

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou
Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences
Agronomiques



Département de Biochimie-Microbiologie

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE MASTER

Option : Biochimie Appliquée

Thème :

**IMPACT DES METAUX LOURDS 'PLOMB & CADMIUM' SUR
L'ORGANISME, INOCULÉS CHEZ LES RONGEURS RATS
'WISTARS'**

Réalisé par : MESSADENE Sofiane

Devant le jury composé de

Présidente : Mme BEDOUHENE Samia (M.C.A) UMMTO

Promoteur : Mme ZENAD Wahiba (M.C.B) ENSV

Co-promoteur : Mme ALMI Dalila (M.C.B) UMMTO

Examinatrice : Mme MOHAMDI Djamilia (M.C.B) UMMTO

Année universitaire : 2021/2022

Dédicace

Ce projet est le fruit d'un acharnement et d'une volonté qui n'a pas pu se réaliser sans la présence de tous ceux qui m'ont aidé, encouragé et soutenu, pour ces raisons je dédie ce mémoire à:

- ❖ A vous Mes chères parents, qui ont été toujours à mes côtés pour me procurer les moyens, l'aide, le guide et la motivation, pour surpasser les différents obstacles, ce projet de fin d'étude représente l'aboutissement de votre soutien et encouragement au long de ma scolarité.*
- ❖ A mon cher frère et ma chère sœur, pour votre soutien et votre bienveillance.*
- ❖ A mes collègues et Co-équipiers, et à tous mes amis avec qui j'ai partagé une plaisante vie d'étudiant.*

Puisse Dieu vous donner Santé, Bonheur, Courage et Réussite

Remerciements

Je remercie avant tous, Dieu le tout puissant pour la santé, la patience et le courage qu'il m'a donné durant toutes ces longues années d'études, afin que je puisse arriver là

Je tiens à exprimer mes remerciements et ma profonde gratitude à mes deux promotrices Madame ZENAD Wahiba et Madame ALMI Dalila, pour la qualité de leur encadrement, leur disponibilité et surtout leur précieux conseils afin de réaliser ce travail, ainsi les membres du jury, pour l'intérêt qu'ils ont porté à ce travail en acceptant de l'examiner.

Mes remerciements s'adressent également au personnel de l'École Nationale Supérieure Vétérinaire, pour m'accorder l'avantage de réaliser mon stage au sein de leur prestigieux établissement et la mise en disponibilité des moyens nécessaires pour accomplir mon travail.

Enfin je tiens à témoigner toute ma reconnaissance à toute personne qui a porté son aide de près ou de loin pour la réalisation de ce travail.

Liste des tableaux

<i>Tableau I : Classification périodiques des éléments traces métalliques (Fourest, 1993)</i>	3
<i>Tableau II : Teneur en métaux lourds du corps humain (Schoroeder, 1967)</i>	4
<i>Tableau III : Rôles physiologiques de certains métaux essentiels.</i>	5
<i>Tableau IV: Principales caractéristiques physico-chimiques du plomb (Caillerie et Francois, 1993)</i>	13
<i>Tableau V : Propriétés physico-chimiques du Cadmium (ATSDR, 2012).</i>	23
<i>Tableau VI : Taux moyen de cadmium présent dans l'alimentation (Galal-Gorchev, 1993)</i>	27
<i>Tableau VII : Valeurs moyennes des pesées hebdomadaires en (g) des rats témoins et des rats traités.</i>	43
<i>Tableau VIII : Valeurs moyennes des poids bruts des organes des rats mâles témoins et traités, après 28 jours d'expérimentation</i>	45
<i>Tableau IX : Valeurs moyennes de la FNS des rats témoins et ceux traités après 28Jrs d'expérimentation</i>	48

Liste des figures

<i>Figure 1 : Principales sources de contaminations en métaux lourds (Cai et al., 2012).</i>	6
<i>Figure 2 : principales sources de plomb (Gutierrez et al., 2016).</i>	14
<i>Figure 3: La répartition du Plomb dans l'organisme (Caubet, 1999).</i>	18
<i>Figure 4 : Inhibition de la synthèse de l'hème par le plomb (Peyret, 2013).</i>	19
<i>Figure 5 : Sources anthropiques et naturelles du cadmium (Sebastian et al., 2014).</i>	24
<i>Figure 6 : La répartition du cadmium dans l'organisme (Caste, 1995).</i>	28
<i>Figure 7 : Effets cancérogènes du cadmium (Bonet, 2011)</i>	31
<i>Figure 8: Temps d'adaptation des rats wistar (Zenad, 2021)</i>	33
<i>Figure 9 : Déroulement de l'expérimentation.</i>	34
<i>Figure 10: Sacrifice des rats par injection intra péritonéale de kétamine</i>	35
<i>Figure 11: Fixation des rats aux niveaux des pattes.</i>	35
<i>Figure 12: Découpage de la peau pour chaque une des pattes pour former un Y à l'envers.</i>	36
<i>Figure 13: Insertion de la sonde cannelée dans la boutonnière, orientée vers le haut.</i>	37
<i>Figure 14 : cerveau prélevé du rat Wistar</i>	37
<i>Figure 15 : rate prélevé du rat Wistar</i>	37
<i>Figure 16 : pancréas prélevé du rat Wistar</i>	38
<i>Figure 17 : Fixation des organes</i>	38
<i>Figure 18 : Coupes d'organes</i>	39
<i>Figure 19 : Coupes d'organes placées</i>	39
<i>Figure 20 : Déshydratation des organes</i>	39
<i>Figure 21: Imprégnation des organes</i>	40
<i>Figure 22 : Etuve d'inclusion des organes</i>	40
<i>Figure 23 : Enrobage et confection des blocs</i>	41
<i>Figure 24 : Confection des coupes</i>	41
<i>Figure 25: Effet du de plomb et du cadmium sur l'évolution pondérale chez les rats traités pendant 28 jours comparés aux témoins</i>	44
<i>Figure 26: Poids final des rats Wistar en fonction des lots expérimentaux</i>	44
<i>Figure 27: Effet du cadmium et du plomb sur le poids moyen de la rate</i>	46
<i>Figure 28 : Effet du cadmium et du plomb sur le poids moyen du pancréas</i>	47
<i>Figure 29 : Effet du cadmium et du plomb sur le poids moyen du cerveau</i>	47
<i>Figure 30 : Effet du plomb et du cadmium sur le taux d'hémoglobine</i>	48
<i>Figure 31 : Effet du plomb et du cadmium sur le taux des globules rouges</i>	49
<i>Figure 32 : Effet du plomb et du cadmium sur le taux d'hématocrite</i>	49
<i>Figure 33 : Examen microscopique du tissu cérébral</i>	51

<i>Figure 34 : Examen microscopique du tissu de la rate</i>	<u>53</u>
<i>Figure 35 : Examen microscopique du tissu pancréatique</i>	<u>55</u>

Liste des abréviations

ADN	Acide Désoxyribonucléique
ACP	Phosphatase acide
AchE	Acétylcholinestérase
Al	Aluminium
ALA	Acide Delta-Amino Lévulinate
ALAD	Acide Delta-Amino Lévulinique Déshydratase
ALAT	Alanine Aminotransférase
ALP	phosphatase alcaline
ASAT	Aspartate Aminotransférase
ARN	Acide Ribonucléique
As	Arsenic
BHE	Barrière Hémato Encéphalique
ATSDR	Agency for Toxic Substances and Disease Registry
BRGM	Bureau de Recherches Géologiques et Minières
CAT	Catalase
CaR	Calcium receptor
Cd	Cadmium
Cd (OH)₂	Hydroxyde de cadmium
Cd Cl	Chlorure de cadmium
Cd Cl₂	Chlorure de cadmium
Cd CO₃	carbonate de cadmium
CdO	Oxyde de cadmium
Cd S	Sulfure de cadmium
Cd SO₄	Sulfate de cadmium
Cd₃ (PO)₄	phosphate de cadmium
CIRC	Centre International de Recherche sur le Cancer
Co	Cobalt
Cr	Chrome
Cu	Cuivre
DMT1	Divalent Métal Transporter
ETM	Elément Traces Métalliques
F	Fluor
Fe	Fer
GR	Globules Rouges
HB	Hémoglobine
HE	Hématoxyline Eosine
Hg	Mercure
HT	Hématocrite
HTIC	Hyper Tension Intra Crânienne
IgA	Immunoglobulines A
IgG	Immunoglobulines G

IgM	Immunoglobulines M
INSERM	Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale
Mn	Manganèse
Mo	Molybdène
Ni	Nickel
OC	Œdème Cérébral
Pb	Plomb
PBG	Porphobilinogène
PbS	Sulfure de plomb
PH	Potentiel Hydrogène
Se	Sélénium
Si	Silicium
Sn	Étain
USA	United States of America
V	Vanadium
Zn	Zinc

Sommaire

DEDICACE	
REMERCIEMENT	
LISTE DES TABLEAUX	
LISTE DES FIGURES	
LISTE DES ABREVIATIONS	
INTRODUCTION.....	1

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES METAUX LOURDS

I.1. Définition.....	3
I.2. Classification des métaux lourds	4
I.2.1. Les métaux essentiels.....	4
I.2.2. Les métaux toxiques.....	6
I.3. Origines des métaux lourds.....	6
I.3.1. Origine naturelle.....	7
I.3.2. Origine anthropique.....	7
I.4. Toxicité des métaux lourds.....	9

CHAPITRE II : LE PLOMB ET LE CADMIUM

II.1. Le plomb.....	12
II.1. 1. Historique d'utilisation du plomb.....	12
II.1. 2. Propriété physico chimique du plomb.....	13
II.1. 3. Origine du plomb.....	14
II.1. 3.1. Origine biogéochimique.....	14
II.1. 3.2. Origine anthropique.....	15
II.1. 4. Modes d'exposition humaine au plomb	16
II.1. 5. Toxicocinétique du plomb (absorption / distribution/ excrétion).....	17
II.1.6. Toxicité du plomb.....	18
II.2. Le cadmium.....	22
II.2.1. Propriétés physico chimiques.....	22
II.2.2.1. Origine naturelle.....	23
II.2.2.2. Origine anthropique.....	23
II.2.3. Biogéochimie.....	26
II.2.4. Voies d'exposition humaine.....	26
II.2.5. Toxicocinétique du cadmium.....	27
II.2.6. Toxicité du cadmium.....	29
II.2.6.1. Exposition aigue.....	29
II.2.6.2. Exposition chronique.....	29

CHAPITRE III: PARTIE EXPERIMENTALE

III.1. Matériel biologique.....	32
III.1.1. Conditions d'élevage.....	32

III.1.2 .Répartition des lots.....	33
III.2. Méthodes opératoires.....	35
III.2.1. Sacrifice.....	35
III.2.2. Dissection.....	35
III.3.Techniques histologiques.....	38
III.4.Analyse statistique.....	42

CHAPITRE IV: RESULTATS

IV.1.Effets du plomb et du cadmium sur la croissance des rats <i>wistar</i>	43
IV.1.1.Evolution pondérale.....	43
IV.1.2.Poids final.....	44
IV.1.3 Effet du plomb et du cadmium sur le poids moyen des organes.....	45
IV.2 Evaluation de l'action du plomb et du cadmium sur les paramètres hématologiques.....	48
IV.3. Etude histologique.....	50
IV.3.1. L'effet du plomb et du cadmium sur l'architecture structurale du cerveau.....	50
IV.3.2. L'effet du plomb et du cadmium sur l'architecture structurale de la rate.....	52
IV.3.3. L'effet du plomb et du cadmium sur l'architecture structurale du pancréas.....	54

CHAPITRE V: DISCUSSION GENERALE

V.1.Impact de l'intoxication chronique par l'acétate de plomb et le sulfate de cadmium sur le gain corporel des rats et le poids moyen des différents organes.....	56
V.2.Impact histo-pathologique de l'intoxication chronique par le plomb et le cadmium sur les différents organes du rats <i>wistar</i>	57
V.2.1.Impact sur le cerveau.....	57
V.2.2.Impact sur la rate.....	59
V.2.3.Impact sur le pancréas.....	60
V.3.Impact de l'intoxication chronique par le plomb et le cadmium sur les paramètres hématologiques.....	61
CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	63
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	65

La pollution est l'une des plus grandes préoccupations de la population dans notre ère moderne, le développement industriel, l'urbanisme et les technologies ont contribué à avantager l'humanité et à simplifier la vie quotidienne, néanmoins ils ont provoqué la détérioration des écosystèmes de notre globe, et menacent les organismes vivants, dont la santé humaine (**Payne et Livesy, 2010**).

Aujourd'hui nous vivons dans un environnement chimique : des milliers des rejets industriels métallo-chimiques baignent notre quotidien ; des sources de pollutions diverses encrassent l'organisme en permanence par différentes infiltrations. Les métaux lourds, existent naturellement mais en quantités très faibles dans les sols, l'eau et l'air. En revanche, certaines activités humaines comme la métallurgie, la combustion du charbon et les déchets de certaines industries, rediffusent ces polluants en grande quantité dans l'environnement (**Dragovic et al., 2008 ; Maldonado, 2008 ;Cortez et al.,2010**). Les métaux lourds ne posent pas seulement un problème de pollution environnementale : ils sont bio persistants, perturbent les écosystèmes, détériorent les sols, les eaux de surface, et les cultures et s'accumulent dans la chaîne alimentaire certains sont cancérigènes pour l'homme, ainsi donc aux deux menaces planétaires auxquelles l'humanité est confrontée aujourd'hui, l'accroissement de l'effet de serre et la dégradation de l'ozone stratosphérique on peut rajouter les métaux lourds (**Callender et Rice, 2000 ; Horowitz, 2009**).

Aujourd'hui, chaque jour, nous sommes intoxiqués ; la toxicité totale de tous les métaux lourds mobilisés chaque année dépasse la somme de la toxicité radioactive et organique, entraînant une augmentation des concentrations du plomb, du cadmium, du mercure et du cuivre dans le sol et les cours d'eau, contaminant ainsi les aliments, il n'y a plus de plantes et de viandes sans métaux lourds, donc l'exposition humaine à ces contaminants métalliques devient de plus en plus préoccupante du fait de leur toxicité ; le corps humain est un organisme bio accumulateur de ces éléments, certes certains d'entre eux sont nécessaires au bon fonctionnement de l'organisme, mais leur carence ou leur exposition à fortes doses induit des effets néfastes sur la santé (**Carrera et al., 2014**). Les métaux lourds ont pas tous la même toxicité, certains ne le sont pas et certains le deviennent uniquement en cas d'exposition à des fortes concentrations, leur impact sur les organes humains différent, ils sont impliqués dans de multiple pathologies sévères qui touchent potentiellement tous les organes du corps et certains métaux comme le plomb et le cadmium, sont avérés cancérigènes (**Bonet, 2011**).

Cette présente étude est une continuité d'un travail réalisé par : **Dr. Zenad Wahiba, 2021**
« l'évaluation de la contamination des denrées alimentaires d'origine animale 'bovins et ovins' par les métaux lourds 'plomb et cadmium' et l'étude de leurs impact sur l'organisme, inoculés chez les rongeurs 'rats wistars' »

L'objectif de notre étude est la détermination de l'impact de la toxicité chronique par ces métaux lourds (plomb et cadmium) sur l'organisme des rongeurs 'rats wistars' plus précisément ; l'impact sur l'évolution pondérale, les paramètres hématologiques et l'histologie du cerveau, de la rate et du pancréas.

Notre travail est reparti en cinq chapitres :

Chapitre 1 : Les généralités sur les métaux lourds : leurs caractéristiques physico-chimiques, leurs origines et leurs sources d'exposition, ainsi que leurs impact sur l'environnement et la santé.

Chapitre 2 : Le plomb et le cadmium : caractéristiques physico-chimiques, sources d'exposition et impact toxique sur l'environnement et l'organisme humains.

Chapitre 3 : Partie expérimentale ; étude de la toxicité du plomb et du cadmium sur les paramètres pondérales, hématologiques et histologiques des rats *wistar*.

Chapitre 4 : Résultats.

Chapitre 5 : Discussion générale.

Nous terminons notre travail avec une conclusion

CHAPITRE I :
GENERALITES SUR LES METAUX LOURDS

I.1 Définition

Les métaux lourds peuvent être définis comme l'ensemble des métaux et métalloïdes ayant un numéro atomique élevé, de densité supérieure à 5g/cm³, ces éléments sont aussi appelés éléments traces métalliques (ETM), et pouvant être toxique pour les systèmes biologiques, on s'intéresse principalement à : l'arsenic (As), le cadmium (Cd), le chrome (Cr), le mercure(Hg), le nickel (Ni), le plomb (Pb), le sélénium (Se) et le zinc (Zn). Ils sont naturellement présents dans la croûte terrestre ; dans les roches et les sols à l'état de traces et peuvent aussi se trouver dans l'atmosphère à causes des processus naturels, néanmoins, l'essentiel provient des apports d'origines industrielles, ils ont un fort caractère bio-accumulatif et ils ne sont pas biodégradables et changent simplement de forme. Au-delà d'une certaine valeur, ils deviennent toxiques pour l'homme (**Miquel, 2001 ; Adriano, 2001 ; Arris, 2008**).

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. La classification périodique des éléments périodiques sont présentés dans le tableau I.

Tableau I : Classification périodique des éléments traces métalliques (**Fourest, 1993**)

Bloc s		<div style="display: flex; align-items: center;"> <div style="width: 15px; height: 15px; background-color: #cccccc; margin-right: 5px;"></div> Métaux lourds de densité > 5 </div>										Bloc p					
H																	
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	Te	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I	Xe
Cs	Ba	La	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Ti	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.2 Classification des métaux lourds

On distingue deux types en fonction de leurs effets physiologiques et toxiques : métaux essentiels et métaux toxiques

I.2.1 Les métaux essentiels

Environ 65% des métaux lourds ne sont pas toxiques pour l'homme (Azimi, 2004). Certains font partie des nutriments, il s'agit des substances qui sont nécessaires aux déroulements de nombreux processus cellulaires, dites « oligo-éléments » considérés indispensables, et ils peuvent être apportés par l'alimentation. Ils sont présents en très faibles concentrations relativement constantes dans les tissus, leur retrait de l'organisme provoque des anomalies structurelles et physiologiques similaires dans plusieurs espèces. Certains peuvent devenir toxiques lorsque la concentration dépasse un certain seuil (Loué, 1993 ; Behazin *et al.*, 2014). La teneur du corps humain en métaux lourds est présentée dans le tableau II.

Tableau II : Teneur en métaux lourds dans le corps humain (Schoroeder, 1967).

Elément	Teneur (mg.kg ⁻¹)	Elément	Teneur (mg.kg ⁻¹)
Fer	60	Manganèse	0,2
Zinc	33	Molybdène	0,1
Rubidium	4,6	Nickel	0,02
Strontium	4,6	Chrome	0,02
Cuivre	1,0	Cobalt	0,02
Vanadium	0,3	Uranium	0,001
Sélénium	0,2	Béryllium	0,0003

Parmi les métaux lourds, il existe 11 qui sont des oligoéléments : Fe, Zn, Si, Cu, Mn, Ni, Co, Se, F, Cr, Mo, Sn, V, Al (Morrison, 1979). On les retrouve dans les tissus vivants à des très faibles concentrations, et ils jouent un rôle très important dans les réactions métaboliques et comme un centre de coordination entre la structure et la stabilité des enzymes et des protéines. Leur effet le plus indispensable est leur action sur les enzymes et les réactions enzymatiques qui se font seulement en présence d'ions métalliques, certains se comportent comme des catalyseurs, ils accélèrent les réactions, ils sont ainsi impliqués dans de nombreuses réactions (déshydrogénases, protéases, peptidases) et dans des fonctions importantes pour le métabolisme des protéines, des glucides et des lipides (Goudot-perrot, 1983).

Les métaux lourds sont également nécessaires à la formation des métalloenzymes, et des métaux comme le fer et le zinc sont impliqués dans la défense immunitaire, leurs mécanismes d'action fait intervenir des enzymes et des molécules qui contribuent à la transformation des lymphoïdes, ils contribuent également à la lutte contre la formation des radicaux libres et ils renforcent la solidité de certains tissus (**Malayeri, 1995**). Le rôle de certains métaux essentiels est présenté dans le tableau III.

Tableau III : Rôles physiologiques de certains métaux essentiels.

Métal	Role physiologique
Zinc	<ul style="list-style-type: none"> ● Indispensable à la multiplication ou la différenciation cellulaire ; l'action du zinc sur des protéines dites 'Zinc finger proteins', la fixation du zinc leur permet de pénétrer dans la chaîne d'ADN pour ouvrir cette chaîne et permettre la synthèse de l'ARN par l'ARN polymérase ADN dépendante (Eichhorn et al.,1986 ; Chappuis, 1991). ● Intervient dans la synthèse des polynucléotides et des protéines, les métallo - enzymes, et dans le métabolisme glucidique (berg et al., 1996) et l'activation des certaines enzymes comme ; Aldolase, Carboxypeptidase A, Hydrogénase et l'anhydrase carbonique (Malayeri, 1995).
Fer	<ul style="list-style-type: none"> ● Transport de l'oxygène et sa biodisponibilité (Richter ,1993). ● Porté par certains catalyseurs biochimiques assurant l'oxydo-reduction comme l'hémoglobine (Coic, 1989). ● Présent dans certaines enzymes assurant son stockage ou son transport, dont la myoglobine, les enzymes hémoprotéiques et la tranferine.
Cuivre	<ul style="list-style-type: none"> ● Co-facteur essentiel dans la synthèse d'un grand nombre de protéines assurant l'oxydoréduction, liant ou activant de l'oxygène moléculaire. ● Co-enzyme de nombreuses métallo-protéines comme l'acrobate oxydase et tyrosinase (Favier, 1990). ● Rôle dans la synthèse de l'hémoglobine. ● Rôle antitoxique (Chappuis, 1991).
Nickel	<ul style="list-style-type: none"> ● Bio-activateur ou bio inhibiteur de certaines réactions métaboliques cellulaires par exemple : inhibition des canaux de Ca²⁺, la stimulation de la respiration des mitochondries (Malayeri, 1995).
Chrome	<ul style="list-style-type: none"> ● Co-facteur de l'insuline (Malayeri, 1995). ● Intervient dans plusieurs réactions métaboliques.

1.2.2 Les métaux toxiques

Les métaux toxiques ont des propriétés polluantes et peuvent avoir des effets pathologiques même à des faibles concentrations, ils n'ont aucun effet bénéfique connu sur les organismes, principalement le plomb (Pb), le mercure (Hg) le cadmium (Cd), l'arsenic (As), le chrome (Cr) et le nickel (Ni). Ces espèces ont la capacité de se concentrer dans la chaîne alimentaire et s'accumuler dans les organes du corps humain et peuvent provoquer des impacts néfastes (Gollenberg *et al.*, 2010 ; Xu *et al.*, 2017).

1.3. Origines des métaux lourds

Les éléments traces métalliques (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. 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) et des 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 principales sources de contaminations en métaux lourds sont représentées dans la Figure 1.

