

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

Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

المدرسة الوطنية العليا للبيطرة



THESE

En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat Es-Sciences
En Sciences Vétérinaires

Thème :

**Dosage du Plomb et du Cadmium dans le foie et le rein d'ovins et Bovins
et effets de ces métaux lourds sur différents paramètres
physiologiques et histologiques chez le rat Wistar**

Présentée par : Dr.Zenad Ouahiba

Les membres du jury :

| | | | |
|--------------------------|-----------------------|------------|--------------------------------------|
| Président : | Hamdi Taha Mossadek | Professeur | ENSV |
| Directeur de thèse : | Benouadah Ali | Professeur | Université Youcef Benkhedda , Alger1 |
| Co-directrice de thèse : | Ben Mahdi Meriem Hind | Professeur | Ministère de l'environnement |
| Examineurs 1 : | Bouayad Leila | Professeur | ENSV |
| Examineurs2 : | Yahia Achour | MCA | Université Saad Dahleb, Blida |

Année universitaire : 2020/2021

Résumé

En raison d'une grande consommation des abats du bovins et ovins (rein, foie) en Algérie. L'objectif de la présente étude était d'étudier les concentrations de cadmium et le plomb dans les échantillons de foie et les reins des bovins (80) et ovins (100) à différents d'âge prélevé à partir des carcasses au niveau des abattoirs d'Alger. Après la digestion d'échantillons, les concentrations de cadmium et le plomb ont été déterminées par spectrophotométrie d'absorption atomique à four graphite (SAA). Les résultats ont montré que les concentrations de plomb et de cadmium dépendent de l'âge et l'espèce. Les concentrations moyennes de poids frais de foie et les reins des bovins étaient d'environ 0,319 mg/kg et 0,337mg/kg pour le cadmium et 0,502mg/kg, 0,497mg/kg pour le plomb. Concernent les ovins les concentrations moyennes dans le foie et les reins sont 0,241mg/kg et 0,232 mg/kg pour le cadmium et 0,259mg/kg, 0,265mg/kg pour le plomb. Des concentrations supérieures à la limite maximale proposée par la commission européennes (CE) de plomb et de cadmium ont été détectées dans certains échantillons de foie et rein des bovins comparant ceux des ovins et dans les catégories d'âge > 4ans chez les bovins et >1an chez les ovins. L'analyse statistique a révélé une différence très significative dans la concentration en cadmium du foie et des reins entre différents groupes d'âge et espèce ($P < 0,05$). La deuxième partie a porté sur l'impact de l'intoxication chronique au plomb et au cadmium sur le fonctionnement de différents organes : rein, foie et testicules, chez les rats Wistar mâles. Nous avons observé que l'administration de plomb et du cadmium par la voie orale chez les rats pendant 28j à une dose de 1mg/l a permis d'enregistrer des modifications physiologiques, biochimiques. En effet cette exposition a permis d'enregistrer une réduction importante dans le poids corporel dans le poids relatif des différents organes étudiés (foie, rein, et testicules). L'exploration de la fonction hépatique a révélé une augmentation significative dans l'activité des enzymes (ALAT, ASAT) avec une altération de l'architecture structurale très marquée au niveau des hépatocytes. Ces résultats obtenus sont en faveur d'un dysfonctionnement hépatique. Au niveau de la fonction rénale, a montré une perturbation importante dans le dosage des paramètres marqueurs de fonctionnement rénal (créatinine, urée, acide urique,). Ces résultats sont en faveur d'un dysfonctionnement rénal. En effet, l'étude histologique réalisée au niveau rénal a révélé une dégénérescence des cellules et des dilatations veineuses. L'impact sur l'appareil reproducteur mâle a montré une action sur les cellules de Leydig en réduisant la biosynthèse de testostérone ce qui pourrait affecter la fertilité des rats mâles. Ce qui a été confirmé par les coupes histologiques que les différents stades de la spermatogenèse étaient fortement perturbés.

Mots clés : Plomb, Cadmium, Bovin, Ovin, Foie, Rein, toxicité orale subchronique.

Abstract

Due to the large consumption of offal from cattle and sheep (kidney, liver) in Algeria. The objective of the present study was to study the concentrations of cadmium and lead in liver and kidney samples of cattle (80) and sheep (100) at different ages collected from carcasses at slaughterhouse level. from Algiers. After digestion of samples, Cadmium and lead concentrations were determined by Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrophotometry (SAA). The results of our study have shown that lead and cadmium concentrations depend on age and species. The average fresh weight levels of liver and kidneys of bovine animals were about (0.319 mg/kg and 0.337mg/kg) for Cd and (0,502mg/kg and 0.497mg kg) for Pb, while in ovine, mean concentrations in the liver and kidneys were (0,241mg/kg and 0.232 mg/kg) for Cd and (0.259 mg/kg and 0.265 mg/kg) for Pb. Concentrations above the maximum limit proposed by the EC 2006 for Pb and Cd have been detected in some liver and kidney samples from bovine older than 4 years and in ovine over 1 year old .Statistical analysis revealed a very significant ($P<0.01$) difference in Cd concentrations in the liver and kidneys between age groups and species. The second part looked at the impact of chronic lead and cadmium poisoning on the functioning of different organs: kidney, liver, and testes, in male wistar rats. We observed that the oral administration of lead and cadmium in rats for 28 days at a dose of 1 mg / l made it possible to record physiological and biochemical changes. Indeed, this exposure made it possible to record a significant reduction in body weight in the relative weight of the various organs studied (liver, kidney, spleen and testes). The exploration of hepatic function revealed a significant increase in the activity of enzymes (ALAT, ASAT) with a marked alteration in the structural architecture in the hepatocytes. These results are in favor of hepatic dysfunction. At the level of renal function, showed a significant disturbance in the dosage of the parameters markers of renal functioning (creatinine, urea, uric acid, etc.). These results support kidney dysfunction. Indeed, the histological study carried out at the renal level revealed a degeneration of the cells and venous dilations. The impact on the male reproductive system showed an action on the Leydig cells by reducing the biosynthesis of testosterone which could affect the fertility of male rats. This was confirmed by the histological sections that the different stages of spermatogenesis were strongly disturbed.

Key words: Lead, Cadmium, Bovine, Ovine, Liver, kidney, subchronic oral toxicity

الملخص

بسبب الاستهلاك الكبير من كلى كبد الأبقار والأغنام في الجزائر فقد كان الهدف من هذه الدراسة هو دراسة تركيز الكادميوم والرصاص في عينات الكبد والكلى من الأبقار (80) والغنم (100) في سن مختلفة فد جمعت من الذبح على مستوى المسلخ. الجزائر العاصمة. تم تحديد تركيز الكادميوم والرصاص بواسطة مقياس الامنصاص الذري فزان الجرافيت (SAA). أظهرت النتائج أن تركيز الرصاص والكادميوم تعتمد على العمر والأنواع. كان متوسط نكيزات الأوزان الطازجة للكبد والكلية حوالي 0.319 مغ/كغ و 0.337 مغ/كغ للكادميوم و 0.502 مغ/كغ و 0.497 مغ/كغ للرصاص. لنسبة للأغنام، فإن متوسط التراكيزات في الكبد والكلى هو 0.241 مغ/كغ و 0.232 مغ/كغ للكادميوم و 0.259 مغ/كغ و 0.265 مغ/كغ للرصاص. تم اكتشاف نكيزات أعلى من الحد الأقصى الذي اقترحه المفوضية الأوروبية (EC) للرصاص والكادميوم في بعض عينات من الكبد والكلى من البقر مقارنة بتلك الموجودة في الأغنام وفي الفئات العمرية < 4 سنوات في الماشية و < 1 سنة في الأغنام. أظهر التحليل الإحصائي وجود فرق كبير في تركيز الكادميوم في الكبد والكلى بين مختلف الفئات العمرية والأنواع ($P < 0.05$). تناول الجزء الثاني من دراستنا نير النسم الموزن للرصاص والكادميوم على وظائف الأعضاء المختلفة: الكلى والكبد والطحال والخصيتين في ذكور فزان ويسنار. لاحظنا أن تناول الرصاص والكادميوم عن طريق الفم لدى الفزان لمدة 28 يوما بجرعة 1 مع/لتر جعل من الممكن تسجيل التغيرات الفسيولوجية والكيميائية الحيوية. مكن هذا التعرض من تسجيل انخفاض كبير في وزن الجسم في الوزن النسبي لمختلف الأعضاء المدروس (الكبد الكلى والخصيتين). أظهر استكشاف وظائف الكبد عن زدة ملحوظة في نشاط الإنزيمات ALAT ، ASAT مع تغير ملحوظ في البنية الهيكلية في خلا الكبد. هذه النتائج كشفت الخلل الكبدى على مستوى وظائف الكلى. أظهر اضطراب كبير في جرعة مؤشرات علامات وظائف الكلى (الكرنينين ، البور ، حمض البوليك ، إلخ). هذه النتائج تدعم ضعف الكلى. و لفعل كشفت الدراسة النسبجية التي أجريت على مستوى الكلى عن تنكس الخلا، وقد أظهر التأثير على الجهاز التناسلي الذكرى نيرا على خلا Leidig عن طريق تقليل التخليق الحيوي لهرمون التسنوسنيرون الذي يمكن أن يؤثر على خصوبة ذكور الجرذان. تم كبد ذلك من خلال الأنسام النسبجية على أن المراحل المختلفة لتكوين الحيوانات المنوية كانت مضطربة بشدة.

الكلمات المفاحية: الرصاص ، الكادميوم ، الأبقار ، الغنم ، الكبد ، الكلى والسمية الفموية شبه المزمنة

Remerciements

*Je tiens à remercier chaleureusement mon directeur de thèse **Professeur Benouadah Ali**, de m'avoir encadré et d'avoir toujours apporté des réponses à mes questions et préoccupations, malgré son emploi du temps chargé.*

*Mes remerciements vont également à ma co-directrice de thèse, **Professeur Ben Mahdi M.H**; je lui suis particulièrement reconnaissante de la confiance qu'elle m'a accordée en acceptant d'encadrer ce présent travail.*

Je suis particulièrement honorée de pouvoir compter parmi les membres de mon jury :

- *Mr **Hamdi Tahar Mossadak**, Professeur à l'Ecole Nationale supérieur Vétérinaire d'Alger pour l'honneur qu'il m'a fait d'avoir accepté de présider le jury, qu'il trouve ici l'expression de ma plus profonde gratitude et mes plus vifs remerciements.*
- *A Madame **Bouayad Leila**, Professeur à l'Ecole Nationale supérieur Vétérinaire d'Alger.*
- *A Monsieur **Yahia Achour**, Maître de conférences A à l'Institut Vétérinaire de Blida,*

Je les remercie infiniment pour l'intérêt qu'ils ont voulu me porter en acceptant de participer à mon jury.

*Je remercie **Mr Zadi** responsable du laboratoire de physico-chimie et **Mr Guermoule Réda** responsable du laboratoire de toxicologie, de laboratoire central de la police scientifique d'avoir mis à ma disposition les moyens matériels et humains pour réaliser mon travail dans de bonnes conditions.*

Je remercie également Mr Belkebir Mohamed technicien au niveau du laboratoire de l'environnement (section toxicologie) du laboratoire central de l'intendance (LCI) où j'ai réalisé la première partie expérimentale et d'avoir mis à ma disposition tout le matériel nécessaire.

Je remercie vivement le professeur Baizr responsable du laboratoire de biologie et de physiologie animal à ENS du Kouba où j'ai réalisé ma deuxième partie expérimentale. GRAND MERCI.

Enfin je tiens à adresser mes plus vifs remerciements à Mr Zaouani. M, Boudjellaba .S, Mme Ainouz .L et Ben Mohand.C pour toute l'aide qu'ils m'ont fournie.

Liste des Tableaux

| | |
|--|----|
| Tableau 1 : Classification périodique des éléments périodiques (Miquel, 2001). | 4 |
| Tableau 2 : Classification de quelques métaux lourds selon leur toxicité Bliefert et Perraud (2004). | 5 |
| Tableau 3 : Sources industrielles et agricoles des métaux présents dans l'environnement (Biney <i>et al.</i> , 1991). | 9 |
| Tableau 4 : Temps de demi-vie biologique de quelques éléments (Koch <i>et al.</i> , 2004). | 14 |
| Tableau 5 : Effets toxiques de quelques métaux lourds sur la santé humaine (Singh <i>et al.</i> 2011) | 15 |
| Tableau 6 : Voie et source d'exposition au plomb chez l'homme (BRGM, 2004). | 17 |
| Tableau 7 : Caractéristiques du plomb et de ses principaux composés (IPCS. 1995). | 18 |
| Tableau 8 : Répartition du plomb dans les différents compartiments (Klaassen, 2008). | 21 |
| Tableau 9 : Valeurs réglementaires en vigueur dans les denrées alimentaires pour le plomb (INERIS, 2006). | 29 |
| Tableau 10 : Propriétés physicochimiques des composés de cadmium ('ATSDR, 2012). | 31 |
| Tableau 11 : Teneurs maximales pour le cadmium dans les denrées alimentaires (CE n° 446/2001). | 41 |
| Tableau 12 : Doses toxiques et les effets du plomb et cadmium chez les bovins et ovins (Radostits <i>et al.</i> , 2007). | 45 |
| Tableau 13 : Taux de Contaminations globales des ovins par les métaux lourds (mg/kg de poids frais). | 58 |
| Tableau 14 : Taux de Contaminations globales des bovins par les métaux lourds (mg/kg de poids frais). | 58 |
| Tableau 15 : Taux de contamination du foie des ovins par le plomb (Moy±ES) de poids frais. | 59 |
| Tableau 16 : Taux de contamination du foie par le cadmium.mg/kg de poids frais. | 60 |
| Tableau 17 : Taux de contamination des reins des ovins parle plomb (mg/kg de poids frais) | 61 |
| Tableau 18 : Taux de contamination des reins des ovins par le cadmium (mg/kg de poids frais). | 62 |
| Tableau 19 : Taux de contamination du foie des bovins par le plomb (moyenne ±ES). | 63 |
| Tableau 20 : Taux de contamination du foie des bovins par le cadmium. | 64 |
| Tableau 21 : Taux de contamination des reins des bovins par le plomb (moyenne±SE) (mg/kg de poids frais) | 65 |
| Tableau 22 : Taux de contamination des reins des bovins par le cadmium (Moyenne±SE) (mg/kg de poids frais). | 66 |
| Tableau 23 : Concentration du plomb et du cadmium dans le foie selon les catégories d'âges chez les ovins moyenne ±ES. | 69 |
| Tableau 24 : Concentration en plomb et en cadmium dans les reins selon les catégories d'âges chez les ovins : | 70 |
| Tableau 25 : Concentration de plomb et de cadmium dans le foie selon les catégories d'âges chez les bovins (moyenne ±ES). | 71 |
| Tableau 26 : Concentration du plomb et du cadmium dans les reins selon les catégories d'âges chez les bovins (moyenne±ES). | 72 |
| Tableau 27 : Valeurs moyennes des pesées hebdomadaires en (g) des rats témoins et des rats traités. | 84 |
| Tableau 28 : Valeurs moyennes des poids bruts des organes des rats mâles témoins et traités, après 28 jours d'expérimentation : | 86 |
| Tableau 29 : Valeurs moyennes des poids relatifs des organes des rats mâles témoins et traités, après 4 semaines d'expérimentation. | 89 |

| | |
|--|-----------|
| Tableau 30 : Valeurs moyennes de la FNS des rats témoins et ceux traités après 28 Jrs d'expérimentation. | 91 |
| Tableau 31 : Effet du Pb et Cd sur la fonction hépatique (ALT et AST). | 93 |
| Tableau 32 : Effet du Pb et Cd sur la fonction rénale (Urée et Créatinine). | 95 |

Liste des Figures

| | |
|--|----|
| Figure 1: Principaux sources de contaminations en métaux lourds (Cai et al. 2012). | 6 |
| Figure 2 : Schéma du cycle des ETM dans les sols (Baize, 1997). | 10 |
| Figure 3 : L'origine des traces métalliques dans l'eau (Di Benedetto, 1997). | 13 |
| Figure 4 : Source de plomb (Gutierrez et al., 2016). | 19 |
| Figure 5 : La répartition du Plomb dans l'organisme (Caubet, 1999). | 23 |
| Figure 6 : Inhibition de la synthèse de l'hème par le plomb (Peyret, 2013). | 26 |
| Figure 7 : Sources anthropiques et naturelles de cadmium (Cd) ainsi que cycle biogéochimique montrant le transport du Cd dans l'atmosphère (Sebastian et al. 2014). | 32 |
| Figure 8 : La répartition du cadmium dans l'organisme (Craete, 1995). | 37 |
| Figure 9 : mécanisme d'accumulation du cadmium dans les cellules tubulaires (Alfred Bernard, 2008). | 38 |
| Figure 10 : Transport et la distribution du cadmium dans le foie après son absorption (Falcy et al., 2013). | 39 |
| Figure 11 : L'effet du cadmium sur l'organisme (Falcy et al., 2013). | 40 |
| Figure 12 : Effets cancérogènes cadmium (Bonet, 2011). | 41 |
| Figure 13 : L'effet du plomb sur l'organisme chez les ruminants (Garnier ,2005). | 43 |
| Figure 14 : Montage d'un appareil de SAA avec four à graphite (Pradyt, 2004). | 47 |
| Figure 15 : Plan d'échantillonnage. | 52 |
| Figure 16 : Spectrophotomètre d'absorption atomique (UNICAM929). | 54 |
| Figure 17 : Courbe d'étalonnage du cadmium.L'équation de régression linéaire (Y),coefficient de corrélation (R^2) | 55 |
| Figure 18 : Courbe d'étalonnage du cadmium. L'équation de régression linéaire (Y),coefficient de corrélation (R^2). | 56 |
| Figure 19 : Taux de contamination globale par les métaux lourds. | 57 |
| Figure 20 : Taux de contamination du foie des ovins par le Plomb. | 59 |
| Figure 21 : Taux de contamination des foies des ovins par le cadmium. | 60 |
| Figure 22 : Taux de contamination des reins des ovins par le plomb. | 61 |
| Figure 23 : Taux de contamination des reins des ovins par le Cadmium. | 62 |
| Figure 24 : Taux de contamination des foies des bovins par le plomb. | 63 |
| Figure 25 : Taux de contamination du foie des bovins par le cadmium. | 64 |
| Figure 26 : Taux de contamination les reins des bovins par le plomb. | 65 |
| Figure 27 : Taux de contamination des reins des bovins par le cadmium. | 66 |
| Figure 28 : Comparaison des taux de contamination par le plomb entre les deux espèces. _____ | 67 |
| Figure 29 : Comparaison les taux de contamination du cadmium entre les deux espèces. _____ | 68 |
| Figure 30 : Concentration du plomb et du cadmium dans les foies selon les catégories d'âges chez les ovins. | 69 |
| Figure 31 : Concentration du plomb et cadmium dans les reins selon les catégories d'âges chez les ovins. | 70 |
| Figure 32 : Concentration de plomb et de cadmium dans le foie selon les catégories d'âges chez les bovins. | 71 |
| Figure 33 : Concentration du plomb et du cadmium dans les reins selon les catégories d'âges chez les bovins. | 72 |
| Figure 34 : Coefficients de corrélation entre l'âge et la teneur en plomb dans les tissus (foie et rein) des bovins et ovins. | 73 |
| Figure 35 : Coefficients de corrélation entre l'âge et la teneur en cadmium dans les tissus (foie et rein) des bovins et ovins. | 74 |

| | |
|--|----|
| Figure 36 : Corrélation entre le cadmium et le plomb dans le foie (a), rein (b) des ovins, le foie (c), rein (d) des bovins. | 75 |
| Figure 37 : Déroulement de l'expérimentation. | 78 |
| Figure 38 : Effet du de plomb et du cadmium sur l'évolution pondérale chez les rats traités pendant 28jours comparés aux témoins. | 85 |
| Figure 39 : Poids final des rats Wistar en fonction des lots expérimentaux. | 85 |
| Figure 40 : Effet du cadmium et du plomb sur le poids moyen du foie. | 87 |
| Figure 41 : Effet du plomb et du cadmium sur le poids des reins chez les rats Wistar. | 88 |
| Figure 42 : Effet du plomb et du cadmium sur le poids des testicules chez les rats Wistar. | 89 |
| Figure 43 : effet du plomb et du cadmium sur les paramètres hématologiques. | 92 |
| Figure 44 : AST (U/dl) des rats témoins et ceux traités après 28J d'expérimentation. | 93 |
| Figure 45 : ALT (U/dl) des rats et témoins et traités après 28J d'expérimentation. | 94 |
| Figure 46 : (A) Urée (g/l) et (B) créatinine (mg/l) des rats témoins et traités après 28Jd'expérimentation. | 95 |
| Figure 47 : Examen microscopique du tissu hépatique. | 96 |
| Figure 48 : Examen microscopique du tissu rénal | 97 |
| Figure 49 : Structure histologique des testicules | 99 |

Liste des abréviations

| | |
|------------------|--|
| ALAD | Acide Delta-Amino-Lévilinique |
| ALAT | Alanine Amino Transférase |
| ANOVA | Analyse Of Variance |
| ASAT | Aspartate Amino Transférase |
| ATP | Adénosine triphosphate |
| ATSDR | Agency for toxic substances and disease registry |
| Cd | Cadmium |
| Cd-MT | Complexe cadmium métallothionéines |
| CE | Commission of the European Communities |
| CIRC | Centre international de recherche sur le cancer |
| CLD | Chlordécone |
| Co | Cobalt. |
| Cr | Chrome. |
| CSHPF | Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France |
| Cu | Cuivre. |
| DAOA | Denrées Alimentaires d'Origine Animale |
| DHT | Dose hebdomadaire tolérable |
| DJA | Dose journalière acceptable |
| EDTA | Acide éthylène diamine tétra acétique |
| Eh | potentiel redox |
| ET | Elément Toxique |
| ETM | éléments traces métalliques |
| FAO | Food and Agricultural Organization |
| GOT | Transaminase Glutamate Oxaloacétique |
| GPT | Transaminase Glutamique Pyruvique |
| HE | Hématoxyline éosine |
| Hg | Mercure |
| INERIS. | Institut National de l'Environnement Industriel et des Risque |
| INSERM | Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale |
| IPA | Institut pasteur Algérie |
| IPCS. | Indice Poids corporal |
| IPF | Indice Poids Foie |
| IPR | Indice Poids Rein |
| IPT | Indice Poids Testicule |
| Jecfa | Joint FAO/ WHO expert committee on food additives and contaminants |
| LMR | Maximum Residual Limits |
| Mn | Manganèse |
| MT | Métallothionéine |
| NADH | Nicotinamide Adénine Dinucléotide phosphate Hydrogéné |
| Ni | Nickel |
| NRC | National Research Council |
| OMS | Organisation mondiale de la santé |
| Pb | Plomb. |
| Pc | Poids corporal |
| POP | Polluant Organique Persistant |
| ppb | partie par billion. |
| ppm | partie par million. |
| SAA | Spectrophotométrie d'Absorption Atomique. |
| SH (R-SH) | groupe Thiol |
| WHO | World health organisation |
| Zn | Zinc. |

Sommaire

Introduction _____ 1

PREMIERE PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

| | | |
|------------|--|-----------|
| I.1 | Généralités sur les métaux lourds | 4 |
| I.2 | Définition | 4 |
| I.3 | Classification des métaux lourds | 5 |
| I.3.1 | Métaux essentiels | 5 |
| I.3.2 | Métaux toxiques | 5 |
| I.4 | Sources de métaux lourds | 6 |
| I.4.1 | Origine naturelle | 7 |
| I.4.2 | Origine anthropique | 7 |
| I.4.2.1 | Retombées atmosphériques | 7 |
| I.4.2.2 | Pollution liée aux activités agricoles | 7 |
| I.4.2.3 | Pollution industrielle | 8 |
| I.5 | Eléments traces métalliques | 9 |
| I.5.1 | Eléments traces métalliques dans le sol | 9 |
| I.5.2 | Eléments traces métalliques dans l'eau : | 12 |
| I.5.3 | Eléments traces métalliques dans l'air : | 13 |
| I.6 | Toxicité des métaux lourds | 14 |
| <i>II</i> | <i>Plomb</i> | <i>16</i> |
| II.1 | Définition | 16 |
| II.2 | Caractéristiques physico-chimiques du plomb | 17 |
| II.3 | Source de plomb | 19 |
| II.4 | Toxico-cinétique du plomb | 20 |
| II.4.1 | Absorption | 20 |
| II.4.2 | Distribution | 21 |
| II.4.2.1 | Transport sanguin : | 22 |
| II.4.2.2 | Répartition du Plomb dans l'organisme : | 22 |
| II.4.2.2.1 | Plomb dans les tissus mous et les organes | 23 |
| II.4.2.2.2 | Plomb dans les tissus durs | 24 |
| II.4.3 | Elimination | 24 |
| II.5 | Toxicité du plomb | 25 |
| II.5.1 | Toxicité hématologique | 25 |
| II.5.2 | Toxicité nerveuse | 26 |
| II.5.3 | Toxicité rénale | 27 |
| II.5.4 | Toxicité hépatique | 27 |
| II.5.5 | Immunotoxicité : | 27 |
| II.5.6 | Effets sur la reproduction : | 27 |
| II.5.7 | Une compétition avec le calcium | 28 |
| II.6 | Signes clinique d'intoxication par le plomb | 28 |
| II.7 | Valeurs de référence | 29 |
| <i>III</i> | <i>Cadmium</i> | <i>30</i> |
| III.1 | Définition | 30 |
| III.2 | Propriétés physico-chimiques | 31 |
| III.3 | Principales sources d'expositions | 31 |
| III.4 | Présence du cadmium dans l'environnement | 32 |
| III.4.1 | Cadmium dans l'air | 32 |
| III.4.2 | Cadmium dans le sol | 32 |
| III.4.3 | Cadmium dans l'eau | 33 |
| III.5 | Comportement du cadmium dans le sol : spéciation et mobilité : | 33 |

| | | |
|-------------|---|----|
| III.6 | Cadmium dans la chaîne alimentaire : | 34 |
| III.7 | Toxico-cinétique du Cadmium (Cd) | 35 |
| III.7.1 | Absorption | 35 |
| III.7.1.1 | Inhalation | 35 |
| III.7.1.2 | Absorption gastro-intestinale | 36 |
| III.7.2 | Distribution | 36 |
| III.7.2.1 | Cadmium dans les tissus | 37 |
| III.7.2.1.1 | Distribution du cadmium dans les reins | 37 |
| III.7.2.1.2 | Distribution du cadmium dans le foie | 38 |
| III.7.3 | Élimination | 39 |
| III.8 | Toxicité du cadmium | 40 |
| III.8.1 | Toxicité rénale | 40 |
| III.8.2 | Toxicité hépatique | 40 |
| III.8.3 | Toxicité osseuse | 41 |
| III.8.4 | Immunotoxicité | 41 |
| III.8.5 | Effets cancérogènes | 41 |
| III.9 | Valeurs de référence | 41 |
| IV | <i>Contamination des ruminants par les métaux lourds</i> | 42 |
| IV.1 | Contamination des ruminants par les métaux lourds | 42 |
| IV.2 | Signes clinique d'intoxication par les métaux lourds | 43 |
| IV.2.1 | Intoxication aiguë | 44 |
| IV.2.2 | Toxicité chronique | 44 |
| V | <i>L'analyse des éléments traces métalliques par spectrophotométrie d'absorption atomique</i> | 46 |
| V.1 | Introduction | 46 |
| V.2 | Principe | 46 |
| V.3 | Appareillage | 47 |
| V.3.1 | Source | 47 |
| V.3.2 | Nébuliseur | 48 |
| V.3.3 | Flamme-atomisation | 48 |
| V.3.4 | Monochromateur | 48 |
| V.3.5 | Détecteur et dispositif de mesure | 48 |
| V.3.6 | Avantages et inconvénient | 49 |

DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE

Etude 1:Recherche des métaux lourds (Cd et Pb) dans les foies et les reins de bovins et ovins aux abattoirs

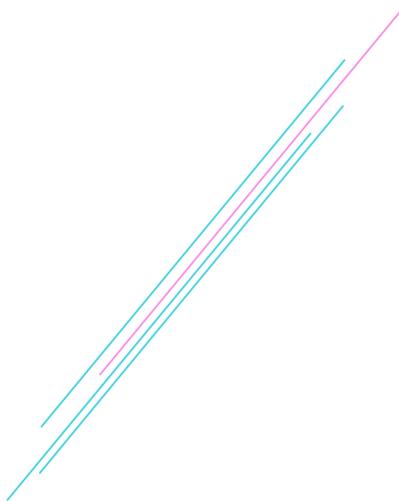
| | | |
|--------|---|----|
| I | <i>Problématique & objectifs</i> | 50 |
| II | <i>Matériel et méthodes</i> | 50 |
| II.1 | Pan d'échantillonnage | 50 |
| II.2 | Lieux de traitement des échantillons | 53 |
| II.3 | Traitement des échantillons | 53 |
| II.3.1 | Homogénéisation/élimination de l'humidité | 53 |
| II.3.2 | Minéralisation par calcination sèche | 53 |
| II.3.3 | Analyse par SAA | 53 |
| II.4 | Matériel de laboratoire | 54 |
| II.4.1 | Equipements | 54 |
| II.4.2 | Réactifs | 55 |
| II.4.3 | Solutions étalons pour le cadmium | 55 |
| II.4.4 | Solutions étalons pour le plomb | 56 |
| III | <i>Analyse statistique</i> | 56 |
| IV | <i>RESULTATS</i> | 57 |
| IV.1 | Contamination globale | 57 |

| | | |
|----------|---|----|
| IV.2 | Prévalences de la contamination par les métaux lourds en fonction de l'espèce | 58 |
| IV.2.1 | Prévalences chez les ovins | 58 |
| IV.2.2 | Prévalences chez les bovins | 58 |
| IV.3 | Contamination par les métaux lourds en fonction de l'espèce et de l'organe | 59 |
| IV.3.1 | Chez les Ovins | 59 |
| IV.3.1.1 | Contamination du foie par le Plomb | 59 |
| IV.3.1.2 | Contamination du foie des ovins par le Cadmium | 60 |
| IV.3.1.3 | Contamination des reins des ovins par le Plomb | 61 |
| IV.3.1.4 | Contamination des reins des ovins par le cadmium | 62 |
| IV.3.2 | Chez les bovins | 63 |
| IV.3.2.1 | Contamination du foie par le Plomb | 63 |
| IV.3.2.2 | Contamination du foie par le cadmium | 64 |
| IV.3.2.3 | Contamination des reins de bovins par le plomb : | 65 |
| IV.3.2.4 | Contamination des reins de bovins par le cadmium | 66 |
| IV.4 | Comparaison des taux de contamination par les métaux lourds entre les deux espèces | 67 |
| IV.4.1 | Plomb | 67 |
| IV.4.2 | Cadmium | 68 |
| IV.5 | Concentration du plomb et du cadmium dans les foies et les reins selon les catégories d'âge | 69 |
| IV.5.1 | Contamination du foie des ovins en fonction de l'âge | 69 |
| IV.5.2 | Contamination des reins des ovins en fonction de l'âge | 70 |
| IV.5.3 | Contamination du foie des bovins en fonction de l'âge | 71 |
| IV.5.4 | Contamination des reins de bovins en fonction de l'âge | 72 |
| IV.6 | Corrélation entre les concentrations du plomb et du Cadmium avec l'âge des animaux | 73 |
| IV.7 | Corrélation entre les métaux lourds et les organes | 75 |

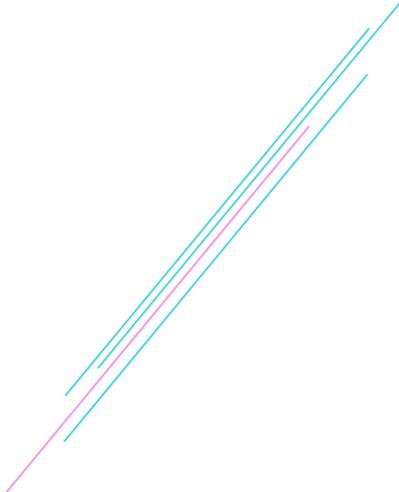
Etude 2:Etude toxicologique du Cadmium et du plomb sur les rats *Wistar*

| | | |
|-------------|---|----|
| I | Objectifs | 76 |
| II | Matériel biologique : | 76 |
| II.1 | Conditions d'élevage | 76 |
| II.2 | Répartition des lots | 77 |
| III | Méthodes | 79 |
| III.1 | Méthodes opératoires | 79 |
| III.1.1 | Mesures pondérales | 79 |
| III.1.1.1 | Courbe de croissance | 79 |
| III.1.1.2 | Gain de poids | 79 |
| III.1.1.3 | Prélèvements d'organes | 79 |
| III.1.1.3.1 | Prélèvements du foie, des reins et des testicules | 79 |
| III.1.2 | Techniques biochimiques | 80 |
| III.1.2.1 | Dosage des marqueurs sériques du foie | 80 |
| III.1.2.1.1 | Dosage de l'aspartateamino-transférase (AST) | 80 |
| III.1.2.1.2 | Dosage de l'alanine amino-transférase (ALT) | 80 |
| III.1.2.2 | Dosage des marqueurs sériques des reins | 81 |
| III.1.2.2.1 | Dosage de la créatinine | 81 |
| III.1.2.2.2 | Dosage de l'urée | 81 |
| III.1.2.3 | Exploration des paramètres hématologiques | 81 |
| III.1.3 | Techniques histologiques | 81 |
| III.1.3.1 | Fixation des organes | 82 |
| III.1.3.2 | Déshydratation | 82 |
| III.1.3.2.1 | Imprégnation et inclusion | 82 |
| III.1.3.3 | Enrobage et confection des blocs | 82 |
| III.1.3.4 | Réalisation et étalement des coupes | 82 |
| III.1.3.5 | Déparaffinage et réhydratation des coupes | 82 |
| III.1.3.6 | Coloration (Hématoxyline éosine (HE)) | 83 |
| III.1.3.7 | Déshydratation et montage des coupes | 83 |
| III.1.3.8 | Outil d'observation et traitement d'images | 83 |
| III.2 | Analyse statistique | 83 |

| | | |
|-----------|--|-----|
| <i>IV</i> | <i>Résultats :</i> | 84 |
| IV.1 | Effets sur la croissance | 84 |
| IV.1.1 | Evolution pondérale | 84 |
| IV.1.2 | Poids final | 85 |
| IV.2 | Effet du plomb et du cadmium sur le poids moyen des organes | 86 |
| IV.2.1 | Effet du plomb et du cadmium sur le poids moyen du foie chez les rats <i>Wistar</i> | 86 |
| IV.2.2 | Effet de la toxicité du cadmium et du plomb sur le poids moyen des reins chez les rats <i>Wistar</i> | 87 |
| IV.2.3 | Effet de la toxicité du cadmium et du plomb sur le poids moyen des testicules chez les rats <i>Wistar</i> | 88 |
| IV.3 | Poids relatifs des organes | 89 |
| IV.4 | Biochimie sériques | 91 |
| IV.4.1 | Evaluation de l'action du plomb et du cadmium sur les paramètres hématologiques | 91 |
| IV.4.2 | Effet de l'action du plomb et du cadmium sur la fonction hépatique | 93 |
| IV.4.2.1 | Variation des taux de l'AST (GOT) | 93 |
| IV.4.2.2 | Variation des taux d'ALT (GPT) | 94 |
| IV.4.3 | Effet sur la fonction rénale : | 95 |
| XI.1.L | L'effet du plomb et le cadmium sur l'architecture structurale du foie | 96 |
| XI.2.L | L'effet du plomb et le cadmium sur l'architecture structurale des reins | 97 |
| <i>V</i> | <i>Discussion Générale</i> | 100 |
| V.1 | I. Prévalence des métaux lourds (Plomb/Cadmium) | 101 |
| V.2 | Contamination par les métaux lourds en fonction de l'espèce et de l'organe | 102 |
| V.2.1 | Chez les ovins | 102 |
| V.2.2 | Chez les bovins | 104 |
| V.3 | Comparaison des taux de contamination par les métaux lourds chez les deux espèces | 108 |
| V.4 | Impact de l'intoxication chronique par le plomb et le cadmium sur le fonctionnement de certains organes : rein, foie et testicules | 108 |
| | <i>Conclusion & Recommandations</i> | 113 |
| | <i>Références bibliographiques</i> | 115 |
| | <i>Annexes</i> | |



Introduction



Introduction

Depuis plus de cinquante ans, la pollution par les métaux lourds est l'un des plus graves problèmes auxquels est confronté notre monde moderne. L'utilisation des métaux en général est fortement liée au fort développement industriel de notre société. L'origine de la pollution de l'environnement par les métaux lourds est multiple ; l'industrialisation, l'urbanisation et l'intensification de l'agriculture. Les résidus des métaux lourds et les cendres contiennent de nombreux composants chimiques présentant des propriétés toxiques, les plus importants sont les métaux lourds (**Zmirou *et al.*, 2003**). Ces métaux non biodégradables peuvent s'accumuler dans le sol et selon les conditions biogéochimiques dans l'air, et dans l'eau pour se transférer vers les êtres vivants (**Mench *et al.*, 2000**). Le Plomb (Pb) et le Cadmium (Cd) sont des éléments chimiques considérés comme toxiques, et ce pour tous les organismes (Homme, animaux, plantes) et ne peuvent pas être biodégradés donc leur présence persiste dans l'environnement.

Au cours des dernières années, beaucoup d'inquiétudes ont été abordées au concernant le problème de la contamination des sols urbains par des métaux lourds en raison de la croissance rapide de l'industrialisation et l'urbanisation. La contribution de métaux lourds à la pollution de l'environnement, de l'agriculture par les processus d'exploitation minière ainsi que par les émissions industrielles est confirmée (**Horowitz, 2009 ; Callender et Rice, 2000**).

Le sol n'est pas seulement un réservoir géochimique des contaminants, mais aussi un tampon naturel pour le transport de matières chimiques et des éléments dans l'atmosphère, l'hydrosphère, et la biomasse, et par conséquent, il est également l'élément le plus important de la biosphère. Les rejets liés aux activités humaines sont source de contaminations environnementales, en métaux lourds, plomb (Pb), cadmium (Cd), mercure (Hg) et en dioxines (**Dragovic *et al.*, 2008 ; Maldonado, 2008 ; Cortez *et al.*, 2010**). Les animaux d'élevage peuvent être exposés à ces contaminants notamment via leur alimentation en ingérant des végétaux contaminés en surface ou par le sol, ou des aliments contenant des additifs nutritionnels contaminés (par exemple du sulfate de zinc contaminé par du cadmium). Ils sont toxiques pour l'Homme et les animaux, et s'accumulent dans les graisses ou les tissus lipidiques comme le cerveau, les reins ou les os. Cependant, leur toxicité n'apparaît généralement qu'après une exposition prolongée avec inhalation ou ingestion de doses souvent élevées.

Les risques toxiques auxquels sont confrontés les ruminants sont de nature très diverse. En effet, leurs environnements, leurs conditions d'élevage et leur alimentation les exposent à de nombreux produits chimiques dont la présence peut être insoupçonnée ou dont la potentialité toxique est méconnue. Les intoxications sont généralement accidentelles ou fortuites, à la suite d'une négligence, lorsque les produits toxiques sont laissés accessibles aux animaux sans précautions (pesticides, urée, batteries...), de l'ignorance du danger (plantes toxiques, aliments trop riches en cuivre...) et d'une exposition inévitable, lors de pollution de l'environnement (**Payne et Livesy, 2010**).

Les ruminants sont des organismes bioaccumulateurs de métaux lourds et leurs manières d'exposition sont diverses, d'où une certaine variabilité de la réponse toxicologique. Ils sont souvent utilisés comme espèces sentinelles de la contamination métallique (**Carrera et al., 2014**), et de l'accumulation des éléments traces métallique (ETM) dans les différents tissus et organes des ruminants contaminés, ainsi que de leur excrétion dans le lait. Les abats (foie et reins) représentent les organes cibles de bioaccumulation des éléments traces métalliques, et sont de ce fait une source non négligeable d'apport exogène pour l'homme d'origine alimentaire. Cette accumulation représente une source de contamination du consommateur et constitue un problème réel de santé publique. L'impact de ces métaux lourds (plomb et cadmium) sur la santé des êtres vivants et leur capacité à perturber plusieurs paramètres physiologiques est une préoccupation majeure, qui prend de plus en plus de l'ampleur dans la recherche sur l'environnement et dans l'évaluation du risque liée aux polluants. L'intérêt grandissant pour l'étude de la toxicité de ces deux ETM est dû également à leurs larges utilisations (**Carrera et al., 2014**).

Notre étude a porté sur la détermination des métaux lourds (plomb et cadmium) au niveau des denrées alimentaires (foie et reins), d'origine animale (bovine et ovine). Ces deux métaux lourds présentent un risque pour le consommateur en raison de leur caractère ubiquitaire et de leurs toxicités à faible dose lors d'une exposition prolongée.

Notre travail est scindé en deux parties :

La première est une étude bibliographique. Dans cette partie nous abordant les généralités sur les métaux lourds (plomb et cadmium), leurs caractéristiques chimiques, leur utilisation, les sources d'exposition et la toxicologie.

Introduction

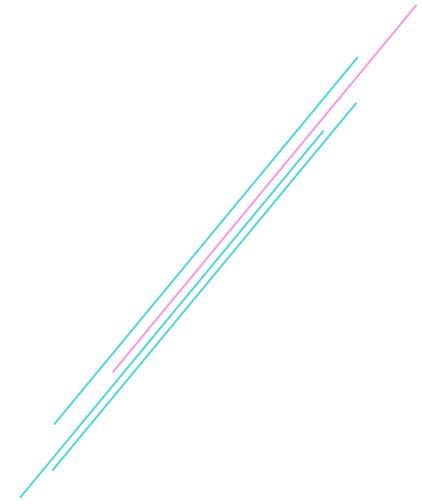
La deuxième partie est consacrée à l'étude expérimentale qui comprend deux études ou sections :

- ✚ La première consiste à la récolte et conservation des organes ciblés par notre travail, à savoir le foie et le rein chez les deux espèces animales (bovin et ovin), puis à la recherche et la détermination des taux de métaux lourds au niveau des résidus de ces échantillons par Spectrophotomètre d'Absorption Atomique (SAA).
- ✚ Le modèle *in vivo* est basé sur une exposition de 28j par voie orale des rats mâles *Wistar* aux Pb et Cd individuellement et combinés (Pb+Cd). Les concentrations administrées sont calculées sur la base de la valeur déterminée au cours de la première partie expérimentale.

Différentes approches expérimentales ont été développées dans l'exploration du fonctionnement des organes (Foie, rein et testicules):

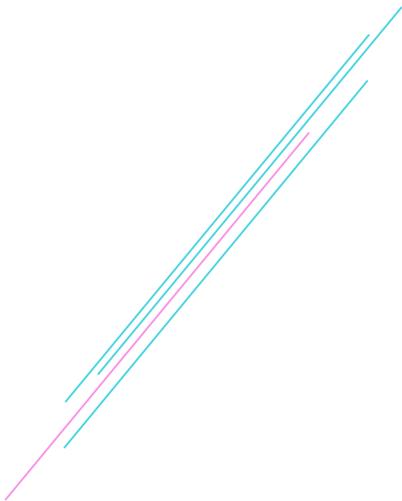
- Une approche biochimique, dans laquelle nous avons effectués les dosages de différents paramètres.
- Une étude histologique des organes : Foie, rein et testicules.

Après une discussion des différents résultats obtenus dans les deux parties expérimentales de cette thèse, nous terminons notre travail par une conclusion et des perspectives.



Chapitre I

Généralités sur les métaux lourds



I.1 Généralités sur les métaux lourds

I.2 Définition

L'expression « métal lourd » désigne des métaux de numéros atomiques élevés, de densité supérieure ou égale à 5 g.cm⁻³ et qui forment des sulfures insolubles. Ces éléments sont aussi de façon plus scientifique souvent appelés éléments traces métalliques (ETM). Le cadmium (Cd), le plomb (Pb), le cuivre (Cu), le manganèse (Mn), le cobalt (Co), le chrome (Cr), le mercure (Hg), le nickel (Ni) et le zinc (Zn) sont des ETM très souvent rencontrés dans l'environnement, et plus particulièrement en milieux urbain (Almasoud *et al.*, 2014; McBride *et al.*, 2014).

La classification en métaux lourds est d'ailleurs souvent discutée car certains métaux toxiques ne sont pas particulièrement "lourds" (le zinc), tandis que certains éléments toxiques ne sont pas tous des métaux (l'arsenic est un métalloïde). Pour ces différentes raisons, la plupart des scientifiques préfèrent à l'appellation métaux lourds, l'appellation "éléments en traces métalliques" ou "éléments traces" (Miquel, 2001). Ces métaux rejetés dans la nature (air, sol, eau) peuvent déclencher un bouleversement qui peut nuire à l'homme et à son environnement. On distingue deux types en fonction de leurs effets physiologiques et toxiques : métaux essentiels et métaux toxiques. La classification périodique des éléments périodiques sont présentés dans le tableau 1.

Tableau 1: Classification périodique des éléments périodiques (Miquel, 2001).

| | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---------------|----|--------------------------------|---------------|----|----|----|----|----|----|----|----|---------------|----|----|----|----|----|
| Bloc S | | | | | | | | | | | | Bloc p | | | | | |
| H | | ■ Métaux lourds de densité > 5 | | | | | | | | | | | | | | | He |
| Li | Be | | | | | | | | | | | B | C | N | O | F | Ne |
| Na | Mg | Bloc d | | | | | | | | | | Al | Si | P | S | Cl | Ar |
| K | Ca | Sc | Ti | V | Cr | Mn | Fe | Co | Ni | Cu | Zn | Ga | Ge | As | Se | Br | Kr |
| Rb | Sr | Y | Zr | Nb | Mo | Tc | Ru | Rh | Pd | Ag | Cd | In | Sn | Sb | Te | I | Xe |
| Cs | Ba | La | Hf | Ta | W | Re | Os | Ir | Pt | Au | Hg | Tl | Pb | Bi | Po | At | Rn |
| Fr | Ra | Ac | Bloc f | | | | | | | | | | | | | | |
| Lanthanides | | | Ce | Pr | Nd | Pm | Sm | Eu | Gd | Tb | Dy | Ho | Er | Tm | Yb | Lu | |
| Transuraniens | | | Th | Pa | U | Np | Pu | Am | Cm | Cf | Bk | Es | Fm | Md | No | Lr | |

I.3 Classification des métaux lourds

I.3.1 Métaux essentiels

Beaucoup d'éléments traces (ET) ont une fonction essentielle pour la santé de l'homme et de tous les organismes vivants. Parmi ces éléments qui sont essentiels (micronutriments), sont indispensables au déroulement des processus biologiques mais à de très faibles quantités et dont l'absence entrave le fonctionnement ou empêche le développement d'un organisme. On trouve le Fe, le Mn, le Zn et le Cu qui sont essentiels pour les plantes et les animaux. Par ailleurs, Co, Cr et Se sont essentiels seulement pour les animaux, alors que Mo est un micronutriment pour les végétaux (Michel et Baize, 2004). Certains peuvent devenir toxiques lorsque la concentration dépasse un certain seuil. C'est le cas du cuivre, du nickel, du zinc et du fer (Loué, 1993). Le zinc est un oligo-élément qui intervient dans de nombreuses réactions enzymatiques (déshydrogénases, protéinase, peptidase) et qui joue un rôle important dans le métabolisme des protéines, des glucides et des lipides (Kabata-Pendias et Pendias, 2001 ; Walter et Cuevas, 1999).

I.3.2 Métaux toxiques

Les métaux non-essentiels ont un caractère polluant. Ils exercent des effets toxiques sur les organismes vivants même à faible concentration. Ils n'ont aucun effet bénéfique connu pour la cellule. C'est le cas du plomb (Pb), du mercure (Hg) et du cadmium (Cd) (Baker et Walker, 1990). La toxicité des métaux varie selon la dose et la durée d'exposition. Une exposition de courte durée à des concentrations élevées cause des syndromes aigus, alors que l'exposition de longue durée à de faibles concentrations provoque des troubles chroniques (La gastroentérite, la pneumonie et l'insuffisance rénale et hépatique). La classification selon leur toxicité de quelques métaux lourds, est présentée dans le tableau 2.

Tableau 2 : Classification de quelques métaux lourds selon leur toxicité d'après Bliefert et Perraud, (2004).

| Métaux | Plantes | Animaux |
|--------|--------------------|--------------------|
| Cd | Toxique | Toxique |
| Cu | Essentiel- Toxique | Essentiel- Toxique |
| Ni | Toxique | Essentiel |
| Pb | Toxique | Toxique |
| Zn | Essentiel- Toxique | Essentiel |

I.4 Sources de métaux lourds

Les ETM sont naturellement présents dans les sols, l'air, l'eau, les océans, les plantes car ils proviennent du processus d'altération de la roche mère. Les roches (lithosphère) peuvent ainsi renfermer des minéraux riches en métaux et métalloïdes. Ils sont généralement retrouvés en très faible quantité dans l'environnement d'où l'appellation d'éléments traces (Lévêque *et al.*, 2015). Toutefois, ces concentrations peuvent augmenter sous l'influence des activités humaines (Singh *et al.*, 2011 ; Cheng *et al.*, 2014) : stockage de déchets industriels et urbains (mines et fonderie de métaux non ferreux, décharges publiques), pratiques agricoles (fertilisation par des engrais phosphatés pouvant apporter du cadmium, composts urbains, boues de station d'épuration, etc.) (Micó *et al.*, 2006 ; Jaradat *et al.*, 2010 ; Cai *et al.*, 2012).

Les éléments traces métalliques peuvent être nocifs pour tous les écosystèmes à cause de leurs stabilités et de leurs persistances dans la nature, ils sont classés dans deux groupes : les fonds géochimiques et les apports anthropiques. La figure N°1 montre les principales sources de contaminations en métaux lourds.

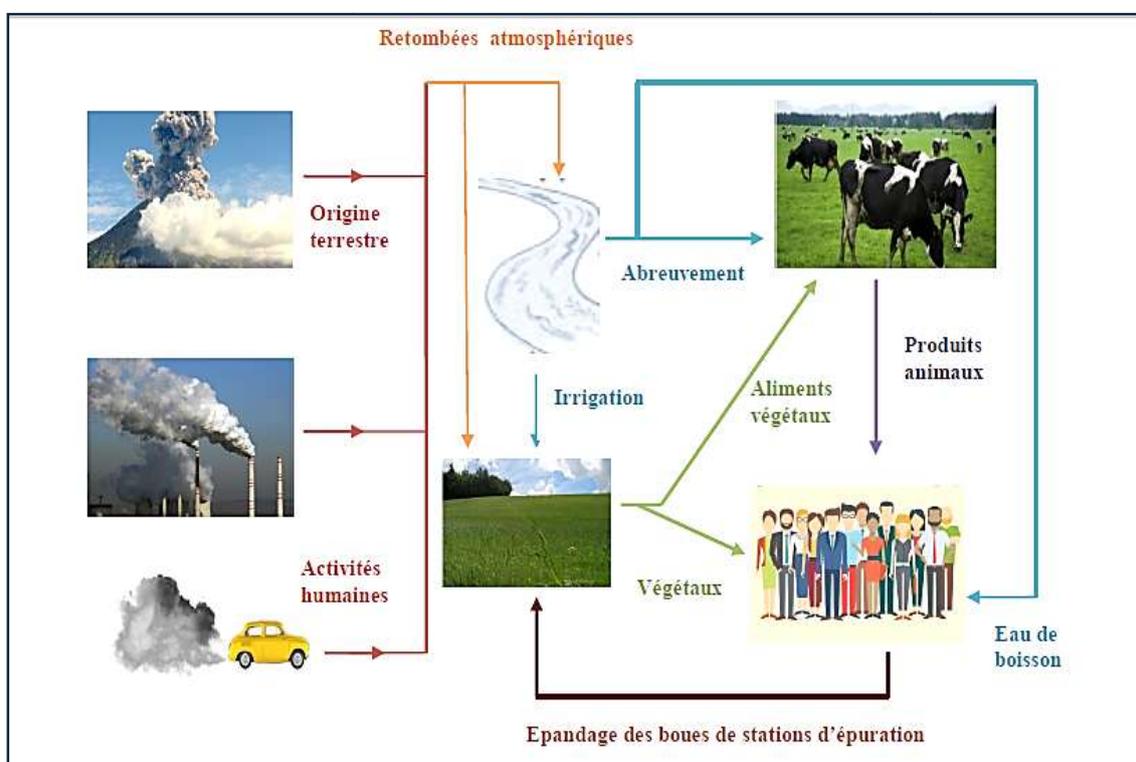


Figure 1: Principaux sources de contaminations en métaux lourds (Cai *et al.*, 2012).

I.4.1 Origine naturelle

Les métaux lourds sont présents naturellement dans les roches, ils sont libérés lors de l'altération de celles-ci pour constituer le fond géochimique (**Bourrelier et Berthelin, 1998**). Les particules en suspension dans l'air, les gaz d'éruptions volcaniques, le feu de forêt, et la poussière continentale de métaux lourds (érosion éolienne des sols) ont toujours été une source naturelle pour le sol et les écosystèmes (**Alloway ,2013 ; Miquel, 2001**).

I.4.2 Origine anthropique

Au cours des dernières décennies, l'apport de métaux lourds au sol dans le monde s'est étendu, à l'heure actuelle on l'estime à 22000 tonnes de cadmium, 939000 tonnes de cuivre, 783000 tonnes de plomb, et 1350000 tonnes de zinc (**Fadel et al.,2014**). Les principaux types de pollutions anthropiques responsables de l'augmentation des flux de métaux sont la pollution atmosphérique (rejets urbains et industriels), la pollution liée aux activités agricoles et la pollution industrielle (**Ali et al., 2013; Mahar et al., 2016; Antoniadis et al., 2017**).

I.4.2.1 Retombées atmosphériques

D'après **Robert et Juste (1999)** la principale source d'ETM dans les zones urbaines est l'activité industrielle et la circulation de différents moyens de transport. Les principales sources industrielles d'émissions atmosphériques de micropolluants métalliques sont les usines d'incinération, essence au plomb, la combustion du charbon et du pétrole (**Goix et al.,2015 ;Lévêque et al., 2015 ;Austruy et al., 2016**).

I.4.2.2 Pollution liée aux activités agricoles

L'agriculture constitue la première cause des pollutions diffuses des ressources en eau. Les activités agricoles sont, en particulier, largement impliquées dans les apports d'azote et, surtout, de ses dérivés, nitrates et nitrites. Ces derniers présents dans l'eau peuvent causer des effets néfastes sur l'homme et son environnement (**Antoniadis et al., 2017**). L'agriculture moderne représente une importante source de pollution de l'espace rural mais aussi des milieux intégrés par l'homme. L'usage massif des engrais chimiques, le recours systématique aux pesticides ont permis une augmentation considérable des rendements agricoles. Ils se sont malheureusement accompagnés d'une pollution accrue des eaux continentales, des terres cultivées, ainsi que des productions végétales et animales par divers contaminants minéraux ou organiques (**Dragovic et al., 2008 ; Bourrelier et Berthelin,1998**).

L'utilisation de matières fertilisantes et de pesticides ont contribué de manière importante à la contamination des sols agricoles en métaux lourds, ainsi que l'épandage des déchets et des boues et de station d'épuration (**Alloway, 2013**).

- **Les pesticides** : selon l'étude menée par **Robert et Juste, (1999)**, de nombreux pesticides contribuent de manière importante à la contamination des sols par les ETM. Les pesticides représentent 61 % de la contamination totale des sols, suivie des déchets urbains (20 %) et de 18 % des retombées atmosphériques (**Feix, 2012**).
- **La fertilisation** : les apports d'engrais chimiques utilisés en agriculture sont une source importante de Cd (**Antoniadis et al., 2017**).
- **Les amendements organiques** : l'utilisation d'amendements organiques traditionnels comme le fumier de ferme, les fientes de poules, les bouses de vache vont participer à l'accroissement de la teneur en ETM du sol. Une étude réalisée par **Gomez et al., (1992)**, a rapporté la présence des teneurs en ETM dans du fumier à des concentrations de Cd : 0,7 mg/kg MS, Zn : 0,7 mg/kg MS et Pb : 0,7 mg/kg MS. Une étude menée par **Noubissié, (2015)** rapporte que les agriculteurs au Cameroun utilisaient les cendres de combustibles comme amendement.

I.4.2.3 Pollution industrielle

La pollution industrielle provient des usines de production de l'activité humaine tels que les matières organiques et graisses (industries agro-alimentaires), les produits chimiques divers (industries chimiques), les matières radioactives (centrales nucléaires, traitement des déchets radioactifs) et la métallurgie (**Saxena et al., 2016**). Les déchets miniers et les terrils industriels sont une source particulièrement importante de pollution par le zinc, le plomb et le cadmium (Tableau 3).

Tableau3 : Sources industrielles et agricoles des métaux présents dans l'environnement (Biney *et al.*, 1991).

| Utilisations | Métaux |
|---|--|
| Batteries et autres appareils électriques | Cd, Hg, Pb , Zn, Mn, Ni, |
| Pigments et peintures | Ti, Cd, Hg, Pb , Zn, Mn, Sn, Cr, Al, As, Cu, Fe |
| Alliages et soudures | Cd , As, Pb , Zn, Mn, Sn, Ni, Cu |
| Biocides (pesticides, herbicides) | As, Hg, Pb , Cu, Sn, Zn, Mn |
| Agents de catalyse | Ni, Hg, Pb , Cu, Sn |
| Engrais | Cd , Hg, Pb , Al, As, Cr, Cu, Mn, Ni, Zn |
| Matières plastiques | Cd , Sn, Pb |
| Raffineries | Ni, V, Pb , Fe, Mn, Zn |
| Carburants | Ni, Hg, Cu, Fe, Mn, Pb , Cd |

1.5 Éléments traces métalliques

1.5.1 Éléments traces métalliques dans le sol

Le sol, comparativement à l'air et à l'eau, est le milieu qui reçoit les plus grandes quantités d'éléments en traces produites par les activités industrielles et constitue un lieu réceptacle des métaux lourds (Maszenan *et al.*, 2011; Saxena et Bharagava, 2017). L'origine de la présence d'ETM dans un sol provient de l'altération de la roche mère qui le constitue et selon la composition chimique initiale de la roche. (Figure 2(1)). Les ETM peuvent aussi être apportés par le vent ou la pluie sous forme de poussières ou d'aérosols provenant d'activités volcaniques ou de la volatilisation de météorites lorsqu'elles pénètrent dans l'atmosphère (Figure 2(6)) et certains ETM passent sous une forme soluble à des pH acides ($\text{pH} < 5$) et peuvent ainsi être apportés par les eaux de ruissellement (Figure 2(4)). La composition d'un sol en ETM peut aussi varier entre les différents horizons. Ainsi, un cycle biogéochimique se met en place entre les sols et les plantes. Ces dernières absorbent les ETM via les racines et les redistribuent dans leurs différents organes (Figure 2(2)). Ils retourneront ensuite dans les sols, soit directement (décomposition des racines), soit indirectement (enrichissement des horizons supérieurs par décomposition des parties aériennes), sous des formes plus mobiles et plus bio-disponibles (Figure 2(3)).

