour tes sacrifices le long de ces années. Merci pour ta présence rassurante.

Tu as toujours, la lumière qui me guide dans les moments les plus obscures. Puisse dieu te prêter longue vie et bonne santé.

A ma chère belle sœur loubna, mes chers beaux frères Abdelmadjd, djamal jkRamzi et Abdelrrouf

Je vous dédie ce travail en témoignage de mon grand amour, mon grand respect et ma profonde estime Que Dieu vous protège.

A mes très chères amies

Je vous dédie cet mémoire en témoignage de ma grande affection et en souvenir des agréables moments passés ensemble et leurs encouragement à la réalisation de ce travail.

A mes cousines :saaid ,mouhsin ,tayaib ,zouhir et mouataz bialah.

A tous ceux qui me sont chers et que j'ai omis de citer

Boussaada karima

Sommaire

TITRE	Pages
Introduction.....	01
Chapitre I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	04
I. Généralités.....	03
I.1. Les solvants.....	03
I.2. Hydrocarbures aromatiques (benzène, toluène, xylènes.....)	04
I.3. définitions de Le toluène	05
I.3.1.Utilisations et sources d'émission de toluène.....	05
I.3.2.Les caractéristiques physico-chimiques du toluène.....	07
I.3.3.Toxicocinétique.....	09
I.3.3.1.Absorption	09
I.3.3.2.Distribution	09
I.3.3.3.Métabolisme.....	09
I.3.3.4.Élimination.....	10
I.3.4.Toxicité et pathologie.....	12
I.3.4.1.Toxicité aigue	12
I.3.4.2.Toxicité chronique.....	13
I.3.5. Effets génotoxiques	14
I.3.6. Effets cancérogènes	14
Chapitre II: MATERIEL ET METHODE	
II.1. Matériels biologiques et conditions d'élevage	16
II.2. Méthodologie	16
II.2. Méthodologie	16
II.3. le paramètre étudié	18
II.3.1. Dosage du glucose.....	18

II.3.2. Dosage des triglycérides.....	19
II.3.3.Dosage du cholestérol.....	20
II.3 .4. Protéine totale.....	21
II.3.5. Dosage du Calcium	22
Chapitre III : RESULTATS	
III. Résultats	
III.1.variation moyenne du taux de glucose.....	25
III.2.variation moyenne du taux des triglycérides.....	26
III.3.variation moyenne du taux du cholestérol	27
III.4.variation moyenne du taux des protéines plasmatiques.....	28
III.5.variation moyenne du taux du Calcémie	29
Chapitre IV : DISCUSSION	
IV .Discussion.....	30
Conclusion.....	31
Références bibliographiques	
Résumés	

Liste des tableaux

	Titre	Page
01	caractéristiques physico-chimiques de toluène.	07
02	variations des différents paramètres biochimiques (X±SD)	24

Liste des Figures

	Titre	page
01	Formule chimique de toluène	05
02	Vois métabolique du toluène dans l'organisme.	11
03	protocole expérimental	17
04	variation moyennes($X \pm SD$) du taux de glucose entre les 03 groupes.	25
05	variation moyennes($X \pm SD$) du taux des triglycérides entre les 03 groupes.	26
06	variation moyennes($X \pm SD$) du taux du cholestérol entre les 03 groupes.	27
07	variation moyennes($X \pm SD$) du taux des protéines plasmatiques entre les 03 groupes.	28
08	variation moyennes($X \pm SD$) du taux Calcémie entre les 03 groupes.	29

Abréviations

Unité en Symbole	Unité en lettre
ppm	Parte par émilien
mg/m ³	Milligramme par mètre cube
°C	Degré celle suce
Pa	Pascal
cm/h	Centimètre par heur
(N/m)	Néotène par mètre
Pa.s	Pascal foi seconde
mg/L	Milligramme par litre
cm ² /s	Centimètre carrée par seconde

Introduction :

Depuis la fin du 19^{ème} Siècle, l'humanité et le globe terrestre ont connu des perturbations graves au niveau de l'ensemble des écosystèmes et leurs constituants vivant. Ces perturbations sont dues à l'utilisation intensive et spontanée des substances chimiques nécessaires dans les domestiques et industriels, citons :les pesticides, solvant et les produit cosmétiques.

L'exposition aux produits chimiques déversés dans les différentes écosystèmes représente un danger qui menace la survie des populations animales et végétales, l'homme actuellement a besoins d'utiliser ces produit pour des raisons industriels et/ou domestiques sans prendre en considération leurs effets la santé et environnement.

Parmi ces solvants on a le toluène qui est un intermédiaire qui entre dans fabrication de nombreux produits comme le benzène, le xylène, ...etc. C'est un solvant pour les peintures, vernis, encore d'imprimantes et colles. Il sert également comme solvant d'extraction dans l'industrie cosmétique et pharmaceutique **(IUCLID, 1998 ;KRIK-OTHMER, 1997)**.

Le toluène suit un métabolisme comparable chez l'homme et l'animal : il est bien absorbé par les tractus gastrointestinal et respiratoire et, à un degré moindre, par voie cutanée; il se distribue dans les tissus riches en lipides, en particulier le cerveau; il est éliminé tel quel dans l'air expiré et, après transformation, dans l'urine, majoritairement sous forme d'acide hippurique.

L'effet principal de toluène se manifeste au niveau de système nerveux central, il provoquer une irritation de système respiratoire et atteinte hépato-rénal et d'autres. **(ATSDR, 1994)**

L'objectif de ce travail réalisé au du laboratoire du département de biologie, est compléter évaluation de toxicité aigue de toluène et la bibliographie, concernant les effets de toluène ; selon le mode d'exposition (inhalation) sur quelques paramètres biochimiques chez les lapins male.

Ce manuscrit se divise en quatre chapitres :

Le premier est une étude bibliographique des solvants en général, leurs familles, groupes, et définitions de toluène, en étudiant leurs Les utilisations et sources d'émission de toluène, caractères physico-chimiques, Toxicocénitque (Absorption, Distribution, Métabolisme, Élimination), Toxicité et pathologie, leur effets sur la santé.

Le second est une étude expérimentale, dans laquelle nous présentons le matériel et les méthodes de travail, les modes d'exposition des lapins au solvant (inhalation), le mode de traitement ainsi que l'ensemble de manipulation réalisées au niveau du laboratoire pour obtenir les résultats souhaités.

Dans le troisième chapitre, nous présentons les résultats obtenus après l'exposition des animaux à toluène sous forme d'histogrammes.

Dans le quatrième chapitre, nous essayons de discuter les résultats obtenus et les comparer avec des travaux scientifiques.

I. Généralités

I.1. Les solvants :

Un solvant, de point de vue chimiques, est un liquide qui a la propriété de dissoudre, de diluer ou d'extraire d'autres substances sans provoquer de modification chimique de ces substances et sans lui-même se modifier. Les solvants permettent de mettre en œuvre, application d' de nettoyer ou de séparer des produits (INSERM, 1999).

Cette propriété permet :

- L'utilisation des solvants pour nettoyer ou séparer les différentes substances.
- Leur régénération quand leur utilisation première les a chargés en impuretés.

Couramment utilisés dans l'industrie, (peinture, chimie, pharmacie, mécanique...), ils sont également présents en quantités dispersées dans l'artisanat (carrosserie, vernisseurs, pressings...), dans les laboratoires de recherche ou d'enseignement et même chez les particuliers (produit de nettoyage, détachants...). Les sont utilisés pour le dégraissage, nettoyage, décapage, l'extraction à partir d'un autre produit, la séparation, la purification, le stockage ou transport sous forme liquide, la modification de texture d'un produit, dans l'industrie chimique, du plastique, métallurgique, alimentaire, pharmaceutique, agriculture, bâtiment...

Les solvants se classent principalement en trois grands groupes auxquels s'ajoute un groupe de solvants particuliers (Mahieu & boust, 2007) :

- **Solvants oxygénés** : contiennent au moins un atome d'oxygène, ils comprennent : les alcools (méthanol, éthanol...), les cétones (acétone, méthylcétone...), les éthers (éther éthylique...) et les esters (acétate, agrosolvant...).