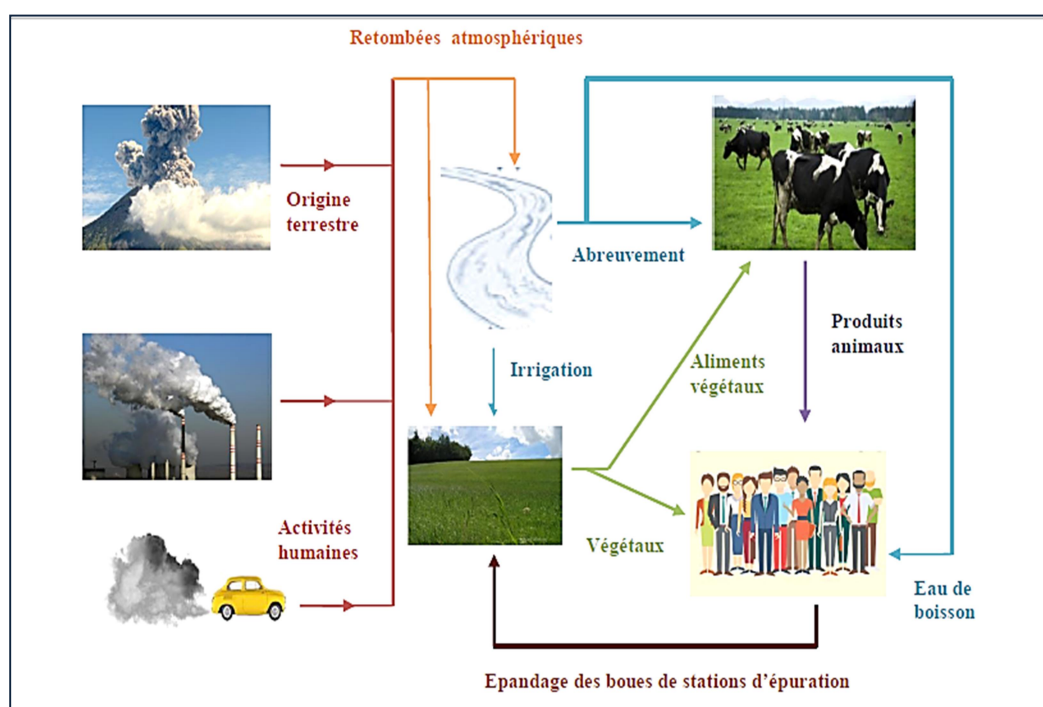


Figure 1 : Principales sources de contaminations en métaux lourds (Cai *et al.*, 2012)

1.3.1 Origine naturelle

Les métaux lourds se retrouvent dans tous les compartiments de l'environnement : air sol et eau, leur fond géochimique est enfouie dans les roches comme tous minerais à l'état de traces (**Bourrelier et Berthelin, 1998**). L'altération de leurs roches mères par des phénomènes naturels tels que l'érosion, l'activité volcanique, l'altération des continents et les incendies de forêts, répandront des traces de ces éléments dans l'environnement.

1.3.2 Origine anthropique

L'activité humaine a largement contribué à l'enrichissement des sols en éléments traces métalliques (ETM), ainsi que les eaux et l'air ambiant, ces derniers provenant d'apports anthropiques sont présents sous formes chimiques assez réactives et entraînent des toxicités très supérieures aux métaux d'origines naturelles qui sont généralement sous formes inertes (**Weiss *et al.*, 1999**). Les principales sources de contamination anthropiques sont :

➤ **L'activité minière**

L'extraction des minerais tels que le Cuivre, le Plomb ou Zinc à un aspect commun: l'extraction et la concentration (ou enrichissement) d'un métal en provenance du sol. C'est un type d'exploitation minière destructif pour l'environnement, le processus d'enrichissement génère de gros volumes de déchets et des rejets et contamine les sols et l'atmosphère et ainsi transportés dans l'eau (**Roussel *et al.*, 2000**).

➤ **L'activité agricole**

Les pesticides et les fertilisants contribuent d'une manière importante dans la pollution des sols agricoles, cette contamination met toutefois en péril la faune du sol qui se retrouve contaminée, et détériore la qualité des eaux fluviales et souterraines (**Miquel, 2001**).

➤ **Épandages des boues de station d'épuration**

Les boues des stations d'épuration sont des résidus du traitement des eaux usées. Ces dernières renferment une charge importante de micropolluants métalliques, environ 60 % des boues d'épuration produites sont recyclées en agriculture. Dès que leur concentration dans les boues excède une valeur seuil en éléments traces métalliques, les boues résiduares

sont susceptibles de contaminer les sols et d'exercer des effets toxiques sur les végétaux, et ainsi se retrouver dans l'alimentation humaine (**Juste, 1995**).

➤ **Les activités industrielles**

- Les émissions provenant de sources industrielles et des usines (industrie sidérurgique, industrie du fer et de l'acier, métallurgie.), l'industrie agro-alimentaire et l'industrie chimique.
- Incinération des déchets et la combustion de combustibles fossiles (centrales électriques au charbon, chaudières industrielles, fours à ciment, transport routier).
- Les rejets provenant de produits (batteries, appareils de mesure : thermomètres, manomètres, baromètres), lampes fluorescentes, amalgames dentaires,
- Peintures (**Matthiessen et al., 1999 ; Miquel, 2001**).

I.4. Toxicité des métaux lourds

La toxicité de ces métaux est due principalement à leur bioaccumulation, leur action à faible dose et l'incapacité de notre organisme à les dégrader et encore plus à les éliminer (**Crine, 1993**) ; ils ont un demi temps biologique assez élevé, allant de plusieurs semaines « Mo, Cu, Mn » jusqu'à plusieurs années « Pb, Hg, Cr, Co, Zn, Cd ». Les métaux lourds s'accumulent facilement dans l'organisme et particulièrement au niveau des reins, des os, du foie et du cerveau.

L'inhalation et l'ingestion sont les principales voies d'exposition humaine aux métaux lourds, la voie cutanée existe mais elle est négligeable, en cas d'absorption de fortes ou faibles concentrations en métaux sur une longue période, ils peuvent affecter le système nerveux, les fonctions rénales, hépatiques, respiratoires, auto-immunes et inflammatoires ou digestives. Ils sont aussi impliqués dans de nombreuses pathologies sévères comme la sclérose en plaque, les cancers du poumon, l'autisme, les maladies neuro-dégénératives, maladie d'Alzheimer et de Parkinson (**Salvarredy et al., 2008**).

I.4.1. Mercure (Hg)

L'intoxication par le mercure s'appelle l'hydrargie ; caractérisée par des lésions nerveuses qui se traduisent par des tremblements, des difficultés d'élocution, des troubles psychiques,

maux de tête, surdité, pertes de mémoire et une salivation excessive (ptyalisme) (**Miquel, 2001**).

I.4.2. Plomb (Pb)

Le plomb est particulièrement nocif pour les nourrissons, les jeunes enfants et les femmes enceintes, ses principaux organes cibles sont : le système nerveux, les reins et le sang. L'intoxication chronique par le plomb est dite le saturnisme, son effet neurotoxique peut se traduire par une encéphalopathie convulsivante, des troubles neuro comportementaux et une détérioration intellectuelle (**Missoun, 2012**).

I.4.3. Cadmium (Cd)

Les principales causes d'exposition au cadmium sont l'alimentation et le tabagisme, son impact grave se traduit en son pouvoir cancérigène et mutagène, une exposition à des fortes concentrations de poussières, de fumées ou de composés de cadmium peuvent causer des insuffisances rénales, une atteinte du système respiratoire (cancer des poumons) et gastro-intestinaux (Nausées, vomissements, diarrhée qui peuvent mener à une déshydratation sévère de l'organisme) (**CIRC, 1993**).

I.4.4. Zinc (Zn)

Est un élément essentiel pour l'organisme, mais son ingestion à des fortes doses peut avérer toxique pour la santé ; à faible concentration les conséquences se traduisent par une perte de l'appétit, une diminution des sensations de goût et d'odeur, une cicatrisation lente et des plaies. A des doses supérieures le zinc peut provoquer des crampes d'estomac, des irritations de la peau, des vomissements, des nausées, de l'anémie, endommagement du pancréas et perturbation du métabolisme des protéines, et des désordres respiratoires (**Klevay, 1980 ; Nriagu et al., 2007**).

I.4.5. Cuivre (Cu)

A forte dose le cuivre devient toxique, du fait qu'il a une affinité particulière pour l'azote des peptides (liaison de coordination) (**Malayeri, 1995**), ce qui entraîne l'inactivation des enzymes contaminées. Les effets de toxicité chronique se traduisent par des atteintes cardio-vasculaires, hématologiques, hépatiques, rénales, respiratoires et des douleurs abdominales (**Chappuis, 1991**).

I.4.6. Cobalt (Co)

C'est un des composants de la vitamine B12, cependant à des concentrations trop importantes il peut être nocif pour l'organisme ; les principaux effets observés se rapportent au système respiratoire (irritation respiratoire, asthme, pneumonies voire des fibroses), système cardiovasculaire (cardiomyopathie), gastro-intestinal, hématologiques (polycythémie...), système musculo-squelettique, hépatique, rénal, oculaire (atrophie optique...), et thyroïdien (**Simonsen *et al.*, 2012**).

I.4.7. Nickel (Ni)

Le nickel est considéré comme un élément cancérigène et génotoxique pour l'organisme humain, même par contact externe, les sels de nickel peuvent entraîner des eczémas (**Goudot-Perrot, 1983**). L'exposition relativement élevée aux oxydes et sels de nickel produit une toxicité qui se traduit par des cancers broncho-pulmonaires, de l'ethmoïde des fosses nasales, et de larynx ainsi que des effets allergènes cutanés (**Timothy *et al.*, 1989**).

I.4.8. Arsenic (Ar)

Classé dans le groupe 1 des éléments cancérigènes pour l'homme par le centre international de recherche sur le cancer (CRIC), l'intoxication arsénique résulte souvent de l'ingestion ou de l'inhalation d'un insecticide. L'arsenic détruit les globules du sang et endommage les reins, il est responsable des troubles digestifs, des dépigmentations et des desquamations cutanées, des manifestations neurologiques et d'anémie (**CIRC, 1989**).

CHAPITRE II : LE PLOMB & LE CADMIUM

II.1. Le plomb

Le plomb est l'élément chimique de numéro atomique 82, de symbole Pb avec une masse atomique standard de 207,2, le plomb est un métal malléable, gris bleuâtre, flexible et qui blanchit lentement en s'oxydant, le mot plomb et le symbole Pb viennent du latin *plumbum*, le plomb est un élément toxique et mutagène.

On le trouve à l'état naturel dans la croûte terrestre sous forme de minerai, il peut être présent sous forme de carbonates (cérusites), de phosphates (pyrophosphates), mais surtout de sulfure (galène) (**Kabata-Pendias, 1992**) en moyenne 0.002% ce qui le rend le 36ème élément abondant de la croûte terrestre (**Missoun, 2012**). Il appartient au groupe 4 de la classification périodique des éléments, il possède 20 isotopes, 4 stables dites naturels ; 204pb, 206pb, 207pb, 208pb ; dont les pourcentages d'abondances sont respectivement 1,48%, 23,6%, 22,6%, 52,3% et 16 isotopes sont radioactifs présents à l'état de traces, la signature isotopique est utilisée pour différencier le plomb d'origine naturel et celui d'origine anthropique (**Audi et al., 2003**).

II.1.1. Historique d'utilisation du plomb

Le plomb est l'un des métaux les plus anciennement connus et travaillés depuis l'antiquité, probablement grâce à sa facilité d'extraction, à sa grande malléabilité et à son bas point de fusion (**Ndzangou, 2003**). Son utilisation est directement liée à la métallurgie qui a connu son apogée sous l'empire romain, lorsqu'il était utilisé pour la production de la monnaie, les canalisations, la vaisselle...etc. La révolution industrielle a entraînée des nouvelles utilisations massives pendant le XIXème siècle et la première moitié du XXème siècle où le plomb a été employé dans l'industrie, l'imprimerie et les peintures. Dans la seconde moitié du siècle, il est majoritairement additionné dans les carburants automobiles (**Laperche et al., 2004**). Le développement de nouvelles technologies depuis 1970, en plus de la prise en compte des problèmes environnementaux et de santé public, son utilisation a diminué ; aujourd'hui il est utilisé principalement dans la production des piles et batteries, les alliages et d'autres produits chimiques industriels (**Missoun, 2012**).

II.1.2. Propriété physico chimique du plomb

Le plomb de configuration électronique $[\text{Xe}] 4f^{14} 5d^{10} 6s^2 6p^2$ il possède 2 électrons non appariés sur la dernière couche, ce qui lui permet plusieurs degrés d'oxydations +2, +4, ou la forme métal (0), il peut être associé à plusieurs composés pour former des sels inorganiques ; les plus fréquentés sont des chlorures, chromates, nitrates, phosphates, carbonates et sulfates du plomb, les composés organiques du plomb sont le plomb tetraméthyle, et le plomb tetraéthyle qui est utilisé comme antidétonant dans l'essence et grâce à son bas point d'ébullition de 200°C, il est extrêmement volatil dans l'atmosphère (Missoun,2012). Les principales caractéristiques physico chimiques du plomb sont représentées dans le tableau suivant :

Tableau IV : Principales caractéristiques physico-chimiques du plomb (Caillerie et Francois, 1993).

Symbole	Pb
Numéro atomique	82
Famille	Métal pauvre
Groupe	14
Période	6
Bloc	P
Masse volumique	11,35 g.cm⁻³
dureté	1,5
couleur	Blanc gris
Masse atomique	207,2 u
Rayon atomique	180 pm
Electrons par niveau d'énergie	2/8/18/32/18/4
Système cristallin	Cubique a face centré
Etat ordinaire	Solide
Points de fusion	327,46 °C
Point d'ébullition	1749 °C
Densité	11,35
Rayon ionique	
Pb 2+	0,94 à 1,49 Å^o
Pb 4+	0,78 à 0,94 Å^o

II.1.3. Origine du plomb

II.1.3.1 Origine biogéochimique

Il y a un stock de 180 millions de tonnes de plomb sur terre (**Laperche *et al.*, 2004**). Les plus grandes réserves connues sont surtout en Australie (30%), en Chine (14%) et aux USA (10%), le plomb géochimique est présent sous diverses formes dans tous les compartiments environnementaux ; eaux, sédiments, atmosphère, mais surtout présent sous formes inorganiques dans la croûte terrestre, majoritairement sous forme Pb^{2+} , sa principale source minérale est la galène (PbS) qui en contient 86,6 % en masse, sa forme native pure est rare, elle n'est présente qu'en traces (en moyenne 16 mg/kg) dans les sols (**Nriagu et Pacyna, 1988**). Le plomb est contenu dans la plupart des roches mères, par l'altération de ces dernières il peut se retrouver dans les sols à des teneurs variables et à des formes chimiques différentes. Ainsi à causes des phénomènes naturels (activité volcanique, érosion des sols, lessivage des terrains, dissolution des minerais ; galène ou sulfure de plomb) ou par l'intervention humaine, il peut se retrouver dans tous les compartiments de l'environnement (**Miquel, 2001**). Les principales sources du plomb sont représentées dans la figure 2.

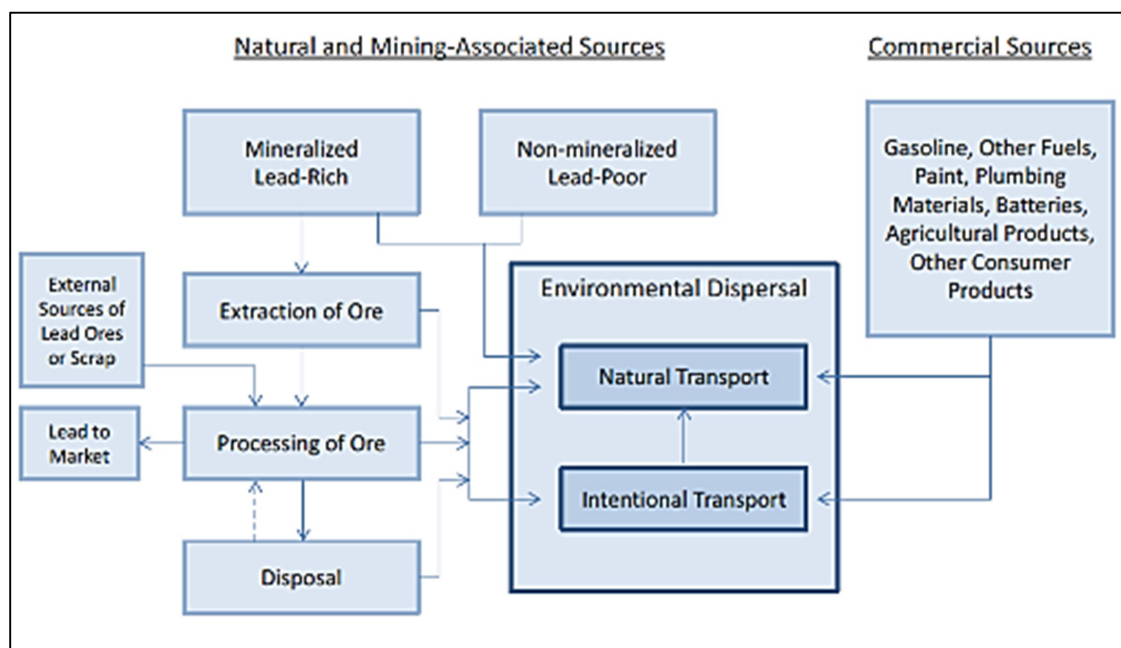


Figure 2 : principales sources de plomb (**Gutierrez *et al.*, 2016**).

II.1.3.2. Origine anthropique

La présence généralisée du plomb dans l'environnement est essentiellement due à l'activité humaine ; plus de 150 kilos produite chaque seconde dans le monde, soit plus de 4,75 millions de tonnes par an (**Salvarredy et al., 2008**). Les origines anthropiques sont multiples et nombreuses, les activités qui sont principalement responsables de la pollution anthropique au plomb sont :

- Les émissions provenant de l'essence au plomb ; 70% des rejets atmosphériques.
- les activités minières en grandes majorités, en 2019 la production minière mondiale a été estimée à 4,5 million de tonnes ; la Chine était le plus grand producteur de plomb, avec 2,1 millions de tonnes, représentant plus de 46,7 %.
- la métallurgie liée à l'extraction et au traitement des minéraux ; la production mondiale liée à l'activité de la métallurgie est estimée à 2,4 millions de tonnes de plomb par an.
- Le recyclage : 3 million de tonnes de plomb recyclé par an, sa récupération est importante, elle représente 58% de la consommation (le plomb des batteries est facile à récupérer).
- Les rejets provenant de l'incinération, du brûlage à l'air libre et d'autres méthodes d'élimination de déchets municipaux, ainsi que des résidus contenant du plomb.
- Les boues de station d'épuration ; 80% du plomb est fixé dans les boues.

Les retombés atmosphériques sont la source principale de contamination des sols par le plomb, d'une contribution de 68% en adition aux pratiques agricoles, artisanales et industrielles. Ce métal peut être fixé par le sol en formant des complexes, mais il peut aussi migrer vers les cultures végétales ou vers les nappes phréatiques, il va être entraîné par ruissellement dans les rivières et les lacs lors du processus d'érosion, et se retrouver dans les hydro systèmes de surface ; les mers et les océans, et se piéger dans les sédiments marins, la concentration du plomb dans les eaux marines dans le monde varie entre 4 à 190 ng.L⁻¹ (**Cossa et al.,1992**), les rejets industriels dans le milieu aquatique sont relativement faibles par rapport aux rejets dans l'atmosphère et dans le sol, néanmoins ils sont renforcés par la contamination du plomb atmosphérique (retombées atmosphériques) (**Patra et al., 2007**).

Le Pb contamine donc l'ensemble des écosystèmes ainsi la faune et flore qui y vivent, et se retrouve concentré dans la chaîne alimentaire, représentant un risque pour la santé humaine.

II.1.4. Modes d'exposition humaine au plomb

Voie digestive

L'alimentation et l'ingestion de poussières inhalées sont les voies principales d'ingestion digestive du plomb chez l'homme :

- Végétaux contaminés par disposition du plomb ou accumulation depuis le sol.
- Faune contaminées depuis leur alimentation et leur environnement ou par des méthodes de pêches.
- Eau de consommation contaminée par la corrosion du plomb des canalisations.
- Ecailles et poussières de peintures anciennes.

Le pourcentage du plomb absorbé est de 5% à 10% chez l'adulte alors qu'il peut atteindre 55% chez l'enfant moins de 2 ans en cas de carence en fer et en calcium (compétitions du plomb avec le calcium et le fer) (**Nriagu, 1978 ; Demichele, 1984**).

Voie respiratoire

Le plomb dans l'essence est la source la plus importante d'exposition, ainsi que son inhalation en voisinage des sources industrielles, en particulier à coté des industries minières et métallurgiques. La rétention pulmonaire varie entre 40 à 70%, selon la taille et la solubilité des vapeurs de plomb inhalés (**Morrow, 1980**).

Voie cutanée

Une rétention cutanée est rare, mais possible, le plomb organique liposoluble contenue dans certains produit peut traverser la peau, comme les pansements contenant de l'acétate du plomb (**Alain et al., 1980**), ainsi que certains composés inorganiques en cas de lésion cutanée (**Botta et al., 1976**).

II.1.5. Toxicocinétique du plomb (absorption / distribution/ excrétion)

90% des particules inférieures à 1µm inhalé par voie respiratoire, sont retenues par les alvéoles respiratoires, et 3% à 50% du plomb retenue passe dans le sang (**Missoun, 2012**).

Le plomb ingéré par voie digestif est faiblement absorbé au niveau des cellules épithéliales de la muqueuse, la grande partie est exclue dans les sels (**Bratton et al., 1981**).

Les composés solubles dans l'eau et qui peuvent se dissoudre en milieu acide sont plus absorbés que les composés insolubles ; la forme (oxyde, chlorure, nitrate, di acétate, et acétate) du plomb sont plus soluble et peuvent se dissoudre dans l'estomac, donc plus bio disponible, le plomb rentre en compétition avec le calcium aux niveaux des récepteurs (CaR) communs de la paroi digestive, une baisse du calcium ou de la vitamine D favorise sa rétention et augmente son absorption (**Hamir et al., 1981**).

Le plomb absorbé est véhiculé par le sang, plus de 90% est fixé sur les hématies (GR), moins de 10% liée aux albumines sous forme du plomb plasmatique, la fraction libre constitue 1% du plomb (**Hamir et al., 1982 ; Ong et al., 1980**).

Le plomb se diffuse et se répartit dans l'organisme en trois secteurs :

- Le secteur vasculaire (sang) ou sa demi-vie est de 20 à 30 jours (indicateur d'une récente exposition) ne représente que 1 à 2 % de la quantité totale de plomb présent dans l'organisme (**Nilsson et al., 1991**).
- Le secteur Parenchymateux ; regroupant les organes-cibles et les tissus mous, ou sa demi-vie est de plusieurs mois. Représente 5 à 10% du plomb retenue par l'organisme ; les muscles, le foie, les reins, la rate, le pancréas, le système nerveux, la paroi digestive et le système réticulo-endothéliale (**Hamir et al., 1981**).
- Les tissus durs : les dents et le secteur profond osseux ou sa demi-vie est de plusieurs années. Il représente 90% du plomb retenue (**Miquel, 2001**), il est stocké sous forme insoluble « le triphosphate de plomb » (**Hamir et al., 1982**).