Le vent et la pluie peuvent véhiculer des particules, poussières ou aérosols provenant des activités industrielles ou des automobiles qui constituent des apports diffus aériens d'origine lointaine (Figure 2(6)) (Adriano ,2001). Ce type de contamination ne peut être totalement évité, elle est la conséquence d'apports involontaires (émissions atmosphériques industrielles, rejets atmosphériques par les incinérateurs, par l'industrie sidérurgique ou d'impuretés indésirables dans les apports volontaires (ETM dans les engrais minéraux) (Baize, 1997). Certaines pratiques agricoles sont une première cause de pollution d'un sol par les ETM due aux activités humaines (Figure 2 (5)).

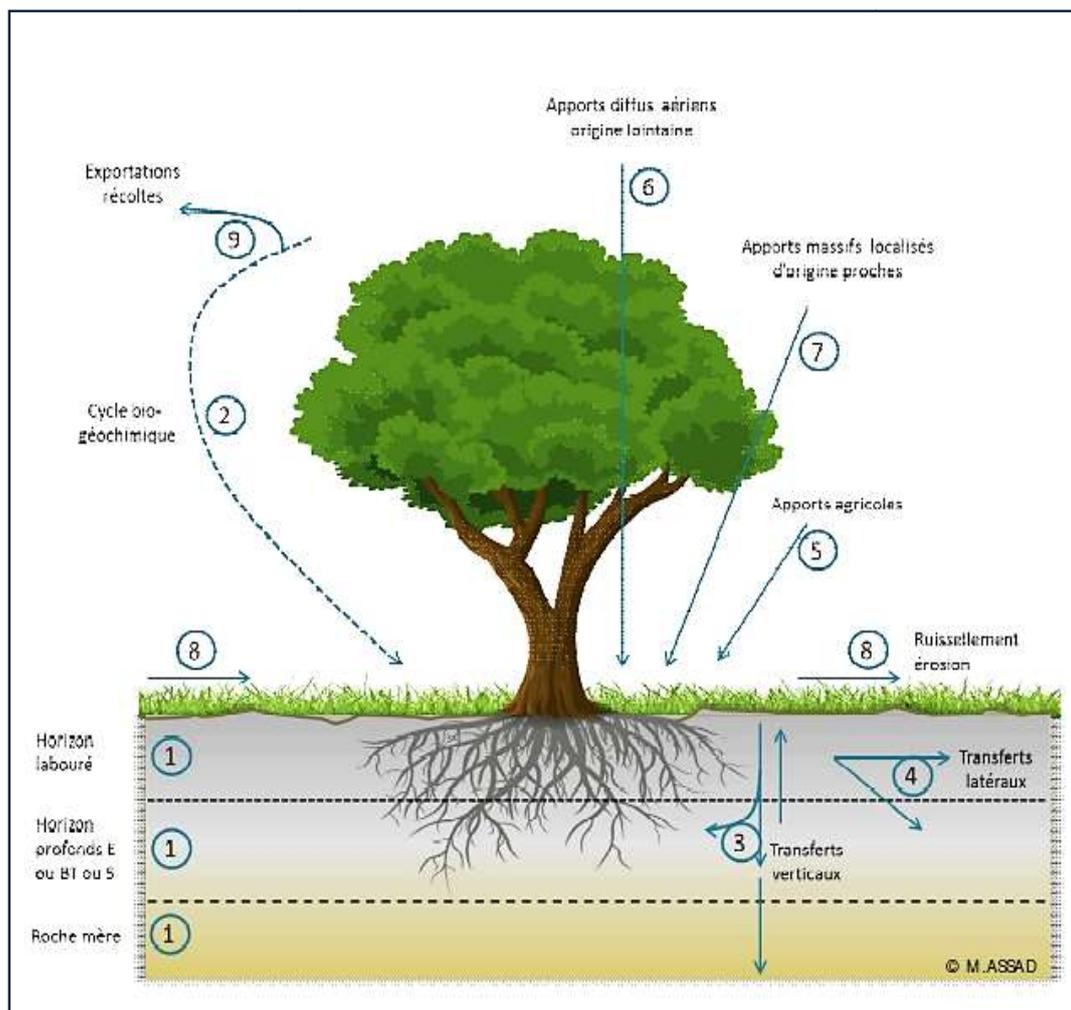


Figure 2 : Schéma du cycle des ETM dans les sols (Baize, 1997).

Les émissions des particules métalliques dans l'environnement induites par de nombreuses activités anthropiques posent des questions dans le domaine de la santé, mais aussi de l'environnement (Goix *et al.*, 2015;Lévêque *et al.*, 2015).En effet, ces émissions de

particules métalliques engendrent des accumulations des métaux lourds dans les sols et l'environnement le Pb, Cd, Cu, As sont des polluants métalliques couramment retrouvés dans les écosystèmes (**Wu et al., 2015**). Tous persistants, certains sont (éco) toxiques même à faible concentration (**Wongsasuluk et al., 2014**). La concentration naturelle de ces métaux lourds dans les sols varie selon la nature de la roche, sa localisation et son âge (**Bourrelier et Berthelin, 1998**). La figure 2 montre l'origine des métaux lourds dans le sol d'après **Petit (2007)**.

Un certain nombre de paramètres influencent sur le caractère soluble des éléments traces métalliques. Les conditions physico-chimiques de la majorité des sols :

- Le potentiel redox (Eh) permet de caractériser les échanges d'électrons entre les espèces chimiques. Ainsi, les formes oxydées prédominent pour un potentiel redox élevé. De plus, la modification du degré d'oxydation des ligands ou des éléments se liant avec le métal influence indirectement la solubilité des métaux lourds. En conditions réductrices, les sulfates sont réduits en sulfures qui piègent les éléments calcophiles tels que Fe, Zn, Pb, Cd (**Deneux-Mustin et al., 2003**).
- La température a un impact direct sur la mobilité des éléments métalliques en déplaçant les équilibres des réactions de dissolution - précipitation et co-précipitation, et un impact indirect, en modifiant la teneur en eau du sol, le pH ou le potentiel redox (Eh). Entre 10 et 30°C, la température a un effet direct négligeable sur la mobilité des métaux mais en présence de matière organique, elle peut avoir un rôle indirect, en augmentant sa dégradation, ce qui peut produire des substances acides et complexantes. Elle peut aussi jouer sur l'activité bactérienne (production d'acide et de composés complexant.) ou de l'insolubilisation (formation de sulfures métalliques insolubles, bioaccumulation et biosorption) des métaux lourds (**Deschamps et al., 2006**).
- Le pH joue un rôle important dans la mobilité des métaux. Un pH acide entraîne la mise en solution des sels métalliques, La solubilité diminue lorsque le pH augmente (**Deneux-Mustin et al., 2003**).

Ces conditions sont propices à la fixation des métaux lourds dans les parties supérieures du sol. Il y a donc un risque important d'entraînement par ruissellement (**Kabata-Pendias et Pendias, 2001**).

I.5.2 Éléments traces métalliques dans l'eau

Les métaux présents dans l'eau peuvent exister sous forme de complexes, de particules ou en solutions. L'évolution des éléments traces métalliques dans l'environnement peuvent subir un grand nombre de transformations (oxydation, réduction, complexation, etc.). Cette évolution dépend fortement du milieu. Selon **Di Benedetto, (1997)**, de nombreux paramètres peuvent influencer la migration des métaux lourds vers la nappe phréatique et qui sont ;

- La forme chimique initiale du métal.
- La perméabilité du sol et du sous-sol.
- La porosité du sol.
- Le pH : dans un milieu acide, les métaux risquent de se solubiliser, alors que dans un milieu alcalin, ils peuvent former des hydroxydes métalliques.
- L'activité biologique : certains micro-organismes ont la capacité d'ingérer des métaux, alors que d'autres les solubilisent par acidogènes.
- Le potentiel redox du sol.
- La composition minéralogique du sol.
- La teneur en matières organiques du sol

Les principales sources de contamination de l'eau :

- Les eaux usées domestiques et industrielles,
- La production agricole,
- Les polluants atmosphériques,
- Les anciennes décharges.

La figure 3 montre l'origine des traces métalliques dans l'eau.

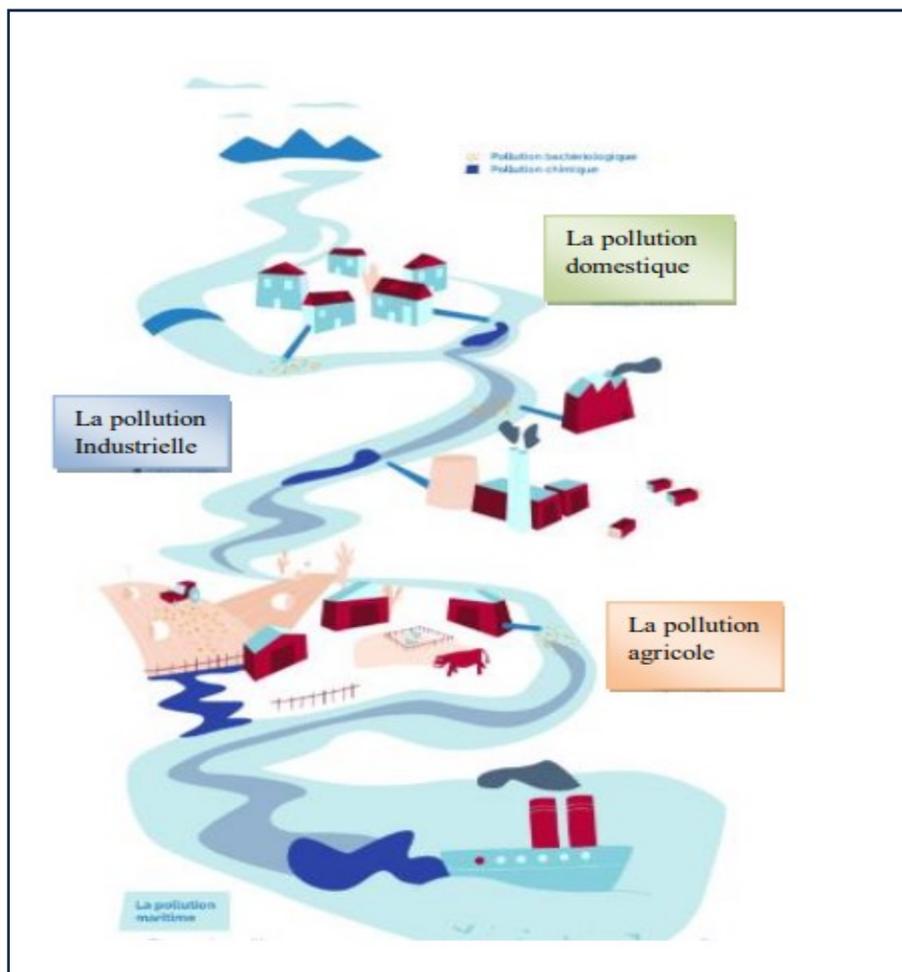


Figure 3 : L'origine des traces métalliques dans l'eau (Di Benedetto, 1997).

I.5.3 Éléments traces métalliques dans l'air

Les métaux lourds dans l'air peuvent se trouver principalement sous deux formes :

- soit sous forme gazeuse pour certains composés métalliques volatiles ou pour ceux dont la pression de vapeur saturante est élevée ;
- soit sous forme de composés métalliques solides, déposés sur les très fines particules ou poussières formées lors des phénomènes de combustion.

De nombreux éléments se trouvent à l'état de traces dans des particules atmosphériques provenant de combustions à haute température, de fusions métallurgiques, des incinérateurs municipaux, des véhicules, etc. (Di Benedetto, 1997). Les effets biologiques, physiques et chimiques de ces particules sont fonction, de la taille, de leur concentration et de leur composition. Dans l'air ambiant, on trouve de nombreux éléments, comme le plomb, le cadmium, le zinc, le cuivre, etc. Il est à noter que la concentration soit d'autant plus élevée que les particules soient fines (Di Benedetto, 1997).

I.6 Toxicité des métaux lourds

La toxicité des métaux lourds est due essentiellement à leurs effets à faible concentration, à la non-dégradabilité et à leur tendance à s'accumuler dans les organismes vivants. La persistance et l'accumulation des métaux lourds dans l'environnement sont à l'origine de leurs effets toxiques inquiétants sur la santé des écosystèmes et les êtres vivants (**Gollenberg *et al.*,2010; Xu *et al.*, 2017**). Les métaux lourds peuvent causer des dommages considérables aux organismes vivants grâce à leur interaction avec les sites importants des protéines et de systèmes enzymatiques tels que les groupes thiol (SH). Ils peuvent également entrer en concurrence avec d'autres métaux essentiels comme les cofacteurs des enzymes régulatrices de nombreuses réactions chimiques et peuvent les empêcher de ce fait de fonctionner normalement et d'assurer leur rôle métabolique. Cependant, quel que soit le mode de contamination, les éléments s'accumulent dans l'organisme (sang, foie, cerveau, reins...) et ne sont éliminés que très lentement. Le Tableau 4 montre, par ordre croissant, la demi-vie biologique des métaux (**Koch *et al.*,2004**).

Tableau 4 : Temps de demi-vie biologique de quelques éléments (**Koch *et al.*,2004**).

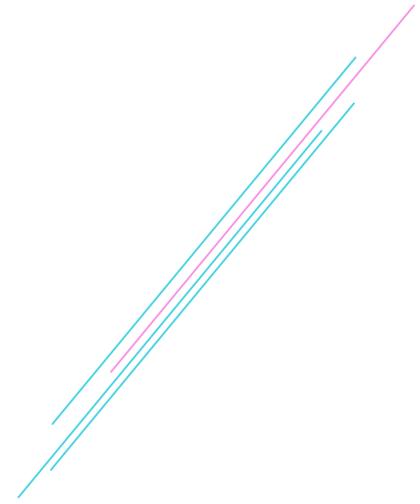
| Élément | Temps de demi-vie biologique |
|-----------|---|
| Mo | 5 jours |
| Cu | 13-33 jours |
| Mn | 15-20 jours |
| Pb | -20-30 jours dans le sang -40-60 jours dans les reins, la moelle, le foie, le cerveau -2-10 ans dans les os |
| Hg | 30-60 jours (1 an dans le cerveau) |
| Cr | 1-2 ans |
| Co | 2-15 ans |
| Zn | 2-3 ans |
| Cd | -30 jours dans le sang -20-30 ans dans le rein |

Chez l'homme, l'exposition aux métaux lourds par inhalation, par contact cutané ou par ingestion dans les lieux de travail, ou à la consommation de l'eau ou des aliments

contaminés (Singh *et al.*, 2011) entraîne des effets néfastes pour l'homme (Tableau 5).

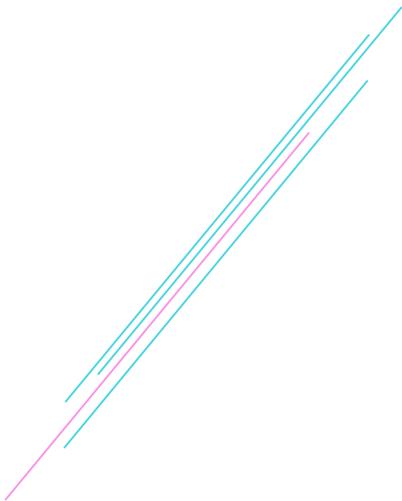
Tableau 5 : Effets toxiques de quelques métaux lourds sur la santé humaine (Singh *et al.*, 2011).

| Métaux | Effet sur la santé humaine |
|----------------|--|
| Arsenic | Affecte les processus cellulaires essentiels comme la phosphorylation et la synthèse de l'ATP, il peut provoquer aussi la bronchite, la dermatite et l'insuffisance rénale |
| Cadmium | Le cadmium est connu par son pouvoir cancérogène, mutagène et perturbateur endocrinien. Il est aussi responsable de la dysfonction rénale, des maladies pulmonaires, du cancer du poumon, des défauts osseux (Ostéomalacie et Ostéoporose), de l'augmentation de la tension artérielle, des lésions rénales, de la bronchite, des troubles gastro-intestinaux et des troubles de moelle osseuse. |
| Plomb | Il est à l'origine de plusieurs maladies telles que, le retard mental chez l'enfant, le retard du développement, l'encéphalopathie fatale du nourrisson, la paralysie congénitale, la surdité neurale du capteur. Il peut également engendrer des dommages aigus ou chroniques du système nerveux, d'épilepsie, des effets toxiques sur le foie et les reins et des dommages gastro-intestinaux. |
| Mercure | Il peut être à l'origine des maladies auto-immunes, de dépression, de somnolence, de fatigue, de perte des cheveux, d'insomnie, de perte de la mémoire, d'agitation, des troubles de la vision, des tremblements, des crises d'humeur, des lésions cérébrales, d'insuffisance pulmonaire et rénale et d'avortement spontané. |
| Zinc | Les fumées de zinc ont un effet corrosif sur la peau et causent des dommages à la membrane nerveuse. |
| Chrome | Perte des cheveux, dommages au système nerveux, fatigue, irritabilité. |
| Cuivre | Des dommages au cerveau et aux reins, des niveaux élevés entraînent une cirrhose du foie, une anémie chronique, des effets sur l'estomac et une irritation intestinale. |



Chapitre II

Le Plomb



II Plomb

II.1 Définition

Le plomb est l'élément chimique de numéro atomique 82, de symbole Pb. C'est un membre du groupe des cristallogènes. Le mot et le symbole viennent du latin *plumbum*. Le plomb est un métal gris bleuâtre, blanchissant lentement en s'oxydant, malléable (**INRS, 2006**). C'est un élément toxique et mutagène. Il a en effet été classé comme potentiellement cancérigène en 1980, classé dans le groupe 2B par le CIRC puis comme cancérigène pour l'homme et l'animal en 2004. Les premières formes d'utilisation remontent à 40 000 ans avant J.-C. est relativement abondant dans la croûte terrestre, avec une concentration moyenne d'environ 13mg/kg (**Garnier, 2005**). Son extraction intensive a commencé durant l'antiquité, mais ont augmenté de façon spectaculaire durant la révolution industrielle. Cette exploitation intensive a entraîné la libération intense de ce métal et son accumulation massive dans l'environnement (**Sposito, 1989 ; Bonnard et al., 2006**).

Le Plomb(Pb) est un métal ubiquiste que l'on retrouve dans les sols, l'eau et la biosphère. Il peut se présenter sous des formes chimiques et minérales telles que le Pb élémentaire (Pb⁰), les formes ionisées cationiques tétravalent (Pb⁴⁺), trivalent (Pb³⁺) et bivalent (Pb²⁺) (**CITEPA, 2011**). La forme Pb²⁺ est la forme d'apport majoritaire dans les sols (**Lauwerys, 2007**). Les concentrations ubiquitaires sont dans l'air de l'ordre de 0,03ng.m⁻³, dans les eaux de 1 à 10µg.L⁻¹ pour les eaux douces de surface, inférieures à 50 ng.L⁻¹ pour les eaux de mer et inférieures à 3 µg.L⁻¹ pour les eaux de pluie. Le Pb est l'un des ETM les moins mobiles dans le sol dont 100 fois moins mobile que le Cd (**Portier, 2012**). Il est largement utilisé dans les peintures, les canalisations d'eau ou dans l'essence. Ces sources en font un polluant très répandu dans l'air, les sols et les eaux sa biodisponibilité, engendrée par ses nombreuses formes organiques comme inorganiques, solubles en font un important contaminant de la chaîne alimentaire.

D'un point de vue toxicologique, le plomb peut être inhalé ou ingéré. La première voie de contamination reste relativement rare et est prépondérante chez les personnes professionnellement exposées, lorsque le plomb est présent sous forme particulaire. La deuxième voie de contamination, la plus universelle par l'ingestion d'aliments contaminés ou d'eaux provenant des canalisations fabriquées en pb et participe à des intoxications chroniques (**Delphine, 2001; Portier, 2012**). Les voies et les sources d'exposition au plomb chez l'homme sont présentées dans le Tableau N°6.

Tableau 6 : Voie et source d'exposition au plomb chez l'homme (d'après BRGM, 2004).

| Origine | Voie d'exposition | Source |
|----------------------------------|-------------------|---|
| Alimentation | Ingestion | Plantes contaminées par des retombées atmosphériques et/ou accumulation depuis le sol. Stockage des aliments |
| Poussières | Inhalation | Poussières fines Fumées de cigarettes Emissions automobiles |
| Ingestion | Inhalation | Ecailles de peintures anciennes Poussières de peinture lors des travaux de rénovation Ingestion de sol par les jeunes enfants (pica) |
| Activité professionnelle/Loisirs | Inhalation | Métallurgie du plomb Fabrication d'accumulateurs et de batteries Récupération des métaux Soudure Décapage des vieilles peintures Manipulation de pigments Poussières Activité de poteries, imprimerie artisanale |

II.2 Caractéristiques physico-chimiques du plomb

Le plomb est rarement sous sa forme élémentaire. Il existe sous forme métallique, inorganique et organique. Il prend une forme inorganique lorsqu'il est associé à certains composés pour former les sels du plomb. Parmi les sels de plomb les plus fréquemment rencontrés, on retrouve ceux des chlorures, du chromate, du nitrate, des phosphates et des sulfates quant au plomb organique, il se présente le plus souvent sous forme de plomb tétra-méthyle et de plomb tétra-éthyle, deux additifs utilisés pour augmenter l'indice d'octane dans les essences (Ponthieu *et al.*, 2002). Les principales caractéristiques physico-chimiques du plomb sont présentées dans le Tableau N°7.

Tableau 7 : Caractéristiques du plomb et de ses principaux composés (IPCS. 1995).

| Nom | Masse molaire, g.mol ⁻¹ | Solubilités | Température de Fusion | Aspect |
|--|------------------------------------|---|-----------------------|--|
| Pb(Plomb) | 207,2 | -Insoluble dans l'eau -Soluble dans l'acide nitrique et l'acide sulfurique | 327,4 °C | Solide gris-bleuâtre très mou, malléable |
| PbCl ₂ (Chlorure de plomb) | 278,11 | -Soluble dans l'eau -Très soluble dans les solutions de soude ou potasse | 501 °C | Cristaux blancs |
| PbCrO ₄ (Chromate de plomb) | 323,19 | -Insoluble dans l'eau -Soluble dans l'acide nitrique -Insoluble dans l'acide acétique et l'ammoniaque | 844 °C | Poudre jaune à jaune-orange |
| PbCO ₃ (Carbonate de plomb) | 267,2 | -Insoluble dans l'eau l'éthanol, l'ammoniaque -Soluble dans l'acide nitrique et acétique dilués. | 400 °C | Poudre blanche |
| PbO ₂ (Dioxyde de plomb) | 239,21 | -Insoluble dans l'eau -Soluble dans l'acide chlorhydrique -Soluble dans les solutions de soude. | 290 °C | Poudre cristalline noire brunâtre |
| PbO(Monoxyle de plomb) | 223,21 | -Très peu soluble dans l'eau -Soluble dans les acides (nitrique et acétique dilués) | 888 °C | Cristaux jaunes ou jaune-rougeâtres |
| Pb(NO ₃) ₂ (Nitrate de plomb) | 331,20 | -Soluble dans l'eau et l'éthanol | 470 °C | Cristaux blancs |
| PbSO ₄ (Sulfate de plomb) | 303,25 | -Soluble dans les acides et bases concentrés -Insoluble dans l'éthanol | 1170 °C | Cristaux blancs |
| PbS (Sulfure de plomb) | 239,25 | -Très peu soluble dans l'eau -Soluble dans l'acide nitrique dilué | 114 °C | Poudre noire |
| Pb ₃ O ₄ (Tétraoxyde de plomb ou minium) | 685,6 | - Insoluble dans l'eau -Soluble dans l'acide acétique et l'acide chlorhydrique | 830 °C | -Pigment rouge orange brillant |

II.3 Source de plomb

Le niveau de plomb naturellement présent dans l'environnement est très faible (**Katzner *et al.*, 2017**). La majorité du plomb trouvé dans l'environnement provient de l'activité industrielle, minière (**Gangoso *et al.*, 2009**). Il est présent dans la croûte terrestre et dans tous les compartiments de la biosphère. Les apports naturels de plomb dans l'environnement ne représentent qu'environ 4% des émissions totales, comme la dégradation et l'érosion du sol et les feux de forêt, contribuent à la libération de plomb. Les émissions du Pb sont généralement anthropiques. Ils proviennent des industries, des rejets des véhicules et la sidérurgie représentant environ 80% des émissions de Pb dans l'environnement (**Matias et Salvarredy, 2008 ; Patra *et al.*, 2007**) Figure 4.

Les principales sources de plomb sont :

- la circulation automobile par combustion des additifs au plomb dans les moteurs à essence (plomb tétra-éthyle).
- l'exploitation et le traitement des minerais de plomb,
- l'eau de distribution, peut être contaminée au contact de vieilles tuyauteries en plomb,
- l'alimentation ; le plomb provient des procédés de stockage et de fabrication (Conserverie) et des boissons. Certains récipients, vernissés au plomb ou en alliage, peuvent relarguer du plomb au contact des aliments.
- les peintures riches en plomb.

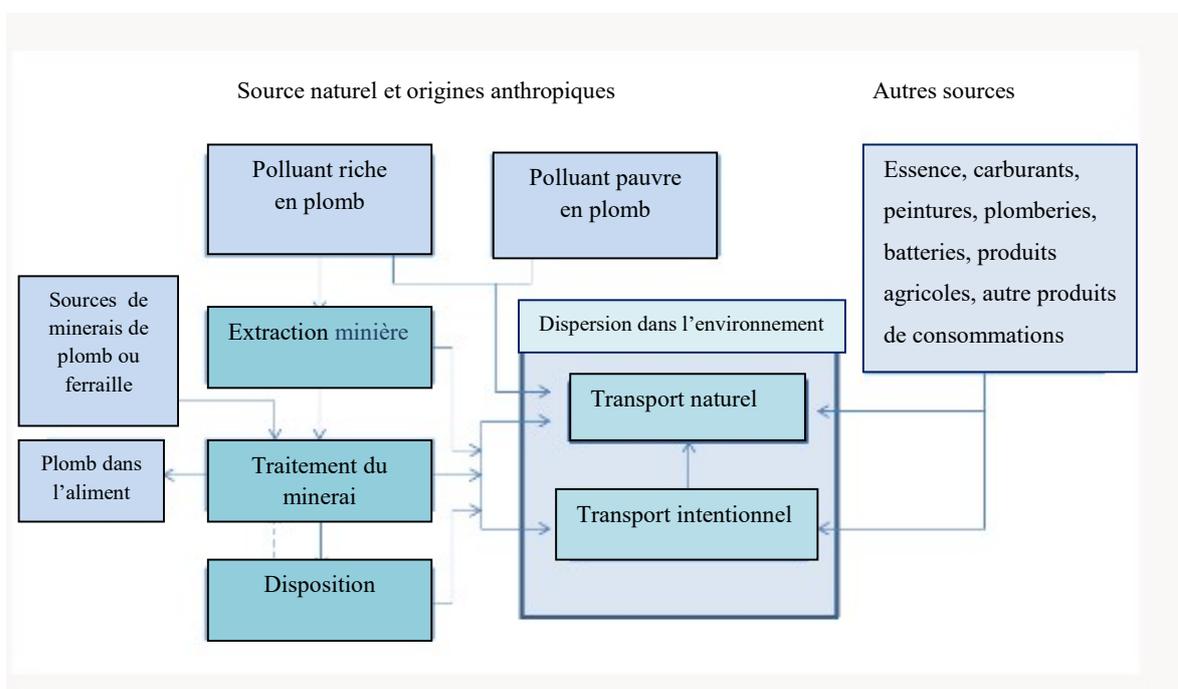


Figure 4 : Source de plomb (Gutierrez *et al.*, 2016).

Dans les sols, la présence de plomb est naturelle ou résulte des retombées atmosphériques. Le taux d'absorption est en fonction des propriétés du sol. Ainsi, le plomb présente une grande affinité pour les substances humiques. Le pH, en particulier, joue un rôle important dans la disponibilité de plomb, Plus le pH est faible, plus le degré de désorption dans la solution du sol est fort (**Gutierrez et al., 2016**). Une contamination complémentaire se produit à la suite de l'épandage de boues d'épuration plombifères sur les terres agricoles.

II.4 Toxicocinétique du plomb

II.4.1 Absorption

Le plomb est absorbé par les poumons et le tractus gastro-intestinal. L'absorption cutanée est généralement faible. L'absorption digestive est beaucoup plus importante chez les sujets jeunes. Chez l'homme, le plomb est mieux absorbé par les poumons que par le tractus gastro-intestinal contrairement aux bovins, la principale voie d'entrée est la voie orale (**Delphine, 2001**). L'absorption pulmonaire dépend notamment de la taille des particules chargées en plomb ; seule une faible partie des particules de diamètre moyen supérieur à 0,5 µm est retenue dans les poumons qui correspondent à environ 80% des particules de plomb de l'air ambiant. Chez l'animal, comme chez l'homme, environ la moitié est absorbée au niveau du tractus respiratoire inférieur (**Morrow et al., 1980**). Le plomb ingéré est absorbé dans la région duodénale de l'intestin grêle (**Amdur et al., 1996**). L'absorption diminue avec l'âge est 30-40 % chez l'enfant à 5-15% chez l'homme adulte, probablement à cause d'un processus de maturation selon lequel l'intestin perd sa capacité d'ingestion des particules par pinocytose (**Bismuth et al., 2002**). L'absorption est accrue en présence de régime riche en graisse ou lors de certaines carences, notamment en fer et en calcium (la gestation et la lactation). Elle est diminuée par un apport en zinc ou en calcium par compétition au niveau intestinal (**Bettaiya et al., 1996**). De nombreux facteurs favorisent l'absorption du plomb : la vitamine D, un régime riche en graisses, les carences en fer, les régimes pauvres en calcium, phosphore, zinc, vitamine B1, magnésium et fibres végétales (**DeMichele, 1984 ; Ito et al., 1987**). En effet, le calcium et le plomb entrent en compétition au niveau de récepteurs communs de la paroi digestive. Plusieurs études ont montré que le calcium peut réduire de manière significative la proportion de plomb absorbée et quelques vitamines peuvent avoir le même rôle comme la thiamine (vitamine B₁) (**Dupont, 2002 ; Perrin, 2007**). Le passage transcutané des dérivés inorganiques du plomb est très faible (< 0,5%) si la peau est intacte (**Fussler-Bagur, 2011**).

II.4.2 Distribution

Après absorption, le plomb passe dans le sang où il se répartit entre une forme fixée aux hématies (au moins 95 %) non diffusible et une forme plasmatique fixée sur l'albumine qui sera stockable dans les tissus ou éliminée dans les urines (Alessio *et al.*, 1978 ; Baloh, 1997 ; Ong et Lee, 1980a). Les études menées chez l'homme et l'animal révèlent principalement une répartition en trois compartiments (Klaassen, 2008) (voir Tableau 8) :

- Masse sanguine ;
- Système nerveux central et périphérique, foie, reins, muscles ;
- Squelette (environ 90% du plomb total).

Tableau 8 : Répartition du plomb dans les différents compartiments (Klaassen, 2008).

| | Sang | Tissus mous (SNC, SNP, foie, reins et muscles) | Squelette |
|--|---|--|--|
| Demi-vie (Klaassen 2008) | Environ un mois | Environ 40-60 jours | Environ 20-30 ans chez l'Homme |
| Demi-vie (Johnson et al., 2013) | Quelques semaines | Quelques mois | Plusieurs années |
| Concentration (Klaassen 2008) | Modulée en fonction des variations individuelles d'origine nutritionnelle (interférence avec Zn et Cu). | Au niveau du SNC, le plomb est retrouvé dans la substance grise et certains noyaux (hippocampe > cervelet > cortex cérébral > moelle). Dans le cortex des reins. | Augmentation avec le temps par transfert à partir des deux autres compartiments. |

II.4.2.1 Transport sanguin

Après absorption pulmonaire ou digestive, la quasi- totalité du plomb est fixée aux globules rouges, 90 à 95 % d'après **O'Flaherty *et al.*, (1996)** cités par **INSERM (1999)**. Le plomb passe dans le sang (à l'état d'équilibre, 1% à 2% de la charge corporelle totale) où il se répartit dans les hématies, sous une forme non diffusible ; selon (**Humphreys, 1991**), On peut noter des différences interspécifiques dans les proportions de plomb transportées par les globules rouges : 85à 90 % chez le mouton et 63 à 70 % chez les bovins (**Garnier, 2005**). La plupart est liée aux albumines sériques, et moins de 1% est présent sous forme de plomb libre. Seule cette fraction est disponible et peut avoir une action sur l'organisme et pouvoir pénétrer dans les tissus sans phénomènes de transports actifs (**Humphreys, 1991**). Dans les hématies (membrane et hémoglobine) le plomb membranaire, qui représente environ 14% du plomb sanguin, est lié à 88% au niveau des protéines et moins de 10% au niveau des phospholipides (**Humphreys, 1991, Bisson et Houeix.,2014**). La concentration totale de plomb dans le sang reflète le plomb contenu dans ce compartiment et considérée comme un indicateur fiable d'une récente exposition, elle constitue d'ailleurs le test le plus communément utilisé pour évaluer l'intoxication par le plomb chez l'homme et les animaux.

II.4.2.2 Répartition du Plomb dans l'organisme

Le plomb est distribué dans 2 types de compartiments :

- **Les tissus mous** : rein, foie, cerveau, moelle osseuse. Il a une demi-vie de 40 jours dans ces tissus. Ces 4 organes cibles représentent 10% du stockage du plomb.
- **Les tissus durs** : les os et les dents stockent 90% du plomb. Le stockage est quasi-permanent : la demi-vie est de 7 à 10 ans.

La figure5 suivante montre la répartition du Plomb dans l'organisme.

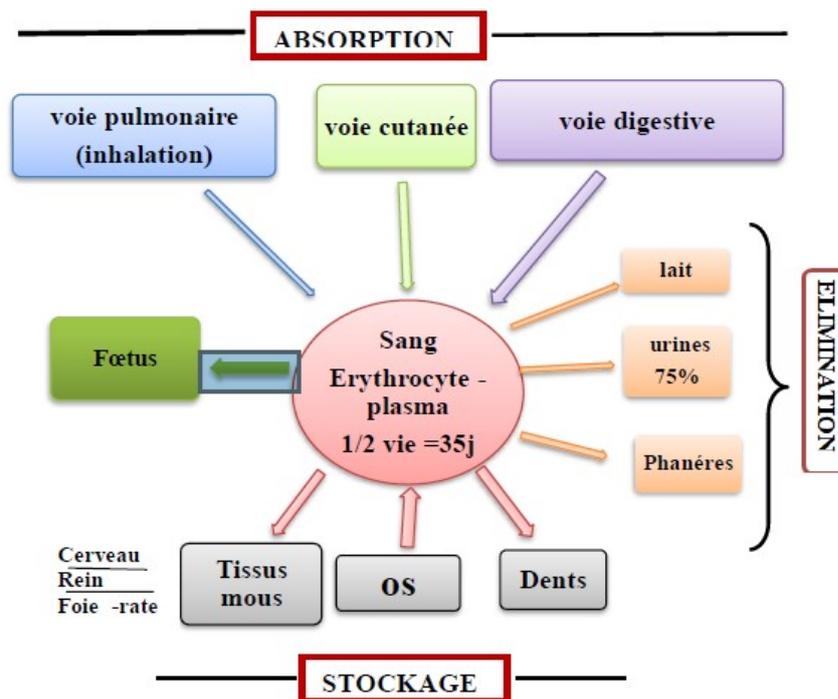


Figure 5 : La répartition du Plomb dans l'organisme (Caub et, 1999).

II.4.2.2.1 Plomb dans les tissus mous et les organes

La répartition du plomb varie avec le mode d'absorption. L'absorption digestive est trois fois plus importante que l'absorption pulmonaire (Barthelemy *et al.*, 1975). L'accumulation de plomb se fait principalement dans les reins puis dans le foie. Les tissus mous contiennent 5 à 10% de la dose total et il est responsable de la majorité des effets toxiques (Bismuth *et al.*, 2002). Dans le foie, la distribution du plomb semble assez homogène, excepté en ce qui concerne les voies biliaires où la concentration de plomb est plus importante, alors que dans les reins, on trouve la plus part du plomb dans la corticale, surtout dans les tubules proximaux (Picot, 2010). La concentration du plomb dans les muscles est habituellement assez basse, mais elle est corrélée avec la quantité de plomb dans les reins (Bismuth *et al.*, 2002). Le passage hémoméningé est faible : la concentration dans le liquide céphalo-rachidien est égale à la moitié du taux sérique (Perrin, 2007).

II.4.2.2.2 Plomb dans les tissus durs

Au niveau osseux, les ions Pb^{2+} remplacent rapidement les ions Ca^{2+} altérant par la même occasion la régulation hormonale du calcium et la fonction d'ostéoblaste (**Gangoso et al., 2009**). La minéralisation osseuse présente une corrélation avec la concentration en plomb dans les os et l'accumulation de plomb dans les os affecte donc le degré de minéralisation osseuse. En effet, le plomb altère le taux de renouvellement des cellules osseuses en affectant l'activité des ostéoblastes et des ostéoclastes ce qui est à l'origine de développement de pathologie osseuse. Cette réduction de minéralisation osseuse pourrait être responsable d'une augmentation de la fragilité osseuse (**Bismuth et al., 2002**).

Les dents constituent un autre site de stockage du plomb, principalement au niveau de la dentine, dans les zones adjacentes à la pulpe. Les dents de lait ont ainsi été pendant longtemps utilisées comme marqueurs rétrospectifs d'exposition cumulée dans les enquêtes épidémiologiques ou comme des équivalents de biopsies osseuses (**Glorennec et Chanel, 2015**).

II.4.3 Elimination

D'après **Sugita (1978)**, le plomb serait éliminé de l'organisme selon trois phases :

- Rapide, correspondrait à l'élimination du plomb non-fixé;
- lente, représenterait la fraction du plomb faiblement liée;
- très lente, ne pourrait intervenir que plusieurs années car elle correspond au plomb fortement fixé notamment au niveau osseux (**Glorennec et Chanel, 2015**).

Etant donné que la principale voie de contamination est orale, la plupart du plomb est éliminée dans les fèces. La partie absorbée est d'abord excrétée par l'urine (plus de 75%), le reste est éliminé par la bile (16%), (**Dupont, 2002 ; Perrin, 2007**). Les sécrétions bronchiques et gastro-intestinales, à travers la salive, la sueur et les phanères représentent près de 8% (**Bisson et Houeix, 2014**).

Chez la brebis, l'élimination du plomb est lente, en effet, le temps de demi-vie d'élimination est de 213 - 252 jours (**Mehennaoui, 1995**), entre 95 et 760 jours chez les bovins (**Mehennaoui et al., 1988**) et chez l'homme, 10 à 18 ans selon **Nilson et al., (1991)** et **Rabinowitz, (1991)**. D'après **Mehennaoui, (1995)**, cette différence peut s'expliquer par le fait que les bovins et les ovins ont une capacité supérieure à l'homme pour mobiliser les

éléments minéraux à partir de l'os, au sein duquel a lieu une ostéolyse, libérant conjointement plomb et calcium dans le sang, en particulier en période de lactation.

II.5 Toxicité du plomb

Le plomb modifie la biologie de la cellule en perturbant de nombreuses voies métaboliques et différents processus physiologiques (**Picot, 2010 ; Ribera et Taberly, 2011**). Il peut ainsi altérer certains mécanismes neurobiologiques jouant un rôle essentiel dans le développement cérébral (**Roquet-Noël, 2002**). Le plomb interfère surtout avec le métabolisme de deux autres éléments : le soufre et le calcium ; son action thiolo-prive (affinité Pb pour groupements thiols(SH)), cible surtout les protéines structurales et les protéines enzymatiques. Son action compétitive Pb/Ca entraîne un désordre au niveau nerveux et l'induction d'effets rénaux et d'une action cardiovasculaire et digestive (**Viau et Tardif, 2003;Fussler-Bagur, 2011**).

II.5.1 Toxicité hématologique

L'anémie est une manifestation classique de l'intoxication subchronique et chronique au plomb (**Gensheng et Bruce, 2008**). Elle provient de la diminution de la durée de vie des érythrocytes et de l'inhibition de la synthèse de l'hémoglobine causée par les effets du plomb sur la biosynthèse de l'hème suite à une altération de l'activité de certaines enzymes. Principalement la déshydratase de l'acide delta-aminolévulinique (ALAD) qui catalyse la transformation de l'acide delta-aminolévulinique (ALAD) en porphobilinogène. La ferrochélatase(ou hème-synthétase) qui contrôle la dernière étape de la synthèse de l'hème au cours de laquelle quatre molécules de protoporphyrine sont associées à un atome de fer (**Sassa et al., 1975**). La coproporphyrinogène- décarboxylase est également inhibée, mais à un moindre degré (**ATSDR.,1999**).Ce qui provoque l'augmentation de la production et de l'excrétion des différents précurseurs de l'hème. La sévérité de l'anémie est en relation directe avec la plombémie (**Tchounwou et al., 2012 ; Peyret,2013**).La figure N°6 montre l'inhibition de la synthèse de l'hème par le plomb.

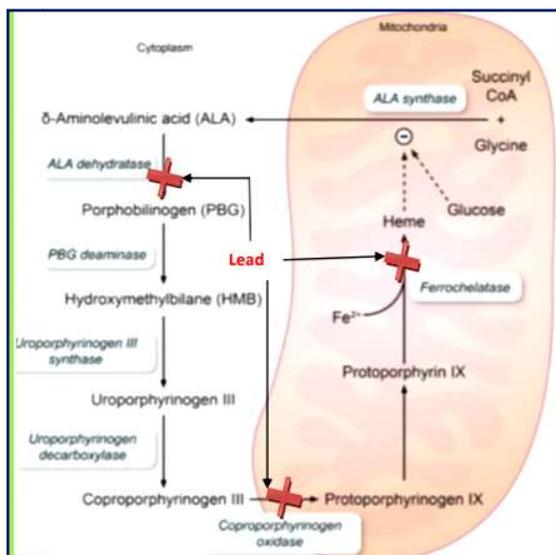


Figure 6 : Inhibition de la synthèse de l'hème par le plomb (Peyret, 2013).

L'inhibition de la synthèse de l'hème est le principal mécanisme de l'anémie saturnine, qui résulte aussi d'une hyperhémolyse (due à une déplétion érythrocytaire en glutathion et à une toxicité membranaire directe), d'une inhibition de la synthèse de la globine, du transport du fer et de la production d'érythropoïétine.

II.5.2 Toxicité nerveuse

Le plomb passe facilement la barrière hémato-méningée. Une intoxication au plomb provoque des effets à la fois sur le système nerveux central et sur le système nerveux périphérique. Au niveau du système nerveux central, le plomb inhibe également certaines enzymes (ALA déshydratase, hexokinase, déshydrogénase succinique) entraînant des perturbations du métabolisme glucidique (très important pour la cellule nerveuse) et de la respiration cellulaire. (Ribera et Taberly, 2011 ; Portier, 2012). Les principales cibles de la toxicité du plomb sur le système nerveux périphériques sont les motoneurones, qui subissent une démyélinisation segmentaire et une dégénérescence axonale ralentissant la conduction électrique (Perrin, 2007). La neuropathie périphérique se caractérise par une baisse de la conduction nerveuse. Des lésions du nerf auditif ont été montrées chez le cobaye et une cécité nocturne chez le singe (Goyer, 1993). Le plomb interfère aussi avec le calcium dans les cellules, ce qui est considéré comme la raison principale des modifications des mouvements d'ions au niveau des membranes aussi bien que de la libération de neurotransmetteurs. De légers changements dans l'homéostasie du calcium peuvent affecter différents systèmes (Glorennec *et al.*, 2000 ; Roquet-Noël, 2002).

II.5.3 Toxicité rénale

Les reins ont un rôle important dans l'excrétion du plomb, la néphropathie chronique conduisant à la défaillance rénale est une manifestation classique de la toxicité au plomb. Deux types de néphropathie sont induits par l'exposition au plomb : Une néphropathie subaiguë, qui survient précocement après le début de l'exposition au plomb. Elle est caractérisée par une atteinte des cellules tubulaires proximales qui sont hyperplasiques avec une atteinte mitochondriale, des inclusions intranucléaires et une diminution de la filtration glomérulaire (**Gagan *et al.*, 2012 ; Peyret, 2013**). Une néphropathie tardive, qui s'observe après 10 à 30 ans d'exposition au plomb. L'atteinte est, cette fois, tubulo-interstitielle et glomérulaire. Un certain nombre d'études animales ont montré que l'administration chronique de composés de plomb, par voie orale ou cutanée, induit une néphropathie interstitielle chronique évoluant vers l'atrophie et la fibrose (**Goyer, 1993; Peyret, 2013**).

II.5.4 Toxicité hépatique

L'ictère est l'un des symptômes observés chez le mouton lors de l'intoxication chronique par le plomb. Les modifications des enzymes hépatiques sont aussi notées, mais de manière plus inconstante, il semble que les transaminases (AST, ALT) et les phosphatases alcalines augmentent lors d'intoxication chronique (**Karmakar *et al.*, 2000 ; Abdou et Newair, 2006**).

II.5.5 Immunotoxicité

Diverses manifestations d'immunotoxicité liées au plomb sont observées. Le plomb peut induire une immunodépression par suppression de l'immunité humorale. Le plomb agit sur les cellules myéloïdes par augmentation des précurseurs dans la moelle osseuse, avec une diminution consécutive des cellules matures (**Goyer, 1993**). Il possède des propriétés immunodépressives, qui proviennent en partie à ses effets cytotoxiques (**Kouassi et Fournier, 2003**).

II.5.6 Effets sur la reproduction

Le plomb a un effet négatif sur le succès reproducteur (**Gil-Sánchez *et al.*, 2018**). De nombreuses études épidémiologiques montrent que le plomb perturbe la spermatogenèse. Lorsque la plombémie dépasse 400-450 µg/l, apparaissent une oligospermie, une asthénospermie et une tératospermie ; des modifications des concentrations sanguines des

hormones sexuelles ont été observées (**Gangoso et al., 2009**). Différentes études ont montré que le plomb traverse la barrière placentaire et contamine le fœtus dès le premier trimestre (**Bellinger et al., 1987 ; Goyer., 1996**). La distribution du métal chez le fœtus est similaire à celle rencontrée chez l'adulte, le plomb s'accumule dans la plupart des organes fœtaux, incluant le foie, les reins, le cerveau, l'intestin et surtout les os (**Pinault et Milhaud, 1998 ; Bismuth et al., 2002**) et peut aussi passer de la mère à l'enfant par l'intermédiaire du lait maternel ; sachant que la mobilisation du plomb osseux durant la lactation semble être supérieure encore à celle observée durant la gestation (**Roquet-Noël, 2002**). Des effets tératogènes ont également été montrés chez certaines espèces. Chez le rat mâle, le plomb induit une stérilité et des anomalies fonctionnelles et morphologiques du sperme, une dégénérescence testiculaire et une hyperplasie prostatique ; chez la souris, des anomalies du sperme sont également observées (**Bonde et al., 2002**).

II.5.7 Compétition avec le calcium

Au niveau de la membrane cellulaire, le plomb entre en compétition avec le calcium au niveau des systèmes de transports membranaires comme les canaux calciques voltage dépendants, (**INSERM, 1999**) et les Ca^{2+} -ATPases membranaires (**Bettaiya et al., 1996 cités par INSERM, 1999**) qui sont des éléments importants dans le maintien de l'homéostasie calcique. Au niveau intra cytoplasmique, le calcium ionisé joue un rôle majeur de messagerie intracellulaire en se liant sur divers récepteurs et effecteurs. Le plomb interfère avec ces processus dépendants du calcium en prenant sa place sur des sites spécifiques au niveau de protéine liant spécifiquement le calcium (**INSERM, 1999**). Le groupe d'experts réunis par le Centre international de recherche sur le cancer (CIRC) a conclu que le plomb et ses dérivés inorganiques étaient potentiellement cancérogènes pour l'homme (groupe 2B) (**INSERM, 1999**).

II.6 Signes clinique d'intoxication par le plomb

La contamination éventuelle de l'homme aura lieu principalement par ingestion d'eau ou d'aliments contaminés (fruits, céréales, viandes d'animaux ayant été préalablement contaminés). Les effets pathologiques d'une intoxication au Pb sont nombreux et peuvent être séparés en deux catégories : effets physiologiques et neurologiques (**Plumlee et Ziegler, 2003**). Les effets physiologiques produisent une augmentation de la tension artérielle et l'apparition de dommages vasculaires et intestinaux, ainsi que des troubles au niveau des reins (néphropathie) des cas de stérilité ont été aussi détectés quand l'exposition

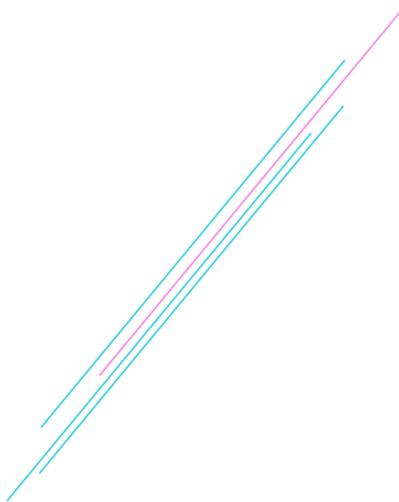
a été prolongée au Pb (**Goyer et Clarkson, 2001**). Finalement chez la femme enceinte, le Pb peut entraîner de très sérieux problèmes pour le fœtus (**Goyer, 1996**). Les troubles neurologiques sont des affections des systèmes central et périphérique, les symptômes les plus fréquents sont les pertes de mémoire et des perturbations des fonctions cognitives et comportementales, (**Cotran et al., 1990**). Les enfants sont plus affectés par ces effets du Pb que les adultes (**Plumlee et Ziegler, 2003**).

II.7 Valeurs de référence

La contamination des écosystèmes par le plomb peut être à l'origine d'une exposition humaine. Il est donc important d'établir des seuils de qualité, notamment pour l'eau, l'air mais aussi dans les denrées alimentaires (Tableau 9).

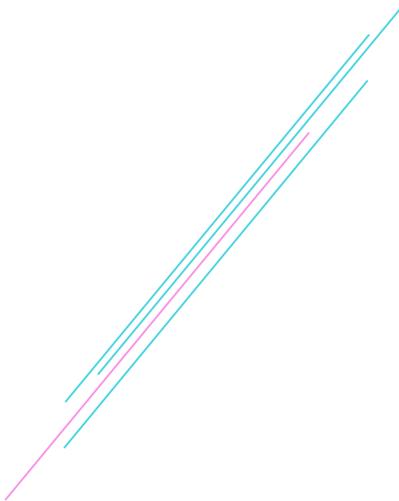
Tableau 9 : Valeurs réglementaires en vigueur dans les denrées alimentaires pour le plomb (**INERIS,2006**).

| Produit | Teneur maximale(mg.kg-1 de poids frais) | Texte source |
|--|---|-----------------------|
| - Lait de vache (lait cru, destiné à la consommation ou à la fabrication de produits à base de lait) | 0,02 | |
| - Préparations pour nourrissons | 0,02 | Règlement CE/466/2001 |
| - Viande bovine, de mouton, de porc, de volaille | 0,1 | |
| - Abats comestibles de bovins, de moutons, de porcs, de volaille | 0,5 | |
| - Chair de poissons | 0,2 | Règlement CE/78/2005 |
| -Crustacés | 0,5 | |
| - Céréales, légumineuses, légumes à cosse | 0,2 | Règlement CE/466/2001 |



Chapitre III

Le Cadmium



III Cadmium

III.1 Définition

L'étymologie du mot cadmium vient du grec *kadmia*, ville de Grèce où l'on extrayait un minerai que l'on appelait cadmie (Ditria, 2002). Le cadmium a été découvert par le chimiste allemand Friedrich Stromeyer en 1817 puis il a été abondamment utilisé dans plusieurs industries (Juste, 1995 ; Ditria, 2002). On le retrouve sous différentes formes et sa spéciation influe fortement sur sa solubilité et sa bio-dispersion. On le retrouve sous forme insoluble dans les sols mais il est considéré comme assez mobile (grâce aux eaux de ruissellement). Il y est souvent présent sous forme de complexes organiques ou inorganiques insolubles. Le cadmium et ses composés ne sont pas ou très peu volatils, mais ils peuvent être détectés dans l'air sous forme particulaire (Praveen Chakravarthi *et al.*, 2012). La bioaccumulation du cadmium se fait principalement au sein des espèces végétales dans les plantes (légumes, fruits et grains), les crustacés et les viandes. Il a été observé que les légumes ayant des grandes feuilles comme la laitue ou les épinards ont généralement les concentrations les plus élevées en cadmium (Oymak *et al.*, 2009). Le cadmium n'est pas essentiel au développement des organismes animaux ou des végétaux, ses propriétés physiques et chimiques, proches de celles du calcium, lui permettent de traverser les barrières biologiques et de s'accumuler dans les tissus.

Dans les cas d'ingestion, la solubilité variable de l'élément permet une faible absorption (5% de la quantité ingérée). Il est ensuite transporté par voie sanguine et s'accumule principalement dans le foie et les reins (entre 50 % et 70 % de la charge totale). Il est présent également dans les os, le pancréas, la glande thyroïde, les testicules et les glandes salivaires. Il est finalement éliminé dans les fèces et un peu dans les urines après sa longue demi-vie biologique. En cas d'ingestion de fortes doses, des symptômes tels qu'une gastro-entérite avec crampes épigastriques, des vomissements, des diarrhées et des myalgies sont observés. Sa demi-vie biologique dans le corps humain est de 10 à 30 ans. Les cas d'inhalation, entraînent une adsorption de l'élément par les organes respiratoires (65 % de la quantité inhalée). Des pneumonies chimiques ont déjà été observées allant même jusqu'au décès de la victime dans le cas d'intoxication aiguë (Praveen Chakravarthi *et al.*, 2012). Les conséquences de telles intoxications sont une irritation pulmonaire sévère, accompagnée de dyspnée, cyanose et toux.

III.2 Propriétés physico-chimiques

Le cadmium (Cd) est un élément chimique de numéro atomique 48, un métal blanc argent, légèrement bleuté, mou, très malléable et très ductile ayant des propriétés physiques proches de celle du zinc. Ses principaux composés : chlorure de cadmium (CdCl_2), oxyde de cadmium (CdO), sulfate de cadmium (CdSO_4) et sulfure de cadmium (CdS). Malgré une tension de vapeur faible, il se sublime dans l'air où il se transforme rapidement en oxyde. Lors de l'ébullition du cadmium, il se dégage des vapeurs jaunes toxiques. Il est insoluble dans l'eau et les solvants organiques usuels. Il se dissout lentement dans les acides chlorhydrique et sulfurique dilués et rapidement dans l'acide nitrique dilué à chaud (Picard *et al.*, 2005). Les propriétés physicochimiques de ces composés sont présentées au tableau 10.

Tableau 10 : Propriétés physicochimiques des composés de cadmium (données de l'ATSDR, 2012).

| Nom substance | Formule chimique | Masse atomique g.mol ⁻¹ | Température de Fusion | Température d'ébullition |
|---------------------|-------------------|------------------------------------|-----------------------|----------------------------------|
| Cadmium métal | Cd | 112,41 | 321 °C | 765 - 767 °C |
| Oxyde de cadmium | CdO | 128,41 | Infusible | Décomposition à partir de 900 °C |
| Chlorure de cadmium | CdCl ₂ | 183,32 | 568 °C | 960 - 969,6 |
| Sulfate de cadmium | CdSO ₄ | 208,46 | 1000 °C | - |
| Sulfure de cadmium | CdS | 144,47 | 1480 - 1750 ° | 980 °C dans N ₂ |

III.3 Principales sources d'expositions

Le cadmium est présent à l'état naturel dans l'écorce terrestre aux concentrations moyennes comprises entre 0,1 et 1 mg.kg⁻¹ (Das *et al.*, 1997). Les teneurs naturelles de cet élément varient peu dans la plupart des roches de 0,05 à 0,3 mg.kg⁻¹ (Bourrelier et Berthelin, 1998). Il est également obtenu comme sous-produit de raffinage du plomb et du cuivre (Picard *et al.*, 2005). Il se trouve associé généralement avec le Zn dans les minerais des carbonates et des sulfures. Il peut se constituer suite à une altération et une érosion des roches (Das *et al.*, 1997). L'utilisation du cadmium a considérablement augmenté dans les temps modernes, en particulier dans les batteries au nickel-cadmium, les engrais, le revêtement et les stabilisateurs en plastique (Santos-Gallego et Jialal, 2016) (Figure 7).

