

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE BADJI MOKHTAR. ANNABA

FACULTE DE MEDECINE

DEPARTEMENT DE MEDECINE



THESE

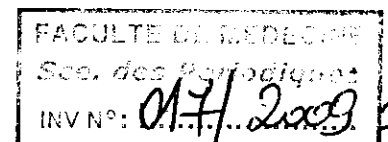
POUR L'OBTENTION DU GRADE DE DOCTEUR EN SCIENCES MEDICALES

DISCIPLINE : BIOCHIMIE

LES MARQUEURS BIOCHIMIQUES
DES LESIONS RENALES PRECOCES
CHEZ LES TRAVAILLEURS EXPOSES AU MERCURE

PRESENTEE

PAR LE DOCTEUR BENYAHIA SAMIA



Membres du jury :

Présidente : Professeur BENLATRECHE Cherifa. Faculté de médecine de Constantine

Examineurs :

Professeur GRIENE Lakhdar.
Professeur ABADI Nouredine.
Professeur NEZZAL Abdelmalek.
Professeur ATIK Hacene.
Professeur LANKAR Abdelaziz.

Faculté de médecine d'Alger
Faculté de médecine de Constantine
Faculté de médecine de Annaba
Faculté de médecine de Annaba
Faculté de médecine de Annaba

Directeur de thèse :

Professeur BENHARKAT Sadek.

Faculté de médecine de Annaba

SOMMAIRE

	Page
I INTRODUCTION	11
II LES DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES	21
II.1. LE MERCURE	22
II.1.1. Introduction	22
II.1.2. Propriétés physicochimiques du mercure	23
II.1.3. Usages et sources d'exposition	24
II.1.3.1. Exposition professionnelle	24
II.1.3.2. Exposition non professionnelle	25
II.1.3.3. Utilisation des dérivés du mercure	26
II.1.3.3.1. Les dérivés inorganiques du mercure	26
II.1.3.3.2. Les dérivés organiques du mercure	26
II.1.4. Métabolisme général du mercure	27
II.1.4.1. Absorption du mercure	27
II.1.4.1.1. Mercure métallique	27
II.1.4.1.2. Les composés inorganiques du mercure	28
II.1.4.1.3. Les composés organiques du mercure	29
II.1.4.2. Transport et distribution du mercure	29
II.1.4.3. Elimination du mercure	31
II.1.5. Métabolisme rénal du mercure	31
II.1.5.1. Accumulation et transport rénal du mercure	31
II.1.5.2. Distribution intracellulaire du mercure	36
II.1.5.3. Excrétion urinaire du mercure	36
II.1.5.4. Interactions moléculaires du mercure dans les cellules épithéliales Rénales	38
II.1.6. Traduction de l'impact du mercure sur les reins	40
II.2. LES MARQUEURS BIOCHIMIQUES	41
II.2.1. La N-Acetyl-β-D- hexosaminide- N- acetyl- hexosaminohydrolase (NAG) ...	41
II.2.1.1. Nomenclature	42
II.2.1.2. Les sources de la NAG	42

	Page
II.2.1.3. Structure de la NAG.....	43
II.2.1.4. Réaction catalysée par la NAG.....	46
II.2.1.5. Intérêt de la détermination de la NAG dans les urines.....	46
II.2.1.6. Méthodes de dosage de la NAG et de ses isoenzymes	47
II.2.1.6.1. Les méthodes fluorimétriques.....	47
II.2.1.6.2. Les méthodes colorimétriques.....	48
II.2.1.6.3. Les méthodes électrophorétiques.....	48
II.2.2. Micro albumine.....	49
II.2.2.1. Définition de la micro albumine.....	49
II.2.2.2. Histoire de la micro albumine comme un marqueur de risque.....	50
II.2.2.3. Micro albuminurie physiologique.....	50
II.2.2.4. Le mode de prélèvement urinaire.....	54
II.2.2.5. Méthodes de dosage de la micro albumine.....	55
II.2.2.5.1. Les méthodes semi- quantitatives.....	55
II.2.2.5.2. Les méthodes quantitatives.....	56
A. Les méthodes radio-immunologiques.....	56
B. Les méthodes immuno- enzymatiques (ELISA).....	56
C. Les méthodes immuno- néphélométriques.....	57
D. Les méthodes immuno- turbidimétriques	57
E. La chromatographie liquide haute performance (HPLC).....	57
II.2.2.6. Données épidémiologiques.....	58
II.2.2.6.1. Chez le sujet diabétique.....	58
II.2.2.6.2. Chez le sujet non diabétique.....	58
II.3. REIN.....	61
II.3.1. Introduction.....	61
II.3.2. Les facteurs de risque des néphropathies toxiques.....	64
II.3.3. Les altérations rénales toxiques d'origine professionnelle.....	65
II.3.3.1. Les lésions glomérulaires d'origine toxique.....	66
II.3.3.1.1. La glomérulopathie par anticorps antimembrane basale glomérulaire (GAAMB).....	66
II.3.3.1.2. La glomérulopathie extra membraneuse (GEM).....	67