Le plomb est principalement éliminé dans les urines (75 %). 15 à 20 % est éliminé dans les selles. Il est également excrété dans le lait, la salive, la sueur, dans les ongles et dans les cheveux (**Miquel, 2001**). Sa répartition dans l'organisme est représentée dans la figure suivante :

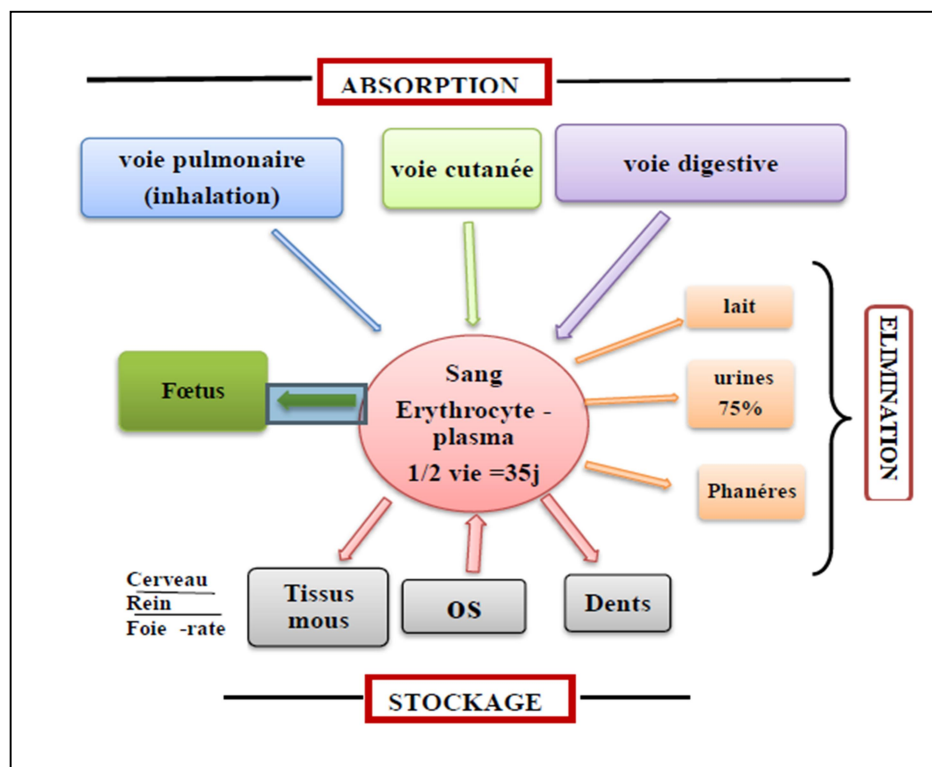


Figure 3: La répartition du Plomb dans l'organisme (Caubet, 1999).

II.1.6. Toxicité du plomb

L'intoxication au plomb peut être aigue lors de l'ingestion d'une grande dose en peu de temps, elle est caractérisée par des troubles digestifs (douleurs abdominales, des vomissements, une diarrhée), ils s'accompagnent d'une hémolyse, d'une hépatite cytolytique en cas d'intoxication massive et d'une atteinte tubulaire rénale. Des arthralgies et des signes d'atteintes neurologiques sont également notés. L'intoxication chronique au plomb est dite « saturnisme », résulte de l'accumulation de ce dernier dans les tissus, suite à une exposition répétée. Son effet toxique dans la cellule est due à son état libre ionisé, sous cette forme il peut interagir avec les groupements thiols de nombreuses protéines, l'impact chronique s'élargit sur plusieurs système dans l'organisme (Picot, 2010 ; Ribera et Taberly, 2011).

II.1.6.1. Sur le système hématopoïétique

Le principal point d'influence du plomb se situe au niveau enzymatique de la biosynthèse de l'hème (figure 4), qui est synthétisé à partir de succinyl-CoA et de glycine à l'issue de huit réactions enzymatiques (Chanel *et al.*, 1999).

Le plomb agit au niveau de l'enzyme qui catalyse la première réaction (l'acide delta-amino lévulinique déshydratase ALAD). Son activité est de permettre la condensation de deux molécules d'acide delta-amino lévulinique (ALA) pour former la porphobilinogène (PBG) et ainsi permettre le déroulement de la suite des réactions. Pour son activité, cette enzyme requiert du zinc (Zn^{2+}) qui empêcherait l'auto-oxydation des groupements thiols du site actif.

En prenant la place du Zn^{2+} , le Pb^{2+} permet cette oxydation, empêchant ainsi la condensation des deux molécules d'ALA et donc interrompre l'enchaînement des réactions enzymatiques qui produisent de l'hème, ce qui provoque principalement une inhibition de la synthèse de la globine et ainsi à une anémie saturnine (Georing, 1993).

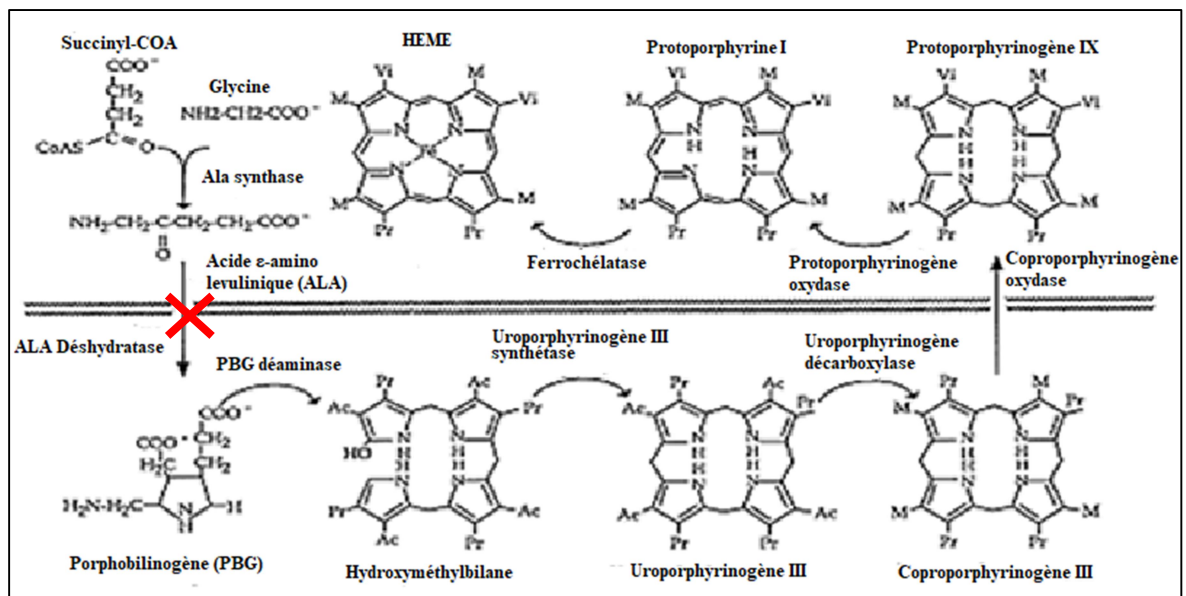


Figure 4 : Inhibition de la synthèse de l'hème par le plomb (Peyret, 2013).

II.1.6.2. Sur le système nerveux

Le système nerveux est particulièrement vulnérable aux effets toxiques du plomb, notamment chez l'enfant, ainsi une plombémie supérieure à $80 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ peut entraîner des anomalies du développement psychomoteur, des modifications de l'humeur et de l'attention, la diminution des performances intellectuelles ainsi que des encéphalopathies sévères et des neuropathies périphériques, ces manifestations apparaissent chez l'adulte à une plombémie de $400\mu\text{g}$ (Chanel *et al.*, 1999). Le plomb agit sur les systèmes neurotransmetteurs dans différentes régions (noyau accumbens, hippocampe,

diaphragme...), on site principalement : le système GABAergique, le système cholinergique, le système adrénargique, le système glutaminergique, le système dopaminergique, le système sérotoninergique et peptidergique, ces effets dépendent parfois de la concentration du plomb et peuvent également varier selon le stade de développement du cerveau (**Missoun, 2012**).

II.1.6.3. Sur le système cardio-vasculaire

Une hypertension artérielle permanente peut se développer chez les travailleurs qui sont exposés de façon chronique à des niveaux élevés de plomb ou à plusieurs épisodes d'empoisonnement aiguë, cette hypertension est liée à l'effet du métal sur le tissu musculaire vasculaire (**Hajem et al., 1990**).

II.1.6.4. Sur le système immunitaire

Les effets du plomb sur le système immunitaire sont discrets et n'ont pas de manifestations infectieuses, néanmoins en cas d'intoxication aiguë ou chronique, les conséquences sont reflétées dans la diminution des taux d'immunoglobulines sériques (IgG, IgA, IgM), et une réduction dans le pourcentage et la valeur absolue des cellules T, et cellules T helper et une réduction significative dans l'adhésion et dans le chimiotactisme des macrophages et des neutrophiles (**Undeger et al., 1996**).

II.1.6.5. Sur le système rénal

Une exposition aiguë est caractérisée par des lésions des tubules proximaux (**Missoun, 2012**), cependant l'exposition chronique au plomb entraîne une atrophie tubulaire (**Chanel et al., 1999**), et une atteinte glomérulaire.

Chez les sujets exposés au plomb, **Zenad et al., (2021)** ; ont rapporté un dysfonctionnement tubulaire du rein et la diminution de la filtration glomérulaire, une atteinte fonctionnelle et lésionnelle (lésions inflammatoire) sévère du néphron représenté par l'augmentation du taux de l'urée et la créatinine dans le sang, ainsi qu'une dégénérescence des tubes proximaux et des dilatation au niveau des veines conduisant à une insuffisance rénale.

II.1.6.6. Sur le système hépatique

Le plomb induit une forte hépatotoxicité et provoque des changements dans le métabolisme du cholestérol, la prolifération des hépatocytes et la synthèse d'ADN, causant une hyperplasie hépatique (**Dini *et al.*, 1999**). Chez les sujets exposés au plomb **Zenad *et al.*, (2021)** ont remarqué une augmentation des enzymes AST et ALT ; qui indique une dégénérescence des cellules hépatiques et l'altération de la perméabilité membranaire, ainsi le passage de ces enzymes vers le plasma peut être expliqué par les lésions tissulaires et des désorganisations cellulaires et les nécroses observées.

II.1.6.7. Reprotoxicité du plomb

Une forte exposition au plomb est associée à un risque d'infertilité ou de mal formation, il peut atteindre l'appareil reproducteur mâle responsable par l'altération de la spermatogenèse et la diminution du niveau de testostérone (**Missoun, 2012**). Chez les sujets exposés au plomb **Zenad *et al.*, (2021)** ont rapporté une diminution des taux de spermatozoïdes dans la lumière des tubes séminifères associée à une atrophie partielle des tissus interstitiels des testicules.

Le plomb subit aussi un passage trans-placentaire expliquant le risque d'intoxication fœtale lorsque la mère est exposée, le passage du métal à travers la barrière hémato-encéphalique se traduit par la prédominance des manifestations encéphaliques chez l'enfant (**Gil-Sánchez *et al.*, 2018**).

II.1.6.8. Gènotoxicité du plomb

Le plomb et ses dérivés inorganiques sont classés dans le groupe 2B potentiellement cancérigènes pour l'homme par le centre international de recherche sur le cancer CIRC, les chromates et arséniates du plomb sont classés dans le groupe 1 (cancérigène pour l'homme) (**Chanel *et al.*, 1999**).

Certains composés exercent une activité génotoxique dans les cellules des mammifères en perturbant certains enzymes responsables dans la synthèse, la réparation et le maintien de la structure d'ADN, certains exercent un effet cancérigène par leur action sur les nucléoprotéines, induisant une prolifération cellulaire, en particulier l'ion Pb²⁺ (**Zelikoff *et al.*, 1988 ; Missoun, 2012**).

II.2. Le cadmium

Le mot cadmium vient du grec « *kadmia* » ; est un métal mou et très malléables, de couleur blanc argenté avec des teintes bleues, de numéro atomique de 48, et une masse atomique de $112,4 \text{ g.mol}^{-1}$, appartenant à la famille des métaux de transition, il n'est pas essentiel aux organismes vivants, mais grâce à ses propriétés physico-chimiques semblables au calcium il traverse les barrières cellulaires et il s'accumule dans les organes (**Borchardt, 1985**). Présent dans la nature associé à certains minerais notamment le zinc, le plomb et le cuivre. Généralement il se trouve sous forme de chlorure, d'oxyde, de sulfate, de nitrate ou de sulfure (**Brignon et Malherbe, 2005**).

Le cadmium possède 38 isotopes, leur masse atomique est incluse entre 95 et 132, six sont des isotopes stables, ^{106}Cd , ^{108}Cd , ^{110}Cd , ^{111}Cd , ^{112}Cd et ^{114}Cd (le plus abondant 28,73 % du cadmium naturel), ces derniers constituent la totalité du cadmium naturel avec le ^{113}Cd et ^{116}Cd , il possède aussi 3 isotopes radioactifs ^{106}Cd , ^{108}Cd et ^{114}Cd . Il est utilisé dans la fabrication des accumulateurs électriques, les batteries, les pigments et les écrans (**Pichard et al., 2005**).

II.2.1. Propriétés physico chimiques

Le Cd possède des propriétés physico-chimiques proches des celles du zinc, ses principaux composés sont : le chlorure de cadmium (CdCl_2), l'oxyde de cadmium (CdO), le sulfate de cadmium (CdSO_4) et le sulfure de cadmium (CdS). Sa forme élémentaire est insoluble dans l'eau, cependant il a une tendance à former des complexes avec plusieurs ions pour former des sels solubles (bromure, fluorure, iodure, nitrate, sulfate...) de cadmium, sa mobilité dépend du PH du milieu et le potentiel redox, ce métal est volatile, il se trouve dans l'atmosphère sous forme de poussière ou de fumé d'oxyde de cadmium (**Pichard et al., 2005**). Les principales propriétés physico-chimiques du cadmium sont présentées dans le **tableau V**.

Tableau V : Propriétés physico-chimiques du Cadmium (ATSDR, 2012).

symbole	Cd
Numéro atomique	48
Masse atomique	112,4 g.mol ⁻¹
Masse volumique	8,7 g.cm ³ a 20 °C
Etat ordinaire	Solide
Famille	Métal pauvre ou métal de transition
Groupe	12
Période	5
Bloc	D
Configuration électronique	[Kr] 5s ² 4d ¹⁰
Dureté	2
Electronégativité de Pauling	1,7
T° de fusion	321 °C
T° d'ébullition	767 °C
Rayon atomique	0,154 nm
Rayon ionique	0,097(+2)

II.2.2.Origine du cadmium

II.2.2.1.Origine naturelle

Le cadmium est un métal naturellement présent dans la croûte terrestre et les océans ; environ 25000 tonnes libérées sous différentes formes dans les trois compartiments environnementaux suite à des raisons naturelles (volcans, feux de forêt, érosion des roches, ...etc.) (Miquel, 2001). Il se trouve dans le sol, dans des gisements associés à la blende ; en général 77,8%, et l'otavite, il est retrouvé associé souvent au zinc mais généralement présent dans les minerais du plan, du cuivre et du phosphate, la teneur des sols varie entre 0,1 et 1 mg.kg⁻¹, mais elle peut aller jusqu'à 0,7 mg.kg⁻¹. Dans l'atmosphère et les eaux moins salées il forme des oxydes de cadmium, et dans les océans il s'associe avec le chlore pour donner des chlorures de cadmium (Cd Cl₂, Cd Cl⁻) (Lassus, 1989) (figure5)

II.2.2.2. Origine anthropique

Environ 26000 tonnes du cadmium raffiné produites par an au niveau mondial, estimé en 2018, il est obtenu comme un sous-produit de la métallurgie des minerais, essentiellement le zinc, le plomb, le cuivre et le phosphate, il est largement utilisé dans l'industrie pour fabriquer des revêtements électriques, des accumulateurs, des batteries, des piles, des pigments de peinture, ou de verre (**Benadda, 2002**).

Il est aussi utilisé dans le cadmiage pour lutter contre la corrosion des métaux, dans des engrais à l'état phosphaté et dans le tabagisme, de ce fait les émissions anthropiques du cadmium se relèvent jusqu'à 13.000 tonnes par an dans les 3 compartiments de l'environnement (**Gonzalez et al., 2009**) (**Figure 5**).

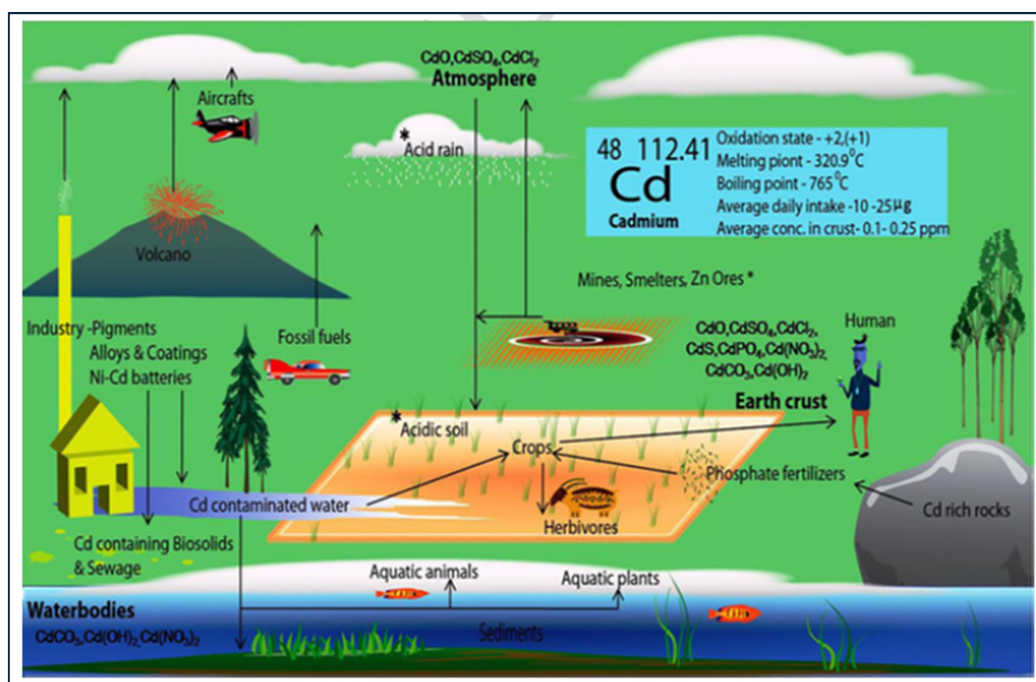


Figure 5 : Sources anthropiques et naturelles du cadmium (**Sebastian et al., 2014**).

• Rejets atmosphériques

Plus de 8100 tonnes du cadmium sont rejetés dans l'air chaque année sous forme de poussières et d'aérosols, dont 7300 tonnes d'origine anthropique, ces rejets sont principalement sous forme d'oxyde (64%), sulfures, sulfates, hydroxydes et chlorures à un diamètre moins de $1\mu\text{m}$ (**Perdrix et al., 2002**). La concentration du cadmium dans l'air à côté des zones industrielles est généralement de $0,002\ \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ à $0,005\ \mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$ mais peut

atteindre 0,6 μg , il peut parcourir des dizaines de kilomètres pour se déposer et contaminer les sols et les eaux.

Il provient principalement de :

- L'extraction minière et la métallurgie des métaux non ferreux.
- La combustion du charbon.
- La combustion du fioul.
- L'incinération des déchets.
- La production du fer et d'acier.

- **Rejets dans les sols**

Les sols contiennent naturellement de 0,1 mg.kg^{-1} à 1 mg.kg^{-1} du cadmium, cette concentration peut aller jusqu'à 100 mg à proximité des mines d'extraction des minerais de zinc, de plomb et de cuivre. La majorité du cadmium émis se retrouve dans les sols 80 % à 90 %, et seuls 10 % à 20 % des émissions anthropiques se répartissent entre l'eau et l'air, les principaux composés à base de cadmium retrouvés dans le sol sont le phosphate de cadmium $\text{Cd}_3(\text{PO})_4$, le carbonate de cadmium CdCO_3 et l'hydroxyde de cadmium $\text{Cd}(\text{OH})_2$ (Crisanto et Lorenzo, 1993).

Le cadmium provient essentiellement des :

- Dépôts atmosphériques, estimés à 5700 t/an.
- Des boues des stations d'épuration ; ces boues peuvent contenir jusqu'à 300 mg.kg^{-1} et 60 % sont utilisés dans les engrais.
- Les fertilisants phosphatés ; contenant du phosphate de cadmium ; 100 tonnes de pollution des sols agricoles par an
- Les pesticides ; contenant du cadmium utilisé comme fongicide.
- Déchets des mines et les rejets industriels (batteries...).

- **Rejets dans les eaux**

La concentration moyenne des eaux des mers dans le monde est de 0,1 $\mu\text{g.L}^{-1}$ à 0,5 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de cadmium, alors que celle des eaux des nappes et des rivières peut varier selon les pratiques industrielles à proximité, et peut atteindre des valeurs extrêmes ; jusqu'à 10 000 $\mu\text{g.L}^{-1}$. Dans les rivières il se trouve généralement associé à des hydroxydes, des chlorures, des sulfates ou des acides organiques.

Les principales sources du cadmium qui polluent les mers et les océans sont ; les dépôts atmosphériques : 2400 t/an, en addition au ruissellement du cadmium à partir du sol, la sidérurgie et métallurgie, le rejet des produits chimiques et pétroliers et des déchets industriels à côté des industries, le ruissellement des assainissements, les engrais phosphatés (**Ramade, 1992**).

II.2.3. Biogéochimie

Le flux qui existe entre les trois compartiments de l'environnement air, sol et eaux, influe sur la mobilité de ce métal et sur sa concentration dans les différents milieux, l'atmosphère est un vecteur essentiel de ce polluant, il se dépose dans les sols et les eaux de surface. Concentré dans les sols, contamine les eaux de surfaces et les eaux sous-terraines ainsi que son ruissellement par les cours d'eau polluent les rivières, les eaux de mers et les sédiments marins (**Cossa et al., 1993**). De ce fait, le cadmium pollue les micro-organismes, les végétaux et la faune terrestre et aquatique, et se retrouve ainsi dans la chaîne alimentaire et constitue un risque non négligeable pour la santé humaine.

II.2.4. Voies d'exposition humaine

Il existe trois voies de contamination de la population par le cadmium la voie respiratoire, digestive et cutanée, Le cadmium dans l'air ambiant est surtout un danger pour les travailleurs de certaines industries, mais le tabagisme et l'alimentation sont des sources importantes d'exposition pour la population générale (**Faiz, 2011**).

