

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

Centre Universitaire - JIJEL

Institut des Sciences de la nature

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

المركز الجامعي - جيجل

معهد علوم الطبيعة

Mémoire

03/03.

En vue de l'obtention du
Diplôme des Etudes Supérieures (D.E.S.)
en **BIOLOGIE**
MOLECULAIRE ET CELLULAIRE

Option
Biochimie

- *Thème* -

**LA SURVEILLANCE BIOLOGIQUE DE L'EXPOSITION
AU BENZENE CHEZ UN GROUPE DE POMPISTES
A L'AIDE DE DEUX MARQUEURS BIOLOGIQUES
(PHENOLS, ACIDE TRANS, TRANS-MUCONIQUE)**

Devant le jury :

Mr. LAHOUEL Mesbah

Mr. CHEMCHAM Abdennour

Mr. LEGHOUCHI Saïd

Président

Rapporteur

Examineur

Présenté par :

• BENZAÏD Ahlem

• BOUZENIA Samia

• REMITA Nouara

Année Universitaire : 2000 - 2001

Remerciements

Nous tenons à remercier notre promoteur Dr CHEMCHEN Abdennour qui nous a fait le bon honneur de nous confier ce travail, qui nous a toujours accueillis avec bienveillance, qui n'a ménagé ni son temps ni son effort pour nous guider et aussi à Mr. LAHOUEL Mesbah.

- Nous remercions les membres du jury qui ont accepté de juger notre travail.
- Nous exprimons notre profonde reconnaissance à tous les enseignants qui ont contribué à notre formation.
- Nous remercions également les responsables du laboratoire d'hygiène de la wilaya de JIJEL, les travailleurs des stations pompes à essence Est et Ouest et personnels de la médecine de travail : Bilal et Samia.

Sommaire :

I- Introduction	1
II- Partie théorique	
II-1 propriétés physico-chimique du benzine.....	2
II-2 Extraction du benzène.....	4
II-3 utilisation du benzène.....	5
II-4 métabolisme du benzène.....	7
1-Voie de pénétration.....	7
2-transformation.....	9
3- conjugaison.....	12
4- élimination.....	12
II-5 Mécanisme d'action du benzène.....	13
II-6 Intoxication au benzène.....	14
II-6-1 Signes clinique.....	14
A) intoxication aiguë.....	14
B) intoxication chronique.....	14
II-6-2 Signes biologiques.....	15
Hématologique.....	15
II-7 prévention et traitement.....	17
II-7-1 prévention.....	17
II-7-2 traitement.....	21
III- partie pratique	
III-1- Revue bibliographique.....	23
III-2- problématique.....	24
III-3- objectif.....	25
III-4- matériels et méthodes d'étude.....	25
A) Méthode d'étude.....	25

B) Matériels d'études	25
III-5- Résultat.....	29
IV- commentaire – Discussion.....	32
V- conclusion.....	33
VI- suggestion.....	34
Bibliographie	

Introduction

I – Introduction :

Certaines substances sont capables de causer des maladies professionnelles, ces dernières sont la conséquence de l'exposition plus ou moins prolongée qui a un risque dans l'exercice habituel d'une profession. Ces substances peuvent pénétrer dans l'organisme, soit par inhalation ou par contact cutané ou par ingestion [14].

Le benzène est l'une de ces substances, c'est un hydrocarbure aromatique monocyclique, présenté sous forme liquide ayant de multiples usages (solvant, colles, peinture ou vernis ...).

L'exposition au benzène provoque le benzolisme, qui est une maladie professionnelle très grave [2].

Selon la dose et la durée d'exposition, le benzène provoque une intoxication aiguë ou chronique [10].

La transformation du benzène aboutit à la formation des différents métabolites, l'acide trans,trans- muconique et les phénols sont les indicateurs biologiques les plus importants pour la surveillance biologique d'exposition au benzène mais les phénols possèdent un degré de sensibilité moins que l'acide trans,trans- muconique [12].

Partie Théorique

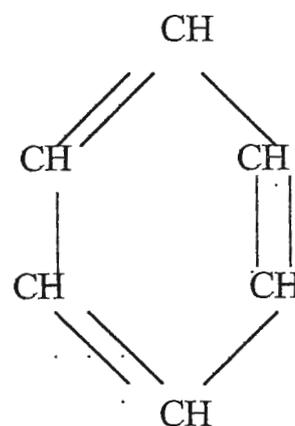
II-1. Propriétés physico-chimiques du Benzène :

Les hydrocarbures benzéniques font partie du groupe des hydrocarbures aromatiques, le benzène est le premier et le plus simple de ce groupe, isolé en 1825 par Faraday, à partir des produits de distillation de l'houille, ses propriétés du solvant de la sève de l'hévéa furent à l'origine du développement de son utilisation dans l'industrie du caoutchouc de la chaussure, des pneumatiques et dans l'extraction des graisses [8] .

Le benzène est caractérisé par son odeur aromatique agréable, perceptible à l'odorat à des concentrations de l'ordre de 12 parties par million(ppm), il est peu soluble dans l'eau, mais il est plus miscible à l'alcool, au chloroforme, à l'acétone et à la plus part des solvants organiques et aux huiles végétales ou animales [13].

En outre, c'est un excellent solvant des graisses, cires, résines, etc.

sa formule brute C_6H_6 , la formule développée :



Dont la masse molaire est 78,1.

Le benzène est un liquide incolore de densité 0.88 à température ambiante, avec une tension de vapeur à 20°C est de 74,6 mmhg.

Son point de solidification est $5,5^{\circ}\text{C}$, il est volatil (point d'ébullition 80°C) et dégage des la température ordinaire des vapeurs plus lourdes que l'air (densité = 2,77). Elles sont inflammables et forment avec celui-ci (en présence d'oxygène)un mélange explosif à des concentrations peu élevées (2 à 6 %) [13].