- **Solvants hydrocarbonés:** continent de l'hydrogène et carbone, ils comprennent : les hydrocarbures aromatiques (benzène, xylène, toluène...) et les solvants pétroliers non aromatique (essences spéciales, white-spirit...).
- **Hydrocarbures halogénés :** contiennent un atome d'halogène (chlore, fluor, iode et brome), ils comprennent : trichloréthylène, tetrachloroéthylène ou perchloroéthylène, dichlorométhane ou chlorure de méthylène et le chlorobenzène .

Les solvants particuliers : comprennent : les hydrocarbures nitrés (nitrométhane, nitrobenzène...), les composés azotés (diméthylformamide, triéthylamine...), les dérivés soufrés (diméthylsulfoxyde) et les hydrocarbures complexes (familles des terpènes : essence de térébenthine...). (**Charretton et al., 2005 ; Gauthie , 2002**)

I.2. Hydrocarbures aromatiques (benzène, toluène, xylènes....) :

La principale source de production des hydrocarbures aromatiques est le raffinage du pétrole brut. On peut aussi produire ces composés par distillation des goudrons de houille mais cette voie tend à disparaître. De plus, on retrouve des composés aromatiques dans des végétaux odorants (d'où le terme aromatique) tels que le pin, l'eucalyptus, le thym ou la menthe (**Boust, 2004**). Ce sont des liquides volatiles à température ambiante, incolores, à odeur agréable, peu solubles dans l'eau mais miscibles aux solvants organique, huiles minérales, végétales et animales, inflammables, à accumulation de charges électrostatiques. Ils sont responsables de la toxicité du système nerveux central, la peau, les muqueuses, le sang, et de quelques cas de fœtopathie (**Testud, 1998**).

I.3. définitions de Le toluène :

Le **toluène**, également appelé **méthylbenzène** ou **phénylméthane** est un hydrocarbure aromatique de formule $C_6H_5CH_3$ lipophile

Il se présente sous la forme d'un liquide (dans les conditions ambiantes habituelles) volatil et fait donc partie de la famille des composés organiques volatils (COV) (HSDB, 1999).

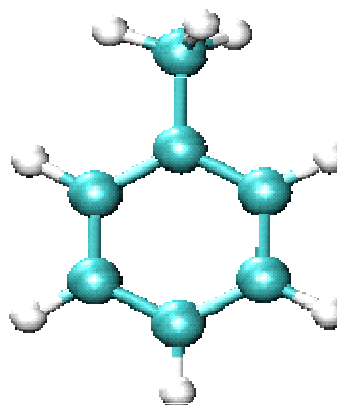
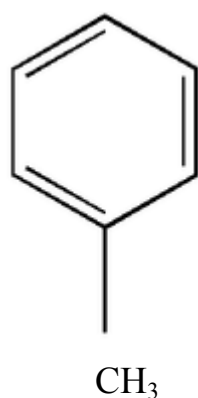


Figure 01:Formule chimique de toluène(Perrin R., Scharff J.P., 1999).

Les applications du toluène varient en importance selon les pays concernés (Perrin R., Scharff J.P., 1999).

I.3.1.Utilisations et sources d'émission de toluène:

Les sources naturelles de toluène sont les incendies de forêts (combustion incomplète des matières végétales), les éruptions volcaniques et les émissions volatiles de la végétation .

Les sources anthropiques de toluène sont le raffinage du pétrole et du charbon, les émissions de véhicules et l'évaporation de solvants et de diluants.

- Le toluène est utilisé en mélange avec le benzène et le xylène pour améliorer l'indice d'octane de l'essence automobile. Il est utilisé isolément pour la fabrication du benzène, Nitrotoluène, Phénol , du diisocyanate de toluène (TDI), nécessaire pour obtenir la mousse de polyuréthane, benzène et xylènes, nitrotoluène, chlorure de benzyle, benzaldéhyde, acide p-toluènesulfonique, vinyltoluène,.... etc. (**KRIK-OTHMER, 1997**)
- intermédiaire de synthèse, comme solvant dans les peintures, les adhésifs, les encres, et fabrication meubles de Cuisine divers en matières plastiques et les formulations de pesticides, les encres d'impression, et les mastics, les agents de nettoyage et les procédés d'extractions chimiques
- Il est également utilisé dans la fabrication de colorants, parfums, produits pharmaceutiques et explosifs (particulièrement le TNT- trinitrotoluène) (**Levelton & Associates, 1990**).

I.3.2. Les caractéristiques physico-chimiques de toluène :

Tableau 01 : caractéristiques physico-chimiques du toluène.

Paramètre	Valeur	Référence
Facteur de conversion (dans l'air à 20 °C)	1 ppm = 3,83 mg/m ³ 1 mg/m ³ = 0,261 ppm	(Prager, 1995)
Seuil olfactif	2,14 (ppm)	(Prager, 1995)
Masse molaire	92,14(g/mol)	(ATSDR,1994 ;HSDB,1999 ; Lide ,1998)
Point d'ébullition (à pression normale)	110,6(°C)	(ATSDR,1994 ; HSDB, 1999 ; Lide ,1998 ; Merck&Rahway,1989)
Pression de vapeur	2 922 à 20 °C 3 769 à 25 °C (Pa)	(ATSDR,1994 ; DEPA ,1999 ;Verschueren,1996)
Densité -liquide -vapeur	d : 0,8 669 3,2	(ATSDR ,1994 ; IPCS ,1996;Lide,1998 ; OMS,1985)
Tension superficielle (N/m)	28,5.10 ⁻³ à 20 °C	(IPCS ,1996 ; OMS, 1985)

Viscosité dynamique (Pa.s)	0,59.10 ⁻³ à 20 °C	(HSDB ,1999;Prager ,1995)
Solubilité (mg/L) dans l'eau	515 à 20 °C	(IARC ,1989; IUCLID, 1996 ; Verschueren ,1996)
Coefficient de diffusion dans l'air (cm²/s)	8,7.10 ⁻² à 25 °C	(US EPA, 1996)
Coefficient de diffusion dans l'eau (cm²/s)	8,6 .10 ⁻⁶ à 25 °C	(US EPA, 1996)
Perméabilité cutanée à une solution aqueuse	1,0 (cm/h)	(US EPA, 1992)

I.3.3.Toxicocénitque :

I.3.3.1.Absorption :

Chez l'homme et l'animal, l'absorption respiratoire est rapide. le toluène apparaît dans le sang après 10 à 15 minutes d'exposition (**Carlsson, 1982 ; INERIS, 2005**), avec une forte corrélation, pendant et après l'exposition, entre la concentration alvéolaire et la concentration sanguine. L'absorption (environ 50 % de la concentration) est fortement influencée par le taux de ventilation pulmonaire.

Le toluène est également absorbé par la peau. Le taux d'absorption de 14-23 mg/cm²/h, chez des volontaires avec les mains immergées dans le liquide). Dans certaines conditions, l'absorption cutanée peut contribuer de façon significative à la quantité totale absorbée (ex. l'immersion des mains dans le liquide pendant 30 minutes conduit à des concentrations sanguines, d'environ le quart de celle obtenues à la suite de l'inhalation de 100 mg/kg pendant deux heures) (**CSST, 2004**).

I.3.3.2.Distribution :

Dans le sang, le toluène est reparti entre les globules rouges, où il est fixé à l'hémoglobine.

Le toluène se distribue dans les tissus riches en lipides et fortement vascularisés comme le cerveau, en particulier la matière blanche, la moelle osseuse, la moelle épinière, le foie, le tissu adipeux et les reins. (**ATSDR, 1994**).

I.3.3.3.Métabolisme :

Le toluène (80 % de la dose absorbée) est oxydé dans le foie par les monooxygénases à cytochrome P450 (CYP2E1, CYP2B6, CYP2C8, CYP1A2, et CYP1A1), hépatiques. Puis, toujours au niveau hépatique, l'acide benzoïque réagit principalement avec la glycine pour former l'acide hippurique.