- **Inhalation par voie respiratoire**

Voie principale d'absorption des fumées et des particules fines du cadmium dans des milieux professionnels et d'agglomération urbaine et d'une façon très importante par le tabagisme; l'oxyde du cadmium est un élément concentré dans la cigarette, sa concentration varie entre 1 et 2,5 µg, 7 à 10 % de cette quantité sont inhalés par le fumeur, et 38 à 50 % sont rejetés dans l'atmosphère, ce cadmium est fortement disposé sur les alvéoles respiratoires ce qui facilite sa diffusion vers le sang (**Fortoul et al., 2005**).

- **Voie digestive**

L'Alimentation est responsable de 60% du cadmium ingéré chez les individus non-fumeurs: l'apport journalier de ces individus est estimé entre 10 et 35 µg, influencé par les

habitudes alimentaires et les groupes de populations (Faroon *et al.*, 2012). Le cadmium s'accumule dans tous les groupes alimentaires, 5% des cultures végétales ont un taux qui dépasse la réglementation, 98 % du cadmium alimentaire est apporté par la consommation des céréales, des légumes frais, des fruits, des boissons des viandes et des abas, il faut bien noter que la concentration du cadmium dans les abas constitue le plus grand risque, sa concentration peut aller jusqu'à 1 mg.kg^{-1} , les 2% restant provient des poissons, fruits de mer et de l'eau de boisson (Van Assche *et al.*, 1988). Les concentrations moyennes du cadmium dans l'alimentation sont présentées dans le **tableau VI**.

Tableau VI : Taux moyen de cadmium présent dans l'alimentation (Galal-Gorchev,1993)

Produits	Concentration en cadmium (mg.kg^{-1})	Produit	Concentration en cadmium (mg.kg^{-1})
Céréales	0,030	Lait	0,002
Racines et tubercules	0,020	Poisson	0,020
Fruits	0,003	Fruit de mer	0,200
Végétaux	0,009	Abats	0,300
Viande	0,006	Epices et herbes	0,006

- **Voie cutanée**

La contamination par voie cutanée est lente et minime; en cas de lésion ou en cas d'un contact prolongé avec des produits contaminés au cadmium, ou en cas d'un contact avec de l'eau contaminé, 0,1 à 0,6 % de la concentration traverse la peau (Rani *et al.*, 2014).

II.2.5.Toxico-cinétique du cadmium

II.2.5.1.Absorption

L'absorption du cadmium inhalé par la voie respiratoire se fait au niveau alvéolaire, donc la taille des particules influence sur son absorption, en effet 5 % des particules d'un diamètre supérieur à $10 \mu\text{m}$ sont disposées sur les alvéoles, alors que la disposition des particules inférieures à $0,1 \mu\text{m}$ est plus de 50% (Bonet, 2011).

En plus entre 50% et 100% de ce cadmium disposé est absorbé dans le sang. Son absorption par la voie digestive et faible elle varie entre 1,1% à 10,6%, néanmoins cette valeur varie selon la dose, l'espèce chimique (le cadmium inorganique est le plus absorbé),

la teneur en protéines et en oligo-éléments essentiels ; la carence en zinc en fer ou en calcium favorise l'absorption du cadmium (**Bisson et Houeix, 2014**).

Le passage à la circulation sanguine se fait au niveau du duodénum, le cadmium ionique est absorbé passivement du fait du PH acide du contenu gastrique ; par le passage à travers la membrane apicale des cellules épithéliales via des récepteurs réservés à des oligo-éléments essentiels comme le fer, le zinc, et le calcium, le plus connu c'est le récepteur DMT1, qui participe à l'hémostasie du fer (**Bonet, 2011**) (**figure 6**).

II.2.5.2. Transport et distribution

70% du cadmium est transporté par le sang, principalement lié aux érythrocytes ; complexé à l'hémoglobine où a la métallothionine, du fait qu'il a une forte affinité au groupement thiol et les protéines à cystéines, la portion restante est transportée dans le plasma liée aux albumines et le complexe métallothionine-cadmium sécrété par le foie. Les fumeurs eux, ont une concentration sanguine de Cd de 4 à 5 fois plus élevée que les non-fumeurs (**Satarug and Moore, 2004**). Le cadmium est distribué dans tous les organes du corps principalement : les reins, le foie, les poumons, le système nerveux, le pancréas, la rate, le cœur, la thyroïde, les muscles et les os, il est aussi présent dans les ongles et les cheveux à des proportions minimales, la demi-vie de ce métal dans les tissus varie entre 10 et 30 ans (**figure 6**).

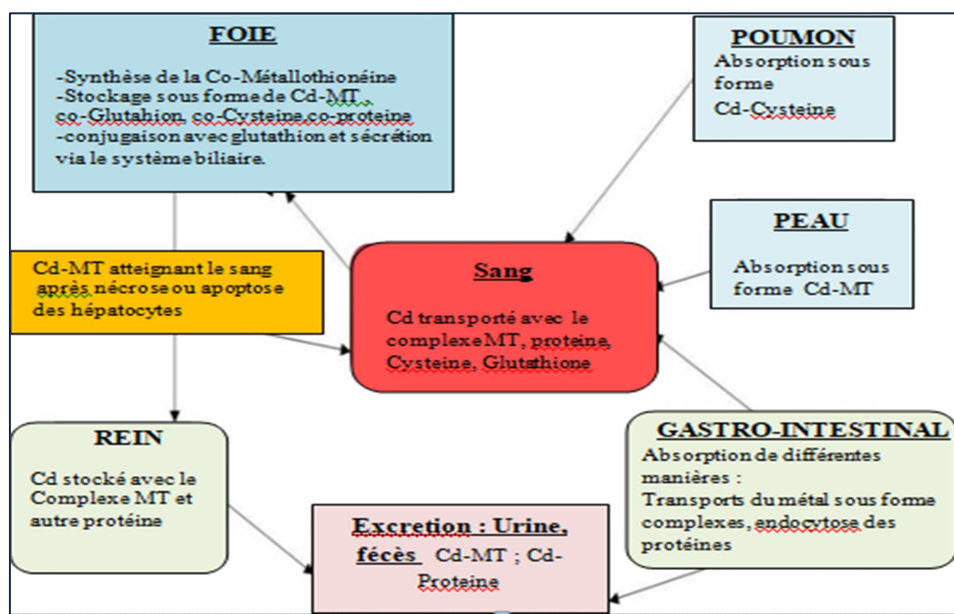


Figure 6 : La répartition du cadmium dans l'organisme (**Craste, 1995**).

II.2.5.3.Excrétion

La majorité du cadmium n'est pas absorbée et directement éliminée dans les sels, néanmoins l'élimination du cadmium absorbé est faible et très lente, elle est essentiellement urinaire (2 à 3 $\mu\text{g.L}^{-1}$) chez les patients non professionnellement exposés, et il y a aussi une faible excrétion par la bile, la sueur et la salive (**Faiz, 2011**).

II.2.6.Toxicité du cadmium

Le premier cas célèbre à l'intoxication au cadmium survenu au Japon en 1955, suite à la contamination d'un fleuve 'Zintzu' servant à l'irrigation des rizières par les rejets d'une mine, ce qui a conduit à l'apparition d'une maladie nommée "Itai-Itai" caractérisée par une fragilité osseuse, des cassures nombreuses, des douleurs à la colonne vertébrale, toux, anémie et Insuffisance rénale (**Juste, 1955**).

On identifie le cadmium comme un polluant extrêmement toxique, sa bio accumulation dans les organismes et son élimination très lente explique l'évolution des pathologies qui l'associe ; les reins, le foie et les os sont ses cibles privilégiées d'accumulation, généralement l'exposition au cadmium est chronique, cependant il peut avoir lieu des intoxications aiguës notamment chez les individus professionnellement exposés suite à l'inhalation excessive des vapeurs de cadmium (**Miquel, 2001**).

II.2.6.1.Exposition aigue

L'inhalation des concentrations élevées à courte durée des fumées et des composés inorganiques du cadmium (oxyde du cadmium, sulfate du cadmium...) provoque l'irritation des cellules du système respiratoire, ce qui mène à un trouble pulmonaire grave. Par ailleurs l'ingestion à partir de 3 mg de ces composés peut provoquer des irritations sévères de l'épithélium gastro-intestinal, pouvant induire des crampes, diarrhée, vomissements et des nausées (**Juste, 1995 ; Goyer et al., 1996 ; ATSDR, 2012**). On estime que l'intoxication sévère à des doses très élevées peut induire la mort dans les 3 jours suivant l'exposition dans 15% à 20% des cas, suite à une hémorragie gastrique et la perte massive des fluides biologiques, ainsi que la formation des œdèmes et la destruction tissulaire des organes (**Garca et al., 1996**).

II.2.6.2.Exposition chronique

L'exposition chronique à ce métal augmente la mortalité par le cancer bronchique et prostatique généralement chez les travailleurs exposés dans le milieu professionnel, sa toxicité chronique touche à plusieurs organes :

Toxicité rénale

Le rein est l'organe cible de la toxicité chronique au cadmium, sa concentration dans le cortex rénal est une source d'évaluation de l'exposition à ce métal. La quantité de cadmium dans les cellules tubulaires augmente avec l'âge et provoque l'altération de la fonction rénale, caractérisée par des lésions tissulaires, une atteinte glomérulaire et un dysfonctionnement tubulaire ; en particulier par une perte de la capacité de réabsorption des nutriments par les tubules, ce qui mène au relargage du zinc, du cuivre, du glucose, des protéines de faible poids moléculaire, ainsi que d'acides aminés dans les urines.

Le cadmium aussi perturbe le métabolisme phosphoré et calcique et provoque l'augmentation de la créatinémie et l'urémie dans le sang, les manifestations peuvent aller jusqu'à une défaillance rénale totale (**Bonet, 2011 ; Faiz, 2011**).

Toxicité hépatique

Le cadmium induit des lésions et une dégénérescence des hépatocytes, et influe sur la perméabilité cellulaire, représentées par une augmentation des enzymes AST /ALT (**Falcy et al., 2013**).

Appareil respiratoire

L'exposition à longue durée aux fumées et aux particules volatiles du cadmium, en particulier chez les fumeurs et les travailleurs dans le milieu professionnel à $100 \mu\text{g.m}^{-3}$ pendant plusieurs années conduit à l'apparition des troubles respiratoires et des œdèmes pulmonaires ainsi que des fibroses, des rhinites, des bronchites et des changements dans le volume des poumons (**Benadda, 2002**).

Toxicité osseuse

L'ingestion à long terme des taux élevés du cadmium dans la nourriture, peut causer des désordres osseux, en effet il interfère sur les mécanismes d'absorption du calcium au

niveau intestinal et sur son intégration dans les cellules s et diminue l'activation de la vitamine D, il provoque ainsi des fragilités osseuses et des risques importants de développer de l'ostéoporose et l'ostéomalacie (Perrin, 2007).

Système reproducteur

L'exposition des femmes enceintes au cadmium provoque la diminution du poids de naissance (Frery *et al.*, 1993), des concentrations élevées de ce métal bloquent la biosynthèse ovarienne de progestérone (Henson et Chedrese, 2004), il provoque aussi des modifications qui touchent les spermatoocytes chez des travailleurs exposés à de fortes concentrations de fumées d'oxyde de cadmium (Lagerkvist *et al.*, 1992 ; Ferry *et al.*, 1993).

Effets cancérogènes

Le cadmium est un agent chimique classé dans le groupe 1 par le CIRC depuis 1993, c'est-à-dire comme cancérogène certain pour l'homme. Plusieurs expertises ont conclu à son pouvoir cancérogène, aussi 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 7).

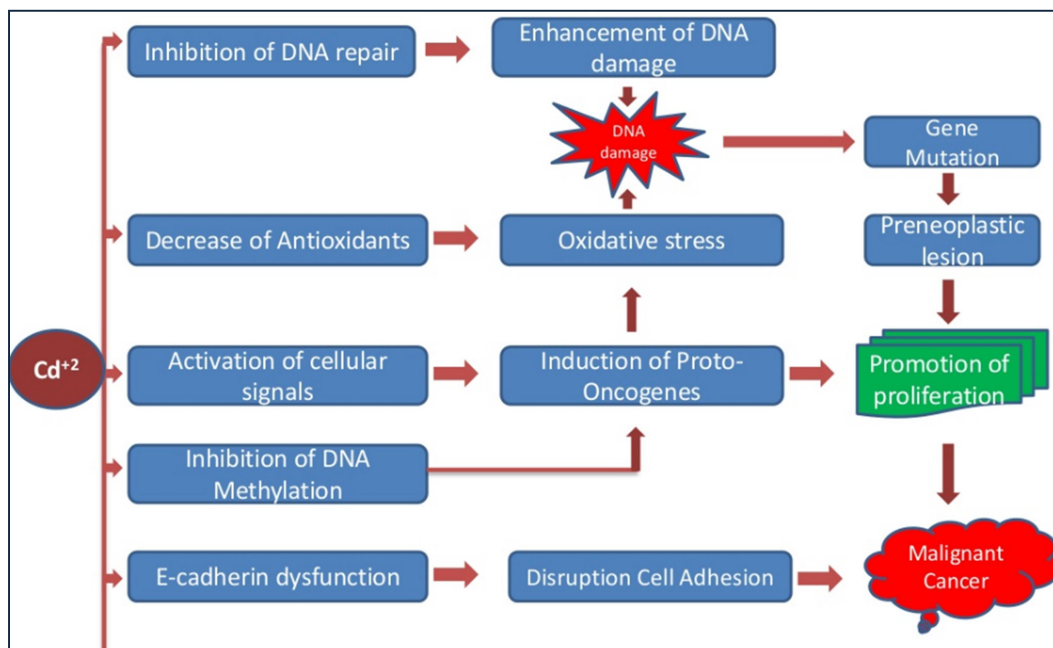


Figure 7 : Effets cancérogènes du cadmium (Bonet, 2011)

CHAPITRE III : PARTIE EXPERIMENTALE

Etude de l'impact pondérale, hématologique
et histologique du Cadmium et du plomb sur
les rats *Wistar*

L'expérimentation a été effectuée au sein de laboratoire d'anatomie pathologique de l'école nationale supérieure vétérinaire (ENSV) de Bab Ezzouar. Dans cette étude nous avons évalué l'activité et l'effet toxique du cadmium et du plomb sur certains paramètres, notamment pondéraux, hématologiques et histologiques. Le risque est évalué en mesurant l'exposition et ses conséquences métaboliques chez des sujets (rats) mâles, suite à l'ingestion de doses infra-toxiques.

III.1 Matériel biologique

L'évaluation de la toxicité sub-chronique du plomb et du cadmium est effectuée sur les organes des rats *Wistar* « cerveau, rate et pancréas » conservés au formol 10%, ces rats *Wistar*, proviennent de l'institut Pasteur Algérie (IPA) et pèsent entre 250 et 280g.

III.1.1 Conditions d'élevage

L'élevage, le sacrifice et l'extraction des organes sont effectués 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). Ils reçoivent de l'eau et sont nourris par un aliment sous forme de granulés. La valeur énergétique pour 100g d'aliment est de 310 Kcal (**figure 8**).



Figure 8: Temps d'adaptation des rats wistar (Zenad, 2021)

III.1.2 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 :

- 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 100g de 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 l'acétate du 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 sulfate du 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 sulfate du cadmium et 1mg de l'acétate du 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 de l'étude de **Zenad, (2021)**. 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.

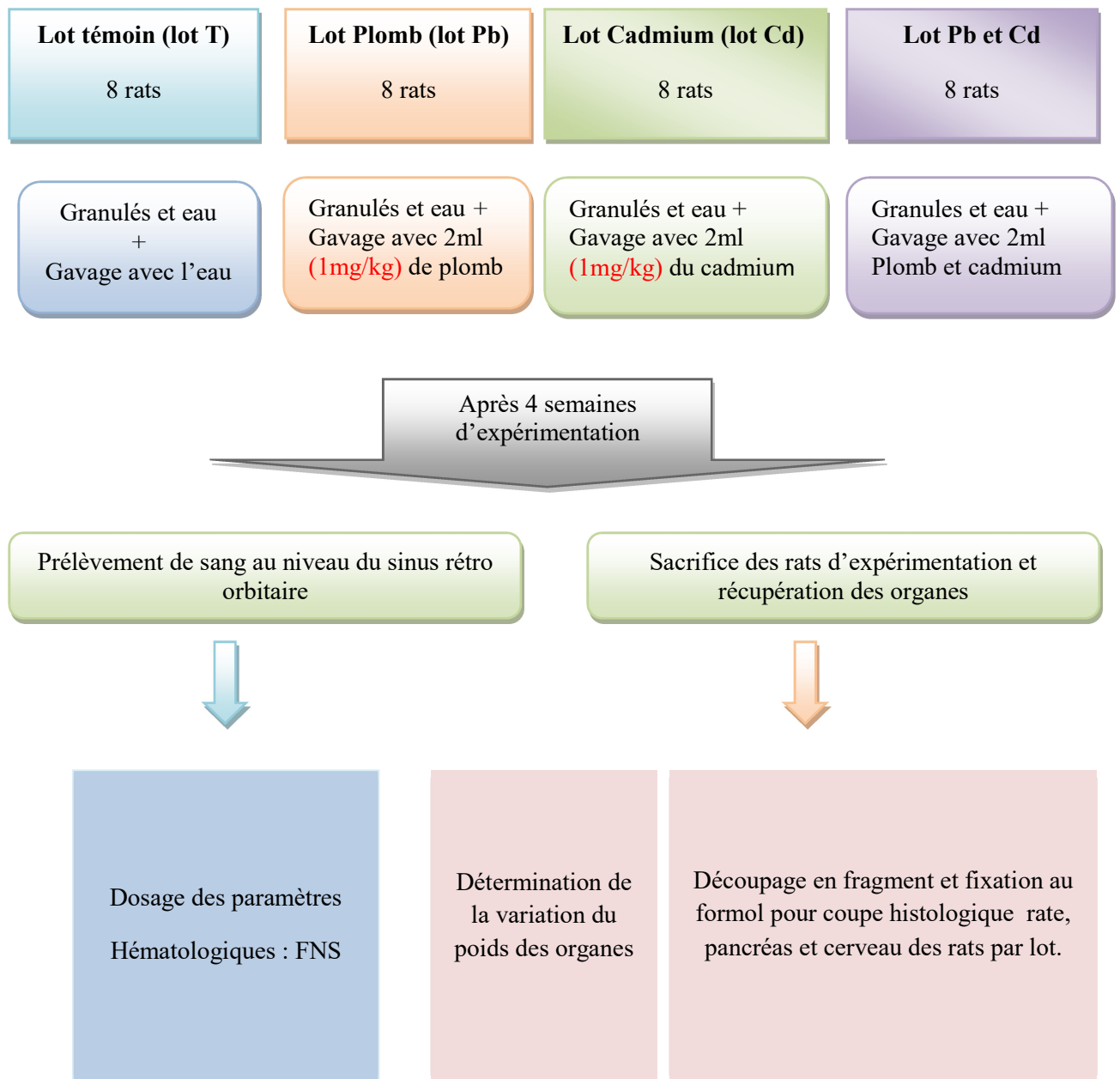


Figure 9 : Déroulement de l'expérimentation.

III.2 Méthodes opératoires

III.2.1 Sacrifice

Les rats sont sacrifiés et autopsiés après anesthésie par une injection intra péritonéale de kétamine à la dose de 150 mg/kg de poids corporel



Figure 10: Sacrifice des rats par injection intra péritonéale de kétamine

III.2.2 Dissection

Après avoir anesthésié le rat, il est placé sur le dos, fixé sur le bac de dissection au niveau des pattes, cette étape facilite le déroulement de la dissection



Figure 11: Fixation des rats aux niveaux des pattes.

III.2.2.1 Utilisation de la sonde cannelée pour le découpage de la peau

- la peau est pincée à l'aide d'une pince et un ciseau au dessus de l'appareil uro-génital à fin de créer un orifice (la boutonnière)

- Insertion de la sonde cannelée précautionneusement dans la boutonnière, on remonte le long de l'abdomen tout en gardant la sonde inclinée vers le haut.
- Découpage de la peau le long de la cannelure de la sonde à l'aide des ciseaux.
- découpage de la peau à partir de la boutonnière, pour chacune des pattes comme pour dessiner un Y à l'envers. Pour les pattes antérieures, on procède de la même façon en partant du thorax (**figure 12**).
- dégagement de la peau de la paroi musculaire en retirant les adhérences.

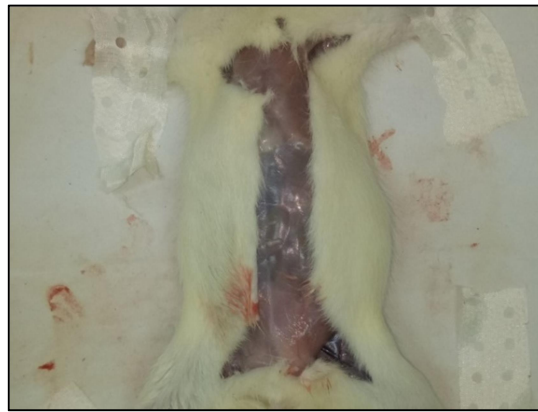


Figure 12: Découpage de la peau pour chaque une des pattes pour former un Y à l'envers.

II.2.2.2 Utilisation de la sonde pour le découpage de la paroi musculaire

- On pince une boutonnière dans la paroi musculaire en étant attentif aux organes sous-jacents. Une fois la boutonnière en place, la sonde cannelée est insérée en la gardant toujours orientée vers le haut (**figure 13**).
- A l'aide des ciseaux on découpe la paroi en suivant la cannelure de la sonde.
- Pour finir, on accroche les parois musculaires au bac de dissection avec les mêmes instructions que précédemment.

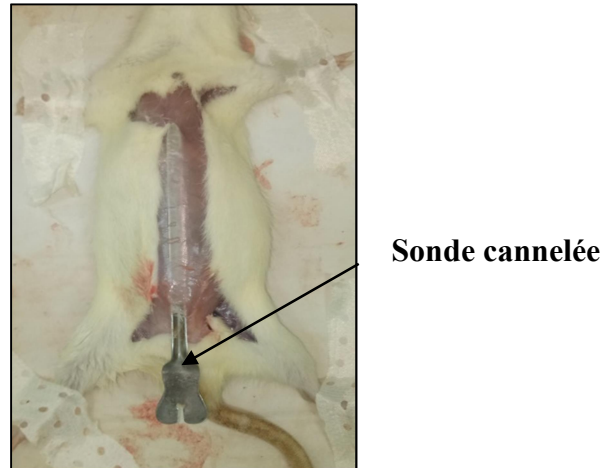


Figure 13: Insertion de la sonde cannelée dans la boutonnière, orientée vers le haut.

III.2.2.3 Prélèvements du cerveau, la rate et le pancréas

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 du quel il a été retiré.