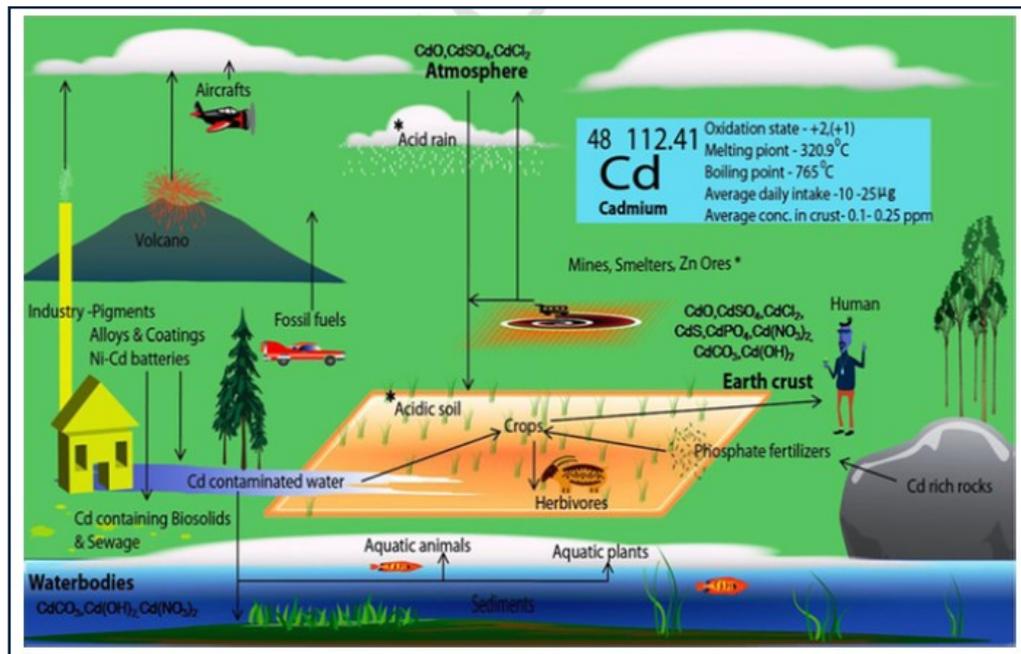


Figure 7 : Sources anthropiques et naturelles de cadmium (Cd) ainsi que cycle biogéochimique montrant le transport du Cd dans l'atmosphère (Sebastian *et al.*, 2014).

III.4 Présence du cadmium dans l'environnement

Le cadmium se trouve pratiquement dans tous les compartiments de notre environnement (air, eau, sol).

III.4.1 Cadmium dans l'air

Le cadmium provient des usines élaborant ou traitant les métaux, des unités d'incinération des déchets et des émissions volcaniques. Le taux de cadmium dans l'air change considérablement et peut être estimé à $0,5 \text{ g/m}^2$ dans les régions rurales à air pur. Dans les régions polluées (industrielles), les valeurs sont 10 fois supérieures (Juste, 1995 ; Bliefert et Perraud, 2004).

III.4.2 Cadmium dans le sol

La teneur naturelle en cadmium dans le sol dépend d'abord de la teneur présente dans la roche qui est à l'origine du sol, mais également des processus qui interviennent lors de la formation du sol (Bliefert et Perraud, 2004). Les roches sédimentaires qui se sont formées à partir de sédiments riches en carbone, soufre et phosphate contiennent plus de cadmium que les roches éruptives ou métamorphiques (Juste, 1995).

Ces teneurs naturelles sont sujettes à des augmentations suite à différents types d'apport anthropogènes :

- les retombées atmosphériques lointaines : contamination générale diffuse ;
- les retombées atmosphériques locales : contamination locale ;
- les contaminations agricoles : les épandages et amendements agricoles (le Cd peut être assez abondant dans les engrais phosphatés).
- les sources industrielles : le Cd est un sous-produit du raffinage du zinc. Il peut être libéré dans l'atmosphère lors de la métallurgie du fer et de l'acier, lors de l'affinage du plomb ;
- de nombreuses activités urbaines et le trafic routier libèrent le Cd dans l'environnement : incinération des déchets domestiques, combustion des carburants fossiles (pétrole, charbons, tourbes) ; boues des stations d'épuration ; etc.

La présence du cadmium dans le sol et son accumulation croissante conduit à sa migration vers les produits agricoles consommés par l'homme et les animaux (**Bliefert et Perraud, 2004**).

III.4.3 Cadmium dans l'eau

Le cadmium dans l'eau provient de l'air, des pluies, des effluents de galvanoplastie ou éventuellement, de sa dissolution à partir de certaines canalisations galvanisées ou en matières plastiques (**Rodier et al., 2009 ; Juste, 1995**). Mais la grande partie provient des industries situées à proximité des cours d'eau où elles rejettent leurs effluents (**Robert, 1999 ; Miquel, 2001 ; Bliefert et Perraud, 2004**).

III.5 Comportement du cadmium dans le sol : spéciation et mobilité

Le Cd est fortement adsorbé par les argiles, les matières organiques, les boues et les acides humiques avec lesquels il forme des complexes. Sa rétention par la phase solide croît exponentiellement avec le pH croissant (**Halen, 1993 ; Alloway, 1995**). La mobilité du Cd dépendrait largement du pH et du Eh. Dès que le pH du sol baisse, la mobilité, le transfert et l'accumulation du Cd qui en résultent sont favorisés, de même qu'ils le sont lorsque le sol est léger, riche en sable, pauvre en argile et matière organique. Lorsque le pH augmente la mobilité du Cd peut s'accroître au travers de la formation de complexes ou chélates mobiles. Sous ces conditions particulières, on démontre que l'absorption du Cd devient indépendante du pH (**Marković et al., 2019**). Le Cd est rapidement libéré des roches par

altération, il donne en solution Cd^{++} mais aussi des ions complexes comme CdCl^+ ; CdOH^+ ; CdHCO^{3+} ; CdCl^{3-} ; $\text{Cd}(\text{OH})^{3-}$; $\text{Cd}(\text{OH})^-$ de même que les chélates organiques (Coullery, 1997). En conditions de forte oxydation, le Cd forme des oxydes ou des carbonates (CdO , CdCO_3) (Kabata-Pendias et Pendias, 2001). Le Cd est plus mobile dans le sol que le Cu et le Pb, donc plus disponible pour les plantes ($\text{Cd} > \text{Cu} > \text{Pb}$). En règle générale, les plus hautes concentrations se trouvent dans les racines et les plus basses dans les organes de réserve (graines, fruits, tubercules) avec des séquences suivantes : $[\text{Cd}] \text{ racines} > [\text{Cd}] \text{ tige} > [\text{Cd}] \text{ feuilles} > [\text{Cd}] \text{ graine}$. Les racines contiennent 10 fois plus de Cd que les tiges.

III.6 Cadmium dans la chaîne alimentaire

Le cadmium est le métal le plus accumulatif dans les chaînes alimentaires (Wuana et Okieimen, 2011). Dans le biotope terrestre il existe une corrélation positive entre la teneur du sol en Cd et celle des végétaux, influencée par la nature du sol, son pH, l'espèce végétale ou la partie de la plante (Rizwan *et al.*, 2017). Selon le Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France (CSHPF, 1996) cité par Milhaud *et al.*, (1998), les principales contaminations alimentaires du cadmium sont par ordre décroissante, les légumes et les fruits (environ 30 %), les fromages et les produits laitiers (18,5 %), les produits à base de céréales (16 %) ; les boissons (11,6 %), les abats (5,5 %), la charcuterie (2,7 %) et les poissons (2,6 %). Chez les animaux de rente, la teneur des abats en Cd reflète parfaitement le Cd que l'animal trouve dans son alimentation et son environnement (BurgatSacaze *et al.*, 1996).

III.7 Toxicocinétique du Cadmium (Cd)

III.7.1 Absorption

Les deux principales voies d'absorption de cadmium sont l'inhalation et l'ingestion et l'exposition par voie percutanée est considérée comme négligeable (< 1%) (Picot, 2010 ; Faiz, 2011).

III.7.1.1 Inhalation

L'inhalation du cadmium est associée dans la plupart du temps à des expositions professionnelles (ouvrier des fonderies et industries de l'électro-placage, mineurs...). Cependant, les populations humaines et animales vivant à proximité des sources industrielles de cadmium peuvent subir une exposition pulmonaire (Craste, 1995). Le cadmium et ses sels sont peu volatils et essentiellement présents dans l'air sous forme d'aérosols riches en particules fines de matière (Bonet, 2011).

L'absorption varie en fonction de la taille des particules inhalées, seules les particules qui ont un diamètre aérodynamique inférieur ou égal à $5\mu\text{m}$ peuvent pénétrer dans le compartiment pulmonaire (OMS, 1983). Comme pour tous les aérosols, les particules de cadmium se déposent plus ou moins dans le tractus respiratoire. Les particules d'un diamètre d'environ $0,1\mu\text{m}$, atteignent les alvéoles pulmonaires (10 à 40%) et la majeure partie restante, au niveau de la muqueuse trachéo-bronchiale ciliée est repoussée par action mucociliaire peut ensuite entraîner une absorption intestinale (Faiz, 2011 ; Bisson et Houeix, 2014).

L'absorption dépend aussi de la solubilité et de diverses propriétés physicochimiques (chlorures et oxydes sont absorbés à environ 90-100% et les sulfures à 10%). Dans l'appareil respiratoire, les particules de Cd sont capturées par les cellules phagocytaires (macrophages) et oxydées à l'état de cation divalent (Cd^{++}) qui peut ainsi passer dans le sang (Picot, 2010).

III.7.1.2 Absorption gastro-intestinale

Elle a lieu principalement dans le duodénum, le taux d'absorption du cadmium ingéré varie de 3 à 7 % chez l'homme tandis qu'il est de l'ordre de 0,5 à 3% chez les animaux (**Faroon et Ashizawa , 2012**).Ce taux peut être augmenté lors de carence alimentaires en calcium, en fer, en zinc, en cuivre, en vitamine D ou en protéines. Les niveaux de ces éléments varient selon l'âge et l'état physiologique. Une augmentation de l'absorption du Cd est favorisée aussi dans le cas de régimes alimentaires riches en graisses (**Perrin, 2007 ; Faiz, 2011**).L'absorption dépend souvent de la spéciation, sous forme élémentaire, le Cd n'est pas toxique, mais il le devient une fois qu'il se trouve sous sa forme cationique Cd^{++} qui est électrophile. Il peut être absorbé sous cette forme au niveau intestinal et pulmonaire. Ainsi, il entre en compétition avec d'autres métaux divalents essentiels (Ca^{++} , Zn^{++} , Fe^{++}) (**Bonet,2011**).

III.7.2 Distribution

Après avoir été absorbé au niveau des épithéliums pulmonaires et intestinaux, le Cd se retrouve dans la circulation sanguine, il est transporté dans le sang fixé à l'hémoglobine ou aux métallothionéines (MT), protéines de faible poids moléculaire riches en groupements SH dont la synthèse est stimulée en présence de Cd (**Nordberg et al., 2007 ; Faiz,2011**).Ainsi plus de 70 % du cadmium présent dans la circulation sanguine se trouve dans les globules rouges (**OMS, 1983**). Le cadmium plasmatique est constitué de deux fractions : l'une liée aux albumines et constitué du cadmium récemment absorbé, l'autre lié à la métallothionéine et constitué du cadmium lentement relargué par le foie (et pour une moindre part, par les autres organes) (**Craste, 1995**)(Figure 8).

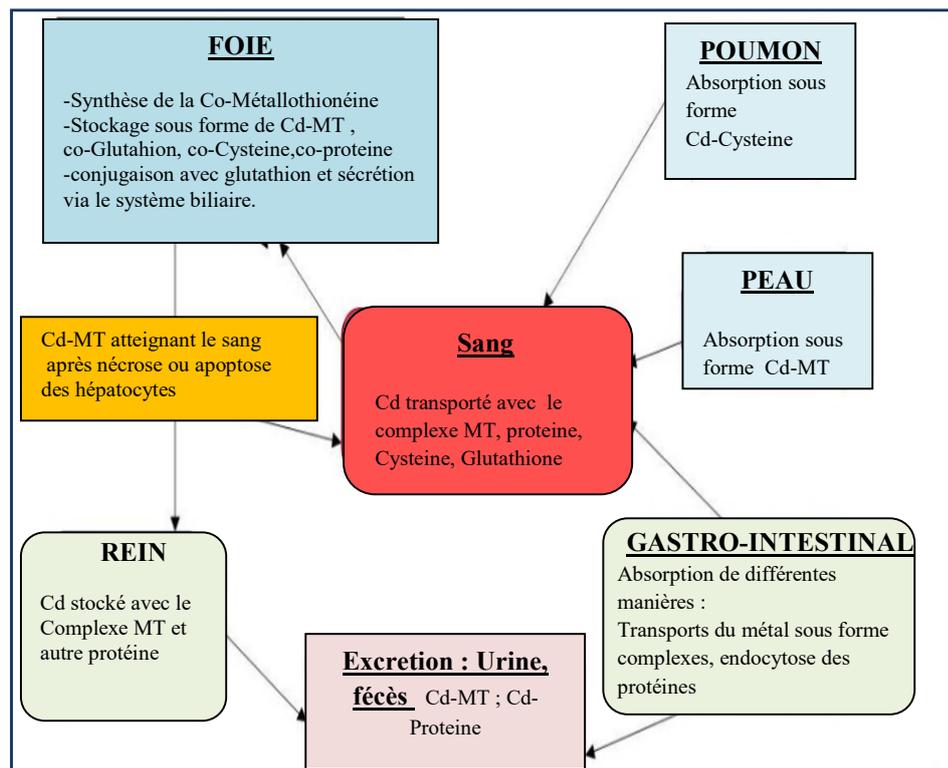


Figure 8 : La répartition du cadmium dans l'organisme (Craete, 1995).

III.7.2.1 Cadmium dans les tissus

Le cadmium se concentre principalement dans le foie et les reins, environ 50 % de la charge corporelle est retrouvée dans le cortex des reins, 15 % dans le foie et 20 % dans les muscles (Nordberg *et al.*, 2007; Faroon *et Ashizawa*, 2012). Il est également retrouvé dans le pancréas, la glande thyroïde, les testicules et les glandes salivaires (Pichard *et al.*, 2005). L'accumulation du Cd dans l'organisme humain et animal augmente en fonction de l'âge (Picot, 2010 ; Faroon *et Ashizawa* , 2012).

III.7.2.1.1 Distribution du cadmium dans les reins

Le transport du Cd au rein dépend de la formation du complexe MT-Cd. Le transport de MT-Cd sanguin aux cellules tubulaires rénales est rapide et permet son incorporation dans les reins (Bonet, 2011). Le Cd se retrouve essentiellement dans le cortex du rein environ 50% de la charge corporelle (Nordberg *et al.*, 2007; Faiz, 2011). A l'intérieur des cellules tubulaires, le complexe MT-Cd est dégradé par les lysosomes ce qui libère le Cd sous sa forme cationique qui s'y accumule et cause des lésions provoquant un dysfonctionnement rénal (Faroon *et al.*, 2012 ; Santos-Gallego *et Jialal* 2016) (Figure 9).

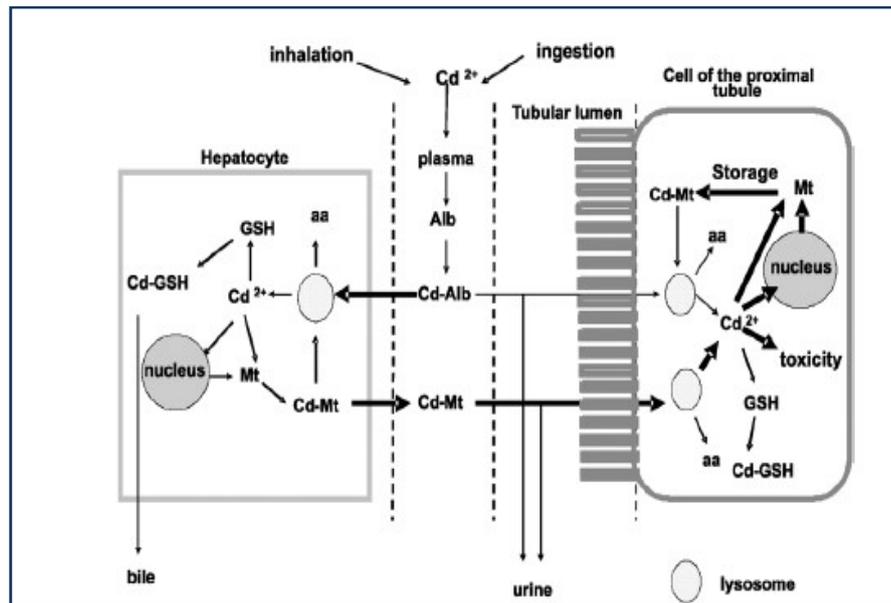


Figure 9 : Mécanisme d'accumulation du cadmium dans les cellules tubulaires
(Bernard, 2008).

(Alb, albumine ; Mt, métallothionéine ; GSH, glutathion ; aa, acide aminé).

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

III.7.2.1.2 Distribution du cadmium dans le foie

Le foie reçoit par l'intermédiaire de la veine porte un grand nombre de molécules issues de la digestion et de ce fait, joue un rôle important dans l'accumulation du Cd. Ce dernier lié à l'albumine est incorporé dans le foie, puis décomplexé pouvant ainsi avoir un effet toxique sur les hépatocytes et entraîner une augmentation progressive de la proportion de complexe MT-Cd. Ainsi les complexes MT-Cd formés dans le foie vont être distribués dans le sang et pouvoir atteindre les glomérules des reins et y être filtrés (Bonet, 2011 ; Faroon et Ashizawa, 2012) (Figure 10).

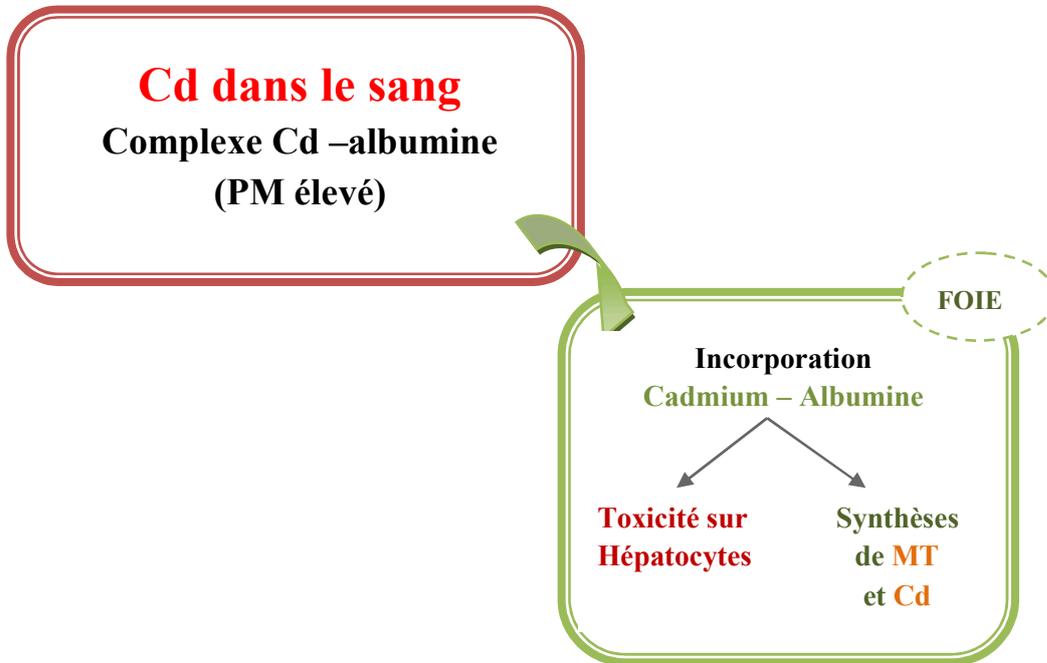


Figure 10 : Transport et la distribution du cadmium dans le foie après son absorption (Falcu et Largot, 2013).

III.7.3 Elimination

Le cadmium par sa forte rétention dans l'organisme, il est très faiblement éliminé résultant une longue demi-vie biologique de l'ordre de 20 à 30 ans dans le rein, de 5 à 9 ans dans le foie et de plusieurs mois dans le sang. Le cadmium n'est pas métabolisé, il est excrété principalement par l'urine et les fèces (0,01 – 0,02 % de la charge corporelle totale). Il existe également une faible excrétion par la salive, la sueur et les phanères. L'excrétion urinaire est proportionnelle à la charge corporelle en Cd au niveau rénal et hépatique (Perrin, 2007). Le cadmium urinaire est principalement lié à la métallothionéine et au glutathion car ces complexes peuvent facilement être filtrés par le glomérule. Le cadmium excrété par les voies biliaires et le pancréas est majoritairement réabsorbé au niveau du tube digestif et éliminé dans les fèces (Faiz, 2011).

III.8 Toxicité du cadmium

Chez les animaux, l'administration de fortes doses de cadmium (essentiellement par voie parentérale) peut provoquer des effets toxiques au niveau de nombreux organes : les reins, le foie, les testicules, les ovaires, le système nerveux, le pancréas, l'appareil cardiovasculaire et le placenta (Andujar *et al.*, 2010). On observe aussi, des sarcomes aux points d'injection et des effets tératogènes (OMS, 1983). Chez l'homme, les principaux effets toxiques lors d'une exposition prolongée au cadmium sont une dysfonction rénale et une atteinte pulmonaire (Figure 11).

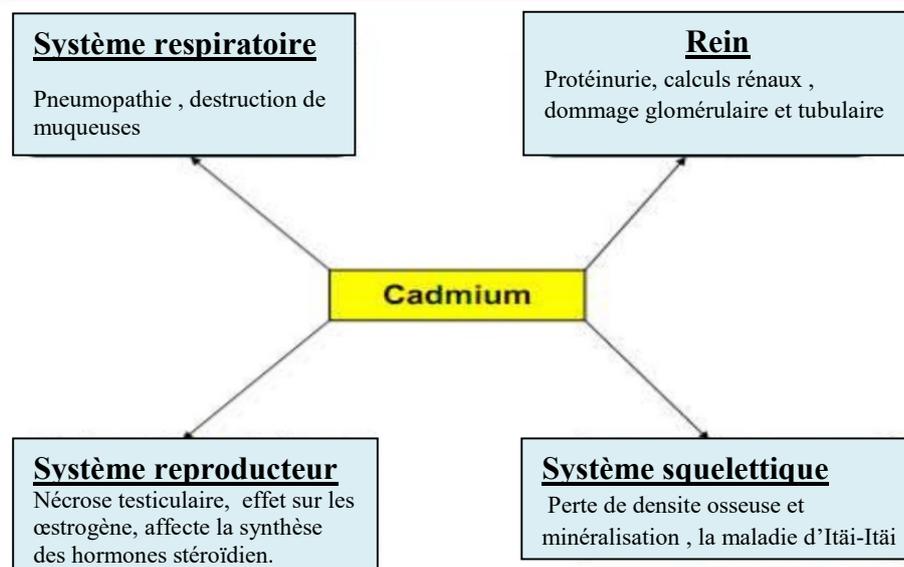


Figure 11 :L'effet du cadmium sur l'organisme (Falcy et Largot, 2013).

III.8.1 Toxicité rénale

L'exposition chronique au cadmium entraîne l'apparition d'une néphropathie irréversible pouvant évoluer vers l'insuffisance rénale, particulièrement des lésions tubulaire induisant une protéinurie, une glycosurie, amino-acidurie et une polyurie suite à une capacité affaiblie de réabsorption. Les études d'histologie montrent des lésions focales de nécrose de l'épithélium des tubules proximaux et une inflammation des tubules rénaux (Bonet, 2011 ; Faiz, 2011).

III.8.2 Toxicité hépatique

Le Cd lié à l'albumine dans le sang est décomplexé dans le foie et devient hépatotoxique,

une nécrose des lobules hépatique centraux, des lésions dégénératives et une fibrose et hyperplasie biliaire (Falcy *et al.*, 2013).

III.8.3 Toxicité osseuse

Le Cd perturbe le métabolisme du calcium. Une excrétion excessive de ce dernier induit de l'ostéomalacie, de l'ostéoporose, avec des douleurs osseuses intenses. Ces troubles constituent une partie des signes de la maladie « Itäi-Itäi » observées au Japon chez les populations exposées au Cd (lors de la consommation de riz contaminé (Falcy *et al.*, 2013). Les atteinte squelettiques consécutives au cadmium résultent de plusieurs mécanismes : compétition calcium/cadmium et interférence du cadmium dans le métabolisme de la vitamine D (Perrin, 2007).

III.8.4 Immunotoxicité

Le cadmium possède des propriétés immunotoxiques qui proviennent en partie de leurs effets cytotoxiques, par induction d'apoptose ou de nécrose dans les cellules immunitaires, entraînant une diminution de la résistance aux infections (Kouassi et Fournier, 2003).

III.8.5 Effets cancérogènes

Le cadmium est un agent chimique classé dans le groupe 1, c'est-à-dire comme cancérogène certain pour l'homme. Plusieurs expertises ont conclu aussi à son pouvoir cancérogène certain chez l'animal. Il s'agit des cancers broncho-pulmonaires ; deux autres sites ont été évoqués dans la littérature : le cancer du rein et le cancer du pancréas (Picot, 2010 ; Bonet, 2011) (Figure 12).

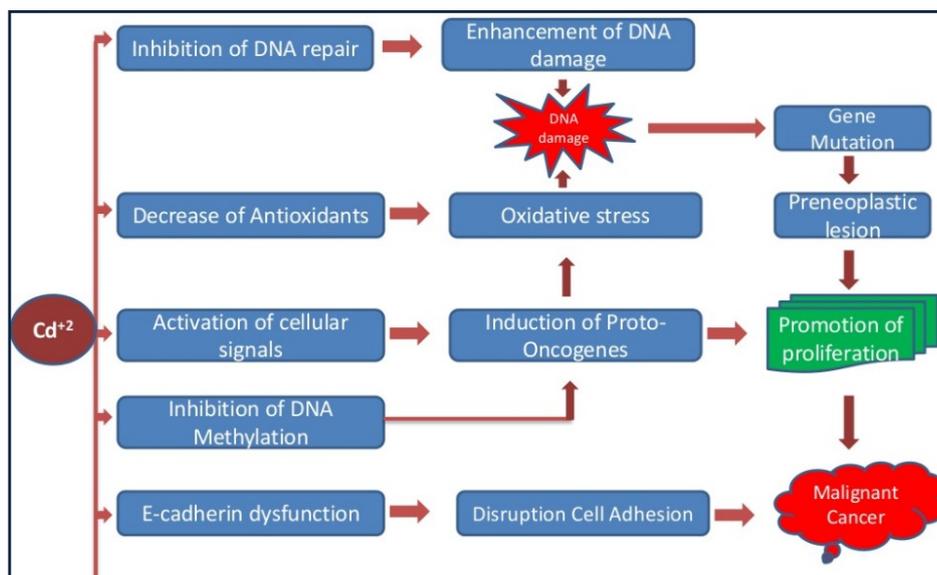


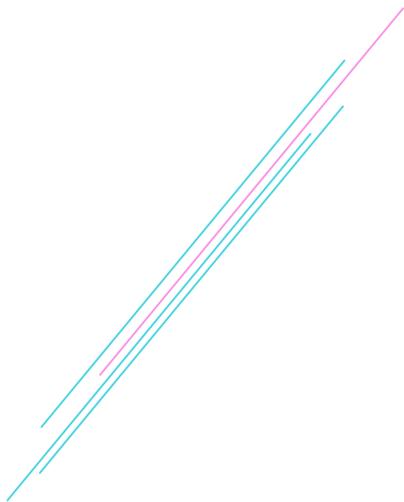
Figure 12 : Effets cancérogènes cadmium (Bonet, 2011).

III.9 Valeurs de référence

L'OMS préconise une valeur, établie par le Jecfa, qui estime que l'apport total de cadmium ne devrait pas excéder 1µg/kg de poids corporel/jour. La Dose hebdomadaire tolérable provisoire (DHTP), qui correspond à l'apport alimentaire à ne pas dépasser, est estimée à 7µg/kg de poids corporel/semaine (OMS, 2004 cité par Pichard *et al.*, 2005), ce qui correspond à une Dose journalière admissible (DJA) de 60 µg/jour pour un adulte de 60kg et 25µg/jour pour un enfant de 7 à 8ans (25kg). Quelques teneurs maximales pour le cadmium dans les denrées alimentaires sont représentées dans le tableau 11 ci-dessous :

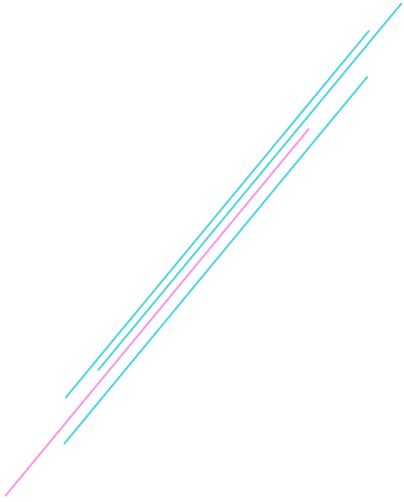
Tableau 11 : Teneurs maximales pour le cadmium dans les denrées alimentaires (CE n° 446/2001).

| Denrées alimentaires | Teneurs maximales |
|--|-----------------------------|
| Viande bovine, viande de mouton | 0,05 mg/kg (à l'état frais) |
| Viande de cheval | 0,2 mg/kg (à l'état frais) |
| Foie de bovin, de mouton | 0,5 mg/kg (à l'état frais) |
| Rognon de bovin, de mouton | 1 mg/kg (à l'état frais) |



Chapitre IV

Contamination des ruminants par les métaux lourds



IV Contamination des ruminants par les métaux lourds

IV.1 Contamination des ruminants par les métaux lourds

La consommation d'aliments sains est un enjeu d'actualité qui suscite des préoccupations majeures de la population. Différentes crises sanitaires et préoccupantes ont été dévoilées au cours de ces 30 dernières années. Certaines d'entre elles sont dues à l'utilisation de produits phytosanitaires : comme par exemple en 2017 ; les scandales des œufs contaminés au fipronil. En 2018, l'affaire de la Chlordécone (CLD) : un pesticide utilisé pour lutter contre le charançon du bananier en Guadeloupe (**Coat *et al.*,2011**). Ce pesticide, classé Polluant Organique Persistant (POP), en raison de sa faible dégradation, de sa persistance dans l'environnement, de sa bioaccumulation dans la chaîne alimentaire et de sa toxicité pour les êtres vivants est aujourd'hui encore présent sur 15 % de la Surface Agricole (**Boucher *et al.*,2013; Multigner *et al.*, 2010**). Par conséquent, les animaux pâturant sur des sols contaminés sont susceptibles d'être exposés et de produire des Denrées Alimentaires d'Origine Animale (DAOA) à risque pour l'Homme.

Les contaminants environnementaux gagnent de plus en plus d'attention dans le secteur de l'élevage ces derniers temps en raison de leurs effets néfastes sur la productivité et la fertilité du bétail. Différentes voies d'expositions des animaux aux métaux lourds, peuvent être envisagées : exposition par voie orale, par voie cutanée, par inhalation ou encore un transfert via le lait maternel mais la voie orale est la voie principale d'exposition des animaux d'élevage. Les ruminants peuvent être exposés, à l'étable comme au pâturage, à des produits chimiques très divers, naturels ou artificiels, lors de consommation d'eau contaminée, de productions végétales contaminées (fourrage, céréales), ou lors d'ingestion de terre contaminée (lorsque les animaux sont au pâturage) (**Raikwar *et al.*,2008 ;Bates et Payne , 2017**). On estime que la consommation de terre correspond en moyenne à 6 % de la ration des bovins et peut aller jusqu'à 14 %) (**Petit, 2007**). Les intoxications sont généralement accidentelles ou fortuites, à la suite de :

- Une négligence, lorsque les produits toxiques sont laissés accessibles aux animaux sans précautions (pesticides, urée, batteries...);
- L'ignorance du danger (plantes toxiques, aliments trop riches en cuivre...);
- Une exposition inévitable, lors de pollution de l'environnement.

IV.2 Signes clinique d'intoxication par les métaux lourds

Dans le cas d'une exposition forte et à court terme des animaux à un ETM, les manifestations d'intoxication finissent par apparaître. Mais dans le cas d'exposition à des faibles doses et donc d'intoxication chronique, les signes d'intoxication sont variés (effets sur la reproduction ou sur la cancérogenèse) (Petit, 2007). Les effets toxiques seront observés au-delà d'une charge corporelle et/ou d'une concentration dans les organes cibles (ex : rein pour le cadmium) (Annexe I). Chez les animaux l'intoxication varie selon l'élément, pour le plomb et le cadmium, l'accumulation a lieu préférentiellement dans le foie et le rein alors que la concentration dans les muscles est le plus souvent inférieure à 0,1 mg/kg (Petit, 2007). La dose orale de plomb extrêmement létale est d'environ 600 à 800 mg de plomb / kg chez les bovins et ovins adultes, 200 à 600 mg de plomb / kg chez les veaux et est probablement similaire chez les agneaux. Il existe un risque élevé d'intoxication chronique chez les bovins adultes après une exposition prolongée à plus de 6 mg de plomb / kg par jour. Jeunes veaux et les agneaux peuvent être empoisonnés par des doses répétées beaucoup plus faibles même aussi bas que 1 mg de plomb/kg par jour (Baker, 1987)(figure13).

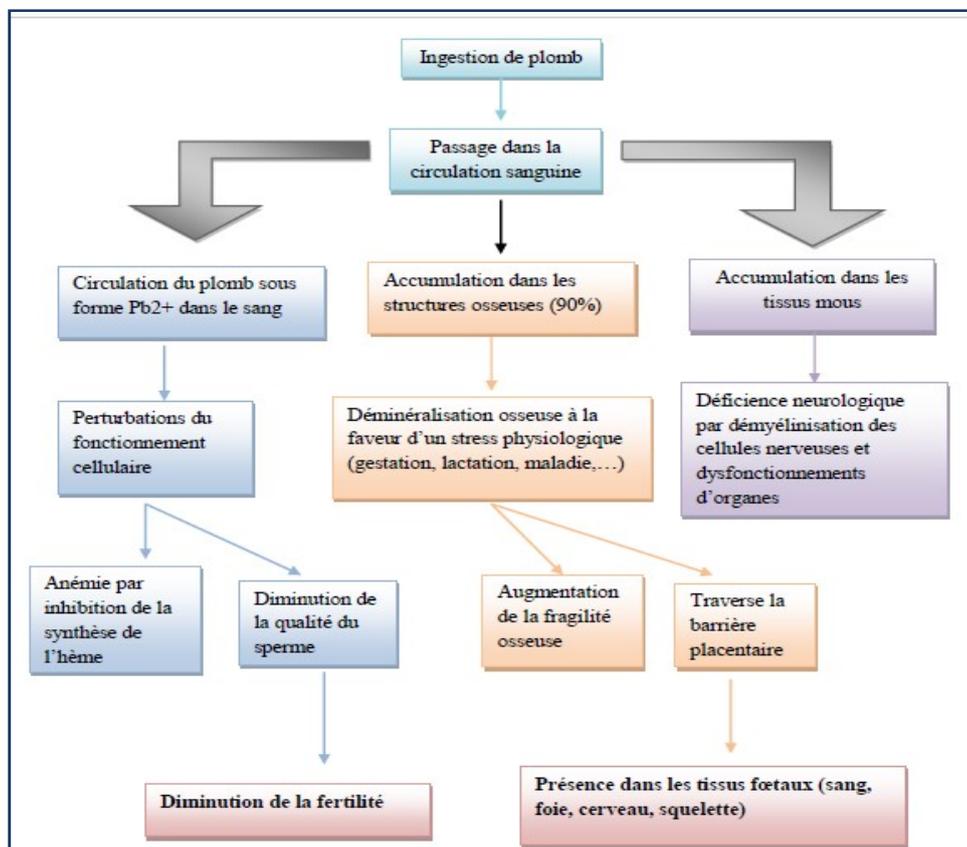


Figure 13 : Effet du plomb sur l'organisme chez les ruminants (Garnier, 2005).

IV.2.1 Intoxication aiguë

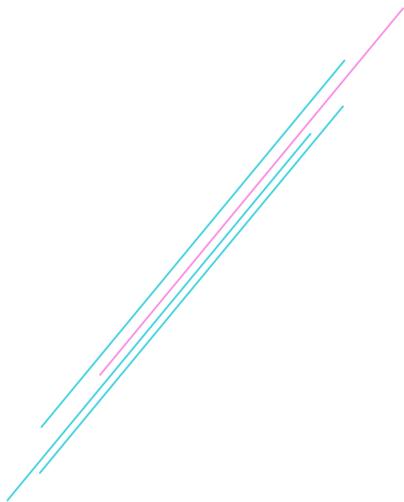
L'intoxication aiguë par le plomb et cadmium est toujours accidentelle (ingestion de corps étrangers) ;pour le plomb, elle se traduit par des troubles gastro-intestinaux (dans 60% des cas), contractions musculaires, stase ruminale, constipation,ataxie, une nécrose du foie et des reins et mort de l'animal(**Garnier ,2005**). La plus fréquente dominée par des troubles nerveux (90% des cas) par 'hyperexcitabilité, des convulsions, et la cécité. Concernant le cadmium, très toxique pour les animaux. les signes cliniques sont Inflammation du parenchyme hépatique ,nécrose testiculaire et avortement (**Payne et al.,2013**).

IV.2.2 .Toxicité chronique

Pour le plomb, les atteintes digestives ne sont pas observées (**Underwood et Suttle, 1999**).Les principaux signes cliniques sont l'anémie provenant de la diminution de la synthèse d'hémoglobine, les troubles nerveux et le dysfonctionnement rénal. Chez la vache comme chez la brebis gestante apparait plus sensible aux effets chroniques du plomb et des malformations squelettiques peuvent apparaitre sur des agneaux exposés et le taux d'avortement peut augmenter considérablement et arrêt de la sécrétion lactée. Concernant le cadmium, les signes les plus dominants sont la néphropathie pouvant évoluer vers une insuffisance rénale, ostéoporose et effets cancérogènes sur les poumons, les testicules et troubles de la reproduction (Tableau 12).

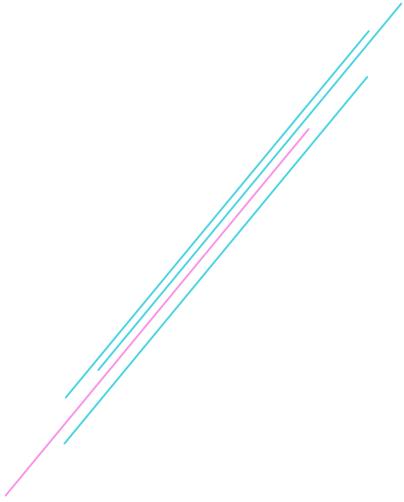
Tableau 12 : Doses toxiques et les effets du plomb et cadmium chez les bovins et ovins (Radostits *et al.*, 2007).

| | Espèces | Dose toxique | Effets |
|---------|---------|---|--|
| PLOMB | Bovin | 400-600mg /kg pc | Intoxication aiguë chez les jeunes veaux |
| | | 600-800mg /kg pc | Intoxication aiguë chez les bovins adultes |
| | | 6-7mg/kg pc | Intoxication chronique |
| | | dose unique de 10-100g d'acétate de plomb | Mort de l'adulte après l'ingestion |
| | | Dose unique 200-400mg de plomb/kg pc | Mort de veaux après l'ingestion |
| | Ovin | 4,5 mg/kg pc | Intoxication chronique |
| CADMIUM | Bovin | Régime alimentaire contenant 5 à 30 mg/kg | Diminution des performances |
| | | Régime alimentaire contenant des concentrations ≥ 30 mg / kg | Trouble de santé |
| | Ovin | Régime contenant 40 mg / kg | Parakératose, diminution de l'appétit et gain de poids |
| | | Régime contenant 5-60 mg / kg de MS | Augmentation de la concentration du Zn dans le foie et les reins |



Chapitre V

L'analyse des éléments
traces métalliques par
spectrophotométrie



V Analyse des éléments traces métalliques par spectrophotométrie d'absorption atomique

V.1 Introduction

La spectrométrie d'absorption atomique (SAA) est une technique décrite pour la première fois par Walsh en 1955. Elle étudie les absorptions de lumière par l'atome libre. C'est une des principales techniques mettant en jeu la spectrométrie atomique dans le domaine UV-visible utilisée en analyse chimique. Elle permet de doser plus de soixante-dix éléments chimiques (métaux et non-métaux) du tableau de Mendeleïev et elle atteint couramment des concentrations inférieures au mg/L (ppm) (**Bendada et Boulakradeche, 2011**).

La SAA permet l'analyse de presque tous les métaux et métalloïdes (Cu, Zn, Pb, Cr, Fe, Cd etc...) dans les échantillons biologiques, métallurgiques, archéologiques, pharmaceutiques et atmosphériques. On peut citer :

- Dosage du Ca dans les préparations à base de Ca.
- Recherche d'impuretés.
- Analyse des boissons.
- Dosage des oligoéléments et des résidus toxiques dans les aliments.
- Analyse des eaux potables.
- Analyse des tissus végétaux et animaux, des liquides biologiques.
- Dosage du Ca, Sr, Zn dans les os.

V.2 Principe

L'absorption atomique est un processus qui se produit lorsqu'un atome appartenant à l'état fondamental passe à l'état excité par l'absorption d'une énergie, sous la forme d'un rayonnement électromagnétique, qui correspond à une longueur d'onde spécifique.

Aspect théorique de l'absorption atomique : La loi de Beer-Lambert établit une relation directe entre l'absorbance d'un échantillon et sa concentration (**Pere ,1999 ;Pinta, 1971**). En pratique, l'absorbance A peut être appréhendée par la variation de l'intensité lumineuse à travers la chambre d'atomisation de l'élément à doser.

$$A = \lg (\Phi_0 / \Phi_T)$$

A : absorbance ou densité optique.

Φ_0 = Flux incident (Intensité lumineuse initiale).

Φ_T = Flux transmis (Intensité lumineuse finale).

V.3 Appareillage

Un spectrophotomètre d'absorption atomique comprend généralement une source lumineuse, un atomiseur, un monochromateur, un détecteur et un dispositif d'acquisition. Le faisceau lumineux issu de la source, traverse la chambre d'absorption (flamme ou four) ; dans laquelle l'élément se trouve porté à l'état atomique, avant d'être focalisé sur la fente d'entrée d'un monochromateur qui sélectionne un intervalle très étroit de longueurs d'onde. Le trajet optique se termine sur la fenêtre d'entrée du détecteur (Pradyt, 2004) (Figure14).

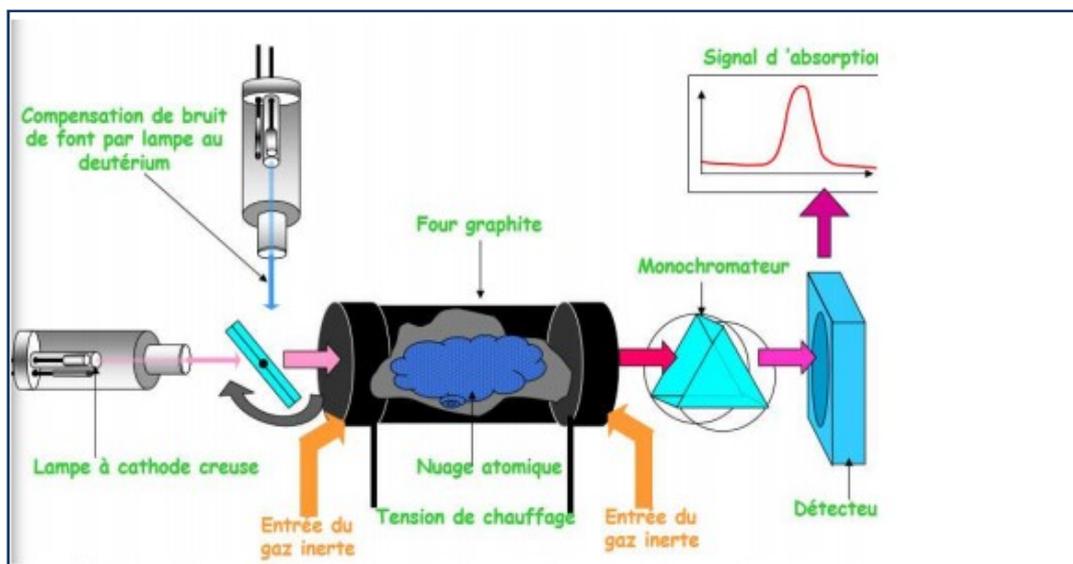


Figure 14 : Montage d'un appareil de SAA avec four à graphite (Pradyt, 2004).

V.3.1 Source

C'est une source lumineuse qui émet le spectre caractéristique de l'élément à analyser. Il est important que la source émette des raies plus étroites que la raie d'absorption. Elles sont généralement constituées de lampe à cathode creuse ou lampe à décharge électronique (Pinta, 1979). La lampe à cathode creuse est constituée par une enveloppe de verre scellée et pourvue d'une fenêtre en verre ou en quartz contenant une cathode creuse cylindrique et une anode. La cathode est constituée de l'élément que l'on veut doser. Un vide poussé est réalisé à l'intérieur de l'ampoule qui est ensuite remplie d'un gaz rare (argon ou néon). Le spectre d'émission comporte des raies intenses qui dépendent de l'élément constituant la cathode. 40 espèces métalliques sont couramment utilisées. La sélectivité élevée de la SAA est due au fait qu'on utilise pour chaque élément une lampe particulière.

V.3.2 Nébuliseur

L'échantillon à analyser est en solution. La solution d'analyse est alors aspirée dans le capillaire par un flux de gaz à haute pression qui s'écoule autour de l'extrémité du tube (effet Bernoulli) et à la sortie, elle est pulvérisée en un aérosol constitué de fines gouttelettes. Cet aérosol pénètre alors dans la chambre de nébulisation dont le rôle est de faire éclater les gouttelettes et d'éliminer les plus grosses. Ce brouillard homogène pénètre alors dans le brûleur **(Skoog, 2003)**.

V.3.3 Flamme–atomisation

L'aérosol pénètre dans le brûleur puis dans la flamme. Au bout d'un certain parcours au seuil de la flamme, le solvant de la gouttelette est éliminé, il reste les sels ou particules solides qui sont alors fondus, vaporisés puis atomisés. La flamme air acétylène est la plus répandue et permet de réaliser le dosage de nombreux éléments. Sa température est de 2500°C environ. A la place d'une flamme, on peut également utiliser un four cylindrique en graphite pour atomiser l'échantillon **(Hoenig, Kersabiec, 1989)**.

V.3.4 Monochromateur

Son rôle consiste à choisir la raie la plus intense et d'éliminer toute lumière, quelle que soit son origine, ayant une longueur d'onde différente de celle à laquelle on travaille (les raies du gaz de remplissage dans la source, d'éventuelles impuretés ou de l'atomiseur) **(Brokaert, 2005)**.

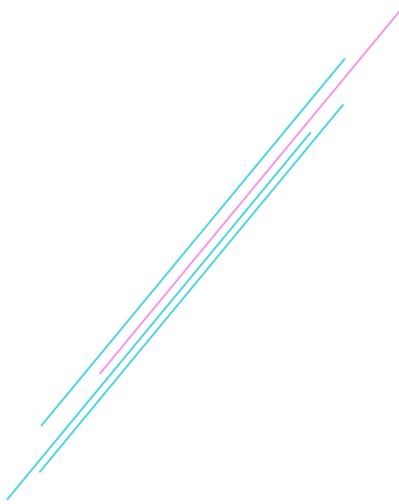
V.3.5 Détecteur et dispositif de mesure

Il mesure les intensités lumineuses nécessaires au calcul des absorbances. L'absorption spécifique est due à l'élément à doser. Dans les méthodes physiques d'analyse, l'appareil utilisé fournit un résultat qui sera le plus souvent un signal électrique représentatif de la grandeur à mesurer : le détecteur est donc un "transformateur" qui fournit un courant ou une tension à partir d'une caractéristique physico-chimique. En spectrophotométrie d'absorption, la grandeur physique observée est le flux lumineux reçu par un détecteur de photons **(Audigie, 1992)**.

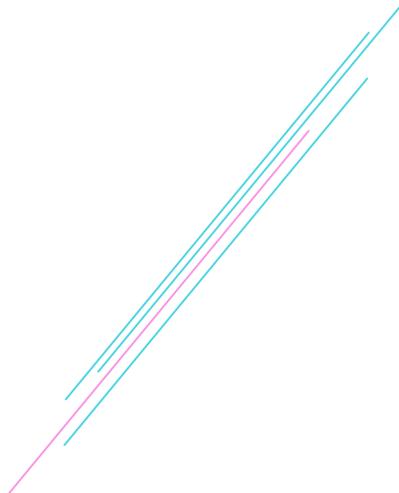
V.3.6 Avantages et inconvénient

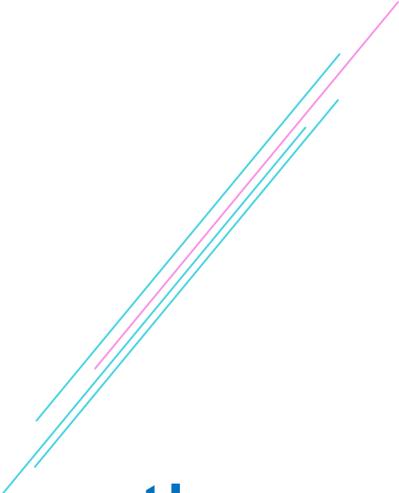
La SAA est une méthode quantitative simple, rapide, sensible, très sélective et relative (il faut donc faire une courbe d'étalonnage). Elle nécessite une faible quantité d'échantillon. Les solutions étalons sont faciles à préparer. Cependant, on peut noter un certain nombre d'inconvénients :

- L'existence parfois d'interférences chimiques sévères.
- L'aspect non qualitatif de la technique impose la connaissance des éléments à doser afin de choisir la source adaptée.
- Ne permet pas l'analyse simultanée d'éléments.
- Nécessité d'avoir des concentrations assez faibles (afin de respecter le domaine de linéarité de la loi de Beer-Lambert).



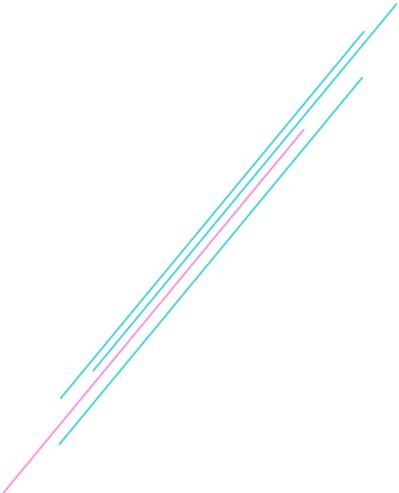
Partie Expérimentale

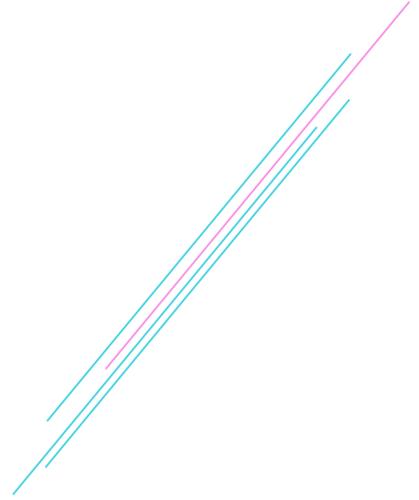




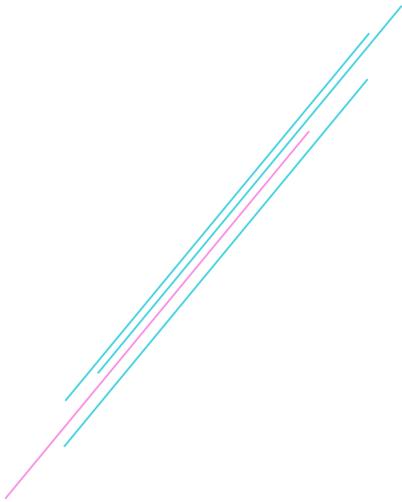
Première partie

Recherche des métaux lourds
(Cd et Pb) dans les foies et les
reins de bovins et ovins aux
abattoirs





Matériels & Méthodes



I Problématique & objectifs

Le foie et les reins sont des sources importantes de micro éléments essentiels (notamment Fe, Cu, Zn et Se) dans l'alimentation humaine, mais ils représentent les organes cibles de bioaccumulation des éléments traces métalliques qui représentent un fort impact toxicologique sur l'homme. Du point de vue scientifique et technique, les métaux lourds sont définis comme des éléments métalliques ayant une densité supérieure à 5 g/cm³ et un numéro atomique supérieur à 11. Toutefois, les ruminants sont des organismes bioaccumulateurs de métaux lourds et leurs manières d'exposition sont diverses, d'où une certaine variabilité de la réponse toxicologique. Ils sont souvent utilisés comme espèces sentinelles de la contamination métallique.

Cette étude a pour objectif d'évaluer le niveau de contamination en éléments traces métalliques cadmium(Cd) et plomb (Pb) dans les foies et reins des bovins et ovins. Largement consommés en Algérie, les abats représentent des produits attractifs pour une grande majorité de la population et font partie de certains plats traditionnels. Le niveau de contamination des animaux producteurs de viande bovine (BV) et ovine (OV) par les métaux lourds est peu étudié et aucune réglementation n'a encore été établie à ce jour. En plus de la détermination des teneurs en Pb et en Cd dans les échantillons de foie et reins prélevés chez les bovins et ovins, cette étude a également comme objectif d'évaluer les risques potentiels de ces abats chez les rats *Wistar* notamment sur certains de leurs organes (foie, reins et testicules) par l'étude des variations de quelques paramètres biochimiques, hématologiques et histologiques.

II Matériel et méthodes

II.1 Pan d'échantillonnage

Le dosage des deux métaux lourds (cadmium, plomb) a été réalisé sur des échantillons de foie et de rein prélevés à partir d'animaux (ovins et bovins) abattus dans deux abattoirs de la wilaya d'Alger (Rouïba et El-Harrach). Les animaux abattus au sein de ces deux établissements proviennent de différents marchés de bétail de la région centre de l'Algérie. Dans ces deux abattoirs, en moyenne cinquante mille ovins et dix mille bovins pour l'abattoir d'El-Harrach et trente mille ovins et huit mille bovins pour l'abattoir de Rouïba sont abattus chaque année.

Des échantillons de foie et de reins ont été prélevés en collaboration avec les vétérinaires et les sacrificateurs des deux abattoirs (Harrach et Rouïba) et grâce à la collaboration de certains propriétaires d'animaux.

Pour chaque organe, deux prélèvements par espèce ont été réalisés au hasard une fois par semaine sur des carcasses ovines et bovines suspendues après les différentes opérations d'habillage et d'éviscération.

Au total, cent quatre-vingt (180) échantillons frais de foie et de rein ont été prélevés dont 110 à l'abattoir d'El Harrach et 70 à l'abattoir de Rouïba. Quatre-vingt sont issus de bovins ($n = 80$), dont quarante (40) foies et quarante (40) reins ; et cent ($n = 100$) prélèvements répartis en cinquante (50) foies et cinquante (50) reins sont issus d'ovins (figure 15). Les échantillons ont été prélevés sur des animaux sains répartis en quatre groupes d'âges, deux groupes par espèce :

- Pour les ovins : les animaux âgé de moins de 24 mois et les animaux âgé de plus de 24mois ;
- Pour les bovins : la première catégorie représente les animaux âgés de moins de 4 ans et la deuxième ceux âgés de plus de 4 ans (figure 15).

Des échantillons de 100g ont été prélevés à partir de chaque organe, à savoir le foie et le rein. Tous les échantillons ont été emballés séparément, dans des sacs en plastique identifiés (N°, âge, espèce) et transportés au laboratoire. La graisse visible, le tissu conjonctif et les principaux vaisseaux sanguins ont été soigneusement enlevés. Les prélèvements ont été stockés à (-18°C) jusqu'au moment de l'analyse.

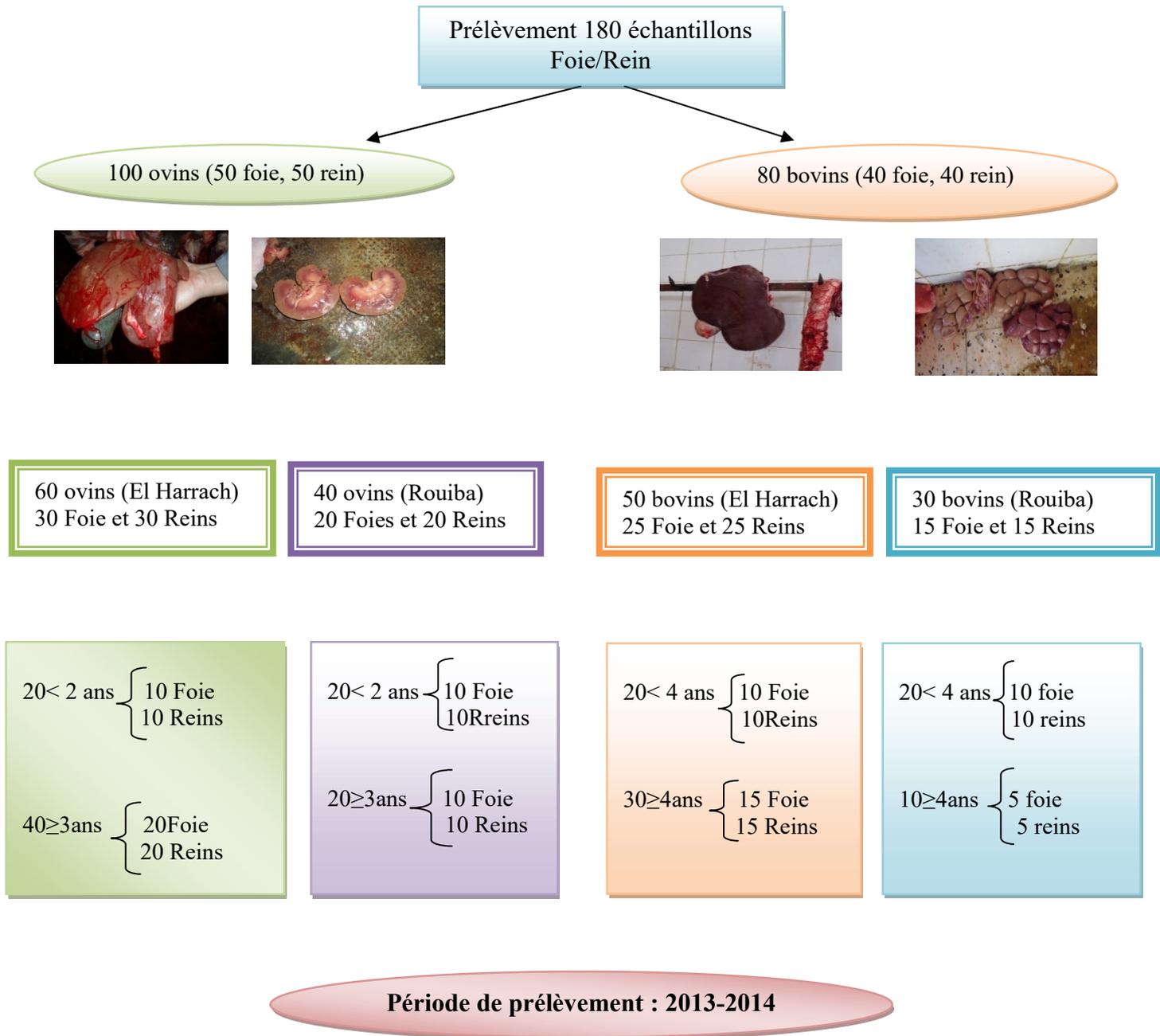


Figure 15 : Plan d'échantillonnage.