Parmi les autres métabolites formés, les crésols présentent une action toxique.

Certains métabolites mineurs en terme de quantité, le méthylhydroquinone et le méthylbenzoquinone, présentent également un potentiel toxique pouvant être à l'origine d'effets cancérogènes ou d'effets sur la reproduction (**INERIS, 2005 ;Murata *et al* ; 1999**).

Le toluène est éliminé principalement par voie pulmonaire, sous forme inchangée (15 %) ou, par voie urinaire, comme métabolites (80 à 90 %) où l'acide hippurique prédomine. Enfin, l'excrétion rénale de l'acide S-p-toluyldmercapturique est bien corrélée avec les autres bio-indicateurs de l'exposition au toluène.

Il est surtout **métabolisé** dans le foie selon des transformations résumées à la (**figure02**) (**Angerer *et al*, 1998 & INERIS, 2005**).

I.3.3.4.Élimination :

Il est **éliminé** tel quel dans l'air expiré, et après transformation, dans l'urine, majoritairement sous forme d'acide hippurique .

Environ 80 % du toluène absorbé sont excrétés dans l'urine sous forme de métabolites. Les 20% restants sont éliminés inchangés dans l'air expiré.

Moins de 2 % du toluène sont éliminés dans les fèces.

L'élimination urinaire de l'acide hippurique est monophasique avec une demi-vie de deux à quatre heures tandis que la demi-vie de l'ortho-crésol est de trois à quatre heures et l'élimination du toluène dans l'air expiré est multiphasique avec des demi-vies d'environ deux minutes, 30 minutes, 3,5 heures et de 20 heures.

La demi-vie d'élimination du 37ppm toluène dans les tissus adipeux est d'environ 77 heures (**INRS, 2008**).

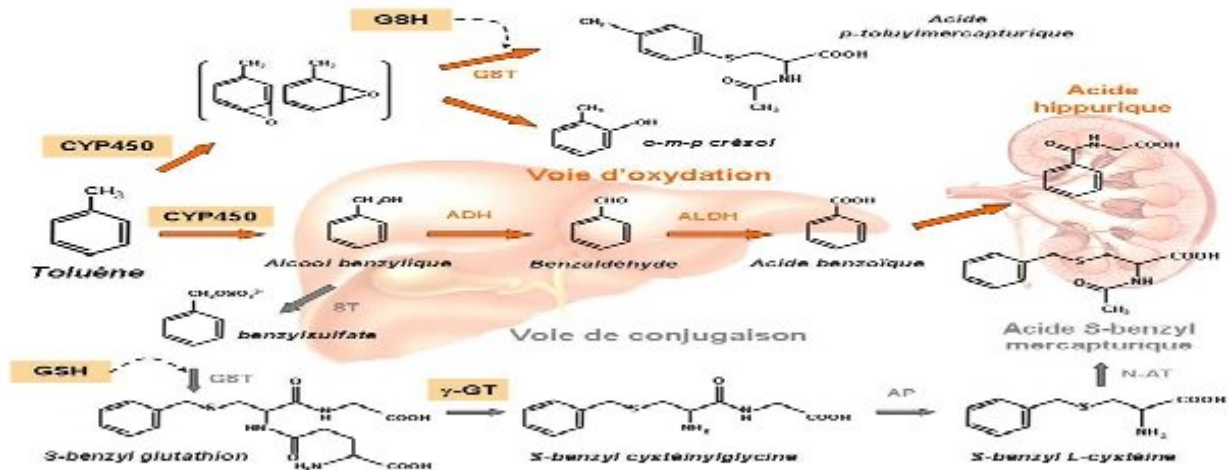


Figure02 : Voie métabolique du toluène dans l'organisme.

CYP450 : cytochrome P450, ADH : alcool déshydrogénase ,ALDH : déshydrogénase, aldéhyde déshydrogénase, ST : sulfotransférase, GSH : glutathion, GST : glutathion S-transférase, γ-GT : γ-glutamyltransférase, AP : aminopeptidase, N-AT : N-acétyltransférase(ATSDR ,1994).

I.4.Toxicité et pathologie :

La toxicité est la capacité d'une substance de provoquer des effets néfastes et mauvais pour la santé sur toute forme de vie.

Elle peut être la conséquence de divers phénomènes (**Bourellier & Berthelin, 1998**).

L'expression de la toxicité auprès d'un organisme a trois types :

la toxicité aiguë, la toxicité sub-aiguë et la toxicité à long terme.

- La toxicité aiguë : peut causer la mort immédiatement ou en très peu de temps.
- La toxicité subaiguë : peut causer des altérations du comportement ou de la productivité biologique d'un organisme.
- La toxicité chronique : à long terme est la capacité d'une substance à provoquer des effets toxiques à long terme sur la santé chez les humains, les animaux, et d'autres organismes.

La première et la seconde correspondent à des toxicités respectivement létale et sublétale.

Les concentrations toxiques des substances chimiques, sont précisées au moyen de bioessais d'écotoxicité, lesquels testent les effets toxiques de ces substances chez des organismes biologiques en laboratoire (**Van Coillie, 2007**).

I.3.4.1.Toxicité aigue :

Le toluène a une faible toxicité aiguë ; sa cible première est le système nerveux central. Il est irritant pour la peau, les yeux et le système respiratoire (**NIOSH, 1973**).

les symptômes initiaux (hyperactivité, irritation des membranes muqueuses, avec écoulement nasal et lacrymal, et des voies respiratoires supérieures , avec augmentation de la fréquence respiratoire) sont suivis de narcose, ataxie, altération de la fonction cognitive, perte d'équilibre et modifications neurochimiques ; les animaux meurent par arrêt respiratoire suite à une

dépression profonde du système nerveux central (**IRIS, 2001**).

A des concentrations supérieures à 2000 ppm, une forte corrélation a été montrée entre l'intensité de cette dépression et le taux de toluène dans le cerveau.

Sont notés aussi des modifications hématologiques et hépatiques (**ATSDR, 1994**).

I.3.4.2. Toxicité chronique :

En exposition prolongée ou répétée, le toluène provoque, chez le rat et la souris, une augmentation de poids de nombreux organes, une modification du taux de neurotransmetteurs, une neurotoxicité au niveau de l'hippocampe et du cervelet et une perte auditive (**ATSDR, 1994**).

une augmentation du poids corporel, cérébral, cardiaque, pulmonaire et testiculaire, ainsi qu'une dyspnée et une ataxie.

Dans le foie, le toluène (1 600 ppm, 8 h/j, 6 mois) induit une hypertrophie des zones centrolobulaires avec prolifération, en fonction de la dose, du réticulum endoplasmique dans les hépatocytes (**IRIS, 2001**).

Après une exposition pendant 2 ans, il se produit, à partir de 1500 ppm, une inflammation de la muqueuse nasale avec érosion de l'épithélium olfactif, métaplasie et dégénérescence de l'épithélium respiratoire. Par voie orale, le toluène induit, chez le rat et la souris, à des concentrations supérieures à 2500 mg/kg/j, piloérection, larmoiements et salivation excessifs, prostration, hypoactivité, ataxie, augmentation du poids relatif et absolu du foie, des reins et du cœur.

Dans le cerveau du rat, il provoque des modifications neurologiques et Neurochimiques.

Le toluène occasionne, chez le rat, par voie inhalatoire, orale ou sous-cutanée, une perte auditive irréversible mise en évidence par une diminution

de la réponse au bruit, des modifications électrophysiologiques et des lésions morphologiques des cellules ciliées externes de la cochlée (NIOSH ,1973).

I.3.5. Effets génotoxiques :

Les effets génotoxiques du toluène *in vitro* sont négatifs pour le test d'Ames avec *Solmonella typhimurium*, pour les tests de réversion génotoxique dans les bactéries et de conversion génique chez la drosophile.

Dans les cellules en culture, il induit des lésions d'un brin de l'ADN chez les hépatocytes de rat mais pas de lésion ou de réparation de l'ADN chez les fibroblastes humains.