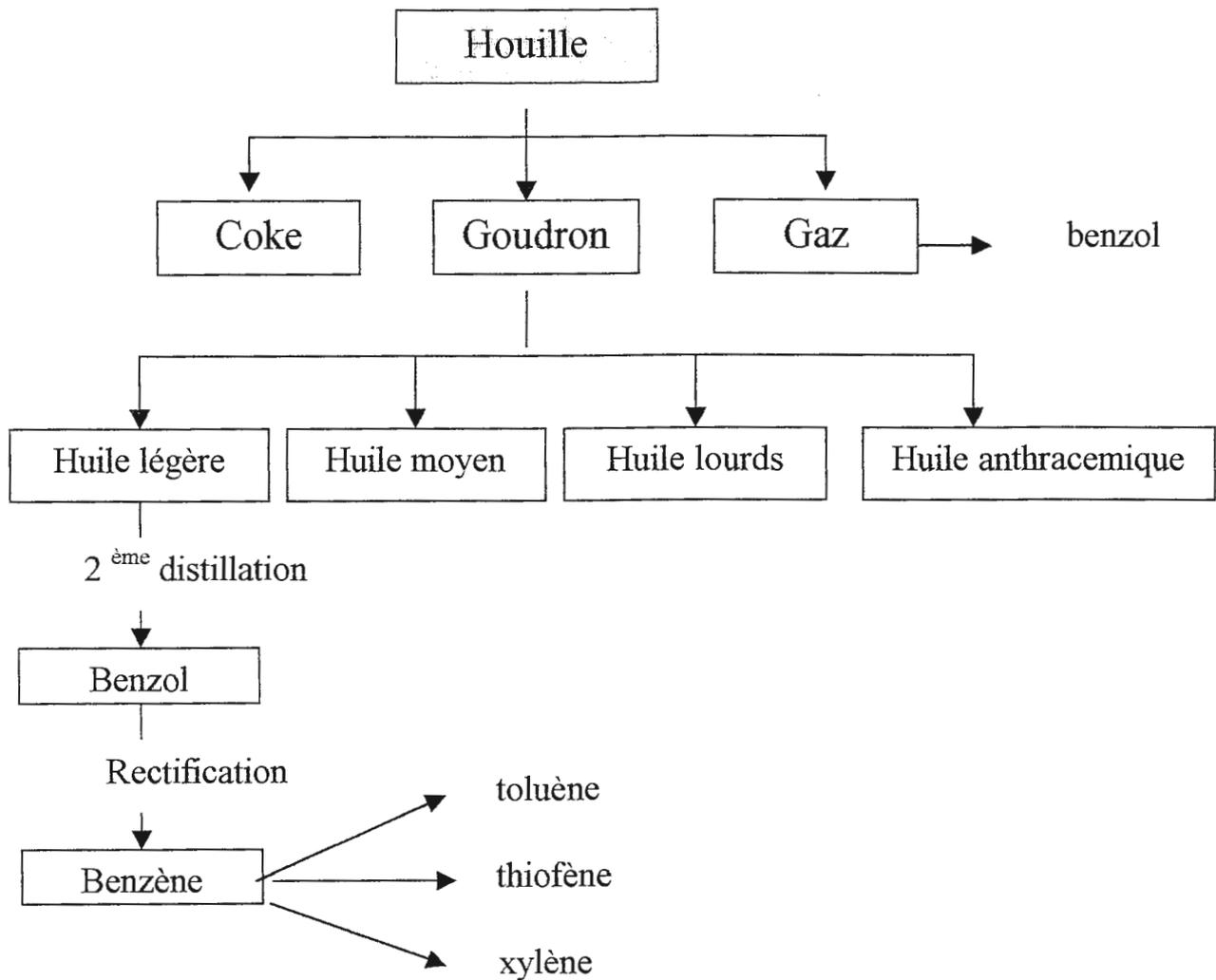
A température ordinaire, le benzène est un produit stable, cependant à 700°C , il subit une condensation avec élimination d'hydrogène, les produits oxydants réagissent assez facilement avec le benzène, les réactions qui en résultent peuvent être dangereuses [13].

II – 2. Extraction du benzène :

Le benzène est obtenu par distillation de la houille et du pétrole dans les raffineries, la distillation fournit des produits différents d'où le benzène est extrait :

- Des gaz qui contiennent 2 % du benzène environ.
- Des goudrons, mélanges complexe contenant 0,2 % du benzène.
- Du coke.

Comme le montre le schéma suivant : [11]



II – 3. L'utilisation du benzène :

- Comme solvant : la teneur en benzène des solvants est strictement réglementé. Il fut dans le passé très utilisé comme solvant dans les entreprises suivantes :
 - L'industrie du caoutchouc et des vêtements imperméables .
 - L'industrie de la chaussure (colles) .
 - Le benzène est utilisé comme un solvant des graisses animales et végétales, permet l'extraction des graisses d'os (savonneries) et comme solvant de peinture, de vernis, de résine et des laques des pigments colorés .
 - L'industrie de nettoyage à sec, dégraissage des pièces métalliques .
 - L'industrie mécanique et automobile [8] .
- Dans les laboratoires d'analyse et de recherche : ils utilisent encore du benzène pour des nombreuses techniques chimiques : chromatographie, extractions, purification, laboratoire médicaux d'histologie (préparation des coupes) et le nettoyage de matériel en verre.
- Dans l'industrie chimique : Le benzène est utilisé comme matière première dans de très nombreuses fabrications tel que : la fabrication du phénol, du Nylon, des dérivés chlorés.
 - Permettant aussi la synthèse d'insecticides, des colorants et des produits pharmaceutiques.
 - L'industrie du parfum utilise toujours du benzène comme solvant d'extraction à froid ou à chaud , d'essences naturelles (à partir des fleurs, mousses, résine) [8].
- Comme carburant et gaz d'échappement d'automobiles la teneur en benzène est réglementairement inférieure à 5 % en volume, il est produit par

combustion dans les moteurs, et également présent dans les gaz d'échappement.

Certaines professions et activités sont concernées :

- Les Personnes travaillent en dépôts de carburants .
- Citernistes : Les opérations de chargement des camions-citernes, au dépôt ou à la raffinerie, sont plus polluantes que les opérations en circuit fermé .
- Pompistes, dont l'exposition est variable selon les saisons .
- Mécaniciens pour véhicules à essence, deux roues ;
l'exposition peut être significative lors d'interventions de réglage, nettoyage, démontage ou changement sur le circuit du carburant et le lavage des mains ou le dégraissage des pièces à essence.
- Bricoleurs utilisant de l'essence pour se nettoyer les mains ou dégraisser des pièces [8].

II – 4. Métabolisme du benzène :

1. Voies du pénétration :

Le benzène pénètre dans l'organisme par plusieurs voies (figure 01) :

- a) Voie pulmonaire : c'est la principale voie de pénétration dans l'organisme à cause de la propriété volatile du benzène, il pénètre dans le corps à travers la barrière alvéolaire, lors de l'inhalation de vapeurs qui dépend de la ventilation pulmonaire et la volatilité du benzène.

Cette pénétration est amplifiée lorsque le benzène est chauffé ou pulvérisé .

- b) Voie cutanée : Il est considéré chaque fois qu'il y a contact direct de la peau avec le benzène par trempage et lavage des mains et des vêtements [11].

L'absorption cutanée pendant quelques minutes est égale à l'absorption par voie respiratoire note après 8 heures de travail.

Les polonais Dutkiewienz et Tyras en 1968 ont utilisé le toluène (moins dangereux que le benzène et un de ces homologues) chez l'homme, ils ont constaté une absorption importante entre 14 et 23 mg/cm² de surface cutanée / heure [5].

La pénétration cutanée est en effet très largement proportionnelle au degré de liposolubilité de la molécule du benzène [5].

- c) L'absorption par la bouche est souvent accidentelle [5] .