II.2 Lieux de traitement des échantillons

Les analyses ont été effectuées au niveau du laboratoire de la section toxicologie du laboratoire central de l'intendance (LCI) ainsi qu'au niveau du laboratoire central de la police scientifique.

II.3 Traitement des échantillons

L'ensemble des échantillons prélevés ont été congelés jusqu'au jour de l'analyse. Afin de procéder à la détermination des taux de métaux lourds dans les foies et les reins récoltés, les échantillons ont été soumis aux étapes développées ci-dessous.

II.3.1 Homogénéisation/élimination de l'humidité

Pour chaque organe, les échantillons ont été décongelés à température ambiante puis homogénéisés à l'aide d'un broyeur jusqu'à obtention d'une matrice bien homogène. Par la suite, une quantité de 10g de chaque organe a été prélevée dans des plats de quartz et placée dans une étuve à 100 °C pendant 16 heures afin d'éliminer l'humidité. A la sortie de l'étuve, les échantillons sont été placés dans un dessiccateur, dans le but de subir un refroidissement dans une atmosphère déshydratée.

II.3.2 Minéralisation par calcination sèche

Les échantillons séchés ont été incinérés dans des creusets en platine, dans un four à moufle (HERAUS) réglé entre 450 et 700°C (par paliers progressifs) pendant 8-12 h jusqu'à apparition de cendre blanche. Les échantillons calcinés ont été refroidis, puis soumis à l'hydrolyse avec 2ml d'acide HNO₃ à 10%. Le contenu des creusets a été filtré dans des fioles jaugées de 50 ml sur du papier filtre spécial pour métaux (Whatman de 90 mm de diamètre) et le volume a été ajusté à 50ml avec de l'eau bi-distillée. Les analyses ont été effectuées sur cette forme d'échantillons « séchés », mais les résultats ont été calculés sur la base de poids frais.

II.3.3 Analyse par SAA

La recherche des métaux lourds, plomb et cadmium dans le filtrat, a été effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre d'absorption atomique (UNICAM 929) illustré par la figure 16. La teneur en métaux lourds dans les tissus analysés est exprimée en mg/kg de masse fraîche.

II.4 Matériel de laboratoire

II.4.1 Equipements

- Spectrophotomètre d'absorption atomique (UNICAM929).
- Four à moufle (température comprise entre 200°C à 1800°C) (HERAUS).
- Etuve de laboratoire ; utilisée pour le séchage des échantillons (ASTEL HEARSON).
- Hotte chimique.
- Broyeur.
- Balance de précision de 0,01g (METTER AE160).
- Dessiccateur.
- Equipement de sécurité (gants en latex et antiacides, masque).
- Verrerie (fiolle jaugée de 50ml, éprouvette de 50ml, pipettes graduées de 2ml, 5ml, 10ml et 20ml, erlenmeyer).

En préparation des analyses, la verrerie doit subir un lavage à l'eau courante ; un rinçage à l'eau distillée ; un trempage dans un bain d'acide nitrique pendant une nuit, puis un rinçage à l'eau bidistillée.

La recherche des métaux lourds, plomb et cadmium, est réalisée par spectrophotométrie d'absorption atomique (figure N° 16).



Figure 16 : Spectrophotomètre d'absorption atomique (UNICAM929).

II.4.2 Réactifs

Par mesure de sécurité, tout les ajouts de reactifs doivent se faire sous une hotte chimique car il peut y avoir formation de vapeurs toxiques. Les réactifs utilisés sont :

- Acide nitrique - HNO_3 à 60 %.
- Acide sulfurique (H_2SO_4) à 95%.
- Solution mère du plomb à 1g/l (Merck®).
- Solution mère du cadmium à 1g/l (Merck®).

II.4.3 Solutions étalons pour le cadmium

La courbe d'étalonnage est construite par dilutions successives d'une solution mère 1g/l et de la solution fille 100mg/l ainsi que la solution étalon 10mg/l.

➤ Préparation de la courbe d'étalonnage

- Préparer 03 fioles jaugées de 100 ml préalablement nettoyées et rincées à l'eau bi-distillée.
- Mettre dans chaque fiole 100ml d'eau bi-distillée.
- Ajouter dans chacune des fioles respectivement 5 ml, 10ml, 20ml de la solution étalon à 10 ppm, les solutions étalons contiennent respectivement : 0,5 ; 1 et 2 mg/l de cadmium.
- Les absorbances obtenues sont de 0,0317, 0,064 et 0,123 ; ce qui a permis de tracer notre courbe d'étalonnage (Figure 17).

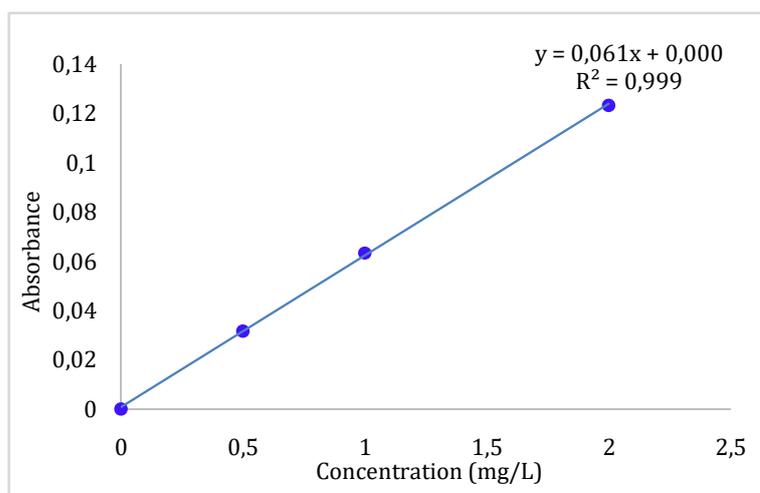


Figure 17 : Courbe d'étalonnage du cadmium. L'équation de régression linéaire (Y), coefficient de corrélation (R^2)

II.4.4 Solutions étalons pour le plomb

La courbe d'étalonnage est construite par dilutions successives d'une solution mère de 1 g/l et de la solution fille 100 mg/l ainsi que la solution étalon à 10 mg/l.

➤ Préparation de la courbe d'étalonnage

- Préparer 03 fioles jaugées de 100 ml préalablement nettoyées et rincées à l'eau bi-distillée.
- Mettre dans chaque fiole 100 ml d'eau bi-distillée.
- Ajouter dans chacune des fioles respectivement 5 ml, 10 ml et 20 ml de la solution étalon à 10 ppm, les solutions étalons contiennent respectivement : 0,5 ; 1 et 2 mg/l de plomb.
- Les absorbances respectives obtenues sont de 0,004 ; 0,0096 et 0,0192, ce qui nous a permis de tracer notre courbe d'étalonnage (Figure 18).

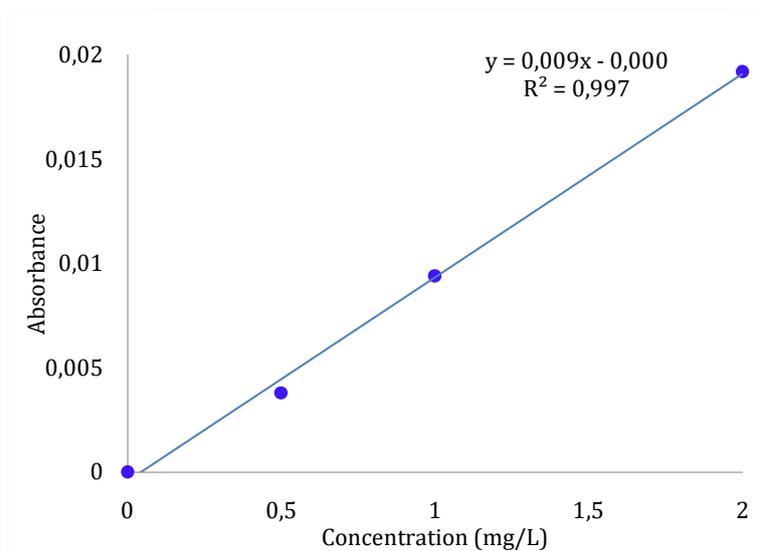
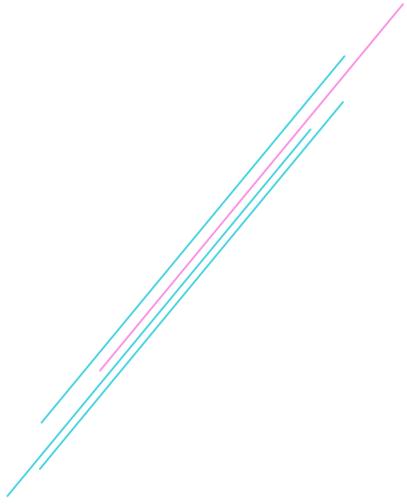


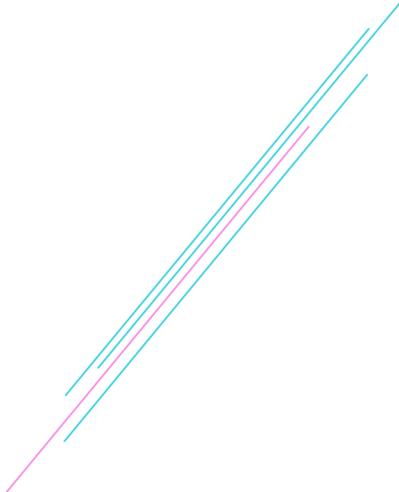
Figure 18 : Courbe d'étalonnage du cadmium. L'équation de régression linéaire (Y), coefficient de corrélation (R^2).

III Analyse statistique

L'analyse statistique a été effectuée avec le logiciel Statview[®] (Version 4.55 ; California - USA). Les concentrations de métaux lourds sont décrites par leurs moyennes ainsi que par leurs valeurs minimum-maximum (l'étendue). Les résultats sont présentés en Moyenne \pm Erreur Standard ($M \pm ES$). L'analyse de variance (ANOVA) a été effectuée pour comparer la bioaccumulation du Cd et du Pb dans le foie et les reins en fonction de l'espèce (Bovin et ovin). Le seuil de signification retenu est $P < 0,05$.



Résultats



IV RESULTATS

IV.1 Contamination globale

Globalement ; sans tenir compte de l'espèce et l'organe ; 100% d'échantillons ont été contaminés par le plomb et cadmium, avec 48 échantillons soit une prévalence de 26,66% étaient contaminés au seuil de toxicité par le plomb et par le cadmium. La figure 19, montre que les 180 échantillons testés avaient une moyenne en plomb (Pb) supérieure à celle du cadmium (Cd) $0,367 \pm 0,024$ vs $0,277 \pm 0,022$ mg/kg respectivement. Pour une meilleure exploitation des résultats, nous avons opté à les représenter sous forme de diagramme en boîte qui sont plus adaptées pour comparer les distributions des données numériques en mettant en exergue les valeurs extrêmes. En effet, le graphe en boîte montre respectivement une étendue plus importante des valeurs enregistrées pour le Cd par rapport à celui du Pb ($1,850$ vs $1,474$ mg/kg) comme l'indique les valeurs maximales respectives pour les deux métaux ($1,865$ vs $1,475$ mg/kg). Néanmoins, la valeur de la médiane du Pb est plutôt élevée par rapport au Cd ($0,297$ vs $0,187$ mg/kg).

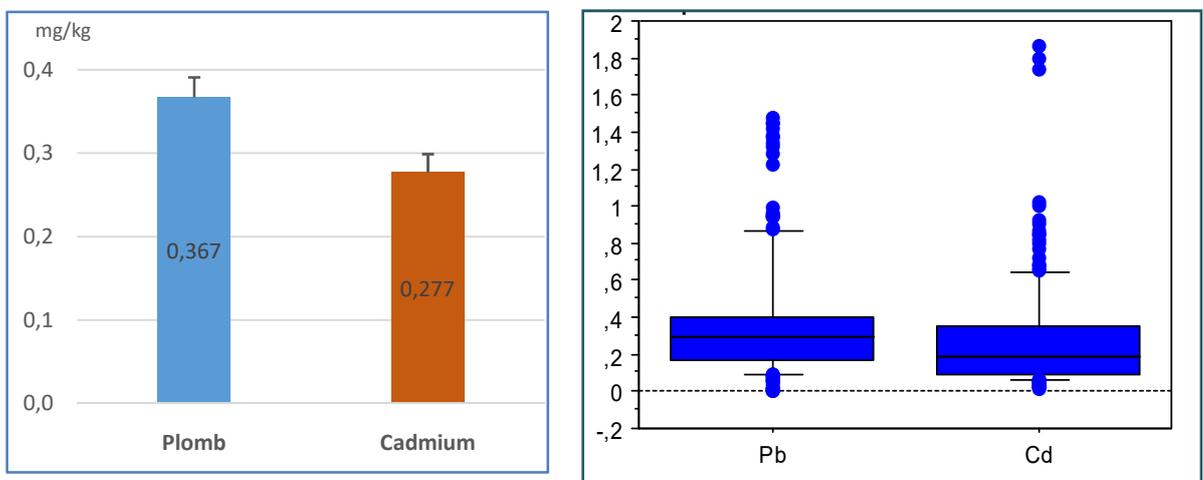


Figure 19 : Taux de contamination globale par les métaux lourds.

IV.2 Prévalences de la contamination par les métaux lourds en fonction de l'espèce

IV.2.1 Prévalences chez les ovins

Les résultats obtenus sur les 100 échantillons analysés (60 à l'abattoir d'El-Harrach et 40 à l'abattoir de Rouiba) ont montré que 13 échantillons étaient contaminés au seuil de toxicité par le Pb et par le Cd, soit une prévalence de 13%. Parmi les 13 échantillons contaminés, 08 (08%) ont été prélevés à partir de l'abattoir d'El-Harrach et 05 (05%) de Rouiba. Les concentrations moyennes en Pb obtenues chez les ovins étaient plus élevées par rapport à celles du Cd $0,262 \pm 0,018$ vs $0,237 \pm 0,020$ mg/kg respectivement (tableau13). Cependant, les valeurs maximales ont été enregistrées pour le Cd par rapport au Pb (1,019 vs 0,880 mg/kg respectivement).

Tableau 13: Taux de Contaminations globales des ovins par les métaux lourds (mg/kg de poids frais).

| | Nombre | Moy±ES | Maximum | Minimum | Etendue |
|-----------|--------|-------------|---------|---------|---------|
| Pb(mg/kg) | 100 | 0,262±0,018 | 0,880 | 0,010 | 0,870 |
| Cd(mg/kg) | 100 | 0,237±0,020 | 1,019 | 0,015 | 1,004 |

IV.2.2 Prévalences chez les bovins

Sur les 80 échantillons de bovins examinés, soit 50 à partir de l'abattoir d'El Harrach et 30 de l'abattoir de Rouiba, 35 étaient contaminés au seuil de toxicité par le Pb et par le Cd soit une prévalence de 43,75%. Parmi les 35 échantillons contaminés, 21(26,25%) ont été prélevés dans l'abattoir d'El Harrach et 14 (17,5%) de Rouiba. A l'instar des ovins, la contamination moyenne chez les bovins est à la faveur du Pb par rapport au Cd comme le montre les moyennes respectives : $0,499 \pm 0,046$ vs $0,328 \pm 0,043$ mg/kg (tableau14). La même remarque est retenue pour les valeurs maximales, où le Cd a enregistré la valeur la plus élevée par rapport au Pb (1,865 vs 1,475 mg/kg respectivement).

Tableau 14 : Taux de Contaminations globales des bovins par les métaux lourds (mg/kg de poids frais).

| | Nombre | Moy±ES | Maximum | Minimum | Etendue |
|-----------|--------|-------------|---------|---------|---------|
| Pb(mg/kg) | 80 | 0,499±0,046 | 1,475 | 0,009 | 1,466 |
| Cd(mg/kg) | 80 | 0,328±0,043 | 1,865 | 0,019 | 1,846 |

IV.3 Contamination par les métaux lourds en fonction de l'espèce et de l'organe

IV.3.1 Chez les Ovins

IV.3.1.1 Contamination du foie par le Plomb

Les concentrations en plomb supérieures au seuil de 0,5 mg/kg dans foie sont considérées toxiques selon la commission européenne (CE, 2006). Dans notre étude, une prévalence de contamination toxique par le Pb dans le foie était de 08 % soit 4 échantillons sur 50. La concentration moyenne au niveau du foie était de 0,259±0,021 mg/kg avec un taux minimal enregistré de 0,001 mg/kg et un taux maximal de 0,58 mg/kg (Tableau 15). La figure N°20 montre une étendue de 0,423 Pb et une médiane de 0,224 mg/kg.

Tableau 15: Taux de contamination du foie des ovins par le plomb(Moy±ES) de poids frais.

| | Nombres (%) | Moy±ES | Minimum | Maximum |
|-----------------------|-------------|-------------|---------|---------|
| Nombre d'échantillons | 50 (100%) | 0,259±0,021 | 0,001 | 0,580 |
| <LMR | 46 (92%) | 0,233±0,018 | 0,001 | 0,477 |
| >LMR(0,5mg/kg) | 04 (08%) | 0,547±0,016 | 0,520 | 0,580 |

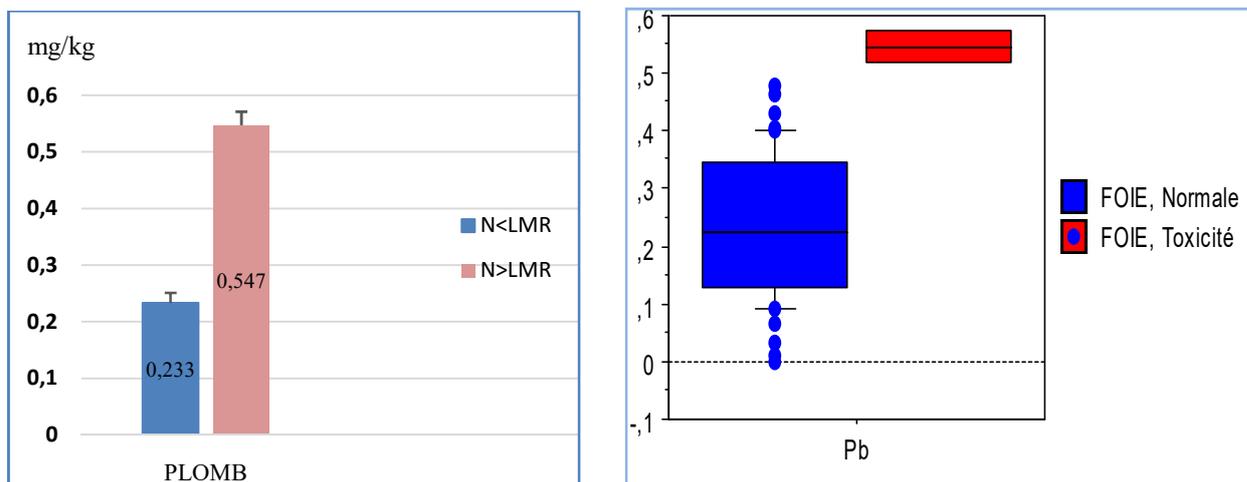


Figure 20 :Taux de contamination du foie des ovins par le Plomb.

IV.3.1.2 Contamination du foie des ovins par le Cadmium

La concentration moyenne du Cd dans le foie était de $0,241 \pm 0,022$ mg/kg, avec des taux maximum et minimum respectifs de 0,605mg/kg et 0,03mg/kg. Le pourcentage des échantillons qui ont dépassés la limite maximale proposée par la réglementation européenne(CE) dans le foie (0,5 mg/kg) était de 08% soit 04 sur 50 échantillons (Tableau 16). La figure N°21, montre que les échantillons situés en dessous du seuil de toxicité ont une étendue allant de 0,03 jusqu'à 0,49 mg/kg avec une médiane égale à 0,19 mg/kg contrairement aux échantillons ayant dépassé le seuil de toxicité où l'étendue était très petite (de l'ordre de 0,03) allant de 0,57 à 0,60 mg/kg avec une médiane égale à 0,59mg/kg.

Tableau 16 : Taux de contamination du foie par le cadmium.mg/kg de poids frais.

| | Nombres« N | Moy±ES | Minimum | Maximum |
|---------------------------------------|------------|-------------|---------|---------|
| Nombre d'échantillons | 50 | 0,241±0,022 | 0,03 | 0,605 |
| Nombre d'échantillons <LMR | 46 | 0,211±0,018 | 0,03 | 0,491 |
| Nombre d'échantillons >LMR (0,5mg/kg) | 04 | 0,588±0,007 | 0,57 | 0,605 |

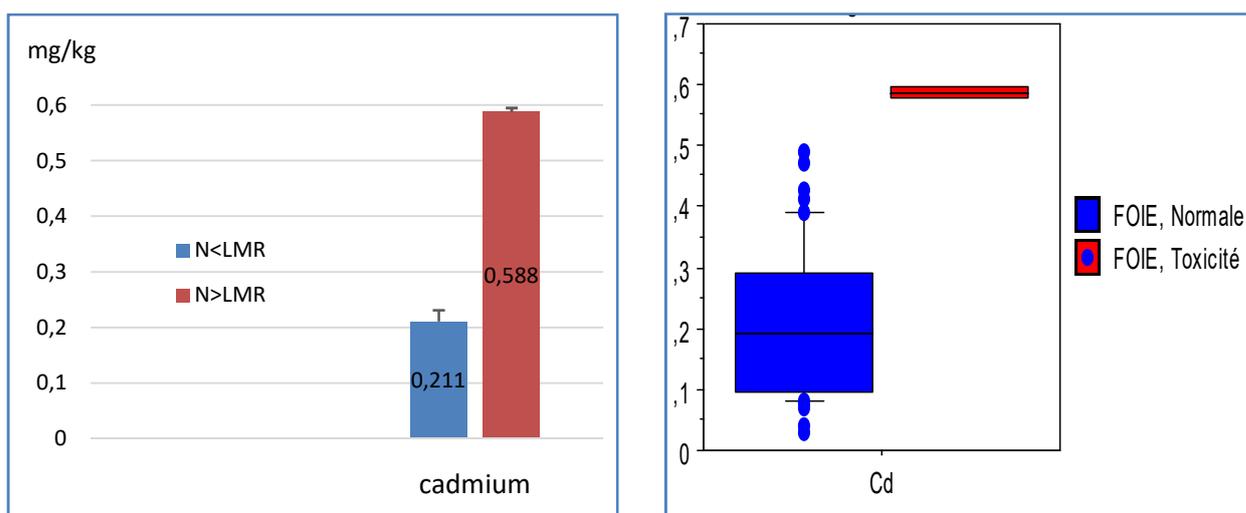


Figure 21 : Taux de contamination des foies des ovins par le cadmium.

IV.3.1.3 Contamination des reins des ovins par le Plomb

Sur les 50 reins ovins analysés pour le Pb, 04 ont présenté des taux de contaminations supérieurs aux limites proposées par la réglementation européenne (CE) dans les reins (0,5 mg/kg) soit une prévalence de 08%. La concentration moyenne au niveau des reins était de 0,265±0,005mg/kg, avec des taux maximum et minimum respectifs de 0,880mg/kg et 0,005mg/kg (Tableau 17). La dispersion des concentrations pour les 46 reins « normaux ». Elles varient entre 0,005 et 0,435 mg/kg avec une médiane de 0,200. Pour les 04 échantillons de reins « toxiques » c'est-à-dire des concentrations supérieures à 0,5 mg/kg. L'étendue de la série est de l'ordre de 0,070 allant de 0,810 jusqu'à 0,880mg/kg et la médiane est égale à 0,847 mg/kg (Figure 22).

Tableau 17 : Taux de contamination des reins des ovins par le plomb (mg/kg de poids frais)

| | Nombres « N » | Moy±ES | Minimum | Maximum |
|---------------------------------------|---------------|--------------|---------|---------|
| Nombre d'échantillons | 50 | 0,265± 0,030 | 0,005 | 0,880 |
| Nombre d'échantillons <LMR | 46 | 0,214±0,019 | 0,005 | 0,435 |
| Nombre d'échantillons >LMR (0,5mg/kg) | 4 | 0,845±0,015 | 0,810 | 0,880 |

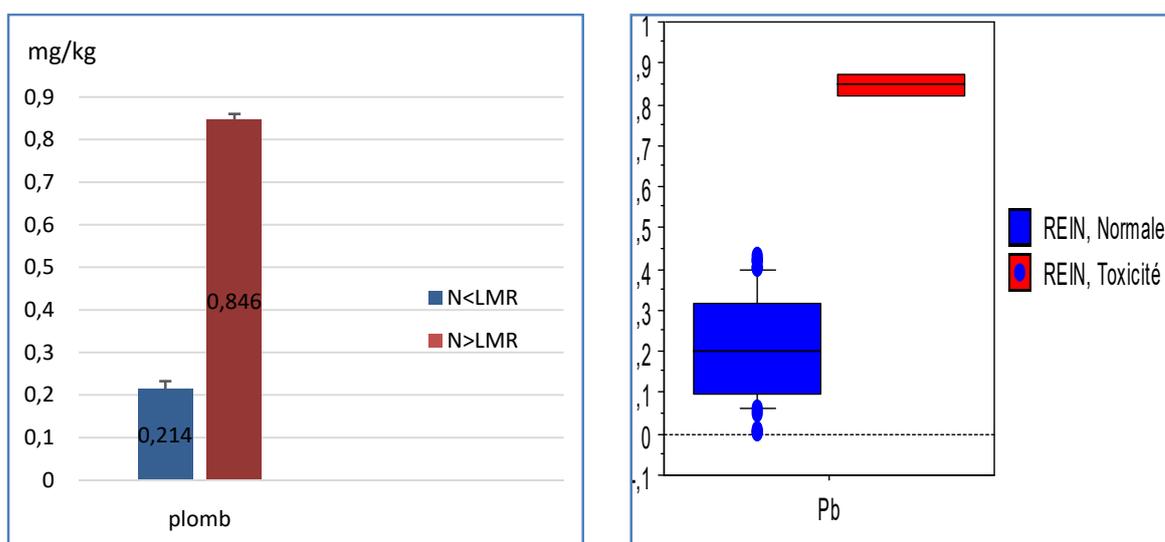


Figure 22 : Taux de contamination des reins des ovins par le plomb.

IV.3.1.4 Contamination des reins des ovins par le cadmium

La concentration moyenne de cadmium dans les échantillons de reins (N=50) est de $0,232 \pm 0,033 \text{ mg/kg}$. Sur les 50 échantillons prélevés, 01 (2%) échantillon était contaminé par le cadmium, avec un taux de $1,019 \text{ mg/kg}$. Cette concentration est supérieure aux limites (1 mg/kg) proposées par la réglementation européenne (CE) dans les reins (Tableau 18). On observe sur la figure 23, que les concentrations en Cd enregistrées varient de 0,015 jusqu'à 0,870 mg/kg pour celles n'ayant pas dépassé la valeur limite avec une médiane égale à 0,156 mg/kg. Tandis que la seule valeur supérieure à la norme est représentée par un trait à la hauteur de $1,019 \text{ mg/kg}$.

Tableau 18 : Taux de contamination des reins des ovins par le cadmium (mg/kg de poids frais).

| | Nombres « N » | Moy±ES | Minimum | Maximum |
|-------------------------------------|---------------|-------------------|---------|---------|
| Nombre d'échantillons | 50 | $0,232 \pm 0,033$ | 0,005 | 0,88 |
| Nombre d'échantillons <LMR | 49 | $0,216 \pm 0,029$ | 0,015 | 0,087 |
| Nombre d'échantillons >LMR (1mg/kg) | 1 | 1,019 | 1,019 | 1,019 |

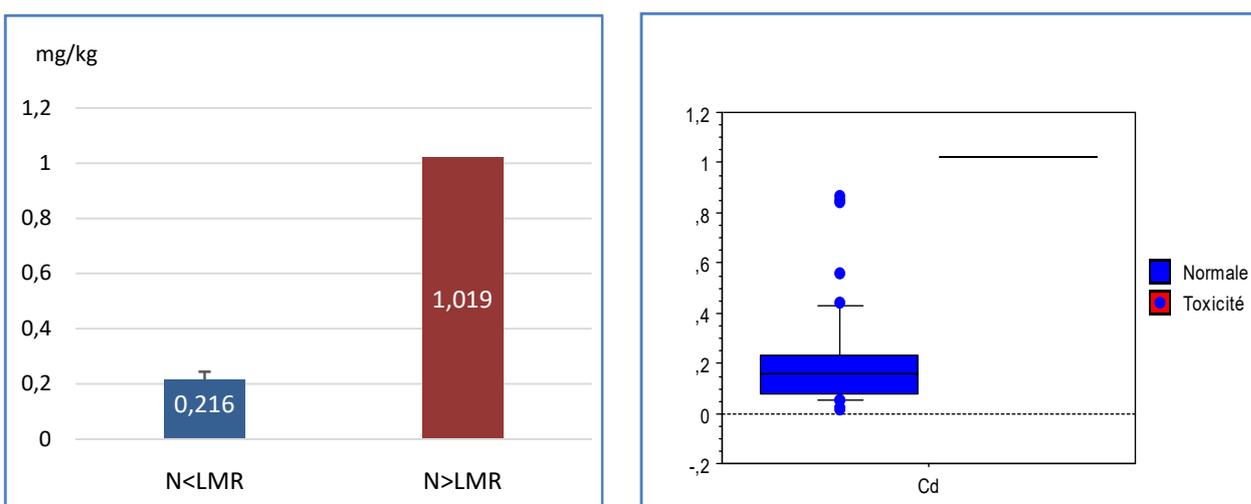


Figure 23 : Taux de contamination des reins des ovins par le Cadmium.

IV.3.2 Chez les bovins

IV.3.2.1 Contamination du foie par le Plomb

La concentration moyenne en plomb dans les échantillons était de $0,502 \pm 0,051$ mg/kg avec un taux maximum de 1,450 mg/kg et un minimum de 0,078mg/kg. Les résultats obtenus montrent que 12 sur les 40 échantillons de foies de bovin prélevés étaient contaminés par plomb ($>0,5$ mg/kg) soit une prévalence de 30%. La moyenne enregistrée pour ces derniers est de $0,949 \pm 0,049$ mg/kg avec une médiane égale à 0,944 et une étendue allant de 0,780 jusqu'à 1,450 mg/kg (tableau 19 et Figure 24).

Tableau 19: Taux de contamination du foie des bovins par le plomb (moyenne \pm ES).

| | Nombres « N » | Moy \pm ES | Minimum | Maximum |
|--|---------------|-------------------|---------|---------|
| Nombre total d'échantillons du foie | 40 | $0,502 \pm 0,051$ | 0,078 | 1,45 |
| Nombre d'échantillons < LMR | 28 | $0,31 \pm 0,021$ | 0,078 | 0,498 |
| Nombre d'échantillons > LMR (0,5mg/kg) | 12 | $0,949 \pm 0,049$ | 0,78 | 1,45 |

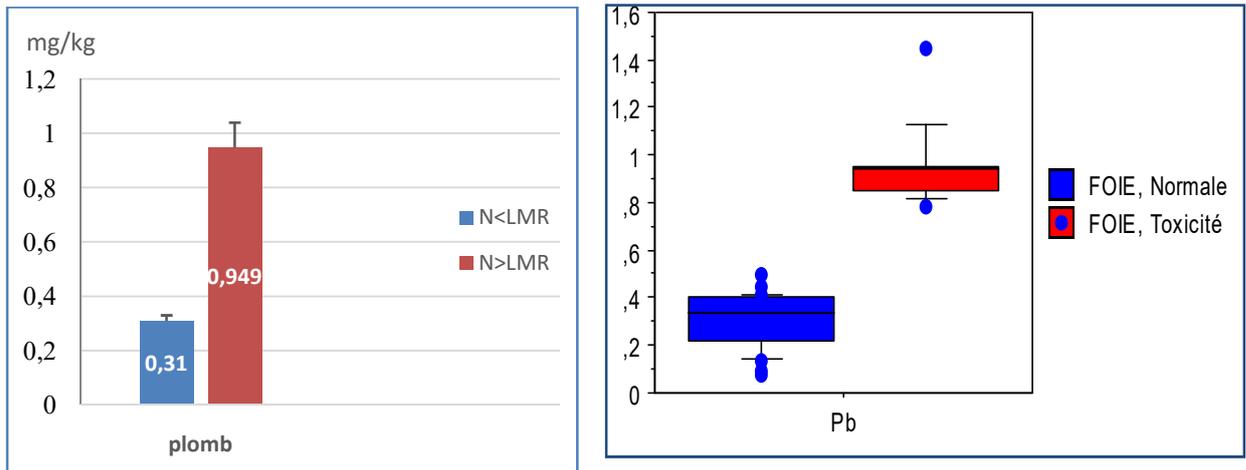


Figure 24 : Taux de contamination des foies des bovins par le plomb.

IV.3.2.2 Contamination du foie par le cadmium

Les résultats obtenus ont montré une concentration moyenne du cadmium dans le foie de bovins de $0,319 \pm 0,040$ mg/kg avec un taux maximum de 0,820 mg/kg. Dix (10) échantillons sur les 40 testés ont montré une concentration supérieure à la limite ($>0,5$ mg/kg) soit un pourcentage de 25 % avec une moyenne de $0,704 \pm 0,022$ mg/kg. La figure 25 montre une médiane égale à 0,683 mg/kg avec une étendue : 0,620-0,820 mg/kg (Tableau 20 et figure 25).

Tableau 20 : Taux de contamination du foie des bovins par le cadmium.

| | Nombres« N » | Moy±ES | Minimum | Maximum |
|---|-----------------|-------------------|---------|---------|
| Nombre total d'échantillons du foie | 40 | $0,319 \pm 0,040$ | 0,024 | 0,82 |
| Nombre d'échantillons <LMR | 30 | $0,191 \pm 0,022$ | 0,024 | 0,44 |
| Nombre d'échantillons > LMR (0,5 mg/kg) | 10 | $0,704 \pm 0,022$ | 0,62 | 0,82 |

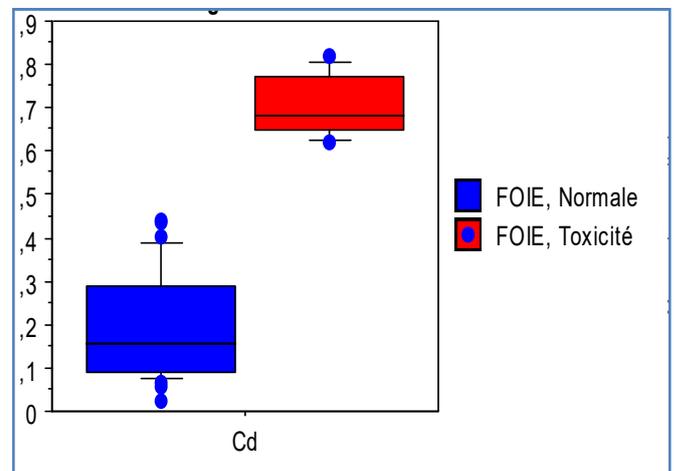
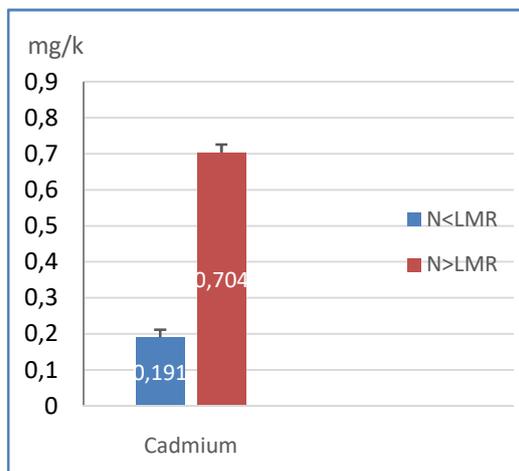


Figure 25 : Taux de contamination du foie des bovins par le cadmium.

IV.3.2.3 Contamination des reins de bovins par le plomb

L'analyse des échantillons a révélé une concentration moyenne en Pb de l'ordre de $0,497 \pm 0,077$ mg/kg avec une valeur maximale égale à 1,475 mg/kg. Le pourcentage des reins bovins contaminés par le plomb ($> 0,5$ mg/kg) est de 22% (soit 09 échantillons sur 40) avec une égale à $1,363 \pm 0,027$ mg/kg. La figure 26 montre que les échantillons ayant des valeurs toxiques, présentent une médiane égale à 1,371 mg/kg avec une étendue de 1,220-1,475 mg/kg (tableau N°21).

Tableau 21 : Taux de contamination des reins des bovins par le plomb (Moyenne \pm SE) (mg/kg de poids frais)

| | Nombres « N » | Moy \pm ES | Minimum | Maximum |
|---|------------------|-------------------|---------|---------|
| Nombre total d'échantillons du rein | 40 | $0,497 \pm 0,077$ | 0,009 | 1,475 |
| Nombre d'échantillons < LMR | 31 | $0,245 \pm 0,024$ | 0,009 | 0,488 |
| Nombre d'échantillons > LMR (0,5 mg/kg) | 9 | $1,363 \pm 0,027$ | 1,22 | 1,475 |

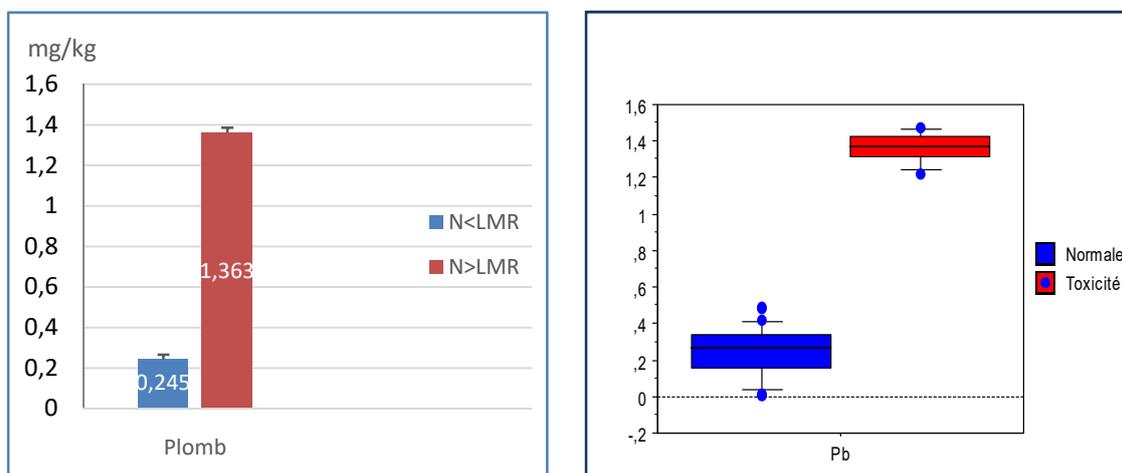


Figure 26 : Taux de contamination des reins des bovins par le plomb.

IV.3.2.4 Contamination des reins de bovins par le cadmium

La concentration moyenne en Cadmium dans le rein est de $0,337 \pm 0,077$ mg/kg avec un taux maximum de 1,865 mg/kg. Sur les 40 échantillons analysés 04 (10%) contenaient des concentrations supérieures aux limites proposées par la réglementation européenne (CE) (1 mg/kg) avec une moyenne enregistrée égale à $1,601 \pm 0,202$ mg/kg. La figure 27 montre que les échantillons ayant des valeurs toxiques, avec une médiane égale à 1,770 mg/kg et une étendue de 1,000-1,865 mg/kg (tableau 22).

Tableau 22 : Taux de contamination des reins des bovins par le cadmium (Moyenne±SE) (mg/kg de poids frais).

| | Nombres« N » | Moy±ES | Minimum | Maximum |
|---|-----------------|-------------------|---------|---------|
| Nombre total d'échantillons du rein | 40 | $0,337 \pm 0,077$ | 0,019 | 1,865 |
| Nombre d'échantillons <LMR | 36 | $0,197 \pm 0,039$ | 0,019 | 0,92 |
| Nombre d'échantillons >LMR (1mg/kg) | 4 | $1,601 \pm 0,202$ | 1 | 1,865 |

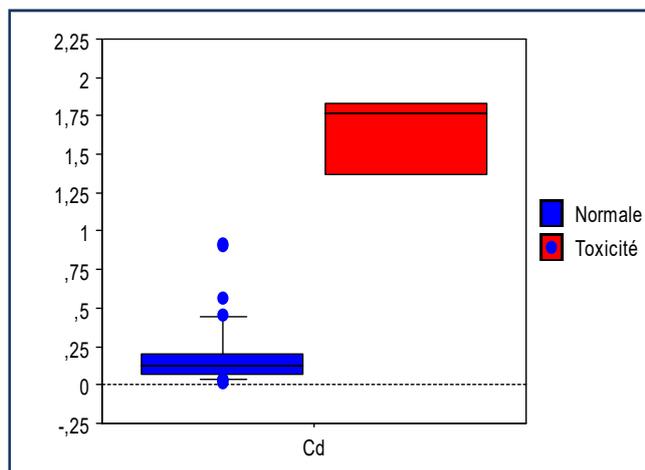
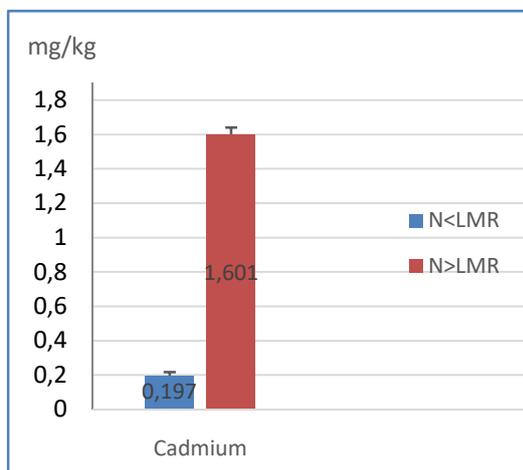
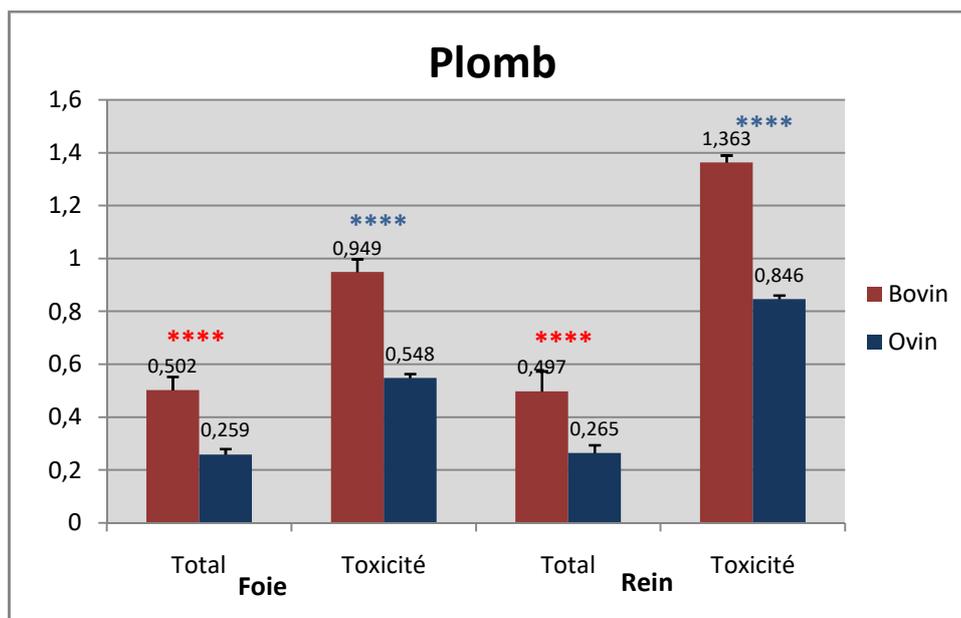


Figure 27 : Taux de contamination des reins des bovins par le cadmium.

IV.4 Comparaison des taux de contamination par les métaux lourds entre les deux espèces

IV.4.1 Plomb

Les résultats obtenus pour les concentrations en Pb montrent une différence hautement significative ($p < 0,0001$) entre les deux espèces à la faveur des bovins et cela pour les deux organes, que ce soit pour le total des concentrations enregistrées ou pour les valeurs dépassant le seuil de toxicité. Pour les échantillons « Toxiques » de foie et de rein, il a été observé que les moyennes chez les bovins étaient nettement supérieures à celles enregistrées chez les ovins (figure 28), elles étaient de $0,949 \pm 0,049$ vs $0,548 \pm 0,016$ mg/kg ; $1,363 \pm 0,027$ vs $0,846 \pm 0,015$ mg/kg respectivement. La même remarque est retenue pour les valeurs « Totales » avec des moyennes : $0,502 \pm 0,051$ vs $0,259 \pm 0,021$ mg/kg ; $0,497 \pm 0,077$ vs $0,265 \pm 0,03$ mg/kg respectivement.



*Bv Vs ov(foie),BvVsOvrein)

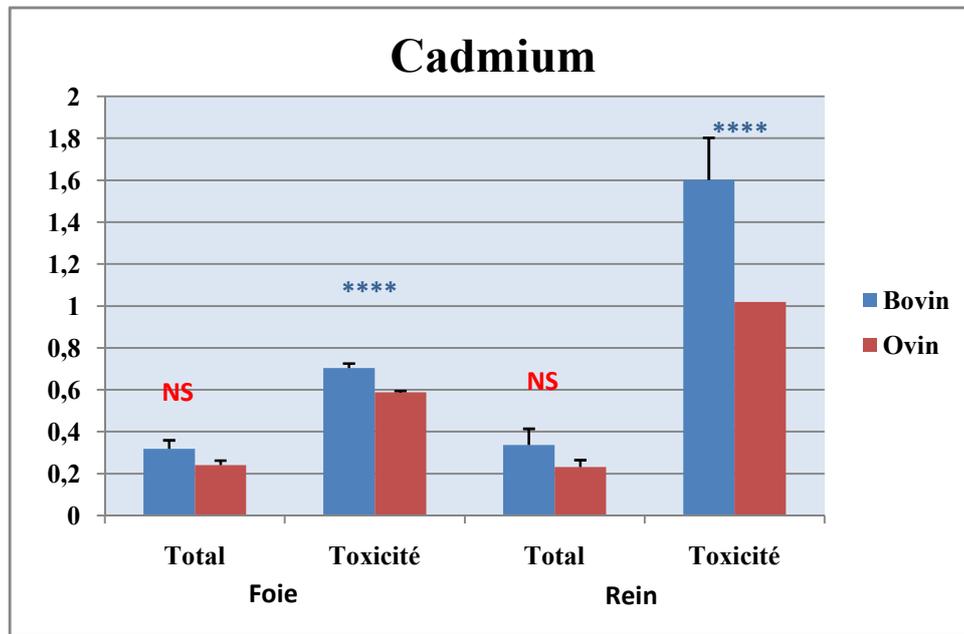
*Bv Vs ov(foie),BvVsOv(rein)

* $p \leq 0,05$ peu significatif ; ** $p \leq 0,02$ très significatif ; *** $p \leq 0,01$ très significatif ; **** $p \leq 0,001$ hautement significatif

Figure 28 : Comparaison des taux de contamination par le plomb entre les deux espèces.

IV.4.2 Cadmium

La même remarque est retenue pour le cadmium où les bovins ont observé des valeurs supérieures aux ovins, toutefois sans atteindre le seuil de signification statistique en tenant compte de toutes les valeurs enregistrées dans le foie et le rein. Des différences significatives (< 0,0001) entre bovins et ovins ont été enregistrées uniquement pour la catégorie où le taux de toxicités étaient supérieures a la limite exiger par la commission européenne, à la faveur des bovins que ce soit dans le foie ou dans le rein (0,704±0,022vs 0,588±0,007 mg/kg pour le foie et 1,601±0,202vs 1,019mg/kg pour le rein respectivement) (figure29).



*Bv Vs ov (foie),BvVsOv(rein)

*Bv Vs ov (foie),BvVsOv(rein)

*p ≤ 0,05 peu significatif ; ** p ≤ 0,02 très significatif ; *** p ≤ 0,01 très significatif ; ****p ≤ 0,001 hautement significatif.

Figure 29 : Comparaison les taux de contamination du cadmium entre les deux espèces.

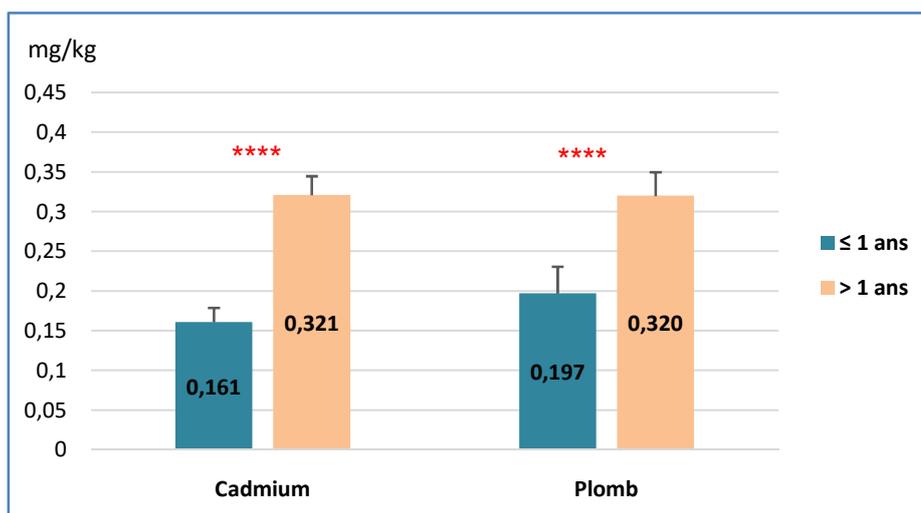
IV.5 Concentration du plomb et du cadmium dans les foies et les reins selon les catégories d'âge

IV.5.1 Contamination du foie des ovins en fonction de l'âge

Les concentrations de plomb dans le foie sont plus élevées dans les groupes d'âge > 1 an plutôt que dans les groupes d'âge de moins de 1an (0,320±0,030 vs0,197±0,024 mg/kg respectivement). L'analyse statistique effectuée sur les résultats obtenus a montré une différence hautement significative (p=0,0024). Concernant les concentrations du cadmium, dans le foie, la même tendance est observée où le taux le plus élevé est enregistré dans le groupe d'âge > 1 an que dans les groupes d'âge de moins de 1an (0,321±0,034vs0,161±0,018 mg/kg respectivement).L'analyse statistique entre les deux groupes d'âges met en évidence une différence hautement significative (p= 0.0001) (Tableau 23 et Figure30).

Tableau 23 : Concentration du plomb et du cadmium dans le foie selon les catégories d'âges chez les ovins moyenne ±ES.

| Ages | PLOMB | | | CADMIUM | | |
|------|-------------|-------------|---------------|-------------|-------------|---------------|
| | ≤ 1an | >1an | <i>P</i> | ≤ 1an | >1an | <i>P</i> |
| Foie | 0,197±0,024 | 0,320±0,030 | 0,0024 | 0,161±0,018 | 0,321±0,034 | 0,0001 |



*p ≤ 0,05 peu significatif ; ** p ≤ 0,02 très significatif ; *** p ≤ 0,01 très significatif ; ****p ≤ 0,001 hautement significatif

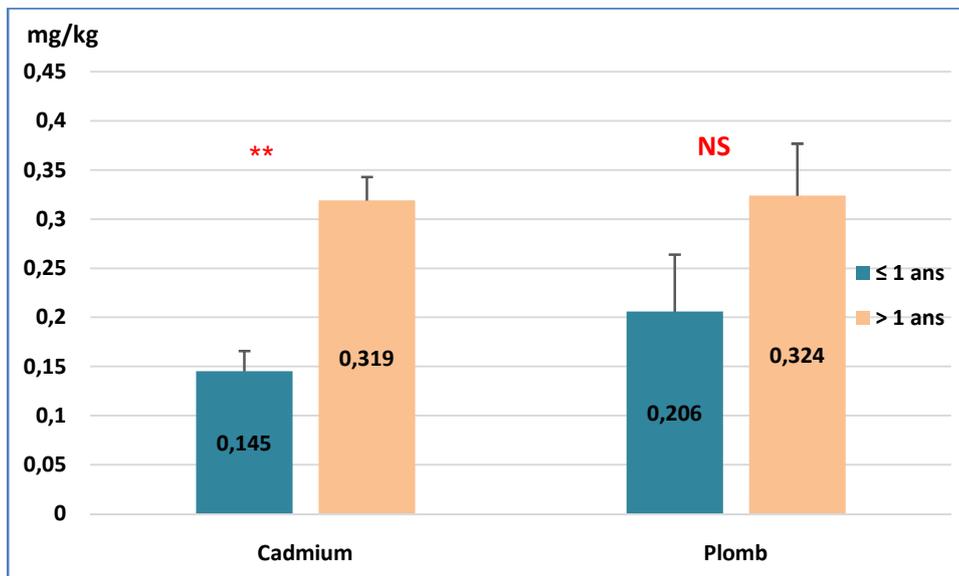
Figure 30 : Concentration du plomb et du cadmium dans les foies selon les catégories d'âges chez les ovins.

IV.5.2 Contamination des reins des ovins en fonction de l'âge

Les concentrations en plomb dans les reins sont plus élevées dans les groupes d'âge > 1 an plutôt que dans les groupes d'âge de moins de 1 an (0,324±0,053vs0,206±0,024 mg/kg respectivement).L'analyse statistique effectuée sur les résultats obtenus a montré des différences non significatives (p=0,05).Concernant les concentrations de cadmium dans les reins, les résultats montrent que le taux le plus élevé est enregistré dans le groupe d'âge > 1 an, plutôt que dans les groupes d'âge de moins de 1 an (0,319±0,058vs0,145±0,021 mg/kg respectivement). L'analyse statistique entre les deux groupes d'âges met en évidence une différence très significative (Tableau 24 et Figure31).

Tableau 24 : Concentration en plomb et en cadmium dans les reins selon les catégories d'âges chez les ovins :

| Ages | PLOMB | | | CADMIUM | | |
|------|-------------|-------------|----------|-------------|-------------|----------|
| | ≤ 1an | >1an | <i>P</i> | ≤ 1an | >1an | <i>P</i> |
| Rein | 0,206±0,024 | 0,324±0,053 | 0,0468 | 0,145±0,021 | 0,319±0,058 | 0,0068 |



*p ≤ 0,05 peu significatif ; ** p ≤ 0,02 très significatif ; *** p ≤ 0,01 très significatif ; ****p ≤ 0,001 hautement significatif

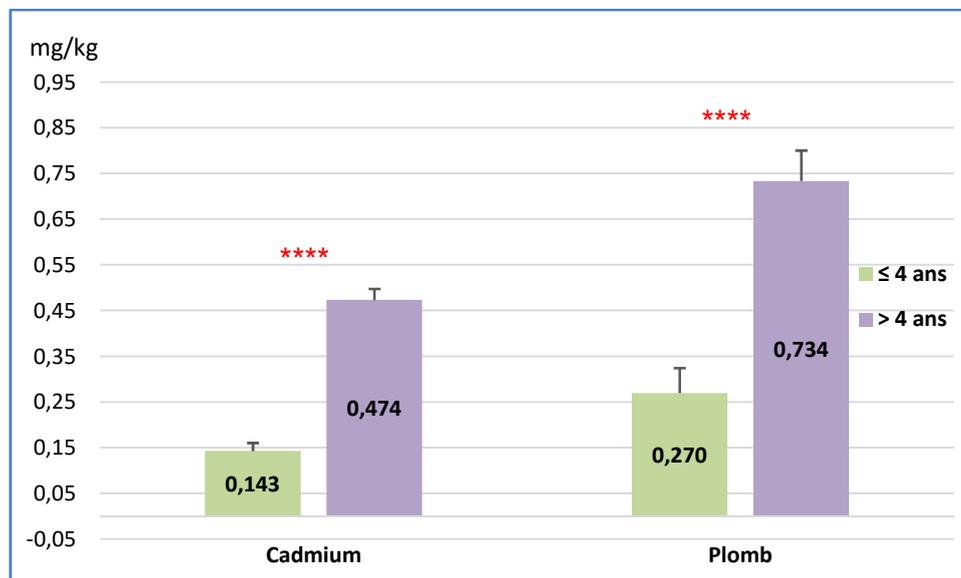
Figure 31 : Concentration du plomb et cadmium dans les reins selon les catégories d'âges chez les ovins.

IV.5.3 Contamination du foie des bovins en fonction de l'âge

La concentration de plomb dans le foie est plus élevée dans les groupes d'âge > 4 ans(0,734±0,067mg/kg) plutôt que dans les groupes d'âge de moins de 4ans(0,270±0,024 mg/kg).L'analyse statistique met en évidence une différence hautement significative ($p \leq 0,0001$) entre les deux groupes d'âges. Concernant le cadmium, nos résultats ont révélé des concentrations très élevées dans la catégorie d'âges> 4ans(0,474±0,055 mg/kg) plutôt que dans les groupes d'âge de moins de 4ans(0,143±0,018mg/kg). L'analyse statistique met en évidence une augmentation très significative entre les deux catégories d'âges ($p \leq 0,0001$)(Tableau25 et Figure 32).