En l'absence d'activateur métabolique S9, il ne provoque pas d'échanges entre chromatides soeurs ou d'aberrations chromosomiques (cellules ovariennes de hamster chinois ou lymphocytes humains).

In vivo, le toluène n'induit pas de modification significative dans les tests pour lesquels l'absence de contamination par le benzène a été mesurée (dommage cytogénétique de la moelle osseuse des rongeurs ou lésion de l'ADN dans les cellules sanguines, médullaires ou hépatiques de la souris).

Les tests de mutagénicité réalisés chez des travailleurs exposés sont généralement négatifs (INRS, 2008).

I.3.6. Effets cancérrogènes :

Le toluène n'est pas cancérrogène chez le rat et la souris exposés par inhalation jusqu'à 1 200 mg/kg pendant 6,5 h/j, 5 j/semaine, durant deux ans.

Par voie orale, chez le rat (gavage, 500 mg/kg/j, pendant 4-5 j/semaine, durant deux ans), il induit une augmentation de néoplasmes lymphoréticulaires tandis que les résultats par voie cutanée chez la souris sont en général négatifs.

Les preuves de cancérogénicité chez l'humain sont insuffisantes. Le toluène a été classé dans le groupe 3 par le CIRC (INRS, 2008).

I.3.7. Effets sur la reproduction :

Le toluène n'affecte pas la fertilité de la souris dans un test de létalité, ni celle du rat dans une étude sur deux générations (jusqu'à 2 000 mg/kg, 6 h/j, 7j/semaine, 80 jours avant accouplement, 15 jours d'accouplement, du premier au 20^{ème} jour de gestation et du 5^{ème} au 21^{ème} jour de lactation).

Il n'a pas d'effet sur la morphologie des spermatozoïdes du rat (1 250 mg/kg, 6,5 h/j, 5 j/semaine, 15 semaines) ou de ses petits exposés *in utero* (1 200 mg/kg, six h/j, du 7^{ème} jour de gestation au 18^e jour après la naissance **(Dalgaar et al., 2001)**).

Le toluène traverse la barrière placentaire et a été mesuré dans divers tissus fœtaux avec une distribution qui est fonction de l'âge gestationnel.

Administré par inhalation (100 à 2000 mg/kg, six à 24 h/j), il produit des effets semblables chez le rat et la souris : toxicité pour le développement, baisse du poids fœtal et du poids à la naissance, retard de développement postnatal et neurotoxicité mise en évidence par des effets sur le comportement (augmentation de l'activité spontanée et affaiblissement des fonctions cognitives) mais pas de malformation **(INRS, 2008)**.

Le toluène n'est pas toxique lors de l'exposition par le lait maternel. La NOAEL pour le développement est de 600 mg/kg pour le rat et 400 mg/kg pour la souris **(WILKINS-HAUG, 1997)**.

Le toluène chez l'humain a été classé comme produit pouvant avoir un risque possible sur la fonction de reproduction **(INRS, 2008)**.

II. MATERIEL ET METHODE :

II.1. Matériels biologiques et conditions d'élevage :

Notre travail est réalisé sur 12 lapins mâles adulte domestique, de population locale de souche *Cuniculus lepus* (âgés de 06 à 09 mois des poids corporel 1700 ± 130 g) provenant de la région de kenchela, l'élevage à été réalisé dans l'animalerie du département de biologie animal de faculté des sciences de Annaba.

Les lapins sont remuées dans des conditions de notre animalerie, pendant un mois à une température ambiante et une photopériode naturelle, au début de l'expérimentation les animaux ont été repartis en 03 groupes de 04 lapins chacun, ils ont été places dans des cages en métal spécifique de $50 \times 60 \times 53$ cm³ de dimension.

La nourriture a été bien équilibrée et variée, elle contient tous les éléments nécessaires pour la croissance naturelle des animaux : salade, carottes, pian dur concassé et mélange de nais et blé, la même quantité est fournie dans les abreuvoirs des cages qui est change chaque jour.

Classification des lapins

- Règne : animal
- Embranchement : vertébrés
- Classe : mammifères
- Ordre : Lagomorphe
- Famille : Léporidés
- Genre : *Cuniculus*

II.2. Méthodologie :

Principes et protocole expérimental

L'expérimentation consiste à administrer aux lapins deux dose croissants de **Toluène**: 200 et 60 0ppm de ce fait nous avons repartis les 12 lapins an 03 lots à raison de 04 lapins par lot (n=4) :

- ✓ Lot témoin non traité (T).
- ✓ lot traité au toluène à saison de 200 ppm (D01).
- ✓ lot traité au toluène à saison de 600 ppm (D02).

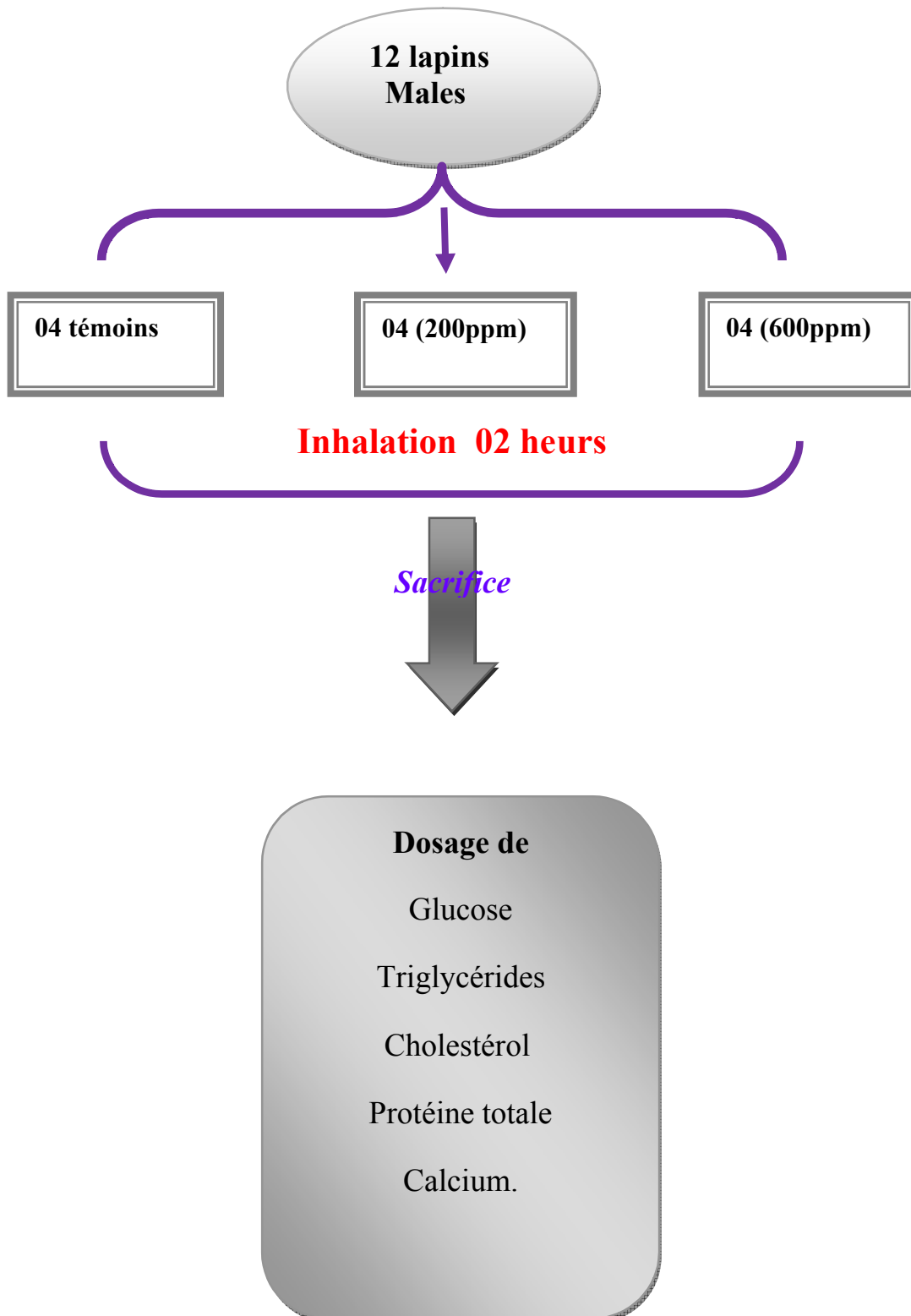


Figure 03 : protocole expérimental

Le toluène est administré par inhalation aux lapins, une seule fois par jour (2 ml / jour) en pendant 02 heure.

