

**Centre international d'études supérieures en sciences agronomiques  
Université Nationale Kazakh al-Farabi**

**THÈSE**

Pour obtenir le grade de

Docteur

Formation Doctorale : **Biotechnologie, Microbiologie**

École Doctorale : **Sciences des Procédés, Sciences des Aliments**

Présentée et soutenue publiquement

Par

**Mlle Shynar AKHMETSADYKOVA**

**20 juillet 2012**

Titre :

**Impact de la pollution sur la qualité du lait de chamelle au Kazakhstan**

Mr Xavier DOUSSET  
Mr Cyril FEIDT  
Mr Bruno RONCHI  
Mr Bernard FAYE  
Mme Gaukhar KONUSPAYEVA  
Mr Gérard LOISEAU

**JURY**  
ONIRIS Nantes  
ENSAIA Nancy  
Tuscia University  
CIRAD, Montpellier  
KazNU Al Farabi,  
SupAgro Montpellier

Président du Jury  
Rapporteur  
Rapporteur  
Directeur de thèse  
Co-Directeur de thèse  
Examineur

## RESUME

Les Kazakhs sont des consommateurs traditionnels de lait d'espèces non-conventionnelles comme la chamelle. Pour autant, les régions d'élevage camelin dans ce pays, bien que basées sur un mode extensif et un accès à des ressources naturelles, n'en sont pas moins fragilisées par les risques de pollution, l'environnement du pays étant affectées par la présence de métaux lourds, pesticides et radionucléides. L'objectif de la thèse a été (a) d'évaluer l'impact de cette pollution sur la qualité du lait de chamelle et du *shubat* (lait fermenté), et (b) d'évaluer les capacités de détoxification des produits laitiers.

Pour aborder la question de l'impact de la pollution, plusieurs niveaux d'analyses ont été mis en œuvre:

- (i) A l'échelle régionale, des cartes d'indice de pollution ont été établies autour de 13 fermes de zones polluées (Almaty, Sud Kazakhstan, Atyraou et Kyzylorda) afin de comparer le niveau de pollution des différentes matrices (sol, eau, plante) selon la distance aux sources de pollution.
- (ii) A l'échelle des matrices environnementales (sol, plante, eau), deux métaux lourds majeurs (Pb et Cd) ont été déterminés dans les échantillons de sols (7,76-131,08 ppm et 0,08-0,39 ppm, respectivement), l'eau (Pb entre 5,9-13,6 ppm et Cd 0,05-0,25 ppm), les plantes (0,50-2,30 ppm et >0,05-0,56 ppm, respectivement). Un lien entre indice de pollution et métaux dans les sols a été observé, montrant l'impact de la proximité et de la nature des sources de polluants sur la contamination des sols. On observe également une corrélation étroite entre teneur en Pb et Cd au sein des différentes matrices. Cependant, les teneurs dans le sol sont indépendantes des teneurs dans l'eau ou les plantes. Les teneurs en pesticides dans l'eau sont inférieures à celles des normes internationales. Dans les fourrages, les teneurs en DDT et ses dérivés ont été plus élevées que dans le sol. Cela signifie que les résidus de pesticides peuvent être également d'origine atmosphérique et donc inhalés par les animaux
- (iii) Dans le lait et le *shubat*, la concentration en métaux lourds dans cinq régions (Almaty, Atyraou, Kyzylorda, Taraz et Sud Kazakhstan) a été en moyenne faible en Cu (< 0,05 ppm), normale en Zn (près de 5 ppm) et Cd, mais un peu élevée pour Pb. Nos résultats ont été relativement élevés pour le DDT total dans le lait de toutes les régions sauf Kyzylorda et supérieurs pour le HCH total dans le lait des régions d'Almaty et d'Atyraou.
- (iv) Les relations entre environnement et lait ont été testées montrant l'absence de lien entre contamination de l'environnement en métaux lourds et celle du lait et *shubat*. Aucune relation non plus n'a été observée pour les pesticides, à l'exception du lindane et 4,4-DDD.

Pour tester l'effet détoxifiant, il a été procédé en deux étapes. D'abord l'isolement et l'identification des souches de bactéries lactiques (BAL) du afin de tester leur capacité à fixer Pb et Cd. Au total, 138 souches ont été isolées à partir de 25 échantillons laitiers. Une étude qualitative pour détecter la capacité des BAL à fixer les métaux lourds a été réalisée. Parmi 118 souches testées, seules 5,1% d'entre elles n'ont cultivé ni Pb ni sur Cd, 36 % ayant eu la capacité de fixer Pb ou Cd, et 9% les deux. Les 45 souches montrant les meilleurs résultats ont été retenues pour identification par des méthodes moléculaires (rRNA16S). Selon les résultats de séquençage, la plupart de souches appartiennent aux genres *Enterococcus* ; *Lactobacillus*, secondairement *Lactococcus* et *Leuconostoc*.

Dans un second temps, un test physiologique (*in vivo*) a été réalisé sur 80 cobayes divisés en 8 groupes traités par le Pb et des souches de BAL. La quantité de

Pb dans les fèces des groupes traités par le lait fermenté ayant contenu ou pas du Pb était relativement élevé par rapport aux groupes témoin et celui recevant de l'eau enrichie de Pb (groupe Pb). La distribution du Pb dans les organismes de cobayes du groupe EauPb s'est révélée dans l'ordre croissant: rate> sang> cœur> poumons> foie> reins. Il n'y a aucune corrélation significative entre les organes.

Les résultats obtenus sur l'identification des souches isolées, ont donné les possibilités d'étudier celles responsables de la transformation du lait en *Shubat*, de reproduire un procédé de fabrication proche de la fermentation artisanale avec des souches qui jouent un rôle important dans la détoxification.

*Mots clés* : lait de chamelle, pollution, métaux lourds, pesticides, bactéries lactiques.

## ABSTRACT

The Kazakh people are traditional consumers of milk from non-conventional species like camel. However, the camel-rearing areas in this country, although based on an extensive mode and an access to natural resources, are affected by the risks of pollution, the environment of the country being affected by the presence of heavy metals, pesticides and radionuclides. The objective of the thesis was (a) to evaluate the impact of this pollution on the quality of the camel milk and *shubat* (fermented milk), and (b) to evaluate the ability of detoxification by the dairy products. To answer to the question of the impact of pollution, several levels of analyses were implemented:

(i) At the regional level, maps of pollution index were established around 13 farms from polluted zones (Almaty, Southern Kazakhstan, Atyrau and Kyzylorda) in order to compare the level of pollution of the various matrices (soil, water, plant) according to the distance to the polluting sources.

(ii) On environmental matrix level (soil, plant, water), two major heavy metals (Pb and Cd) were determined in the soil (7,76-131,08 ppm and 0,08-0,39 ppm, respectively), water (Pb 5,9-13,6 ppm and Cd 0,05-0,25 ppm), the plants (0,50-2,30 ppm and >0,05-0,56 ppm, respectively) samples. A correlation between pollution index and metals in soils was observed, showing the impact of the proximity and the nature of the polluting sources on the contamination of the soils. A close correlation between Pb and Cd content within the various matrices was also observed. However, the contents in the soil were independent of the contents in water or plants. The contents of pesticides in water were lower than those of the international standards. In fodder, the DDT and its derivatives were higher than in the soil. That means that the pesticides residues can be also of atmospheric origin and thus inhaled by the animals

(iii) In milk and, the heavy metal concentration in five areas (Almaty, Atyrau, Kyzylorda, Taraz and South Kazakhstan) was on average low in Cu (< 0,05 ppm), normal for Zn (nearly 5 ppm) and Cd, but a little high for Pb. Our results were relatively high for the total DDT in the milk of all the areas except Kyzylorda and superiors for the total HCH in the milk of Almaty and Atyrau areas.

(iv) The relations between environment and milk were tested showing the absence of link between environmental contamination of the heavy metals and that of milk and *shubat*. No relation either was observed for the pesticides, except for lindane and 4,4-DDD.

To test the detoxification effect, it was preceded in two stages: initially the isolation and identification of the strains of lactic bacteria (LAB) of the *shubat* in order to test their capacity to fix Pb and Cd. On the whole, 138 strains were isolated starting from 25 dairy samples. A qualitative study to detect the capacity of the LAB to fix heavy metals was carried out. Among 118 tested strains, only 5,1 % of them grew neither on Pb nor on Cd, 36% having had the capacity to fix Pb or Cd, and 9% both. The 45 strains showing the best results were retained for identification by molecular methods

(rRNA16S). According to results' of sequencing, the majority of strains were of genus *Enterococcus* and *Lactobacillus*, secondarily *Lactococcus* and *Leuconostoc*. In the second time, a physiological test (*in vivo*) was carried out on 80 guinea-pigs divided into 8 groups treated by strains of LAB containing or not some Pb. The quantity of Pb in feces of the groups treated by fermented milk having contained or not Pb was relatively high compared to the reference groups and that receiving from the water enriched by Pb (Pb group). The distribution of Pb in the organs of guinea-pigs of the Pb group appeared in the ascending order: spleen> blood> heart> lungs> liver> kidneys. There was no significant correlation between organs.

The results obtained on the identification of the isolated strains, gave the possibilities of studying those responsible for the milk processing into *Shubat*, to reproduce a manufacturing process close to artisanal fermentation with the strains which play an important part in detoxification.

*Keywords:* pollution, camel milk, heavy metals, pesticides, LAB.