Tableau 25 : Concentration de plomb et de cadmium dans le foie selon les catégories d'âges chez les bovins(moyenne ±ES).

| PLOMB | | | CADMIUM | | | |
|-------|-------------|-------------|---------|-------------|-------------|--------|
| Ages | ≤ 4 years | > 4 years | P | ≤ 4 years | > 4 years | P |
| Foie | 0.270±0.024 | 0.734±0.067 | 0,0001 | 0.143±0.018 | 0.474±0.055 | 0,0001 |



* $p \leq 0,05$ peu significatif ; ** $p \leq 0,02$ très significatif ; *** $p \leq 0,01$ très significatif ; **** $p \leq 0,001$ hautement significatif

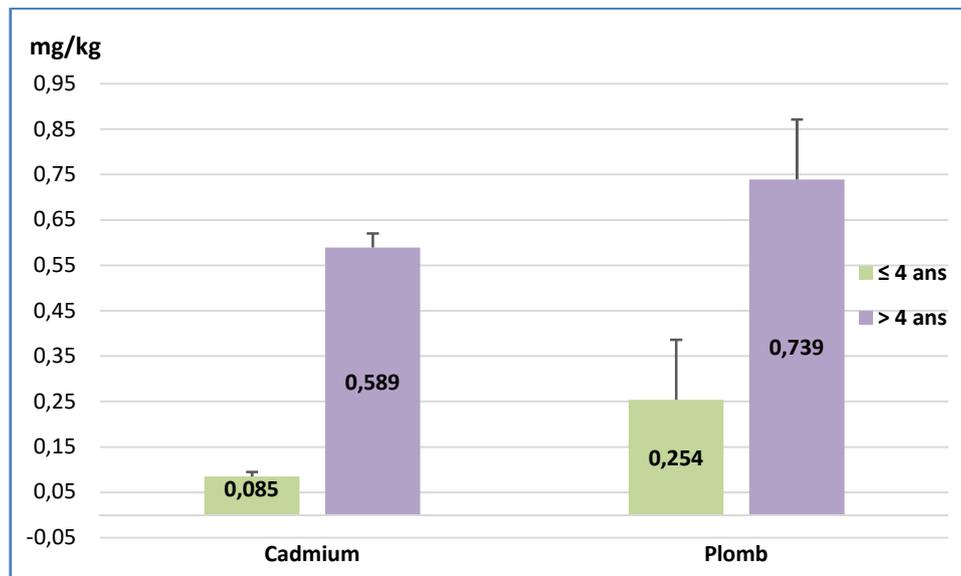
Figure 32 : Concentration de plomb et de cadmium dans le foie selon les catégories d'âges chez les bovins.

IV.5.4 Contamination des reins de bovins en fonction de l'âge

La concentration moyenne en plomb dans les reins sont plus élevée dans les groupes d'âge > 4 ans (0,739±0,132mg/kg) plutôt que dans les groupes d'âge de moins de 4ans (0,254±0,031mg/kg).L'analyse statistique met en évidence une différence très significative ($p \leq 0,001$) entre les deux groupes d'âges et entre le foie/rein ($p \leq 0,05$). Concernant le cadmium, nos résultats ont révélé des concentrations très élevées dans la catégorie d'âges> 4 ans (0,589±0,132mg/kg) plutôt que dans les groupes d'âge de moins de 4 ans (0,085±0,01mg/kg). L'analyse statistique met en évidence une augmentation très significative entre les deux catégories d'âges ($p \leq 0,0001$) et hautement significative entre le foie et le rein ($p \leq 0,0001$) (Tableau 26 et Figure 33).

Tableau 26 : Concentration du plomb et du cadmium dans les reins selon les catégories d'âges chez les bovins (Moyenne ±ES).

| | | PLOMB | | | CADMIUM | | |
|------|-------------|-------------|-------|------------|-------------|--------|--|
| Ages | ≤ 4 years | > 4 years | P | ≤ 4 years | > 4 years | P | |
| Rein | 0.254±0.031 | 0.739±0.132 | 0,001 | 0.085±0.01 | 0.589±0.132 | 0,0005 | |



* $p \leq 0,05$ peu significatif ; ** $p \leq 0,02$ très significatif ; *** $p \leq 0,01$ très significatif ; **** $p \leq 0,001$ hautement significatif

Figure 33 : Concentration du plomb et du cadmium dans les reins selon les catégories d'âges chez les bovins.

IV.6 Corrélation entre les concentrations du plomb et du Cadmium avec l'âge des animaux

L'analyse statistique a révélé une corrélation positive entre l'âge et les concentrations en Pb dans le foie et les reins des bovins et des ovins. La figure n°34 montre des corrélations significatives ($P < 0,05$) entre l'âge des animaux et la concentration en plomb dans le foie et le rein dont le coefficient de détermination (R^2) et le coefficient de corrélation (r) les plus élevés étaient enregistrés respectivement dans les reins des bovins ($R^2 = 0,831$; $r = 0,91$) suivi par le foie des bovins ($R^2 = 0,623$; $r = 0,79$), puis les reins des ovins ($R^2 = 0,379$; $r = 0,62$) et enfin par le foie des ovins ($R^2 = 0,276$; $r = 0,53$) (Figure 34).

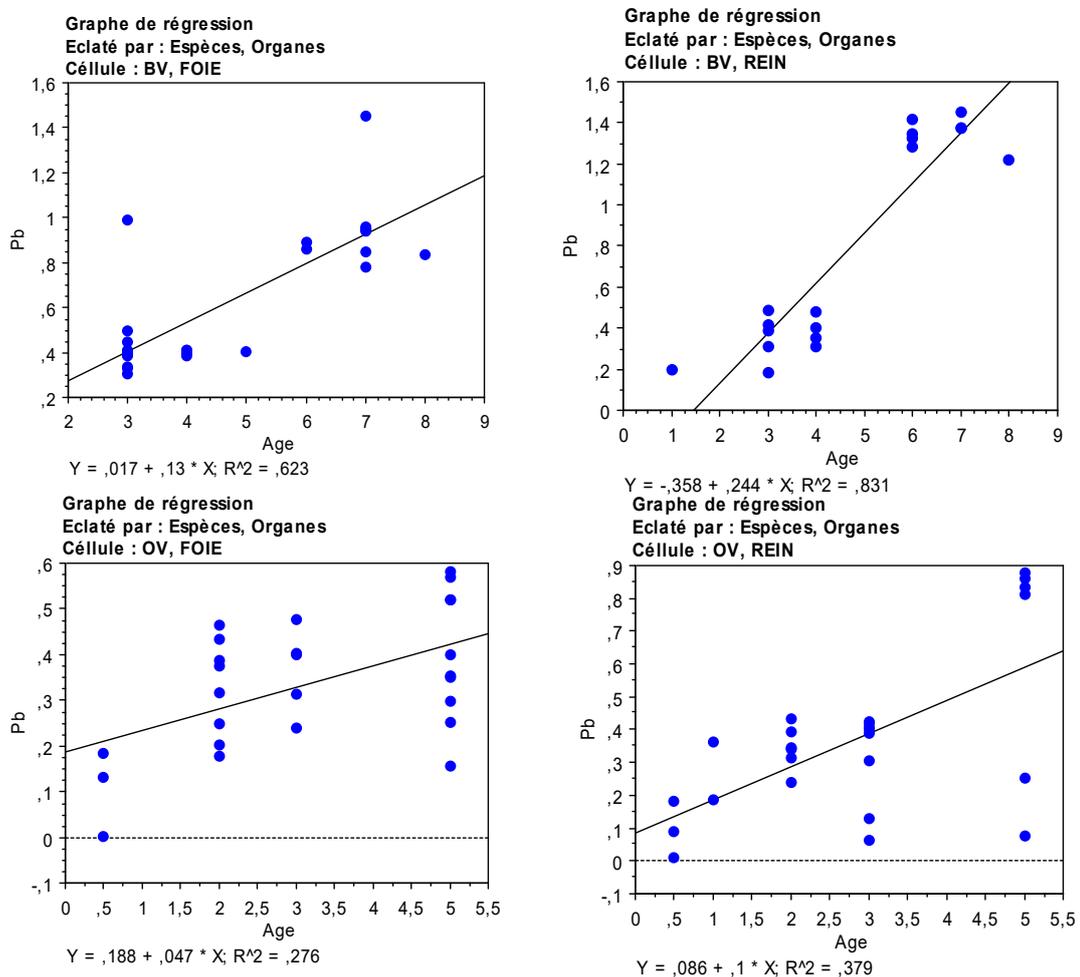


Figure 34 : Coefficients de corrélation entre l'âge et la teneur en plomb dans les tissus (foie et rein) des bovins et ovins.

Concernant le Cadmium, la même observation a été constatée que le plomb c'est-à-dire, des corrélations positives et significatives ($P < 0,05$) ont été enregistrées entre l'âge des animaux et la concentration du Cd dans les organes. On remarque dans la figure 35 que le coefficient de détermination (R^2) et le coefficient de corrélation (r) les plus élevés étaient enregistrés respectivement dans les reins des ovins ($R^2 = 0,644$; $r = 0,80$) suivi par le foie des bovin ($R^2 = 0,565$; $r = 0,75$), puis les reins des bovins ($R^2 = 0,518$; $r = 0,72$). Cependant, la corrélation entre l'âge des ovins et la concentration du Cd dans le foie n'était pas significative ($P > 0,05$) avec $R^2 = 0,098$; $r = 0,31$ (Figure 35).

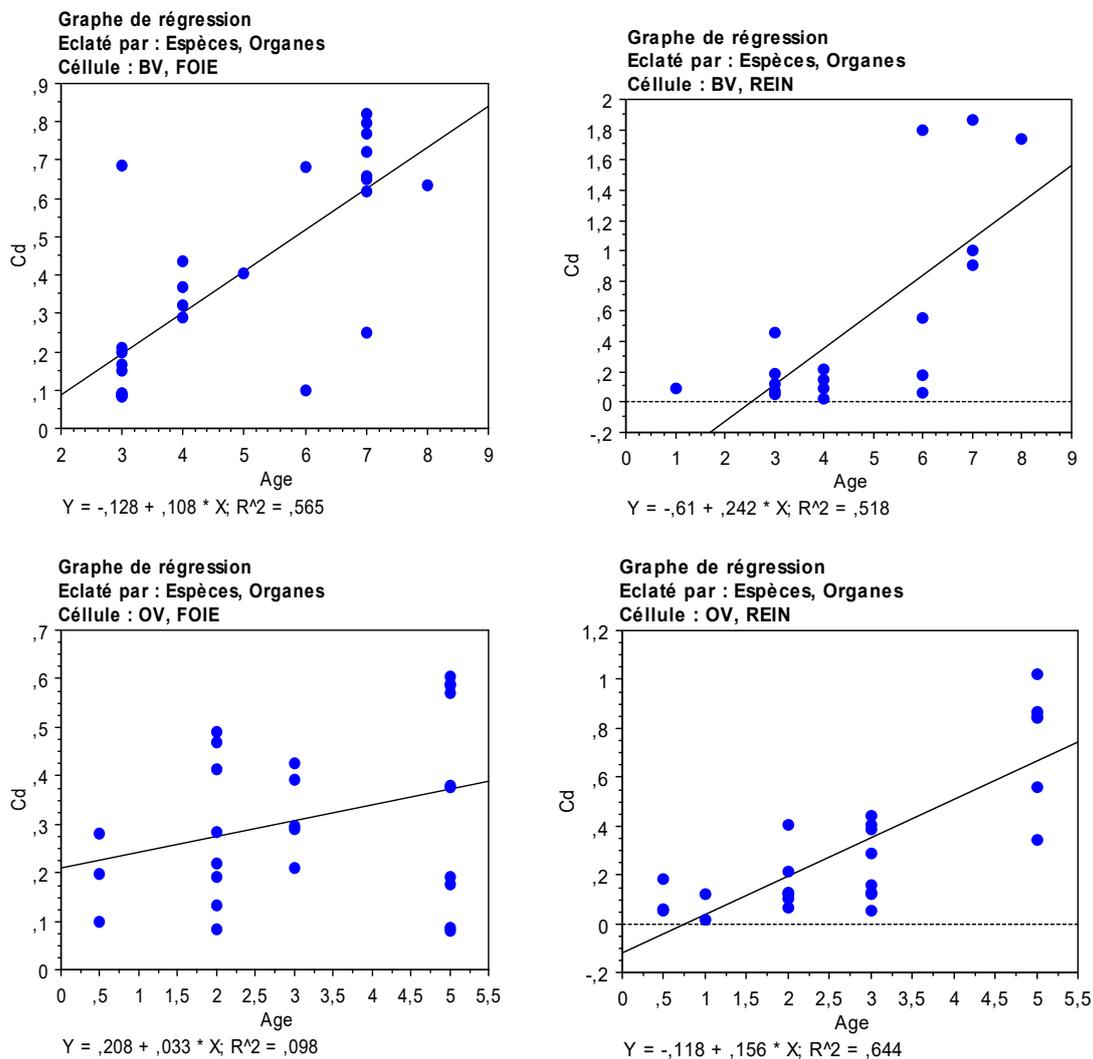


Figure 35 : Coefficients de corrélation entre l'âge et la teneur en cadmium dans les tissus (foie et rein) des bovins et ovins.

IV.7 Corrélation entre les métaux lourds et les organes

Afin d'apprécier la relation entre les concentrations du Pb et du Cd dans le même organe, nous avons opté d'étudier la corrélation entre ces métaux. Dans notre étude, il ressort qu'il y a une corrélation positive entre les deux métaux pour le foie et le rein des ovins et des bovins. Hormis le foie des ovins, toutes les corrélations étaient très significatives. En effet, pour le foie des ovins la figure 36 (a) montre un nuage de points très dispersé avec un coefficient de détermination (R^2) proche de zéro ($R^2 = 0,0085$) indiquant ainsi que l'augmentation des concentrations en Cd n'est pas forcément suivie par une augmentation du Pb ($P = 0,5274$). La figure 36 (b) on remarque une corrélation très significative ($P = 0,0025$) enregistrée entre le Cd et le Pb pour le rein des ovins avec un coefficient de détermination faible ($R^2 = 0,1752$). En revanche, chez les bovins, la corrélation entre le Cd et Pb est hautement significative ($P < 0,0001$) surtout dans le foie figure 36 (c) où le R^2 est égal à 0,5833 contre 0,4758 pour celui du rein figure 36 (d) indiquant ainsi une relation (liaison) forte entre la bioaccumulation du Cd et le Pb dans le foie et les reins des bovins.

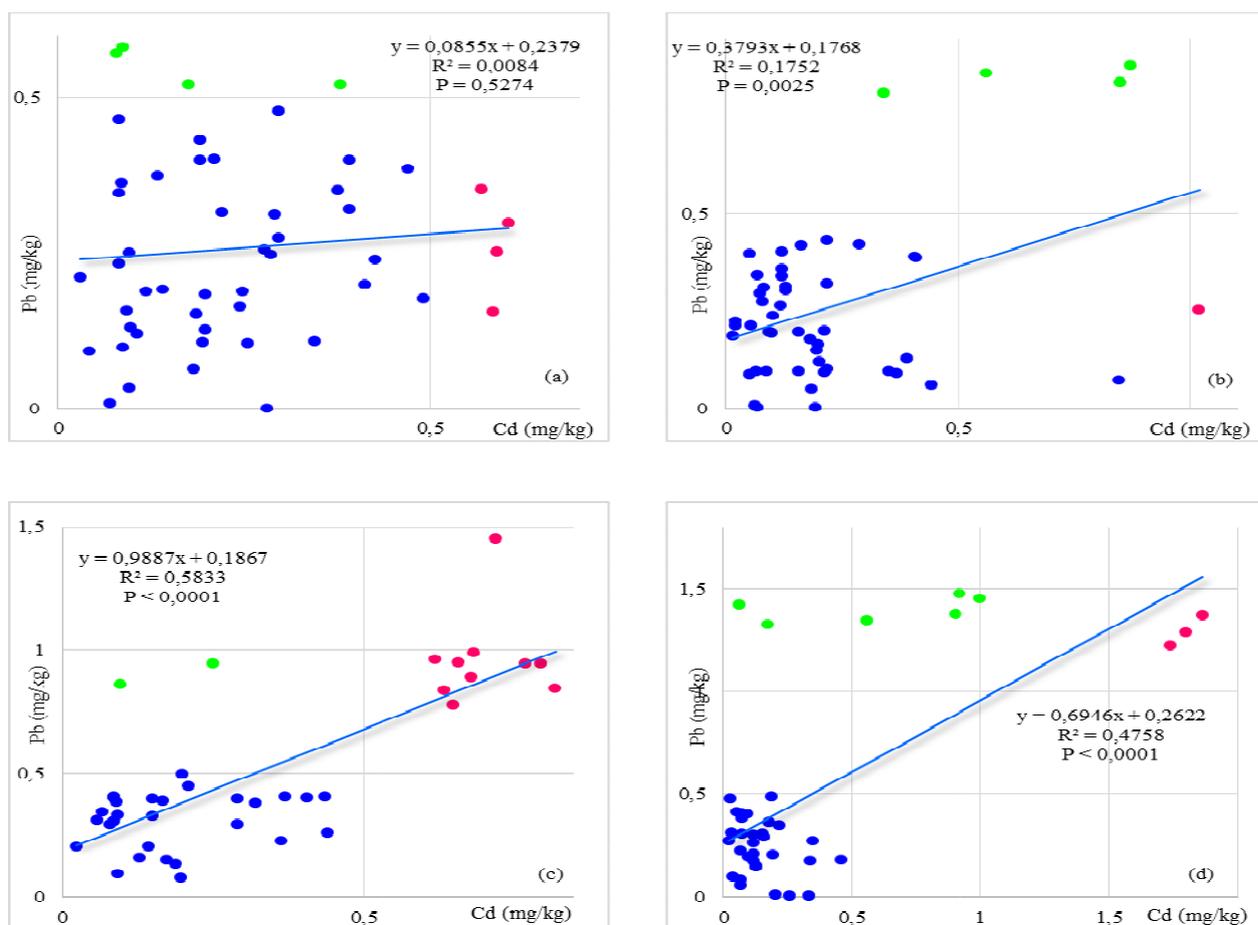
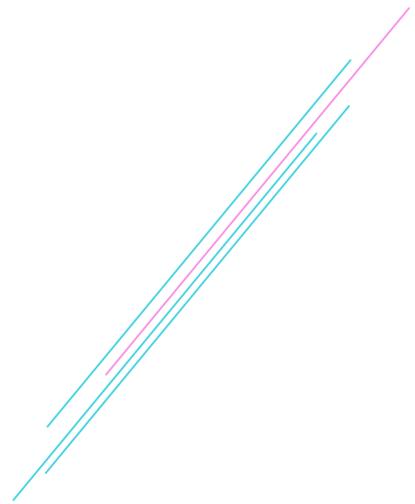
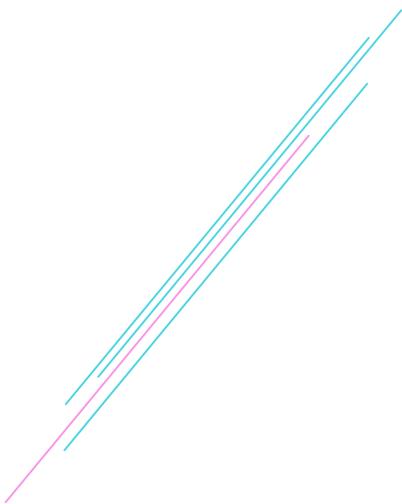


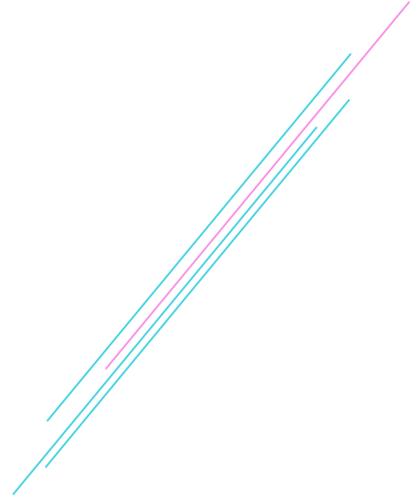
Figure 36 : Corrélation entre le cadmium et le plomb dans le foie (a), rein (b) des ovins, le foie (c), rein (d) des bovins.



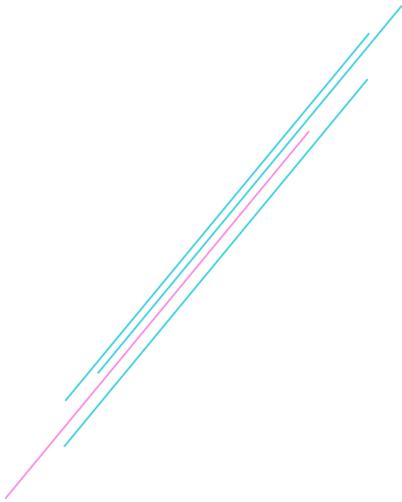
Deuxième partie

Etude toxicologique du Cadmium et
du plomb sur les rats *Wistar*





Matériels & Méthodes



I Objectifs

Les résultats de la première étude relative à la recherche des métaux lourds (Pb et Cd) dans le foie et les reins de bovins et ovins ont montré que 26,66% des échantillons sont contaminés par ces métaux extrêmement toxiques. D'après ces résultats, on constate que le risque d'exposition aux métaux lourds existe réellement en Algérie. Dans le cadre de ce travail et afin d'avoir une meilleure appréciation du danger réel de ces métaux lourds, une deuxième étude est menée pour évaluer le risque par la mesure de l'exposition et ses conséquences métaboliques après que le sujet (rat) ait ingéré des doses infratoxiques. L'objectif défini de cette étude est de mettre en évidence les effets potentiels suite à une exposition répétée au plomb et/ou au cadmium, et de cerner plus exactement l'activité de ces métaux toxiques et leurs conséquences sur certains paramètres notamment les paramètres hématologiques, biochimiques et histologiques.

II Matériel biologique

L'évaluation de la toxicité subchronique du plomb et du cadmium est effectuée sur le rat *Wistar* qui a été traditionnellement l'animal de choix dans beaucoup de projets de recherche. Les rats proviennent de l'institut pasteur Algérie (IPA), ils pèsent entre 250 et 280g.

II.1 Conditions d'élevage

L'expérimentation s'est déroulée au niveau de l'animalerie de l'ENS-Kouba. Avant tout traitement, les animaux bénéficient d'un temps d'adaptation de 10 jours. Les animaux témoins et traités sont isolés dans des cages en polypropylène (32cmx20cmx32cm) avec des couvercles en acier inoxydable munies de biberons d'eau par cage. Une épaisse couche de sciure est déposée au fond des cages et renouvelée régulièrement. Les rats sont soumis à des conditions expérimentales identiques de température ($22\pm 3^{\circ}\text{C}$), d'humidité ($55\pm 10\%$), d'éclairage (12h/24h) naturel et artificiel (**Annexe II**). Les rats reçoivent de l'eau et sont nourris par un aliment sous forme de granulés fourni par la firme de Bouzaréah (**Annexe II**). La valeur énergétique pour 100g d'aliment est de 310 Kcal.

II.2 Répartition des lots

Les rats sont répartis par groupe de 08 dans des cages. Ils sont individuellement identifiés par un marquage au niveau de la queue. Les lots sont répartis comme suit (figure 37) :

- un lot témoin, appelé **lot T**, constitué de 08 rats mâles. Ces rats reçoivent par gavage de l'eau de ville à raison de 1ml par 100gde poids corporel.
- un lot expérimental 1, appelé **lot Pb**, constitué de 8 rats mâles, qui en plus de l'alimentation de laboratoire, reçoit chaque jour 1 mg de plomb par gavage à raison de 1ml par 100 g de poids corporel.
- un lot expérimental 2, appelé **lot Cd**, constitué de 8 rats mâles qui en plus de l'alimentation de laboratoire, reçoit par gavage 1 mg de cadmium à raison de 1ml par 100 g de poids corporel.
- un lot expérimental 3, appelé **lot Pb et Cd**, constitué de 8 rats mâles qui en plus de l'alimentation de laboratoire, reçoit par gavage 1 mg de cadmium et 1mg de plomb à raison de 1ml par 100 g de poids corporel.

Les concentrations administrées sont calculées sur la base de la valeur trouvée au cours de la première partie expérimentale.

Les solutions de plomb et de cadmium sont administrées quotidiennement aux rats des lots traités pendant une période de 28 jours, pendant laquelle les animaux sont minutieusement observés, de manière à déceler toute manifestation éventuelle de toxicité.

En plus de l'observation comportementale rigoureuse, les mesures et les examens suivants sont réalisés :

- Etude de l'évolution pondérale ;
- Examens hématologiques et biochimiques
- Examens histo-pathologiques.

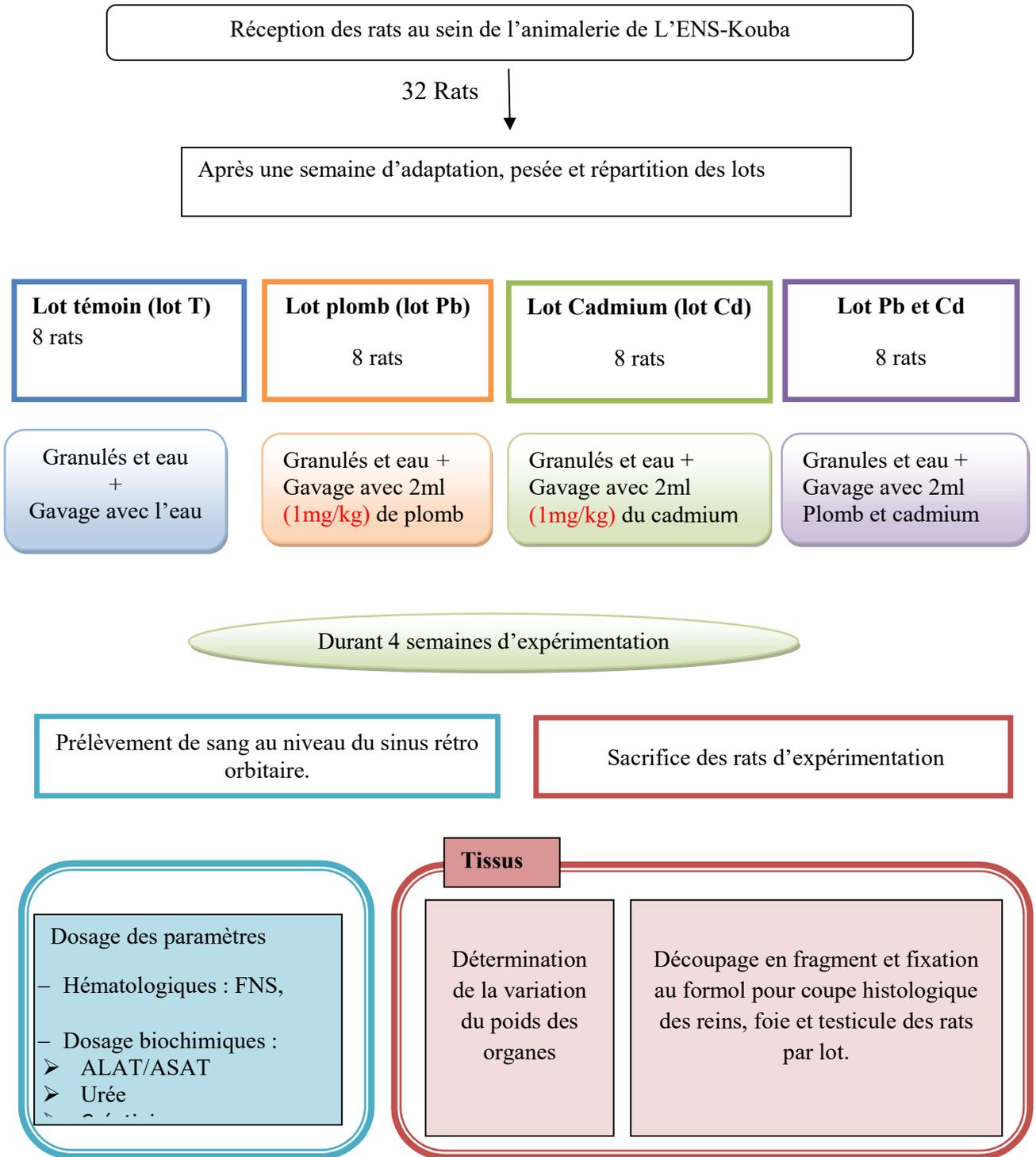


Figure 37 : Déroulement de l'expérimentation.

III Méthodes

III.1 Méthodes opératoires

III.1.1 Mesures pondérales

III.1.1.1 Courbe de croissance

Une courbe de croissance est établie à partir des pesées hebdomadaires du poids corporel des rats de chaque lot exprimé en g/semaine.

III.1.1.2 Gain de poids

Le gain de poids est défini comme étant la moyenne de la différence entre le poids final et le poids initial du rat que l'on divise par le poids initial, le résultat est multiplié par 100.

$$\text{Gain de poids (\%)} = \frac{\text{Poids final (g)} - \text{poids initial (g)}}{\text{Poids initial (g)}} \times 100$$

III.1.1.3 Prélèvements d'organes

Au terme des différents traitements administrés aux animaux témoins et expérimentaux, les rats sont sacrifiés et autopsiés après anesthésie par une injection intrapéritonéale de kétamine à la dose de 150 mg/kg de poids corporel. Une fois l'animal anesthésié et fixé, il est disséqué.

III.1.1.3.1 Prélèvements du foie, des reins et des testicules

Après dissection des rats d'expérimentation, nous avons réalisé un examen macroscopique sur l'ensemble des organes. Nous avons rapidement prélevé les organes, lavés dans une solution de NaCl 9‰ puis pesés. Ces pesées vont servir pour déterminer les poids bruts et le poids relatif de ces organes. Le poids relatif de chaque organe est calculé en divisant le poids de ce dernier sur le poids corporel du rat duquel il a été retiré (**AnnexeII**).

$$\text{Poids relatif de l'organe (\%)} = \frac{\text{Poids brut de l'organe}}{\text{Poids brut du rat}} \times 100$$

III.1.2 Techniques biochimiques

Chez l'ensemble des animaux, témoins et expérimentaux, les prélèvements sanguins sont effectués entre 9h et 11h du matin.

Le sang est prélevé sur l'animal légèrement anesthésié, après 12 heures de jeûne, par ponction au niveau du sinus rétro-orbital, à l'aide de micro-hématocrites. Ce moyen de prélèvement décrit par **Halpérn et Pecaud, (1951)** constitue la méthode la moins stressante pour l'animal.

Le micro-hématocrite est enfoncé dans l'orbite sous le globe oculaire jusqu'à l'arrivée du sang, la pipette est ensuite légèrement retirée et le sang remonte par capillarité. Le sang ainsi prélevé est recueilli dans des tubes avec différents anticoagulants.

- Tubes avec EDTA pour réaliser la formule de numération sanguine (FNS).

Tubes héparinés, pour réaliser les dosages biochimiques, le sang est centrifugé à 3500 tr/mn pendant 20 mn.

Tous les dosages des différents paramètres biochimiques ont été réalisés avec des kits de marque *Spinreact*.

III.1.2.1 Dosage des marqueurs sériques du foie

III.1.2.1.1 Dosage de l'aspartateamino-transférase (AST)

Le dosage de l'aspartateamino transférase (AST) est effectué par la technique colorimétrique de **Bergmeyer et al., (1978)**. L'aspartateamino-transférase (AST), initialement appelée transaminase glutamate oxaloacétique (GOT) catalyse le transfert réversible d'un groupe amine de l'aspartate en présence de l'alpha-cétoglutarate vers la formation de glutamate et d'oxalacétate. L'oxalacétate produit est réduit en malate en présence de déshydrogénase et de NADH. La vitesse de réduction de la concentration en NADH au centre, déterminée par spectrophotométrie, est proportionnelle à la concentration catalytique d'AST dans l'échantillon (**Annexe III**).

III.1.2.1.2 Dosage de l'alanine amino-transférase (ALT)

Le dosage de l'alanine amino transférase (ALT) est effectué par la technique colorimétrique de **Kaplan et al., 1984**. L'alanine amino-transférase (ALT) initialement appelée transaminase glutamique pyruvique (GPT) catalyse le transfert réversible d'un groupe amine d'alanine vers l'alpha-cétoglutarate vers la formation du glutamate et de pyruvate. Le pyruvate produit est réduit en lactate en présence de lactate déshydrogéné et NADH. La vitesse de réduction de la concentration en NADH au centre, déterminée par

spectrophotométrie, est proportionnelle à la concentration catalytique d'ALT dans l'échantillon (**Annexe III**).

III.1.2.2 Dosage des marqueurs sériques des reins

III.1.2.2.1 Dosage de la créatinine

Le dosage de la créatinine est faite par la méthode colorimétrique ou réaction de Jaffé (**Fabiny et Ertingshausen, 1971; Labbé et al., 1996**)

C'est le catabolite de la créatine et de la phospho-créatine d'origine musculaire. La réaction s'effectue dans un milieu alcalin, et la créatinine présente dans l'échantillon réagit avec le picrate formant ainsi un complexe créatinine-picrate. La créatinine forme avec le picrate un complexe coloré (couleur jaune orangé), dont l'intensité de la coloration est directement proportionnelle à la concentration en créatinine. La lecture se fait par spectrophotométrie à une longueur d'onde $\lambda = 492$ nm (**Annexe III**).

III.1.2.2.2 Dosage de l'urée

La méthode de dosage de l'urée de **Fawcett et Scott, (1960)** repose sur l'hydrolyse de l'urée en anhydride carbonique et ammoniacque par l'uréase. Les ions ammoniums forment avec le salicylate, le chlore et le nitroprussiate un complexe coloré bleu-vert appelé Indophénol. L'intensité de la coloration qui est proportionnelle à la concentration de l'urée, est mesurable au spectrophotomètre à une longueur d'onde λ égale à 600 nm. (**Annexe III**).

III.1.2.3 Exploration des paramètres hématologiques

Les paramètres hématologiques (hémoglobine (HB), globules rouges (GR) et hématocrites (HT), sont explorés sur des échantillons de 2ml de sang recueilli dans des tubes à EDTA.

III.1.3 Techniques histologiques

La technique histologique passe par plusieurs opérations qui s'enchaînent. Elle comporte 7 temps principaux :

- Fixation des pièces ;
- Lavage, déshydratation et éclaircissement dans un solvant de la paraffine ;
- Inclusion dans la paraffine et réalisation des blocs ;
- Microtomisation et étalement des coupes ;
- Coloration et montage des coupes.

III.1.3.1 Fixation des organes

La fixation a pour but de conserver le tissu dans un état aussi proche que possible de l'état vivant, d'insolubiliser les constituants cellulaires que l'on se propose d'étudier, de s'opposer aux distorsions et rétractions et enfin de préparer les structures aux traitements ultérieurs (**Martoja et Martoja-Pierson, 1967**). Nous avons utilisé le formol à 10% pour la fixation des organes (foie, reins et testicules).

III.1.3.2 Déshydratation

La déshydratation permet la suppression de toute l'eau extractible en vue de l'inclusion dans un milieu non hydrosoluble, par passage des organes dans des bains d'éthanol de degrés croissants, pendant 20 à 30 minutes sous agitation modérée (**Martoja et Martoja-Pierson, 1967**).

III.1.3.2.1 Imprégnation et inclusion

L'imprégnation permet de préparer l'étape d'inclusion à la paraffine. Les organes sont immergés dans des bains de paraffine pendant 2 heures de temps à l'étuve (56°C). L'inclusion permet la préparation des organes à la mise en bloc. Elle consiste en une imprégnation des pièces dans un bain de paraffine neuve pendant 24 heures.

III.1.3.3 Enrobage et confection des blocs

Le but de cette étape est de transformer le tissu hétérogène du point de vue consistance et élasticité en une masse homogène, facilitant ainsi la coupe. Après avoir coulé la paraffine dans le moule, l'organe y est déposé et orienté.

III.1.3.4 Réalisation et étalement des coupes

Les coupes d'une épaisseur de 3 µm, sont réalisées à l'aide d'un microtome (LEICA), puis étalées à chaud sur des lames en verre préalablement recouvertes d'eau légèrement gélatinée pour éviter la perte des coupes au cours des étapes suivantes.

III.1.3.5 Déparaffinage et réhydratation des coupes

Le déparaffinage permet d'éliminer le milieu d'inclusion. La réhydratation a pour objectif de retirer le toluène des tissus et de le remplacer par l'eau, car les colorations ne peuvent être réalisées qu'en milieu aqueux. Elle s'effectue dans des bains d'éthanol de degrés décroissants (100°, 90°, 80°, 70° et 50°). Les lames sont ensuite plongées dans de l'eau distillée.

III.1.3.6 Coloration Hématoxyline éosine (HE)

Colorer au rouge nucléaire (5 mn), traiter à l'acide phospho tungstique à 5% (10 mn), laver à l'eau distillée pendant 5 mn ,puis colorer pendant 20 mn au bleu d'aniline (mélange de Mallory).Lavage à l'eau courante puis de l'eau distillée après chaque coloration (5 à 10 mn).

III.1.3.7 Déshydratation et montage des coupes

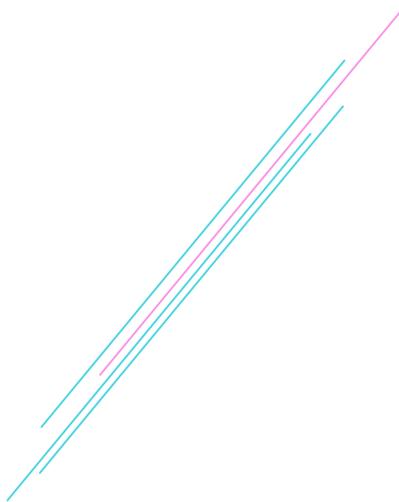
Les coupes sont déshydratées par passages successifs dans des bains d'éthanol à des degrés croissants (70°,90°, 100°) puis dans du toluène. Elles sont montées entre lames et lamelles avec de l'EUKIT.

III.1.3.8 Outil d'observation et traitement d'images

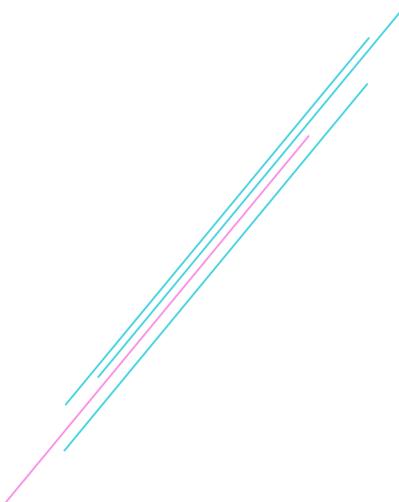
L'observation est réalisée avec un microscope photonique aux différents grossissements. Des photos ont été prises avec un microscope optique (*Leica*) muni d'une caméra digitale *Amscop 3.7* dont la résolution est de 10.0 Mégapixel.

III.2 Analyse statistique

La moyenne arithmétique \bar{X} des valeurs individuelles est calculée pour chaque série et pour chaque paramètre, elle est suivie par l'erreur standard à la moyenne « SEM » qui constitue l'intervalle de confiance. La validité statistique des différences entre les moyennes est évaluée d'après le test « t » de Fischer Student et la valeur de la probabilité « p » avec un risque de 5%.



Résultats



IV Résultats

L'ensemble des résultats obtenus chez les rats mâles, en croissance, témoins et traités par l'acétate de plomb et les sulfate de cadmium sont présentés dans des tableaux, histogrammes et figures insérés dans le texte. Seront présentés ci-dessous, successivement, l'effet du plomb et du cadmium sur la croissance des sujets, les résultats biochimiques et enfin les résultats histologiques.

IV.1 Effets sur la croissance

IV.1.1 Evolution pondérale

Les résultats pondéraux des rats témoins et ceux traités au plomb et au cadmium sont présentés dans le tableau 27 et figure 38. Ces résultats montrent des différences remarquables entre les rats exposés au plomb et au cadmium et les rats témoins. A partir de la deuxième semaine d'expérimentation, l'évolution pondérale des rats intoxiqués (Pb, Cd) affichent une diminution de poids par rapport aux témoins. L'analyse statistique met en évidence une différence très significative ($P \leq 0,05$) entre la diminution de poids des rats des 3 lots par rapport à ceux du lot témoin (Figure 38).

Tableau 27 : Valeurs moyennes des pesées hebdomadaires en (g) des rats témoins et des rats traités.

| | J0 | J7 | J14 | J21 | J28 |
|-----------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| Lot T | 264,77 ± 3,701 | 261,57 ± 3,843 | 278,89 ± 5,058 | 287,68 ± 4,778 | 294,93 ± 3,853 |
| Lot Pb | 265,83 ± 3,616 | 263,84 ± 3,098 | 261,10 ± 3,335 | 255,54 ± 2,807 | 250,38 ± 2,323 |
| Lot Cd | 268,65 ± 3,246 | 264,12 ± 3,273 | 264,09 ± 2,656 | 258,81 ± 3,646 | 254,81 ± 3,819 |
| Lot Pb/Cd | 267,05 ± 3,223 | 263,38 ± 3,169 | 260,03 ± 3,346 | 256,35 ± 2,638 | 253,61 ± 2,980 |

Les valeurs moyennes sont affectées de l'erreur standard à la moyenne (SEM).

* Pb Vs T, Cd Vs T, Pb/Cd Vs T,

*Pb Vs Cd, Pb Vs Pd/Cd, Cd Vs Pd/Cd

* $p \leq 0,05$ peu significatif ; ** $p \leq 0,02$ très significatif ; *** $p \leq 0,01$ très significatif ; **** $p \leq 0,001$ hautement significatif.

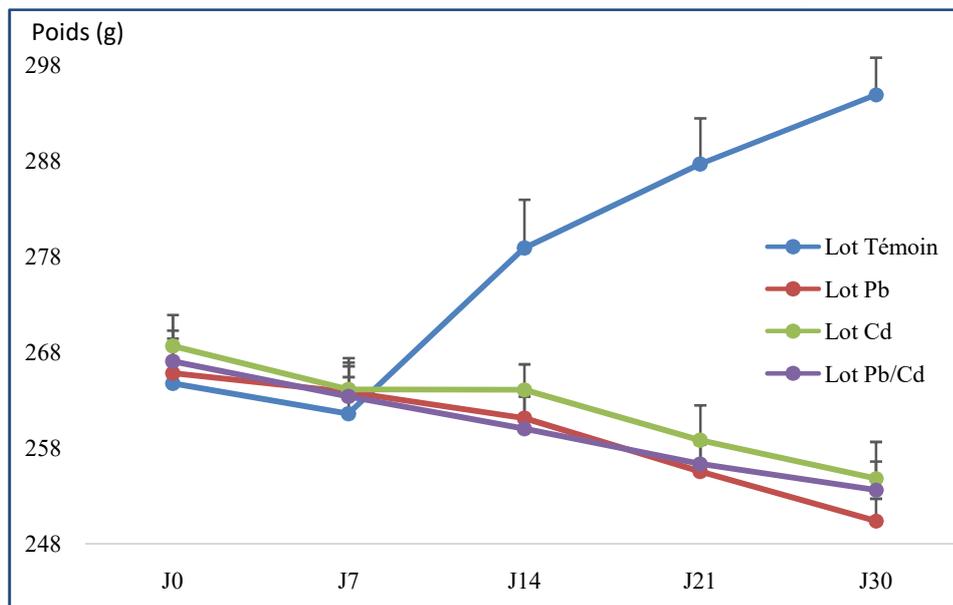


Figure 38 : Effet du de plomb et du cadmium sur l'évolution pondérale chez les rats traités pendant 28 jours comparés aux témoins.

IV.1.2 Poids final

A la fin de l'expérimentation, nous avons constaté que le poids final des animaux traités au Pb, Cd et Pb+Cd est inférieur à celui des animaux témoins (figure 39). L'analyse statistique met en évidence des différences hautement significatives ($p = 0,0001$).

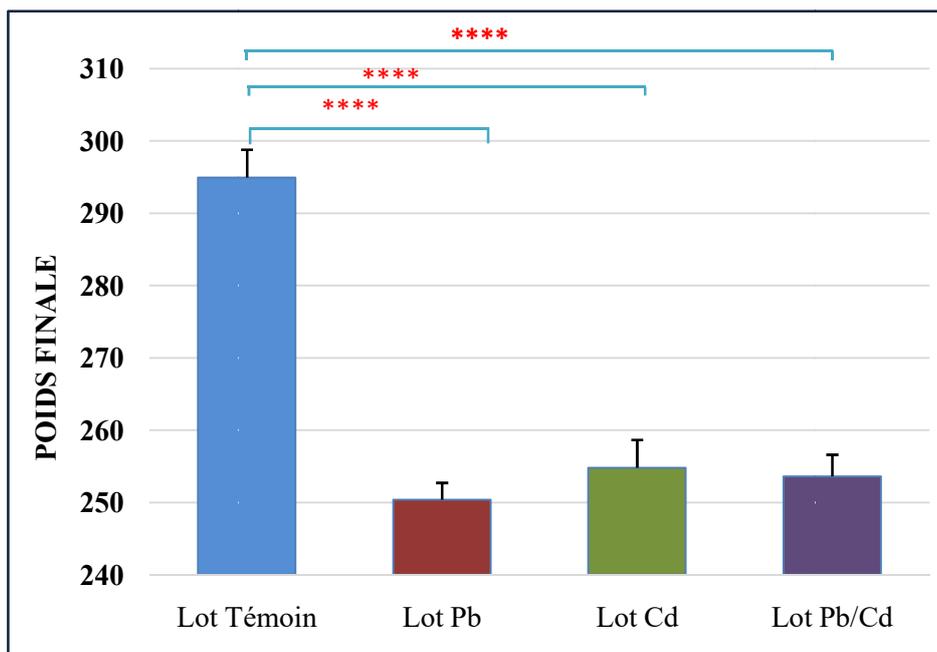


Figure 39 : Poids final des rats *Wistar* en fonction des lots expérimentaux.

IV.2 Effet du plomb et du cadmium sur le poids moyen des organes

Après 28 jours d'expérimentation, les animaux ont été sacrifiés et les organes prélevés puis pesés. Les moyennes des poids obtenues pour chaque organe (foie, rein et testicules) sont présentées dans le tableau N°28.

Tableau 28 : Valeurs moyennes des poids bruts des organes des rats mâles témoins et traités, après 28 jours d'expérimentation :

| Poids de l'organe | Lots de rats | | | |
|-------------------|-----------------|----------------|----------------|----------------|
| | Lots T | Lots Pb | Lots Cd | Lots Pb/Cd |
| Foie (g) | 11,28± 0,357 | 9,25± 0,266 | 8,51± 0,248 | 8,14± 0,242 |
| Rein(g) | 0,94± 0,011 | 0,80± 0,021 | 0,76± 0,010 | 0,72± 0,005 |
| Testicule (g) | 3,92± 0,132 | 3,04± 0,147 | 3,09± 0,059 | 2,71± 0,162 |

Les valeurs moyennes sont affectées de l'erreur standard à la moyenne (SEM).

* Pb Vs T, Cd Vs T, Pb/Cd Vs T,

*Pb Vs Cd, Pb Vs Pd/Cd, Cd Vs Pd/Cd

* $p \leq 0,05$ peu significatif ; ** $p \leq 0,02$ très significatif ; *** $p \leq 0,01$ très significatif ; **** $p \leq 0,001$ hautement significatif.

IV.2.1 Effet du plomb et du cadmium sur le poids moyen du foie chez les rats *Wistar*

Les poids bruts des foies des rats traités au plomb et au cadmium ont diminué par rapport à ceux des témoins correspondants (11,28±0,357 g). Cette diminution est hautement significative chez le lot 3 lots (Pb, Cd et Pb+Cd)($p \leq 0,001$) à savoir : 9,25±0,266 ; 8,51±0,248 et 8,14±0,242 g respectivement. La figure N°40 montre l'effet de la toxicité du cadmium et du plomb sur le poids moyen du foie chez les rats.

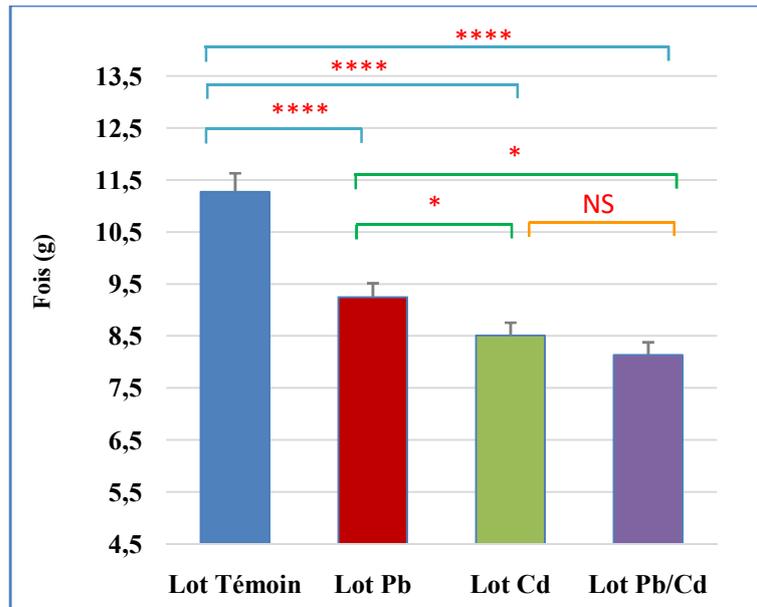


Figure 40 : Effet du cadmium et du plomb sur le poids moyen du foie.

IV.2.2 Effet de la toxicité du cadmium et du plomb sur le poids moyen des reins chez les rats *Wistar*

L'effet de la toxicité du plomb et du cadmium sur le poids moyen des reins sont illustrés sur la figure N° 41. En effet, le plomb et le cadmium ont entraîné une diminution significative du poids moyen des reins ($0,80 \pm 0,021$ et $0,76 \pm 0,010$ g) respectivement, comparativement aux animaux témoins ($0,94 \pm 0,011$ g). L'analyse statistique met en évidence une différence hautement significative entre le lot témoin et les 3 autres lots (Pb, Cd et Pb/Cd). Nous avons constaté une légère diminution mais significative ($p \leq 0,02$) chez le lot Pb par rapport aux lots Cd et Pb/Cd. Par ailleurs nous avons constaté une différence très significative entre le poids du rein du lot Cd par rapport à celui du lot Pb/Cd ($p \leq 0,002$) (Figure 41).

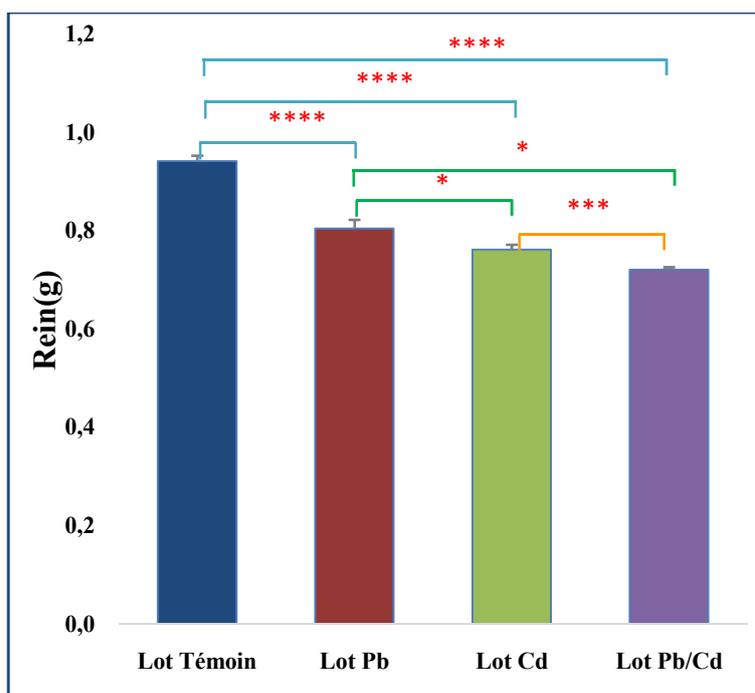


Figure 41 : Effet du plomb et du cadmium sur le poids des reins chez les rats Wistar.

IV.2.3 Effet de la toxicité du cadmium et du plomb sur le poids moyen des testicules chez les rats *Wistar*

Le poids des testicules du lot témoin se retrouve plus élevé que celui des lots traités. En effet, nous avons constaté une diminution hautement significative ($p \leq 0,001$) du poids moyen des testicules des lots Pb ($3,04 \pm 0,147$ g), Cd ($3,09 \pm 0,059$ g) et Pb+Cd ($2,71 \pm 0,162$ g) par rapport au poids moyen des testicules du lot témoins. Chez les rats intoxiqués au Pb+Cd, le poids relatif des testicules diminue d'une manière très significative ($p < 0,01$) par rapport au lot Cd et peu significative par rapport au lot Pb (Figure 42).

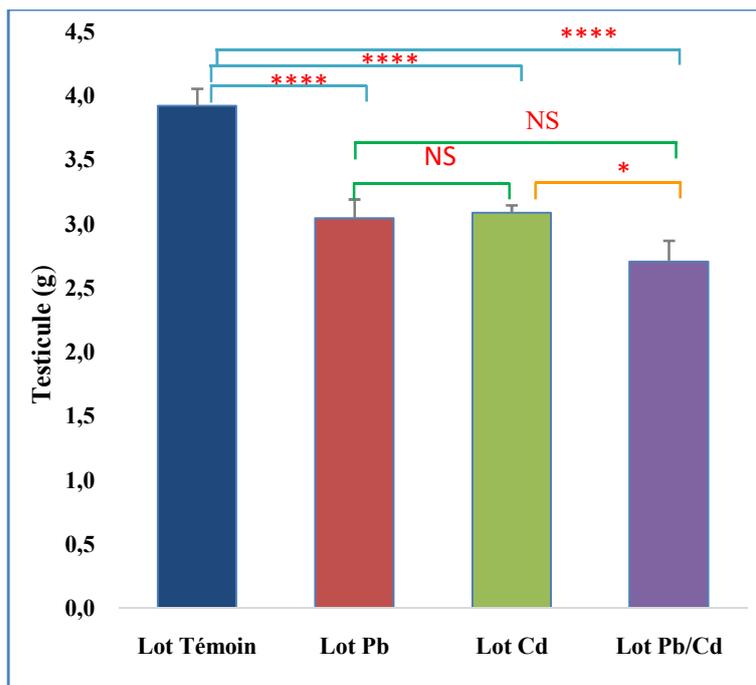


Figure 42 : Effet du plomb et du cadmium sur le poids des testicules chez les rats Wistar.

IV.3 Poids relatifs des organes

Les moyennes des poids relatifs (%) obtenues pour chaque organe à savoir : le foie (IPF/Pc), le rein (IPR/Pc) et les testicules (IPT/Pc) sont présentés dans le tableau N°29.

Tableau 29 : Valeurs moyennes des poids relatifs des organes des rats mâles témoins et traités, après 4 semaines d'expérimentation.

| Lots de rats | T | Pb | Cd | Pb/Cd |
|----------------|-------------|-----------------|----------------------|-----------------------|
| Poids relatifs | | | | |
| IPF / Pc (%) | 3,70 ± 0,12 | 3,53 ± 0,18*** | 3,10 ± 0,13**** **** | 3,08 ± 0,13 **** **** |
| IPR / Pc (%) | 0,32 ± 0,01 | 0,29 ± 0,01 * | 0,28 ± 0,01 ** | 0,28 ± 0,01 ** |
| IPT / Pc (%) | 1,46 ± 0,05 | 1,12 ± 0,11 *** | 1,13 ± 0,3 *** | 1,02 ± 0,07 *** ** |

Les valeurs moyennes sont affectées de l'erreur standard à la moyenne (SEM).

*PbVs T, Cd Vs T, Pb/Cd Vs T,

*Pb Vs Cd, Pb Vs Pb/Cd, Cd Vs Pb/Cd,

*p ≤ 0,05 peu significatif ; ** p ≤ 0,02 très significatif ; *** p ≤ 0,01 très significatif ; ****p ≤ 0,001 hautement significatif

Après ces calculs, nous avons constaté :

- Une élévation très significative ($p \leq 0,01$) de l'IPF/Pc du lot Pb et hautement significative du lot Cd et Pb/Cd ($p \leq 0,001$) par rapport à leurs témoins correspondants. Cependant la différence entre l'IPF/Pc du lot Cd versus Pb est hautement significative ($p \leq 0,01$) ainsi que Pb/Cd versus Pb.

- L'IPR/Pc des rats du lot Pb est plus bas mais de manière peu significative ($p \leq 0,05$) que celui du lot témoins qui est plus élevé que celui du lot Cd. L'analyse statistique met en évidence des différences très significatives entre les indices des lots Pb, Pb/Cd et MT, par contre nous avons enregistré une différence non significative ($p \leq 0,05$) entre les lots Pb, Cd et Pb/Cd.

- L'IPT/Pc du lot témoins est plus élevé que ceux des lots Pb, Cd et Pb/Cd, lequel est très voisin entre Pb et Cd. Cependant la différence entre l'IPC/Pc du lot Pd versus Pb/Cd est très significative ($p \leq 0,01$) ainsi que Cd versus Pb/Cd.

IV.4 Biochimie sériques

IV.4.1 Evaluation de l'action du plomb et du cadmium sur les paramètres hématologiques

Les résultats de l'examen hématologique (FNS), réalisé par un *coulter VetScil*, chez l'ensemble des rats mâles sont rapportés dans le tableau N°30. Après 28 jours d'administration de plomb et de cadmium aux rats d'expérimentation nous constatons des variations des paramètres hématologiques. Les taux d'hémoglobine (HB), d'hématocrite (HT) et de globules rouges (GR) des rats traités ont diminué comparativement à ceux des rats témoins.