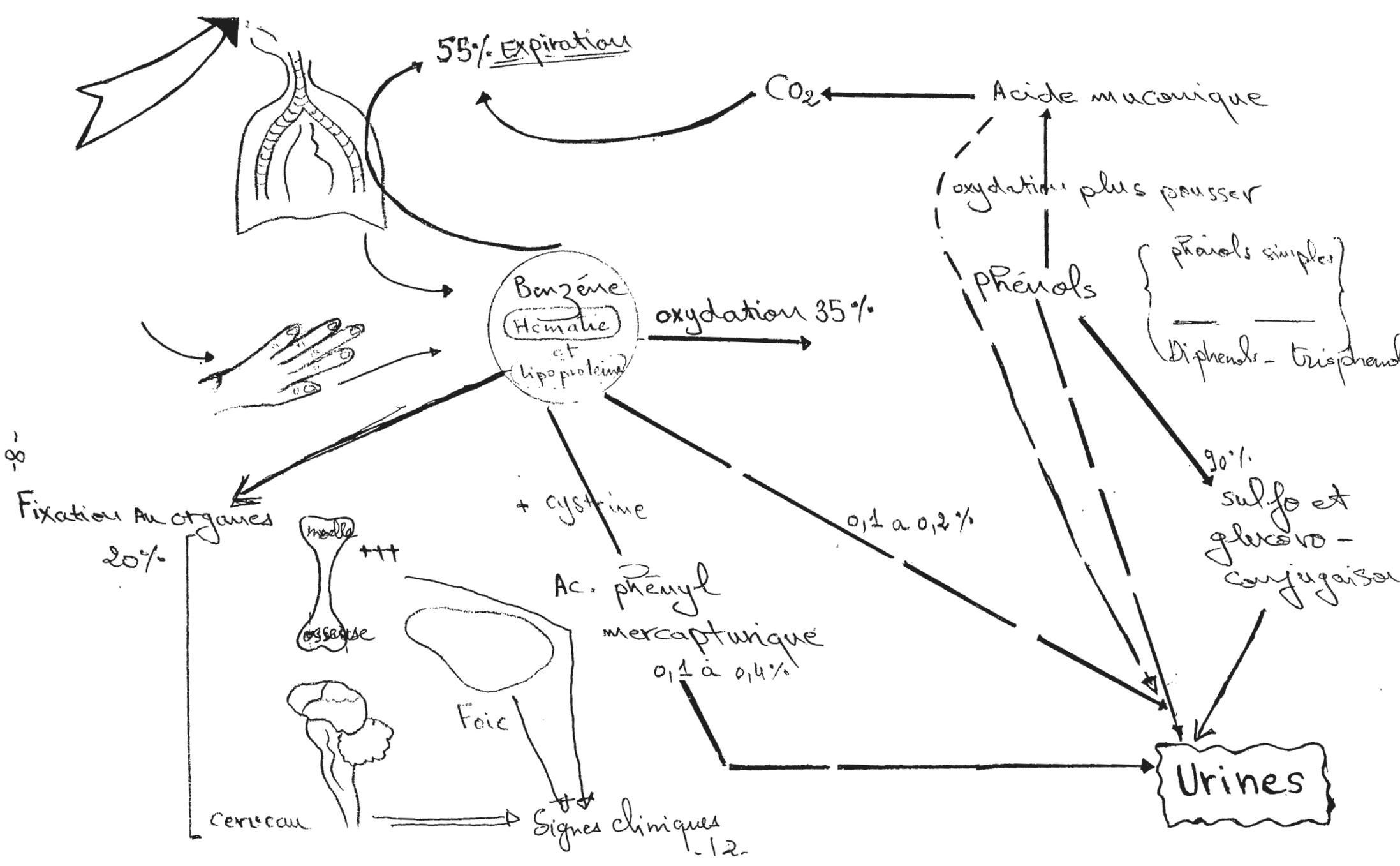


Figure 1: Métabolisme du Benzène

2. Transformation :

Après pénétration, 30 – 60 % environ du benzène passent dans la circulation systémique, tandis que 10 – 50 % éliminés dans l'air expiré et moins de 1 % dans les urines sous forme inchangée [9].

Environ 80 % du benzène absorbé est métabolisé au niveau hépatique et médullaire où les processus les plus importants sont des réactions d'oxydation, selon deux voies concurrentes :

- a) une voie indirecte : Concerne la majeure partie du benzène et conduit à la formation d'un benzène époxyde qui représente l'agent responsable de la myélotoxicité, cette réaction est catalysée par le système mono-oxygénase à cytochrome p450 située au niveau du réticulum endoplasmique lisse.
- b) Une voie directe conduit directement au phénol, qui est facilement éliminé par les reins [9].

Le benzène époxyde obtenu par la voie indirecte est métabolisé selon trois (03) voies (figure 02) :

- La première voie le transforme en phénol. Elle fournit quantitativement les principaux métabolites urinaires, il s'agit d'un réarrangement non enzymatique, le phénol est éliminé dans les urines après sulfo ou glucuroconjugaison, il peut aussi être transformé soit en catéchol, lui-même transformé en 1,2,4 - benzènotriol ou en 1,2- benzoquinone, par une tyrosinase, soit hydroxylé en hydroquinone, puis par réarrangement non enzymatique en 1,4 -benzoquinone, soit enfin les phénols se transforment en bi phénols, par des peroxydase au niveau de la moelle osseuse.
- La deuxième voie : transforme le benzène-époxyde, sous l'action d'une époxyde-hydrase, en benzène dihydrodiol. Celui ci est rapidement réduit, sous l'action d'une déshydrogénase cytosolique en catéchol ou par ouverture du cycle en trans,trans-muconique (t,t-MA) qui est éliminé dans les urines avec une demi-vie de l'ordre de 6 heures, son pourcentage relatif dans les urines croît avec les concentrations atmosphériques.

- La troisième voie : conjugue le benzène époxyde au glutathion sous l'action d'une glutathion s-époxy transférase en acide prémercapturique, qui est transformé en acide s-phénylmercapturique (S-PMA) en milieu acide. Ce dernier est éliminé dans les urines avec une demi-vie de l'ordre de 9 heures [9].

Sur le plan quantitatif, les principaux métabolites urinaires sont les phénols totaux (30 à 80 %), essentiellement sulfoconjugués, l'hydroquinone (10%) le trans-trans-muconique (2 %), le catéchol (1,5 %), l'acide s-phénylmercapturique (moins de 1 %), certains de ces métabolites peuvent être utilisés comme indice biologique d'exposition [8].

3. Conjugaison :

Certains métabolites du benzène subissent une conjugaison au niveau du foie, avec le sulfate ou l'acide glucuronique. C'est une voie de détoxification des métabolites par blocage d'un groupe hydroxyl.

Une sulfoconjugaison, pour le phénol simple, une sulfo et glucorono conjugaison pour di et tri phénol. Cette conjugaison peut être réduite en cas d'insuffisance hépatique et d'une carence alimentaire [11].