## REMERCIEMENTS

*Je tiens à remercier particulièrement mes directeurs de thèse, Bernard Faye, Gaukhar Konuspayeva et Gérard Loiseau. Qui m'ont aidée à faire mon chemin de la licence à la thèse. Leur rôle dans ma formation comme spécialiste, de ma personnalité et de ma vie professionnelle est énorme. L'importance de chacun d'eux comme grandes personnes, maîtres et professionnels dans leur domaine a été une grande chance pour moi.*

*Merci aussi m'avoir fait découvrir l'histoire, la culture, les traditions et la gastronomie de la France. Merci pour votre grande hospitalité, votre disponibilité, votre soutien.*

*Vous resterez à mes yeux comme des personnes entières et pleines de talents aussi bien dans la recherche que dans les relations humaines. Merci beaucoup à tout ce que vous avez fait pour moi !*

*Je voudrais également remercier M. Didier Montet pour m'avoir si bien accueillie au sein de son équipe.*

*Je voudrais également remercier le professeur de l'université KAZNU, Anatolii Ivachshenko, pour son soutien, ses conseils et son aide.*

*Mes remerciements s'adressent à l'ambassade de France d'Almaty au Kazakhstan, à Mr Johan Schitterer, Mesdames Lucile Gariat, Noemie Larrouilh et Barbara Gandriaux ainsi qu'au personnel du service de coopération et d'action culturelle pour leur appui, leur accueil, leur disponibilité et leur soutien financier. Je ne dois pas non plus oublier l'association GALA dont l'appui financier a été déterminant pour réaliser un certain nombre d'analyses.*

*Je souhaite aussi remercier les étudiantes qui ont travaillées avec moi dans le cadre de ma thèse, Maela Le Guillou, Mélanie Beaulaigue et Marine Rohmer, sans qui je n'aurais pas pu réaliser toutes ces manips.*

*Merci pour tous les collègues de laboratoire Antigen, à Mirash, Aliya, Gulzhan N., Gulzhan R. et Shattyk pour ses aides dans la réalisation de manips et prélèvements d'échantillons de lait.*

*Je remercie tous les fermiers du Kazakhstan qui m'ont accueillie et rendu service en me permettant de réaliser cette recherche.*

*Je n'oublie pas de remercier les chercheurs et thésards du CIRAD pour l'ambiance qui a contribué à des moments d'échanges culturels et personnels très forts.*

*Je n'oublie pas non plus de remercier les chercheurs de l'université Al-Farabi et de l'université Agraire, notamment Mme Assiya Serikbayeva, pour son aide et sa disponibilité.*

*Merci pour Isabelle Métayer et Chantale Canales pour leur disponibilité et aide au CIRAD.*

*Enfin j'aimerais exprimer mes sincères remerciements à mes parents qui m'ont donnée leur amour et leur confiance. Merci pour mon père qui m'a donné la possibilité de réaliser des manip dans son Laboratoire Antigen ; je remercie mes frères Arnur et Ernur, ma sœur Naziya pour leur soutien moral, leurs conseils, leur aide, leurs corrections et leurs encouragements.*

*Merci à tous ceux qui ont contribué à la réalisation de cette étude !*

## SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	13
I. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE .....	16
I .1 Le lait de chamelle au Kazakhstan.....	16
I.1.1 Kazakhstan pays de steppes .....	16
I.1.2 Le Kazakhstan est un pays de buveurs traditionnels de lait .....	16
I.1.3 Consommation du lait de jument et de chamelle au Kazakhstan .....	18
I.1.4 Utilisation médicinale et thérapeutique du lait de chamelle et shubat.....	18
I.1.5 Les propriétés du shubat .....	20
I.1.6 Composition et propriétés physico-chimiques du lait de chamelle au Kazakhstan.....	20
I.1.7 La steppe, une zone écologiquement menacée - Impact sur l'élevage camelin laitier.....	22
I.2. Les risques de contamination environnementale du lait : l'exemple du Kazakhstan .....	23
I.2.1 Ressources naturelles au Kazakhstan.....	23
I.2.2 Les contaminations environnementales au Kazakhstan et les sources de pollution potentielles .....	24
I.2.3 Transfert de polluants dans la chaine alimentaire .....	38
I.3. Les Bactéries Lactiques .....	46
I.3.1 Le rôle des bactéries lactiques .....	46
I.3.2 Rôle des bactéries lactiques dans les produits fermentés .....	46
I.3.3 Les bactéries lactiques et les métaux lourds .....	47
I.3.4 Impacts sur l'absorption dans le tractus digestif .....	51
II. MATERIELS ET METHODES.....	53
II.1. Identification et localisation des sources de pollutions .....	53
II.1.1 Description des régions d'étude.....	53
II.2. Analyse environnementale et spatiale .....	56
II.2.1 Récolte des données .....	56
II.2.2 Traitement des données sous ArcGis.....	56
II.2.3 Indicateurs de risques de pollution .....	57
II.3. Collecte des échantillons.....	58
II.3.1 Echantillonnage du lait et du shubat.....	58
II.3.2 Echantillonnage de sol.....	58
II.3.3 Echantillonnage de l'eau.....	58
II.3.4 Echantillonnage des plantes.....	58
II.3.5 Codage des échantillons .....	59
II.4. Dosage des métaux lourds.....	59
II.5. Détermination des Pesticides dans les différentes matrices .....	60
II.5.1 Préparation des échantillons : extraction et purification.....	60
II.5.2 Dosage des pesticides par chromatographie HPLC .....	60
II.6 Analyses Statistiques .....	60
II.7. Analyses microbiologiques.....	60
II.7.1 Isolement des souches de Bactéries lactiques .....	60
II.7.2 Conservation des souches bactériennes .....	61
II.7.3 Identification des souches de bactéries lactiques.....	61
II.8. Test de fixation de métaux lourds sur milieu gélosé.....	66
II.9. Quantification de la capacité des souches bactériennes à fixer du Plomb dans l'eau.....	66
II.10. Test de fixation de plomb in vivo .....	67
III. RESULTATS.....	69

III.1. Identification et localisation des sources de pollutions. Situation des fermes par rapport aux risques de pollution .....	69
III.1.1 Région d'Almaty.....	69
III.1.2 Région du Sud Kazakhstan .....	70
III.1.3 Région de Kyzylorda.....	71
III.1.4 Région d'Atyraou .....	72
III.2. Analyses des données expérimentales.....	75
III.2.1 Pb et Cd dans différentes matrices environnementales.....	75
III.3. Comparaison avec l'analyse spatiale .....	76
III.3.1 Teneur dans le sol .....	76
III.3.2 Teneur dans l'eau .....	77
III.3.3 Teneur du Pb et Cd dans les plantes.....	77
III.4. Interactions entre matrices environnementales.....	77
III.5. Métaux lourds dans le lait et <i>shubat</i> . Pb, Cd, Cu et Zn (ppm) .....	79
III.6. Teneur des pesticides organochlorés dans des différentes matrices .....	82
III.6.1 Teneur des pesticides organochlorés dans le sol.....	82
III.6.2 Teneur des pesticides organochlorés dans l'eau.....	82
III.6.3 Teneur des pesticides organochlorés dans les plantes .....	83
III.6.4 Teneur des pesticides organochlorés dans le lait.....	84
III.6.5 Teneur des pesticides organochlorés dans le <i>shubat</i> .....	84
III.6.6 Corrélation entre les teneurs en pesticides dans l'environnement et le lait et entre le lait et le <i>shubat</i> .....	85
III.7. Les bactéries lactiques et leur rôle dans la détoxification.....	87
III.7.1 Caractérisation et Identification des flores lactiques du lait et du <i>shubat</i> ..	87
III.7.2 Etude qualitative de la capacité des bactéries lactiques à fixer les métaux lourds.....	87
III.7.3 Identification des souches isolées à partir du lait et <i>shubat</i> .....	88
III.7.4 Etude quantitative de fixation dans l'eau additionnée par le Pb.....	92
III.7.5 Test physiologique ( <i>in vivo</i> ) et analyses des organes cibles .....	93
IV. DISCUSSION .....	96
IV.1. Situation des fermes par rapport aux risques de pollution .....	96
IV.2. Pb et Cd dans les différentes matrices environnementales .....	96
IV.2.1 Pb et Cd dans le sol .....	96
IV.2.2 Pb et Cd dans l'eau .....	99
IV.2.3 Pb et Cd dans les plantes .....	100
IV.3. Les teneurs de métaux lourds dans le lait de chamelle et <i>shubat</i> .....	104
IV.3.1 Le cuivre dans le lait et les produits laitiers .....	105
IV.3.2 Le zinc dans le lait et les produits laitiers .....	105
IV.3.3 Le plomb dans le lait et les produits laitiers.....	106
IV.3.4 Le cadmium dans le lait et les produits laitiers .....	107
IV.4. Teneur des pesticides organochlorés dans la chaîne alimentaire .....	108
IV.4.1 Les teneurs dans les différentes matrices environnementales .....	108
IV.4.2 Les relations entre matrices .....	111
IV.5. Les bactéries lactiques et leur rôle dans la détoxification .....	112
IV.5.1 Inventaire des bactéries lactiques dans le lait de chamelle et le <i>shubat</i>	112
IV.5.2 Fixation du Pb et du Cd par les souches de bactéries lactiques isolées	113
IV.5.3 Test physiologique ( <i>in vivo</i> ) et analyses des organes cibles .....	116
V. CONCLUSION .....	119
PERSPECTIVES .....	120
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....	121
ANNEXES.....	154