Tableau 30 : Valeurs moyennes de la FNS des rats témoins et ceux traités après 28 Jrs d'expérimentation.

| Paramètres \ Lots de rats | Lot T | Lot Pb | Lot Cd | Lot Pb/Cd |
|--------------------------------------|---------------|---------------|---------------|--------------|
| Hémoglobine (g/dl) | 15,79 ± 0,28 | 13,97 ± 0,228 | 14,99 ± 0,261 | 13,4 ± 0,204 |
| Globule rouge ($10^6/\text{mm}^3$) | 8,07 ± 0,065 | 6,63 ± 0,158 | 7,83 ± 0,077 | 6,36 ± 0,195 |
| Hématocrite (%) | 49,66 ± 1,059 | 45,47 ± 0,638 | 46,01 ± 0,935 | 44,4 ± 0,610 |

L'analyse de variance met en évidence des différences très significatives entre les différents lots traités par rapport aux témoins, à l'exception de l'hématocrite qui affiche une augmentation peu significative ($p \leq 0,05$) chez les lots Pb et Pb+Cd (Figures N° 43).

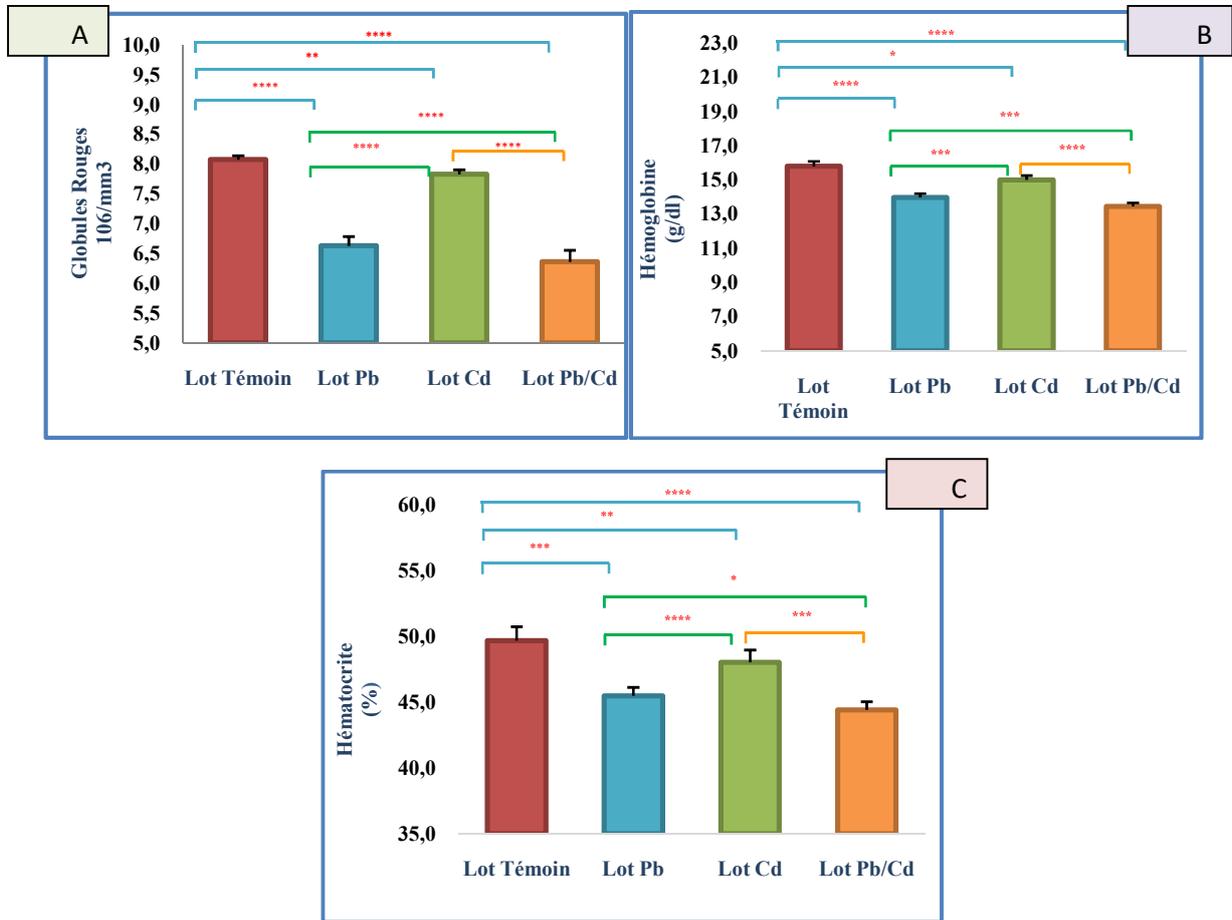


Figure 43 : effet du plomb et du cadmium sur les paramètres hématologiques.

Les valeurs moyennes sont affectées de l'erreur standard à la moyenne (SEM).

* Pb Vs T, Cd Vs T, Pb/Cd Vs T,

Pb Vs Cd, Pb Vs Pd/Cd, Cd Vs Pd/Cd

* $p \leq 0,05$ peu significatif ; ** $p \leq 0,02$ très significatif ; *** $p \leq 0,01$ très significatif ; **** $p \leq 0,001$ hautement significatif

IV.4.2 Effet de l'action du plomb et du cadmium sur la fonction hépatique

Le tableau N°31 montre que le plomb et le cadmium ont induit une élévation de l'activité de l'Alanine Aminotransférase (ALT/GPT) et de l'Aspartate Aminotransférase (AST/GOT) chez les rats.

Tableau 31 : Effet du Pb et Cd sur la fonction hépatique (ALT et AST).

| Paramètres | Lot T | Lot Pb | Lot Cd | Lot Pb/Cd |
|-----------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| ALT(GPT) (U/dl) | 13,54±0,571 | 15,00±0,354 | 15,47±0,335 | 15,61±0,332 |
| AST(GOT) (U/dl) | 45,69±0,542 | 47,61±0,636 | 48,48±0,655 | 48,24±0,659 |

IV.4.2.1 Variation des taux de l'AST (GOT)

Les résultats obtenus montrent que le sulfate de cadmium et le plomb ont provoqué une forte augmentation des taux sériques de GOT (Figure 44) chez les rats après 28j d'expérimentation, cette augmentation est très significative ($p \leq 0,05$) chez le lot Pb, hautement significative chez le lot Pb et le lot (Pb+Cd), par rapport à leurs témoins correspondants.

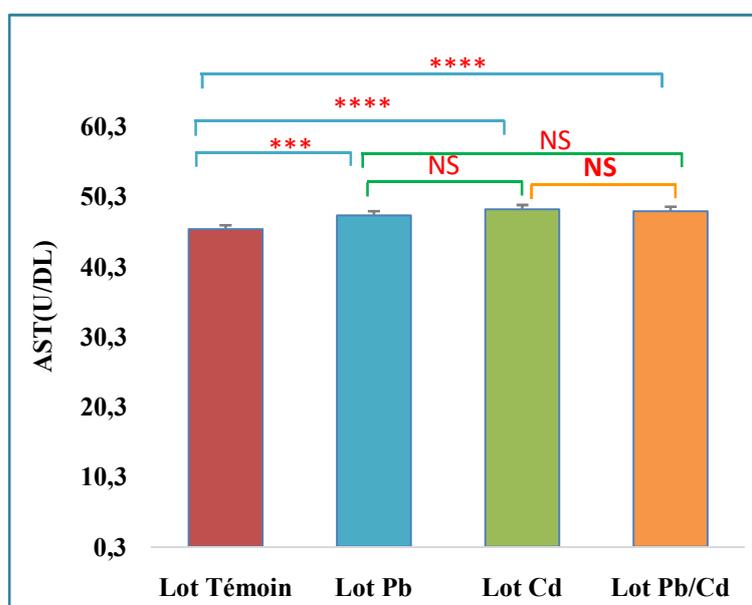


Figure 44 : AST (U/dl) des rats témoins et ceux traités après 28J d'expérimentation.

IV.4.2.2 Variation des taux d'ALT (GPT)

Les GPT montrent une élévation chez les rats traités au plomb et au cadmium pendant les 28J d'expérimentation. L'analyse statistique révèle, en comparaison avec les lots témoins, une augmentation très significative ($p \leq 0,01$) chez le lot Cd et Pb+Cd et peu significative ($p \leq 0,05$) chez le lot Pb, alors qu'elle se retrouve non significative ($p \leq 0,05$) chez le lot Pb et Cd en comparaison avec les Pb+Cd (Figure 45).

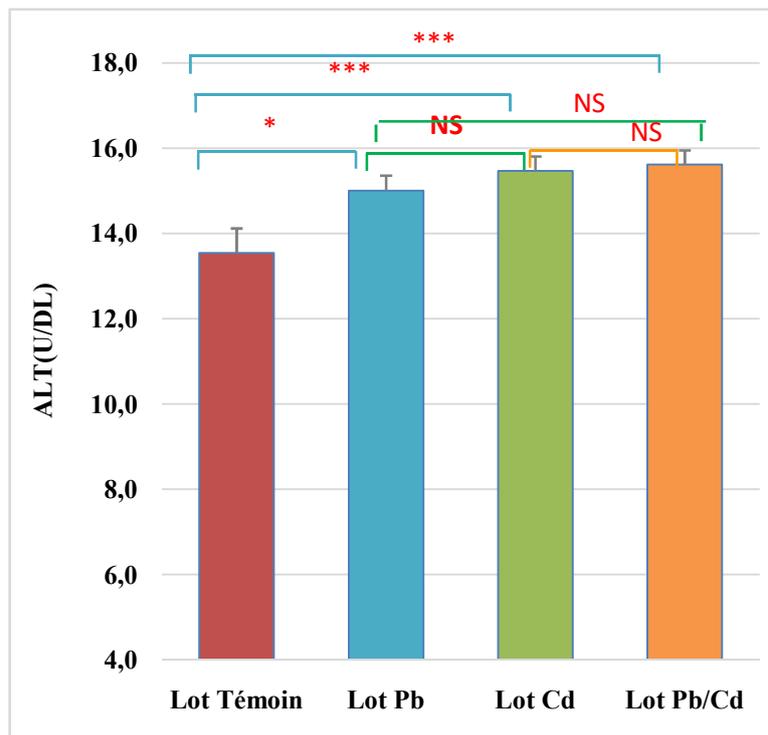


Figure 45 : ALT (U/dl) des rats et témoins et traités après 28Jd'expérimentation.

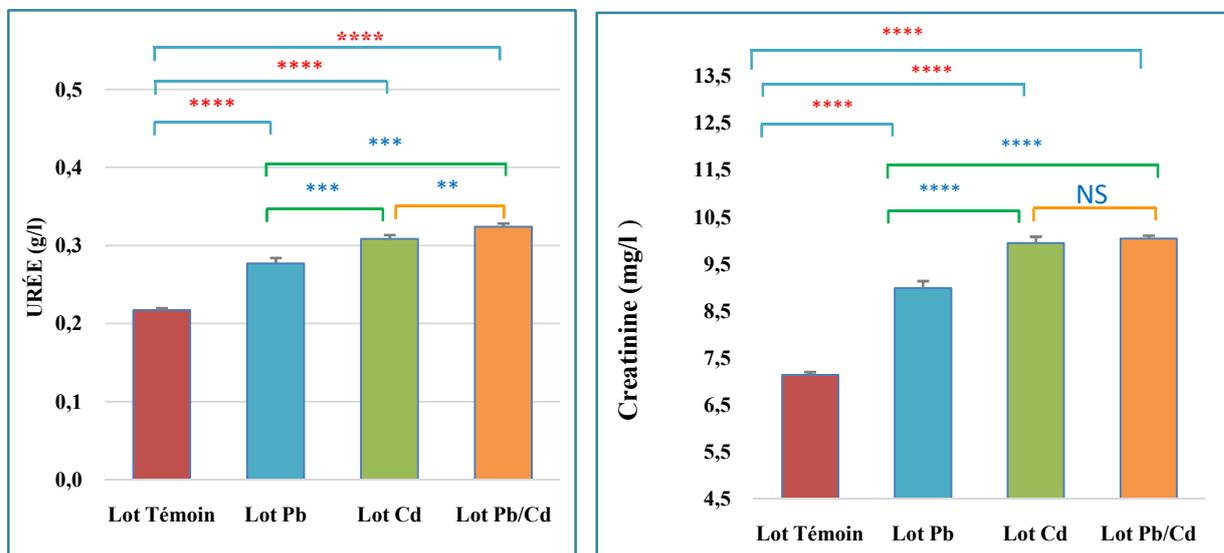
IV.4.3 Effet sur la fonction rénale :

L'administration du sulfate de cadmium et du plomba induit une augmentation du taux de l'urée chez les rats. Cette augmentation est plus importante chez les rats exposés au Cadmium et le lot Pb+ Cd avec des taux respectifs de 9,95±0,133 (g/l) et 10,04±0,061 g/l (tableau N°32).

Tableau 32 : Effet du Pb et Cd sur la fonction rénale (Urée et Créatinine).

| Paramètres \ Lots de rats | Lot T | Lot Pb | Lot Cd | Lot Pb/Cd |
|---------------------------|------------|------------|------------|-------------|
| Urée (g/l) | 0,22±0,003 | 0,28±0,007 | 0,31±0,005 | 0,32±0,004 |
| Créatinine (mg/l) | 7,14±0,053 | 8,99±0,146 | 9,95±0,133 | 10,04±0,061 |

L'analyse biochimique du plasma à la fin de l'expérimentation montre une augmentation des taux de créatinine et d'urée chez les rats traités dans les trois lots (Pb, Cd et Cd+Pb) par rapport au lot témoin. L'analyse statistique montre une différence hautement significative chez le lot Pd ($p \leq 0,001$) chez le lot Cd ($p \leq 0,001$) et le lot Pb+Cd ($p \leq 0,001$) par rapport au lot témoin. À l'exception de la créatinine qui affiche une augmentation non significative chez les lots Cd et Pb+Cd (Figure N°46).



Les valeurs moyennes sont affectées de l'erreur standard à la moyenne (SEM).

* Pb Vs T, Cd Vs T, Pb/Cd Vs T,

*Pb Vs Cd, Pb Vs Pd/Cd, Cd Vs Pd/Cd

* $p \leq 0,05$ peu significatif ; ** $p \leq 0,02$ très significatif ; *** $p \leq 0,01$ très significatif ; **** $p \leq 0,001$ hautement significatif.

Figure 46 : (A) Urée (g/l) et (B) créatinine (mg/l) des rats témoins et traités après 28Jd'expérimentation.

XI-Etude histologique

XI.1.L'effet du plomb et le cadmium sur l'architecture structurale du foie

Les coupes de tissus hépatiques, prélevés chez les rats témoins, ont montré des plages d'hépatocytes normales (figure 47A).

Chez les rats exposés au plomb (figure 47B) des lésions inflammatoires (Flèches)

Chez les rats exposés au Cd (figure 47C), une binucléation a été observée avec un noyau volumineux.

Chez les rats exposés au Cd/Pb (figure 47D) montre des lésions inflammatoires exsudatives au niveau du tissu hépatique

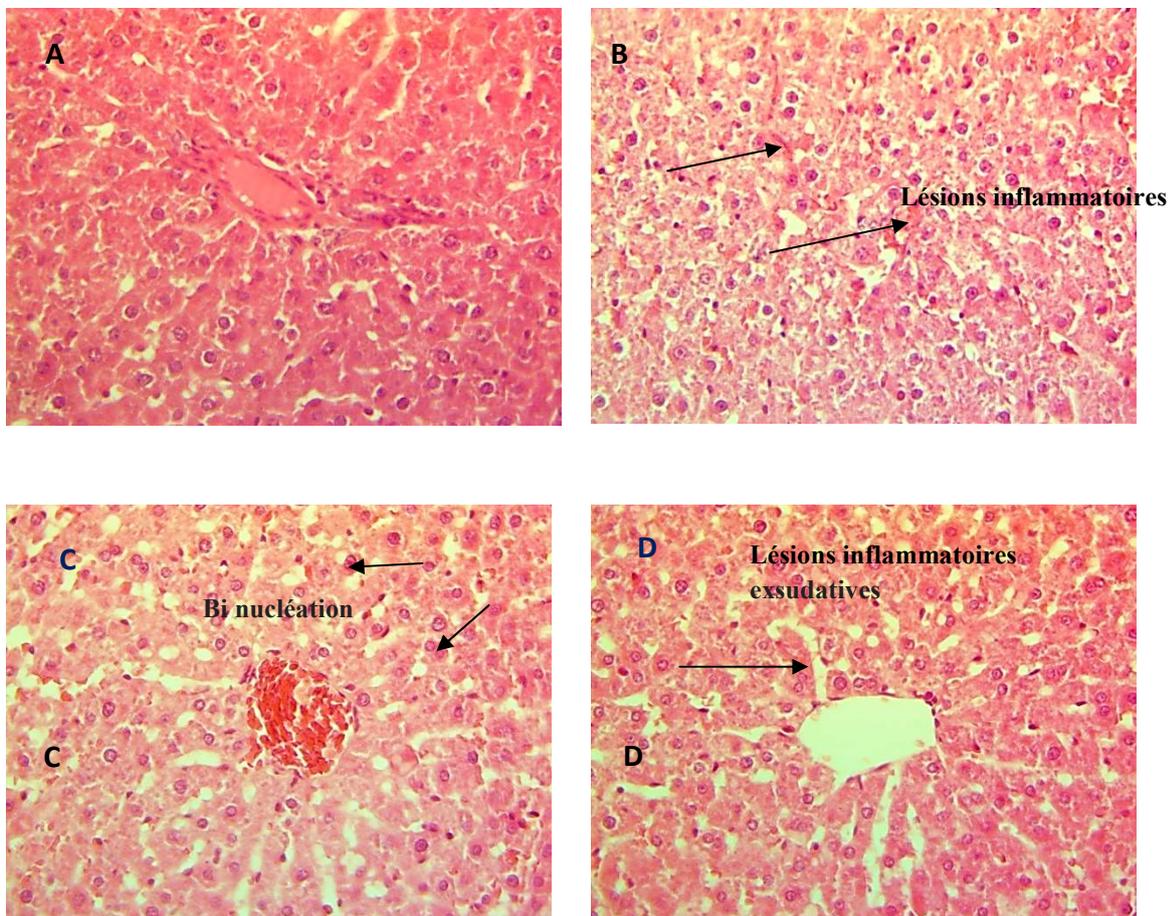


Figure 47 : Examen microscopique du tissu hépatique.

Figure 47 (A) Tissu hépatique d'un rat témoin *H&E*(GX100)

Figure 47 (B) Tissu hépatique d'un rat exposé au plomb *H&E*(GX100)

Figure 47 (C) Tissu hépatique d'un rat exposé au cadmium *H&E*(GX100)

Figure 47 (D) Tissu hépatique d'un rat exposé aux cadmium et plomb *H&E*(GX100) .

XI.2.L'effet du plomb et le cadmium sur l'architecture structurale des reins

La coupe histologique d'un rein des rats témoins (figure 48A), montrent une architecture normale des tubules et des glomérules dans la zone corticale.

Chez les rats traités à 1mg/l au plomb (figure 48 b), montre des lésions inflammatoires (Flèches)

Des rats, exposés au Cd 1mg/l (figure 48c) montre une dégénérescence tubulaire considérable avec une atteinte glomérulaire avec lésions inflammatoires exsudatives (Flèches).

Chez les rats traités à 1mg/l au plomb/cadmium (figure 48 D), Cellules rénales avec des noyaux volumineux (NV) (HE × 100).

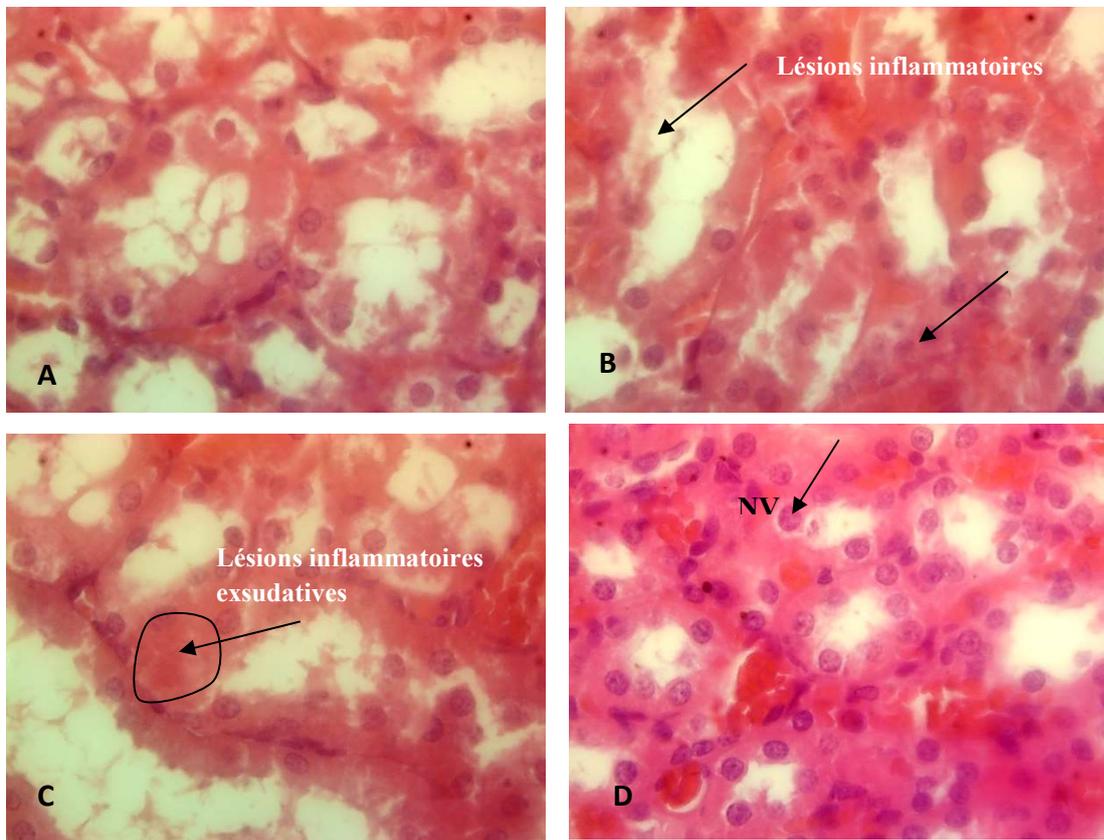


Figure 48 : Examen microscopique du tissu rénal

Figure 48(A) : Tissu rénale d'un rat témoin *H&E* (GX100)

Figure 48 (B) Tissu rénale d'un rat exposé au plomb *H&E* (GX100)

Figure 48 (C) Tissu hépatique d'un rat exposé au cadmium *H&E*(GX100)

Figure 48 (D) Tissu rénale d'un rat exposé au cadmium et plomb *H&E* (GX100)

XI.3.L'effet du plomb et le cadmium sur l'architecture structurale du testicule

L'étude histologique réalisée au niveau du testicule révèle une architecture normale chez les animaux témoins (figure 49 a). La figure montre des tubes séminifères serrés et des espaces interstitiels faibles avec une lumière remplie de spermatozoïdes. Nous observons les différents stades de la spermatogenèse qui se déroulent d'une façon centripète au niveau de la paroi des tubes. Les spermatogonies de petites tailles sont situées à proximité de la membrane basale. Les spermatocytes de plus grandes tailles sont à noyaux volumineux. Les spermatides plus petites sont situées vers l'intérieur des tubes. Les spermatozoïdes murs remplissent la totalité de la lumière des tubes séminifères par leurs flagelles. Chez les rats traités à 1mg/l au plomb (figure 49 b), montre une diminution du taux des spermatozoïdes dans la lumière des tubes séminifères. Chez les rats intoxiqués à 1 mg/l au cadmium (figure 49 c), montre une diminution du taux des spermatozoïdes dans la lumière des tubes séminifères et que les différents stades sont touchés. Chez les rats intoxiqués à 1mg/l au cadmium/plomb (figure 49d), les altérations histologiques semblent être plus sévères nous observant une atrophie des tubes séminifères avec une lumière totalement vide en spermatozoïdes.

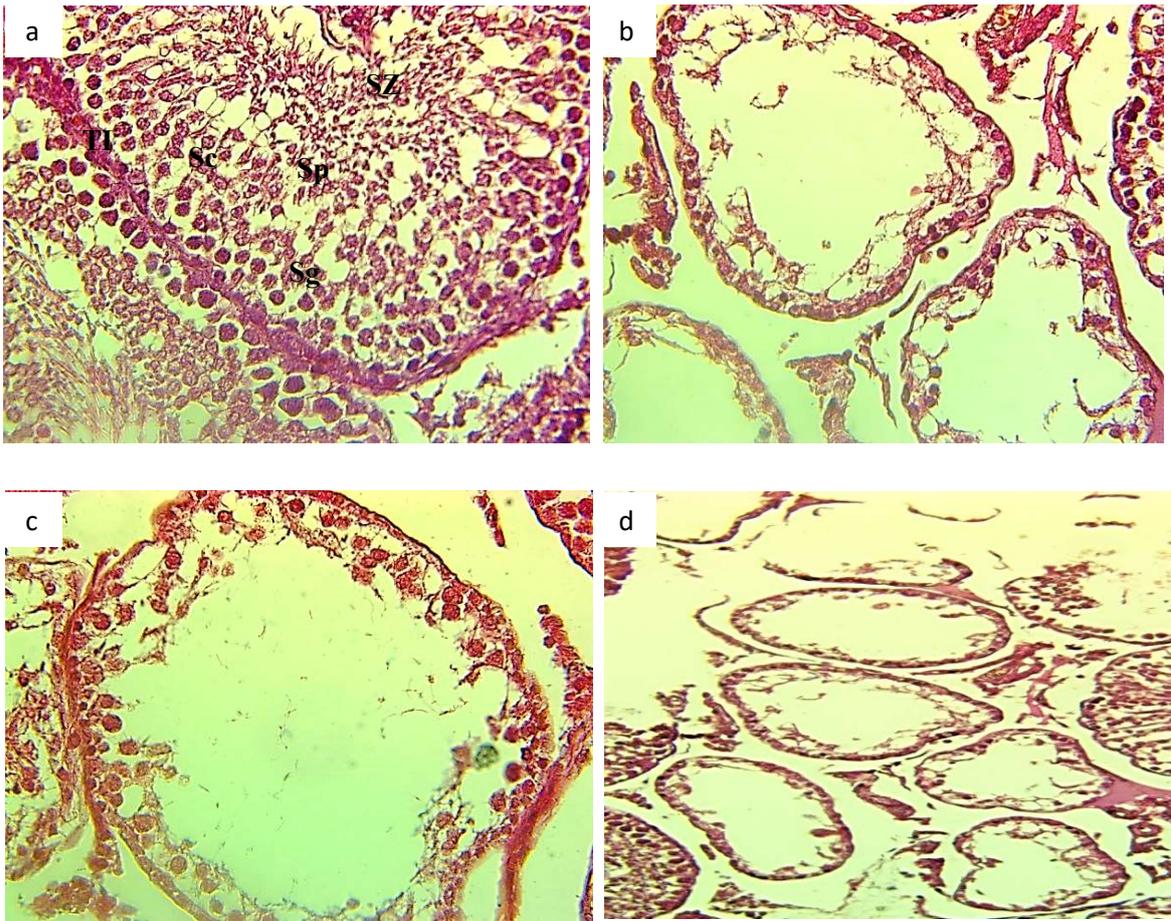


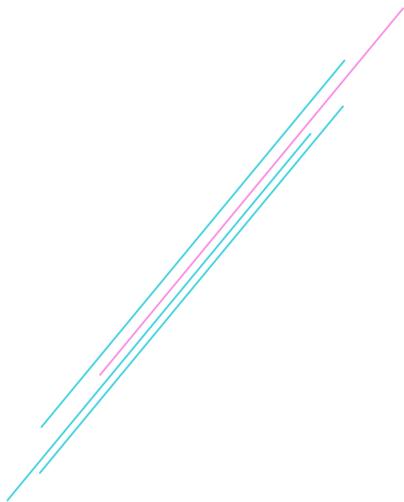
Figure 49 : Structure histologique des testicules

Figure 49 a : Structure histologique des testicules de rats témoins. TS Tubes séminifères TI : Tissu interstitiel, Sg: Spermatogonies, Sc: Spermatocytes I et II, Sp : Spermatides, Sz : Spermatozoïdes *H&E(GX100)*.

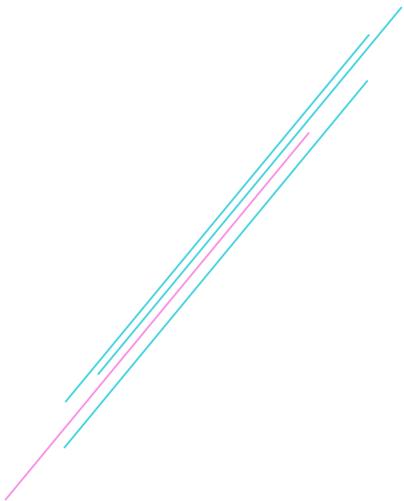
Figure 49 b : Tissu testiculaire d'un rat exposé au plomb *H&E(GX100)*

Figure 49 c : Tissu testiculaire d'un rat exposé au cadmium *H&E(GX100)*

Figure 49 d : Tissu testiculaire d'un rat exposé au cadmium et plomb *H&E(GX100)*.



Discussion Générale



V Discussion Générale

Les métaux lourds sont les plus préoccupants de tous les contaminants de l'environnement, réputés pour leur toxicité et ubiquité. Dans l'organisme, ils peuvent affecter plusieurs systèmes. Certains de ces métaux lourds (cadmium, plomb) possèdent des activités toxicologiques sur plusieurs organes et leurs fonctionnements (systèmes nerveux, hépatique, rénal). Comme pour la plupart des ETM, ils se transmettent et s'accumulent tout le long de la chaîne alimentaire, et ne sont que très faiblement éliminés, ce qui attire l'attention sur les contaminations chroniques. Cependant, à des concentrations plus élevées que la normale, ils peuvent entraîner des nuisances plus ou moins graves pour les animaux et l'homme. Leur impact sur la santé des êtres vivants et leur capacité à perturber beaucoup de paramètres physiologiques font du plomb et du cadmium une préoccupation majeure, qui prend de plus en plus d'ampleur dans la recherche sur l'environnement et dans l'évaluation du risque liée aux polluants (**Abrahams et Blackwell, 2013**).

Les risques toxiques auxquels sont confrontés les ruminants sont très fréquents, mais demeurent difficiles à identifier du fait de la diversité des sources qui en sont responsables. Les intoxications sont généralement accidentelles ou fortuites à la suite d'une ingestion d'aliments contaminés ou par exposition inévitable lors de pollution de l'environnement, ou bien encore à cause d'une négligence lorsque les produits toxiques sont laissés accessibles aux animaux sans précautions.

Les ruminants sont des organismes bioaccumulateurs des éléments toxiques en raison de leur mode d'alimentation en pâturages. Ils peuvent se contaminer en ingérant des végétaux, soit directement au pré, soit à partir de végétaux récoltés sur zone polluée, ils accumulent les métaux lourds dans différents tissus et organes, ces derniers constituent une source d'exposition du consommateur.

La consommation des abats, particulièrement le foie, est très prisé en Algérie en raison de sa teneur élevée en fer et également une source importante de vitamines, de protéines, de lipides. Ce qui peut entraîner une ingestion indirecte de plomb et de cadmium, représentant une menace sérieuse et un grave problème pour la santé publique. En Algérie, Il existe un véritable déficit en matière de danger lié à la consommation des abats des bovins et ovins, et la menace potentielle pour la sécurité sanitaire alimentaire reste à notre avis sous-estimée. Peu de données existent concernant la recherche des métaux lourds dans les abats (foie et rein) des bovins et ovins, c'est ce qui a suscité notre intérêt pour aborder cette

thématique de recherche. Il est à signaler que l'absence d'informations sur les origines du cheptel destiné à l'abattage (identification, autres documents accompagnant l'animal à l'abattoir etc.) rend impossible la mise en application d'un système de traçabilité, qui permettrait de remonter à la source de contamination.

V.1 Prévalence des métaux lourds (Plomb/Cadmium)

Sur les 180 échantillons analysés, 48 ont révélé une contamination non négligeable soit 13/100 (13%) des échantillons ovins et 35/80 (43,75%) des échantillons bovins sont contaminés par le plomb et cadmium. Nos résultats indiquent que les métaux recherchés (plomb et le cadmium) sont présents dans les échantillons étudiés à des taux plus élevés chez les bovins que les ovins. Ce résultat est supérieure de celui enregistré par **Canty et al.,(2014)** en Irlande avec une prévalence de 11,3% chez les bovins et sont similaires à ceux enregistrés par **Akan et al.,(2010)** ; **Bala et al., (2012)** ; **Abdel-Salam et al., (2013)** avec une prévalence de 28% et 8% chez les bovins et des ovins.

L'étude réalisée en Espagne sur des bovins et ovins élevés auprès d'une ancienne mine, a montré des plombémies élevées chez les bovins (91,4%) et les ovins (13,5%) (**Rodríguez-Estival et al., 2012**). Dans la même zone, une autre étude réalisée sur l'évaluation du risque lié au transfert du Pb dans la chaîne alimentaire, a enregistré un taux de contamination de 77.3% chez les ovins, associé à un saturnisme sub clinique, ce qui s'expliquerait par la contamination des sols, représentant une source d'exposition directe pour le bétail pâturant (**Carrera et al.,2014**). Selon **Thornton et Abrahams,(1983)** l'ingestion de la terre au pâturage ou incorporée à la ration lors des récoltes est une source majeure de contamination aux métaux lourds.

Les études menées par **Baker et Walker, 1990** ont révélé que le plomb est considéré comme le premier métal impliqué dans des cas d'intoxications aiguës ou chroniques chez les ruminants. Ces intoxications peuvent être dues aux peintures à base de ce métal, au léchage de batteries abandonnées dans les champs, à la contamination de l'ensilage par des plombs de chasse ou aux silos peints à l'intérieur. Certains auteurs pensent que chez les ruminants, l'acide acétique produit par les fermentations du rumen pourrait conduire à une recombinaison sous forme d'acétate de plomb plus toxique. Pour d'autres, l'acétate de plomb serait transformé en sulfate de plomb insoluble au niveau du rumen (**Black et al.,1992**).

Les résultats de notre étude reflètent des niveaux excessifs d'exposition aux métaux lourds. Les animaux pourraient potentiellement avoir ingéré des métaux lourds dans l'environnement, étant donné leur accès libre au pâturage et boivent de l'eau dans les étangs, les ruisseaux, les rivières et d'autres sources d'eaux contaminées. La majorité des champs de fourrage sont cultivés dans des petites parcelles, le plus souvent traversées par les automobiles, ce qui explique que la contamination est souvent accidentelle par ingestion involontaire des aliments au pâturage ou par les fourrages contaminés.

L'alimentation reste ainsi la source majeure d'exposition aux métaux lourds. Il est donc possible que les habitudes alimentaires des bovins étudiés conduisent à une bioaccumulation des métaux lourds dans le foie et les reins. En général, les métaux lourds toxiques comme le Pb et le Cd ont des taux d'élimination lents, de sorte que des niveaux nocifs pourraient s'accumuler dans les tissus après une exposition prolongée à des quantités même faibles dans l'environnement (Doyle *et al.*, 1978, Humphrey, 1991).

Une corrélation étroite a été signalée entre la concentration de métaux lourds dans les tissus de bovins et celles dans le sol, l'alimentation et l'eau potable par Sedki *et al.*,(2003) ; Qiu *et al.*,(2008). Il est donc possible que les bovins et ovins, objet de notre étude soient issus d'une zone polluée et leurs habitudes alimentaires ont conduit à la bioaccumulation des métaux lourds dans leurs foie et reins.

V.2 Contamination par les métaux lourds en fonction de l'espèce et de l'organe

V.2.1 Chez les ovins

Les résultats obtenus montrent que la concentration moyenne du plomb est de $0,259 \pm 0,021$ mg/kg dans le foie et de $0,265 \pm 0,03$ mg/kg dans les reins. 8% des échantillons de foies et de reins contiennent des concentrations de plomb comprises entre 0,58mg/kg et 0,88mg/kg, valeurs supérieures aux limites proposées par la réglementation européenne (CE) pour les deux organes (0,5 mg / kg). Plusieurs études se sont intéressées à la recherche des métaux lourds (Pb et Cd) dans le foie et les reins des ovins à travers le monde.

Les études menées en Iran par Bazargani-Gilani *et al.*,(2016) et kazemeini *et al.*, (2010) ainsi qu'en Egypte par Khalafalla *et al.*, (2015) ont révélé des taux de contamination respectifs dans le foie de 0,7mg/kg ; 0,3mg/kg et 1,8mg/kg ; et dans les reins de 0,5mg/kg ; 0,303mg/kg et 2,94mg/kg. Les résultats enregistrés dans notre étude sont proches de ceux de kazemeini *et al.*,(2010) mais inférieurs à ceux enregistrés par Bazargani-Gilani *et*

al.,2016 et *Khalafalla et al.,2015*. Ils sont également supérieurs à ceux notés par **Darwish et al.,(2015)** en Egypte avec des taux de 0,11 mg/kg dans le foie et 0,17 mg/kg dans le rein de mouton et en Libye par **Marzouk et al., 2016** avec un taux de 0,083 mg/kg dans le foie et 0,088 mg/kg dans le rein.

Concernant le cadmium les concentrations moyennes sont de $0,241\pm 0,022$ mg/kg dans les échantillons de foie, et de $0,232\pm 0,033$ mg/kg dans les échantillons de rein. 8% des échantillons de foies et 2% des reins (0,605 et 1,019 mg/kg respectivement) contenaient des concentrations de cadmium supérieures aux limites proposées par la réglementation européenne (CE) dans le foie et les reins (0,5 à 1 mg/kg).

Dans le monde, des résultats inférieurs aux nôtres ont été observés, en Brésil, par **Reis et al.,(2010)**avec une contamination moyenne de 0,05 et 0,10mg/kg respectivement dans le foie et le rein ; et en Iran, dans une étude menée par **Darwish et al., (2015)** avec des taux de 0,11mg/kg dans le foie et de 0,137 mg/kg dans les reins. Des taux de contamination plus élevés que les nôtres ont été enregistrés dans certaines localités. Au Niger, l'étude de **Akan et al.,(2010)** sur la recherche du cadmium dans le foie et les reins des ovins ont révélé des taux de 0,456 et 0,76 mg/kg respectivement dans le foie et les reins.

La contamination par le plomb et le cadmium a été recherchée dans la laine de mouton de la race Ouled Djellal en Algérie par **Mehennaoui et al., 2001** pour déterminer le degré d'exposition de l'animal aux différents contaminants de l'environnement, ils ont constaté que les quantités de métaux (plomb et Cd) déposées sur la laine de moutons étaient le témoin d'une pollution atmosphérique, la contamination de l'alimentation des animaux a déjà été confirmée par **Pereira et al.,(2004)**.

Les résultats de notre étude montrent que les taux de contamination par le plomb et le cadmium dans le foie et les reins augmentent avec l'âge des ovins, les taux les plus élevés ont été enregistrés chez les femelles (brebis). La concentration la plus élevée en plomb (0,880mg/kg) a été enregistrée dans la catégorie d'âge supérieur à 1 an, plus précisément dans les reins de brebis de plus de 5 ans, et le foie 0,580mg/kg ; tandis que les concentrations les plus faibles ont été observées dans le foie (0,005 mg/kg) et dans les reins 0,03mg/kg des ovins âgés de moins d'un an. Les concentrations les plus élevées en cadmium ont été enregistrées dans le rein (1,019mg/kg) et le foie (0,605 mg/kg) dans la catégorie d'âge supérieur à 1an (brebis de 5ans).

Il a été établi dans la littérature que la bioaccumulation des métaux lourds se fait au long des années. Certains auteurs ont observé une augmentation des taux de métaux lourds avec l'âge des ovins et par conséquent, les plus âgés étaient plus contaminés que les jeunes. **Bazargani-Gilani et al.,(2016)** en Iran, ont constaté un taux de contamination par le plomb de 0,925mg/kg et 0,990mg/kg dans le foie et le rein respectivement chez les ovins âgés de plus de 3ans. En Pologne, **Mariusz, (2009a)** constaté que la contamination du foie et des reins des ovins par le Cd et le Pb dépendait de l'âge des animaux et que l'analyse statistique a révélé une corrélation positive entre l'âge et la contamination des organes.

Etant donnée, que les taux de contamination les plus élevés ont été enregistrés chez les brebis, différentes études ont montré que le plomb et le cadmium traversaient la barrière placentaire pour contaminer le fœtus dès le premier trimestre (**Bellinger et al., 1987 ; Goyer, 1996**). La distribution du métal chez le fœtus est similaire à celle rencontrée chez l'adulte, le plomb s'accumule dans la plupart des organes fœtaux, incluant le foie, les reins, le cerveau, l'intestin et surtout les os (**Pinault et Milhaud, 1998 ; Bismuth et al., 2002**).Le plomb peut aussi passer de la mère à l'enfant par l'intermédiaire du lait maternel ; sachant que la mobilisation du plomb osseux durant la lactation semble être supérieure encore à celle observée durant la gestation (**Roquet-Noël, 2002**).

V.2.2 Chez les bovins

Dans la présente étude, les concentrations moyennes en plomb enregistrées dans les échantillons de foie et de rein de bovins étaient de $0,502 \pm 0,051$ mg/kg et $0,497 \pm 0,077$ mg/kg respectivement. Certaines données bibliographiques confortent nos résultats. Ainsi, **Al-naemi ,(2011)** en Iraq a noté des concentrations moyennes de 0,472 et 0,398mg/kg dans le foie et le rein respectivement ; et **Abou Donia ,(2008)** en Egypte a enregistré des valeurs de 0,510mg/kg au niveau du foie et 0,599 mg/kg au niveau des reins. Nos résultats sont inférieurs à ceux d'**AdawyElsayed et al.,(2015)** en Égypte qui ont noté des concentrations moyennes de 0,83mg/kg et 1,04mg/kg respectivement dans le foie et le rein. **Khalafalla et al., (2015)** en Égypte ont enregistré des concentrations moyennes de 3,99mg/kg et 1,76mg/kg respectivement dans le foie et le rein. **Bala et al., (2013)** au Niger ont trouvé des concentrations moyennes de 1,887mg/kg et 1,279mg/kg respectivement dans le foie et le rein. **Mariam et al., (2004)** ont montré des concentrations moyennes de plomb de 2,18 et 2,02 mg/kg respectivement dans le foie et le rein. Il est de même pour celle menée par **Spierenburg et al.,(1988)** avec une concentration de plomb très élevé dans le foie et les reins chez bovins qui pâture dans un rayon de 20 km des raffineries de zinc. L'exposition

au plomb peut être causée par l'eau potable, les aliments, l'air, le sol (**Lenntech, 2004**). L'empoisonnement au plomb (Pb) provoque une inhibition de la synthèse de l'hémoglobine, dysfonctionnement rénale et lésions du système nerveux (SNC) (**Ogwuegbu et Muhanga, 2005**).

La toxicité du plomb est principalement causée par la négligence humaine. Les batteries et les piles jetées sont les causes les plus courantes d'empoisonnement au plomb chez les bovins, car les batteries et les piles deviennent fragiles avec le temps et sont facilement accessibles et léchées ou mangées. Le plomb et d'autres métaux lourds ont tendance à se loger dans le réticulum (avant-estomac) des ruminants, cela fournit un réservoir à partir duquel le plomb peut continuer à être absorbé dans le corps des bovins. Les risques d'empoisonnement au plomb peuvent augmenter pendant la sécheresse. Les ruminants affamés peuvent développer un appétit dépravé (pica), en particulier s'ils souffrent de carences en oligo-éléments ou en minéraux. Ils pénètrent dans des zones interdites, comme autour des hangars de ferme ou de la décharge de la ferme où il y a des résidus d'aliments. Moins de couverture de pâturage rend plus probable que les ruminants soient exposés aux dangers.

Concernant le Cadmium, nos résultats sont inférieurs à ceux enregistrés par **Swaileh et al., 2009**, qui ont enregistré des valeurs de 0,57 dans le foie et 0,55 mg/kg dans les reins. **Mariam et al., (2004)** au Pakistan, ont noté chez le bœuf, des concentrations moyennes de cadmium de 0,42 et 0,909 mg/kg dans le foie et les reins respectivement.

Nos résultats sont supérieurs à ceux enregistrés par plusieurs auteurs, notamment ceux de **AdawyElsayed et al., (2015)** qui ont observé des concentrations moyennes de 0,31 et 0,16mg/kg respectivement dans le foie et le rein ; **Al-naemi, 2011** a noté des concentrations de 0,059 et 0,097mg/kg au niveau du foie et rein respectivement et de **Khalafalla et al., 2015** avec des concentrations moyennes de 0,25 et 0,11mg/kg respectivement foie et rein. D'autres travaux menés par **Phillips et Tudoreanu, 2011** et **Spierenburg et al., 1988** ont noté des concentrations moyennes de cadmium dans le foie et les reins de bovins élevés dans des zones non polluées de 2,0 et 3,90 mg//kg respectivement. Ces auteurs ont conclu que l'exposition à de faibles doses à long terme favorise également l'accumulation du cadmium.

Concernant les catégories d'âges des bovins, les concentrations en plomb et en cadmium dans le foie et les reins sont plus élevées chez les groupes d'âge > 4 ans ($0,474 \pm 0,055$ et $0,589 \pm 0,132$) respectivement, et les taux les plus élevés ont été enregistrés chez les vaches de plus de 6 ans. Les résultats ont montré des différences hautement significatives ($p < 0,001$) pour les concentrations de cadmium et de plomb entre les catégories d'âges.

Nos résultats sont supérieures à ceux de **Rahimi et Rokni, (2008)** en Iran qui ont noté des concentrations moyennes de $0,035$ mg/kg et $0,074$ mg/kg dans la catégorie d'âge ≤ 4 ans et des concentrations de $0,074$ mg/kg et $0,205$ mg/kg dans la catégorie d'âge > 4 ans respectivement dans le foie et le rein. **Canty et al., (2014)** en Irlande ont enregistré des concentrations moyennes de cadmium de $0,45$ mg/kg dans la catégorie d'âge ≤ 4 ans dans les reins qui sont supérieures à nos résultats et des concentrations moyennes de $0,55$ mg/kg sont similaires à nos résultats dans la catégorie d'âge > 4 ans (entre 4 et 7 ans) ainsi des concentrations du cadmium de $4,0$ mg / kg dans les reins des vaches dont l'âge supérieure à 7 ans.

L'accumulation de plomb et de cadmium dans le foie et les reins associée à l'âge a été également confirmée par d'autres études chez les bovins. Selon **Nriagu et al., (2009)** et **Prankel et al., 2004**, l'âge est un facteur positif pour l'accumulation du Pb et Cd dans les reins de bovins. Des travaux antérieurs sur les concentrations rénales chez les bovins ont également conclu qu'il existait une corrélation positive entre l'âge et les concentrations de Cd et de Pb dans les organes (**Rahimi et Rokni, 2008. ;Canty et al., 2014 ; Roggeman et al., 2014**) ont également observé que les concentrations en Cd dans les reins étaient supérieures chez les vaches comparativement aux bovins mâles. Cela pourrait être expliqué par la demande physiologique plus élevée en minéraux chez la vache, surtout pendant les périodes de gestation et d'allaitement (**Pillai et al., 2012**), ce qui entraîne une absorption des métaux y compris le Cd (**Nordberget al., 2007 ; Liu et al., 2008**). **Lopez -Alonso et al., 2004** ainsi que **Fussler-Bagur, (2011)** ont noté que les animaux ayant une activité métabolique augmentée, telles les vaches laitières hautes productrices ou les animaux soumis à un engraissement intensif sont souvent supplémentés avec des concentrés pouvant contenir certains composés minéraux contaminés par des quantités importantes de métaux. Un haut degré de consommation en réponse à un besoin élevé en énergie augmente les probabilités d'exposition aux métaux et à leur accumulation dans les tissus.

Dans notre étude les taux les plus élevés en cadmium et en plomb ont été enregistrés chez des vaches laitières, reproductrices dont l'âge est supérieur à 6 ans. Ces taux élevés

pourraient s'expliquer par les doses plus élevées en compléments minéraux que reçoivent ces animaux lors de la gestation ; les minéraux comme le calcium, le zinc, le cuivre, le fer et le sélénium étant connus pour leurs interactions avec le cadmium (**Andersen et Nielsen 1994**). D'autres études ont montré que l'exposition au cadmium et au plomb lors de gestation et de la lactation, peut produire des effets néfastes chez leur progéniture, entraînant des déficits de développement, de comportement ainsi que des effets néfastes sur la reproduction. Le plomb et le cadmium passent facilement la barrière placentaire par simple diffusion et l'exposition prénatale constitue un risque important d'imprégnation du plomb et cadmium par les nouveau-nés. Plusieurs études ont en effet montré qu'à la naissance, les plombémies maternelles et fœtales sont fortement corrélées (**Goyer, 1996**). En règle générale, les teneurs dans le lait maternel sont supérieures à celles mesurées dans le plasma de la mère, probablement en raison d'une mobilisation du plomb stocké dans les os liée aux besoins augmentés en calcium (**Gulson et al, 1997**).

Des études menées par **Maldonado et al., (1996)** ont montré que la gestation et la lactation, en augmentant les besoins en Ca^{2+} , favorisaient à la fois l'absorption de plomb et également sa résorption osseuse. Le lait maternel est responsable approximativement à 33 % du passage du plomb de la mère à l'enfant (**Keller et Dohery, 1980**). L'intoxication du nouveau-né par le lait contaminé serait donc une voie prépondérante.

Les résultats de notre étude montrent des niveaux excessifs d'exposition aux métaux lourds. Les animaux pourraient potentiellement avoir prélevé des métaux lourds dans l'environnement, étant donné leur accès libre au pâturage et qu'ils boivent de l'eau dans les étangs, les ruisseaux, les rivières et d'autres sources d'eaux contaminées. Sachant que la majorité des champs de fourrage sont cultivés dans des petites parcelles, le plus souvent traversées par des automobiles, ceci pourrait s'expliquer par une contamination accidentelle par ingestion involontaire des aliments au pâturage ou par les fourrages contaminés. L'alimentation reste la source majeure d'exposition aux métaux lourds. Une corrélation étroite a été signalée entre la concentration de métaux lourds dans les tissus de bovins et celle enregistrée dans le sol, l'alimentation et l'eau potable (**Sedki et al., 2003 ; Qiu et al., 2008**). Il est donc possible que les bovins et ovins, sujets de notre étude soient issus d'une zone polluée et leurs habitudes alimentaires ont conduit à la bioaccumulation des métaux lourds dans le foie et les reins (**Waldner et al., 2002**).

V.3 Comparaison des taux de contamination par les métaux lourds chez les deux espèces

Nos résultats indiquent que les métaux recherchés sont présents dans les échantillons étudiés à des concentrations en plomb et en cadmium plus élevés chez les bovins que chez les ovins. Ce qui explique que leur pouvoir cumulatif et la contamination des animaux sont tributaires de leur environnement. Les bovins peuvent tolérer des concentrations allant jusqu'à 5 mg/kg poids vif, durant une exposition d'au moins une année sans manifester de signes cliniques (**Payne et Livesy, 2010**). Selon **Mehennaoui, (1995)** la posologie susceptible d'entraîner une intoxication au Pb chez les ruminants est de 6 à 7 mg/kg/j pendant 30 mois. Selon **Perrin, (2007)** l'exposition chronique à de petites doses de plomb a des effets nocifs qui ne sont pas toujours cliniquement évidents. Il a été constaté que les ovins accumulent moins le Pb comparativement au bovin (**Rodríguez-Estival et al., 2012**). Toutefois un seuil minimal de toxicité ou maximal de tolérance pour des concentrations alimentaires en Cd ne peut être estimé avec précision, puisque la cinétique du Cd est significativement influencée par les interactions avec des apports alimentaires en éléments essentiels (Zn, Cu, Fe et Ca) (**Bampidis et al., 2013**). Ainsi, dans certains cas, des concentrations de Cd inférieures à 1 mg/kg dans l'alimentation ou l'eau potable peuvent induire des effets indésirables chez les animaux.

V.4 Impact de l'intoxication chronique par le plomb et le cadmium sur le fonctionnement de certains organes : rein, foie et testicules

Une exposition subchronique des animaux aux métaux lourds peut être à l'origine d'une présence de résidus dans les denrées animales, pouvant excéder les limites légales tolérables, suite à l'accumulation des éléments traces dans les tissus (abats) surtout dans les organes cibles tels que le foie et les reins (**Mehennaoui, 1995 ; Payne et livesy, 2010**). Le plomb et le cadmium modifient le fonctionnement cellulaire et perturbent de nombreuses voies métaboliques et différents processus physiologiques (**Haito et al., 2008**).

Notre travail a porté sur l'impact de l'intoxication chronique par le plomb et le cadmium sur le fonctionnement de différents organes : rein, foie et testicules, chez les rats mâles. Cette exposition au plomb et au cadmium par gavage à la dose de 1mg/kg diluée dans l'eau de boisson a été réalisée pendant une période de 28 jours. L'exposition par voie orale est importante pour l'évaluation de la toxicité des métaux lourds (**Wang et al., 2014**).

L'exposition au plomb et au cadmium a permis d'observer chez les rats Wistar une baisse significative dans le gain corporel. Les métaux lourds agissent sur le poids corporel des

animaux, même lorsque les niveaux d'intoxication restent faibles (**Shailesh et Desiragu, 1990; Benlahcen et Slimani, 2007**). Nos résultats corroborent ceux de **Kharoubi et al., 2008** et ceux de **Smith et al., 2008** qui ont constaté une diminution dans la consommation de la nourriture chez les rats mâles intoxiqués au plomb. De même, **Sajjad et al., (2014)**; (**Layachi et Kechrid, 2013**), ont constaté que la perte de poids peut être due à une augmentation de la dégénération des lipides, des protéines et entraîne une perturbation des sécrétions endocriniennes (**Wang et al., 2014**). Selon **Sajjad et al., (2014)** il existe une corrélation entre la perte de poids corporel et la concentration en cadmium dans l'hypothalamus et l'hypophyse chez les animaux traités au cadmium. Chez les cobayes, la perte de poids est constatée lors de l'exposition au cadmium à 5 mg/Kg, ceci s'explique par des dommages du système glucocorticoïde, hormone essentielle dans la régulation du glucose et dans le métabolisme des lipides et protéines (**Mohammed et Azab, 2014**). Chez les lapins, une diminution de poids a été constatée lors de la quatrième et cinquième semaine d'exposition à 1,5 mg/Kg de poids corporel au chlorure de cadmium (**Sajjad et al., 2014**).

Nous avons observé également une diminution du poids brut des différents organes étudiés (foie, rein, et testicules) ainsi que leurs poids relatifs se retrouvent significativement diminués comparativement aux témoins, indiquant ainsi une modification de leurs structures et/ou activités. Nos résultats corroborent ceux de certains auteurs (**Onwuka, 2010 ; AL-Gehani, 2013; Nasim et al., 2015**) qui ont observé une diminution du poids brut du foie et du rein, ainsi que de leurs indices respectifs, chez des rats Wistar mâles traités au cadmium. Par ailleurs, **Onwuka, (2010)** rapporte que l'atrophie des organes vitaux pourrait s'expliquer par une diminution de la multiplication cellulaire due au fait que les métaux lourds affectent l'activité et la prolifération cellulaire. **AL-Gehani, (2013) et Berroukche et al., (2014)**, ont observé une diminution du poids brut du foie et des reins chez des rats Wistar mâles gavés avec le plomb et le cadmium durant 4 semaines. Selon **Berroukche et al., (2014)**, l'administration d'une faible dose de 0,15 mg/Kg du cadmium est considérée comme dose pathologique et entraînerait une diminution du poids brut des organes. Au niveau hématologique, nous avons constaté que le plomb et le cadmium ont induit une diminution significative des globules rouges, de l'hématocrite, et de l'hémoglobine chez les rats intoxiqués par le plomb et le cadmium comparativement aux rats témoins. La diminution de ces paramètres sanguins pourrait être due à l'inhibition de la synthèse de l'hème par le plomb, qui agit sur les enzymes responsables de la synthèse de l'hème et

également sur la réduction de la durée de vie des hématies (**Klaassen, 2008**). Nos résultats sont du même ordre que celles notées par **Suradkar et al., 2009**, qui montrent que le plomb induit une diminution significative des globules rouges, de l'hématocrite, et de l'hémoglobine chez les rats Wistar intoxiqués par plomb pendant 28 jours. Les travaux **d'Oluwafemi et al., (2014)**, **Houkpatin et al. (2013)** et **Fawzia et al. (2014)** rapportent que l'anémie est un bon indicateur de la toxicité du cadmium, ce qui pourrait s'expliquer par une augmentation de la destruction des globules rouges et en même temps une diminution de leur synthèse. En effet, les métaux, en s'accumulant dans la rate, le foie et les reins, inhibent l'activité érythropoïétique en endommageant la synthèse de l'érythropoïétine.

Au niveau hépatique, nous avons constaté chez les rats traités par le plomb et le cadmium une augmentation des ALT et des AST dans le sérum comparativement aux lots témoins. Ces enzymes sont spécifiques du foie, leur présence dans le sérum indique une dégénérescence ou une destruction des cellules de cet organe et entraînerait une altération de la perméabilité membranaire. Nos résultats rejoignent ceux obtenus par certains auteurs (**Layachi et Kechrid, 2012**; **Shalan et al., 2005** ; **Neera et al., 2013**) qui ont montré que l'augmentation de l'activité de ces enzymes traduit une lésion hépatique et pouvait expliquer le passage des enzymes du tissu hépatique vers le plasma, ceci serait dû à l'altération de la perméabilité membranaire. D'autres études ont montré que le cadmium entraîne la modification de l'activité de plusieurs enzymes dont les mécanismes peuvent être expliqués par la phosphorylation, l'adénylation, l'ADP-ribosylation et l'oxydation des groupement thiol confirmant alors les dommages du foie (**Neera et al., 2013**). Pour **Hannah et al., 2002**, l'augmentation des ALT et des AST est due à une accumulation du métal dans le foie. **Mouhammed et Azab, (2014)** et **Fahim et al., (2012)** ont rapporté que l'inflammation est la réponse à une intoxication au cadmium.