Décapitation et prélèvement sanguin

La décapitation des lapins des trois lots a été exécutée pendant 3 jours au moyen des lames de Bistouri stériles. Le sang a été recueilli dans des tubes héparines, puis directement centrifugé à 5000 tours/min pendant 25minutes. Le plasma obtenu a été séparé en plusieurs fractions dans des tubes Eppendorf et conservé à -18°c pour les dosages.

II.3. les paramètres étudiés :

Dosage des paramètres plasmatiques

II.3.1. Dosage du glucose

❖ Principe

Le glucose est oxydé, sous l'action de la glucose oxydase, en acide gluconique avec libération du peroxyde d'hydrogène H_2O_2 qui réagit sous l'action d'une peroxydase avec le phénol et l' amino-4-phénasone pour former le quinonéimine qui est un complexe coloré en rose. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration du glucose dans l'échantillon (Thomas, 1992).

❖ Mode opératoire

	Blanc	Standard	Echantillon
Standard (1 g/l)	-	10 μl	-
Echantillon	-	-	10 μl
Réactif	1ml	1ml	1ml

À l'aide d'un agitateur, nous mélangeons et nous laissons incuber pendant 10 minutes à 37°c . La lecture de la densité optique (DO) à 505 nm s'effectue contre le blanc réactif. La coloration est stable pendant 30 minutes à l'abri de la lumière.

❖ **Calcul de la concentration**

La concentration du glucose est calculée par la formule suivante :

$$[\text{Glucose}] \text{ g/l} = (\text{DO échantillon} / \text{DO standard}) \times n$$

(n correspond à la valeur de l'étalon = 1 g/l)

II.3.2. Dosage des triglycérides

❖ **Principe**

Les triglycérides sont libérés par la lipoprotéine lipase et hydrolysés en glycérol et acides gras libres. Le glycérol, sous l'effet de la glycérol kinase, forme le glycérol-3-phosphate qui est oxydé en H₂O₂ sous l'action de la glycérol-3-P oxydase. Le H₂O₂ libéré réagit avec le P-chlorophénol en présence de l'ATP pour donner, sous l'action d'une peroxydase, du quinonéimine qui est un complexe coloré en rose. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration des triglycérides dans l'échantillon (**Young et Pestaner , 1975**).

❖ **Mode opératoire**

	Blanc	Standard	Echantillon
Standard (2 g/l)	-	10 µl	-
Echantillon	-	-	10 µl
Réactif	1ml	1ml	1ml

A l'aide d'un agitateur, nous mélangeons et nous laissons incuber pendant 10 minutes à 37°C ou alors 30 minutes à 18-20°C. La DO est lue à 505 nm contre le blanc réactif. La coloration est stable pendant 60 minutes à l'abri de la lumière.

❖ **Calcul de la concentration**

La concentration des triglycérides est calculée par la formule suivante :

$$[\text{Triglycerides}] \text{ g/l} = (\text{DO échantillon} / \text{DO standard}) \times n$$

(n correspond à la valeur du standard = 2 g/l)

II.3.3. Dosage du cholestérol

❖ **Principe**

Le cholestérol et ses esters sont libérés à partir des lipoprotéines par des détergents. La cholestérol estérase hydrolyse les esters du cholestérol. Le cholestérol libéré est oxydé par la cholestérol oxydase en cholestérol-3-n avec formation du H₂O₂. Ce dernier réagit avec le phénol et le 4-aminoantipyrine pour donner, sous l'action d'une peroxydase, du quinonéimine rosâtre. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration du cholestérol dans l'échantillon (Thomas, 1992).

❖ **Mode opératoire**

	Blanc	Standard	Echantillon
Standard (2 g/l)	-	10 µl	-
Echantillon	-	-	10 µl
Réactif	1ml	1ml	1ml

Nous mélangeons et nous laissons incuber pendant 10 minutes à 37°C ou alors 30 minutes à 18-20°C. La DO est lue à 505 nm contre le blanc réactif. La coloration est stable pendant 60 minutes à l'abri de la lumière.

❖ **Calcul de la concentration**

La concentration du cholestérol est calculée par la formule suivante :

$$[\text{Cholesterol}] \text{ g/l} = (\text{DO échantillon} / \text{DO standard}) \times n$$

(n correspond à la valeur du standard = 2 g/l)

II.3.4. Dosage Protéine totale

❖ **Principe**

Les principes et les peptides donnent avec des ions cuivre , en solution alcaline, un complexe de couleur violette. La réaction dite « du biuret » (**Henry ,1964**).

❖ **Réactifs**

Réactif du biuret :	tartrate de K-Na	32 mmol/l
	KI.....	18 mmol/l
	CuSO ₄	12 mmol/l
	NaOH.....	200 mmol/l
Réactif de référence :	tartrate de K-Na.....	32 mmol/l
	NaOH.....	200 mmol/l

❖ **Mode opératoire**

	Echantillon	Essai à blanc de l'échantillon	Etalon	Essai à blanc de l'étalon
Sérum ou plasma	0.1ml	0.1ml	-	-
Etalon sérique	-	-	0.1ml	0.1ml
Réactif du biuret	5ml	-	5ml	-
Réactif de référence	-	5ml	-	5ml

Mélanger, laisser reposer 30minutes à la température ambiante.

Mesurer les densités optiques de l'échantillon et de l'étalon par rapport au réactif du biuret, et les densités optiques des essais à blanc par rapport à l'eau.

❖ **Calcul de la concentration**

$$é = \frac{à}{é} \frac{'}{é}$$

II.3.5. Dosage du Calcium

❖ **Principe**

En milieu neutre, le Ca⁺² forme avec l'arsenazo III un complexe dont l'absorbance est proportionnelle à la concentration en calcium dans l'échantillon (Bauer, 1981).

Réactifs

Réactif 1 : -Tampon Mes, PH6.5.....100ml/l

-Arsenazo III.....200µmol/l

Etalon : - Calcium25mmol/l

❖ **Mode opératoire**

	Blanc	Etalon	Dosage
Réactif	de 1 ml	1 ml	1 ml
travail			
Eau distillée	1 µl	-	-
Etalon	-	1 µl	-
Echantillon	-	-	1 µl

Mélanger et lire la densité optique (DO) après 1 minute d'incubation.

Zéro de l'appareil : blanc réactif.

Longueur d'onde : 650nm.

❖ **Calcul de la concentration**

mg/l n=100

mg/dl n=10

mmol/l n=2.5



n : concentration de l'étalon

Analyse statistique des résultats

Nos résultats ont été analysés par le test ANOVA (*analysis of variance*) à un seul facteur contrôlé. La valeur de la probabilité p est égale à 0,05. Les résultats ont été rassemblés dans des tableaux, exprimés en moyenne et déviation standard ($X \pm sd$) et illustrés par des histogrammes.

Chapitre III: Résultats

Tablea02: variations des différents paramètres biochimiques ($\bar{X} \pm SD$)

Les paramètres Biochimiques ($\bar{X} \pm SD$)	Témoin(T)	Groupe 01(D1)	Groupe02 (D2)	Comparaison entre les groupes
Glucose (g/l)	1,35±0,25	1,95±0,33	2,66±0,22	*
Triglycérides (g/l)	1,41±0,60	0,99±0,45	0,28±0,16	*
Cholestérol (g/l)	1,02±0,5	1,55±0,45	1,87±0,41	**
Protéine totale (g/l)	59,78±16,99	60,22±11,33	63,01±19,33	NS
Calcémie (mg/l)	120,3±30,22	142,00±22,14	132,33±11,9	NS

NS : pas différence significative ($P \geq 0,05$)

* : différence significative ($P \leq 0,05$)

** : différence hautement significative ($P \leq 0,01$)

III.1.variation moyennes du taux de glucose

Les résultats obtenus révèlent qu'il existe une augmentation significative ($P \leq 0,05$) dans le taux de glucose chez les groupes traités par toluène comparés aux témoins (figure04).