## **Table des sigles et abréviations**

ACP : Analyse en composantes principales  
ADN : Acide Désoxyribonucléique (DNA)  
ADL : Acid detergent lignin (taux de lignine)  
AES : Atomic Emission Spectrometer  
AMIS : Amélioration des Méthodes pour l'Innovation scientifique  
ANOVA : ANalysis Of VAriance  
APS : Persulfate d'Ammonium  
BET : Bromure d'Ethidium  
BLAST : Basic Local Alignment Search Tool  
BREDL : Blue ridge environmental defense league  
CE : Communauté européenne  
CEI : Communauté des Etats Indépendants  
CIAA : Chloroforme, Alcool Iso-Amylique  
CIRAD : Centre de coopération Internationale et de Recherche Agronomique pour le Développement  
CITES : Convention sur le Commerce International des Espèces de faune et de flore sauvages  
CNRS : Centre National pour la Recherche Scientifique  
CRDP : Centre régional de documentation pédagogique  
dATP : Désoxyadénosine Triphosphate  
dCTP : Désoxycytidine Triphosphate  
DGGE : Denaturing Gradient Gel Electrophoresis  
dGTP : Désoxyguanosine Triphosphate  
dNTP : dATP + dCTP + dGTP + dTTT  
dTTP : Désoxythymidine Triphosphate  
DDE : Dichlorodiphényléthylène  
DDT : Dichlorodiphényltrichloroéthane  
DDD : Dichlorodiphényldichloroéthane  
EDTA : Ethylène Diamine Tétra-Acétate  
EMVT : Elevage et Médecine Vétérinaire des Pays Tropicaux  
FAO : Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture  
GPS : Global Positioning system  
HCH : Hexachlorocyclohexane  
HPLC : High Performance liquid Chromatography  
IARC : International agency for research on cancer  
ICP: Inductively Coupled argon Plasma  
Kb : KiloBase  
LMC : Limite Maximale Concentration  
MATAB : Mixed Alkyl Trimethyl Ammonium Bromide  
MAT : Matière Azotée Totale  
MM : Matière minérale  
MRS : Milieu de Man, Rogosa et Sharpe  
MS : Matière Sèche  
NaAc : Acétate de sodium  
NAD : Nicotinamide adénine dinucléotide  
NCBI : National Center for Biotechnology Information Databases  
OMS (WHO) : Organisation Mondiale pour la Santé  
OTAN : Organisation du Traité de l'Atlantique Nord  
pB : Paire de Bases  
PBDE : Polybromodiphényléther  
PCB : Polychlorobiphényles  
PCDDs : Polychlorodibenzo-p-dioxines  
PCDFs : Polychlorodibenzo-furanes  
PCR : Polymerase Chain Reaction  
PIB : Produit Intérieur Brut  
POC : Pesticides Organochlorés  
POPs : Polluants organiques permanents  
Ppb : Part par billion  
Ppm : Partie par million  
SAA : Spectrométrie d'absorption atomique  
SDS : Sodium Dodecyl Sulfate  
TAE : Tampon Tris Acétate EDTA

TE : Tampon Tris EDTA  
Temed : N, N, N, N-Tetramethyl-Ethylenediamine  
Tm : Température d'hybridation, (melting température)  
Tris : Tris-hydroxyméthyl-aminométhane  
UE : Union Européenne  
UK : Royaume Uni  
UMR : Unité Mixte de Recherche  
UNEP : United Nations Environment Programme  
URSS : Union des Républiques Socialistes Soviétiques  
USEPA : Agence de la Protection de l'Environnement des Etats-Unis  
UV : Ultra Violet  
WGS : World Geodetic System

## INDEX DES FIGURES, DES PHOTOS ET DES TABLEAUX

### FIGURES

Figure 1 : Quantités commercialisées du lait et produits laitiers dans les régions du Kazakhstan (milk offtake/km<sup>2</sup>) (FAO, 2005a).

Figure 2 : Carte de l'écologie du Kazakhstan (Diacono, 2007).

Figure 3 : La carte du Kazakhstan divisée en régions.

Figure 4 : Test de fixation de métaux lourds sur le milieu gélosé (Akhmetsadykova, 2008).

Figure 5 : Situation des fermes dans les différentes régions prélevées.

Figure 6 : Ferme et source de pollution dans la région d'Almaty.

Figure 7 : Fermes et sources de pollution dans la région de Sud Kazakhstan.

Figure 8 : Fermes et sources de pollution dans la région de Kyzylorda.

Figure 9 : Fermes et sources de pollution dans la région d'Atyraou.

Figure 10 : Sources de pollution identifiées dans les régions d'étude.

Figure 11 : Valeurs de différents indicateurs par ferme.

Figure 12 : Corrélation entre les teneurs du Pb et Cd dans les différentes matrices.

Figure 13 : Corrélation entre les Pb et Cd dans les plantes.

Figure 14 : Liens entre le teneur en Pb et Cd dans le sol et l'indicateur de pollution.

Figure 15. Teneur en Plomb dans le lait et *shubat*

Figure 16. Teneur en Cadmium dans le lait et *shubat*

Figure 17. Teneur en Plomb dans le lait et *shubat*

Figure 18 : Corrélation des teneurs en pesticides entre le sol et le lait ou le *shubat*

Figure 19 : Corrélation des teneurs en pesticides entre l'eau et le lait ou le *shubat*

Figure 20 : Corrélation des teneurs en pesticides entre les plantes et le lait ou le *shubat*

Figure 21 : Répartition de souches isolées selon leur capacité à croître sur des milieux additionnés de Pb ou de Cd et à fixer ces métaux

Figure 22 : Pourcentage de plomb total fixé par de la biomasse sèche de 13 souches isolées de lait de chamelle et de *shubat* en suspension dans des solutions à 1, 30 et 50 mg de Pb /L

Figure 23 : Teneur en Plomb dans les fèces

Figure 24 : Teneur en Plomb dans les tissus

Figure 25 : Le cercle de corrélation en teneur du Pb dans les différentes matrices

### PHOTOS

Photo 1 : Chameau de Bactriane du Kazakhstan (photo B. Faye).

Photo 2 : Brassage du lait de chamelle fermenté ou *shubat* (photo B. Faye).

Photo 3 : Le lait de chamelle fermenté (*shubat*) est apprécié des consommateurs pour ses allégations santé (Photo G. Konuspayeva).

Photo 4 : Chameaux de Bactriane dans la steppe centrale du Kazakhstan (photo B. Faye).

Photo 5 : Image de microscopie électronique par transmission de *B. longum* 46 (A et B) et *L. fermentum* ME3 (C et D) lyophilisées avant et après la fixation du Pb (échelle barre 200nm).

Photo 6 : Interaction d'une souche avec du Pb.

Photo 7 : Interaction d'une souche avec du Cd.

Photo 8 : Gel d'agarose à 0,8% pour vérifier la qualité de vérification de l'extraction de l'ADN de souches de bactéries lactiques isolées de lait et de *shubat*.

Photo 9 : Gel d'agarose à 2% de vérification des produits de la PCR avec les amorces 338f et 518r produisant des amplicons de 237 pb à partir d'ADN extrait de bactéries lactiques isolées de lait de chamelle ou de *shubat*.

Photo 10 : Gel d'agarose à 2% de vérification des produits de la PCR avec les amorces W001/23S1 produisant des amplicons de 1500 pb à partir d'ADN extrait de bactéries lactiques isolées de lait de chamelle ou de *shubat*.

## TABLEAUX

Tableau 1 : Propriétés physico-chimiques et composition du lait de chamelle au Kazakhstan, (Konuspayeva, 2007).

Tableau 2 : Risques environnementaux au Kazakhstan (Diacono, 2007).

Tableau 3 : Séquence des amorces 338f et 518r utilisées en PCR.

Tableau 4 : Composition du mix PCR avec les amorces 338f et 518r (Ampe et *al.*, 1999; Leasing, 2005).

Tableau 5 : Conditions des réactions de PCR avec les amorces 338f et 518r.

Tableau 6 : Séquence des amorces W001et 23S1 utilisées en PCR.

Tableau 7: Composition du mélange réactionnel de PCR (W001et 23S1) (volume final 50  $\mu$ L).

Tableau 8 : Conditions des réactions de PCR (W001et 23S1).

Tableau 9 : Indice synthétique du risque de pollution des fermes sélectionnées

Tableau 10 : Teneur du Pb et Cd dans l'eau, le sol et les plantes selon les fermes.

Tableau 11 : Teneurs en Cuivre, Zinc, Plomb et Cadmium dans le lait de chamelle et le *shubat* de 5 régions du Kazakhstan (moyenne et E.T. en ppm).

Tableau 12 : Matrice de corrélation entre les métaux lourds dans le lait et le *shubat*.

Tableau 13 : Teneur moyenne en pesticides organochlorés dans le sol dans 4 régions.

Tableau 14 : Teneur moyenne en  $\alpha$ -HCH dans l'eau dans les régions du Sud Kazakhstan et Kyzylorda en ppb.

Tableau 15 : Teneur moyenne en pesticides organochlorés dans les plantes des 4 régions en ppm.

Tableau 16 : Teneur moyenne en pesticides organochlorés dans le lait des 4 régions en ppm.

Tableau 17 : Teneur moyenne en pesticides organochlorés dans le *shubat* des 4 régions en ppm.

Tableau 18 : Les noms des souches isolées du lait de chamelle et de *shubat* de 4 régions de Kazakhstan.

Tableau 19 : Liste des souches de bactéries lactiques utilisées pour l'étude quantitative de fixation dans l'eau additionnée par le Pb.

Tableau 20 : Les noms de souches utilisées dans l'étude physiologique (*in vivo*).

# INTRODUCTION

La République du Kazakhstan est une jeune république d'Asie centrale. Avant l'annexion à l'empire soviétique, le peuple kazakh était nomade (Lahmar, 1997), parcourant les immenses pâturages d'Asie centrale pour l'élevage de leurs chameaux, moutons et chevaux. La base de leur alimentation était constituée de produits animaux, viande et produits laitiers. La consommation de lait et de produits fermentés, à partir du lait de jument (*koumis*) ou de chamelle (*shubat*), est encore traditionnellement répandue et ces produits sont connus pour leurs propriétés médicinales réelles ou supposées (Konuspayeva et al., 2003 ; Konuspayeva, 2007).

Mais, la steppe a subi depuis l'industrialisation massive, la collectivisation de l'agriculture et le développement minier de l'époque soviétique de fortes modifications de son environnement se traduisant par la pollution de l'air, de l'eau, du sol ou des végétaux par des éléments chimiques (pesticides, métaux lourds, ..), minéraux ou radioactifs.