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

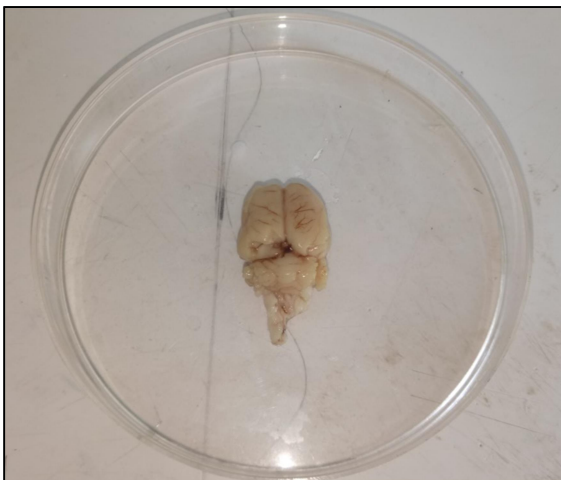


Figure 14 : cerveau prélevé du rat *Wistar*



Figure 15 : rate prélevé du rat *Wistar*



Figure 16 : pancréas prélevé du rat *Wistar*

III.3. Techniques histologiques

La technique histologique passe par plusieurs opérations qui s'enchaînent :

- Fixation des pièces
- Recouper les organes en pièces
- Lavage, déshydratation, imprégnation 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.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 (rate, pancréas et cerveau) (figure 17).

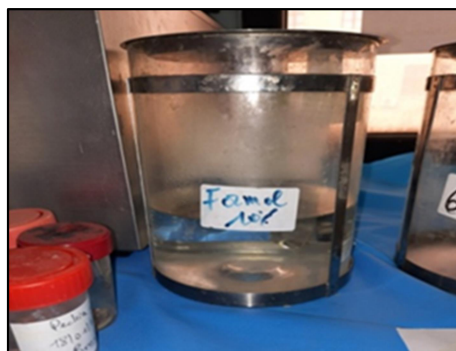


Figure 17 : Fixation des organes

III.3.2 Recouper les organes

Les organes, sont recoupés à l'aide d'un scalpel, afin d'obtenir des petites pièces d'un diamètre de 4 à 6 millimètres et une surface près d'1 cm² (**figure 18**). Ces pièces sont ensuite placées dans des cassettes (**figure 19**).



Figure 18 : Coupes d'organes



Figure 19 : Coupes d'organes placées dans des cassettes

III.3.3 Déshydratation

La déshydratation permet l'élimination de l'eau intracellulaire en vue de l'inclusion dans un milieu non hydrosoluble, par passage des organes dans 5 bains d'éthanol de degrés croissants (70°, 90°, 95°, 100°, 100°) pendant 45 minutes sous agitation modérée (**figure 20**).

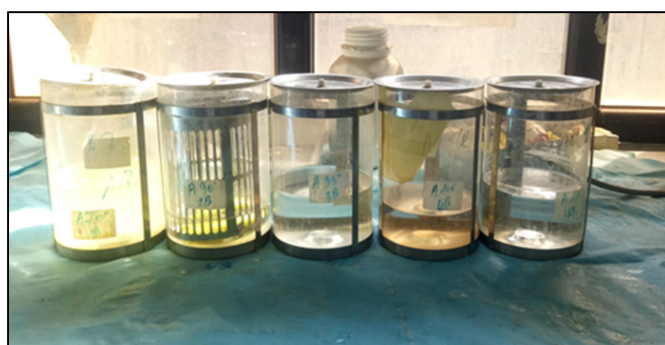


Figure 20 : Déshydratation des organes

III.3.4 Imprégnation

L'imprégnation permet de préparer l'étape d'inclusion à la paraffine, elle a pour but l'élimination des traces d'alcool absolu, par le passage des organes dans deux bains de Toluène ou Xylène pendant 45 minutes chacun (**figure 21**).

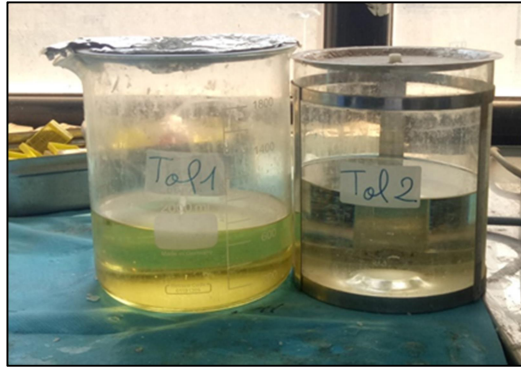


Figure 21: Imprégnation des organes

III.3.5 Inclusion

L'inclusion permet la préparation des organes à la mise en bloc. Les organes sont immergés dans un bain primaire de paraffine pendant 15 minutes à l'étuve (56°C), puis ils sont mis dans un bain principal pendant 24 heures de temps (**figure 22**).



Figure 22 : Etuve d'inclusion des organes

III.3.6 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. On coule la paraffine dans un petit moule en métal « Barre de Leuckart » (**figure 23 A**), l'organe y est déposé et orienté puis laisser se refroidir pendant 15 minutes (**figure 23 B**), on sépare ensuite les blocs de paraffine des barres, et on les prépare pour la confection des coupes (**figure 23 C**).

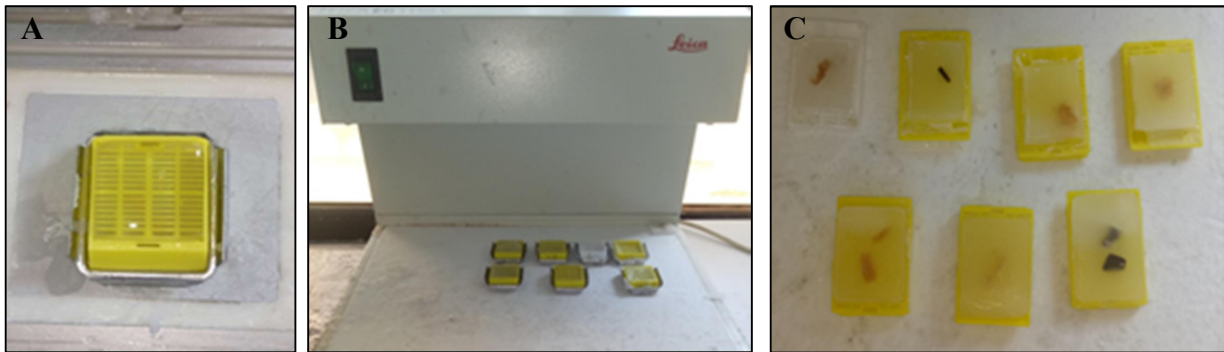


Figure 23 : Enrobage et confection des blocs. (A) : Barre de Leuckart. (B) : Refroidissement des blocs. (C) : Blocs de paraffine

III.3.7 Confection des coupes

À l'aide d'un microtome (LEICA) (**figure 24 A**), on réalise des coupes d'une épaisseur de 3 μm , en séries régulières sous formes de ruban (**figure 24 B**) puis étalées à chaud sur des lames en verre préalablement recouvertes d'eau légèrement gélifiée pour éviter la perte des coupes au cours des étapes suivantes (**figure 24 C**), on laisse ensuite les lames sécher sur une plaque chauffante à 40 °C pendant 15 minutes afin de coller les coupes sur le verre (**Figure 24 D**).

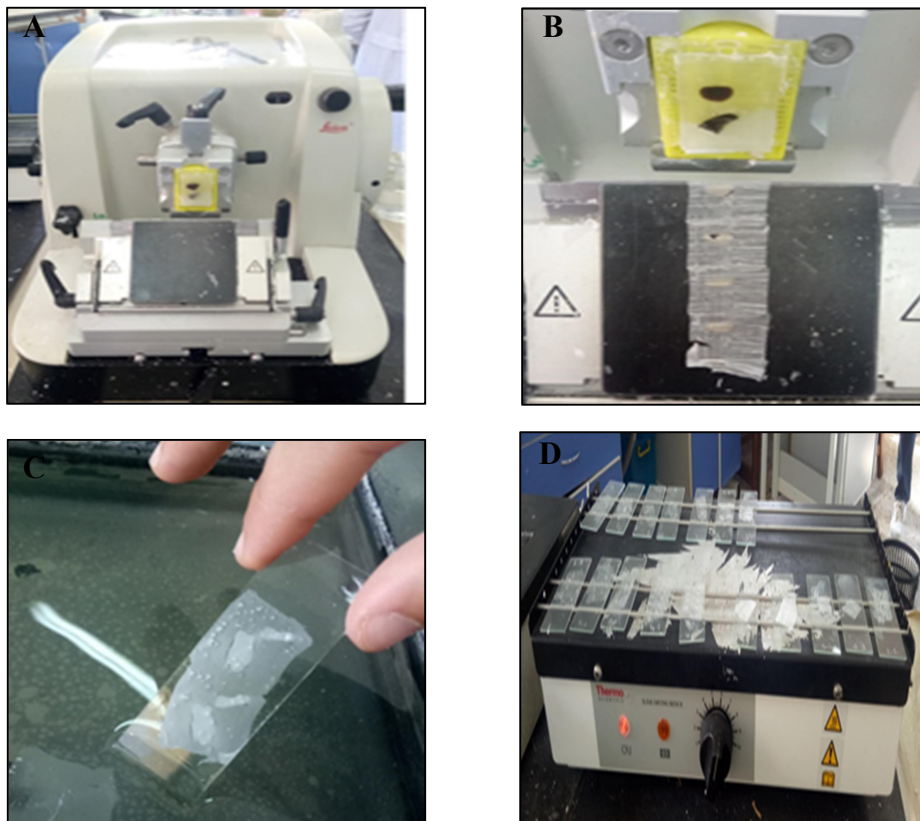


Figure 24 : Confection des coupes. (A) : Microtome LEICA. (B) : Fragment de ruban. (C) : Etalement des coupes (D) : Collage des coupes

III.3.8 Déparaffinage et réhydratation des coupes

Le déparaffinage permet d'éliminer le milieu d'inclusion, les lames sont placées dans deux bains de Xylène pour 5 et 7 minutes consécutivement. 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°) pendant 1 minute dans chaque bain. Les lames sont ensuite plongées dans de l'eau distillée pendant 3mn (plusieurs bains).

III.3.9 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.3.10 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 elles sont éclaircies par le passage dans 2 bains du toluène ; 5 minutes dans chaque'un. Enfin elles sont montées entre lames et lamelles avec de l'EUKIT.

III.3.11 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.4 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%.

CHAPITRE IV : RESULTATS

IV Résultats

L'ensemble des résultats obtenus chez les rats mâles, en croissance, témoins et traités par l'acétate de plomb et le 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 hématologique et enfin les résultats histologiques.

IV.1.Effets du plomb et du cadmium sur la croissance des rats *Wistar*

IV.1.1.Evolution pondérale

Les résultats pondéraux des rats témoins et ceux traités au plomb et au cadmium sont présentés dans le **tableau VII** et la **figure 25**. 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 significative entre la diminution de poids des rats des 3 lots par rapport à ceux du lot témoin (**Figure 26**).

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

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

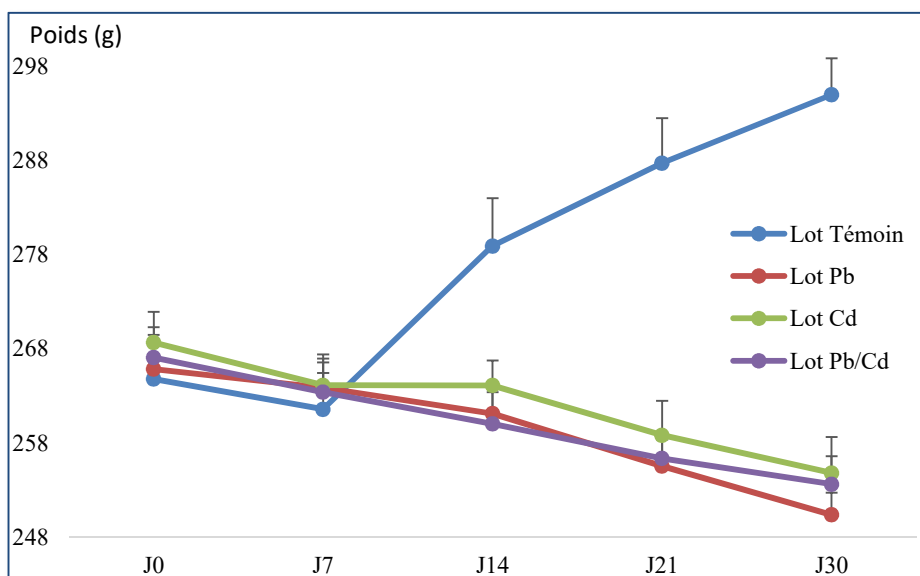


Figure 25: Effet du de plomb et du cadmium sur l'évolution pondérale chez les rats traités pendant 28jours comparés aux témoins

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 26**). L'analyse statistique met en évidence des différences hautement significatives ($p = 0,0001$).

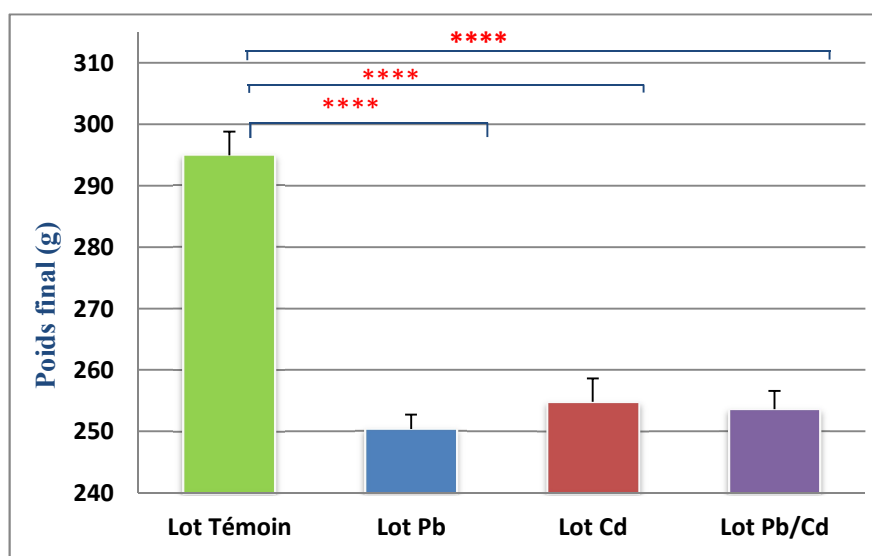


Figure 26: Poids final des rats Wistar en fonction des lots expérimentaux.

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

**** $p \leq 0,001$ hautement significatif

IV.1.3 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 (Rate, pancréas et cerveau) sont présentées dans le **tableau VIII**.

Tableau VIII : 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
Rate (g)	1,21± 0,05	0,99± 0,04	0,99± 0,02	0,93± 0,02
Pancréas(g)	0,92± 0,01	0,84± 0,02	0,87± 0,01	0,85± 0,02
Cerveau (g)	1,37± 0,003	1,38± 0,004	1,38± 0,009	1,37± 0,014

IV.1.3.1 Effet du plomb et du cadmium sur le poids moyen de la rate chez les rats

Wistar

Les poids bruts de la rate des rats traités au plomb et au cadmium ont diminué par rapport à ceux des témoins correspondants (1,21±0,05 g). Cette diminution est très significative chez les 3 lots (Pb, Cd et (Pb+Cd) ; $p \leq 0,01$) à savoir : 0,99±0,04 ; 0,99±0,02 et 0,93±0,02 g respectivement. **La figure 27** montre l'effet de la toxicité du cadmium et du plomb sur le poids moyen de la rate chez les rats.

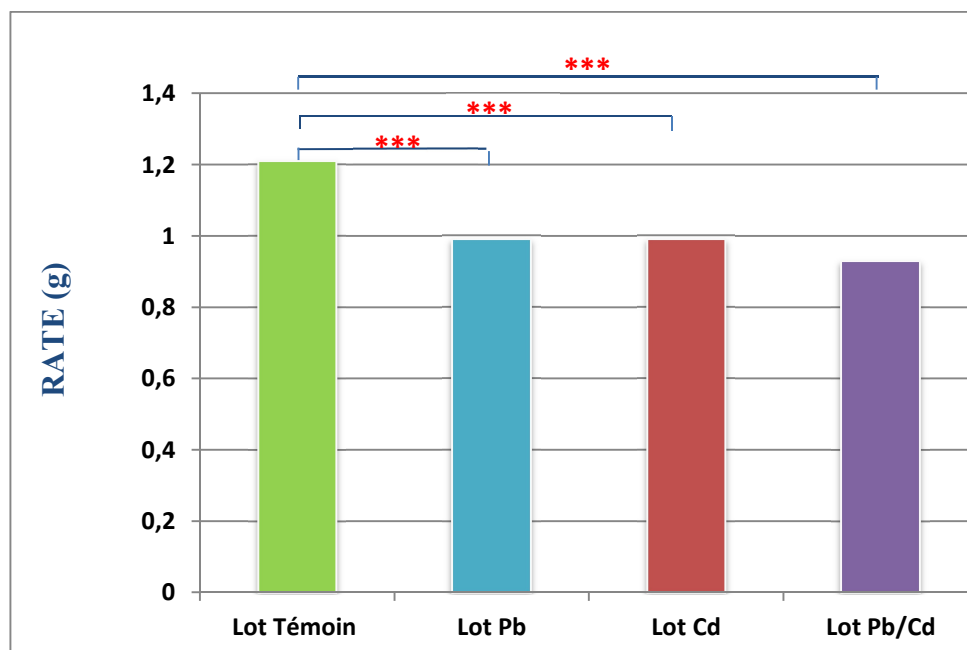


Figure 27 : Effet du cadmium et du plomb sur le poids moyen de la rate.

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

IV.1.3.2 Effet de la toxicité du cadmium et du plomb sur le poids moyen des pancréas chez les rats *Wistar*

L'effet de la toxicité du plomb et du cadmium sur le poids moyen des pancréas sont illustrés sur la **figure 28**. En effet, le plomb et le cadmium ont entraîné une diminution du poids moyen des pancréas, comparativement aux animaux témoins ($0,92 \pm 0,011$ g), cette diminution est très significative dans les 3 lots ; Pb ($0,84 \pm 0,02$ g), Cd ($0,87 \pm 0,01$ g) et Pb+Cd ($0,85 \pm 0,02$ g),

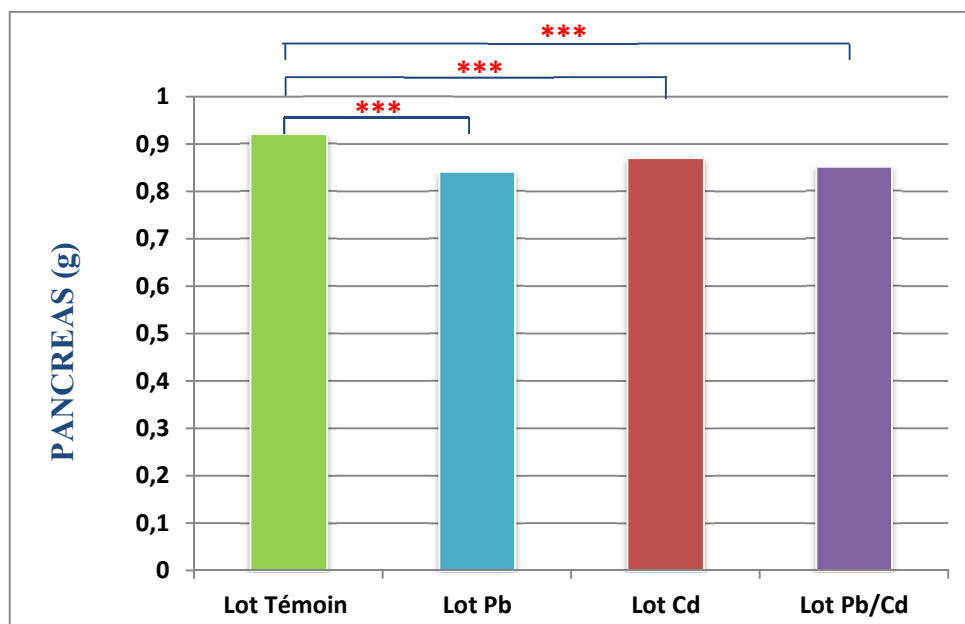


Figure 28 : Effet du cadmium et du plomb sur le poids moyen du pancréas.

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

IV.1.3.3 Effet de la toxicité du cadmium et du plomb sur le poids moyen du cerveau chez les rats *Wistar*

Nous avons constaté une variation non significative du poids moyen du cerveau des lots Pb ($1,38 \pm 0,004g$), Cd ($1,38 \pm 0,009g$) et Pb+Cd ($1,37 \pm 0,01g$) par rapport au poids moyen du cerveau du lot témoin (**Figure 29**)

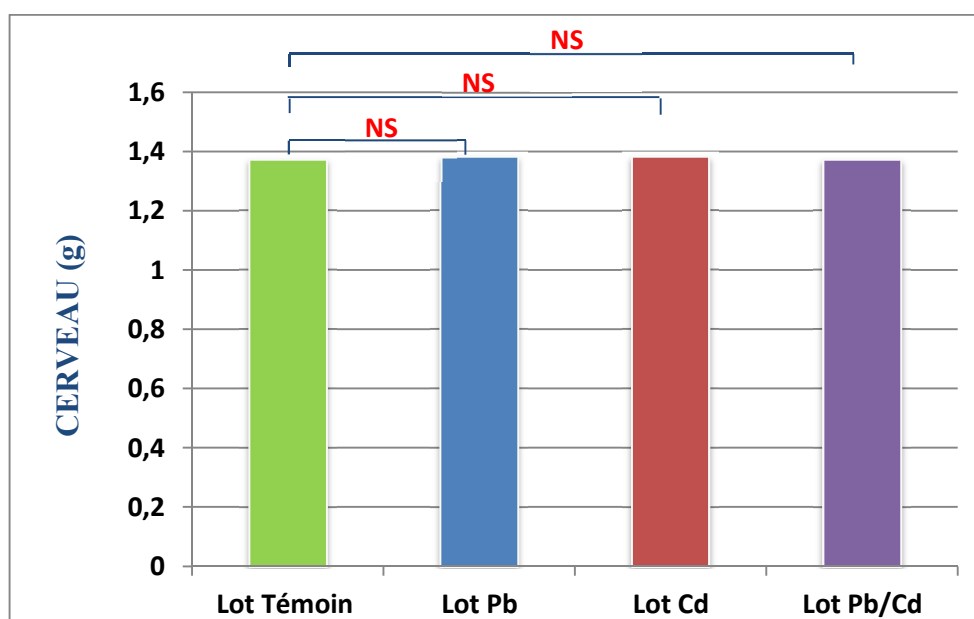


Figure 29 : Effet du cadmium et du plomb sur le poids moyen du cerveau

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

IV.2 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 IX**. 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 significativement diminués comparativement à ceux des rats témoins.

Tableau IX : Valeurs moyennes de la FNS des rats témoins et ceux traités après 28Jrs 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 /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 significatives entre les différents lots traités par rapport aux témoins (**Figure 30 ; Figure 31 ; Figure 32**), nous avons constaté une diminution significative inter dépendante des paramètres hématologiques dans les trois Lots (Pb, Cd, Pb+Cd) par apport au Lot témoin.