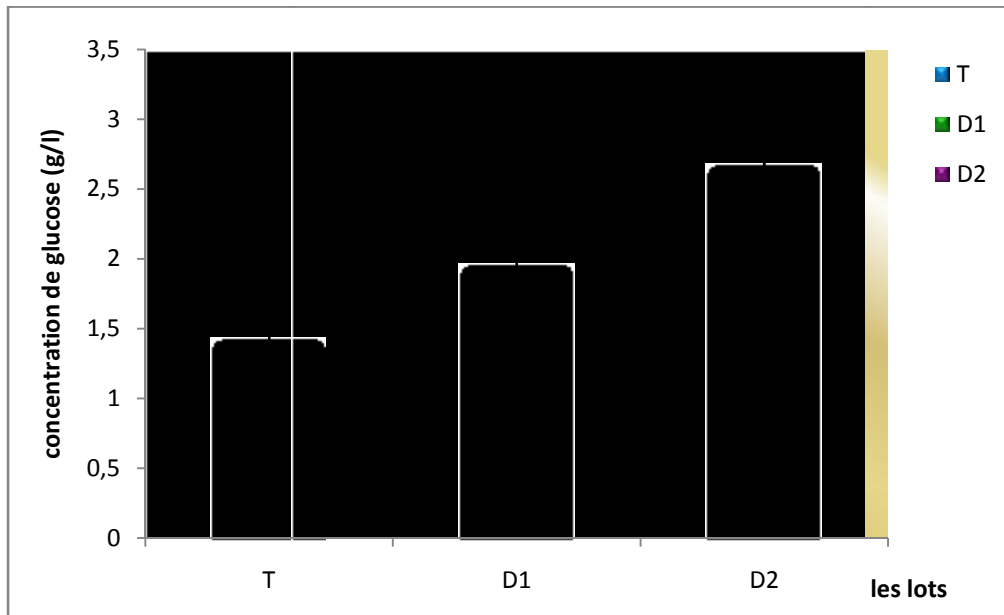


Figure 04 : variation moyennes ($\bar{X} \pm SD$) du taux de glucose entre les 03 groupes.

III.2.variation moyennes du taux des triglycérides

Les triglycérides ont marqué une diminution significative ($P \leq 0,05$) chez les individus traités (D1,D2) comparée aux témoins (figure 05).

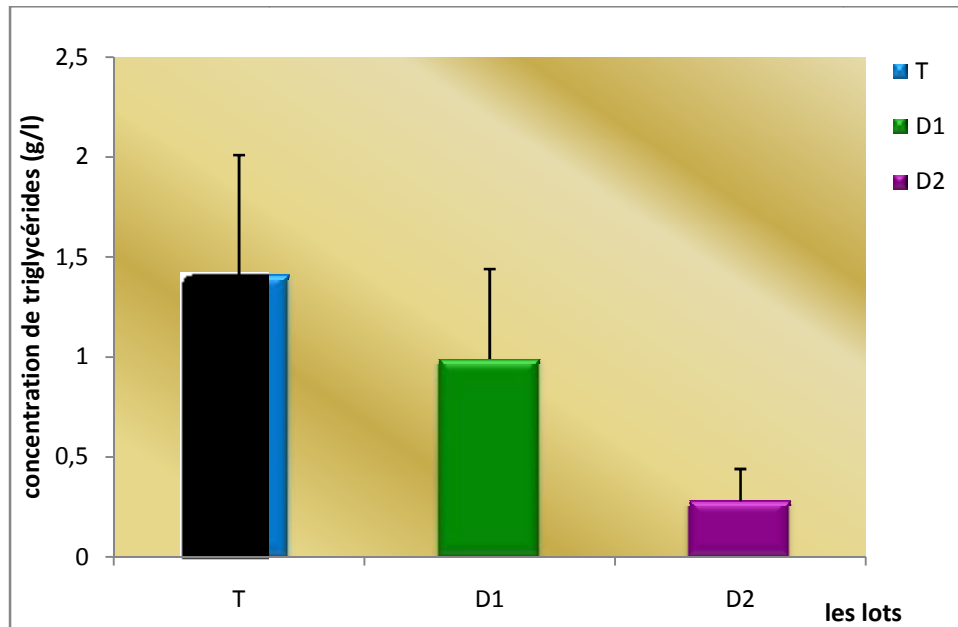


Figure05 : variation moyennes ($\bar{X} \pm SD$) du taux des triglycérides entre les 03 groupes.

III.3.variation moyennes du taux du cholestérol

Nous avons constaté qu'il existe une augmentation hautement significative ($P \leq 0,01$) dans le taux cholestérol chez les groupes traités par toluène comparés aux témoins (figure 06).

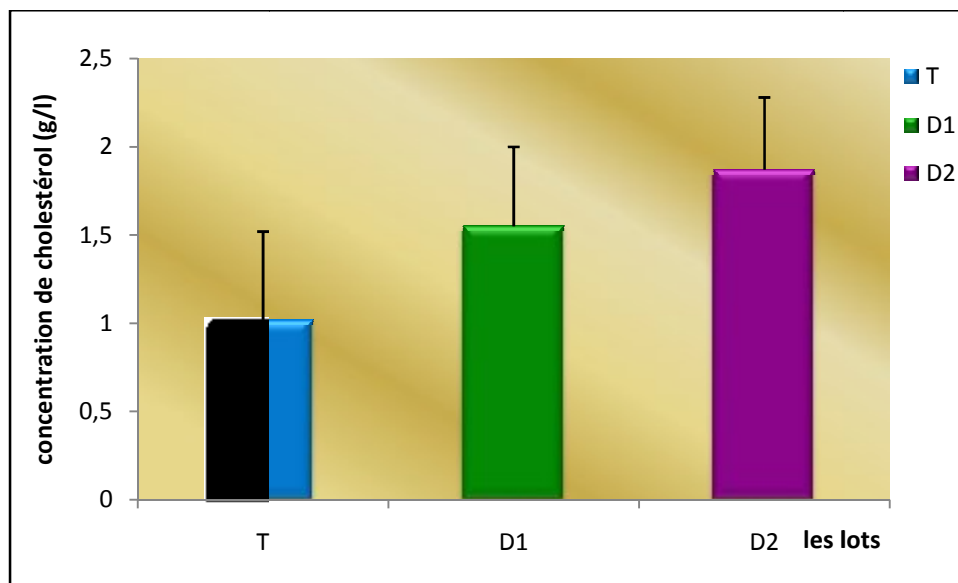


Figure06 : variation moyennes($\bar{X} \pm SD$) du taux du cholestérol entre les 03 groupes.