Aujourd'hui, pays indépendant depuis 1991, le Kazakhstan continue de subir l'héritage de la période soviétique : exploitation excessive des ressources naturelles, industrialisation peu regardante sur les conséquences environnementales et urbanisation galopante. La colonisation des « terres vierges » lancée par l'URSS devait permettre aux soviétiques d'enrayer les pénuries alimentaires par la création de zones agricoles en défrichant 40 millions d'hectares de steppes du nord par brûlis. Après quelques années de bonnes récoltes, les rendements se sont effondrés, conséquence des irrégularités du climat et de la qualité des sols. L'érosion éolienne a localement détruit la couche arable du sol et a augmenté les vents violents développant des tempêtes de poussières (Lahmar, 1997). D'autre part, l'élevage déplacé par les cultures, s'est concentré au centre et au sud du Kazakhstan dans des zones quasi-désertiques entraînant un fort surpâturage des parcours et une surexploitation des ressources naturelles. A ce sinistre tableau, ce sont rajoutés les essais nucléaires soviétiques : 466 bombes nucléaires y ont été explosées, ce qui a contaminé une vaste partie de ce pays, avec une contamination équivalente à l'irradiation de Tchernobyl pendant 4 ans.

Au total, le Kazakhstan a donc subi d'importantes pollutions industrielles, chimiques et urbaines, ou liées aux activités agricoles intensives (coton, riz) et de graves contaminations radioactives sur le territoire. De plus, ce pays riche en ressources minières et pétrolières, a développé toute une économie autour de l'exploitation de ces gisements (extraction, transformation).

Selon Lahmar (1997), 10 à 16 % des terres agricoles contiennent des quantités accrues de pesticides et les sols situés dans la partie orientale où s'est développée une industrie métallurgique non ferreuse renferment des teneurs en métaux lourds 2 à 3 fois supérieures aux normes kazakhes.

Il est reconnu que ces pollutions ont de nombreux effets sur les écosystèmes en général, mais on s'interroge sur les conséquences de la pollution sur des animaux tels que les chameaux et sur le risque de retrouver ces pollutions dans le lait et donc dans les produits de consommation humaine (Van Der Werf, 1996 ; Simsek et al., 2000 ; Diacono, 2007 ; Akhmetsadykova, 2008). Non seulement cela pose un risque pour la sécurité sanitaire mais il s'avère aussi que les minéraux mineurs et les métaux lourds peuvent jouer un rôle négatif sur les processus de transformation des produits laitiers (Faye, 2009).

Dans ce contexte et depuis 15 ans le CIRAD collabore avec l'Université Nationale Kazakh Al-Farabi à Almaty pour la maîtrise de la qualité et le développement des produits laitiers traditionnels. Dans la poursuite de ces travaux, la question de

l'impact des pollutions minérales citées précédemment sur la qualité des produits est apparue essentielle d'autant plus que dans un écosystème, on ne peut pas nier l'existence des interactions entre les teneurs en métaux lourds dans le sol, dans l'eau, dans les plantes et dans l'air (Voutsas *et al.*, 1996), sans oublier les caractéristiques propres à chacun de ces éléments. Les transferts de métaux entre individus suivent un processus classique (dits « transferts trophiques ») comparable à l'empilement des poupées gigognes.

Une étude préliminaire réalisée par Emilie Diacono en 2007, a permis de faire un premier état des lieux relatif à la présence de métaux lourds et de radionucléides dans l'environnement (fourrage et eau), du lait et du *shubat* (Diacono *et al.*, 2008 ; Konuspayeva *et al.*, 2008, Akhmetsadykova, 2008).

Par ailleurs, une croyance populaire veut que les produits laitiers non-conventionnels tels que *koumis* et *shubat* aient une action détoxifiante face aux contaminations de différentes natures. Ces assertions se basent en particulier sur le rôle des bactéries lactiques qui joueraient ainsi un rôle de protection des consommateurs. Des travaux scientifiques ont en effet montré que certaines souches de bactéries lactiques pouvaient avoir la possibilité de fixer les métaux lourds, notamment le plomb et le cadmium (Halttunen, 2007).

Le *shubat* est fermenté par des bactéries lactiques qui lui apportent tous les bénéfices des probiotiques et qui pourraient avoir une incidence sur la biodisponibilité des métaux lourds lors de sa digestion par les consommateurs humains car certaines de ces bactéries auraient la possibilité d'adsorber ou d'absorber les métaux lourds qui seraient ensuite éliminés dans les selles (Akhmetsadykova, 2008).

La question se pose donc de l'impact sanitaire que peut avoir la présence de ces éléments contaminants et potentiellement toxiques en plus ou moins grande quantité dans les ressources fourragères des animaux d'élevage dont nous consommons le lait et la viande. Pour cela, nous avons envisagé dans ce travail de thèse d'évaluer les relations entre la teneur de ces éléments dans l'environnement, les ressources pastorales, dans les produits animaux puis dans une étape ultérieure, la capacité d'atténuation des effets toxiques potentiels sur les consommateurs par l'entremise des bactéries lactiques des produits laitiers fermentés.

Les objectifs de ce travail de thèse qui a compris quatre étapes, ont donc été les suivants:

- **Evaluer les risques spatialisés de pollution autour d'un échantillon de fermes d'élevage camelin :** Pour ce faire, le travail a consisté à: (i) Détecter les régions les plus polluées du Kazakhstan où l'élevage des chameaux est bien développé. (ii) Echantillonner des fermes dans ces régions sélectionnées, (iii) Réaliser des enquêtes auprès des éleveurs de chameaux et construire des cartes de risque de pollution. Cette étape de travail, réalisée en appui à un mémoire de master (Le Guillou, 2009) a permis d'établir des cartes d'index semi-quantitatifs de pollution. Dans le but d'évaluer le devenir des contaminants le long de la chaîne alimentaire, la distribution spatiale des sources de pollution et des différentes pressions anthropiques a été ainsi déterminée autour des fermes. On a cherché à évaluer l'intensité de la contamination en différents métaux lourds et éléments-traces (plomb, cadmium, zinc, cuivre) selon la distribution des fermes.
- **Déterminer les contaminations par les pesticides dans un échantillon de fermes d'élevage camelin.** Dans cette deuxième étape réalisée en

appui à un autre travail de master (Beaulaigue, 2010), les teneurs en pesticides organochlorés dans la chaîne alimentaire du chameau ont été évaluées dans différentes matrices autour des fermes potentiellement contaminées.

- **Identifier, après isolement, les souches de bactéries lactiques issues du lait de chamelle et des produits fermentés (*shubat*) ayant la capacité de fixer le plomb et le cadmium.** Dans cette étape, il s'est agi de mettre en place des tests qualitatifs pour évaluer la capacité de certaines souches de bactéries lactiques isolées à fixer les métaux lourds.
- **Evaluer *in vivo*, l'impact de la capacité de fixation du plomb par des bactéries lactiques sur son absorption par des cobayes.** Cette quatrième étape a consisté à mettre en place un protocole de test de fixation *in vivo* sur des cobayes. afin de mesurer le relarguage du plomb dans les fèces et son accumulation dans les organes d'animaux alimentés avec du lait fermenté par des bactéries lactiques caractérisées par leur capacité à fixer le plomb.

Il est donc attendu que ce travail donne une idée de l'impact de la pollution environnementale sur la qualité des produits laitiers à partir des contaminations relevées dans différentes matrices (eau, sol, plante). Il est attendu également, de conforter l'idée du rôle potentiellement détoxifiant du lait fermenté par des bactéries lactiques capables de fixer les Pb et Cd, et comme conséquence, d'assurer la sureté alimentaire des buveurs.

Les quatre étapes de ce travail de thèse seront donc exposées successivement dans le présent document.

# I. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

## I.1 Le lait de chamelle au Kazakhstan

### I.1.1 Kazakhstan pays de steppes

Le Kazakhstan, avec ses 2 717 300 km<sup>2</sup> de superficie totale (9<sup>ème</sup> place mondiale), ses 12 012 kms de frontière avec la Russie, la Chine, le Kirghizstan, l'Ouzbékistan et le Turkménistan est situé au cœur de l'Asie Centrale (Iskakova et Medeu, 2006). Ex pays de l'union soviétique, il est devenu indépendant en 1991, sa nouvelle capitale est Astana, les langues officielles, le Kazakh et le Russe, la religion principale est l'Islam.

Le Kazakhstan n'a pas de débouché maritime mais, il possède deux mers fermées, la mer Caspienne et la mer d'Aral et plus de 45000 lacs ainsi qu'une longue chaîne de montagnes (Altay, Jungar, Alatau et Tien-Shan) s'étirant de l'est au sud-est.

Le climat est continental et extrêmement marqué. Plus de 80 % de son territoire est classé en terres agricoles, dont 80 % sont des zones de pâturages. En effet, le Kazakhstan est majoritairement recouvert par des déserts et semi-déserts au sud (44 % du territoire) et des steppes au nord (26 %), de forêts (14%) (FAO, 2005a). Le Kazakhstan est le 6<sup>ème</sup> pays au monde (après l'Australie, la Fédération de Russie, la Chine, les Etats-Unis et le Canada) en termes de ressources et d'espaces pastoraux avec plus de 180 millions d'hectares de steppes et de zones montagneuses et le premier pays pour la surface de pâturage par tête de bétail. Au total, 10% du territoire seulement est cultivé et les populations locales vivent traditionnellement de l'élevage (Diacono, 2007).

Le Kazakhstan est un immense pays polyethnique (130 ethnies différentes), où vivent près de 17 millions d'individus d'origine kazakhe (53,8%) et russe (30%), mais aussi plus minoritairement allemande, ukrainienne, ouzbèke, tartare, kirghize, biélorusse et bien d'autres encore. La population rurale est estimée à 4-5 millions d'habitants (Diacono, 2007, Akhmetsadykova, 2008).

Le Kazakhstan, troisième puissance industrielle de la CEI (Communauté des Etats Indépendants), possède de ressources considérables (pétrole, uranium, gaz et ressources minérales) (Troubetzkoy, 2000).