Au niveau rénal, le cadmium et le plomb entraînent un dysfonctionnement tubulaire du rein et une diminution de la filtration glomérulaire conduisant ainsi à une défaillance rénale rapportée par **Fahim et al., 2012**. Cette défaillance de la fonction rénale est évaluée par la mesure de la créatinine et l'urée. Les résultats de notre étude ont permis d'observer une augmentation de la créatinine et de l'urée dans le sang. Ces résultats montrent bien que le plomb et le cadmium agissent sur la filtration glomérulaire en provoquant des troubles au niveau de la concentration de l'urée et de la créatinine dans le sang, et toute élévation du

taux de la créatinine sérique indique une atteinte fonctionnelle ou lésionnelle grave du néphron (Cook, 1975).

Des travaux antérieurs similaires sont en accord avec les résultats obtenus dans notre étude. Selon Poontawee *et al.*, (2016), l'exposition des rats Wistar au cadmium à la dose de 2 mg/kg pendant quatre semaines entraîne une augmentation de la créatinémie et de l'urémie. Abdel-Moneim et Ghafeer, (2007) ont également obtenu les mêmes résultats relatifs à l'augmentation de l'urémie et de la créatinémie dans le lot contaminé par injection à 0,5 mg/kg de Cd pendant 4 semaines, cette augmentation étant un indicateur de dysfonctionnement rénal. L'augmentation de l'urémie traduit des dommages rénaux. Quant à la créatinémie, son augmentation est le signe de dysfonctionnement rénal (Abdel-Moneim et Ghafeer, 2007).

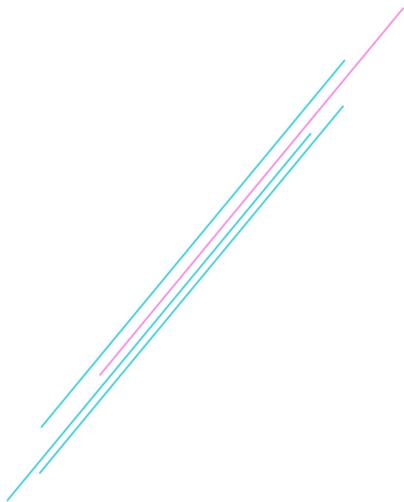
Les résultats histopathologiques obtenus ont montré que le foie des rats témoins avait un parenchyme hépatique sain, une architecture lobulaire de base et des espaces portes normaux. Chez les rats exposés à 1mg/kg de Cd, l'histopathologie a révélé des désorganisations cellulaires, des atypies cyto-nucléaires et des nécroses au niveau des tissus hépatiques. Nos résultats rejoignent ceux obtenus par Satrug *et al.*, (2002), qui ont constaté que le Cd endommageait les tubules proximaux des néphrons, conduisant d'abord à la fuite des protéines de poids molaires faibles et des ions essentiels comme le calcium dans l'urine, avec une progression dans le temps vers l'insuffisance rénale. La perte de calcium causée par l'effet de Cd sur le rein peut conduire à l'affaiblissement des os résultant de la maladie Itai-Itai (Staessen *et al.*, 1999).

Chez les cobayes, l'effet de la toxicité du plomb et du cadmium sur les paramètres histopathologiques a été étudié par Randa *et al.*, 2012, il ressort que ces métaux endommagent principalement les reins et le foie. Cependant, le dysfonctionnement rénal affecte les autres organes notamment la rate qui intervient dans la fonction immunologique (Mohammed *et al.*, 2015).

Les résultats de l'étude histologique réalisée sur les reins ont montré que l'action toxique du plomb et du cadmium est très sévère au niveau du rein intoxiqué, qui se distingue par une dégénérescence des tubules proximaux et des dilatations au niveau des veines. Nos résultats sont en accord avec ceux d'Abdel-razik *et al.*, 2007, qui ont montré que les lésions qui se développent se caractérisent notamment par la présence d'une atrophie glomérulaire et tubulaire qui conduit à une altération irréversible de la fonction rénale.

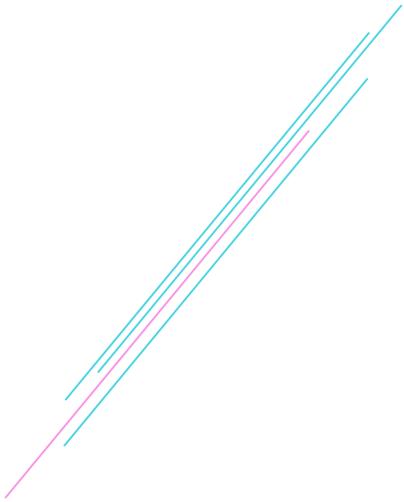
L'étude histologique réalisée au niveau du testicule révèle une architecture normale chez les animaux témoins. Chez les rats intoxiqués à la dose de 1mg/kg, l'effet de plomb sur les testicules a montré une atrophie partielle du tissu interstitiel. D'après **Gautam et al.,(2001)** ; et **Dadoune,(2006)** le plomb provoque la dégénérescence des cellules de Leydig qui jouent un rôle essentiel dans l'élaboration des androgènes sous l'influence de LH hypophysaire qui ont une action sur les cellules de Sertoli et stimulent la spermatogenèse. Ces résultats confirment également l'atteinte profonde de la spermatogenèse (**Motrich et al., 2007**).

Des recherches récentes indiquent que de nombreux ruminants domestiques deviennent infertiles en raison de la présence de produits chimiques et/ou de contaminants naturels présents partout dans la vie de tous les jours qui deviennent une menace pour le bétail (**Norouzirad et al., 2018**). L'étude menée par **Nna et al.,(2017)** a montré que l'exposition aiguë ou à de faibles doses chroniques aux contaminants comme les métaux lourds (Pb/Cd), les herbicides, pesticides, insecticides, entraînait des perturbations de plusieurs organes et leur systèmes, y compris la fonction de la reproduction. Des études in vitro sur les cellules testiculaires et le sperme menées par différents auteurs (**Chowdhury, 2009** ; **Selvaraju et al., 2014** ; **Castellanos et al., 2013**) confirment que les métaux lourds tel que le pb et le cd entraînaient des perturbations endocriniennes sur les gonades, affectant la gamétogenèse et la stéroïdogénèse, pouvant avoir des conséquences dévastatrices sur la reproduction du bétail, et sur la production.



Conclusion &

Recommmandations



Conclusion

Au terme de notre étude, ayant fait l'objet sur l'évaluation de la contamination du foie et les reins des bovins et ovins abattues au niveau de l'abattoir d'Alger par les métaux lourds (plomb, cadmium). Les résultats obtenus révèlent une présence de métaux lourds (plomb et cadmium) dans le foie et les reins des bovins et ovins. Les résultats de cette étude ont montré que les échantillons de foie 25% , 30% et les reins 10%, 22% respectivement cadmium et plomb chez de bovins et pour les ovins 8% , 8% et 2% ,8% respectivement cadmium et plomb contenaient des concentrations supérieures à la limite maximale exigée par la commission européenne. Les concentrations de plomb et de cadmium dans les échantillons de foie et rein des bovins sont plus élevées que les échantillons de foie et des reins des ovins sont dus aux différences d'âge des animaux étudiés et le taux d'exposition dans un environnement contaminé. Les activités urbaines, industrielles et agricoles sont responsables d'une contamination des sols et de l'eau. La consommation de foie rein provenant de ces bovins et ovins présentait un risque pour la santé publique et l'Union européenne a classé le plomb et le cadmium sur la liste des 33 substances dangereuses. L'étude statistique a montré une différence très significative ($p < 0,05$).

Ce travail a permis aussi l'identification et l'évaluation quantitative des conséquences liées à l'exposition aux deux ETM (Pb et Cd) et la mise en évidence de leurs effets néfastes à différents niveaux : hématologique, hépatique, rénal et de la reproduction. L'impact de l'intoxication chronique du plomb et le cadmium sur le fonctionnement de différents organes : foie, rein, et testicules, chez les rats mâles *Wistar* à une dose 1mg/l diluée dans l'eau de boisson pendant 28j. Nous avons enregistré une baisse significative dans les poids relatifs des organes : foie, reins, rate et testicules, ce qui se traduit par une perturbation fonctionnelle. Également, nous avons observé une diminution significative des globules rouges, hémocrite hémoglobine comparés aux témoins. L'intoxication par le plomb et le cadmium entraîne des perturbations hématologiques partant essentiellement sur système érythroïtique. Les résultats montrent aussi une augmentation des enzymes ALAT, ASAT, urée et créatinine, cette augmentation est due à une altération du tissu hépatique avec une perturbation dans la perméabilité des membranes de l'hépatocyte et rénal par atteinte glomérulaire. Ce qui a été confirmé par l'étude histologique montrant que le plomb et le cadmium cause des dommages très sévères au niveau des hépatocytes et rénal. Sur la structure histologique des testicules induisant une diminution des spermatozoïdes chez les rats intoxiqués ce qui témoigne d'une dégénérescence des cellules de Sertoli et donc l'atteinte profonde de la spermatogenèse.

Perspective

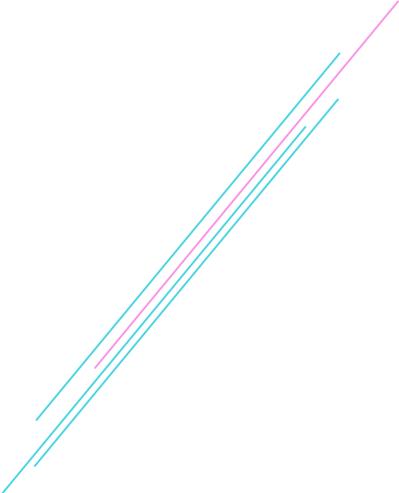
Ses résultats recherche fondamentale ouvrent des perspectives pour des études plus approfondies, notamment dans la recherche des métaux lourds dans les différents matrices alimentaires « lait, viande ».

- Dans le but de répondre à une problématique de contamination subchronique, nos résultats attirent l'attention sur les dommages causés par les métaux lourds. Ces données vont permettre également d'ouvrir la voie pour des travaux similaires et à grande échelle, notamment, l'élaboration d'un programme national de bio surveillance et de l'évaluation du risque liée à plusieurs polluants dans les différents milieux.
- il sera également intéressant de proposer un développement par la mise au point de stratégies préventives, par l'intermédiaire des techniques de modélisation et de simulation dans l'évaluation de la toxicité dans les différents milieux surtout ceux à risque.

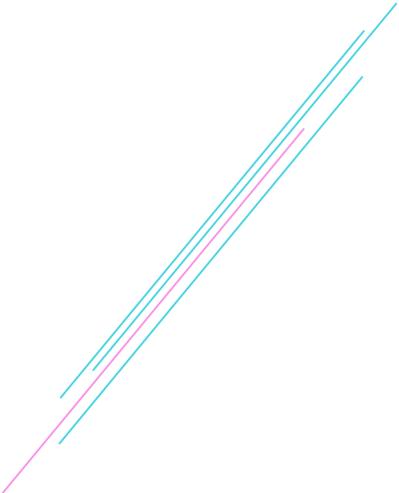
Recommandations

Les résultats de cette étude montrent qu'il est nécessaire d'évaluer et de surveiller le cadmium et les autres niveaux de métaux toxiques dans les aliments pour établir des valeurs d'apport qui soient sans danger pour la population.

- Nous recommandons donc fortement la consommation des abats provenant d'animaux plus jeunes.
- La consommation d'abats, en particulier chez les animaux âgés, est une cause importante de préoccupation. Les bovins et les ovins sont considérés comme des bios marqueurs de l'exposition humaine au cadmium et au plomb.
- En Algérie, des travaux de recherche sont entrepris en milieu aquatique. En milieu terrestre, notre étude expérimentale fournira une base pour des recherches futures en toxicologie.
- La présence de substances toxiques dans l'environnement, même à des concentrations faibles peut produire des effets néfastes pour les organismes qui y sont exposés pendant de longues périodes, en raison du caractère cumulatif dans la chaîne alimentaire d'où la nécessité de suivre avec vigilance le transfert des ETM dans la chaîne sol- plante-animal-homme. et la nécessité d'appliquer une réglementation concernant ces ETM en Algérie.



Références Bibliographiques



1. **Abdel-Moneim, W. M. et Ghafee, H. H.2007.** The potential protective effect of natural honey against cadmium-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity. *Mansoura Journal of Forensic Medicine and Clinical Toxicology*. **XV(2)**: 75-98.
2. **Abdel-Razik, H .,Farrg,k. A.,Mahdy.,Gamal, H. ,Abdel Rahman, Mostapha, M. 2007.**protective effect of nigella sativa seeds against lead induced hepatorenal damage in male rats,*Pakistan journal of biological sciences* 2809-2816.
3. **Abdel-Salam, N.M.A., Ahmad, S., Basir, A., Rais, A.K., Bibi, A., Ullah, R. 2013.** Distribution of Heavy Metals inthe Liver, Kidney, Heart, Pancreas and Meat of Cow, Buffalo, Goat, Sheep and Chicken from.Kohat market Pakistan. *Life Sci*; 10: 14-9.
4. **Abdou, H. M., Newairy, A. A. 2006.**Hepatic and reproductive toxicity of lead in female rats and attenuation by flaxeed lignans. *Journal of the medical research institute JMRI*, 27(4):295- 302.
5. **Abou-Arab, A.A.K.2001.** Heavy metal contents in Egyptian meat and the role of detergent washing on their levels. *Food Additives and Contaminants* 30: 593-599
6. **Abou-Donia, M.A. 2008.** Lead concentrations in different animal muscles and consumable organs at specific localities in Cairo. *Global Veterina*. 2:280-284.
7. **Abrahams, P.W., Blackwell ,N.L2013 .**The importance of ingested soils in supplying fluorine and lead to sheep grazing contaminated pastures in the Peak District mining area of Derbyshire, UK. *Environ Sci .Pollut Res* 20:8729–8738.
8. **Adriano, D.C., 2001.**Trace elements in terrestrial environments: biogeochemistry, bioavailability and risks of metals. *2nd Edition Springer-Verlag*, New York, Berlin, Heidelberg, 867p.
9. **AdawyElsayed,R.,Kreuzer, W., Rosopulo, A., Sell, D., Frangenberg, J., Koberstein, S.2015.** Lead and cadmium contents in the musculature, liver and kidney of slaughter calves. Calves from uncontaminated areas and/or farms that have passed meat inspection. *Fleischwirtschaft* 71, 339-34.
10. **Akan,J.C., Abdulrahman, F.I., Sodipo, O.A., Chiroma, Y.A. 2010.** Distribution of heavy metals in the liver, kidney and meat of beef, mutton, caprine and chicken from kasuwa shanu market in Maiduguri. *Res J Appl Sci Eng Technol*. 8:743-748.

11. **AL-Gehani ,S. A.2013.** Toxicological Influence of ethanol and biochemical changes in rats exposed to cadmium. *Merit Research Journal of Environmental Science and Toxicology*; 1(2): 051-059.
12. **Ali, H., Khan, E., Sajad, M.A.2013.** Phytoremediation of heavy metals-concepts and applications. *Chemosphere* 91:869–881.
13. **Alessio ,P.L., Wedeen, R.P. 1978.** Bone lead, hypertension, and lead nephropathy. *Environ Health Perspect.* 1988; **78**: 57-60. VA Medical Center, East Orange, NJ 07019.
14. **Alloway, B.J. 2013.** Sources of heavy metals and metalloids in soils. In: Alloway B.J, editor. *Heavy metals in soils*, 22. p. 11–50. Netherlands.
15. **Alloway, B.J.1995 .** Soil processes and the behaviour of heavy metals. In: Alloway B.J (Ed.). *Heavy metals in soils*. Chapman & Hall, London, pp. 11-35.
16. **Almasoud,F.I.,Usman,A.R.,Al-Farraj,A.S.2014.** Heavy metals in the soils of the Arabian Gulf coast affected by industrial activities: analysis and assessment using enrichment factor and multivariate analysis. *Arab J Geosci* 1–13. doi: 10.1007/s12517-014-1298-x
17. **Al-naemi ,H. 2011.** Estimation of lead and cadmium levels in muscles, liver and kidney of slaughtered cattle in Mosul City. *Mesopotamia J Agric.* 39:8-16.
18. **Amdur, M.O., Doull, J., Klassen, C.D.1996.** Lead cassaret and doull's toxicology. New York, Mc Grawhill 5th Ed.
19. **Amodio-Cocchieri, R et Fiore, P.1987.** Lead and cadmium concentrations in livestock bred in Campania, Italy. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 39: 460-464
20. **Andujar, P., Bensefa-Colas, L., Descatha, A.2010.** Intoxication aiguë et chronique au cadmium. *Acut And Chronic Cadmium Poisoning, La Revue de médecine interne* ,31,107–115.
21. **Antoniadis, V., Levizou, E., Shaheen, S.M.,Sebastian, A., Baum, C., Prasad, M.N.V., Wenzel, W.W., Rinklebe,J. 2017.** Trace elements in the soil-plant interface: phytoavailability, translocation, and phytoremediation - a review. *Earth Sci Rev* 171:621–645.
22. **Andersen ,A, Nielsen ,H. 1994.** Cadmium and zinc in kidneys from Danish cattle. *Nord.Vet Med*;34:340–9.
23. **Aranha, S., Nishkawa, A.M., Taka, T ., Salioni,E.M.C.1994.** Cadmium and lead levels in cattle's liver and kidney. *Rev. Inst. Adolfo Lutz.*, 54: 16-20.

24. **ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). 2012.** Toxicological Profile for Cadmium: Update. United States Department of Health and Human Services, Public Health Service, Atlanta, GA.
25. **ATSDR(Agency for Toxic Substances and Disease Registry).1999.**Toxicological Profiles for lead”. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Atlanta, GA:U.S department of Health and Human Services, Public Health Services.
26. **Audigie, C.L.,dupont, G.,zonszain,F. 1992.**Principe des méthodes d’analyse biochimique tome 2. 3eme Edition, Doin editeur, France, ISBN : 2-7040-0684-9.174p.
27. **Austruy, A., Laplanche, C., Mombo, S.2016.** Ecological changes in historically polluted soils: Metal(loid) bioaccumulation in microarthropods and their impact on community structure. *Geoderma* 271:181–190. doi: 10.1016/j.geoderma.2016.02.011.
28. **Baize, D.1997.**Teneurs totales en éléments traces métalliques dans les sols. Références et stratégies d’interprétation. Editions INRA. Paris. France, p408.
29. **Baker, A.J.M., Walker, P.L. 1990.** Ecophysiology of metal uptake by tolerant plants. In: Shaw A.J. (Ed.). *Heavy Metal Tolerance in plants: Evolutionary aspects.* CRC Press, Boca ,Raton, Florida, p155-172.
30. **Baker J.C., 1987.** Lead poisoning in cattle. *vet.C lin.North Am .Food Anim. Pract*,3 (1),137-147.
31. **Bala, A., Saulawa, M.A., Junaidu, A.U., Salihu, MD., Onifade, K.I., Magaji, A.A., Anzaku ,S.A, Faleke, O.O., Musawa, A.I, Mohammed, M. 2012.** Detection of cadmium (Cd) residue in kidney and liver of slaughtered cattle in Sokoto Central Abattoir, Sokoto State, Nigeria. *J Vet Adv.* 2:168-172.
32. **Bala, A., Suleiman, N., Junaidu ,A. U., Salihu, M. D., Ifende, V. I., Saulawa, M.A., Magaji ,A. A., Faleke ,O. O., Anzaku.S. A.2013.**Detection of Lead (Pb), Cadmium (Cd), Chromium(Cr) Nickel (Ni) and Magnesium Residue in Kidney and Liver of Slaughtered Cattle in Sokoto Central Abattoir, Sokoto State, Nigeria. *Int. J. of Livestock Research* 3:77-81.
33. **Baloh ,1997.** Kinetics of lead in bone and blood after end of occupational exposure. *Pharmacol Toxicol.* 68 (6) : 477-484.
34. **Bampidis, V.A., Nistor, E., Nitas, D. 2013.** Arsenic, Cadmium, Lead and Mercury as Undesirable Substances in Animal Feeds. *Animal Science and Biotechnologies*, 46 (1):125- 136.

35. Barthelemy, C., Prost ,G, Tolot, F.,Neulat, G. 1975.A propos d'un cas de pancréatite au cours d'une crise de colique de plomb. *Arch Mal Prof.* ; 3 : 357-360
36. Bates, N., Payne, J .2017. Lead poisoning in cattle. *Livestock* 22:192–197.
37. Bazargani-Gilani, B., Pajohi-Alamoti,M.,Bahari,A.,Ali Sari.,A.2016. Heavy Metals and Trace Elements in the Livers and Kidneys of Slaughtered.Cattle, Sheep and Goats.
38. Bellinger, D., Leviton ,A., Waternaux, C. 1987.Methodological issues in modeling the relationship between low-level lead exposure and infant development: examples from the Boston Lead Study,*Environ. Res.*, 38(1), p.119-129.
39. Bendada,K.,Boulakradeche,M.W.2011.Optimisation des conditions de dosage par spectroscopie d'absorption atomique (SAAF et SAAET) : Application à la détermination de la pollution et de la bioaccumulation des métaux lourds: Université des sciences et de la technologie Houari Boumediene (U.S.T.H.B).
40. Benlahcen, K,Slimani, M. 2007.The effect of the safe lead on the behaviour of the wistar rat ;*Egypt journal of appl sciences*, p 22(11B).
41. Bergmeyer ,H.U., Scheibe, A.W., Wahlefeld.1978. Optimization of Methods for Aspartate-Aminotransferase and Alanine Aminotransferase. *Clinical Chemistry*, 24:58-73.
42. Bernard , A., 2008.Renal dysfunction induced by cadmium: biomarkers of critical effects. *Biometals* 17 : 519-23.
43. Berroukche,A.,Slimani,M.,Kahloula ,KH.,Hafsa.,Kafi,H.,Cheikh,A.2014.Evaluation de l'activité du cadmium, en présence du zinc, sur les structures des tissus régulateurs du métabolisme chez le rat Wistar. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 8(4): 1796-1807.
44. Bettaiya, R., Yallapragada, P.R., Hall, E., Rajanna. S. 1996. In vitro effect of lead on Ca²⁺ ATPase in synaptic plasma membranes and microsomes of rat cerebral cortex and cerebellum. *Ecotoxicol Environ Safety*, 33: 157-162.
45. Bilandžić, N., Sedak, M., Čalopek, B., Luburić, Đ.B., Kolanović, B.S.,Varenina, I. 2016. Lead concentrations in raw cow and goat milk collected in rural areas of Croatia from 2010 to 2014. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 96, 645–649.
46. Biney, Ch., Amazu, A.T., Calamari, D., Kaba, N., Mbome, I.L., Naeve, H., Chumba,O., Osibanjo, O., Radeconde, V., Massad ,A.H.S. 1991. Etude des métaux lourds présents dans l'environnement africain. Rapport de la troisième session du groupe de travail sur la pollution et les pêches Accra, Ghana, 25-29.

47. **Bisson , M et Houeix, N.2014.** Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques. Institut national de recherche et de sécurité (INRS)-France.
48. **Bismuth, C., Baud, F., Conso, F. 2002.** Toxicologie clinique. Flammarion Médecine-Sciences, 5ème édition, Paris. 1092 pages.
49. **Black ,R.d .,Mc Vey, D.S ., Oehme ,F.w. 1992 .**Immunotoxicity in the bovine animal. review. *Veterinary and human toxicology*, ,34(5),P438-441.
50. **Bliefert et Perraud, 2004.** Chimie de l'environnement Air, Eau, Sol. Ed deBoeck Université, Bruxelles, 477p.
51. **Bonde ,J.P., Joffe, M., Apostoli, P.2002.**Sperm count and chromatin structure in men exposed to inorganic lead: lowest adverse effect levels, *Occup. Environ. Med.*, 59, p. 42-234.
52. **Bonet, A. 2011.** Effets du cadmium sur l'expression d'enzymes de biotransformation au cours de la différenciation entérocytaire. Maîtrise en biologie. Université du Québec à Montréal. 131pages.
53. **Bonnard, N., Falcy ,M., Hesbert, A.2006.** Plomb et composés minéraux. Fiche toxicologique FT 59, INRS.
54. **Boucher, O., Simard, M.N., Muckle, G., Rouget, F., Kadhel, P., Bataille, H., Chajès, V., Dallaire, R.,Monfort, C., Thomé, J.P., Multigner, L., Cordier, S.2013.** Exposure to an organochlorine pesticide (chlordecone) and development of 18-month-old infants. *Neurotoxicology* 35, 162–168.
55. **Bourelrier, P.H., Berthelin, J. 1998.**Contamination des sols par les éléments traces: les risques et leur gestion. Académie des sciences, Technique et documentation. Rapport n°42, Lavoisier, 440p.
56. **BRGM.2004.**Guide méthodologique du plomb appliqué a gestion des sites et des sols pollués; rapport final BRGM/RP-52881-FR.
57. **Brokaert, José, A. C2005.** Analytical Atomic Spectrometry with Flames and Plasmas. Deuxième édition revue et augmentée. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co.KGaA, Weinheim (Federal Republic of Germany),. 414p. ISBN: 978-3-527-31282-5.
58. **Burgat-Sacaze,V., Craste, L., Guerre, P. 1996.** Le cadmium dans les chaînes alimentaires. *Rev. Méd. Vét.*147 (10),671-680.

59. **Cai, L., Xu, Z., Ren, M.**2012. Source identification of eight hazardous heavy metals in agricultural soils of Huizhou, Guangdong Province, China. *Ecotoxicol Environ Saf* 78:2–8. doi: 10.1016/j.ecoenv.2011.07.004.
60. **Cai, Q., Long, M.-L., Zhu, M., Zhou, Q.-Z., Zhang, L., Liu, J.**2009. Food chain transfer of cadmium and lead to cattle in a lead–zinc smelter in Guizhou, China. *Environ. Pollut.* 157, 3078–3082.
61. **Callender, E., Rice, K.** 2000. The urban environmental gradient: anthropogenic influences on the spatial and temporal distributions of lead and zinc in sediments. *Environ Sci Technol* ,34:232–238.
62. **Canty, M.J., Scanlon, A., Collins, D.M., McGrath, G., Clegg, T.A., Lane, E., Sheridan, M.K., More, S.J.,** 2014. Cadmium and other heavy metal concentrations in bovine kidneys in the Republic of Ireland. *Sci. Total Environ.* 485–486, 223–231.
63. **Carrera -Pareja, J., Mateo, R ., Rodriguez-Estival ,J,** 2014. Lead (Pb) in sheep exposed to mining pollution :Implications for animal and human health. *Ecotox Environ Safe*, 108: 210–216.
64. **Castellanos, P., Maroto-Morales, A., García-Álvarez, O., Garde, J.J, Mateo, R.** 2013. Identification of optimal concentrations and incubation times for the study of in vitro effects of Pb in ram spermatozoa. *Bull Environ Contam Toxicol* 91:197–201.
65. **Caubet, A.** 1999. Environnement professionnel et santé/ Prévention des risques professionnels. Organisation de la médecine de travail. Intoxication professionnelle par le plomb. Institut universitaire de médecine du travail (IUMT) Rennes. Revue N°108.
66. **Cheng, H., Li, M., Zhao, C.**2014. Overview of trace metals in the urban soil of 31 metropolises in China. *J Geochemical Explor* 139:31–52. doi: 10.1016/j.gexplo.2013.08.012.
67. **Chowdhury, A.R.** 2009. Recent advances in heavy metals induced effect on male reproductive functiona retrospective. *Al Ameen J MedSci* 2:37–42.
68. **CITEPA,**2011. Emissions atmosphériques en France - France Métropolitaine Substances relatives à la contamination par les métaux lourds. CITEPA / CORALIE SECTEN format. Centre Interprofessionnel Technique d'Etudes de la Pollution Atmosphérique, Paris, France. pp. 28.
69. **Coat, S., Monti, D., Legendre, P., Bouchon, C., Massat, F., Lepoint, G.**2011. Organochlorine pollution in tropical rivers (Guadeloupe): Role of ecological factors in food web bioaccumulation. *Environ.Pollut.* 159, 1692–1701.

70. **Commission of the European Communities (CE).2006.** Commission Regulation (EC) No. 1881. Setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. Off J Eur Comm L364:5.
71. **Cook,J.G.H. 1975.**Factors influencing the assayof creatinine.*Ann. Clin Bioch.* 12:219-232.
72. **Cortez, H., Pingarro´n, J., Mun˜oz, J.A., Ballester, A., Bla´zquez, M.L., Gonza´lez, F., Garcı´a, C., Coto, On.2010.** Bioremediation of soils contaminated with metalliferous mining wastes. In: Plaza G (ed) Trends bioremediation phytoremediation. Research Signpost, Trivandrum, pp 283–299.
73. **Cotran,, R.S., Kumar,, V., Robbins, S.L.1990.** Patologia ambiental, Patologia Estructural y Funcional. Interamericana-Mc Graw-Hill, Madrid, pp. 499-546.
74. **Coullery, 1997.** Metal accumulation in cattle raised in a serpentine-soil area: relationship between metal concentrations in soil, forage and animal tissues. *J Trace Elem Med Biol.* 23:231-238.
75. **Craste ,L. 1995.** Les cervidés sauvages bioindicateurs de pollution par le cadmium Etude bibliographique. Thèse de doctorat vétérinaire E.N.V. de Toulouse 125p.
76. **Dadoune, J.P.2006.**Processus fondamentaux lies à l'évolution des cellules germinales mâles : nouvelle approche des anomalies de la spermatogenèse. *Mt Médecine de Reproduction.* 2006 ; 8 (2) : 85-98.
77. **Darwish, W., Hussein, M., El-Desoky, K., Ikenaka ,Y., Nakayama, S., Mizukawa H. 2015.**Incidence and public health risk assessment of toxic metal residues (cadmium and lead) in Egyptian cattle and sheep meats. *Int Food Res J;* 22: 52-63.
78. **Das,D.,Cossa D., Lassus P., 1997.** Le cadmium en milieu marin- biogéochimie et écotoxicologie. Rapports scientifiques et techniques de l'Infirmier. 16p.
79. **Delphine,D.2001.**Intoxication par le plomb chez les bovins. Données bibliographiques et présentation des résultats du laboratoire de toxicologie de Lyon de 1998 à 2001.Thèse doctortat., Université Claude Bernard- Lyon I 87p.
80. **DeMichele, S. G.1984.** Nutrition of lead, *Comp, Biochem, Physiol,* 78: 401-408.
81. **Deneux-Mustin,S .,Roussel-Debet,S.,Mustin,C.,Henner, P.,Munier-Lamy,C.,Colle C.,Dietz K.J.,Baier M;Kramer, U.2003.** Free radicals and reactive oxygen species as mediators of heavy metal toxicity in plants. In: Prasad, M.N.V et Hagemayer, J. (Eds.).

- Heavy metal stress in plants: From molecules to ecosystems. Springer-Verlag, Berlin, pp.73-97.
- 82. Deschamps ,Th., Benzaazou,A. M., Bussiere, B., Belem ,T.,Mbonimp,A.M.2006.** Mécanismes de rétention des métaux lourds en phase solide : cas de la stabilisation des sols contaminés et des déchets industriels. *Vertigo – La revue en sciences de l'environnement*, Vol 7 no2. Canada 11p.
- 83. Di Benedetto, M. 1997.** Dossier SAM 1997 sur Les métaux lourds. Ecole Nationale Supérieure des Mines de Saint-Etienne 49p.
- 84. Ditra, 2002.Cadmium.** (Materials Flow). U.S. Department of Interior, Bureau of Mines,Information Circular 9380. <http://pubs.usgs.gov/usbmic/ic-9380/cadmium.pdf>. (consulté le 28 septembre 2015)
- 85. Doyle, J.J., W.H. Pfander, S.E. Grebing et J.O. Pierce II. 1978.** Effect of dietary cadmium on growth, cadmium absorption and cadmium tissue levels in growing lambs. *Journal of Nutrition*. 104(2):160–164.
- 86. Doganoc, D.Z., 1996.** Lead and cadmium concentrations in meat, liver and kidney of Slovenian cattle and pigs from 1989 to 1993. *Food Addit. Contam.* 13, 237–241.
- 87. Dragovic´, S., Us´c´umlic,´M.,Radojevic´,V.,Cicmil,M. 2008.**Water quality for vegetable irrigation from the aspect of safety. *Ekolos´ki Pokret Novog Sada*, Novi Sad, special edition, II international ECO-conference “SAFE FOOD”, pp 75–81.
- 88. Dupont, D. 2002.**Intoxication par le plomb chez les bovins : Données bibliographiques et présentation des résultats du laboratoire de toxicologie de Lyon de 1998 à 2001. Ecole nationale vétérinaire de Lyon. 87pages.
- 89. Fabiny, D.L., Ertingshausen, G., 1971.** Automated reaction rate method for determination of creatinine with the centrifichem. *Clinical Chemistry*, **17**: 696- 700.
- 90. Fadel ,D.,Sid ,A. S., Azouz-zga, N., Latrèche, F., Ouamer, A.2014.**Cartography of Air Pollution in an Industrial City in North-Eastern Algeria by Using Two Indexes: Poleotolerance Index and Atmospheric Purity Index. *Journal of Life Sciences*, Vol. 8, No. 1, p. 95-100.
- 91. Fahim ,M. A., Nemmar, A., Dhanasekaran, S., Singh, S., Shafiullah, M., Yasin ,J., Zia S., Hasan, M. Y., 2012.** Acute Cadmium Exposure Causes Systemic and Thromboembolic Events in Mice..*Physiological Research*, 61: 73-80.

92. **Faiz ,H. 2011.** Etude par spectroscopie RMN du carbone 13 de la toxicité métabolique du cadmium dans les tubules rénaux proximaux murins et humains. Diplôme de doctorat. Ecole Doctorale Interdisciplinaire Science-Santé. Université Claude Bernard Lyon1. 95pages.
93. **Falcy M., Largot. D .2013.** Cadmium et composés minéraux. Fiche toxicologique. INRS (Institut National de Recherche et de Sécurité)- France.
94. **Falandysz, J. 1993.** Some toxic and essential trace metals in cattle from the northern part of Poland. *Sci. Total Environ.* 136, 177–191.
95. **Faroon, O., Ashizawa ,A. 2012.**Toxicological profile for cadmium. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR)/ Environmental Toxicology Branch and The American College of Occupational and Environmental Medicine (ACOEM). USA. 487 pages.
96. **Fawcett, J.K et Scott ,J.E. 1960.** A rapid and precise method for the determination of urea. *Journal of Clinical Pathology*, **13**: 156-159.
97. **Fawzia, Y., Shata., Sayed, G., Hassan., Walid, S. ,El-Nattat., Hassan, M., Desouky., Amira, H., Mohamed et Alaa, R. A. 2014.** Protective Effects of Vitamin E, Selenium and Zinc Supplementation on Hematological and Some Biochemical Parameters in Pregnant Rats Exposed to Cadmium. *Global Journal of Pharmacology*; **8(4)**: 665-672
98. **Feix, I.2012.** Contamination des sols-Transferts des sols vers les plantes: Transferts des sols vers les plantes. EDP Sciences.
99. **Fussler Bagur, E. 2011.** Rituels et intoxication au plomb chez l'adulte. Spécialité :Médecine générale Thèse de doctorat. Faculté de médecine Pierre et Marie Curie. Paris 120pages.
100. **Froslic, A., Norheim, G., Rambaek, J.P., Steinnes, E. 1985.** Heavy metals in lamb liver: contribution from atmospheric fallout. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 34: 175-182.
101. **Gagan, F., Gupta, D., Tiwari, A. 2012.** Toxicity of lead: A review with recent updates. *Interdiscip Toxicol*, 5(2): 47–58.
102. **Gangoso,L.,Álvarez-Lloret,P.,Rodríguez-Navarro,A.A.B., Mateo, R.,Hiraldof, Donázar, J. A.2009.** Long-term effects of lead poisoning on bone mineralization in

- vultures exposed to ammunition sources. *Environmental Pollution*. Février 2009. Vol. 157, n° 2, pp. 569-574.
- 103. Garnier, R. 2005.** Toxicité du plomb et de ses dérivés. Toxicity of lead and lead compounds Consultation de pathologie professionnelle et environnementale, EMC-Toxicologie Pathologie 2 .67–88.
- 104. Gautam, A.K., Agarwal, K., Shah, B.A., Kumar, S., Saiyed, H.N. 2001.** Lead induced spermatotoxicity in mouse and MPG treatment. *Environ Bio*. 22 (4) : 287-91.
- 105. Gensheng, W., Bruce, A.F. 2008.** Roles of biomarkers in evaluating interactions among mixtures of lead, cadmium and arsenic. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 233: 92-99. ELSEVIER.
- 106. Gil-Sánchez, J. M., Molleda, S., Sánchez-Zapata, J. A., Bautista, J., Navas, I., Godinho, R., García-Fernández, A. J. Moleón, M. 2018.** From sport hunting to breeding success: Patterns of lead ammunition ingestion and its effects on an endangered raptor. *Science of The Total Environment*. Février 2018. Vol. 613-614, pp. 483-491.
- 107. Glorennec, P., Chanel, O. 2015.** Le saturnisme ou intoxication au plomb/ La plombémie, marqueur de l'intoxication par le plomb. École des hautes études en santé publique (EHESP) et Institut de recherche sur la santé, l'environnement et le travail (Irset, Inserm). <http://www.inserm.fr>.
- 108. Goix, S., Mombo, S., Schreck, E. 2015.** Field isotopic study of lead fate and compartmentalization in earthworm–soil–metal particle systems for highly polluted soil near Pb recycling factory. *Chemosphere* 138:10–17. doi: 10.1016/j.chemosphere.2015.05.010
- 109. Gomez, A., Solda, P., Lambrot, C., Wilbert, J., Juste, C. 1992.** Bilan des éléments-traces métalliques transfères dans un sol sableux après 16 années d'apports continus et connus de boues de station d'épuration et de fumier de ferme. Ministère de l'Environnement, Convention de Recherche n° 89-256.
- 110. Gollenberg, A.L., Hediger, M.L., Lee, P.A. 2010.** Association between lead and cadmium and reproductive hormones in peripubertal U.S. girls. *Environ Health Perspect* 118:1782–7. doi: 10.1289/ehp.1001943.
- 111. Gonzalez-Weller, D., Karlsson, L., Caballero, A., Hernandez, F., Gutierrez, A., Gonzalez-Iglesias, T. 2006.** Lead and cadmium in meat and meat products consumed

- by the population in Tenerife Island, Spain. *Food Additives and Contaminants* 23: 757-763.
- 112. Goyer, R.A et Clarkson, T.W.2001.** In: Klaassen CD, editor. Casarett & Doull's toxicology: the basic science of poisons, 6th ed. New York: McGraw-Hill, *Health Professions Division*; . p. 811-68.
- 113. Goyer, R.A. 1993.** Lead toxicity. Current concerns, *Environ. Health Perspect.*, 100, p. 177-187.
- 114. Goyer, R.A.1996.** Results of lead research: prenatal exposure and neurological consequences. *Environ Health Perspect*, 104: 1050-1054.
- 115. Gulson ,B.L., Jameson, C.W., Mahaffey, K.R., Mizon, K.J, Korsh, M.J, Vimpani, O. 1997.** Pregnancy. increases mobilization of lead from maternal skeleton. *J Lab Clin Med* 130:51-62.
- 116. Gutiérrez, M., Mickus , K., Camacho, L.M.2016.** Abandoned Pb–Zn mining wastes and their mobility as a proxy to toxicity: A review. *Sci. Total Environ.* 565:392-400.
- 117. Haito, L.I.U., Ruiyan, N.I.U., Jinming, Wang., Ying, H.F.2008.** Changes caused by fluoride and lead energy metabolic enzyme activities in the reproductive system of male offspring rats .Research report fluoride;41(3):184-191.
- 118. Halen, 1993.** Residues and source identification of persistent organic pollutants in farmland soils irrigated by effluents from biological treatment plants. *Environ Int* 31:778–783
- 119. Halpern ,B.N. ; Pecaud, A. 1951.** Technique de prélèvement d'échantillons de sang chez les petits animaux de laboratoire par ponction du plexus ophtalmique. *C.R. Soc. Biol.*:145 (1465).
- 120. Hannah, S., Ramesh, M., Manavalaramanujam. 2002.** Responses of plasma transaminase activity in *cyprinus carpio* var. communis to mercury toxicity. *Journal of the Indian Fisheries Association*, 29: 7-13.
- 121. Hoenig, M., Kersabiec, A.M. 1989.** L'atomisation électrothermique en spectrométrie d'absorption atomique. Masson, Paris, , 296 p. ISBN : 2-225-81937-8.
- 122. Horowitz, A.J.2009.** Monitoring suspended sediments and associated chemical constituents in urban environments: lessons from the city of Atlanta, Georgia, USA water quality monitoring program. *J Soils Sediments* 9:342–363
- 123. Hounkpatin, A. S. Y., Etorh, P. A., Guédénon, P., Alimba, C. G., Ogunkanmi, A., Dougnon, T. V., Boni, G., Aissi, K. A., Montcho, S. Loko, F., Ouazzani, N., Mandi,**

- L., Boko, M et Creppy, E. E., 2013. Haematological evaluation of Wistar rats exposed to chronic doses of cadmium, mercury and combined cadmium and mercury. *African Journal of Biotechnology*, 12(23):3731-3737.
124. **Humphreys, D. J.** 1991. Effect of exposure to excessive quantities of lead on animals. *Br. Vet. J.* 147, 18–30.
125. **INERIS.** 2006. Eléments sur l'origine et l'élaboration des valeurs réglementaires de l'eau, de l'air et des denrées alimentaires, applicables en France pour les substances chimiques. DRC- 06- 75999/ DESP-R1b. 163p.
126. **INSERM .** 1999. Plomb dans l'environnement, Synthèse et recommandations, p.149-169.
127. **IPCS.** 1995. Environmental health criteria . Inorganic lead. Geneva: WHO; 300p.
128. **IRC((International Agency for Research on Cancer).** 1993. Some Naturally Occurring Substances: Food Items and Constituents, Heterocyclic Aromatic Amines and Mycotoxins. In: Iarc Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans .IARC Scientific Publication, Lyon, France.
129. **Ito, Y., Niiya, Y., Otani, M., Sarai ,S., Shima, S.** 1987. Effect of food intake on blood lead concentration in workers occupationally exposed to lead. *Toxicol Lett.* 37: 105-114.
130. **Jaradat, Q.M., Massadeh, A.M., Momani, K.A., AlSaleem, M.A.** 2010. The Spatial Distribution of Pb, Cd, Zn, and Cu in Agricultural Roadside Soils. *Soil Sediment Contam* 19:58–71. doi: doi: 10.1080/15320380903390554
131. **Johnson, C. K., Kelly, T. R. Rideout, B. A.** 2013. Lead in Ammunition: A Persistent Threat to Health and Conservation. *EcoHealth*. Décembre 2013. Vol. 10, n° 4, pp. 455-464.
132. **Jorhem, L., Slorach, S., Sundström, B., Ohlin, B.** 1991. Lead, cadmium, arsenic and mercury in meat, liver and kidney of Swedish pigs and cattle in 1984–88. *Food Addit. Contam.* 8, 201–211.
133. **Jorhem, L.** 1999. Lead and cadmium in tissues from horse, sheep, lam and reindeer in Sweden. *Z Lebensm Unters Forsch* 208: 106-109.
134. **Juste, C.** 1995. Les micropolluants métalliques dans les boues résiduelles des stations d'épuration urbaines, *Convention ADEME-INRA*, ADEME éd., 209 p.
135. **Kabata-Pendias, A., Pendias, H.,** 2001. Trace elements in soils and plants. Third Edition. CRC Press Press, Boca Raton, Florida. , 2 nd Edition, 209.
136. **Kaplan.** 1984 *Ann. Clin., Chem.* 27-29.

137. Karmakar, R., Bhattacharya, R., Chatterjee, M. 2000. Biochemical, haematological and histopathological study in relation to time-related cadmium-induced hepatotoxicity in mice. *BioMetals* 13:231-239.
138. Katzner, T. E., Stuber, M. J., Slabe, V. A., Anderson, J. T., Cooper, J. L., Rhea, L.I. et Millsap, B. A. 2017. Origins of lead in populations of raptors. *Animal Conservation*. 2017.
139. Kazemeini, H.R., Rahimi, E., Nozarpour, N. 2014. Cadmium concentration in muscles, liver and kidneys of sheep slaughtered in Iran. *Toxic and Indust Health, SAGE journals online* 26(5)259.
140. Keller, C.A., Doherty, R.A. 1980. Bone lead mobilization in lactating mice and transfer to suckling offspring. *Toxicol Appl Pharmacol*, 55: 220-228.
141. Khalafalla, F.A., Abdel-Atty, N.S., Rofaida, B., Abo-Elhoud. 2015. Assessment of heavy metal residues in retail meat and offals. *J Am Sci*;11(5):50-54. (ISSN: 1545-1003).
142. Kharoubi, O., Slimani, M., Aoues, A., Seddik, L. 2008. Prophylactic effects of wormwood on lipid peroxidation in an animal model of lead intoxication. *Indian neohrology*.
143. Klaassen, C. D. 2008. Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons. 8th edition. New York : McGraw Hill Medical Education.
144. Knoppler, H.O., Graunke, W., Mucke, W., Schulze, H., Gedek, W. 1979. Blei- Cadmium- und Quecksilbergehalte in Fleisch- und Organproben von Lammern und Schafen. *Fleishwirtschaft* 59: 241-247.
145. Koch, R. O., Heinz, Z., Theurl, G., Obrist, P., Pietrangelo, A., Montosi, G., Haile, D. J., Vogel, W.G., Weiss, G. 2004. Expression of the duodenal iron transporters divalent-metal transporter 1 and ferroprotein 1 in iron deficiency and iron overload. *Gastroenterology*, 120: 1412–1419.
146. Kottferova, J et Korenekova, B. 1995. The effect of emissions on heavy metals concentrations in cattle from the area of an industrial plant in Slovakia. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 29: 400-405.

- 147.Kouassi, E., Fournier, M., 2003.** Système immunitaire. Environnement et santé publique/ Fondements et pratiques. Edisem/Tec et Doc, Acton Vale/Paris.
- 148.Kramer, HL; Steiner, JW and Vallely, PJ .1983.** Trace element concentration in the liver,kidney and muscle of Queensland cattle. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 30: 588- 594.
- 149.Kreuzer, W., Rosopulo, A., Sell, D., Frangenberg, J., Koberstein, S., 1988.** Lead and cadmium contents in the musculature, liver and kidney of slaughter calves. Calves from uncontaminated areas and/or farms that have passed meat inspection. Fleischwirtschaft 71, 339-34.
- 150.Labbe, D., Vassault, A., Cherruau, B., Baltassat, P., Bonete, R., Carroger, G.,Trepo, D., 1996.**Method selected for the determination of creatinine. *Annale de Biologie Clinique*, **54**: 285-298.
- 151.Lauwerys, R., Haufroid ,V., Hoet, P. 2007.** Toxicologi industrielle et intoxications professionnelles, Masson, Paris, p.1252.
- 152.Lenntech, 2004.**Contribution à l'étude écotoxicologique du plomb. Thèse, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Faculté de médecine de Créteil. 69p.
- 153.Layachi,N., Kechrid,Z.2013.**Combined protective effect of vitamins C and E on cadmium induced oxidative liver injury in rats. *African Journal of Biotechnology*, *11(93)*, 16013-16020.
- 154.Lévêque, T., Capowiez, Y., Schreck, E.2015.**Science of the Total Environment Effects of historic metal (loid) pollution on earthworm communities. *Sci Total Environ* 511:738–746. doi: 10.1016/j.scitotenv.2014.11.101.
- 155.Liu, H., Niu, R., Wang, J, He. Y., Wang, J., China, S.2008.** Changes caused by fluoride and lead in energy metabolic enzyme activities in reproductive system of male offspring rats. *Research fluoride* , 41 (3): 184-191.
- 156.López Alonso, M., Montaña, F.P., Miranda, M., Castillo, C., Hernández, J., Bedito, J.L.2004.**Interactions between toxic (As, Cd, Hg and Pb) and nutritional essential (Ca,Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Se, Zn) elements in the tissues of cattle from NW Spain.*BioMetals* 17, 389–397.
- 157.Lopez-Alonso , M., Bedito, J.L., Miranda, M., Castillo, C., Hernandez, J., Shore, R.F., 2000.**Toxic and trace elements in liver, kidney and meat from cattle slaughtered in Galicia (NW Spain). *Food Addit. Contam.* 17, 447-457.

- 158. Loué, A. 1993.** Oligoéléments en agriculture. Editions Nathan, 577 p.
- 159. Luo, X., Li, L., Ma, M., Li, R. 2015.** Effects of low-dose cadmium exposure during gestation and lactation on development and reproduction in rats. *Environ Sci Pollut Res Int* ;22(14):10569-10579.
- 160. Mahar, A., Wang, P., Ali, A., Awasthi, M.K., Lahori, A.H., Wang, Q., Li, R., Zhang, Z. 2016.** Challenges and opportunities in the phytoremediation of heavy metals contaminated soils: a review. *Ecotoxicol Environ Saf* 26:111–121. *Environ Contam Toxicol* 91:197–201.
- 161. Maldonado, V.M. 2008.** Heavy metal content in soils under different wastewater irrigation patterns in Chihuahua, Mexico. *Int J Environ Res Public Health* 5:441–449.
- 162. Maldonado, V. M., Carbon-Solorzano, J., Albores-Medina, A., Hernandezluna C.N, Calderon-Salinas, J.V. 1996.** Lead : intestinal absorption and bone mobilization during lactation. *Hum Exper Toxicol* 15 : 872-877.
- 163. Mariam, I., Iqbal, S., Nagra, A.S. 2004.** Distribution of some trace and macrominerals in beef, mutton and poultry. *Int J Agric Biol*, 5, 816.
- 164. Marković, J., Jovića, M., Smičiklasa, I., Šljivić-Ivanovića, M., Onjiab, A., Trivunac, K., Popović, A. 2019.** Cadmium retention and distribution in contaminated soil: effects and interactions of soil properties, contamination level, aging time and in situ immobilization agents. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 174 (2019) 305–314.
- 165. Mariusz, Rudy. 2009.** Corrélation of lead, cadmium and mercury levels in tissue and liver samples with age of cattle. *Food Additives and Contaminants* 26.06 :847-853.
- 166. Martoja, R., Martoja-Pierson, M. 1967.** Initiation aux techniques de l'histologie animale. Masson et Cie., éditeurs. 163-199.
- 167. Marzouk, K.M., El Atrach, A.A., Ibrahim, E.M.M., Shaben, I.S. 2016.** Détermination of Lead and cadmium in kidney, liver and the muscles of Camels and Sheepslaughtered in Libya. *Egyptian Journal of Sheep & Goat Sciences*, Vol. 11, No. 3.
- 168. Maszenan, A.M., Liu, Y., Ng, W.J. 2011.** Bioremediation of wastewaters with recalcitrant organic compounds and metals by aerobic granules. *Biotechnol Adv* 29(1):111–123.
- 169. Matías, M., Salvarredy, A. 2008.** Contamination en métaux lourds des eaux de surface et des sédiments du Val de Milluni (Andes Boliviennes) par des déchets miniers.

- Approches géochimique, minéralogique et hydrochimique. Thèse doctorat de l'université de Toulouse.P 498.
- 170.McBride ,M.B. 1994** Environmental chemistry of soils. Oxford University Press, New York,pp 31–62.
- 171.McBride, M., Sauvé, S., Hendershot, W.H. 2014.** Solubility control of Cu, Zn, Cd and Pb in contaminated soils. *Eur. J. Soil Sci.*, 48 : 337-346.
- 172.Mehennaoui ,S.1995.**Toxicité du plomb chez les ruminants; I. Surveillance biologique du saturnisme subclinique chez les Bovins. II. Toxicocinétique chez la brebis en lactation: modification provoquée par le zinc et le cadmium. Thèse de doctorat, université de Paris VII. 132pages.
- 173.Mehennaoui ,S., Charles, E. J., Enriquez, B. ,Claun, M., Milhaud, G. 1988.** Indicators of lead, zinc and cadmium exposure in cattle: II- Controlled feeding and recovery. *Vet. Hum. Toxicol.* 30 (6), 550-555.
- 174.Mehennaoui, F.Z., Kadi ,M.F.,Amri, S.,Mehennaoui S.2001.**Significations biologiques des teneurs en plomb, cadmium, zinc et cuivre dans la laine de mouton de la race Ouled Djellel. *Revue Sciences &Technologie* 1 05,109-112.
- 175.Mench, M.J., Manceau, A., Vangronsveld, J., Clijsters ,H., Mocquot, B.2000.** Capacity of soil amendments in lowering the phytoavailability of sludge-borne Zn. *Agronomics*,20,383-397.
- 176.Michel ,M., Baize, D.2004** .Contamination des sols et de nos aliments d'origine végétale par les éléments en traces. Mesures pour réduire l'exposition. *Courrier de l'environnement de l'INRA* n°52, septembre 2004.
- 177.Micó, C., Recatalá, L., Peris, M., Sánchez, J.2006.**Assessing heavy metal sources in agricultural soils of European Mediterranean area by multivariate analysis. *Chemosphere* 65: 863–872.
- 178.Milhaud, G. , Vassal ,L., Federspiel, B., Delacoroix- Buchet ,A.,Mehennaoui ,S., Charles ,E. ,Enriquez ,B., Colf-Clauw, M. 1998.** Devenir du cadmium du lait de brebis dans la crème et les caillés présure ou lactique. *Le lait*,78 689-698.
- 179.Miquel, G. 2001.**Rapport sur les effets des métaux lourds sur l'environnement et la santé. Office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques, N° 2979. Nationale Vétérinaire d'Alfort, Faculté de médecine de Créteil. 69p.

- 180.Miranda, M., López Alonso, M., Castillo, C., Hernadez, J., Benedito, J.L.2001.** Cadmium levels in liver, kidney and meat in calves from Asturias (North Spain). *Eur. Food Res. Technol.* 212, 426–430.
- 181.Miranda, M., López Alonso, M., Castillo, C., Hernadez, J., Benedito, J.L. 2005.** Effects of moderate pollution on toxic and trace metal levels in calves from a polluted area in northern Spain. *Environ. Int.* 31, 543–548.
- 182.Mohammed, L., Hamak., Karkaz, M., Thalij. 2015.** Estimation of Cadmium and Cupper in Some Foods and Drinking Water in Iraqi Markets and Illustrated the Ultra Structural Alterations of its Ranged in Rats Spleen. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*4(3): 174-181.
- 183.Morrow, P.E., Better, H., Amato, F.1980.** Pulmonary retention of lead: An experimental study in man, *Environ. Res.*, 21(2), p. 373-384.
- 184.Motrich, RD, Ponce, A.A, Rivero, V.E. 2007.**Effect of tamoxifen treatment on the semen quality and fertility on the male rat. *Fertil Steril.* ; 88 (2) : 452-61.
- 185.Mouhamed, O. A., Azab, El-S.A. 2014.** Effect of Cadmium on the Liver and Amelioration by Aqueous Extracts of Fenugreek Seeds, Rosemary, and Cinnamon in Guinea pigs: Histological and Biochemical Study. *Cell Biology.* 2(2): 7-17.
- 186.Multigner, L., Ndong, J.R., Giusti, A., Romana, M., Delacroix-Maillard, H., Cordier, S., Jégou, B., Thome, J.P., Blanchet, P., 2010.** Chlordecone exposure and risk of prostate cancer. *J. Clin. Oncol.*28, 3457–3462.
- 187.Nasim ,Babaknejad., Ali, Asghar Moshtaghie., Kahin, Shahanipour. , Somaye, Bahrami. 2015.**The Protective Roles of Zinc and Magnesium in Cadmium-Induced Renal Toxicity in Male Wistar Rats. *Iranian Journal of Toxicology*; 8(27): 1160-1167
- 188.National Research Council (NRC). 2007.** Nutrient Requirements of Small Ruminants: Sheep, Goats, Cervids, and New World Camelids. The National Academies Press, Washington, DC, USA. 384page.
- 189.Neera ,Singh., Poonam ,Rani., Gupta, M, Nidhi, Goel., Neeraj ,Tandan. 2013.** Effects ofaqueous extract of *Camellia sinensis* (L.) O.kuntze on liver markers of cadmium treated rats. *E3.Journal of Biotechnology and Pharmaceutical Research*; 4(5): 89-93.

190. Nilson, V., Attwell, R., Chistofferson, J.D., Schultz, A., Ahlgren L., Skerfving, S., Matson, J. 1991. Kinetics of lead in bone and blood after end of occupational exposure. *Pharmacol. Toxicol.*, **68** (6), 477-484.
191. Nna, V.U., Ujah, G.A., Mohamed, M., Etim, K.B., Igba, B.O., Augustine, E.R., Osim, E.E. 2017. Cadmium chloride-induced testicular toxicity in male wistar rats; prophylactic effect of quercetin, and assessment of testicular recovery following cadmium chloride withdrawal. *Biomed Pharmacother* 94:109–123 *Environ Contam Toxicol* 91:197–201.
192. Nordberg, G.F., Nogawa, K., Nordberg, M., Friberg, L. 2007. Cadmium, In : *Handbook of Toxicology of metals*, 3^{ème} édition. Elsevier Publishers, Amsterdam, chapitre 23: 445-480.
193. Norouzirad, R., González-Montaña, J.R., Martínez-Pastor, F., Hosseini, H., Shahrouzian, A., Khabazkhoob, M., Malayeri, F.A., Bandani, H.M., Paknejad, M., Foroughi-Nia, B., Moghaddam, A.F. 2018. Lead and cadmium levels in raw bovine milk and dietary risk assessment in areas near petroleum extraction industries. *Sci Total Environ* 635: 308–314
194. Noubissié, E. 2015. Spéciation des composés organométalliques (Zn, Sn, Pb) dans les sols des cultures maraîchères et dans trois espèces de plantes cultivées à Ngaoundéré (Cameroun). Thèse de Doctorat présentée à l'Université de Pau et des Pays de l'Adour.
195. Nriagu, J., Boughanen, M., Linder, A., Howe, A., Grant, C., Rattray, R., Vutchkov, M., Lalor, G. 2009. Levels of As, Cd, Pb, Cu, Se and Zn in bovine kidneys and livers in Jamaica. *Ecotoxicol Environ Safety*. 72:564-571.
196. Ogwuegbu, Muhanga, 2005. Normal Hematology of Cattle, Sheep and Goats. In : «Schalm's Veterinary Hematology, 5th edition». Feldman, B.F; Zinkl, J.G.; Jain, N.C. editors. Lippincott williams and wilkins, Philadelphia, U.S.A. 1075-1084.
197. O'Flaherty, E.J., Inskip, M.J., Yagminas, A.P., Franklin, C.A. 1996. Plasma and blood concentration, lead absorption and lead excretion in nonhuman primates. *Toxicol Appl Pharmacol* 138:121-130.
198. Oluwafemi, A.O., Basiru, O.A., Babatunji, E.O., Adebola, B.O. 2014. Hematological properties of *Irvingia gabonensis* in males adult rats. *Journal of pharmaceutical and scientific innovation*, 3(5): 434-436.