	Page
II.3.3.1.3. La glomérulopathie à lésions glomérulaires minimales (LGM).....	67
II.3.3.2. Les lésions tubulo- interstitielles d'origine toxique.....	67
II.3.3.2.1. La nécrose tubulaire aiguë.....	68
II.3.3.2.2. Les néphrites tubulo- interstitielles chroniques.....	68
II.3.3.3. Les lésions tumorales.....	69
II.3.3.4. Cas particulier du mercure.....	70
II.3.4. Explorations rénales.....	71
II.3.4.1. Explorations biochimiques.....	71
II.3.4.2. Biopsie rénale.....	72
III. LES OBJECTIFS.....	78
IV. MATERIEL ET METHODES.....	79
IV.1. Le cadre de l'étude.....	79
IV.1.2. La production de mercure métal au niveau du complexe de Bousmail (Azzaba).....	79
IV.1.3. La production de chlore-soude au niveau de l'usine de Baba Ali (Alger).....	81
IV.1.4. La période d'étude.....	83
IV.2. La population d'étude.....	84
IV.2.1. Le consentement.....	85
IV.2.2. Les critères.....	86
IV.2.2.1. Le recrutement de la population.....	86
IV.2.2.1.1. Les critères d'inclusion.....	86
IV.2.2.1.2. Les critères de non inclusion.....	86
IV.2.2.2. Les critères de jugement.....	86
IV.2.3. La taille de la population.....	86
IV.2.3.1. La taille des travailleurs de l'unité 1 de Bousmail.....	86
IV.2.3.2. La taille des travailleurs de l'unité 2 de Baba Ali.....	87
IV.3. Les supports utilisés.....	88
IV.3.1. Les supports techniques.....	88
IV.3.2. Les supports matériels.....	89
IV.4. Méthodes.....	89
IV.4.1. Le type d'étude.....	89
IV.4.2. Les étapes de l'étude.....	90

	Page
IV.4.2.1. Une étude de poste.....	90
IV.4.2.2. Une étude clinique et épidémiologique	90
IV.4.2.2.1. Le déroulement du travail.....	90
A. Le remplissage de la fiche de renseignements	90
B. La réalisation des prélèvements.....	91
B.1. Pour les travailleurs de l'unité 1 (Bousmail).....	91
B.2. Pour les travailleurs de l'unité 2 (Baba Ali).....	92
C. La conservation des échantillons urinaires avant analyse.....	93
D. L'analyse des échantillons.....	93
D.1. Le dosage de la créatinine.....	93
D.1.1. Le principe de la méthode utilisée.....	93
D.1.2. Les réactifs utilisés.....	94
D.2. La détermination de la clairance de la créatinine.....	95
D.3. Chimie des urines.....	95
D.4. Le dosage des marqueurs biochimiques urinaires.....	95
D.4.1. Adaptation et mise au point des méthodes de dosage.....	96
D.4.1.1. La méthode de dosage de la NAG.....	96
D.4.1.1.1. Le principe de la méthode utilisée.....	96
D.4.1.1.2. Les réactifs utilisés.....	97
D.4.1.2. La méthode de dosage de la micro albumine.....	97
D.4.1.2.1. Le principe de la méthode utilisée.....	97
D.4.1.2.2. Les réactifs utilisés.....	98
D.4.2. L'étude des critères de qualité des méthodes de dosage Utilisées.....	98
D.4.3. L'établissement des valeurs de référence de la NAG et de la Micro albuminurie.....	99
D.5. Le dosage du mercure urinaire.....	99
D.5.1. La méthode de dosage du mercure urinaire	100
D.5.1.1. Le principe de la méthode utilisée	100
D.5.1.2. Les réactifs utilisés	100
IV.5. Méthodes d'analyse statistique employées	101
IV.5.1. Introduction	111