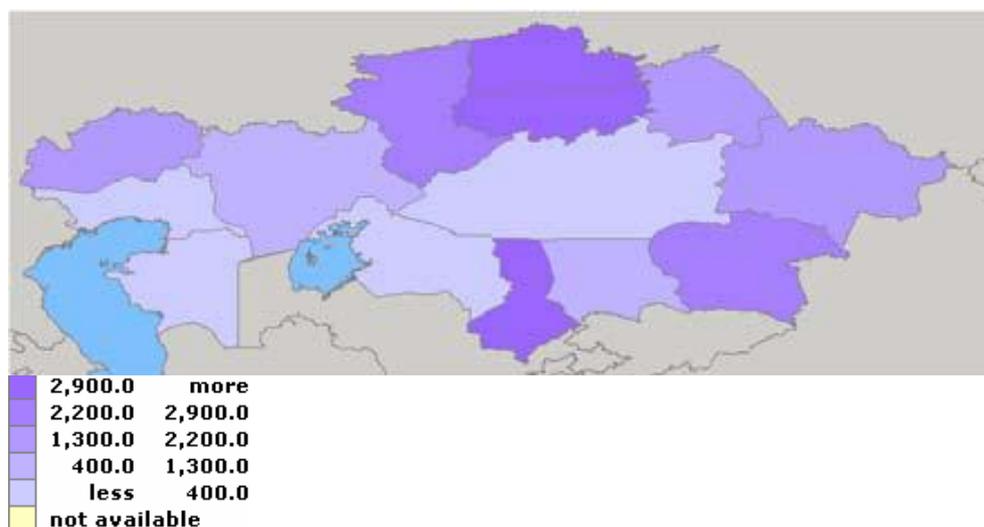
### I.1.2 Le Kazakhstan est un pays de buveurs traditionnels de lait

Les pays d'Asie Centrale, et le Kazakhstan en particulier, sont des consommateurs traditionnels de lait, et la consommation per capita a constamment augmenté depuis l'indépendance ; de 141 kg/hab/an en 1994 à 217 kg/hab/an en 2003 (Konuspayeva et Faye, 2011). Les particularités de la structure de la consommation de lait sont l'importance relative du lait liquide et la consommation de lait d'espèces non-conventionnelles comme la jument et la chamelle (Konuspayeva et Faye, 2011). La culture de la steppe et la tradition pastorale sont à l'origine d'une importance toujours actuelle de la consommation de lait et de produits laitiers.

En 2010, la production laitière a augmenté jusqu'à 5,2 million de tonnes (FAO, 2011), soit une augmentation annuelle de 1,2% depuis 8 ans. Pour les années 2010- 2015,

une augmentation du volume de production laitière de 22% est attendue, cette augmentation serait pilotée par la croissance permanente du secteur de commercialisation (Kazakhstan Agribusiness Report Q1, 2011).

Selon l'Agence Statistique du Kazakhstan, les produits les plus consommés dans les familles (de revenu moyen per capita) au Kazakhstan pour le deuxième trimestre de 2011 ont été le lait et les produits laitiers (Anonyme 1, 2011). Le pourcentage de la consommation de lait et des produits laitiers dans le total acheté par les consommateurs change en fonction de la région du pays. La consommation est plus élevée dans la région de Kyzyl-Orda (sud de Kazakhstan), la région Akmola (nord du Kazakhstan) alors qu'une plus faible consommation est observée au centre du Kazakhstan et à proximité des mers Aral et Caspienne (Figure 1) (FAO, 2005a).



**Figure 1** : Quantités commercialisées du lait et produits laitiers dans les régions du Kazakhstan (*milk offtake/km<sup>2</sup>*) (FAO, 2005a).

Au 1er août 2011, pour l'ensemble des régions, le cheptel équin comptait 1,766 millions de têtes (Anonyme 2, 2011). Les 12 races de chevaux du Kazakhstan sont les races : kazakhes, kostanaï, kushum, mugoljar, pure sang d'équitation, kazakhe de type djébé, ahalteke, cheval du Don, russe de gros trait, russe trotteur, adaï, karabaïr (Konuspayeva, 2007).

Le Kazakhstan est un des rares pays au monde à élever les deux espèces des grands camélidés. L'élevage des chameaux est traditionnel et, il s'est développé sur le territoire du Kazakhstan en raison du contexte naturel (zones semi-arides de la steppe), des habitudes ethniques et au mode de vie nomade. Les kazakhs ont toujours consommé des produits comme la viande, le lait et utilisé la laine de chameau (Konuspayeva et Faye, 2011).



**Photo 1** : Chameau de Bactriane du Kazakhstan (photo B. Faye).

Au cours des 8 dernières années, le cheptel camelin a augmenté de 25 %. En 2004, le cheptel était estimé à 125000 têtes, et en 2010, la population serait de 165000 têtes (Anonyme 3, 2011). La population cameline du Kazakhstan comprend deux espèces : le chameau de Bactriane (photo 1), race « Kazakhe Bactriane », avec ses trois types : Oralbokeïlik, Kyzylorda et Ongtüstik Kazakhstan ; le dromadaire de race Arvana, originaire du Turkménistan, et les hybrides. Le chameau de Bactriane est cependant largement majoritaire (80% du troupeau national en 2002). La race de Bactriane kazakhstanaise est particulièrement réputée pour sa productivité en laine et en viande alors que les dromadaires de race Arvana se distinguent plutôt par leur productivité laitière. Les élevages camelins mixtes sont assez courants dans tout le pays et l'hybridation entre les deux espèces est communément pratiquée, notamment pour améliorer le rendement laitier des chameaux de Bactriane (Konuspayeva, 2007).

### I.1.3 Consommation du lait de jument et de chamelle au Kazakhstan

Le lait de ces deux espèces non-conventionnelles est généralement consommé sous forme de boissons traditionnelles fermentées : *shubat* (chamelle) et *koumis* (jument) (Konuspayeva, 2007). La fermentation du lait de chamelle fait partie des traditions ethniques des peuples d'Asie Centrale (Konuspayeva et Faye, 2011). Le lait de vache est consommé principalement dans les villes alors que le *shubat* et le *koumis* sont culturellement importants et consommés aussi bien par la population rurale que citadine. Les produits de la transformation du lait de chamelle sont spécifiques aux pays d'Asie Centrale et sont issus d'une technologie fort ancienne, inscrite dans la tradition (Konuspayeva et al., 2011a).

La fabrication de *shubat* et de *koumis* utilise des procédés artisanaux ou semi-artisanaux. Le mode de préparation peut ainsi changer selon les régions et les saisons (Konuspayeva, 2007). Cependant, une fabrication à l'échelle industrielle existe depuis quelques années dans quelques laiteries au Kazakhstan.

Au Kazakhstan, le lait et les produits laitiers contribuent à plus de 90% au régime alimentaire journalier (Photo 2) et le lait de chamelle occupe une large part, soit : 37% (FAO, 1998). Une part importante de ce lait est donc transformée (à 90%) sous plusieurs formes commercialisables (*shubat*, *chal*, *kourt*, *balkaimak*) (Konuspayeva et al., 2003).



**Photo 2** : Brassage du lait de chamelle fermenté ou *shubat* (photo B. Faye).

### I.1.4 Utilisation médicinale et thérapeutique du lait de chamelle et shubat

La tradition attribue à ces laits des vertus thérapeutiques. Bien que ces allégations restent non vérifiées par des études scientifiques rigoureuses, ces produits entrent dans des protocoles thérapeutiques pour la plupart mis au point par les médecins de l'ex URSS.

Le *koumis*, aliment traditionnel est utilisé pour le traitement de la tuberculose, ce qui représente un véritable patrimoine national de la lutte contre cette maladie. La médecine moderne utilise le *koumis* en traitement combiné avec des antibiotiques. Le *koumis* peut aussi être utilisé contre des maladies gastro-intestinales et différentes infections. Deux mille tonnes du *koumis* sont encore utilisées par les établissements de cure contre la tuberculose (Anonyme 4, 2011).

De génération en génération, les consommateurs kazakhs de lait de chamelle ou de *shubat* ont attribué à ces produits des propriétés médicinales. Ce qui est aussi le cas dans de nombreux pays, où le lait de chamelle est réputé avoir de nombreuses vertus thérapeutiques. Son usage pour le traitement de la tuberculose (Urazakov et Bainazarov, 1974 ; Mal et *al.*, 2000), de la gastroentérite et des ulcères, du diabète (Mohamad et *al.*, 2009) est couramment cité dans la littérature (Konuspayeva et *al.*, 2003). On lui reconnaît également des effets immunostimulants dans le traitement de maladies graves comme le cancer (Yagil et Creveld, 2000). Son effet reconstituant, ses propriétés anti-infectieuses sont amplement soulignés par divers auteurs (Djangabilov et *al.*, 2000 ; Chuvakova et *al.*, 2000).

Le *shubat*, riche en bactéries lactiques qui renforcent les propriétés anti bactériennes du lait, est utilisé pour la prévention et la lutte contre les diarrhées (Konuspayeva et *al.*, 2003). Les effets médicaux du lait de chamelle et des produits dérivés sont connus dans le monde entier. Au Sahara, le beurre frais fabriqué avec du lait de chamelle est utilisé souvent dans des préparations médicinales. Des maladies auto-immunes ont été traitées avec succès en utilisant des cures de lait de chamelle. En Inde, le lait de chamelle est utilisé contre l'hydropisie, la jaunisse, les problèmes de la rate, la tuberculose, l'asthme, l'anémie et les hémorroïdes (Al-Awadi et Srikumar, 2001).

Le lait cru peut être considéré comme un antiviral contre le rotavirus humain. L'effet antiviral du *shubat* pourrait être expliqué par la présence de molécules produites par les bactéries lactiques et les levures et/ou par l'action directe des bactéries lactiques et des levures sur les particules virales (Chaudhary et Azeem, 2004). Le lait de chamelle est aussi utilisé pour traiter les maladies de Crohn et de Parkinson (Anonyme 5, 2011).

La faible quantité en  $\beta$ -caséine et l'absence de  $\beta$ -lactoglobuline expliquent les propriétés hypoallergiques du lait de chamelle (Konuspayeva et *al.*, 2009).