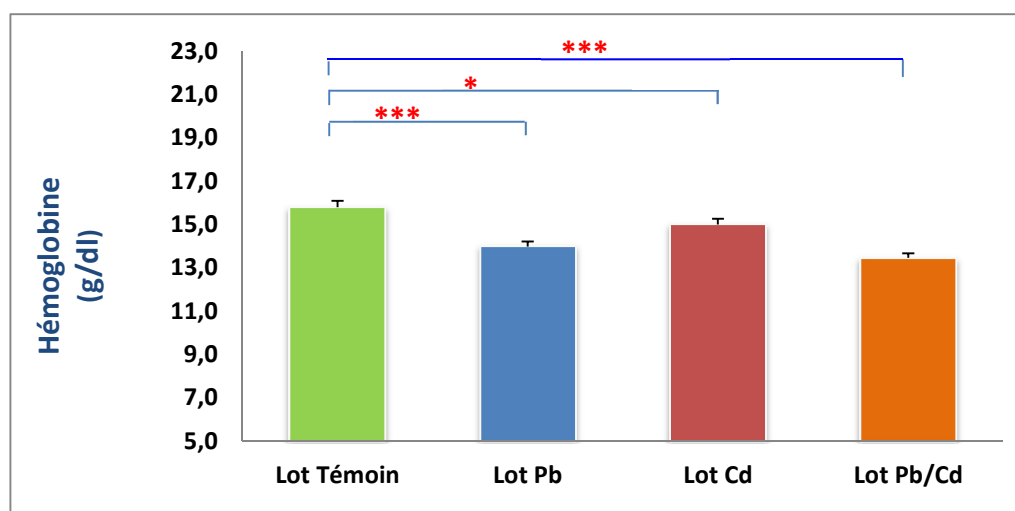


Figure 30 : Effet du plomb et du cadmium sur le taux d'hémoglobine

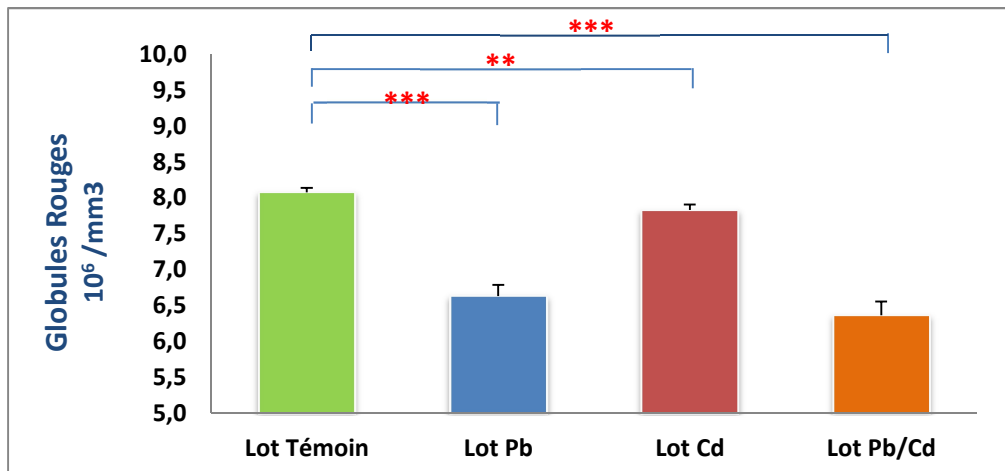


Figure 31 : Effet du plomb et du cadmium sur le taux des globules rouges

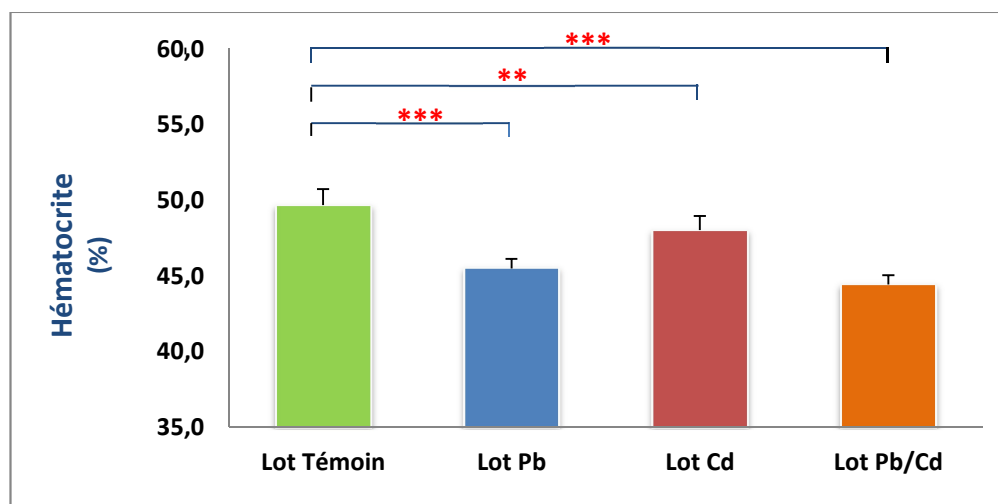


Figure 32 : Effet du plomb et du cadmium sur le taux d'hématocrite

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.3. Etude histologique

IV.3.1 L'effet du plomb et du cadmium sur l'architecture structurale du cerveau

- Les coupes histologiques du cerveau prélevé chez les rats témoins ont montré un tissu nerveux central d'architecture conservée avec des neurones, des astrocytes et des oligodendrocytes, au sein d'une substance gliale (**figure 33 A**).
- Les coupes tissulaires du cerveau prélevé chez les rats exposés au plomb ont montré la présence d'un œdème (**figure 33 B**) et des congestions vasculaires (**figure 33 C**).
- Les coupes tissulaires du cerveau prélevé chez les rats exposés au cadmium ont montré la présence des zones "hémorragiques" ou de congestion vasculaire (**figure 33 D**).
- Les coupes tissulaires du cerveau prélevé chez les rats exposés au plomb et au cadmium ont montré une importante congestion vasculaire, parfois début d'hémorragie (**figure 33 E**).

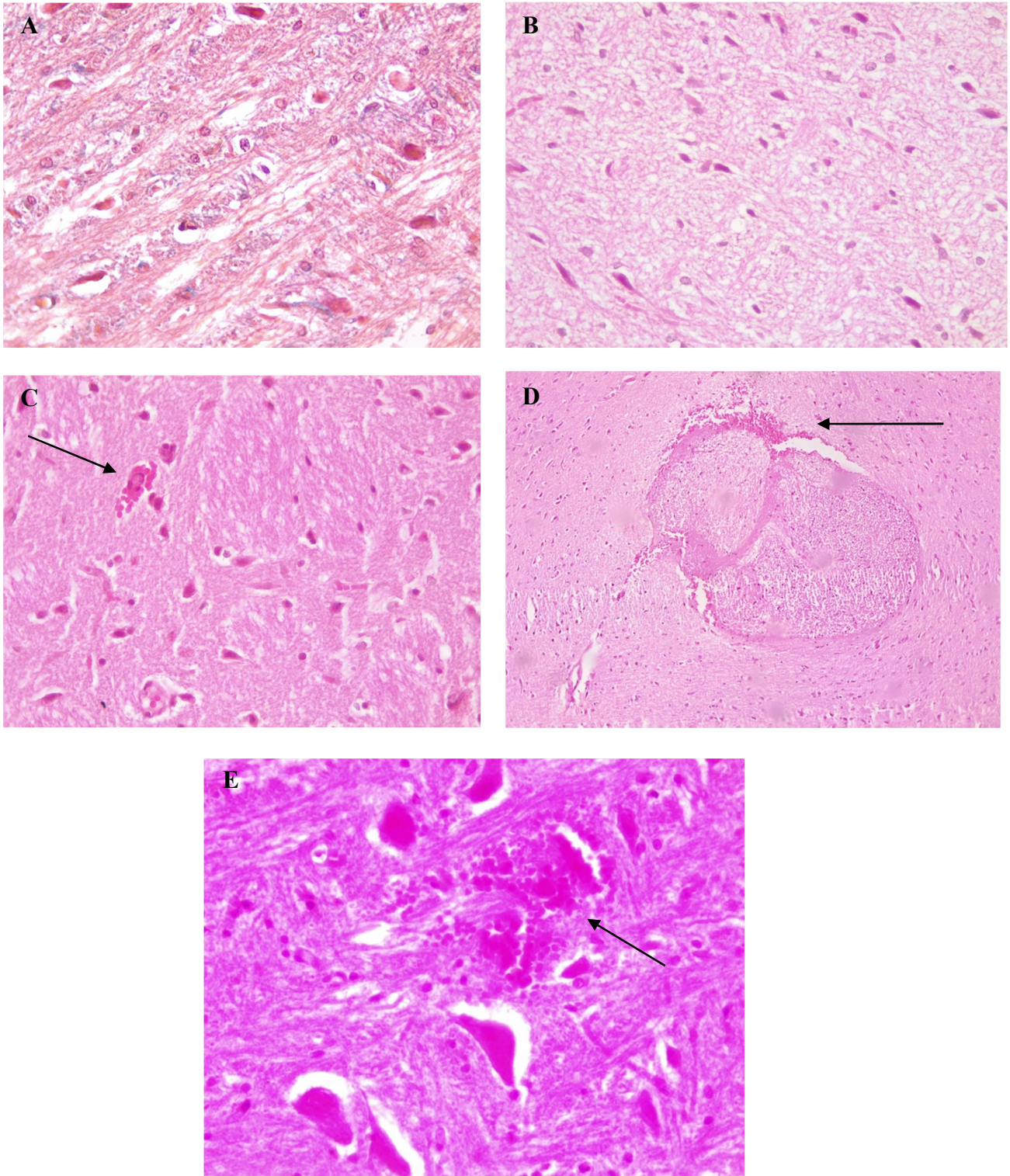


Figure 33 : Examen microscopique du tissu cérébral ; **(A)** : Tissu du cérébral d'un rat témoin (lame témoin) H&E (G×100). **(B)** : Tissu cérébral d'un rat exposé au plomb H&E (G×100). **(C)** : Tissu cérébral d'un rat exposé au plomb H&E (G×100). **(D)** : Tissu cérébral d'un rat exposé au cadmium H&E (G×40). **(E)** : Tissu cérébral d'un rat exposé au plomb et cadmium H&E (G×400).

IV.3.2 L'effet du plomb et du cadmium sur l'architecture structurale de la rate

- Les coupes histologiques du tissu de la rate prélevé chez les rats témoins ont montrées que le parenchyme splénique sous la capsule fibro-élastique, montre une pulpe rouge, régulière. La pulpe blanche faite d'agrégats lymphocytaires ou de nodules lymphoïdes normaux. Entre les deux compartiments, circulent de fins tractus fibro-conjonctifs émanant de la capsule splénique (**figure 34 A**).
- Les coupes histologiques du tissu de la rate prélevé chez les rats exposés au plomb ont montrées, que le parenchyme splénique sous la capsule fibro-élastique montre une exacerbation ou une exagération de la pulpe rouge, au profit d'une pulpe blanche (agrégats lymphocytaires) réduite, étouffée, voire effacée (**figure 34 B**).
- Les coupes histologiques du tissu de la rate prélevé chez les rats exposés au cadmium ont montrées la présence de cellules géantes multinucléées éparses, et un élargissement de la pulpe rouge par des raptus hémorragiques (**figure 34 C**).
- Les coupes histologiques du tissu de la rate prélevé chez les rats exposés au plomb et au cadmium ont montrées la présence des cellules géantes multinucléées éparses avec une extension de la pulpe rouge (**figure 34 D**).

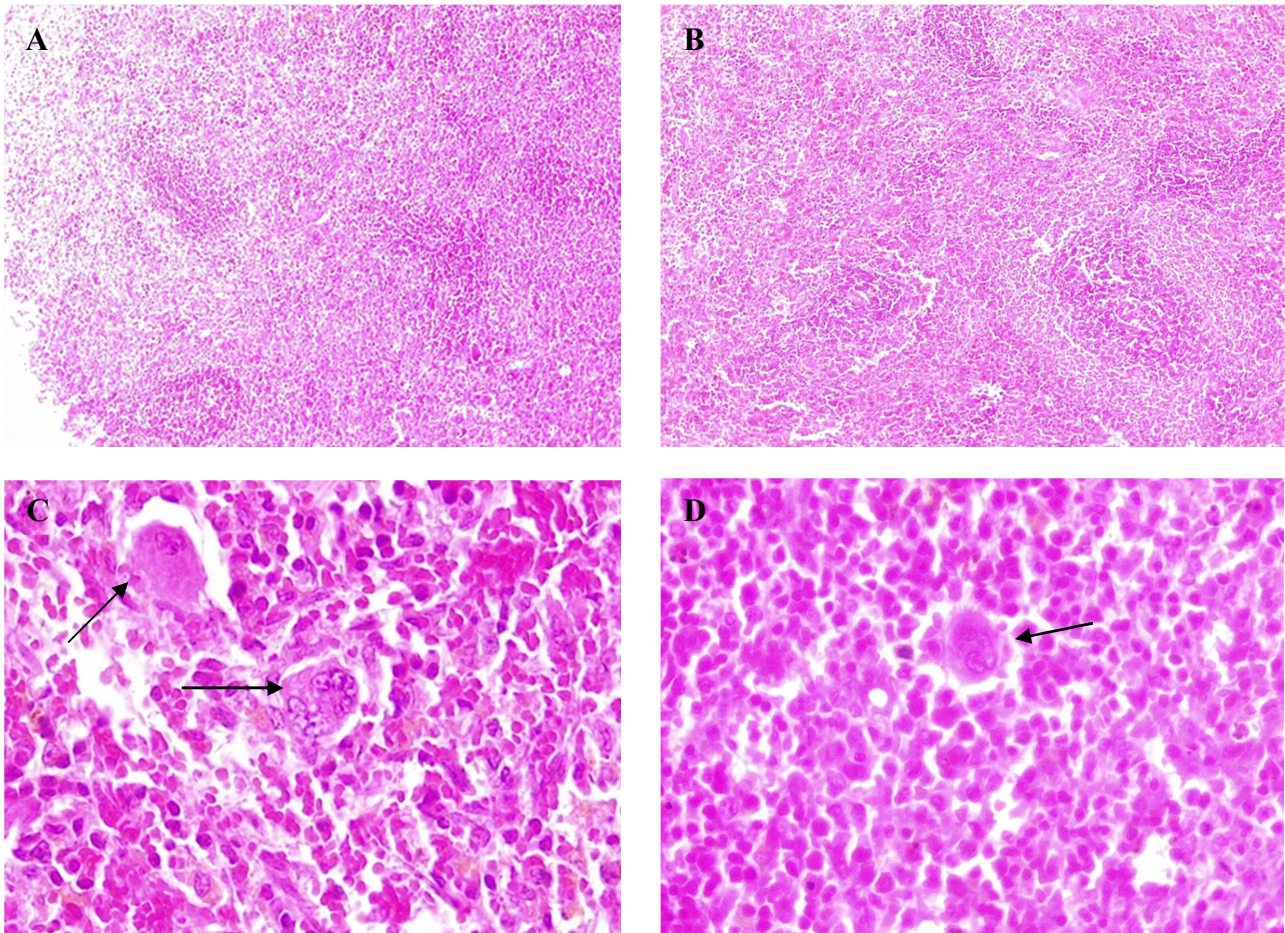


Figure 34 : Examen microscopique du tissu de la rate ; **(A)** : Tissu de la rate d'un rat témoin (lame témoin) H&E (G×40). **(B)** : Tissu de la rate d'un rat exposé au plomb H&E (G×40). **(C)** : Tissu de la rate d'un rat exposé au cadmium H&E (G×100). **(D)** : Tissu de la rate d'un rat exposé au plomb et au cadmium H&E (G×100).

IV.3.3 L'effet du plomb et du cadmium sur l'architecture structurale du pancréas

- Les coupes histologiques du tissu pancréatique prélevé chez les rats témoins ont montrées un parenchyme pancréatique d'architecture conservée (**figure 35 A**).
- Les coupes du tissu pancréatique prélevé chez les rats exposés au plomb ont montrées un parenchyme pancréatique d'architecture conservée, avec de larges zones de pancréas exocrine, entourant des îlots de Pancréas endocrine. Absence de lésions microscopiques (**figure 35 B**).
- Les coupes du tissu pancréatique prélevé chez les rats exposés au cadmium ont montrées un parenchyme pancréatique d'architecture conservé avec une présence mineure des congestions vasculaire (**figure 35 C**).
- Les coupes du tissu pancréatique prélevé chez les rats exposés au plomb et au cadmium ont montrées la présence de foyers de micro-thrombose sur congestion vasculaire (**figure 35 D**).

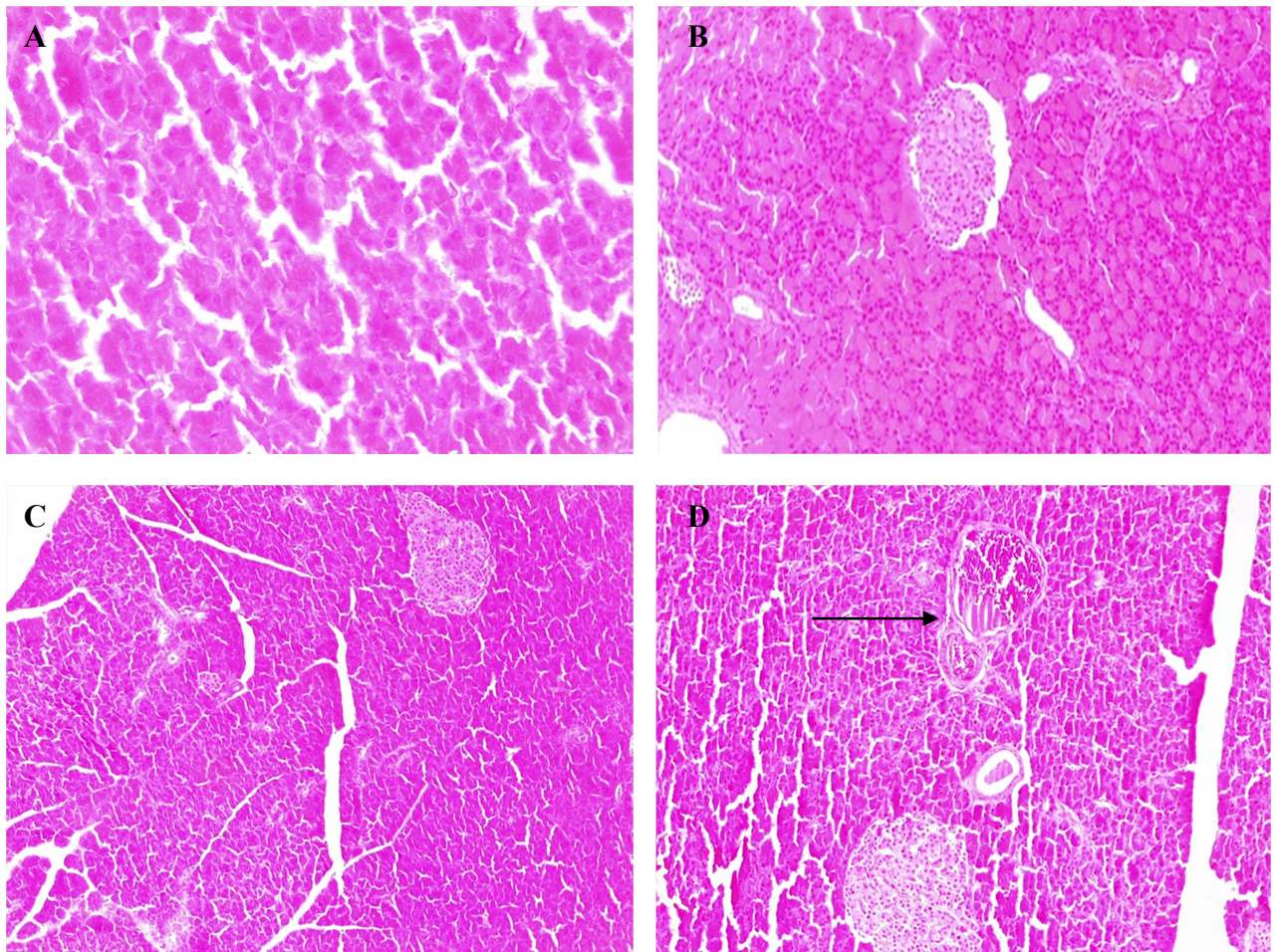


Figure 35 : Examen microscopique du tissu pancréatique ; **(A) :** Tissu pancréatique d'un rat témoin (lame témoin), H&E (G×100). **(B) :** Tissu pancréatique d'un rat exposé au plomb H&E (G×40). **(C) :** Tissu pancréatique d'un rat exposé au cadmium H&E (G×40). **(D) :** Tissu pancréatique d'un rat exposé au plomb et au cadmium H&E (G×40).

CHAPITRE V: DISCUSSION GENERALE

Présents dans tous les compartiments de l'environnement, sol, eau et air par des causes naturelles et anthropiques, Les métaux lourds sont considérés comme des polluants extrêmement toxiques pour les organismes vivants, ces derniers se retrouvent bio concentrés dans la chaîne alimentaire, et constituent ainsi un risque important pour la santé humaine, le plomb et le cadmium sont des éléments traces non biodégradables, leur toxicité même à des très faibles doses sont responsables de l'altération des processus physiologiques et métaboliques dans l'organisme, ce qui mène à des variétés de maladies, ils peuvent toucher plusieurs systèmes et modifier leurs fonctionnements, principalement le système nerveux, rénal, hépatique et cardio-vasculaire (Chanel *et al.*, 1999 ; Godt *et al.*, 2006).

L'intoxication à ses polluants toxiques devient de plus en plus importante dans notre ère moderne, vu le développement excessif dans le domaine industriel et minier, leurs concentrations dans les milieux augmentent, en conséquence l'exposition humaine à ces éléments est de plus en plus importante, principalement par la voie digestive et par l'inhalation des poussières (Manole, 2007), cela fait du plomb et du cadmium un enjeu majeur qui intéresse de plus en plus la recherche scientifique, et de cela provient l'intérêt de notre étude qui est d'évaluer la toxicité de ces deux contaminants (le plomb et le cadmium) sur l'organisme, inoculés chez les rats *wistar* pour déterminer l'effet sur le poids, sur les paramètres hématologiques et l'impact histopathologique, sur le cerveau, la rate et le pancréas.

V.1 impact de l'intoxication chronique par l'acétate de plomb et le sulfate de cadmium sur le gain corporel des rats et le poids moyen des différents organes

L'exposition sub-chronique des rats *wistar* a été réalisée pendant 28 jours par gavage à la dose de 1mg/Kg (Pb, Cd, Pb+Cd) diluée dans l'eau de boisson, les résultats ont permis d'observer une diminution hautement significative ($p \leq 0,001$) à partir de la deuxième semaine dans le gain corporel des rats exposés au plomb ($250,38 \pm 2,323$), au cadmium ($254,81 \pm 3,819$) et au plomb/cadmium ($253,61 \pm 2,980$), par rapport aux rats témoins ($294,93 \pm 3,853$). Le lot Pb est le plus touché par la baisse du gain corporel, puis le lot Pb/Cd et le moins touché c'est le lot Cd.