2. L'élimination :

Les substances toxiques s'éliminent par différentes voies, essentiellement par les reins et à moindre degré par voie pulmonaire, sous forme conjuguée ou libre [3]

une partie importante du benzène introduit dans l'organisme franchit à nouveau en sens inverse, la barrière alvéolaire pour être rejetée avec l'air expiré. La quantité ainsi éliminée varie entre 10 – 50 %, en fonction de la concentration sanguine et de rapidité d'absorption [3].

Dans le cas d'une exposition relativement modérée et lente, l'élimination peut être de l'ordre de 20 à 30 %. Elle se poursuit au moins 24 heures après l'arrêt de l'exposition [1].

Une petite quantité de benzène passe dans les urines, sans être métabolisée (moins de 1%). Les urines contiennent essentiellement des phénols dont plus de 90% se trouvent sous forme sulfoconjuguée [1].

Chez des hommes volontaires soumis à des expositions répétées de quantités faibles de benzène, la moitié (45 à 77 %) est retrouvée dans l'air expiré : on retrouve dans les urines 28,8 % de phénol, 2,9 % de pyrocatechol, 1,1% d'hydroquinol, et 0,2 % de benzène libre [1].

II – 5. Mécanisme d'action du benzène :

L'intoxication au benzène est dominée par l'atteinte des tissus hématopoïétique, cette toxicité est une caractéristique du benzène lui-même ou plus exactement des produits de son métabolisme dans l'organisme représenté sous forme des phénols, polyphénols et plus particulier des pyrocatechols et l'hydroquinols, qui sont des poisons mitotiques agissent sur les cellules à reproduction rapide en particulier sur la moelle osseuse. Cette action toxique sur le centre hématopoïèse fait évoquer de plus en plus un phénomène de blocage enzymatique nécessaire à certaines mitoses des cellules souches [5].

Le benzène non transformé sensibilisé la moelle osseuse à l'action antimitotique des phénols comme il peut être d'une action indirect sur le réserve soufré, dont le soufre est l'agent essentiel de la détoxification et la sulfoconjugaison des phénols (produit d'oxydation du benzols) et surtout en aminoacide soufrée (glutathion) qui cause, d'une part une perturbation de l'oxygénation tissulaire car le soufre intervient dans le métabolisme de la vitamine C, B2, B12 nécessaire à l'hématopoïèse, il est un constituant essentiel des fermes respiratoires deshydrogénase oxydase intervenants dans le transport de l'oxygène de l'hémoglobine vers les cellules et d'autre part la neutralisation des produits d'oxydation du benzène sera imparfaite [11].

II – 6. Intoxication au benzène :

Le benzène présente des propriétés toxiques communes à de nombreuses composés organiques volatiles, en particulier par les effets provoqués par des fortes concentrations ou par des doses faibles et répétées [3].

II – 6 – 1. Signes cliniques :

A) Intoxication aiguë :

Comme tous les solvants organiques, la toxicité à forte dose est très dangereuse. L'ingestion provoque des troubles digestifs représenté par des douleurs abdominales, nausées et vomissement, des troubles neurologiques caractérisés par un état ébriéux, vertige, troubles vasomoteurs des extrémités, par fois des convulsions, à des hautes doses une somnolence peut aller jusqu'au coma, qui peut être mortel associé à un collapsus cardio vasculaire anoxique une pneumopathie d'inhalation due à l'inondation des voies respiratoires par le produit est aggravée par les vomissements éventuels [7].

Lors d'une exposition cutanée le benzène est irritant, son projection oculaire entraîne une sensation modérée de brûleur mais seulement des lésions peut importantes et transitoires les cellules épithéliales [5].

B) Intoxication chronique :

L'intoxication chronique se manifeste à long terme, elle représente la toxicité du benzène inhalé par petite dose à long temps répété qui ne provoque pas des troubles immédiate, dont le temps de latence entre l'exposition au benzène et l'apparitions du premier symptôme est variable (plusieurs mois à plusieurs années), cette exposition entraîne des altérations sur la mémoire et certaine capacités psychique, des troubles digestifs et d'effet irritant sur la peau et la muqueuse (oculaire et respiratoire en particulier) [5].

Le benzène se distingue par sa grande toxicité pour les cellules sanguines et les organes qui les produisent (moelle osseuse). Ceci se manifeste par une réduction des globules rouges, blanc et /ou des plaquettes. L'importance de ces manifestations est en fonction des doses de benzène aux quelles le sujet est exposé, de la simple anémie à l'atteinte des trois lignes cellulaires (anémie sévères, leucopénie, thrombopénie) [4].

En fin le benzène est responsable de cancer du sang (leucémies) dont l'exposition durant des dizaines d'années [4] .

II – 6 – 2. Signes biologiques :

◆ Signes hématologiques :

Divers modifications biologiques ont étai signalées comme indice précoce de l'hémo-toxicité du benzène [6].

Au début, une phase latente caractérisée par les altérations sanguines concernent les trois lignes :

- Les altérations des leucocytes, les plus fréquentes et les plus précoces, représentés par une légère leucopénie (4000 ou 5000 leucocytes/mm³), des anomalies morphologiques , notamment une diminution du pouvoir phagocytaire (Kzolova et Volkoua), avec neutropénie (35 à 45 % polynucléaire).
- Les altérations des hématies, leurs nombre est diminué, conduit à une anémie modérée hypoplasique (hématies à 3000.000 ou 3500.000/mm³).
- Les altérations des plaquettes, représenter par une thrombopénie inférieure à 100.000/ml, qui entraîne une modification de la fonction thromboglutinique des plaquettes, ce qui provoque des hémorragies.

Ces altérations sanguines peuvent être isolées ou associées [6].

Aussi une réduction des immunoglobulines type g (IGg) peuvent être signalées [6].

Par suite, un stade plus avancé c'est celle de l'hémopathie benzolique : le sujet est atteint d'une panmyélophthisie de la moelle osseuse caractérisée par une hypocellularité avec prédominance des lymphocytes, et le tissu graisseux remplaçant le tissu hématopoïétique. La lésion des cellules souches conduit à une atteinte plus grave et simultanée des trois lignes médullaires ; correspond à une anémie intense (au-dessous de 1000.000 hématies/mm³) une leucopénie (au-dessous de 2000/mm³) s'accompagne de neutropénie (moins de 30 ou 20 %).

La gravité de cet état conduit à la mortalité (entre 10 et 15 %) en 6 à 18 mois marquée par des complications infectieuses ou hémorragiques. En général, le risque d'aplasie est très élevé lorsque l'exposition dépasse 40 à 50 ppm [4].

L'évolution peut apparaître après un très long délai (dizaine d'années) vers des hémopathies malignes telles que leucémie aiguë caractérisée par une augmentation rapide et considérable du nombre de globules blancs. Et selon Golhstein, certaines études suggèrent la présence d'autres leucémies, une leucémie myéloïde chronique et lymphoïde [6].

II – 7. Prévention et traitement :

II – 7 – 1. Prévention :

Le but de la prévention est de sauvegarder la santé et de mettre en évidence les perturbations fonctionnelles avant qu'elle ne soit profonde. Ce but est satisfait par la participation et à l'aide de réglementation internationale de la santé et tout les associations, sous la promotion du médecine de travail par l'éducation sanitaire de travailleurs et leurs comportement vers l'environnement [1].