Les composants protéiques ayant des propriétés antimicrobiennes comme la lactoferrine (El-Hatmi et *al.*, 2006 ; El Agamy et *al.*, 1992), le lysozyme (El Agamy et *al.*, 1996), les immunoglobulines (Atarhouch et *al.*, 1997 ; El-Hatmi et *al.*, 2006, Levieux et *al.*, 2006), la lactoperoxydase (Sabumukama, 1997 ; Loiseau et *al.*, 2001) sont en concentration importante dans le lait de chamelle (Photo 3).



**Photo 3** : Le lait de chamelle fermenté (*shubat*) est apprécié des consommateurs pour ses allégations santé (Photo G. Konuspayeva).

Les teneurs élevées en vitamine C (Farah et *al.*, 1991 ; Mohamed et *al.*, 2005) et d'insuline résistant au suc gastrique (Konuspayeva et Faye, 2011) sont également des facteurs pouvant justifier l'usage « médicinal » du lait de chamelle.

Tous ces éléments sont en effet présents en quantité plus importante dans le lait de chamelle et sont aussi généralement plus thermorésistants, les IgG en particulier, (Konuspayeva et *al.*, 2003 ; Konuspayeva et Faye, 2011).

Ces observations militent donc pour supporter l'hypothèse des propriétés « médicinales » du lait de chamelle. Toutefois, des essais cliniques incontestables sont nécessaires pour étayer toutes les hypothèses émises par les consommateurs et certains scientifiques car beaucoup d'observations relèvent d'approches empiriques et subjectives.

### I.1.5 Les propriétés du shubat

Le *shubat* bénéficie des avantages de la composition chimique du lait mais aussi des avantages liés à la fermentation lactique et à la présence de bactéries lactiques vivantes présentes en grand nombre qui peuvent exprimer leurs propriétés probiotiques.

Le *shubat* est un stimulateur de l'activation des sécrétions de l'estomac (augmentation de la quantité de sucs gastriques), en conséquence de quoi, il améliore les propriétés digestives, celles-ci étant même supérieures à celles obtenues par l'ingestion de kéfir. La microflore spécifique du *shubat* dépend directement de celle du lait cru, des ferments utilisés, quand ils le sont, et des conditions de la fermentation (Serikbayeva et *al.*, 2005).

Le *shubat* est riche en bactéries lactiques qui sont en grande partie responsables de ces propriétés antimicrobiennes contre les germes pathogènes responsables de toxico-infections alimentaires (Puzyrevskaya et *al.*, 2000; Saubenova et *al.*, 2002). Le *shubat* est ainsi fréquemment utilisé dans la prévention et la lutte contre les diarrhées. L'activité inhibitrice du lait et du colostrum de chamelle ont été étudiées par Benkerroum et *al.* (2004). *Bacillus cereus* s'est montré résistant contre l'activité inhibitrice, alors que *Listeria monocytogenes* LMG 13304 et *Escherichia coli* O78 :K80 se sont avérés plus sensibles. Le lait de chamelle et le colostrum ont un effet bactériostatique sur *Listeria monocytogenes* LMG 13304 pendant les 8 premières heures.

### I.1.6 Composition et propriétés physico-chimiques du lait de chamelle au Kazakhstan

Si dans sa composition globale, le lait de chamelle diffère peu du lait de vache, sa composition fine se différencie nettement des autres laits consommés généralement par l'homme (Yagil et Creveld, 2000). Comme le montrent les données du tableau 1, on note des quantités un peu plus élevées en minéraux et en vitamines (Konuspayeva, 2007 ; Al-Awadi et Srikumar, 2001 ; Konuspayeva et Faye, 2011). Les minéraux du lait de chamelle comme Se et Fe sont associés avec les fractions protéiniques de faible poids moléculaire. Ce qui augmente leur capacité digestive ou leur biodisponibilité (Al-Awadi et Srikumar, 2001; Saitmuratova et *al.*, 2001). Konuspayeva (2007) a montré que le lait de chamelle du Kazakhstan était globalement plus riche (vitamine C, matières grasses, calcium, phosphore, fer) que la plupart des laits de chamelle décrits dans la littérature (Tableau 1). Le rapport des acides gras insaturés/saturés est en faveur du lait de chamelle comparé au lait de vache. Cette composition donne un

avantage nutritionnel au lait de chamelle Mais sa teneur en cholestérol total est plus élevée que dans le lait de vache (Konuspayeva et *al.*, 2008 b).

**Tableau 1** : Propriétés physico-chimiques et composition du lait de chamelle au Kazakhstan (Konuspayeva, 2007).

Paramètres	Moyenne et Ecart-type	Max	Min
Matières Grasses, %	5,96 ± 2,52	24,77	0,00
Matières Sèches Ecrémé, %	11,02 ± 3,78	29,54	5,71
Densité, A°	33,97 ± 6,50	61,06	18,00
pH	6,45 ± 0,51	7,35	4,67
Dornic, D°	26,6 ± 15,2	101,7	15,8
SH°	11,8 ± 6,8	45,2	7,0
Turner, °T	26,5 ± 13,0	116,5	17
Protéines, %	3,46 ± 0,79	6,71	1,44
Lactose, %	3,00 ± 0,86	5,90	0,00
Vitamine C, mg/L	154 ± 105	435	15
Iode	17,54 ± 11,04	91,69	0,00
Matières Azotées Totales, %	3,20 ± 0,78	5,63	1,31
Ca, g/L	1,232 ± 0,292	2,340	0,530
P, g/L	1,003 ± 0,217	1,770	0,520
Fer mg/L	2,02 ± 1,24	12,40	0,70
Urée, mg/L	82 ± 60	291	0
Ammoniaque, mg/L	5 ± 10	46	0

Les concentrations en lactoferrine, lysozyme et immunoglobulines du lait de chamelle sont plus élevées par rapport aux autres laits. La teneur en vitamine C est de 3 à 10 fois plus élevée que dans le lait de vache, ce qui est une des propriétés distinctives du lait de chamelle (El-Agamy et *al.*, 1996; Konuspaveva, 2007 ; Konuspaveva et *al.*, 2007 ; Konuspaveva et *al.*, 2008a). Cependant, l'espèce, la région, et la saison sont des facteurs importants de variation qui modulent la composition du lait de chamelle (Konuspayeva et *al.*, 2008a ; Konuspaveva et *al.*, 2008b).

### I.1.7 La steppe, une zone écologiquement menacée - Impact sur l'élevage camelin laitier

Produit dans les zones traditionnelles d'élevage en milieu aride, le lait de chamelle présente de nombreux atouts qui lui confèrent un potentiel de développement fort dans les zones difficiles où la pauvreté rurale est répandue. En Asie Centrale, sa production présente moins de contraintes que celle des autres lait (vache, brebis, chèvre) (Konuspayeva et *al.*, 2003). En effet, les chameaux supportent bien le climat continental des régions les plus arides et permettent la valorisation agricole de ces zones (Konuspayeva, 2007). Il existe peu d'autres animaux combinant, comme le chameau, des productions non négligeables de lait et de viande, des capacités de travail et des conditions d'adaptation aux écosystèmes désertiques. Avec les changements climatiques, on peut observer d'ailleurs une tendance au changement d'espèces. En effet, les dromadaires suivant l'aridification du milieu tendent à remplacer les bovins, augmentant en conséquence, leur valeur économique.

Pour autant, les régions de prédilection de l'élevage camelin, bien que basées sur un élevage extensif et un accès à des ressources naturelles, n'en sont pas moins fragilisées par les risques de pollution. Au Kazakhstan les troupeaux camelins sont élevés principalement sur les pâturages naturels de la steppe (photo 4), dans des zones caractérisées par un relief désert monotone, de faibles précipitations, un grand ensoleillement, et une végétation résistante à la sécheresse, soit la moitié sud du pays. Cependant, couvrant plus de 180 millions d'hectares (Konuspayeva et *al.*, 2003), dont 75% de type désert ou semi-désert, la steppe d'Asie Centrale est affectée par la salinisation (35 mlns ha) rendant ces territoires inutilisables pour l'élevage des animaux sauf le chameau qui supporte des teneurs élevées en sel dans sa ration.

L'environnement kazakh et en particulier les régions steppiques sont fortement affectés également par la pollution de l'air, de l'eau, du sol ou des végétaux par des éléments chimiques, minéraux ou radioactifs. Ainsi, 40 millions d'ha de "terres vierges" des steppes du nord du Kazakhstan (près de 15% du territoire) ont été défrichées mais se sont vite dégradées après quelques années de bonnes récoltes.



**Photo 4** : Chameaux de Bactriane dans la steppe centrale du Kazakhstan (photo B. Faye).

D'autre part, l'élevage, déplacé par les cultures, s'est concentré dans les steppes plus arides et les quasi-déserts du Kazakhstan central et oriental, entraînant un fort surpâturage, accentuant la dégradation des sols. La steppe kazakhe a subi au cours de l'histoire récente, des détériorations importantes de son environnement : par exemple, les zones d'élevage de camélidés correspondent aux champs pétrolifères exploités (Ouest Kazakhstan – pollution par les hydrocarbures), aux régions où sont localisées les usines de traitement d'uranium (Sud de Kazakhstan – pollution par les radionucléides), et aux zones périphériques des industries des grandes villes (Sud-ouest et Sud-est Kazakhstan – pollution par les métaux lourds) (Konuspayeva, 2007 ; Konuspayeva et *al.*, 2011). Toutes ces sources de pollution, dont les métaux lourds,

contaminent la végétation et donc le fourrage et l'herbe en pâturage libre (Soldberg et Steinnes, 1983 ; Chhabra et Singh, 2005) que le bétail consomme.

Comme dans beaucoup de pays, l'élevage des animaux au Kazakhstan se localise sur les territoires à proximité des voies de communication comme les autoroutes ayant un trafic parfois intense. La mise en pâture sur le bord des routes est, selon Bhatia et Choudhri (1996), un facteur augmentant le risque que le lait produit par ces animaux soit indirectement contaminé en plomb par le biais de l'alimentation. Ce même risque, existe probablement lorsque le bétail est nourri avec les résidus de cultures pour lesquelles des fertilisants phosphatés ont été utilisés (Diacono, 2007).