Nos résultats sont en accord avec les travaux de Gobrel, (2002) et Missoun, (2012) qui ont observé une diminution significative dans le gain corporel de rats traités au plomb, de même Ait-Hamadouche, (2010) ont constaté une diminution significative du gain corporel des

rats intoxiqués à une dose de 500 mg/L et 250 mg/L du plomb, comparativement aux témoins durant les 12 semaines d'expérimentation. Aussi nos résultats sont cohérents avec les travaux de **Chaalal et al., (2005)** qui ont observé une baisse significative de la croissance corporelle à partir de la deuxième semaine des rats intoxiqués à une dose de 0.4g/L du cadmium pendant les six semaines d'expérimentation.

Ces modifications du gain corporelle sont expliquées par l'effet du plomb qui modifie le fonctionnement cellulaire et perturbe plusieurs réactions métaboliques et processus physiologiques (**Haito et al., 2008**) et l'impact toxique du cadmium sur la physiologie de l'organisme. Selon **Ait-Hamadouche, (2010)** la diminution du poids est directement associée à la baisse de la prise alimentaire. En effet le plomb induit un effet anorexigène par son interaction avec des structures cérébrales comme les neuromédiateurs de la sérotonine et la dopamine qui sont impliquées dans le processus de la régulation de la satiété et de la faim (**Benlahcen, 2008**).

Des modifications dans le poids des différents organes ont été observées chez les rats intoxiqués à l'acétate du plomb et le sulfate du cadmium après 28 jours d'expérimentation par rapport aux témoins, nous avons observé une diminution significative dans le poids de la rate et le pancréas dans les trois lots (Pb, Cd, Pb/Cd), cependant nous n'avons pas observé une variation significative dans le poids du cerveau des rats intoxiqués. Nos résultats sont en accord avec ceux de **Vandjiguiba et al., (2019)** qui ont déterminé une baisse significative ($p \leq 0,05$) dans le poids de la rate des rats *wistar* males et femelles intoxiqués à différentes doses de sulfate de cadmium. La diminution du poids de ces organes peut s'expliquer par une atrophie cellulaire ou une diminution de la prolifération cellulaire, en effet le cadmium affecte la viabilité, la prolifération et la différenciation cellulaire et donc l'apoptose (**Kara et al., 2005 ; Onwuka, 2010**).

V.2. Impact histo-pathologique de l'intoxication chronique par le plomb et le cadmium sur les différents organes du rats *wistar*

V.2.1. Impact sur le cerveau

Le système nerveux est particulièrement sensible aux intoxications, à cause de sa complexité biochimique, le caractère actif de son métabolisme, sa sensibilité à l'hypoxie et le caractère excitable des neurones et l'incapacité des cellules nerveuses à se multiplier et combler la disparition prématuré des stocks cellulaires (**Lu, 1992**), l'examen microscopique du tissu du cerveau des rats témoins a montré un tissu avec des caractéristiques conservées ; les

neurones et les cellules gliales (les astrocytes, les oligodendrocytes, les cellules de la microglie et les cellules épendymaires) et les vaisseaux sanguins.

L'examen microscopique des tissus des rats exposés à 1mg/kg du plomb ont montré la présence d'un œdème caractérisé par l'accumulation nette d'eau et de solutés dans le secteur extra cellulaire. Le tissu est infiltré par une sérosité pale légèrement rosée, écartant les uns les autres les structures tissulaires, ainsi qu'une augmentation de volume de la masse cérébrale, on a observé aussi la présence des congestions vasculaires (une augmentation de la quantité de sang contenue dans des vaisseaux qui se dilatent). L'œdème, est lié à une atteinte de la perméabilité membranaire des cellules où l'altération des fonctions de la barrière hémato encéphalique BHE, conduisant un passage d'eau, d'électrolytes et de protéines dans le secteur interstitiel (**Unterberg *et al.*, 2004**), en conséquent l'apparition d'une hypertension intracrânienne (HTIC), une compression des veines, des artères et des nerfs ce qui mène à une ischémie qui a son tour aggrave l'œdème cérébral (OC) et provoque un risque de destruction cérébrale et des hémorragies (**Payen *et al.*, 2007**).

Chez les rats exposés à 1mg/kg du cadmium et au 2mg/kg (plomb/cadmium) nous avons observé des zones "hémorragiques" ; une issue de sang hors des cavités vasculaires et des congestions vasculaires importantes due à l'impact du plomb et du cadmium hypertensif (**Staessen *et al.*, 1994**). Nos résultats rejoignent ceux de **Missoun, (2012)** qui ont observé une altération et une désorganisation structurale au niveau du cortex cérébral chez les rats intoxiqués au plomb, des congestions vasculaires et des espaces extracellulaires entre les cellules de Purkinje ont été identifiées, **Ait-hamadouche, (2010)** ont observé une atrophie totale des cellules neuro sécrétrices avec l'apparition des grandes vacuoles chez les rats intoxiqués, les résultats obtenus par **Antonio *et al.*, (2003)**, suggèrent que la diminution de l'activité des enzymes du système nerveux central (la phosphatase acide (ACP), de la phosphatase alcaline (ALP), de la catalase (CAT), de l'acétylcholinestérase (AChE) et des ATP-ases (Na(+)/K(+) et Mg(2+)/ Ca(2+) dépendant) est la conséquence des effets neurotoxiques produits par l'exposition périnatale des rats au plomb et/ou au cadmium. Les travaux menés par **Belahcene, (2008)** sur des rats exposés au plomb, ont montré des désorganisations tissulaires au niveau du cerveau, des travées au niveau du corps calleux et au niveau de l'hippocampe, une dissociation des couches des cellules de Purkinje et des couches de grains au niveau du cervelet.

V.2.2. Impact sur la rate

La rate, organe lymphoïde secondaire, siège de la réponse immunitaire, filtre et capte spécifiquement les antigènes présents dans le sang par l'artère splénique, assurant ainsi un rôle de surveillance immunitaire, mais elle est une cible importante du plomb et du cadmium (**Oluwafemi et al., 2014**). L'interprétation de son atrophie tissulaire est importante pour déterminer la toxicité des substances entrant dans l'organisme (**Dwivedi, 2016**).

Les résultats histopathologiques obtenus ont montré que le plomb affecte la structure tissulaire splénique des rats contaminés, la pulpe rouge est diffusée tout au long de la pulpe blanche, en effet la pulpe rouge montre un comblement des sinus vasculaires par d'abondants raptus hémorragiques, créant parfois des caillots sanguins, par conséquent, les zones occupées par le cordon splénique de tissu conjonctif (pulpe rouge) semblent comparativement plus grandes face à une réduction conséquente de la taille des pulpes spléniques blanches. Nos résultats sont similaires à ceux de **Ochewa et al., (2018)** qui ont constaté la distorsion de l'architecture splénique par la diffusion de la pulpe rouge au profil de la pulpe blanche chez les rats traités à l'acétate du plomb, selon **Owolabi et al., (2014)** ces observations suggèrent également que le tissu splénique devient fibrotique, cela compromettrait très probablement les fonctions normales de la rate, car les pulpes blanches affectées sont les parties responsables des fonctions primaires, qui comprennent la destruction des globules rouges indésirables ainsi que des cellules étrangères, anormales ou pathogènes. Des résultats plus sévères à l'intoxication chronique à des doses plus élevées du plomb ont été obtenues par **Turkay et al., (2015)**, ils ont montré la dégénérescence des cellules spléniques, la perte totale de la structure mitochondriale normale avec un gonflement extrême et la formation de vacuoles et une perte totale de crêtes, cependant les études de **Muselin et al., (2010)** ont montré la présence des lésions nécrotiques spléniques causées par le stress oxydatif créé par ce métal. **Eukanem et al., (2015)** eux ont observé une hyperplasie visible et généralisée des follicules lymphoïdes de la pulpe blanche, il y avait aussi des signes d'hémolyse et de congestion des vaisseaux sanguins qui éclipsaient la pulpe rouge. Chez les rats intoxiqués au sulfate de cadmium nous avons observé en plus de l'élargissement de la pulpe rouge par des raptus hémorragiques au profil de la pulpe blanche, la présence de cellules géantes multinucléées éparses, l'infiltration des macrophages et de lymphocytes dans les tissus est une preuve de l'inflammation causée par la toxicité du cadmium. Des résultats antérieurs similaires sont en accord avec notre étude, en effet selon **Yamano et al., (1998)** l'augmentation du taux lymphocytaire correspond significativement

à l'administration du cadmium, qui aussi induit la prolifération de la pulpe rouge et cause la formation d'un lymphome folliculaire. Les résultats obtenues par **Diaby et al., (2016)** montrent que le sulfate de cadmium affecte l'architecture structurale de la rate chez les rats mâles et femelles. Les rats contaminés sont caractérisés par un dépôt de fer, des sinus veineux, une hyperémie, une hémorragie, des troubles structurels et un œdème.

V.2.3. Impact sur le pancréas

Le pancréas est un organe qui se compose de deux parties ; la partie exocrine responsable de la synthèse et de la sécrétion des enzymes pancréatiques digestives et la partie endocrine qui secrète des hormones importantes dans la régulation de la glycémie, l'examen microscopique des tissus témoins ont montré un parenchyme naturel constitué de nombreux îlots de Langerhans dispersés parmi les acini du pancréas exocrine.

Les tissus des rats intoxiqué au 1mg/kg au plomb ont montré une architecture conservée, sans aucune lésion microscopique décelable, des résultats similaires ont été obtenue par **Shimada et al., (2000)** chez des rats intoxiqués à la même dose (1mg/kg). Ces résultats peuvent être expliquées par la reponse dose dépendante, les résultats obtenues par **wardani et al., (2019)** chez des rats intoxiqués avec 20 mg/kg de l'acétate du plomb ont montré des apoptoses et des nécroses et un dysfonctionnement des cellules pancréatiques et une atteinte de la perméabilité cellulaire, caractérisée par les taux élevé de malondialdéhyde et une baisse de sécrétion de l'insuline, ce qui montre l'effet diabétogène du plomb par l'augmentation de l'intolérance au glucose. Chez les rats intoxiqués au cadmium nous avons observé un tissu avec des particularités conservées avec une présence minime des congestions vasculaires, ce qui peut être justifié par une réaction inflammatoire à ce métal.

Chez les rats intoxiqués avec du plomb et du cadmium nous avons observés la formation des Thromboses et des congestions vasculaires, nos résultats sont en accord avec ceux de **Ramesh, (2018)** ; **Fouad et al., (2020)** et **biram et al., (2020)**, qui ont observé des atrophies des acini pancréatiques, des vaisseaux sanguins dilatés et des agrégats cellulaires péri vasculaires abondants dans les tissus pancréatiques. Ces dommages vasculaires produiront une ischémie et des radicaux libres qui activent la protéase zymogène dans les cellules acineuses entraînant une pancréatite (**Degirmenol, 2005**). Selon **Tongzhang, (2018)** le plomb et le cadmium augmentent la génération des espèces réactives à l'oxygène ROS et induisent un stress oxydatif provoquant un dysfonctionnement cellulaire et pouvant induire des dégénérescences et des nécroses et mener vers une insuffisance pancréatique.

Des études in vitro ont été réalisées par **Djordjevic et al., (2019)** sur des lignées cellulaires humaines, elles ont montrés l'accumulation dose dépendante du cadmium dans les tissus. Une croissance incontrôlée sans répartition des lignées cellulaires à été observée ce qui démontre l'association entre le cancer du pancréas et les taux sériques élevé du cadmium qui agit par la création d'un stress oxydatif et l'inhibition de l'apoptose.

V.3. Impact de l'intoxication chronique par le plomb et le cadmium sur les paramètres hématologiques

L'exposition aux métaux lourds peut provoquer des altérations et des dommages au profil hématologique et au système hématopoïétique chez l'homme et les animaux (**Costa et al., 2004**), chez les sujets exposés au plomb nous avons constaté une baisse significative interdépendante des taux d'hémoglobine (HB), d'hématocrite (HT) et des globules rouges (GR) comparativement à ceux des rats témoins, ces résultats sont similaires avec ceux obtenus chez **Offor et al., (2007)** ; **Missoun, 2012** ; **Eukanem et al., (2015)**. La baisse de ces valeurs hématologiques, confirme que le plomb à causé une anémie chez les rats intoxiqués, cette anémie pourrait être causée par la réduction de la durée de vie des érythrocytes circulatoires et l'inhibition de la synthèse de l'hémoglobine (**Lavicoli et al., 2003**). Selon **Hanan et al., (2012)** le plomb agit sur la synthèse de l'hème via son effet inhibiteur de l'ALA déshydrogénase (ALAD), l'enzyme impliquée dans la dernière étape de la voie de synthèse de l'hème, **Schlick et Friedberg, (1982)** ont trouvé une réduction significative des cellules nucléées de la moelle osseuse après un mois d'administration orale de 1000 µg d'acétate de plomb/kg, indiquant un trouble majeur de l'érythropoïèse. Tous comme le plomb nous avons observé que le cadmium induit la baisse des paramètres hématologiques causant ainsi une anémie. Nos résultats sont en accord avec **Kouadria et al., (2020)** qui ont constaté une diminution hautement significative des taux d'hémoglobine (HB), d'hématocrite (HT) et de globules rouges (GR) des rats traités à 15mg/kg du cadmium, cette anémie est due à l'effet des radicaux libres produits par le cadmium sur les globules rouges et l'hémoglobine, certains sont des substances très réactives qui peuvent endommager les membranes cellulaires par peroxydation lipidique.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

En raison de leur vaste disponibilité naturelle et de leur utilisation industrielle et quotidienne généralisée, les métaux lourds demeurent aujourd'hui non seulement une pollution de l'environnement, mais également une intoxication de divers organismes lorsqu'ils s'impliquent dans la chaîne alimentaire. L'objectif fixé de cette étude était de déterminer l'impact de l'exposition chronique du plomb et du cadmium sur l'organisme des rats *wistar*, au cours de notre étude nous avons élargie nos recherches sur trois plans ; la croissance des sujets, l'hématologie, et l'histopathologie de trois organes : le cerveau, la rate et le pancréas.

Les résultats de cette étude ont permis d'évaluer les effets toxicologiques du plomb et du cadmium sur le fonctionnement de l'organisme, une baisse de poids corporel a été enregistrée chez les sujets exposés, ainsi qu'une baisse significative dans le poids de la rate et le pancréas, cependant pour le cerveau les variations du poids se sont avérées non significatives, cela est peut être dépendant de la dose administrée. Nous avons aussi observé une diminution significative des taux de l'hémoglobine, l'hématocrite et les globules rouges prouve que le plomb et le cadmium altèrent les paramètres hématologiques, sur le plan histologique nous avons pu mettre en évidence l'altération de l'architecture splénique, notamment la réduction de la taille de la pulpe blanche de la rate, des œdèmes, des congestions et des hémorragies cérébrales, ainsi que des thromboses aux niveaux du pancréas des rats intoxiqués.

Aux termes de ces résultats obtenus, nous avons constaté que le plomb et le cadmium induisent des altérations et des effets néfastes sur l'organisme, même à des faibles concentrations, ils peuvent provoquer des neuropathies, des insuffisances pancréatiques et des atteintes fonctionnelles de la rate et du système érythropoïétique, et dans la mesure de limiter leur impacts nocifs et de répondre à la problématique de la contamination chronique à ces métaux lourds, nos recherches s'ouvrent sur des perspectives suivantes :

- Renforcer la réglementation concernant les concentrations émises dans l'environnement par les industries et imposer des seuils limites.
- Surveiller d'avantage les pratiques agricoles et contrôler les concentrations de ces métaux dans denrées alimentaires.
- Instaurer des stratégies de prévention et de sensibilisation du danger réel que posent ces métaux sur l'environnement et la santé publique
- Elargir les études concernant la toxicité de ces éléments trace sur l'organisme, afin d'évaluer plus profondément les risques et établir des mesures et des solutions.

Conclusion

- Limiter l'utilisation de ces éléments en traces dans les fiouls et d'autres produits industriels, et se diriger vers des sources plus saines.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

1. **Adriano, D.C. 2001.** Trace éléments in terrestrial environments. biogeochemistry, bioavailability, and risks of metals, vol 860. New York: Springer.
2. **Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). 2012.** Toxicological profile for cadmium. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.
3. **Ait-hamadouche, N. 2010.** Effets de l'exposition chronique au plomb sur le système reproducteur et l'axe hypothalamo-hypophysaire chez le rat male wistar ; étude histologique et biochimique, université d'oran.
4. **Alain, B.B., Bernard, M., Fourestier, M. 1980.** Dictionnaire des constantes biologiques et physiques: applications cliniques et explorations paracliniques .5 éd. Paris. ISBN 2-224-00637-3 (Rel.). p2201-2205.
5. **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.
6. **Antonio, M.T., Corredor, L., Leret, M.L. 2003.** Study of the activity of several brain enzymes like markers of the neurotoxicity induced by perinatal exposure to lead and/or cadmium. *Toxicology letters*, 143(3), 331-340.
7. **Arris, S. 2008.** Etude Expérimentale de l'Élimination des Polluants Organiques et Inorganiques par Adsorption sur des Sous Produits de Céréales, doctorat en sciences en génie des procédés. p10-11.
8. **Audi, G., Wapstra, A.H., Thibault, C., Blachot, J., Bersillon, O. 2003.** The NUBASE
Evaluation of nuclear and decay properties, *Nucl Phys A*, vol 729, p3–128.
9. **Azimi, S. 2004.** Sources, flux et bilan des retombées atmosphériques de métaux en Ile-de-France (Doctoral dissertation, Ecole des Ponts ParisTech).
10. **Behanzin, G.J., Adjou, E.S., Yessoufou, A.G., Ahoussi, E.D., Sezan, A. 2014.** Effet des sels de métaux lourds (chlorure de Cobalt et chlorure de Mercure) sur l'activité des hépatocytes. *Journal of Applied Biosciences*, vol 83, p7499-7505.

11. **Benadda, B. 2002.** Etat de l'art concernant la mesure des émissions et le traitement des métaux dans les fumées. Cas du cadmium, du mercure et du plomb, 2002, n°00-0220/1A. 214 p.
12. **Benlahcen, K. 2008.** Etude neurobiochimique et histologique de l'intoxication chronique à l'acetate de plomb chez le rat wistar
13. **Berg, J.M., Shi, Y. 1996.** The galvanization of biology: a growing appreciation for the roles of zinc. *Science*, vol 271, No 5252, p1081-1085.
14. **Biram, D., El Sekily, N. 2020.** The Biochemical and Histological Effect of Cadmium Chloride on the Pancreas of Adult Albino Rats and the Possible Protective Effect of Nigella Sativa Seeds. *Journal of Medical Histology*, 4(1), 22-32.
15. **Bisson, M et Houeix, N. 2014.** Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques. Institut national de recherche et de sécurité(INRS)-France.
16. **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.
17. **Borchardt, T. 1985.** Relationships between carbon and cadmium uptake in *Mytilus edulis*. *Marine biology*, vol 85, No 3, p233-244.
18. **Botta, A., Poyen, D., Sigouret, M., Mathias, A. 1976.** Les différents tests de dépistage d'une imprégnation saturnine applicables en médecine du travail. *Arch Mal Prof*, vol 37, p437-443.
19. **Bourrelier, P.H., Berthelin, J. 1998.** Contamination des sols par les éléments en traces: les risques et leur gestion. Rapport n°42, Académie des Sciences. 300p.
20. **Bratton, G., Zmudzski, J. 1981.** Laboratory diagnosis of lead poisoning in cattle : reassessment and review. *veterinary and humain toxicology*. p5-26.
21. **Brignon, J.M et Malherbe, L. 2005.** Cadmium et ses dérivés. INERIS – Données technicoéconomiques sur les substances chimiques en France, Verneuil en Halatte, 25 p.
22. **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*, vol 78, p2–8. doi: 10.1016/j.ecoenv.2011.07.004.
23. **Caillerie, J.L., Francois, W. 1993.** Le plomb et alliages de plomb.
24. **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* ,vol 34, p232–238.

25. **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*, vol 108, p210–216.
26. **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.
27. **Chaalal, F.Z., Gueham, A, Halim, M. 2005.** Contribution a l'étude de l'effet de l'intoxication subchronique par le cadmium sur quelques paramètres biochimique liés a la fonction hépatique et rénale chez les rats wistar.
28. **Chanel, O., Dollfus, C., Haguenoer, J., Hartemann, P., Huel, G et al. 1999.** Plomb dans l'environnement : quels risques pour la santé ?, Rapport de recherche : Institut national de la santé et de la recherche médicale (INSERM). hal-01571950. 451 p.
29. **Chappuis, P. 1991.** Les oligoéléments en médecine et biologie. *Lavoisier Tee & Doc Palis*.
30. **Cheng, H., Li, M., Zhao, C. 2014.** Overview of trace metals in the urban soil of 31 metropolises in China. *J Geochemical Explor* vol 139, p31–52. doi: 10.1016/j.gexplo.2013.08.012.
31. **Chong, J.Y. 2020.** Revue générale des accidents vasculaires cérébraux
32. **CIRC (IARC), 1993.** International Agency for Research on Cancer, Cadmium and cadmium compounds. *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum*, vol 58, p119–237
33. **CIRC, 1980.** (International Agency for Research on Cancer), Lead and lead compounds. In *Some Metals and Metallic compounds*, IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Lyon : IARC, p325-416.
34. **Coïc, Y., Coppenet, M. 1989.** Les oligo-éléments en agriculture et élevage. INRA, Paris.
35. **Cortez, H., Pingarro'n, J., Muñoz, J.A., Ballester, A., Bla'zquez, M.L., Gonza'lez, F., Garc'ía, 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.
36. **Cossa, D., Auger, D., Averty, B., Lucon, M., Masselin, P., Noël, J. 1992.** Flounder (*Platichthys flesus*) muscle as an indicator of metal and organochlorine contamination of French Atlantic coastal waters. *Ambio*, p176-182.