Cette prévention peut se réalisée par des moyens techniques et médicaux :

1. **Prévention technique** : Elle comporte des mesures collectives et individuelles.

a) Mesures collectives : Consistes le remplacement du benzène par un solvant moins toxique (Toluène, xylène) et le supprimer de tous les usages où son emploi n'est pas indispensable (nettoyage dans métallurgie, dégraissage des vêtements, peinture, vernis ... etc.) [7].

Quand l'emploi du benzène est impératif (synthèse chimique, transport, ...) il est nécessaire d'employer des techniques empêchant toutes les évaporations et que les appareils sont rigoureusement clos en marche normale .

En plus, une ventilation et une aspiration des locaux pour s'assurer de l'élimination rapide des vapeurs toxiques [7].

Aussi, il est indispensable d'aménagement spécial des postes très exposés.

En fin, une surveillance et un dosage régulier des concentrations du benzène dans l'air des lieux de travail de façon à s'assurer qu'on ne dépasse pas la concentration maximale admissible pour l'homme : 25 ppm = 80 mg/m³ (selon USA) [3].

Le benzène est soumis à la réglementation de l'étiquetage fixé par la législation donnant la liste et les conditions d'étiquetage et d'emballage des substances dangereuses. L'étiquetage contenant : le pictogramme symbolisant un produit inflammable (une flamme) et toxique (tête de mort et tibias croisés) avec une couleur différente selon la quantité d'hydrocarbure benzénique existe dans un produit (rouge orangé, vert, jaune) [11].

b) Mesures individuelles : Concerne l'éducation des travailleurs et l'explication de la gravité du risque à cause de la volatilité du benzène, de son odeur agréable et de sa toxicité à faible dose, et de mettre en évidence, qu'il est interdit de manger, boire ou de fumer dans les lieux de travail, aussi d'employer des dissolvants ou diluant renfermant plus d'1 % de benzène, surtout il est dangereux de nettoyer les mains avec des benzols ou avec toutes autres dissolvants contenant des hydrocarbures benzéniques [6]. Pendant le travail, il faut utiliser des masques, en général avec cartouche.

A la fin de travail, il est nécessaire de changer les vêtements imperméables au solvant, et de procéder à une toilette minutieuse (savon + eau chaude) [6].

2. **Prévention médicale** : Elle comprend des examens d'embauche et des examens périodiques :

a) Examen d'embauche : Un ouvrier ou un employé ne doit être admis ni occupé d'une façon habituelle dans les locaux où s'effectuent ces travaux sans une attestation délivrée par le médecin et même que le travailleur ne présente aucune inaptitude aux travaux exposant à l'intoxication benzolique [10].

Cette attestation est basée sur :

- Examen clinique : sphère digestive et hépatique.
- Examen biologique : FNS (Formule Normale Sanguine) hématies, leucocytes plaquette, formule des éléments blancs.

Aussi CCMH (Concentration Corporelle Moyenne des Hématies), TS (Temps de Saignement), signe de lacet (fragilité lors de l'examen d'embauchage) .

Il y a lieu de considérer comme inapte aux travaux susceptibles de provoquer l'intoxication benzolique :

- Les adolescents moins de 18 ans .
- Femme enceinte ou nourrice .
- Les sujets ayant antérieurement été atteints d'hémopathie (anémie, hémophilie, syndrome hémolytique) .
- Les sujets présentant des anomalies notables du sang tel que :
 - Nombre de globules rouges inférieure à 4000.000 /mm³.
 - Nombre de globules blancs inférieure à 5000/mm³.
 - Pourcentage des polynucléaires neutrophiles inférieures à 50 %.
 - Temps de saignement supérieure à 6 minutes .
 - Signe de lacet franchement positif .
 - Les sujets aux mauvais états de nutrition ayant récemment souffert de carence alimentaire sévère [6] .

b) Examens périodiques : Ont pour but de s'assurer que les sujets restent aptes à leurs emplois, et qu'ils n'ont pas d'anomalies sanguines, ils doivent être obligatoires un et deux mois après la visite d'embauche. Ce type d'examen basé sur :

- La recherche des troubles du caractère et du comportement, troubles digestifs, cutanés et hémorragiques.
- Examen biologique : S'il y a des altérations, le sujet est présenté avec une aptitude temporaire ou définitive.
- Il est nécessaire de procéder par des examens complémentaires pour avoir l'exposition réelle :
 - Benzène atmosphérique .
 - Benzène expiré .
 - Phénols urinaires.

- S'il constate une aggravation du risque, il faut faire un test d'activité plaquettaire, et de certains enzyme (phosphatase alcaline, leucocytaire).

Résistance osmotique leucocytaire .

Thromboélastogramme .

- Il est important de faire des examen thoracique par les rayons X (myclotoxicité).
- En raison de l'effet cumulatif, il faut continuer la surveillance pendant au moins deux ans après le retrait du travailleur exposé.

A l'issus de ces examens les sujets examiné seront classés en trois catégories :

1. Seront considérer comme apte les sujets chez lesquels :

- a) L'examen clinique complet ne décède aucun signe d'intoxication benzolique ni aucune altération organique sérieuse.
- b) L'examen hématologique montre un nombre de globules rouges au moins égale à $4000.000 /\text{mm}^3$, un nombre de globules blancs au moins égal à $5000 /\text{mm}^3$, un taux polynucléaires neutrophiles au moins égal à 50 % et l'absence d'éléments anormaux dans le sang.
- c) Le signe de lacet est négatif et le temps de saignement est inférieure à 6 minutes.

2. Seront considérés comme inaptes :

- a) Les sujets présentants des signes cliniques du benzolisme (céphalée, vertige, nausée, vomissement, ... etc.).
- b) Les sujets chez lesquelles sont constatés les désordres sanguins suivants isolés ou associés :
 - Nombre de globules rouges égal ou inférieure à $3500/\text{mm}^3$.
 - Taux de polynucléaire neutrophile égal ou inférieur à 35 % .
 - Temps de saignement supérieur à 10 minutes [1].

3. Seront maintenus en observation tout en continuant leur travail : Sous réserve d'un nouveau examen clinique et hématologique pratiqué deux mois et éventuellement répété :

- a) Les sujets âgés moins de 18 ans embauchés sur autorisation du médecin.
- b) Des sujets présentant une altération modérée à de l'état général (maigrissement, asthémie, ... etc.) paraissant indépendante d'une intoxication benzolique.
- c) Les sujets présentant les désordres sanguins modérés résultant isolés ou associés.
 - Nombre de globules rouges compris entre 3500.000/mm³ .
 - Nombre de globules blancs compris entre 3500 et 5000/mm³ .
 - Pourcentage de polynucléaire neutrophile compris entre 35% et 50 % .
 - Temps de saignement compris entre 6 et 10 minutes [1].