Quelques études réalisées au Kazakhstan ont permis de faire un état des lieux relatif à la présence de métaux lourds, de pesticides et de radionucléides dans l'environnement (fourrage et eau), le lait et *shubat*. Les résultats montrent que les échantillons laitiers les plus contaminés proviennent des régions les plus polluées (Diacono *et al*, 2008 ; Akhmetsadykova, 2008). En premier lieu, cela pose un risque pour la sécurité sanitaire mais également sur les processus de transformation des produits laitiers (Faye, 2009).

L'animal est un élément bio-accumulateur dans la chaîne trophique qu'il transmet à l'homme consommant ses produits (viande, lait, œufs, miel), les polluants et résidus s'accumulant au cours du cycle de vie de l'animal (Simsek *et al.*, 2000 ; Faye, 2008, Konuspayeva *et al.*, 2011a).

Comme le lait est l'un des constituants majeurs de l'alimentation humaine, même des quantités faibles en métaux lourds dans différents produits laitiers peuvent induire des problèmes sanitaires sérieux (Diacono, 2007). C'est pourquoi les travaux sur l'impact des sources polluantes sur la qualité et la production du lait de chamelle et *shubat*, ainsi que les méthodes de détoxification des produits laitiers pour éviter la concentration des polluants dans l'organisme humain sont actuels.

## **I.2. Les risques de contamination environnementale du lait : l'exemple du Kazakhstan**

### **I.2.1 Ressources naturelles au Kazakhstan**

En principe, sous la dénomination ressources naturelles renouvelables, on comprend les ressources qui peuvent être exploitées sans épuisement, et sont capables de se régénérer en permanence. Elles regroupent l'eau, les sols (terres cultivables) ainsi que les ressources biologiques, qui sont constituées par les communautés vivantes exploitées par l'homme (forêts, pâturages, pêcheries maritimes, biodiversité, espèces animales et végétales) et par les ressources génétiques (variétés de plantes cultivées et races d'animaux domestiques) (Anonyme 6).

Le Kazakhstan est très riche en ressources naturelles. Sur son territoire se trouvent plus de 7 000 fleuves, chacun de plus de 10 km. Il a accès à deux "lacs-mers" (les mers fermées de la Caspienne et d'Aral). Ses réserves d'eau s'élèvent à 110 km<sup>3</sup>. Sa surface terrestre est énorme : 272,5 mlns d'hectares, dont 9,6 mlns de forêts, 35 mlns de terres cultivées (Anonyme 7).

Durant la période soviétique, les structures agricoles ont été collectivisées et les kazakhs nomades à l'origine ont été forcés de se sédentariser. Entre 1960 et 1980, des zones de pâturage ont été converties en zones de cultures, avec la campagne de «Valorisation des terres vierges» (Lahmar, 1997).

De vastes régions de l'Ouest, Centrale et du Sud du Kazakhstan, sont des semi-déserts et des déserts (60% du pays), et en raison du manque aigu d'humidité atmosphérique, ils ne peuvent être utilisés que pour le pâturage (Anonyme 8).

Le Kazakhstan reste un pays aux ressources fourragères majoritairement naturelles. L'alimentation de bétail dépend des pâturages naturels et de l'eau. Le cheptel peut parcourir de grandes distances depuis la ferme pour se nourrir. En été, les troupeaux montent sur les montagnes et en hiver en descendent, et se déplacent dans les endroits plus chauds. Pendant toute l'année, les animaux paissent sur les pâturages naturels sauf en hiver où l'animal peut recevoir des céréales. Les ressources fourragères naturelles représentent plus de 10 millions d'hectares.

Pour assurer à la population humaine la fourniture de produits d'animaux sains, il faut contrôler la qualité et la sûreté des fourrages consommés.

## 1.2.2 Les contaminations environnementales au Kazakhstan et les sources de pollution potentielles

Certains endroits en Asie Centrale sont contaminés par des composants toxiques comme les radionucléides, métaux lourds et polluants organiques permanents (POPs) (Faye and Sinyavskiy, 2008; Konuspayeva et al., 2011a).

Le Kazakhstan est par endroits en situation de "crise écologique" à cause des activités anthropogènes (l'extraction des minéraux et métaux, déchets militaires, irradiation, agriculture intensive, etc.) (Konuspayeva et al., 2009) et des facteurs naturels (érosion, migration de criquets, etc.) avec tous les inconvénients comme la contamination de l'environnement, la diminution de la biodiversité et les dérèglements climatiques.

### 1.2.2.1 Contaminations environnementales



Figure 2 : Carte de l'écologie du Kazakhstan (Diacono, 2007).

La figure 2 représente la répartition des différentes sources de pollution et de contamination environnementale au Kazakhstan. Le tableau 2 met en avant les différents risques écologiques auxquels le Kazakhstan est soumis (Diacono, 2007).

**Tableau 2** : Risques environnementaux au Kazakhstan (Diacono, 2007).

<b>Facteurs de risque</b>	<b>Zone concernée</b>	<b>Notes</b>
Sécheresse	Tout le Kazakhstan	Sécheresse importante en 1991
Tempête de neige	Régional/saisonnier	Tous les herbivores sont affectés
Incendie	Varie en fonction de l'année et de la saison	
Plantes invasives	2,5 à 4,5 millions d'hectares	Inclus des plantes toxiques
Migration de Criquets	8 millions d'hectares en 2000	Fermes abandonnées sont de bons sites de reproduction
Erosion éolienne	50 millions d'hectares	Formation de dunes de sables menace les parcelles agricoles et les villages
Erosion hydrique	6 millions d'hectares	
Salinisation	3-4 millions d'hectares (dont plus de 2 millions autour mer d'Aral)	Risques de tempête de poussières salées dans le reste du Kazakhstan et au-delà
Irradiation et déchets militaires	11 millions d'hectares	Zone d'essais de Semilpalatinsk et autres
Programmes spatiaux	4,8 millions d'hectares	Propergol et déchets de sa combustion le long de la trajectoire de vol des fusées

#### *Ressources minières et industries*

Les matières premières minérales et les combustibles fossiles sont des ressources non renouvelables qui proviennent de gisements formés au cours de l'histoire géologique de la Terre et correspondant à un stock, par essence même, épuisable (Anonyme 9).

Les ressources naturelles du sous-sol sont l'une des richesses principales du Kazakhstan qui le placent au 6ème rang mondial des réserves en ressources naturelles (Anonyme 10). Troisième puissance industrielle de la CEI, le Kazakhstan possède d'énormes gisements minéraux, un secteur agricole grandissant et innovant, et une industrie pétrolière et gazière arrivant à maturité qui ont donné au Kazakhstan une longueur d'avance sur ses voisins d'Asie Centrale au niveau économique (Service d'exportation agroalimentaire de Canada, 2007). Le Kazakhstan exporte ses ressources naturelles sur les marchés internationaux «à travers l'Iran par la mer Caspienne, à travers la Chine vers l'océan Pacifique et l'océan Indien ou vers l'Europe à travers la Turquie» (Anonyme 11).

#### *La métallurgie*

Au Kazakhstan, les mines de métaux ont beaucoup souffert de l'effondrement des relations commerciales après le démembrement de l'Union Soviétique. Grâce à des investissements étrangers, ce secteur montre des signes de reprise. Une demande stable en Asie orientale a aidé le secteur des métaux et des minéraux à remonter la pente (Service d'exportation agroalimentaire du Canada, 2007).

L'industrie métallurgique est responsable de plus de 15% de la production industrielle totale du Kazakhstan, y compris 4,4% de la métallurgie lourde et 10,9% de la métallurgie légère (Anonyme 12). Le Kazakhstan exporte essentiellement les métaux ferreux et non-ferreux (35 %), et les produits minéraux (34 % du volume total des exportations). En 2009, le Kazakhstan a principalement exporté : des produits

minéraux: 74 % et des métaux : 12,7 %. Les gisements minéraux sont superficiels et sont exploités à ciel ouvert. Le complexe métallurgique du Kazakhstan comprend l'extraction, le raffinage et la fusion de différents métaux (Anonyme 13).

Au total, 99 éléments des 110 de la table des éléments chimiques de Mendeleïev ont été trouvés dans le sous-sol du Kazakhstan dont 70 sont exploités. On en extrait et utilise 60. Le pétrole, le gaz, l'uranium, le zinc, le tungstène, le borite, l'argent, le plomb, les chromites, le cuivre, les fluorites, le molybdène, l'or sont parmi les plus abondants. La richesse en minéraux et matières premières de la République du Kazakhstan comprend 5004 gisements, pour une valeur estimée à environ 46 trillions USD.

À l'échelle mondiale, le Kazakhstan est le plus grand producteur de tungstène, et selon ses stocks et ses réserves de plomb et du fer, il est au premier rang mondial. Il est également parmi les premiers rangs pour ses réserves mondiales d'uranium : 50% des réserves de l'ex-URSS et entre 15-19% des réserves mondiales d'uranium, selon diverses estimations (Anonyme 14 ; Panin, 2002).

Le pays est le deuxième producteur selon les stocks des minerais phosphoriques et de chrome (30% des réserves mondiales), de zinc et d'argent. Le Kazakhstan occupe le troisième rang, après les Emirats Arabes Unis et l'Ukraine, en termes de réserves de minerai de manganèse (25% des réserves mondiales totales), et la septième place au plan de l'extraction. Quatrième producteur mondial pour le molybdène, cinquième réserve mondiale de cuivre, huitième pour les stocks totaux du minerai de fer (16,6 milliards de tonnes) après le Brésil, l'Australie, le Canada, les États-Unis, l'Inde, la Russie et l'Ukraine, le Kazakhstan se place aussi parmi les vingt plus grands producteurs mondiaux de fonte et d'acier. Parmi les pays de la CEI, le Kazakhstan est le troisième plus grand producteur d'acier brut et fini, après la Russie et l'Ukraine. Il dispose également de réserves conséquentes de métaux rares comme le bismuth, cadmium, béryllium, osmium, gallium et des métaux précieux : l'or, d'autres minerais rares ainsi que des diamants (Anonyme 12). La production du cuivre raffiné atteint le volume de 3 millions de tonnes, et celle du titane à 11 000 tonnes (Anonyme 7).