- 199.OMS (Organisation Mondiale de la Sante).1983.Exposition aux métaux lourds :limites recommandées d'exposition professionnelle à visée sanitaire. Genève. Série de rapports techniques 647. 132.
- 200.Ong,C.N.,LeeW.R.1980a.Distribution of lead in human peripheral blood invitro .*Br J Med* ,37;78-84.
- 201.Ong,C.N.,LeeW.R.1980b.Interaction of calcium and lead in human erythrocytes *Br J Ind Med*,(1980b),37;70-77.
- 202.Onwuka, F. C. , Erhabor, O., Eteng, M. U., Umoh, I. B. 2010. Ameliorative effect of cabbage extract on cadmiuminduced changes on hematology and biochemical parameters of albino rats. *Journal of Toxicology and Environmental Health Sciences*; 2(2):11-16
- 203.Oymak, T., Tokaloğlu, Ş., Yılmaz, V.,2009. Determination of lead and cadmium in food samples by the coprecipitation method. *Food Chem* 113:1314–1317. doi: 10.1016/j.foodchem.2008.08.064
- 204.Patra, R.C, Swarup, D., Naresh, R., Kumar, P., Nandi, D., Shekhar, P., Roy. S., Ali; S.L .2007. Tail hair as na indicator of environmental exposure of cows to lead and cadmium in different indutrial areas. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 66:127-131.
- 205.Payne, J.H., Holmes, J.P., Hogg, R.A., van der Burgt, G.M., Jewell, N.J., Welchman, D. B.2013.Lead intoxication incidents associated with shot from clay pigeon shooting. *Vet Rec*; 173(22):552
- 206.Payne, J et Livesy, C. 2010. Lead poisoning in cattle and sheep. *In Practice*; 32:64-9.
- 207.Pelletier, S., Taillefer, M.,Tremblay, A. 1997. Intoxication au plomb chez le bovin. Notes de toxicologie clinique vétérinaire. MEV,2030. Univ. Montréal. Fac.med.vet.
- 208.Pere ,J. P.1999. Techniques spectroscopiques en biochimie analytique. Bordeaux :Centre Régional de Documentation Pédagogique D'Aquitaine, 150p.
- 209.Pereira, R., Ribeiro, R., Gonçalves,F.2004. Scalp hair analysis as a tool in assessing human exposure to heavy metals (S.Domingos mine, Portugal).
- 210.Pérez-Carrera,A.L.,Arellano,F.E.,Fernández-Cirelli,A.2016.Concentration of trace elements in raw milk from cows in the southeast of Córdoba province, Argentina.*Dairy Science & Technology* 96, 591–602.
- 211.Perrin, J.B. 2007. Les plans de surveillance et de contrôle dans l'analyse du risque alimentaire lié aux métaux lourds en France. Thèse de doctorat. Université Claude-Bernard- Lyon I. 154pages.

- 212. Petit, B. K. M. 2007.** Actualisation des connaissances sur les éléments biologiques et minéraux persistants dans les boues des stations d'épuration. Impact sur la santé publique. Thèse de doctorat vétérinaire, E.N.V. d'Alfort Paris 141p
- 213. Peyret, T. 2013.** Développement de modèles prédictifs de la toxicocinétique de substances organiques. Thèse de doctorat. Département de santé environnementale et santé au travail. Faculté de Médecine. Université de Montréal. 357pages.
- 214. Phillips, C.J., Tudoreanu, L. 2011.** A model of cadmium accumulation in the liver and kidney of sheep derived from soil and dietary characteristics. *J. Sci. Food Agric.* 91,370–376.
- 215. Pichard, A., Bisson, M., Diderich, R., Hulot, C., Houeix, N., Lacroix, G., Lefevre, J.P., Leveque, S., Magaud, H., Morin, A., 2005-** Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques : Cadmium et ses dérivés, INERIS –DRC-01-25590-00DF259.doc Version N°2-2mars.69 p
- 216. Picot, A. 2010.** Les métaux lourds : de Grands toxiques/ Le trio mercure, plomb, cadmium Association de toxicologie et chimie (ATC) Paris. CNRS France.
- 217. Pillai, P., Pandya, C., Bhatt, N., Gupta, S.S. 2012.** Biochemical and reproductive effects of gestational/lactational exposure to lead and cadmium with respect to testicular steroidogenesis, antioxidant system, endogenous sex steroid and cauda-epididymal functions. *Andrologia*;44:92-101.
- 218. Pinault, L., Milhaud, G., Puyt, J.D. 1998.** Dépistage du saturnisme subclinique, chronique chez les bovins et son incidence sur la production de lait. Colloques de l'INRA, 1982.
- 219. Plumlee et Ziegler, 2003.** Toxicologie du plomb chez l'homme. *Lavoisier TEC DOC.* 1992; p 350.
- 220. Ponthieu, M., Juilot, F., Morin, G., Benedetti, M.F. 2002.** Mobilisation des interactions métaux –oxydes de fer dans des sols contaminés. Première rencontre nationale de la recherche sur les sites et les sols pollués, bilan et perspectives. Paris 7^e
- 221. Poontawee, W., Surapol, N., Orawan, W. 2016.** Protective Effect of Cleistocalyx nervosum var. paniala Fruit Extract against Oxidative Renal Damage Caused by Cadmium. *Molecules*, 21(133): 1-13.
- 222. Portier, C. J. 2012.** Toxicological profile for lead. Department of Health and Human Services. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, US .Pushpa Rani

- Guvvala1 & Janivara Parameswaraiiah Ravindra1 & Sellappan Selvaraju1,2. Impact of environmental contaminants on reproductive health.
- 223.Pradyt, 2004.** Patnaik .Dean's Analytical Chemistry Handbook (McGraw-Hill Handbooks). Second edition. 1114 p.
- 224.Prankel, S.H., Nixon, R.M., Phillips, C.J.C., 2004.**Meta-analysis of feeding trials investigating,cadmium accumulation in the livers and kidneys of sheep. Environ. Res. 94, 171–183.
- 225.Praveen Chakravarthi, V.,Pradeep Kiran, J. A.,Bhaskar, M. 2012.**Cadmium toxicity: a health hazard and a serious environmental problem - an overview. International Journal of Pharmacy and Biological Sciences, , 2, 235-246.
- 226.Qiu ,C.A.I., Long, M., Liu, J., Zhu, M., Zhou, Q.Z., de Deng, Y., Li ,Y., Tain ,Y.J. 2008.** Correlation between heavy metals concentration in cattle tissues and rearing environment. Chinese J Ecol. 27:202-207.
- 227.Rabinowitz,M.B. 1991.** Toxicokinetics of bone lead. Environm. Health Perspect, **91**, 33-37.
- 228.Radostitis, O.M., Gay, C.C., Hinchcliff, K.W., Constable, P.D. 2007.** "Veterinary Medicine: A Textbook of the Disease of Cattle, Horses, Sheep, Pigs and Goats" 10th ed., Saunders, Elsevier, Spain, pp: 1799-1808.
- 229.Rahimi, E., Rokni, N. 2008.**Measurement of cadmium residues in muscle, liver and kidney of cattle slaughtered in Isfahan abattoir using grafito furnace atomic absorption spectrometry (GFAAS): a preliminary study. Iran. J. Vet. Res. 9, 174–177.
- 230.Raikwar, M.K., Kumar, P., Singh, M., Singh, A., 2008.** Toxic effect of heavy metals in livestock health. Veterinary World 1, 28.
- 231.Randa,A.H.,Dawlat,M.A.,Nariman,A.R.,Hatem,M.E.,Dessouky,M.I.2012.**Clinico pathological, histopathological and immunological studies on animals exposed to lead and cadmium under experimental conditions, *New York Science Journal*, 5(12), , 120-136.Raton, pp 23–56. <https://doi.org/10.1201/9781315173351-3>
- 232.Reis, L. S. L. S., Pardo, P. E., Camargos, A. S., Oba E.2010.**Mineral element and heavy metal poisoning in animals.Journal of Medicine and Medical Sciences Vol. 1(12) pp. 560-579.
- 233.Ribera, D., Taberly, J. 2011.** Mélanges de polluants, toxicité, écotoxicité et

- évaluation des risqué. RECORD, n°08-0668/1A. 295pages.
- 234.Rizwan, M., Ali, S., Adrees, M., Ibrahim, M., Tsang, D.C.W., Zia-ur-Rehman, M., Zahir,Z.A., Rinklebe, J., Tack, F.M.G., Ok, Y.S., 2017.** A critical review on effects, tolerance mechanisms and management of cadmium in vegetables. *Chemosphere* 182, 90–105. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.05.013>.
- 235.Robert ,M., Juste ,C.1999.**Dynamique des éléments traces de l'écosystème sol. In :Spéciation des métaux dans le sol, Association ECRN Echange et coordination Recherche,296 p.
- 236.Rodier, Jean., Legube, B., Merlet N. 2009.**L'Analyse de l'eau. 9eme édition. Dunod. Paris,. 1526p. ISBN : 978-2-10-054179-9.
- 237.Rodriguez-estival, J., Barasona ,J. A.,Mateo, R. 2012.** Blood Pb and δ -ALAD inhibition in cattle and sheep from a Pb-polluted mining area. *Environental Pollution*.ELSEVIER
- 238.Roggeman ,S., de Boeck, G., De Cock, H., Blust, R., Bervoets, L. 2014.**Accumulation and detoxification of metals and arsenic in tissues of cattle (*Bos taurus*), and the risks for human consumption.*Sci Total Environ* 466–467:175–84.
- 239.Roquet-Noël ,V.2002.** Neurotoxicité du plomb pendnat le developpement – Mise au point bibliographique. Thèse pour le doctorat vétérinaire. Ecole nationale vétérinaire d'Alfort. 109 pages.
- 240.Russell,L.D.,Ettlin,R.A.,Hikim,A.P.S.,Clegg,E.D.1993.**"Hitologica and histo pathological evaluation of the testis." Clearwater, FL: Cache River Press..
- 241.Sajjad, S. , Malik, H., Farooq, U., Rashid, F., Nasim, H., Tariq ,S., Rehman S.2014.** Cadmium Chloride Toxicity Revisited: Effect on Certain Andrological, Endocrinological and Biochemical Parameters of Adult Male Rabbits. *Physiological Research*. **63**: 505-512.
- 242.Santos-Gallego ,C.G., Jialal, I .2016.** Cadmium and Atherosclerosis: Heavy Metal or Singing the Blues? *Atherosclerosis*. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2016.01.041
- 243.Sassa,S.,Granick,S.,Kappas,A.1975.**Effect of lead and genetic factors on heme biosynthesis in the human redcell.*Ann N Y AcadSci*,244:419-440.
- 244.Satrug S., Baker J. R., Reilly P. E. B., Moore M. R., Williams D. J., 2002.**Cadmium levels in the lung, liver, kidney cortex and urine samples from

- Australians without occupational exposure to metals. *Archives of Environmental Health*, 57: 69–77.
- 245.Saxena, G., Bharagava, R.N .2017.** Organic and inorganic pollutants in industrial wastes, their ecotoxicological effects, health hazards and bioremediation approaches. In: Bharagava RN (ed) Environmental pollutants and their bioremediation approaches, 1st edn. CRC Press, Boca.
- 246.Saxena, G., Chandra, R., Bharagava, R.N. 2016.** Environmental pollution, toxicity profile and treatment approaches for tannery wastewater and its chemical pollutants. *Rev Environ Contam Toxicol* 240:31–69.
- 247.Sebatian ,J.R., Sebastian,D.J., Beck, K.G., 2014.** Feral Rye Control in Colorado. Western Society of Weed Science Progress Report, Colorado Springs.
- 248.Sedki ,A., Lekouc, N., Gamon, S., Pinea, A. 2003.** Toxic and essential trace metals in muscle, liver and kidney of bovines from a polluted area of Morocco. *Sci Total Environ.* 317:201-205.
- 249.Selvaraju,S.,Jodar,M.,Krawetz,S.A.2014.**The influence of environmental contaminants and lifestyle on testicular damage and male fertility.In: Faqi A. (eds) Developmental and Reproductive Toxicology.
- 250.Shailesh ,K .M., Desiragu.T. 1990 .** Regional alterations of brain biogenic amines and GABA /glutamate levels in rats following chronic lead exposure during neonatal development.*Archives of toxicology ,ISSN 0340-5761 coden ARTON ,vol 64 PP 305-314.*
- 251.Shalan, M.G., Mostafa, M. S. , Hassouna, M. M. , Nabi, S. E. , Refaie, A. 2005.** Amelioration of lead toxicity on rat liver with vitamin C and silymarin supplements.*Toxicology.*206:1-15.
- 252.Singh, R., Gautam, N., Mishra, A., Gupta. R.2011.** Heavy metals and living systems: An overview. *Indian J Pharmacol* 43:246–53. doi: 10.4103/0253-7613.81505.
- 253.Skoog, Holler, Nieman.2003.** Principe d’analyse instrumentale, fifth edition. Edition de Boeck université. Paris,. 938p. ISBN : 2-7445-0112-3.
- 254.Smith, D.M., Mielke, H.W., Heneghan, J.B. 2008 .** Subchronic lead feeding study in male rats *.Arch Environ Contam Toxicol.*

255. Singh, R., Gautam, N., Mishra, A., Gupta, R. 2011. Heavy metals and living systems: An overview. *Indian J Pharmacol* 43:246–53. doi: 10.4103/0253-7613.81505.
256. Spierenburg, T.J., Graaf, G.J., Baars, A.J., Brus, D.H.J., Tielen, M.J.M., Arts, B.J. 2008. Cadmium, zinc, lead, and copper in livers and kidneys of cattle in the neighbourhood of zinc refineries. *Environ Monit Assess*; 11:107–14.
257. Sposito, G. 1989. The chemistry of soils. *Oxford University press New York*.
258. Staessen, J.A., Roels, H.A., Emelianov, D., Kuznetsova, T., Thijs, L., Vangronsveld, J. 1999. Environmental exposure to cadmium, forearm bone density, and risk of fractures: prospective population study. Public Health and Environmental Exposure to Cadmium (PheeCad) Study Group. *Lancet* 353:1140–1144.
259. Suradkar, S. G., Ghodasara, D.J., Priti, V., Jatin, P., Vikas, J., prajapati, k. 2009. Haemato-Biochemical Alterations induced by lead acetate toxicity in Wistar Rats, *Veterinary World*, Vol.2(11):429-431.
260. Sugita, M. 1978. The biological half-time of heavy metals. the existence of a third « slowest component. *Int Arch Occup Environ Health*, 41 : 25-40.
261. Swaileh, K. M., Abdulkhalik, A.M., Hussein R., Matani, M. 2009 .Distribution of Toxic Metals in Organs of Local Cattle, Sheep, Goat and Poultry from the West Bank, Palestinian Authority *Bull Environ Contam. Toxicol* 83:265–268 DOI 10.1007/s00128-009-9704-x.
262. Swarup, D., Naresh, R., Varshney, V.P., Balaganga tharathilagar, M., Humar, P., Nandi, D., Patra, R.C. 2007. Changes in plasma hormones profile and liver function in cows naturally exposed to lead and cadmium around different industrial areas. *Res. Vet. Sci.* 82: 16-21.
263. Thornton, I., Abrahams, P. 1983. Soil ingestion--a major pathway of heavy metals into livestock grazing contaminated land. *Sci Total Environ*, 28:287-94.
264. Tchounwou, A., Mahaffey, K., Capar, S., Gladen, .C. 2012. Concurrent exposure to lead, cadmium, and arsenic : effects on toxicity and tissue metal concentrations in the rat. *J. Lab. Clin. Med.* 98, 463-481.
265. Tolcin, A.C., 2015. Cadmium (Advance Release). *Minerals Yearbook*. U.S. Department of the Interior U.S. Geological Survey, 1–15.
266. Underwood, N., Suttle, F. 1999. *Mineral Nutrition of Livestock*, CAB International. Université Claude Bernard- Lyon I, 87p.

267. **Viau, C., Tardif, R.** 2003. Manuel de Toxicologie. Environnement et santé publique- Fondements et pratiques /Edisem/ T,119-143.
268. **Vos, G., Hovens, JP et Van Delft, W.**1987. Arsenic, cadmium, lead and mercury in meat, liver and kidney of cattle slaughtered in the Netherland during 1980-1985. *Food Addit.Contam.*, 4:73-88.
269. **Vos, G., Lammers, H., van Delft, W.** 1988. Arsenic, cadmium, lead and mercury in meat, liver and kidney of sheep slaughtered in the Netherlands. *Zeitschrift fur Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung* 187: 1-7.
270. **Waegeneers, N., Pizzolon, J.-C., Hoenig, M., De Temmerman, L.,** 2009. The European maximum level for cadmium in bovine kidneys is in Belgium only realistic for cattle up to 2 years of age. *Food Addit. Contam. Part A Chem. Anal. Control Expo. Risk Assess.* 26, 1239–1248.
271. **Waldner, C., Checkley, S., Blakley, B., Pollock, C., Mitchell, B.**2002. Managing lead exposure and toxicity in cow-calf herds to minimize the potential for food residues. *J. Vet. Diagn. Investig.*14,481–486.
272. **Walter, I., Cuevas, G.** 1999. Chemical fractionation of heavy metals in a soil amended with repeated sewage sludge application. *The Sci. of the Total Environ.* 226:113 – 119.
273. **Wang, H. J., Liu, Z. P., Jia, X. D., Chen, H., Tan, Y. J.**2014. Endocrine Disruption of Cadmium in Rats Using the OECD Enhanced TG 407 Test System. *Biomedical and Environmental Sciences*, 27(12): 950-959.
274. **Wongsasuluk, P., Chotpantarat, S., Siriwong, W., Robson, M.**2014. Heavy metal contamination and human health risk assessment in drinking water from shallow groundwater wells in an agricultural area in Ubon Ratchathani province, Thailand. *Environ Geochem Health* 36:169–182. doi: 10.1007/s10653-013-9537-8.
275. **Wu, S., Peng, S., Zhang, X.** 2015. Levels and health risk assessments of heavy metals in urban soils in Dongguan, China. *J Geochemical Explor* 148:71–78. doi: 10.1016/j.gexplo.2014.08.009.
276. **Wuana et Okieimen.**2011. Contribution à l'étude écotoxicologique du cadmium. Thèse, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Faculté de médecine de Créteil. 69p.

277. **Xu, J., Yuan G., Dai S., Yin Z., Lu H., Jia R., Song X., Li L., Shu Y et Zhao X. 2017.** Toxicological assessment of combined lead and cadmium: acute and sub-chronic toxicity study . *Food Chem Toxicol*, 65: 260–268.
278. **Zasadowski, A., Barski, D., Markiewicz, K., Zasadowski, Z., Spodniewska, A., Terlecka, A., 1999.** Levels of cadmium contamination of domestic animals (cattle) in the region of Warmia and Masuria. *Pol. J. Environ. Stud.* 8, 443–446.
279. **Zmirou ,D., Coninck, P., Deportes, I., Dor, F., Bissonet, P., Hours, M., Keck, G., Lefebvre, L., Rouisse, L. 2003-** Déchets et sols pollués. In ; *Environnement et santé publique-* Fondements et pratiques, pp. 397-440. Edisem/Tec & Doc, Acton Vale/Paris

Annexe

Annexe I

I. Quelque donnée de la littérature sur la concentration de cadmium dans le foie et les reins des bovins (mg/kg)

| Country | Animal | Age | Liver Cd | Kidney Cd | Référence |
|--------------------|--------|--------------------------|----------|-----------|---|
| Belgique | bovin | 1–11.6 ans | 0,191 | 1.142 | Waegeneers <i>et al.</i>,2009 |
| | | 0.6–10.9 ans | 0,446 | 2,862 | |
| Belgium | bovin | >4 ans | 0,296 | 2,76 | Roggeman <i>et al.</i>,2014 |
| | | Vache laitière >5 ans | 0,283 | 2.58 | |
| Finland | Bovin | | 0,061 | 0.35 | Niemi <i>et al.</i>, 1991 |
| | Bovin | Génisses | 0,036 | | Tahvonen et Kumpulainen, 1994 |
| Ireland | bovin | >5ans | | 0.734 | Canty <i>et al.</i>, 2014 |
| Netherlands | bovin | 3 m–15 y | 0,16 | 1.66 | Spierenburg <i>et al.</i>,1988 |
| | | | 0,35 | 4.08 | |
| Poland | | 1 y | 0,09 | 0.21 | Włostowski <i>et al.</i>, 2006 |
| | Bison | 2 y | 0,22 | 0.41 | |
| | | 4–6 y | 0,43 | 1.24 | |
| | | 7–12 y | 0,45 | 2.79 | |
| | bovin | 8–12 y | 0,20 | 1.30 | |
| Poland | bovin | <2 y | 0,159 | 0.425 | Zasadowski <i>et al.</i>,1999 |
| | | >2 y | 0.263 | 1.703 | |
| | bovin | | 0.12 | 0.61 | Falandysz ,1993 |
| Spain | bovin | 6 m–12 mois | 0,03 | 0.161 | Miranda <i>et al.</i>,2001 |
| | Veaux | 6-10 m | 0,007 | 0.0513 | López Alonso <i>et al.</i>,2000 |
| | Vêles | 6–10 mois | 0,007 | 0.0579 | |
| | vache | 2–16 y | 0,083 | 0.388 | |
| | bovin | 9–12 m | 0,022 | 0.0964 | Miranda <i>et al.</i>,2005 |
| | vache | 3yr-16yr | 0.0547 | 0.320 | Lopez-Alonso <i>et al.</i>, 2004 |

| | | | | | |
|-----------------------------|-------|--------|-------|--------|---|
| Suède | | | 0,07 | 0.39 | Jorhem <i>et al.</i>,1991 |
| Slovénie | bovin | > 5 y | 0,094 | 0.373 | Doganoc,1996 |
| China | bovin | 2–4 y | 2,15 | 2.47 | Cai <i>et al.</i> ,2009 |
| Jamaïque | bovin | | 3,24 | 7.92 | Nriagu <i>et al.</i> ,2009 |
| Iran | bovin | 1–10 y | 0,049 | 0.1371 | Rahimi <i>et Rokni</i>2008 |
| Maroc | bovin | | 1,45 | 4.38 | Sedki <i>et al.</i> ,2003 |
| Australie | bovin | | 0,176 | 0.65 | Langlands <i>et al.</i>,1988 |
| | bovin | | 0.053 | 0.329 | Kramer <i>et al.</i> 1983 |
| Italie | bovin | | 0.105 | 0.304 | Amodio-Cocchieri <i>et Fiore</i>, 1987 |
| Les Pays-Bas | Bovin | | 0.093 | 0.464 | Vos <i>et al.</i> 1987 |
| Germany | Bovin | | 0.030 | 0.197 | Kreuzer <i>et al.</i> 1988 |
| Canada | Bovin | | 0.062 | 0.400 | Salisbury <i>et al.</i> 1991 |
| Poland | Bovin | | 0.106 | 0.542 | Falandysz, 1993 |
| Brazil | Bovin | | 0.044 | 0.204 | Aranha <i>et al.</i> 1994 |
| République Slovaquie | Bovin | | 0.281 | 0.227 | Kottferova and Korenekova, 1995 |

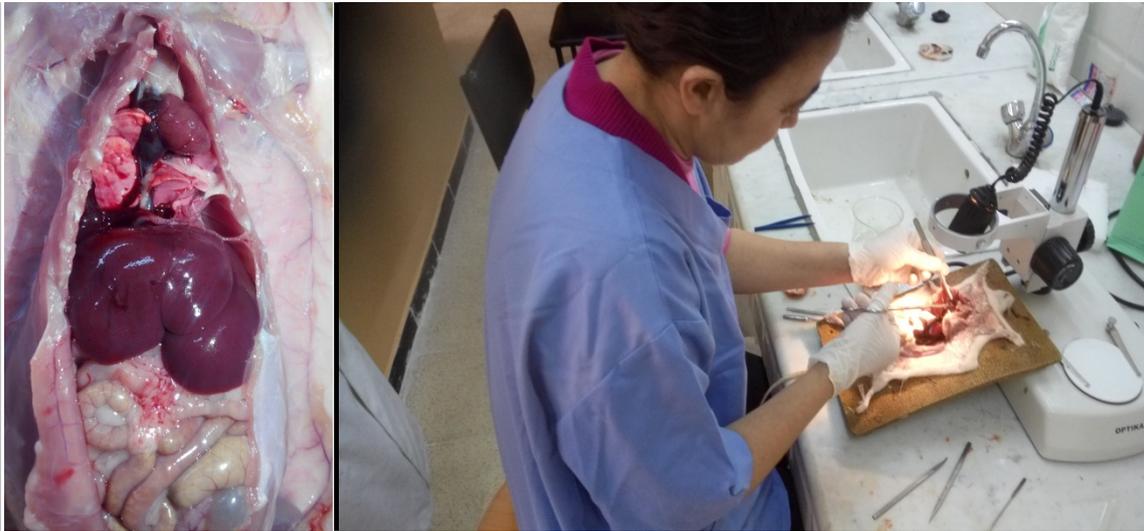
Quelque donnée de la littérature sur la concentration de cadmium dans le foie et les reins des moutons (mg/kg)

| Country | Liver | Kidney | Référence |
|--------------------|--------------|---------------|--------------------------------------|
| Spain | - | - | Gonzalez-Weller <i>et al.</i> , 2006 |
| Ireland | 0.045 | 0.058 | Reykdal and Thorlaciuss, 2001 |
| Australie | 0.03 | 0.96 | Langlands <i>et al.</i> , (1988) |
| Danemark | - | - | Larsen, 2002) |
| Canada | 0.060 | 0.170 | Salisbury <i>et al.</i> , 1991) |
| Finlande | 0.060 | 0.140 | Nuutamo <i>et al.</i> , 1980 |
| Germany | 0.052 | 0.118 | Knoppler <i>et al.</i> , 1979 |
| Germany | 0.271 | 0.547 | Schulz-Schroeder, 1991 |
| Norway | 0.39 | 0.547 | Froslie <i>et al.</i> , 1985 |
| Egypt (RA) | 0.082 | 0.880 | Abou-Arab, 2001 |
| Egypte (IA) | 0.261 | 0.820 | Abou-Arab, 2001 |
| Suède | 0.031 | 0.12 | Jorhem <i>et al.</i> , 1999 |
| Pays-Bas | 0.054 | 0.098 | Vos <i>et al.</i> , 1988 |

RA, rural area; IA, industrial areas.

Annexe II

1. Prélèvements d'organes



2. Paramètres du milieu ambiant de l'animalerie (ENS-Kouba)

| Température | Ventilation | Humidité | Éclairage | Bruit |
|---------------------|---|-----------|--------------------------------|----------------------------|
| Régulé à 22 ± 2 °C, | Les locaux sont correctement ventilés, air renouvelé continuellement. | 50% ± 10% | 12h/24h naturel et artificiel. | Allées et venues limitées. |

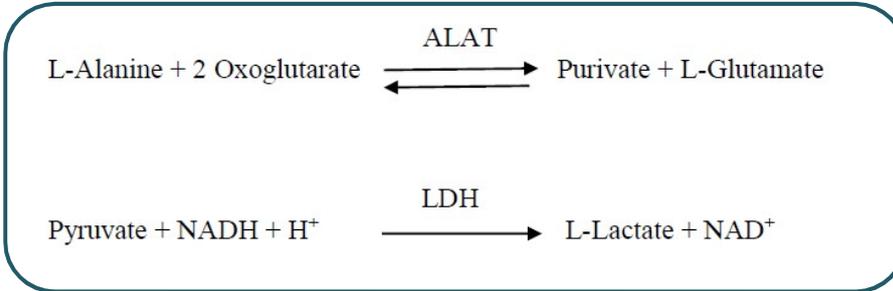
3. Composition du régime standard des rats de laboratoire

| Aliment | Quantité (%) |
|---------------------------|--------------|
| Glucides | 49,80 |
| Protéines | 23,50 |
| Lipides | 5,00 |
| Complexe minéral-vitamine | 5,70 |

Annexe III

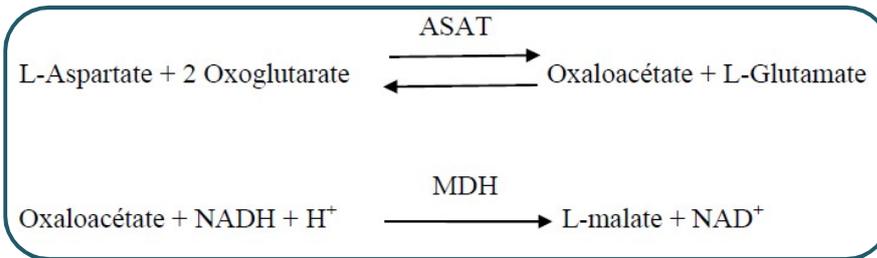
1. Dosage de l'activité de l'Alanine Aminotransférase (ALAT/GPT)

La série des réactions impliquées dans le système de dosage



2. Dosage de l'activité de l'Aspartate Aminotransférase (ASAT/STGO)

La série des réactions impliquées dans le système de dosage



3. Dosage de la créatinine

$$\text{Concentration de la créatinine en mg/l} = \frac{(A_2 - A_1) \text{ Echantillon}}{(A_2 - A_1) \text{ Etalon}} \times \text{Concentration étalon}$$

Concentration étalon de créatinine = 20 mg/l

4. Dosage de l'urée

$$\text{Concentration de l'urée en g/l} = \frac{\text{Abs Echantillon}}{\text{Abs Etalon}} \times \text{Concentration étalon}$$

Concentration étalon de l'urée = 0,5 g/l

Incidence and Public Health Risk Assessment of Toxic Metal Residues (cadmium and lead) in Liver and Kidney of Ovine and Bovine from Algeria

Wahiba ZENAD^{1,2*}; Amel BENATALLAH¹; Mohamed ZAOUANI^{1,3}; Sofiane BOUDJELLABA^{1,4}; Lynda AINOUIZ^{1,5}; Meriem Hind Ben MAHDI^{1,2}, Ali BENOUDAHA⁵

¹ Higher National Veterinary School, Rue Issad Abbes, Oued Smar, Algiers 16000, Algeria
Issad Abbes Street, Oued-Smar, Algiers, Algeria

² Research Laboratory - "Health and Animal Productions", Higher National Veterinary school of Algiers, Algeria

³ Research Laboratory of Food Hygiene and Quality Insurance System (HASAQ), Higher National Veterinary School, of Algiers, Algeria

⁴ Research Laboratory Management of Local Animal Resources (GRAAL), Higher National Veterinary School, of Algiers, Algeria

⁵ Laboratory of Biology and Animal Physiology, ENS Kouba, Algiers, Algeria

⁵ Laboratories of characterization and valorization of the natural product Faculty of Nature and Life Science, University El Bachir El Ibrahimi, Bordj Bou Arreridj, Algeria.

* corresponding author: w.zenad @ensv.dz

Bulletin UASVM Veterinary Medicine 77(2)/2020
Print ISSN 1843-5270; Electronic ISSN 1843-5378
doi:10.15835/buasvmcn-vm:2020.0002

Abstract

This study intended to establish if Cd and Pb in the livers and kidneys of bovine and ovine slaughtered in the study area exceeded to concentrations maximum limit proposed by the European Commission (EC) 2006. After digestion of samples, Cadmium and lead concentrations were determined by Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrophotometry (GFAAS). The results of our study have shown that lead and cadmium concentrations depend on age and species. The average fresh weight levels of liver and kidneys of bovine animals were about (0.319 mg/kg and 0.337mg/kg) for Cd and (0,502mg/kg and 0.497mg kg) for Pb, while in ovine, mean concentrations in the liver and kidneys were (0,241mg/kg and 0.232 mg/kg) for Cd and (0.259 mg/kg and 0.265 mg/kg) for Pb. Concentrations above the maximum limit proposed by the EC 2006 for Pb and Cd have been detected in some liver and kidney samples from bovine older than 4 years and in ovine over 1 year old .Statistical analysis revealed a very significant ($P<0.01$) difference in Cd concentrations in the liver and kidneys between age groups and species.

Keywords: Lead, cadmium, bovine, ovine, liver, kidney.

Introduction

Lead (Pb) and cadmium (Cd) are cumulative toxic metals thus, their widespread use and cumulative effect could lead to a severe environmental contamination and many public health problems (Saratug *et al.*, 2003 and Custer *et al.*, 2004). They are transmitted from mobile and stationary sources into the air and may reach to human food

(Sharkawy and Amal, 2003). Industrial and urban activities generate the accumulation of metallic waste in soils, which can be transferred to plants and therefore to animals, hence the importance of knowledge of soil-plant transfer- terrestrial organisms.

Ruminants bioaccumulate these toxic elements and are therefore the most exposed to Pb

and Cd, due to the grazing structure. Heavy metals have the ability to lodge in the reticulum of ruminants and provide a reservoir, which is continually absorbed into the bodies of these animals (Radosztitis *et al.*, 2007).

Ovine and bovine are the main sources of red meats, which have the potential to induce toxic human exposure. Offal's, especially liver and kidneys are the targeted organs for the bioaccumulation of metallic elements, and thus constitute a significant source of exogenous food intake. Differences in contamination levels of internal organs (kidney and liver) depend on the species and age of animals (Hecht, 1983; Kreiowska-Kuias, 1994; Studzinski *et al.*, 1992).

In Algeria, offal consumption is very important given its low cost and is part of some traditional diets. The level of heavy metal impregnation in the meat producing animal population is poorly investigated.

The aim of our study was to determine the levels of Pb and Cd in kidney and liver samples taken from bovine and ovine slaughtered in the country, as well as the potential risks of consumption of these organs.

Materials and methods

Ethical approval

Ethical approval is not applicable to this study as liver and kidney samples used for the analysis of heavy metals were collected from slaughtered bovine and ovine in Algeria.

Reagents

The chemicals and reagents used were of analytical high quality and they were mostly from Sigma (St. Louis, MO) and Merck (Mannheim, Germany). The HNO₃ was of suprapure quality (E. Merck, Darmstadt), standard solutions of lead and cadmium were purchased from Merck (Darmstadt, Germany) and double distilled deionized water (Milli-Q Millipore 18.2 M Ω -cm resistivity) was used for all dilutions.

Collection of Samples

A total of one hundred and eighty fresh liver and kidney samples were collected from bovine (n=80) and ovine (n=100) from the slaughterhouses in East and North of Algeria, from October 2016 to February 2017. The samples were taken only from healthy animals of three age groups: less than 12 months, between 1 to 4 years and over 4 years.

Mineralization of samples

Samples mineralization was done according to European Standard EN 13805 (2002). Briefly, 100g of each organ for analysis were stored in plastic falcon tubes and placed in a cooler box. Samples in the box were stored at -20°C during transfer to the laboratory up until sample preparation and analyses. At the laboratory the samples were freed of fat, major blood vessels and tendons, and homogenised.

All plastic and glassware were cleaned by soaking in diluted HNO₃ (10% v/v) and rinsed with distilled water prior to use. The element standard solutions used for calibration were prepared by diluting stock Heavy-metal levels in examined tissues were measured according to the method described by Finerty *et al.* (1990). In summary, 1 g of each sample was mixed with 10 mL 3:2 HNO₃ (65%v/v): HClO₄ (70%v/v). The mixture was allowed to digest overnight in the cold and later heated for 3 h in a water bath at 70°C with swirling at 30 min intervals to ensure complete digestion. After cooling, the digest was transferred into 20 mL standard asks, rinsing with de-ionized water and made up to the mark. Prepared sample solutions were kept in acid-leached polyethylene bottles at room temperature until metal analyses.

The samples were firstly dried and then thermally degraded at 750°C.

Calibration and Assay of Heavy Metals

Before each series of measurements, commercialized calibration solutions were prepared (6 for Pb and Cd and 5 for Hg); then, calibration curves were established. For Pb and Cd, a standard (PerkinElmer Pure reference N9300281) was used at a concentration of 100 mg/L for Hg; a standard (AccuStandard reference AA34N-5) was used at a concentration of 1000 mg/L. Heavy metals concentrations were assessed using Atomic Absorption Spectroscopy (A.A.S) (UNICAM 929). For each heavy metal, there was a specific hollow cathode lamp and the machine was set at a particular wavelength for the metal to be analysed. The content of heavy metals in the assessed tissues was expressed in mg/kg of fresh mass. The dosage of Cd was carried out with a wavelength of 228, 8 nm and temperature programming: at 100°C, 800°C and 900°C. In contrast, the dosage of Pb was carried out with a wavelength of 217 nm and programmed at the same temperature. The calibration of the device was performed by the embodiment of 10 blank measurements.

Quality control of the analysis

Analytical performances were verified by processing Certified Reference Materials: For Pb and Cd, we used the cereals and derivatives BIPEA with internal reference number (15350395) and a known concentration of these metals (Cd=0.406 mg/kg w.w), and (Pb=0.851 mg/kg w.w). The results were in good agreement with the certified values located in these intervals: 0.3046-0.5075 for Cd, and 0.6128-0.10892 for Pb.

Statistical analysis was performed with Statview® software (Version 4.55, California - USA). The heavy metals concentrations were described by their means as well as their minimum and maximum values (the extent). The results were performed as mean \pm standard error (M \pm SE). The one way analysis of variance (ANOVA) was performed to compare the bioaccumulation of Cd and Pb in the liver and kidneys of bovine and ovine species. Z-test was used to determine differences between groups. The difference was considered significant at $P < 0.05$.

Results and discussions

The objective of this study was to determine Pb and Cd residues in cattle and sheep offal (liver

and kidney), the results were expressed in mg / kg.

Over of 180 samples (all samples combined), 48 samples (26.66%) contained high levels of Pb and Cd residues, with values exceeding the European certified reference value of (0.5 mg / kg) for lead in the liver and kidneys and 0.5 mg / kg and 1 mg / kg for Cd in the liver and kidneys respectively

Offal of cattle was more affected than that of sheep. In fact, out of 180 collected samples, 48 presented concentrations exceeding the EC limits, only 13 out of 100 samples were contaminated in sheep. Livers are the most contaminated compared to kidneys with a rate of 16, 66 % (30/180) against 10% (18/180) for the kidney (Table 1).

Cadmium

The mean concentrations of Cd levels in the liver and kidney of bovine obtained in our study were (0.319 \pm 0.040mg/kg and 0.337 \pm 0.077mg / kg) respectively. The highest concentrations were observed in kidney with a maximum level of 1.865mg / kg followed by liver (0.82mg/kg).

The mean concentration of Cd in liver was higher among the age group >4years with 144 concentration of (0.474mg/kg \pm 0.055) in comparison

Table 1: The Lead and Cadmium concentration of liver and kidney of slaughtered bovine and ovine in Algeria (mgkg⁻¹ fresh weight).

| | Lead | | | | | | Cadmium | | | | | |
|--|-------------------------|-------------------------|------------------|------------------------|-------------------------|---------------|------------------------|-------------------------|-----------|-------------------------|-------------------------|-----------|
| | Liver | | | Kidney | | | Liver | | | Kidney | | |
| | Bovine | Ovine | <i>P</i> | Bovine | Ovine | <i>P</i> | Bovine | Ovine | <i>P</i> | Bovine | Ovine | <i>P</i> |
| No of samples | 40 | 50 | | 40 | 50 | | 40 | 50 | | 40 | 50 | |
| EC limits (mg.kg ⁻¹) | 0.5 | 0.5 | | 0.5 | 0.5 | | 0.5 | 0.5 | | 1 | 1 | |
| Mean \pm ES (μ g.kg ⁻¹) | 0.502 \pm 0.051 | 0.259 \pm 0.021 | <0.001 | 0.497 \pm 0.07 | 0.265 \pm 0.030 | 0.0033 | 0.319 \pm 0.04 | 0.241 \pm 0.022 | NS | 0.337 \pm 0.077 | 0.232 \pm 0.030 | NS |
| Minimum | 0.078 | 0.001 | | 0.009 | 0.005 | | 0.024 | 0.030 | | 0.019 | 0.015 | |
| Maximum | 1.45 | 0.580 | | 1.475 | 0.880 | | 0.82 | 0.605 | | 1.856 | 1.019 | |
| No of samples exceeding the EC limits | 12 | 4 | | 9 | 4 | | 10 | 4 | | 4 | 1 | |

to the age category ≤ 4 years, where the concentration of Cd was $0.143\text{mg/kg} \pm 0.018$.

In the kidney, the mean concentrations of Cadmium were also higher among the age group > 4 years with the concentration ($0.589\text{mg/kg} \pm 0.1$) in comparison to the age category ≤ 4 years, where the concentration of Cd was (0.085 ± 0.01) (Table 1 and Table 2).

For ovine, mean Cd concentrations were $0.241 \pm 0.022\text{mg / kg}$ in liver samples and $0.232 \pm 0.033\text{mg / kg}$ in kidney samples. Nevertheless, only 4 (8%) liver samples and 1 (2%) kidney samples with a maximum level of 0.605mg/kg and 1.019mg/kg respectively, containing Cd concentrations greater than the limits proposed by EC were found.

The mean Cadmium concentrations for ovine, young and aged were $0.161 \pm 0.018\text{mg/kg}$ and $0.321 \pm 0.034\text{mg/kg}$ respectively in the liver samples, and $0.145 \pm 0.021\text{mg/kg}$ and $0.319 \pm 0.058\text{mg/kg}$ respectively in the kidney samples (Tab. 1 and Tab. 3).

Lead

The obtained results (Table 1) revealed mean lead concentrations in the liver of bovine and ovine,

were ($0.502 \pm 0.051\text{mg/kg}$ and $0.259 \pm 0.021\text{mg/kg}$), respectively. while in the kidney, mean Pb values in the kidney of bovine and ovine, were respectively, ($0.497\text{mg/kg} \pm 0.077$ and $0.265 \pm 0.03\text{mg/kg}$). the samples examined exceeded the limits imposed by the European Regulations in livers and kidneys.

The mean Pb concentrations were $0.27 \pm 0.024\text{mg/kg}$ and $0.734 \pm 0.067\text{mg/kg}$ in the liver samples, and $0.254\text{mg/kg} \pm 0.01$ and $0.739\text{mg/kg} \pm 0.132$, in the kidney samples for young and aged cattle, respectively. Whereas in sheep, concentrations in liver samples were $0.197 \pm 0.024\text{mg / kg}$ and $0.32 \pm 0.03\text{mg / kg}$, and in the kidney, we obtained the mean rates of $0.206 \pm 0.024\text{mg / kg}$ and $0.324 \pm 0.053\text{mg / kg}$, for young and aged animals, respectively (Tab. 2 and Tab. 3).

This study revealed that Pb and Cd have been detected in all tissues analysed. In general, the liver contained more Pb and Cd concentrations than the kidney.

From these results, very significant differences were observed between the accumulation of

Table 2: The Lead and Cadmium concentration of liver and kidney of slaughtered bovine in Algeria in relation to the age (mgkg^{-1} fresh weight) (Mean \pm SE).

| | Lead | | | Cadmium | | |
|---------------|---------------------------|--------------------------|------------|---------------------------|--------------------------|------------|
| | ≤ 4 years (Males) | > 4 years (Females) | <i>P</i> | ≤ 4 years (Males) | > 4 years (Females) | <i>P</i> |
| Liver | 0.270 ± 0.024^a | 0.734 ± 0.067^a | < 0.0001 | 0.143 ± 0.018^a | 0.474 ± 0.055^a | < 0.0001 |
| Kidney | 0.254 ± 0.031^a | 0.739 ± 0.132^a | 0.001 | 0.085 ± 0.01^b | 0.589 ± 0.132^a | 0.0005 |

(^{a,b}) Change in letter in the same column indicate significant difference between concentration of Lead and cadmium.

Table 3: The Lead and Cadmium concentration of liver and kidney of slaughtered ovine in Algeria in relation to the age (mgkg^{-1} fresh weight) (Mean \pm SE).

| | Lead | | | Cadmium | | |
|---------------|--------------------------|-------------------------|----------|--------------------------|-------------------------|----------|
| | ≤ 1 year (Males) | > 1 year (Females) | <i>P</i> | ≤ 1 year (Males) | > 1 year (Females) | <i>P</i> |
| Liver | 0.197 ± 0.024^a | 0.32 ± 0.03^a | 0.002 | 0.161 ± 0.018^a | 0.321 ± 0.034^a | 0.0001 |
| Kidney | 0.206 ± 0.024^a | 0.324 ± 0.053^a | 0.0468 | 0.145 ± 0.021^a | 0.319 ± 0.058^a | 0.0068 |

(^{a,b}) Change in letter in the same column indicate significant difference between concentration of Lead and cadmium.

heavy metal residues (Cd, Pb) in organs (liver and kidney) and animals' species (bovine and ovine)

From these results, clear interspecies differences in the accumulation of heavy-metal residues between cattle and sheep tissues were observed. Cattle, especially, had higher levels of both Cd and Pb than sheep did. The mean Cd concentrations recorded in our study were similar to those found by Al-Naemi (2011) in Iraq. Our results are in contrast with the ones found by Khalafallah *et al.* (2015); Bala *et al.* (2012); Akan *et al.* (2010), but they were lower than those obtained by Swaileh *et al.* (2009) and Mariam *et al.* (2004), in which the limits are higher.

The presence of Cd in animal tissues, especially livers and kidneys, was strongly related to Cd levels in animal feed (Kreuzer *et al.*, 1988). This was related to the differences in exposure, and other factors such as: age, species and food composition. Therefore, its presence in the samples constitutes a risk for public health.

Pb was considered one of the main environmental pollutants and one of the causes of accidental poisoning for domestic animals in particular. Lead absorbed accumulates in the bones, liver and kidneys. Lead levels in liver and kidneys have been generally related to lead levels in animal feed (Kreuzer *et al.*, 1988; Sharma *et al.*, 1982; Vreman *et al.*, 1986).

Cattle were more contaminated by Pb with a percentage of 22% and 30% in the kidney and liver respectively than sheep with a percentage of 8% each in the liver and kidney.

Higher Pb concentrations were found in kidneys and livers of both species (bovine and ovine). These concentrations were significantly higher than the limits set by the European Commission (EC) (0.5 mg / kg).

The lead levels found in this study were similar to most of the literature data as Al-Naemi, (2011) in Iraq, AbouDounia (2008) in Egypt, Kazemeini *et al.*, (2010). Our result is in contrast with the ones found by of Nriagu *et al.* (2009) in Jamaica; Khalafallah *et al.* (2015); Bala *et al.* (2013) in Niger, in which the limits are higher. The results showed a very significant ($P < 0.05$) difference between Cd and Pb levels in the studied organs due to different age categories. A positive correlation was found between age and the content of the studied metals. The highest rate of Cd has been found in kidney and liver in cattle samples, ranging over 4 years

old. As for sheep, the highest rate was found in the age group > 1 .

The highest Pb concentrations found in cows in the liver and kidneys would have been related to the age group > 4 years at intake. Concerning sheep, the highest rates were observed in the age group between 1 and 2 years. Our results have confirmed those of other authors (Salisbury *et al.* 1991; Lopez Alonso *et al.* 2000, 2002), who also demonstrated that there was a positive correlation between age, Cd and Pb concentrations in organs, which explains that the nature of these laterers were highly accumulative.

In our study, the highest levels of Cd and Pb were recorded in breeding dairy cows between 5 and 9 years older. These high levels can be explained by the high doses of mineral supplements received by these cows during gestation. Thus, minerals have been known for their interactions with Cd, such as calcium, zinc, copper, iron, and selenium (Andersen *et al.*, 1997). Studies have shown that exposure to Cd and Pb during pregnancy and lactation can have deleterious effects in offspring, resulting in developmental and behavioural deficits and adverse reproductive effects as Cd induces a decrease in relative testes weight and plasma testosterone, indicating interference with spermiogenesis and steroidogenesis (Pillai *et al.* 2012; Bonda *et al.* 2004; Luo *et al.* 2015).

Cattle and other animals constitute bio indicators of environmental contamination of heavy metals (Miranda *et al.*, 2009). The results of our study reflect excessive levels of exposure to heavy metals. The consumption of foods produced in contaminated areas and the ingestion or inhalation of contaminated particles are two principal exposure pathways of these potentially toxic metals in man. A close correlation has been reported between the heavy metals concentrations in bovine tissues and that in soil, food and drinking water (Sedki *et al.* 2003; Qiu *et al.*, 2008).

It was therefore possible that the animals in our study (cattle and sheep) were from a polluted area and dietary habits lead to the bioaccumulation of heavy metals in the liver and kidneys. In general, heavy metals such as Pb and Cd have slow removal rates, so that harmful levels could accumulate in tissues after prolonged exposure to low levels in the environment.

The consumption of offal's, particularly the liver, was well known in Algeria related to its high

iron content and also a major source of vitamins, proteins and lipids. This can result in indirect ingestion of Pb and Cd which constitute a serious problem for public health.

Conclusion

The results of this study revealed the presence of heavy metals (lead and cadmium) at different concentrations in all samples (liver and kidneys) analysed. Indeed, liver samples of cattle and sheep contained higher concentrations of Cd and Pd than the kidney.

As well as, lead and cadmium levels of liver and kidney samples in cattle were higher than liver and kidney samples in sheep. This was related to the differences of age of animals studied because age has a significant influence on the accumulation of toxic metals. Moreover, the effect of sex and age on heavy metal exposure has been well confirmed. On the other hand, the concentrations of these metals were high in these organs and the consumption of large quantities represents a potential health risk. Therefore, accurate care and sanitary inspection of livestock in these areas were recommended.

Acknowledgments. This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

References

- Akan JC, Abdulrahman FI, Sodipo OA, Chiroma YA (2010). Distribution of heavy metals in the liver, kidney and meat of beef, mutton, caprine and chicken from kasuwashanu market in Maiduguri. *Res J ApplSciEngTechnol*8:743-748.
- Al-Naemi H (2011). Estimation of lead and cadmium levels in muscles, liver and kidney of slaughtered cattle in Mosul City. *Mesopotamia J Agric* 39:8-16.
- Abou-Donia MA (2008). Lead concentrations in different animal muscles and consumable organs at specific localities in Cairo. *Global Veterina*. 2:280-284.
- Anderson H, Petersson-Grawe K, Londqvist E, Luthman J, Oskarsson A, Olson L (1997). Low-level cadmium exposure of lactating rats causes alterations in brain serotonin levels in the offspring. *NeurotoxicolTeratol*; 19: 105-15.
- Bala A, Suleiman N, Junaidu AU, Salihu MD, Ifende VI, Saulawa MA, Magaji AA, Faleke OO, Anzaku SA (2013a). Detection of Lead (Pb), Cadmium (Cd), Chromium(Cr) Nickel (Ni) and Magnesium Residue in Kidney and Liver of Slaughtered Cattle in Sokoto Central Abattoir, Sokoto State, Nigeria. *Int. J. of Livestock Research* 3:77-81
- Bala A, Saulawa MA, Junaidu AU, Salihu MD, Onifade KI, Magaji AA, Anzaku SA, Faleke OO, Musawa AI, Mohammed M (2012b). Detection of cadmium (Cd) residue in kidney and Liver of slaughtered cattle in Sokoto Central Abattoir, Sokoto State, Nigeria. *J Vet Adv*. 2:168-172.
- Bonda E, Wlostowski T, Krasowska A (2004). Testicular toxicity induced by dietary cadmium is associated with decreased testicular zinc and increased hepatic and renal metallothionein and zincin the bank vole (*Clethrionomys glareolus*). *Biometales*17:615-624.
- Custer TW, Cox E, Gray B (2004). Trace elements in moose (*Alces alces*) found dead in north-western Minnesota, USA. *Sci. Total Environ*. 330, 81-87.
- Commission of the European Communities (2006). Commission Regulation (EC) No. 1881. Setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. *Off J Eur Comm* L364:5.
- Finerty MW, Madden D, Feagly E, Orodner M (1990). Effect of environment and seasonality on metal residues in tissues of wild and pond raised craysh in southern Louisiana. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 19: 94-99.
- Hecht H (1983). Toxische Scwermetalle in Fleish und Innerein verschie- dener Tierarten. *Fleischwirtschaft*, 63, 544-558
- Kazemeini HR, Rahimi E, Nozarpour N (2010).** Cadmium concentration in muscles, liver and kidneys of sheep slaughtered in Iran. *Toxic and indust Health*, SAGE journals online 26(5)259.
- Khalafalla FA, Abdel-Atty NS, Rofaida B, Abo-Elsoud (2015). Assessment of heavy metal residues in retail meat and offals. *Journal American Science* 11(5):50-54. (ISSN: 1545-1003).
- Kreñowska-Kuias M (1994). Zanieczyszczenia chemiczne surowcow i zywnosci pochodzenia zwierzęcego. *Mater*. 25 Sesji Nauk. „Postępy w technologii zywnosci”, Lublin 15-16.09. AR w Lublinie, 237.
- Kreuzer W, Rosopulo A, Sell D, Frankenberg J, Koberstein S (1988). Lead and cadmium contents in the musculature, liver and kidney of slaughter calves. Calves from uncontaminated areas and/or farms that have passed meat inspection. *Fleischwirtschaft* 71: 339-344.
- Lopez-Alonso M, Benedito L, Mirada M, Castillo C, Hernandez J, Shore F (2002). Contribution of Cattle products to dietary intake and toxic elements in Galicia, Spain. *Food Additives and Contaminants* 19: 533-541.
- Lopez-Alonso M, Benedito JL, Miranda M, Castillo C, Hernandez J, Shore RF (2000). Toxic and trace elements in liver, kidney and meat from cattle slaughtered in Galicia (NW Spain). *Food Additives and Contaminants* 17: 447-457.
- Luo X, Li L, Ma M, Li R (2015). Effects of low-dose cadmium exposure during gestation and lactation on development and reproduction in rats. *Environ SciPollutRes Int* 22(14):10569-10579.
- Mariam, I, Iqbal, S., Nagra, A.S. (2004). Distribution of some trace and macro minerals in beef, Mutton and poultry. *Int J Agric Biol* 5: 816.
- Miranda M, Benedito JL, Blanco-Penedo I, Lopez-Lamas C, Merino A, Lopez-Alonso M (2009). Metal accumulation in cattle raised in a serpentine-soil area: relationship

- between metal concentrations in soil, forage and animal tissues. *J Trace Elem Med Biol.* 23:231-238.
21. Nriagu J, Boughanen M, Linder A, Howe A, Grant C, Rattray R, Vutchkov M, Lalor G (2009). Levels of As, Cd, Pb, Cu, Se and Zn in bovine kidneys and livers in Jamaica. *Ecotoxicol Environ Safety.* 72:564-571.
 22. Pillai P, Pandya C, Bhatt N, Gupta SS (2012). Biochemical and reproductive effects of Gestational/lactational exposure to lead and cadmium with respect to testicular steroidogenesis, Antioxidant system, endogenous sex steroid and cauda-epididymal functions. *Andrologia* 44:92-101
 23. Qiu CAI, Long M, Liu J, Zhu M, Zhou QZ, De Deng Y, LiY, Tain YJ (2008). Correlation Between heavy metals concentration in cattle tissues and rearing environment. *Chinese J Ecol* 27:202-207.
 24. Radostitis OM, Gay, CC, Hinchcliff KW, Constable, PD (2007). "Veterinary Medicine: A Textbook of the Disease of Cattle, Horses, Sheep, Pigs and Goats" (10th ed) Saunders, Elsevier, Spain, pp: 1799-1808.
 25. Salisbury CDC, Chan W, Saschenbrecker PW (1991). Multielement concentrations in liver and Kidney tissues from five species of Canadian slaughter animals. *J Assoc of Anal Chem* 74:87-591.
 26. Saratug S, Baker JR, Urbenjapol S, Haswell-Elkins M, Reilly PEB, Williams DJ, Moore MR (2003). A global perspective on cadmium pollution and toxicity in non-occupationally exposed population. *Toxicol. Lett.* 137, 65-83.
 27. Sedki A, Lekouc N, Gamon S, Pinea A (2003). Toxic and essential trace metals in muscle, liver and kidney of bovines from a polluted area of Morocco. *Sci Total Environ.* 317:201-205
 28. Sharma RP, Street JC, Shupe JL, Bourcier DR (1982). Accumulation and depletion of cadmium and lead in tissues and milk of lactating cows fed small amounts of these metals. *Journal of Dairy Science* 65: 972-979.
 29. Sharkawy AA, Amal AM (2003). Lead and cadmium levels in someready-to-eat meat products (shawerma and hamburger) at Assiut City. *Assiut Vet. Med. J.* 49 (99): 105-112.
 30. Studzinski T, Walkuska G, Saddour A (1992). Stężenie ołowiu, kadmu, miedzi i cynku w watrobie, nerkach, mięśniach szkieletowych i mózgowiu jagniat i owiec dorosłych. *Bromat. Chem. Toksykol* 25 (4): 355-360.
 31. Swaileh KM, Abdul Khaliq AM, Hussein R, Matani M (2009). Distribution of Toxic Metals in Organs of Local Cattle, Sheep, Goat and Poultry from the West Bank, Palestinian Authority Bull Environ Contam. Toxicol 83:265-268 DOI 10.1007/s00128-009-9704-x
 32. Vreman, K, Van der Veen NG, Van der Molen EJ, De Ruig WG (1986). Transfer of cadmium, lead, mercury and arsenic from feed into milk and various tissues: chemical and pathological data. *Neth J Agric Sci* 34: 129-144.