Les sujets maintenus en observation doivent être l'objet d'une surveillance stricte. La fréquence des examens devra être augmentée si les signes cliniques ou sanguins requièrent . Si ces signes s'accroissent, même si les signes restent dans les limites ci-dessus les sujets seront considérés comme inapte [6].

II – 7 – 2. Traitement :

Le traitement des intoxications professionnelles diffère selon leurs natures aiguë ou chronique, mais de façon générale le traitement est essentiellement symptomatique adapté à l'état de chaque ouvrier malade.

1. Intoxication aiguë : Représenté par un traitement d'urgence nécessite :

- Le retrait du sujet au risque .
- Respiration assistée ou oxygénothérapie .
- Analeptiques respiratoire (camphre, caféine) .
- Extraite cortico- surrénal en intra-musculaire (IM) ou intraveineuse (IV) à faible débit.

2. Intoxication chronique : Elle est peut accessible au traitement :

- Il faut soustraire le sujet à l'exposition toxique et le mettre en repos .
- L'utilisation des médicaments contient le fer, et des vitamines tel que : vitamine B4 (adénine), B6 (pyridoxine), B12 (cyanocobalamine), vitamine C qui agit en favorisant la coagulation.
- En cas d'aplasie médullaire impose :
 - Une transfusion sanguine répétée de sang frais .
 - CORTICOIDE (CTC) .
 - Utilisation des antibiotiques (pénicilline) lors d'une infection (Infection buccal par exemple).
- En cas d'une leucémie benzénique : Elle est sensible au médication usuelle des leucémies[1] .

Partie Pratique

III – 1. Revue bibliographique :

Le benzène entre dans la composition des carburants, l'essence sans plomb contient en générale entre 1 et 5 % du benzène, dont la toxicité hématologique est bien connue [7].

Ceci conduit à plusieurs études et enquêtes qui ont été faite à propos de dosage des indices biologiques (acide trans, trans muconique, phénols, ...etc.) pour la surveillance biologique des travailleurs exposés au benzène.

Parmi ces études, une enquête (sur les mécaniciens et les citernistes) dont le but été d'identifier les facteurs professionnelle sources d'exposition au benzène et de déduire les mesures de prévention nécessaires a été réalisé en avril 1995, par des médecins de travail du sud-est de la France, par le biais de questionnaire accompagné de prélèvement d'atmosphère et de dosage urinaires d'acide trans,trans muconique (t,t-MA). Ce travail a été publié en 1998 dans la revue internationale archive of occupational and environmental health, 1998, 71, pp 277-283 [12].

Ils ont conclu que l'acide t,t-MA est un marqueur biologique d'exposition sensible, utile lors d'exposition à des concentrations atmosphériques inférieure a 1 ppm ainsi que lors d'exposition par voie cutanée et que les citernistes peuvent surtout exposer au risque d'inhalation du benzène alors que les mécaniciens sont surtout exposés au risque du passage percutané du benzène [12].

En outre, il y a d'autres études concernent ce sujet, comme l'évaluation par le dosage de l'acide muconique urinaire de l'imprégnation par le benzène, chez les mécaniciens en réparation automobile est motoculture réalisé par Vallée P. Aussi l'étude réalisée par Meriota sur « évaluation de l'exposition au benzène de 100 mécaniciens du Finistère » et l'étude « évaluation de l'exposition au benzène chez 40 et un citerniste

par le dosage de l'acide trans,trans-muconique dans les usines » faits par CRETTE A [12].

III – 2. Problématique :

La surveillance biologique de l'exposition au benzène est basée sur le dosage des marqueurs biologiques dont le marqueur « traditionnel » est représenté par le dosage urinaire des phénols totaux mesurés immédiatement après la fin du poste, le dosage a cependant perdu son intérêt au fur et à mesure de la diminution des concentration atmosphérique en benzène la corrélation entre phénols urinaire et deviennent mauvaise par des concentrations inférieures à 10 ppm [9]. Plus récemment, le dosage urinaire de l'acide trans,trans-muconique est plus sensible et plus spécifique que celui des phénols, il est fiable pour apprécier les expositions faibles voire pour des expositions moyennes, équivalente à 1 ppm, le prélèvement est fait en fin de travail, il existe une bonne corrélation entre ce dosage et le taux atmosphérique du benzène[12].

Notre problématique est le suivre ainsi que la surveillance biologique d' une population de travailleurs exposés à de faible concentration du benzène .

III – 3. Objectif :

Notre travail consiste :

- Dans un premier temps évaluer l'efficacité de la surveillance de l'exposé au benzène des pompistes par le dosage des phénols urinaires totaux .
- Essayer d'utiliser en fonction des moyens de laboratoire disponibles pour le dosage de l'acide trans,trans-muconique urinaire pour la surveillance de ces mêmes travailleurs (pompistes).
- Faire une comparaison entre les deux méthodes et déterminer la plus efficace pour la surveillance des pompistes.

III – 4. Matériels et méthodes d'étude :

A. **Méthodes d'étude** : Nous avons fait notre étude expérimentale au niveau de laboratoire d'hygiène sur deux groupes :

- Groupe exposé ;
- Groupe non exposé. (témoins)
 - Groupe exposé : Comporte douze pompistes de Naftal au niveau de deux stations d'essence, de sexe masculin non-fumeurs.
 - Groupe non exposé : Comporte douze fonctionnaires de sexe masculin non-fumeurs.

B. **Matériels d'étude** :

1. **Fiche des renseignements interrogatives** comprend : Des examens cliniques, d'examen hématologiques, des examens toxicologiques.

Fiche de renseignement

Nom :

Prénom :

Age :

Poste de travail :

Ancienneté au poste :

Examen clinique

Pâleur :

Asthénie :

Troubles digestives :

Anorexie :

Vomissement :

Brûlure d'estomac :

Troubles nerveux :

Vertige :

Céphalée :

Somnolence :

Signes hématologique :

Ecchymoses :

Epistaxie :

Gingivorragie :

Examen Hématologique

G.R :

G.B :

H.B :

Plaquette :

T.S :

T.C :

Examen Toxicologique

acide trans,trans-muconique :

Phénols :

2-Matériel :

Appareillage :

- Flacon de 500ml .
- Tube à essai .
- Portoir .
- Eprouvette .
- Pipette graduée .
- Papier de PH.