	Page
IV.5.2. Méthodes statistiques univariées	101
IV.5.2.1. Description des données.....	101
IV.5.2.2. Comparaison des caractéristiques moyennes entre les deux sites : le test "t" de Student pour échantillons indépendants.....	102
IV.5.2.3. Comparaison des caractéristiques qualitatives : le test Khi2 d'indépendance de Pearson	102
IV.5.3. Méthodes statistiques bivariées : Le coefficient de corrélation linéaire de Bravais - Pearson.	103
IV.5.4. Méthodes statistiques multivariées	103
IV.5.4.1. Comparaison des deux sites pour l'ensemble des caractéristiques considérées par le test d'analyse multivariées: MANOVA.	103
IV.5.5. Calculs statistiques employés pour la mise au point des méthodes de dosage de la NAG et de la micro albumine.....	104
V. ETUDE PRELIMINAIRE	106
V.1. Validation des supports utilisés.....	106
V.2. Faisabilité.....	107
VI ETUDE PROPREMENT DITE	108
VII RESULTATS	109
VII.1. Introduction	109
VII.2. Les résultats de la mise au point des méthodes de dosage des marqueurs biochimiques urinaires	110
VII.2.1. La validation des méthodes de dosage de la NAG et de la micro albumine.....	110
VII.2.2. Les valeurs de référence de la NAG et de la micro albumine dosées dans les urines d'un groupe de travailleurs non exposé au mercure.....	112
VII.3. Les résultats de l'analyse univariée	113
VII.3.1. Description des caractéristiques générales de la population d'étude	113
VII.3.1.1. L'âge de la population	113
VII.3.1.2. Les caractéristiques anthropométriques	114
VII.3.1.2.1. La répartition des travailleurs selon l'indice de masse corporelle. (IMC)	114
VII.3.1.3. Les habitudes de vie	115
VII.3.1.4. Les caractéristiques professionnelles.....	116

	Page
VII.3.1.4.1. Les secteurs professionnels occupés par les travailleurs dans les deux unités 1 et 2	116
VII.3.1.4.2. Les postes de travail occupés.....	117
A. Dans l'unité 1 de production de mercure métal (Bousmail).....	117
B. Dans l'unité 2 de production de chlore –soude (Baba Ali).....	119
VII.3.1.4.3. L'ancienneté des travailleurs des deux unités 1 et 2 dans leurs postes.....	120
VII.3.1.4.4. Le niveau d'exposition des travailleurs des deux unités 1 et 2 aux vapeurs de mercure	121
VII.3.1.4.5. La durée d'exposition des travailleurs des deux unités 1 et 2 aux vapeurs de mercure.....	122
VII.3.1.5. Les symptômes subjectifs liés à l'exposition chronique aux vapeurs de mercure relevés chez les travailleurs des deux unités 1 et 2.....	123
VII.3.1.6. La présence des amalgames dentaires.....	124
VII.3.1.6.1. La présence des amalgames dentaires chez les travailleurs de l'unité1..	124
VII.3.1.6.2. La présence des amalgames dentaires chez les travailleurs de l'unité2..	125
VII.3.1.7. Les caractéristiques biologiques des travailleurs des deux unités 1 et 2.....	126
VII.3.2. Comparaison des moyennes des caractéristiques de la population étudiée entre les deux unités 1 et 2 par le test "t" de Student.....	130
VII.3.3. Comparaison des caractéristiques qualitatives entre les deux unités 1 et 2 par le test χ^2 d'indépendance de Pearson.....	134
VII.4. Les résultats de l'analyse bivariée : Coefficient de corrélation linéaire de Bravais- Pearson.....	136
VII.4.1. Etude des corrélations entre les caractéristiques des travailleurs de l'unité 1...	136
VII.4.2. Etude des corrélations entre les caractéristiques des travailleurs de l'unité 2...	138
VII.5. Les résultats de l'analyse multivariée	139
VIII. DISCUSSION.....	141
VIII.1. Les limites de la méthodologie de travail.....	141
VIII.1.1. Le choix du site d'étude.....	141
VIII.1.2. L'échantillon.....	142
VIII.1.3. Le type d'étude menée.....	143
VIII.1.4. Les biais.....	143

