

Lettre à la rédaction :
Diagnostic de l'intoxication aiguë par les
insecticides organophosphorés basé sur la
détermination de l'activité cholinestérasique

*Letter to the editor:
Acute intoxication by organophosphorous
pesticides detected by cholinesterasic
activity determination*

**Alain TURCANT^{(1)*}, Betty DEHON^{(2)*}, Catherine GANIERE-MONTEIL^{(3)*},
Sylvain DULAURENT^{(4)*}, Odile DELAROCHE⁽⁵⁾, Denis LAMIABLE^{(6)**},
Mustapha MOULSMA^{(7)**}, Didier Olichon^{(8)**}, Bernard CAPOLAGHI^{(9)**},
Corinne CHARLIER^{(10)*}**

(1) Pharmacologie-Toxicologie, CHU Angers

(2) Toxicologie, CHU Lille

(3) Pharmacologie, Hôtel-Dieu Nantes

(4) Pharmacologie-Toxicologie, CHU Limoges

(5) Biochimie, Hôpital G et R Laënnec Nantes

(6) Pharmacologie-Toxicologie, CHU Reims

(7) Biochimie, CHU Lyon Nord

(8) Pasteur Cerba, Paris

(9) Biochimie, CH Thionville

(10) Toxicologie Clinique et Médico-Légale, CHU Liège

* Groupe de Travail "Pesticides"

** Groupe de Travail "Toxicologie clinique"

(Reçu le 6 juillet 2005 ; accepté après modifications le 19 août 2005)

Introduction

L'intoxication aiguë par les pesticides organophosphorés se traduit par une inhibition de l'activité cholinestérasique avec accumulation d'acétylcholine dans la fente synaptique. Les signes cliniques d'intoxication sont ceux du syndrome cholinergique et concernent le système digestif (nausées, vomissements), le système cardiovasculaire (arythmie, bradycardie, hypotension), le système respiratoire (dyspnée avec bronchoconstriction), le système nerveux (vertiges, agitation, hyperthermie, dégénérescence wallérienne pour certains organophosphorés) et le système musculaire (rhabdomyolyse, perte de contrôle des sphincters).

Le diagnostic de l'intoxication aiguë par les insecticides organophosphorés se base sur la détermination de l'activité cholinestérasique des globules rouges ou du plasma. Bien que cette diminution d'activité ne soit pas directement liée à l'apparition des symptômes d'intoxication, l'inhibition de ces enzymes peut être considérée comme un indice de l'activité cholinestérasique des autres tissus (système nerveux central en particulier) (1). L'activité cholinestérasique du sang variant d'un individu à l'autre, et à un degré moindre, chez un même individu, d'un moment à l'autre, la réduction de l'activité cholinestérasique doit au moins atteindre 20 % de la valeur moyenne de la population en général, pour être considérée comme significative (2,3). De plus, l'établissement des normes de référence dépend de nombreux paramètres : nature du substrat et du chromophore utilisés, mode de mesure, longueur d'onde et température de travail, appareil (4,5,6). Il est donc indispensable que chaque laboratoire définisse claire-

ment ses normes de référence, dans les conditions de travail qui lui sont propres.

L'activité cholinestérasique est mesurée en quantifiant la quantité de choline produite après action de l'enzyme sur un substrat qui peut être :

- l'acétylcholine (pour les cholinestérases vraies, localisées dans les synapses neuromusculaires et les érythrocytes),
- la succinylcholine, la butyrylthiocholine, l'acétylthiocholine ou l'acétylcholine pour les pseudocholinestérases (plasma et foie).

Matériel et méthodes

Le groupe de travail « Pesticides », en collaboration avec des membres du groupe de travail « Toxicologie Clinique » de la SFTA, a procédé à des essais interlaboratoires portant sur la détermination de l'activité cholinestérasique à J0, à J+7 et à J+15, sur 5 échantillons plasmatiques et pour chacun des trois jours.

Les cinq échantillons testés étaient constitués de quatre plasmas surchargés en insecticides organophosphorés et d'un échantillon correspondant à un cas réel d'intoxication. Cette intoxication concernait une femme de 53 ans exposée au PARASECT®, mélange de deux produits organophosphorés : le diméthoate et le fénitrothion. Seuls quelques signes digestifs étaient évocateurs. Les cholinestérases globulaires étaient abaissées à 8,9 U/mL, pour une norme basse à 9,5 U/mL.

Les conditions habituelles de réalisation de l'analyse variaient d'un laboratoire à l'autre et d'une trousse commerciale à l'autre et sont résumées ci-dessous.