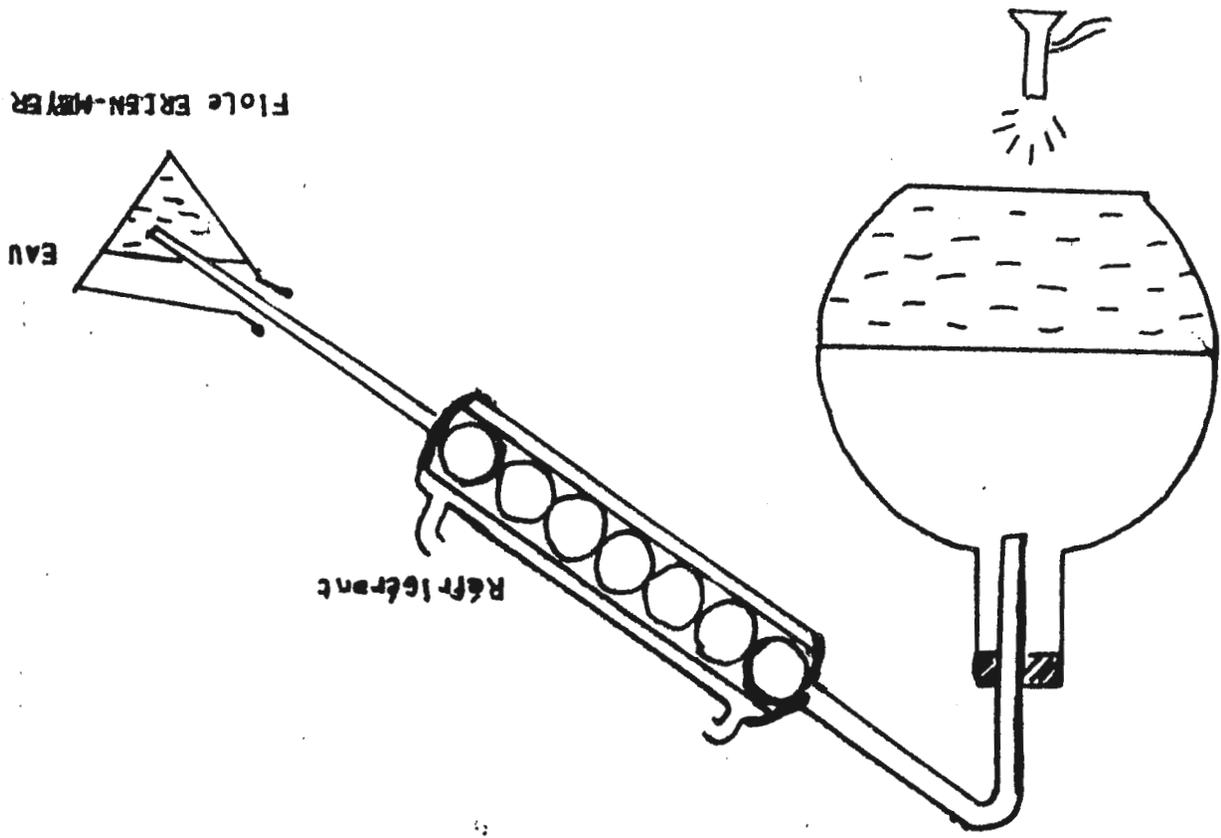
Et puisque le phénol est un toxique volatile hydrosoluble, il nécessite une distillation.

L'appareil à distiller comporte de (schémas) :

- Ballon de 500 à 1000 ml .
- Réfrigérant .
- Fiole Erlen-meyer de 350 à 500 ml.

Réactifs :

- Acide tartrique .
- Acide chlorhydrique .
- L'ammoniaque .
- Chlorure ferrique .
- Réactif de MILON .
- Hypochlorite de sodium .
- L'eau distillé.



VISCERES
 + EAU
 + AC. TARTRIQUE

APPAREILLAGÉ A DISTILLATION

Notre travail expérimental été effectué dont le but et la recherche des phénols, suivant une méthode qualitative dans trois étapes :

1. Les prélèvements : Nous avons réalisé les prélèvements urinaires chez les deux groupes à la fin du poste (exposés et témoins).
2. La distillation : dans un ballon de 500 à 1000 ml, nous avons mis une quantité d'urine.

En suite, nous avons ajouté l'eau distillée de manière à remplir le ballon au tiers. Puis, nous avons additionné l'acide tartrique en poudre. Après, nous avons adapté le réfrigérant au ballon et placé un Erlen-meyer remplie à moitié d'eau distillée de tel sort que l'extrémité du réfrigérant soit émergé. A l'aide de bec-benzène, nous avons chauffé le ballon jusqu'à l'ébullition.

Dix minutes après le début de la distillation, nous avons recueilli le premier distillat, mais elle ne nous intéresse pas, c'est pour ça et après une heure nous avons recueilli la deuxième fraction de distillat contenant les phénols.

3. La recherche du phénol : Il existe trois types de testes séparés :
 - a) A l'aide d'une pipette nous avons mis 1ml de distillat avec une goutte de solution de chlorure ferrique à 1 %. L'apparition d'une coloration bleu-violacé indique l'existence des phénols.
 - b) Dans un tube à essai et à l'aide d'une pipette nous avons mis 1ml de distillat avec 1ml de réactif de MILLON. L'apparition à chaud d'une coloration rouge intense indique l'existence des phénols.
 - c) Dans un tube à essai nous avons pris 2ml de distillat avec d'une petite quantité d'ammoniaque puis 1ml de solution d'hypochlorite de sodium à 1 %. L'apparition Par chauffage, d'une coloration bleue indique l'existence des phénols.
4. La recherche de l'acide trans,trans-muconique : manque des moyens techniques.

RÉSULTATS

III – 5. Résultats :

Dans notre étude expérimentale le dosage de l'acide trans,trans-muconique n'a pas été fait pour les raisons techniques, l'étude c'est limité au dosage des phénols urinaires chez douze pompistes.

A. Sur le plan épidémiologique :

1. Moyen d'âge : la somme d'âges/l'effectif du groupe.

	Groupe exposé	Groupe témoin
Moyen d'âge	43 ans	27 ans

2. Durée moyenne d'exposition :

La somme des durées d'exposition/l'effectif.

La durée moyenne d'exposition répartie comme suite :

	Groupe exposé
Durée moyenne d'exposition	17 ans

► Détail de la durée d'exposition : On note que la majorité des pompistes sont caractérisés par une durée d'exposition plus de 10 ans.

Durée d'exposition	Effectif	Pourcentage
< 5 ans	4	33,33 %
[5-10] ans	0	0 %
> 10 ans	8	66,67 %
Total	12	100 %

B. Sur le plan clinique :

Les signes cliniques	Groupe exposé	Groupe témoin
Pâleur	-	-
Asthénie	-	-
Trouble digestif	-	-
Trouble nerveux	-	-
Signe hémorragique	-	-

Aucun signe clinique a été constaté chez le groupe exposé comme chez le groupe témoin.

C. Sur le plan hématologique : Pour cette étude nous sommes basés sur les résultats de l'hémoglobine et des globules rouges et blancs de la visite annuelle de 1994.

Pour l'hémoglobine : la somme des valeurs/l'effectif.

	Valeur moyenne
Hémoglobine	14,22 g/100 ml

Nous avons pris les résultats des 10 travailleurs (pompistes).

□ Pour les globules : la somme de nombre des globules / l'effectif .

	Nombre moyen /ml ³
Nombre des globules rouges	3995000
Nombre des globules blancs	8566

Nous avons pris les résultats de 6 travailleurs.