	Page
VIII.1.4.1. Les biais inhérents au recrutement.....	143
VIII.1.4.2. Les biais inhérents au facteur de confusion.....	143
VIII.1.4.3. Les biais liés à l'intervariabilité.....	144
VIII.2. Discussion sur nos données.....	144
VIII.2.1. Les données démographiques.....	144
VIII.2.1.1. Le sexe.....	144
VIII.2.1.2. L'âge des travailleurs.....	145
VIII.2.2. Les données anthropométriques.....	145
VIII.2.2.1. L'indice de masse corporelle (IMC).....	145
VIII.2.3. Les habitudes de vie.....	145
VIII.2.4. Les données professionnelles.....	146
VIII.2.4.1. La durée d'exposition.....	146
VIII.2.4.2. L'ancienneté dans le poste de travail.....	147
VIII.2.4.3. Le niveau d'exposition aux vapeurs de mercure selon les postes occupés.....	147
VIII.2.5. Les données selon les signes d'appel	147
VIII.2.6. Les données selon nos indicateurs : la NAG et la micro albumine	148
VIII.2.6.1. La précision	149
VIII.2.6.2. L'exactitude	150
VIII.2.6.3. Les limites de détection et de linéarité	151
VIII.2.6.4. La sensibilité et la spécificité.....	152
VIII.2.6.5. Les valeurs de référence	154
VIII.2.6.6. La NAG et la micro albuminurie de notre série.....	154
VIII.2.7. Les données selon le toxique : le mercure urinaire.....	155
VIII.2.8. Les données selon la fonction rénale	157
VIII.3. Nos données par rapport à la littérature	159
VIII.4. Les perspectives	161
IX. CONCLUSION	166
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	170

Résumé :

LES MARQUEURS BIOCHIMIQUES DES LESIONS RENALES PRECOSES CHEZ LES TRAVAILLEURS EXPOSES AU MERCURE

Une étude a été réalisée pour « valider deux biomarqueurs biochimiques urinaires : une enzyme, la **N-Acetyl- β - D- hexosaminide- N- acetyl -hexosaminohydrolase (NAG)** et une protéine, la **Microalbumine** comme indicateurs de lésions rénales précoces chez des travailleurs exposés au mercure.

Nous avons comparé deux groupes de travailleurs exposés professionnellement au mercure de 2 sites d'étude: le complexe de production de mercure métal de Bousmail à Azzaba (**unité 1**) et, l'usine de production de chlore- soude par électrolyse à cathode liquide de mercure de Baba Ali dans la région d'Alger (**unité 2**).

Au total, 62 travailleurs exposés étudiés dont 42 issus de l'unité 1 et 20 de l'unité 2.

La précision et l'exactitude de nos méthodes de dosage ont été jugées satisfaisantes sur la base des coefficients de variation (Cv_j) inférieurs à 5 % (3,814 % pour la NAG et 4,76 % pour la microalbumine) et, sur les degrés d'exactitude exprimés en pourcentage inférieurs au critère 20% (5,72 %) et au critère 10% (1,33 %) respectivement pour la NAG et la microalbumine.

Les valeurs de références obtenues pour les deux biomarqueurs sont: 1,497 à 3,682 UI/g de créatinine pour la NAG et 1,281 à 9,31 mg/g de créatinine pour la micro- albumine.

La comparaison de nos groupes étudiés entre les 2 sites fait ressortir :

- des augmentations de la NAG (chez 83,3 % des travailleurs de l'unité1 et 5% de l'unité 2) et de la microalbumine (chez 28,6 % des travailleurs de l'unité1 et 20 % de l'unité 2) sans corrélation avec la durée et les niveaux d'exposition au mercure.
- des concentrations moyennes de mercure urinaire dans les limites des valeurs de référence admises pour une population exposée (<25 μ g/g de créatinine) évoquant un niveau d'exposition faible.
- une diminution de la clairance de la créatinine (<90 ml/min) sans corrélation avec les niveaux de mercure, traduisant une altération de la fonction rénale, chez 33,33% des travailleurs de l'unité 1, contre 75% des travailleurs de l'unité 2.

La NAG et la microalbumine urinaires sont des biomarqueurs de l'atteinte rénale.

Les augmentations des concentrations urinaires de la NAG et de la microalbumine, ainsi que la réduction du débit de filtration glomérulaire chez des travailleurs exposés au mercure sont des signes d'appel biochimiques dont il faudra en tenir compte lors d'une visite médicale périodique.

Mots clés :

Mercure – NAG – Microalbumine – Néphrotoxicité–
Biomarqueurs- lésions rénales- créatinine- clairance- exposition.

DISCIPLINE : Biochimie

DIRECTEUR DE THESE:

Professeur S. BENHARKAT
Service biochimie CHU Annaba

AUTEUR :

Samia BENYAHIA
Unité de biochimie.
Hopital IBN SINA. Annaba
Samia_benya@yahoo.ff