	Angers	Paris et Liège	Lille	Limoges	Lyon et Reims	Nantes	Thionville
Nom trousse		Roche		Randox	Dade	Beckman	Roche
Appareil	Cobas Mira	Hitachi 911	Spectro Cary 50	Cobas Mira	Dimension	Synchron CX7	Hitachi 917
Substrat	ACh	BTC	ATC	BTC	BTC	BTC	BTC
Température (°C)	37	37	25	37	37	37	37
Chromophore	4 AAP-PP	DTNB	DTNB	DTNB	DCP-IP	DTNB	DTNB
Norme basse (U/mL)	2,3	3,5	1,9	4,9	7	4,5	5,3

Substrats :

BTC = ButyrylThioCholine

ACh = AcetylCholine

ATC = AcétylThioCholine

Chromophores :

DTNB = Acide 5,5'-DiThiobis-2-NitroBenzoïque

4AAP-PP = 4-AminoAntiPyrine + Phénol + Peroxydase (7)

DCP-IP = 2-6 DiChloroPhénol-IndoPhénol

Les valeurs de référence dépendent des conditions opératoires. Les valeurs les plus fréquemment retrouvées dans la littérature sont indiquées dans le tableau ci-après :

	PLASMA	ERYTHROCYTES
Température de travail	37° C	37° C
Prélèvement	Plasma	Sang complet ou culot globulaire
Acétylcholinestérases	1,9 - 3,8 U/mL	2,8 à 5,2 U/mL ou 24 à 36 U/g Hb
Pseudocholinestérases	Enfants	} 3,5 - 8,5 U/mL
	Hommes	
	Femmes > 40 ans	
	Femmes < 40 ans	- non enceintes ou sans contraceptifs } 2,8 - 7,4 U/mL
		- enceintes ou sous contraceptifs } 2,4 - 6,0 U/mL

Résultats

Le tableau suivant résume les résultats obtenus sur les 5 échantillons :

Nature de l'échantillon	Activité plasmatique cholinestérasique JO (%)*									
	Angers	Paris	Liège	Lille	Limoges	Lyon	Nantes	Reims	Thionville	
Plasma surchargé en Dichlorvos (0,14 mg/L)	70	65	71	64	68	67	65	63	64	
Plasma surchargé en Mévinphos (0,14 mg/L)	66	70	69	60	66	67	62	61	66	
Plasma surchargé en Mévinphos (0,2 mg/L)	44	47	53	37	45	47	39	36	42	
Plasma surchargé en Chlorfenvinphos (0,2 mg/L)	5	1	1	4	13	5	4	5	1	
Cas réel d'intoxication	48	42	54	41	58	69	52	61	43	

* Les activités cholinestérasiques sont comparées entre les différents sites en calculant :

- pour chaque échantillon surchargé, le pourcentage d'activité par rapport au chiffre obtenu pour le plasma témoin avant surcharge,
- pour le cas réel, le pourcentage d'activité par rapport à la norme basse des valeurs de référence utilisées par chaque laboratoire.

Par ailleurs, les échantillons ont été conservés à 4°C et testés deux autres fois, à J+7 et J+15. Aucune variation de plus de 10 % du pourcentage d'inhibition de l'activité cholinestérasique n'a pu être mise en évidence entre l'activité mesurée à J0, J+7 et J+15.

Conclusions

1. Les résultats de l'ensemble des laboratoires participant montrent une assez bonne homogénéité des activités mesurées pour chaque plasma surchargé ainsi que

pour le cas réel.

2. Les résultats à J+15 sont également très voisins de ceux obtenus à J0. L'activité cholinestérasique est donc stable au moins 15 jours si l'échantillon est conservé à 4° C.

3. La comparaison des pourcentages d'activité cholinestérasique par rapport à un témoin permet de comparer la baisse d'activité notée par chaque laboratoire, indépendamment des normes de référence.

4. En marge de cette étude, nous avons pu également montrer qu'il était nécessaire pour chaque laboratoire, d'établir ses normes de référence dans ses propres conditions de travail. En effet, des normes basses mal estimées, ne permettraient pas de détecter un abaissement mineur des activités cholinestérasiques comme il est possible d'en voir lors de faibles expositions.

Références

1. Kwong T.C. Organophosphate pesticides : biochemistry and clinical toxicology. *Ther. Drug Monit.* 2002 ; 24 : 144-9.
2. Petroianu G.A., Missler A., Zuleger K., Thyges C., Ewald V., Maleck W.H. Enzyme reactivator treatment in organophosphate exposure : clinical relevances of thiocholinesterase activity of pralidoxine. *J. Appl. Toxicol.* 2004 ; 24 : 429-35.
3. Nigg H.N., Knaak J.B. Blood cholinesterases as human biomarkers of organophosphorus pesticide exposure. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 2000 ; 163 : 29-111.
4. Rotenberg M., Shefi M., Dany S., Dore J., Tirosh M., Almog S. Differentiation between organophosphate and carbamate poisoning. *Clin. Chim. Acta* 1995 ; 234 : 11-21.
5. Weber H. Quick and simple ultramicromethod for the determination of serum cholinesterase. *Dtsch. Med. Wochenschr.* 1996 ; 91 : 1927-32.
6. Lopez-Carillo L., Lopez-Cervantes M. Effect of exposure to organophosphate pesticides on serum cholinesterase levels. *Arch. Environ. Health* 1999 ; 48 : 359-63.
7. Lainé-Cessac P., Turcant A., Allain P. Automated determination of cholinesterase activity in plasma and erythrocytes by flow-injection analysis, and application to identify subjects sensitive to succinylcholine. *Clin. Chem.* 1989 ; 35 : 77-80.