37. **Cossa, D., Elbaz-Poulichet, F., Gnassia-Barelli, M., Romeo, M. 1993.** Lead in the marine environment-Biogeochemistry and ecotoxicology. *Reperes Ocean.* No 3. France. p11-29.
38. **Costa, L.G., Aschner, M., Vitalone, A., Syversen, T., Soldin, O.P. 2004.** Neuropathologie développementale des agents environnementaux. *Annu. Rév. Pharmacol. Toxicol.* 44, 87-110.
39. **Craste, L. 1995.** Les cervidés sauvages bioindicateurs de pollution par le cadmium Etude Bibliographique. Thèse de doctorat vétérinaire E.N.V de Toulouse 125p.
40. **Crine M., 1993.** Le traitement des eaux usées industrielles chargées en métaux lourds. Situation actuelle et perspectives de développement. Tribune de l'eau.
41. **Crisanto, T., Lorenzo, L.F. 1993.** Evaluation of cadmium levels in fertilized soils. *Bull. Environ. Contam. Toxicol*, vol 50, p61-68.
42. **Degirmenol, M.C., Ustuner, Y., Kalender, S., Kalender, H.V. 2005.** The effect of acarbose and Rumex patientia on ultrastructural and biochemical changes of pancreatic β -cells in streptozotocin – Induced diabetic rats. *J Ethnopharmacol* 2005; 97:555-9.
43. **Demichele, S.G. 1984.** Nutrition of lead. *Comp. Biochem. Physiol*, vol 78, p401-408.
44. **Diaby, V., Adou, F., Ake, A., Allico, D. 2019.** Évaluation de la toxicité du sulfate de cadmium sur le poids moyen des organes internes chez les rats wistar. 2019. hal-02078528
45. **Diaby, V., Yapo, F.A., Adon, A.M., Dosso, M., Djaman, J.A .2016.** Biotoxicité rénale, hépatique et splénique du sulfate de cadmium chez les rats *Wistar*, *International Journal of Environmental Science and Toxicology Research*, 4(6), 2016, 103-110.
46. **Dini, L., Guidetti, A.M., Ruzittu, M., Gnoni, G.V., Zara, V. 1999.** Citrate carrier and lipogenic enzyme activities in lead nitrate induced proliferative and apoptic phase in rat liver. *Biochem Mol Biol Int*, vol 47, No 4, p607-614.
47. **Djordjevic, V. R., Wallace, D. R., Schweitzer, A., Boricic, N., Knezevic, D., Matic, S., Buha, A. 2019.** Environmental cadmium exposure and pancreatic cancer: Evidence from case control, animal and in vitro studies. *Environment international*, 128, 353-361.
48. **Dragovic, S., Uscumlic, M., Radojevic, V., Cicmil, M. 2008.** Water quality for vegetable irrigation from the aspect of safety. *Ekoloski Pokret Novog Sada*, Novi Sad, special edition, II international ECO-conference “SAFE FOOD”, pp 75–81.

49. **Dwivedi, D. 2016.** Splenic Infarction in Plasmodium Falciparum Malaria: Case Report and Review of Literature. *Journal of Nepal Paediatric Society.* 35. 298. 10.3126/jnps.v35i3.12448.
50. **Eichhorn, G.L., Clark, P., Shin, Y.A., Butzow, J.J., Rifkin, J.M., Pillai, R.P., Waysor, T.D. 1986.** The influence of metal ion nucleic acid interaction on genetic information transfer. *Frontiers in bioorganic chemistry.* p80-83.
51. **Ekanem, A.U, Kwari, H.D, Garba, S.H, Salami, H.A. 2015.** Effet de l'acétate de plomb sur les paramètres de la rate et du sang chez les rats albinos. *Journal IOSR des sciences dentaires et médicales*; (14)3, 43-49. DOI : 10.9790/0853-14314349..
52. **Faiz, H. 2011.** Etude par spectroscopie RMN du carbone 13 de a toxicité métabolique du cadmium dans les tubules rénaux proximaux murins et humains. Diplôme de doctorat. Ecole doctorale interdisciplinaire Science-Santé. Université Claude Bernard Lyon. 95p
53. **Falcy, M., Largot, D. 2013.** Cadmium et composés minéraux. Fiche toxicologique. INRS (Institut National de Recherche et de Sécurité)- France.
54. **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. 487p.
55. **Favier, A. 1990.** Le métabolisme du cuivre.
56. **Fernández-Garcá, A.J., Sanchez-Garcia, J.A., Gomez-Zapata, M. et al. 1996.** Distribution of cadmium in blood and tissues of wild birds. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* vol 30, p252–258.
57. **Fortoul, T.I., Saldivar, L., Espejel-Maya, G., Mussali-Galante, P., Del Carmen Avila-Casado, M., Colin-Barenque, L., Avila-Costa, M.R. 2005.** Inhalation of cadmium, lead or its mixture: effects on the bronchiolar structure and its relation with metal tissue concentrations. *Environmental toxicology and Pharmacology*, vol 19, No 2, p329-334.
58. **Fouad, A.A., Amin, E.F., Ahmed, A.F. 2020.** Naringenin and Vanillin Mitigate Cadmium-Induced Pancreatic Injury in Rats via Inhibition of JNK and p38 MAPK Pathways. *Pharmacognosy Journal*, 12(4).
59. **Fourest, E. 1993.** Etude des mécanismes de la biosorption des métaux lourds par des biomasses fongiques industrielles en vue d'un procédé d'épuration des effluents aqueux contaminés. Thèse Doc. Univ. Joseph Fourier - Grenoble 1.

60. Frery, N., Nessmann, C., Girard, F., Lafond, J., Moreau, T., Blot, P., Lellouch J, Huel, G. 1993. Environmental exposure to cadmium and human birthweight. *Toxicology* vol 79, No 2, p109-118.
61. Galal-Gorchev, H. 1993. Dietary intake, levels in food and estimated intake of lead, cadmium, and mercury. *Food Additives & Contaminants*, vol 10, No 1, p115-128.
62. Garcá-Fernández, A.J., Sanchez-Garcia, J.A., Gomez-Zapata, M., et al. 1996. Distribution of cadmium in blood and tissues of wild birds. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, vol 30, No 2, p252-258.
63. Georing, P.L. 1993. Lead-protein interactions as a basic for lead toxicity. *Neuro Toxicology*, vol 14, No 2, p45-60.
64. Gil-Sanchez, J.M., Molleda, S., Sanchez-Zapata, J.A., Bautista, J., Navas, I., Godinho, R., Garcia-Fernandez, A.J., Moleon, M. 2018. From sport hunting to breeding succes : Patterns of lead ammunition ingestion and its effects on an endangered raptor. *Science of The Total Environment*, Février 2018.p483-491.
65. Godt, J., Scheidig, F., Grosse-Siestrup, C et al. 2006. The toxicity of cadmium and resulting hazards for human health. *Journal of occupational medicine and toxicology*, 2006, vol. 1, no 1, p. 1-6.
66. 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*, vol 118, p1782-1787. doi: 10.1289/ehp.1001943.
67. Gonzalez-Chavez, M.C., Carrillo-Gonzalez, R., Gutierrez Castorena, M.C. 2009. Natural attenuation in a slag heap contaminated with cadmium: the role of plants and arbuscular mycorrhizal fungi. *Journal of hazardous materials*, vol 161, No 2-3, p1288-1298.
68. Gorbil, F., Boujelbene, M., Makni-Ayadi, F., Guerhazi, F., Croute, F., Soleilhavoup, J. P., El Feki, A. 2002. Exploration des effets cytotoxiques du plomb sur la fonction sexuelle endocrine et exocrine chez le rat pubère mâle et femelle. Mise en évidence d'une action apoptotique. *Comptes Rendus Biologies*, 325(9), 927-940.
69. Goudot-perrot, A. 1983. Les métaux des mécanismes de la vie. Maloine S.A éditeur-Paris.
70. Goyer, R.A., Clarkson, T.W. 1996. Toxic effects of metals. Casarett and Doull's toxicology. *The Basic Science of Poisons*, vol 5, p691-736.

71. **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.* vol 565, p392-400.
72. **Haito, L., Ruian, N., Jinming, W., 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) p184-191
73. **Hajem, S., Moeau, T., Hannaert, P., Lellouch, J., Huel, G. 1990.** Influence of environmental lead on membrane ion transport in a french urban male population. *Environ Res*, vol 53, No 2, p105-118.
74. **Hamir, A.N., Sullican N.O., Handson, P.D. 1982.** The effects of age and diet on the absorption of lead from the gastrointestinal tract of dogs. *Aust. vet. J*, vol 58, No 6, p266-688.
75. **Hamir, A.N., Sullivan, N.D., Handson, P.D., Wilkinson, J.S., Lavelle, R.B. 1981.** Clinical signs, radiology and tissue lead distribution of dogs administered a mixture of lead chloride, lead bromide and lead sulphate. *Australian veterinary journal*, vol 57, No 9, p401-406.
76. **Hanan, A.A., Riham, M., Raafat. 2012.** Effet de la toxicité du plomb sur la cytogénicité, les constituants biochimiques et les résidus tissulaires avec rôle protecteur du charbon actif et de la caséine chez les rats mâles *Journal australien des sciences fondamentales et appliquées*, 6(7): 497-509, 2012 ISSN 1991-8178.
77. **Henson, M.C, Chedrese, P.J. 2004.** Endocrine disruption by cadmium, a common environmental toxicant with paradoxical effects on reproduction. *Exp Biol Med (Maywood)*, vol 229, No 5, p383-392.
78. **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* vol 9, p342–363..
79. **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* vol 19, p58–71. doi: 10.1080/15320380903390554.
80. **Juste, C. 1995.** Les micro-polluants métalliques dans les boues résiduelles des stations d'épuration urbaines, Convention Ademe-Inra, Ademe éd. 209p.
81. **Kabata-Pendias, A. 1992.** Trace Metals in Soils of Poland. *Trace Subst*, vol 25, p53.

82. Kara, H., Karatas, F., Canatan, H. 2005. Effect of Single Dose Cadmium Chloride Administration on Oxidative Stress in Male and Female Rats. *Turk J Vet Anim Sci*; 29: 37- 42
83. Klevay, L.M. 1980. Interactions of copper and zinc in cardiovascular disease. *Ann NY Acad Sci*, vol. 355, p 140-151.
84. Kouadria, M., Djemli, S., Tahraoui, A. (2020). Hepatoprotective effect of zinc and magnesium against subchronic cadmium toxicity on biochemical, histopathological and neurobehavioral parameters in Wistar rats. *Journal of Animal Behaviour and Biometeorology*, 8(1), 63-73.
85. Lagerkvist, B.J., Nordberg, G.F., Söderberg, H.A., Ekesrydh, S., Englyst, V., Gustavsson, M., Gustavsson, N.O., Wiklund, D.E., 1992. Placental transfer of cadmium. vol, 118, p287-291. PMID: 1303953.
86. Laperche, V., Dictor, M.C., Clozel-Leloup, B., Baranger, P.H. 2004. Guide méthodologique du plomb, appliqué à la gestion des sites et sols pollués. BRGM/RP-52881-FR, 136p.
87. Lassus, P.D. 1989. Le cadmium en milieu marin. Biogéochimie et écotoxicologie. Rapports scientifiques et techniques de l'Ifremer n° 16. ISSN 07613970. <https://archimer.ifremer.fr/doc/00332/44312/>
88. Lavicoli, I., Carelli, G., Stanek, E.J. 2003. Effets de faibles doses de plomb alimentaire sur la production de globules rouges chez les souris mâles et femelles. *Toxicol. Lett.* 137, 193-199.
89. 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.
90. Loué, A. 1993. Oligo- éléments en Agriculture. *Scpa Nathan*, Paris. 577p.
91. Lu, F.C. 1992. Données générales, procédures d'évaluation, évaluations des risques toxicologiques, deuxième Edition.
92. Malayeri, B.E. 1995. Décontamination des sols contenant des métaux lourds à l'aide de plantes et de microorganismes (Doctoral dissertation, Université Henri Poincaré-Nancy 1).
93. Maldonado, V.M. 2008. Heavy metal content in soils under different wastewater irrigation patterns in Chihuahua, Mexico. *Int J Environ Res Public Health*, vol 5, p441–449.

94. **Manole, G.C. 2007.** AD-OX d'élimination de polluants organiques non biodégradables (par adsorption puis oxydation catalytique), Thèse de doctorat d'INP Toulouse.
95. **Martoja, R., Martoja-Pierson, M. 1967.** Initiation aux techniques de l'histologie animale. Masson et Cie, éditeur. p163-199.
96. **Matthiessen, P., Reed, J., Johnson, M. 1999.** Sources and potential effects of copper and zinc concentrations in the estuarine waters of Essex and Suffolk, United Kingdom. *Marine Pollution Bulletin*, vol 38, No 10, p908-920.
97. **Micó, C., Recatalá, L., Peris, M., Sánchez, J. 2006.** Assessing heavy metal sources in agricultural soils of European Mediterranean area by multivariate analysis. *Chemosphere* vol 65, p863–872.
98. **Miquel, G. 2001.** Les effets des métaux lourds sur l'environnement et la santé. Rapport de l'office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques. 366p
99. **Missoun, F. 2012.** Impact d'une intoxication au plomb au niveau hépatique, rénale et cérébrale. Etude histologique, biochimique et neuro-comportementale. Université d'oran.161p.
100. **Morrison, G.H. 1979.** Role of Trace Elements in Biology. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*.
101. **Morrow, H., Friberg, L., Nordberg, G.F, Vouk, V.B. 1980.** Handbook on the toxicology of metal editions, Elsevier Publ, Amsterdam.
102. **Muselin, F., Trif, A., Brezovan , D., Stancu, A., Snejana, P.V. 2010.** The consequences of chronic exposure to lead on liver, spleen, lungs and kidney architectonics in rats. *Lucrari Stintifice medicina veterinara*. Timisoara. XLIII (2).
103. **Ndzangou, S.O. 2003.** Évolution et impacts de la contamination anthropique dans les sédiments et les sols du bassin du lac Clair, Station Forestière de Duchesnay (Québec, Canada). Thèse. Québec, Université du Québec, Institut national de la recherche scientifique, Doctorat en sciences de la terre, 242 p.
104. **Nillson, U., Attewell, R., Christoffersson, J.O., Schutz, A., Ahlgren, L. 1991.** Kinetics of lead in bone and blood after end of occupational exposure. *Pharmacol Toxicol* ,69 : p477-481.
105. **Nriagu, J et al. 2007.** Zinc toxicity in humans. School of Public Health, University of Michigan, p1-7.

106. **Nriagu, J.O. 1978.** Biogeochemistry of lead in the Environment. Elsevier, Amsterdam.
107. **Nriagu, J.O. and Pacyna, T.M. 1988.** Quantitative Assessment of Worldwide Contamination of Air, Water and Soil by Trace Metals. Nature. Vol 333. p134-139. <http://www.sciencedirect.com/science>
108. **Offor, S.J., Herbert, O., Mbagwu, C., Orisakwe, E. 2017.** Dommages hépatorénaux induits par le plomb chez les rats albinos mâles et effets de Charbon activé De face. Pharmacol. 8:107. doi: 10.3389/fphar.2017.00107
109. **Oluwafemi, A.O., Basiru, O.A., Babatunji, E.O et Adebola, B.O. 2014.** Hematological properties of Irvingia gabonensis in males adult rats. *Journal of pharmaceutical and scientific innovation*, 3(5): 434-436.
110. **Ong, C.N., Lee, W.R. 1980.** Distribution of lead 203 in human peripheral blood in vitro. *Br.J.Med.* vol 37. p78-84.
111. **Onwuka, F.C., Erhabor, O., Eteng, M.U and Umoh I. B. 2010.** Ameliorative effect of cabbage extract on cadmium induced changes on hematology and biochemical parameters of albino rats. *Journal of Toxicology and Environmental Health Sciences*; 2(2):11-16
112. **Owolabi, J.O, Ogunsola, O.A, Fabiyi, O.S. 2014.** Évaluation histologique des activités d'amélioration de Moringa Oleifera sur la toxicité du plomb dans la rate de rats Wistar adultes. *Journal mondial des sciences de la vie et de la recherche médicale* ;3(2):63-6.
113. **Patra, R.C., Swarup, D., Naresh, R., Kumar, P., Nandi, D., Shekhar, P., Roy, S., Ali, S.L. 2007.** Tail hair as an indicator of environmental exposure of cows to lead and cadmium in different industrial areas. *Ecotoxicol. Environ. Saf*, vol 66, p127-131.
114. **Payen, J.F., Francony, G., Fauvage, B. 2007.** Œdème cérébral: physiopathologie et diagnostic. *La réanimation neurochirurgicale*, p43-53.
115. **Payne, J et Livesy, C. 2010.** Lead poisoning in cattle and sheep. *In Practice*, vol 32, p64-69.
116. **Perdrix, E., Lecornet, G., Delalain, P. 2002.** Speciation of lead, zinc and cadmium in ambient air dust combining selective chemical extractions and individual particle analysis by ESEM-EDS.
117. **Perrin, J.B. 2007.** Actualisation des connaissances sur les éléments biologiques et minéraux persistant dans les boues de station d'épuration. Impact sur la santé publique. Thèse de doctorat. Université Claude-Bernard-Lyon 1. 154 pages.

118. **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. 2 mars. 69p
119. **Picot, A. 2010.** Les métaux lourds : de Grands toxiques/ Le trio mercure, plomb, cadmium Association de toxicologie et chimie (ATC) Paris. CNRSFrance.
120. **Ramade, F. 1992.** *Precis of ecotoxicology*. Editions Masson; Paris (France); [ISBN 2-225-82578-5](#). 300 p.
121. **Ramesh, G., Madhuri, D., Lakshman, M., Reddy, A.G. 2018.** Histopathological changes of pancreas induced by lead and cadmium alone and combined exposure in male Wistar rats. *The Pharma Innovation Journal*, 7(9), 284-286.
122. **Rani, A., Kumar, A., Lal, A., Pant, M. 2014.** Cellular mechanisms of cadmium-induced toxicity: a review. *International journal of environmental health research*, vol 24, No 4, p378-399.
123. **Ribera, D., Taberly, J. 2011.** Mélanges de polluants, toxicité, écotoxicité et évaluation des risques. RECORD, n°08-0668/1A. 295pages.
124. **Richter, G. 1993.** Métabolisme des végétaux Physiologie et biochimie, Presses polytechniques et universitaires romandes.
125. **Roussel, C., Néel, C., Bril, H. 2000.** Minerals controlling arsenic and lead solubility in an abandoned gold mine tailings. *Science of the Total Environment*, vol 263, No 1-3, p209-219.
126. **Salvarredy-Aranguren, M.M., Probst, A., Roulet, M., et al. 2008.** Contamination of surface waters by mining wastes in the Milluni Valley (Cordillera Real, Bolivia): Mineralogical and hydrological influences. *Applied Geochemistry*, vol 23, No 5, p 1299-1324.
127. **Satarug, S., Moore, M.R. 2004.** Adverse health effects of chronic exposure to low-level cadmium in foodstuffs and cigarette smoke. *Environmental health perspectives*, vol 112, No 10, p1099-1103.
128. **Schlick, E., Friedberg, K.D. 1982.** Bone marrow cells of mice under the influence of low lead doses. *Archives of Toxicology*, 49(3), 227-236.
129. **Schroeder, H.A., Nason, A.P., Tipton, I.H., Balassa, J.J. 1967.** Essential trace metals in man: zinc. Relation to environmental cadmium. *Journal of Chronic Diseases*, vol 20 No 4. p179-210.

130. **Sebastian, J.R., Sebastian D.J., Beck, K.G. 2014.** Feray Rye Control in Colorado. Western Society of Weed Science Progress Report, Colorado Springs.
131. **Shimada, H., Funakoshi T., Waalkes M.P. 2000.** “Acute, nontoxic cadmium exposure inhibits pancreatic protease activities in the mouse,” *Toxicological Sciences*, vol. 53, no. 2, pp. 474–480.
132. **Simonsen, L.O., Harbak, H., Bennekou, L. 2012.** Cobalt metabolism and toxicology a brief update. *Science of the Total Environment*, vol 432, p. 210-215.
133. **Singh, R., Gautam, N., Mishra, A., Gupta. R. 2011.** Heavy metals and living systems: An overview. *Indian J Pharmacol* vol 43, p246–53. doi: 10.4103/0253-7613.81505.
134. **Staessen, J.A., Lauwerys, R.R., Bulpitt, W., Fagard, R., Ujnen, P et al. 1994.** Is a positive association between lead exposure and blood pressure supported by animal experiments ? *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 3: 257-263
135. **Timothy, P., Coogan, D.M., Latta, E.T., Snow, M.C., Lawrence, A. 1989.** Toxicity and Carcinogenicity of Nickel Compounds, *Critical Reviews in Toxicology*, vol 19, No 4, p341-384, DOI: [10.3109/10408448909029327](https://doi.org/10.3109/10408448909029327)
136. **Tongzhang, Z., Simin, L., Yana, B., Ning, C., Stephone, B et al. 2018.** Compréhension actuelle de la relation entre les expositions aux métaux et risque de diabète de type 2. *Coure Res Diabetes & Obes J.* 2018; 7 (2): 555710. DOI: 10.19080 / CRDOJ.2018.07.555710.
137. **Turkay, M., Türker, H., Güven, T. 2015.** Effets ultra structuraux de l'acétate de plomb sur la rate de rats *Journal turc de biologie* (2015) 39ÿ: 511-516 doi:10.3906/biy-1404-48.
138. **Uchewa, O.O., Okafor, S.O., Okoronkwo, C.A. 2018.** Toxicité Induite Par L'acétate De Plomb Sur La Rate Chez Wistar Adulte *Revue Africaine De Biologie Et De Recherche Médicale* Vol.1, No.1, Pp.26-34
139. **Ündeğer, Ü., Başaran, N., Canpmar, H., & Kansu, E. 1996.** Immune alterations in lead-exposed workers. *Toxicology*, vol 109, No (2-3), p167-172.
140. **Unterberg, A.W., Stover, J., Kress, B., Kiening, K.L. 2004.** Edema and brain trauma. *Neuroscience* 129: 1019-27
141. **Van Assche, F., Cardinaels, C., Clijsters, H. 1988.** Induction of enzyme capacity in plants as a result of heavy metal toxicity: dose-reponse relations in *Phaseolus vulgaris L* treated with zinc and cadmium. *Environ Pollut.* vol 52, No 2, p103–115.

142. **Wardani, G., Ernawati, K.E, and Sudjarwo, S.A. 2019.** The Role of Antioxidant Activity of Chitosan-Pinus merkusii Extract Nanoparticle in against Lead Acetate-Induced Toxicity in Rat Pancreas *Hindawi Veterinary Medicine International* Volume 2019, Article ID 9874601, 6 pages. <https://doi.org/10.1155/2019/9874601>
143. **Weiss, D., Shotyk, W., Kempf, O. 1999.** Archives of Atmospheric Lead Pollution. *Natur Wissenchaften Review Articles. Springer-Verlag*, vol 6, No 86, p262-275.
144. **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*, vol 65. p260–268.
145. **Yamano, T., Shimizu, M., Noda, T. 1998.** Comparative Effects of Repeated Administration of Cadmium on Kidney, Spleen, Thymus, and Bone Marrow in 2-, 4-, and 8-Month-Old Male Wistar Rats *Toxicological Sciences* 46, 393-402 (1998) Article No. TX982556.
146. **Zelikoff, J.T., Li, J.H., Hartwig, A., Wang, X.W., Costa, M., Rossman, T.G. 1988.** Genetic toxicology of lead compounds. *Carcinogenesis*. vol 9, No 10, p1727-1732
147. **Zenad, W. 2021.** l'évaluation de la contamination des denrées alimentaires d'origine animale 'bovins et ovins' par les métaux lourds 'plomb et cadmium' et l'étude de leurs impacts sur l'organisme.