D. Sur le plan toxicologique :

1. Dosage des phénols urinaires :

	Groupe exposé	Groupe témoin
Phénols urinaires	Douze examens négatifs	Douze examens négatifs

On note l'absence des résultats positifs chez les deux groupes étudiés .

2. Dosage de l'acide trans,trans-muconique : Ce dosage n'a pas été fait ,
faut des moyenstechniquesau niveau du laboratoire.

**Commentaires
Et Discussion**

IV. Commentaires – Discussion :

- Les résultats cliniques et hématologiques de cette étude se sont révélés négatifs.
- Par ailleurs sur le plan toxicologique le dosage des phénols urinaires totaux s'est révélé négatif chez les deux groupes.
- Pour des raisons techniques, le dosage de l'acide trans,trans-muconique n'a pas été réalisé.
- L'absence des phénols dans les urines des pompistes, peut l'expliquer que l'exposition est en faible intensité (travail à l'air libre), et du fait aussi que cette méthode est peu sensible (seuil de sensibilité 10ppm). Par ailleurs nous n'avons aucune idée sur l'intensité de l'exposition des pompistes (d'où l'intérêt du dosage du benzène dans l'air à hauteur des voies respiratoires des pompistes).
- Ainsi le dosage des phénols urinaire s'avère comme un mauvais indicateur biologique pour la surveillance des pompistes (totalité des prélèvements négatifs).

Conclusion

V. Conclusion :

- Notre étude qui avait pour but le dosage des phénols urinaires et l'acide trans,trans-muconique comme indicateur d'intoxication benzénique chez un groupe de pompistes, s'est avéré :
1. Incomplète : les moyens techniques du dosage de l'acide trans,trans-muconique au niveau de laboratoire sont insuffisants pour cette étude.
 2. Négative : Sur le plan clinique, hématologique et toxicologique (dosage des phénols urinaires totaux).
 - Ainsi, il apparaît que l'exposition des pompistes au benzène est de faible intensité : < 10 ppm qui est le seuil de détection des phénols urinaires totaux.
 - Pour confirmer cette donnée, le dosage de benzène atmosphérique est fortement conseillé.
 - La méthode de dosage des phénols urinaires s'avère inadaptée à la surveillance biologique des pompistes (faible exposition).
 - Aussi le choix d'une méthode plus sensible (l'acide trans,trans-muconique) s'avère indispensable pour la surveillance biologique chez les travailleurs exposés à des faibles concentrations du benzène atmosphérique.

Suggestion



VI- Suggestions :

A l'issue de cette étude, nous proposons les suggestions suivantes :

- Le dosage du benzène atmosphérique au niveau des voies respiratoires des travailleurs pour connaître le degré de l'exposition (faible ou fort).
- Dans les cas où le taux du benzène atmosphérique dépasse la valeur limite d'exposition, nous proposons d'utiliser les moyens de dosage les plus efficaces :
 1. Un dosage des phénols pour des expositions fortes.
 2. Un dosage plus sensible pour des expositions faibles celle de l'acide trans, trans-muconique.

Dont nous espérons que ces dosages seront réalisés dans des laboratoires permanents dotés des moyens techniques spécifiques.

Bibliographie

Bibliographie :

- [1]. **BERGERET A., TOLOT F.** –Benzène et Benzolisme- Encycl. Med. chir., Paris, 1984, p :1.
- [2]. **BOURNEUF J.** – Nouveau Larousse médicale,1990, p :135.
- [3]. **BURGER F., BLOMET J., MATHIE WT.** – La Magie des solvants, Prevor, 1998, p : 143.
- [4]. **CHRL J., et HACHET** – Dictionnaire de toxicologie, Masson, 1992
- [5]. **DESOILLE H.** – Eléments de médecine du travail et maladies professionnelles, Flammarion, 1972, p : 55-57.
- [6]. **GENOT M.** – Intoxication par les hydrocarbures benzéniques : Benzolisme professionnel, P : 1-6.
- [7]. **LAUWERYS R.** – Intoxications industrielles et professionnelles, Masson, 1998, p : 260-265.
- [8]. **NORMOND J. C.** – Benzène - Encycl. Med. Chir. : Toxicologie pathologie professionnelle, 1997, p : 1-6.
- [9]. **PILLER F.** – BIOTOX, INRS, 1997, p : 66-67.
- [10]. **VIALLM J.** – Les Maladies Professionnelles, INRS, 1973, p : 5.
- [11]. **ZITOUNIS S.** – Evaluation Biologiques des travailleurs imprégnés au benzène, Mémoire, 1991, p : 5, 7, 13.
- [12]. Document pour la médecine du travail, INRS, 2000, p : 125 – 131.
- [13]. FICHE TOXICOLOGIQUE, INRS, 1997, p : 1-3.
- [14]. Site internete :[http : www.INRS.fr/produit/publication.PDF/ud2092.PDF.yahoo](http://www.INRS.fr/produit/publication.PDF/ud2092.PDF.yahoo)

Présenté par : - BENZAÏD Ahlem - BOUZENIA Samia - REMITA Nouara	Titre : Surveillance biologique de l'exposition au benzène chez un groupe de pompistes à l'aide de deux marqueurs biologiques (Phénols, Acide trans, Trans-muconique)	Date de soutenance : 7-10-2001
---	---	--

Résumé

Notre étude a pour objectif de choisir entre deux marqueurs biologiques urinaires : Phénols totaux et Acides trans, trans-muconique pour la surveillance médicale d'un groupe de pompistes exposé aux vapeurs de benzène à faible concentration.

- 1- Les Phénols urinaires sont révélés comme un mauvais indicateur (résultats négatif chez 12 pompistes).
- 2- L'acide trans, trans-muconique n'a pu être dosé faute de moyens techniques.

Ainsi notre étude s'est limitée au dosage de phénols urinaires.

Mots clés : pompiste – benzène – intoxication – phénols – acide trans, trans-muconique – surveillance biologique.

المخلص

دراستنا هذه تهدف إلى الاختيار بين عاملين بيولوجيين يطرحان في البول : الفينول الكلي وحمض ترانس، ترانس-ميكونيك من أجل المتابعة الطبية لفريق عامل بمحطة البترين متعرض لأبخرة البنزين بتركيز خفيفة.

- 1- تبين بأن الفينول المطروح في البول عامل سيئ (نتائج سلبية لـ 12 عامل).
- 2- نظرا لنقص الإمكانيات التقنية لم يتم الكشف عن حمض ترانس، ترانس-ميكونيك.

وبذلك دراستنا اقتصر على دراسة الفينول البولي.

Summary

Our study has for objective to choose between two urinary biologic scorers : total Phénols and Acid trans, trans-muconique for the medical surveillance of a pompists group exposed to the steams of benzene to weak concentration.

1- The urinary Phénols are revealed like a bad indicator (results negative at 12 pompists).

2- The acidic trans, trans-muconique musn't have in its dosage any technical means mistake.

So our study limited itself to the urinary phénols dosage.