III.4.variation moyennes du taux des protéines plasmatiques

On n'observe aucune différence significative, chez les lots traité par rapport au témoin, malgré l'augmentation de la concentration de la protéine totale chez le lot D2 (figure 07)

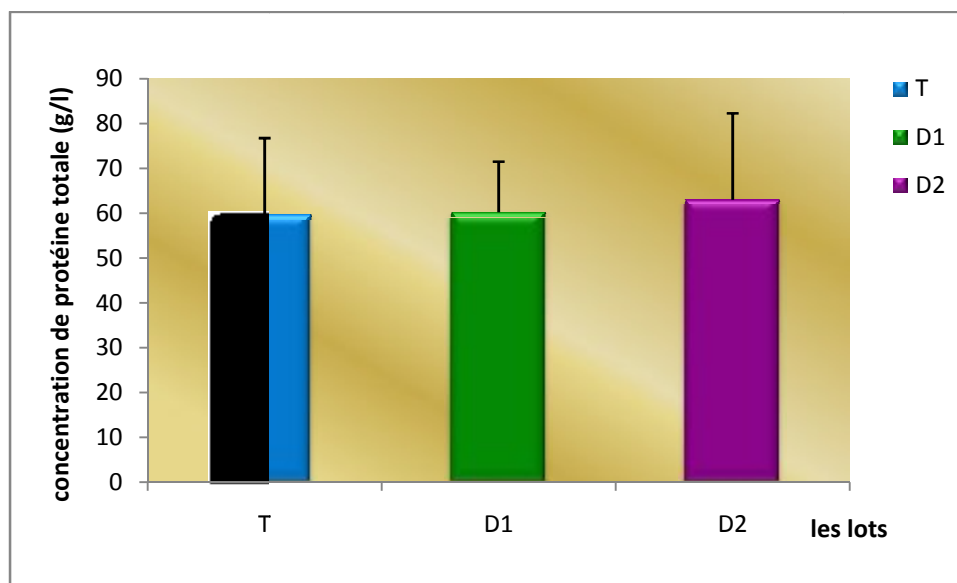


Figure07 : variation moyennes($\bar{X} \pm SD$) du taux des protéines plasmatiques entre les 03 groupes.

III.5.variation moyennes du taux du Calcémie

Les résultats obtenus présentés dans la figure 08montrent qu'il n' existe pas un changement significative ($P \geq 0,05$) des concentrations de calcémie chez les lots traités au toluène comparé au témoin.

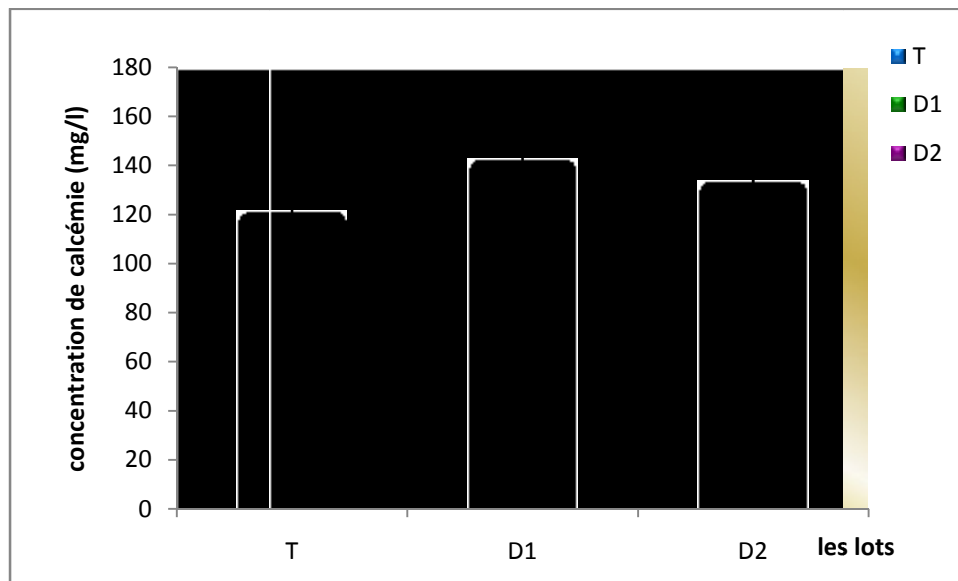


Figure08: variation moyennes($\bar{X} \pm SD$) du taux Calcémie entre les 03 groupes.

Discussion :

Nos résultats révèlent une perturbation des produits du métabolisme, nous avons remarqué l'augmentation du taux de glucose et cholestérol, ainsi qu'une diminution du taux des triglycérides chez les individus traités au **toluène** par rapport au témoin.

Les résultats n'ont pas montré des différences significatives dans la concentration des protéines plasmatiques totale et calcémie chez les lots traités compare au témoin.

L'ensemble de ces perturbations sont dues à l'altération des fonctions du foie par les métabolites de toluène (**Rea et al, 1984**).

L'administration répétée de toluène produit parfois des altérations.

Fonctionnelles et/ou histologiques hépatiques. Elles sont toujours bénignes (modulation d'activités enzymatiques, gonflement des hépatocytes, augmentation du poids du foie) et traduiraient plutôt une réponse métabolique adaptative qu'un effet toxique hépatique. (**Toftgard et al ., 1982**).

Des nombreuses études menées sur l'action du toluène sur les paramétrés biochimiques, et parmi ces études les travaux de **Stumph et al(1985)** et **Howell et al(1986)**, qui ont montré que l'administration de toluène à concentration 500,1500et 3000ppm, diminue le taux de les enzymes et cytochromes hépatiques (**Toftgard et al, 1982**).

Conclusion

Ce travail s'intéresse à étudier l'effet d'un solvant : toluène qui appartient à la des hydrocarbures aromatiques sur quelques paramètres biochimiques selon mode d'exposition : inhalation chez les lapins.

Les résultats obtenus révèlent qu'il y a une altération signification dans les paramètres biochimiques du sang qui englobent l'étude des produits de métabolisme hépatique. D'autre part, on enregistre un faible changement taux de chez les individus traités par toluène comparés aux témoins ; de même façon ces altération sont plus importantes lors de l'exposition par voie respiration

Références bibliographiques

- **ANGERER, J., SCHILDBACH, M. and KRAEMER, A (1998).** S-p-toluylmercapturic acid in urine of workers exposed to toluene: A new
 - **ATSDR (2000)** Toxicological profile for toluene. Available from ATSDR, *Atlanta, GA*.
 - **ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). (1994).** Toxicological profiles : Toluene. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. *Atlanta - Georgia - USA*.
 - **Bauer ; PG (1981).** Affinity and stoichiometry of calcium binding by Arsenazo III. *Anal biochem***110** : 61.
- biomarker for toluene exposure. *Arch. Toxicol.*, **72**, p. 119-123.
- **BOURELLIER, P.H. et BERTHELIN, J (1998).** Contamination des sols par les éléments traces : les risques et leur gestion. *Académie des sciences, Paris, Rapport n°42*, 440p.
 - **Boust C (2004).** Les hydrocarbures aromatiques, *Fiche solvant. Ed.* 4226. 6.
 - **CARLSSON, A (1982).** Exposure to toluene: uptake, distribution and elimination in man. *Scand. J. Work. Environ. Health.*, 8, p. 43-55.
 - **Charreton M, Falcy M & Triolet J (2005).** Peintures en phase aqueuse (ou peintures à l'eau). *Composition, risques toxicologiques, mesures de prévention.* Ed. 955. 16.
 - **CSST (Commission de la santé et de la sécurité du travail) (2004).** Service du répertoire toxicologique – Toluène, Numéro CAS : 108-88-3 P.53.
 - **DALGAARD, M (2001).** Developmental toxicity of toluene in male rats: effects on semen quality, testis morphology, and apoptotic neurodegeneration. *Archiv. Toxicol.*, **75** : p. 103-109.

- **Danish-EPA (1999)** - Risk assessment - Toluene. *Danish Environmental Protection Agency. Copenhagen –Denmark*
- **Gauthier F (2002)**. Solvants industriels, Santé, sécurité, substitution, Collection Médecine du travail. Ed. Masson.257.
- **Henry RG(1964)**.Clinical chemistry.Harper&Rom publishers .New york.181.
- **Howlell,S. R ; Christian, J. E ; and Iscm,G. E 1986**. The hepatotoxic potential of combined toluene-chronic ethanol exposure. *Arch. Toxicol.* 59 :45-50.
- **HSDB (1999)** - Toluène. Hazardous Substances Data Bank, *National Library of Medicine <http://www.toxnet.nlm.nih.gov>*.
- **IARC (1989)**. **Toluène** :Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risks of Chemical to Humans. *Lyon, International Agency for Research on Cancer, vol 47*
- **INERIS (Institut national de l'environnement et des risques) (2005)**. Données technicoéconomiques sur les substances chimiques en France : Toluène, 50p
- **INRS (Institut national de recherche et de sécurité) (2008)**. Fiche toxicologique. *FT 74(toluène), Paris, 10p*.
- **INSERM : institut national de la santé et de la recherche médicale(1999)**.Ethers de glycol : quels risques pour la santé ?
- **IPCS (Organisation, International Programme on chemical Safety) (1996)**: Toluène. World Health *Environmental Health Criteria n° 52*
- **IRIS (Institut national de recherche et de sécurité)(2001)** .summary for toluene. *Fic toxicol (toluène), Paris EPA*.
- **IUCLID (1998)**. Touene Intenational Uniform Chemical Infomation *Data base, European Commission ISPRA.CD-ROM*.

- **IUCLID (1996)** - Toluene. International Uniform Chemical Information Data base, European Commission ISPRA. CD-ROM.
- **KRIK-OTHMER(1997)**. Encyclopdia of chemical technology. New-York. John. Wiley. Vol. 2u.
- **LEVELTON, B.H. and ASSOCIATES (1990)**. Reduction of VOC emissions from solvents by product substitution, process changes or add-on controls, Rapport préparé pour Environnement Canada, *Direction des programmes industriels, Ottawa*.
- **Lide D (1998)**. Handbook of chemistry and physics: Toluene. Boca Raton, CRC Press. 78th Ed.
- **Mahieu JC, Boust C (2007)**.Dégraissage des métaux. Choix des techniques et des *produits, *Fiche pratique de sécurité*. Ed4 :48
- **Merck Rahway, N.J., (1989)** .Toluene.The Merck Index An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals. USA, Ed. Co.11th
- **MURATA, M., TSUJIKAWA, M. and KAWANISHI, S (1999)**. Oxidative DNA damage by minor metabolites of toluene may lead to carcinogenesis and reproductive dysfunction. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **261**, p. 478-483.
- **NIOSH (1973)**. criteria documents. Criteria for a recommended standard: occupational exposure to toluene. *DHHS (NIOSH), Publication n° 73-11023*
- **OMS (1985)**. Toluene. In: Environmental Health Criteria. 52 Genève *World Health organisation 14*
- **Perrin R., Scharff J.P(1999)**. *Chimie industrielle*, Dunod.
- **Prager J.C. (1995)**. Toluène.Environmental contaminant Reference Databook, *Van Nostrand Reinhold, vol 1, pp :1109-1114*.

- **Rea, T. M ; Nash, J. E ;Zabik, J. E ; Born, G.S;and Kessler , W. V. (1984)** Effects of toluene inhalation on brain biogenic amines in the rat. *Toxicol* 31 :143-150.
- **STF (1991)** - Toluene. Database (Soil Transport and Fate Database and Model Management System), *Environmental Systems and Technologi*
- **Thomas L, (1992).** Test enzymatic colorim etrique (CHOD-PAD). *Clin. Biochem.* 6,24-33.
- **Toftgard, R ; Nilsen, O. G ; Gustafsson, J-A. (1982).** Dose dependent induction of rat liver microsomal cytochrome P-450 and microsomal enzymatic activities after inhalation of toluene and dichloromethane. *Acta pharmacol. Toxicol.* 51 :108-114.
- **US EPA (1992).** Dermal exposure assessment: principles and applications: Toluene. *U.S. Environmental Protection Agency. Interim report. EPA/600/8-91/011B.*
- **US EPA (1996)** - Soil Screening Guidance: technical background document. U.S. Environmental Protection Agency, *Office of Emergency and Remedial Response. Washington.* 9355.4-17A.
- **VAN COILLIE, R. (2007).** Analyse de risques écotoxicologiques (ENV-789). Recueil de notes, Centre de formation universitaire en environnement, *Université de Sherbrooke, Sherbrooke,* 408p.
- **Verschuere K. (1996)** - Toluène. Handbook of Environmental Data on Organic Chemicals. New York, Van Nostrand Reinhold Co, 3rd. Ed.
- **WILKINS-HAUG, L (1997).** Teratogen update: Toluene. *Teratology,* 55 (2), p. 145- 151.
- **Young D & pestaner L (1975).** Test enzymatic colorimetric. *Clin. Chen.* 21-5.

Résumé

Ce travail s'intéresse à étudier l'effet d'un solvant : toluène (hydrocarbures aromatiques) sur quelques paramètres biochimiques selon mode d'exposition : inhalation chez le lapin. Le solvant a été appliqué a raison de deux doses : 200ppm et 600ppm pendant 02 heurs successifs.

Les résultats obtenus révèlent qu'il y a une altération significative dans les paramètres biochimiques du sang qui englobent l'étude des produits du métabolisme hépatique (cholestérol, triglycérides et glucose). D'autre part, on a enregistré un faible changement taux de protéine totale et calcium chez les individus traités par le toluène comparés aux témoins ; de même façon ces altération sont plus importantes lors de l'exposition par voie respiratoire.

Mots clés : *toluène, paramètres biochimiques, Toxicité, Lapins male.*

Abstract

This study examines the effect of the solvent toluene (hydrocarbure aromatique), on some biochemical parameters: (the concentration of glucose, triglycerides, cholesterol, proteins levels and calcium) of adult male rabbits.

The rabbits were divided into three groups: the first group of 04 rabbits was considered a control, the second and the third group included 08 rabbits each, which are divided into two groups (each unit contains 04 rabbits) and treated by 200, 600 ppm of toluene by inhalation for 02 hours every days.

The results of this study showed significant changes in some biochemical indicators (concentration of glucose, triglycerides, cholesterol), of each group treated with toluene as compared to the control.

About a concentration of proteins levels and calcium we not observed any changes in the groups treated by toluene compared to the control.

Keywords: *Toluene, biochemical parameters toxicity, male rabbits.*

الملخص

تهدف هذه الدراسة إلى معرفة تأثير أحد المذيبات العضوية : الطوليان (ينتمي لعائلة الهيدروكربونات العطرية) ؛ على بعض الخصائص البيوكيميائية لبلازما دم ذكور أرانب تناولت هذا المركب عن طريق الشم بتركيزين مختلفين، حيث عرض أحد الأفواج إلى 200 ppm و الآخر إلى ppm600 وذلك لمدة ساعتين متتاليتين.

النتائج المتحصل عليها بينت تواجد تأثيرات معنوية عالية في تركيز الغلوكوز، الكولسترول و ثلاثي الغليسريدات ، كما سجل عدم تأثير هذا المركب على تركيز البروتينات الكلية و الكالسيوم ، عند الأفواج المعاملة مقارنة بالفوج الشاهد .

الكلمات المفتاحية: الطوليان ، مؤشرات بيوكيميائية، سمية ، ذكور أرانب .

Nom	BOUSSAADA
Prénom	KARIMA
Titre	<i>Impacts et évaluation de solvant (toluène) sur quelques paramètres biochimiques chez les lapins mâle</i>
Nature du diplôme	Master II professionnel Option: Protection et décontamination des eaux et des sols pollués
Résumé	<p>Ce travail s'intéresse à étudier l'effet d'un solvant : toluène (hydrocarbures aromatiques) sur quelques paramètres biochimiques selon mode d'exposition : inhalation chez le lapin. Le solvant a été appliqué a raison de deux doses : 200ppm et 600ppm pendant 02 heures successifs.</p> <p>Les résultats obtenus révèlent qu'il y a une altération significative dans les paramètres biochimiques du sang qui englobent l'étude des produits du métabolisme hépatique (cholestérol, triglycérides et glucose). D'autre part, on a enregistré un faible changement taux de protéine totale et calcium chez les individus traités par le toluène comparés aux témoins ; de même façon ces altérations sont plus importantes lors de l'exposition par voie respiratoire.</p>
Mots clés	<i>toluène, paramètres biochimiques, Toxicité, Lapins male</i>
Devant le jury	Président : M ^{me} L RAIS (MAA) Encadreur : M ^{me} R DJEMIL (MAB) Examineur: M ^{me} A BOUAKKAZ (MAA)