Plus de 100 gisements de charbon sont exploités sur le territoire du Kazakhstan. Il est aussi riche par les réserves des matières premières chimiques : des gisements les plus riches des sels potassiques et autres, des borates, des dérivés du brome, des sulfates, des phosphorites, diverses matières premières pour l'industrie de peinture et de vernis. Les réserves énormes de pyrite dans les minerais polymétalliques permettent d'organiser largement la production de l'acide sulfurique et d'autres produits chimiques (Anonyme 10).

Les industries métallurgiques sont localisées dans les différentes régions du pays. La métallurgie du cuivre est développée dans le Centre (Balkhach, Jezqazghan mines et usines métallurgiques, etc.) et dans l'Est du Kazakhstan (Deep). L'industrie du plomb et du zinc dans l'Est (Oust-Kamenogorsk, l'Irtych) et le sud du Kazakhstan (Tekeli et Chymkent). Celle de l'aluminium dans le nord (mine de bauxite à Arqalyk, production d'alumine et d'aluminium à Pavlodar). L'industrie du fer est localisée dans la région de Koustanaï et de Karaganda. Citons également le chromite (région Aqtöbe) et le minerai de manganèse (Manguychlak, Zhezdy), le cuivre (dans la partie centrale et l'Est du Kazakhstan), les minerais de nickel (Mugodzhary), or, titane, molybdène et autres métaux de base, les phosphates (dépôts Karataou et la région Aqtöbe), sels de sodium et de potassium (mer d'Aral, Balkhach, etc.), le charbon et le lignite (Karaganda, Ekibastouz).

L'industrie chimique comprend la production de sels de sodium et de potassium, de phosphate pour les engrais (Zhambyl, Chymkent, Aqtöbe), les engrais azotés (Karaganda), l'acide sulfurique (Chymkent, Oust-Kamenogorsk, Balkhach), basée sur l'utilisation des ressources locales de matières premières minérales (phosphate de

roche, sel), et les déchets de la métallurgie ferreuse et non ferreuse (coke et de dioxyde de soufre) (Anonyme 13). C'est dire l'importance des ressources minières dans le pays ainsi que des industries fournisseuses de déchets de toute nature, soit autant de sources potentielles de pollution.

L'exploitation de ces ressources n'est pas sans conséquences sur l'environnement.

Une des activités les plus polluantes est celle des centrales électriques alimentées en charbon de mauvaise qualité (Diacono, 2007). L'installation des industries métallurgiques durant la période soviétique a contribué à de hauts niveaux d'émission de CO<sub>2</sub> et à des taux élevés de contamination des rivières du pays par les métaux lourds et autres substances toxiques (Brummel, 2008). Les fumées émises par les industries contiennent certains dérivés de métaux lourds qui sont ainsi libérés dans le milieu extérieur. Entre 1990 et 1999, les émissions dans l'atmosphère ont été réduites de moitié (de 4 à 2 millions de tonnes), ce qui a été principalement dû à la réduction des activités industrielles. La récente reprise de ces activités avec le développement de la coopération entre l'Etat kazakh et des firmes étrangères a entraîné une hausse constante des émissions. En 2003, la quantité totale de rejets de substances polluantes provenant de sources stables dans l'atmosphère était de 2,9 millions de tonnes (dont 0,7 sous forme solide). Les émissions avaient augmenté de 19% par rapport à 2002 (Ministère de l'environnement de la République du Kazakhstan, 2007).

Les techniques d'exploitation minière utilisent des méthodes archaïques. La pollution atmosphérique est également la conséquence de l'augmentation annuelle du parc automobile et de l'utilisation d'une essence au plomb. Les rejets provenant de sources mobiles (transports principalement) sont importants : il y aurait eu 1190 milliers de tonnes rejetées dans l'atmosphère en 2003 (Ministère de l'environnement, de la République du Kazakhstan, 2007). Environ 22 milliards de tonnes de déchets industriels ont été accumulés sur le territoire du pays. Le volume annuel de déchets industriels toxiques augmente constamment. La majorité des déchets produits ne sont ni recyclés, ni réutilisés, ils sont abandonnés sur le territoire (Esekin et *al.*, 1998) (Figure 2). Une vaste partie du territoire est donc sacrifiée, rongée par l'accumulation des déchets toxiques, dans des décharges, des carrières abandonnées ou des forages. Les problèmes de pollution des sols par les substances toxiques s'aggravent avec l'accroissement de l'activité industrielle. Les principaux polluants des sols sont les métaux lourds et les substances chimiques toxiques.

Même s'il y a des signes de la préoccupation grandissante de l'Etat pour améliorer la situation (Brummel, 2008), les conséquences sur la population et l'environnement sont considérables et les études évaluant leur impact restent encore trop rares.

#### *Le secteur du pétrole et du gaz*

Le secteur industriel repose en grande partie sur l'exploitation du pétrole et du gaz qui représente 57 % de la production industrielle.

Le Kazakhstan occupe le 11e rang mondial au niveau de ses réserves de pétrole (plus de 3% des réserves mondiales) et le 15e au niveau de réserves de gaz (Anonyme 14).

Actuellement, le Kazakhstan occupe la deuxième place au sein de la CEI, après la Russie, en termes d'extraction des hydrocarbures non raffinés, y compris le gaz à condensat. Quant à l'extraction du gaz, le Kazakhstan est en troisième position après la Russie et l'Ouzbékistan (Anonyme 12).

Le Kazakhstan possède plus de 160 gisements dont le volume total de ressources monte à 2,8 milliards de tonnes de pétrole et 1,7 billions de mètres cubes de gaz (Anonyme 7).

En 2010, l'extraction du pétrole et du condensé de gaz était de 79,6 millions de tonnes, du gaz 37,4 milliards de m<sup>3</sup>. Le volume journalier d'extraction du pétrole et du condensé de gaz est de plus de 200,000 tonnes. D'ici 2015, le pays produira jusqu'à 3 millions de barils par jour. Le Kazakhstan entrerait alors dans le top 10 des pays producteurs mondiaux. En 2015, l'extraction se situerait à un niveau de 100 à 110 milliards de barils, soit le 5<sup>ème</sup> rang mondial.

Actuellement, 3 raffineries fonctionnent dans les villes de Pavlodar, Chymkent, Atyrau. Or, le Kazakhstan n'a pas de cycle complet de traitement profond de la matière première d'hydrocarbures. Le gouvernement travaille sur la modernisation et la rénovation des raffineries; les nouvelles productions innovantes sont en cours de construction. Le transport de pétrole et de condensé de gaz pour l'export est effectué par le biais des oléoducs (79%), chemins de fer (8%), transport maritime (13%).

De l'extraction au stockage de cet or noir, différents produits chimiques et dérivés du pétrole sont alors rejetés dans le milieu naturel. En effet, l'exploitation de gisements pétroliers sous-marins et des autres champs pétrolifères situés sur la côte de la mer Caspienne, pose un problème écologique majeur dans cette région. Les eaux domestiques sont contaminées par le déversement des eaux souillées par cette industrie sur les zones côtières. En résultent des problèmes sanitaires importants (infections intestinales, nombreux cas de tuberculose chez les hommes) et de la perte de biodiversité. La production mondiale de caviar est assurée à 90% par les esturgeons de la mer Caspienne, mais la diminution de la pêche de ce poisson liée à la surexploitation d'une part et à la pollution de la mer d'autre part commence à poser des problèmes. De plus, depuis 25 ans, les habitants d'Atyrau (ville sur la côte Nord de la mer Caspienne) voient le niveau des eaux monter. Parfois le niveau de l'eau peut s'élever de 2m 50 et inonder plusieurs zones (Diacono, 2007).

### *Contamination radioactive*

Le facteur le plus important de la pollution radioactive est le polygone de test nucléaire entre 1949-1989 (Panin, 2002). Les essais nucléaires ont représenté au total entre 470 et 486 bombes nucléaires (A et H) (30 au sol, 90 en altitude et 354 sous terre). Ces essais ont contaminé une vaste partie du pays, soit une contamination équivalente à l'irradiation de Tchernobyl pendant 4 ans. Ces essais étaient concentrés au nord-est du pays dans le polygone de Semeï (Diacono, 2007).

Il existe d'autres sites nucléaires : la base militaire nucléaire de Cary-Ozek, celle de Cary-Shagan ou encore aujourd'hui celle de Baïkonour, devenue base de lancement spatial. Concernant cette dernière, une étude publiée dans la revue Nature en 2005, a montré que depuis 40 ans ce dernier site et ses environs étaient pollués suite à la retombée des étages propulseurs et des réservoirs contenant de grandes quantités d'hydrazine qui ont été libérées dans l'atmosphère et sont retombées sur des milliers de kilomètres carrés. Or l'hydrazine est un gaz toxique. Les médecins constatent aujourd'hui qu'il y a deux fois plus de cancers dans la population des enfants que dans la moyenne de la population nationale. Les adultes se plaignent également de malaises qui semblent bien liés à la dispersion de ce gaz dans l'atmosphère (Giles, 2005).

Le site principal de Semeï fut fermé en 1991, suite à un mouvement de protestation et la signature de pétitions avec le soutien de mouvements antinucléaires internationaux. Cette région a été cependant déclarée «zone écologique sinistrée», et l'agriculture y est interdite. Dans cette zone, qui n'est pas dépeuplée, la mortalité infantile est 10 fois plus élevée, et l'espérance de vie est diminuée de 15 ans par rapport au reste du pays. Il y a également une augmentation importante des avortements, de nombreux cas d'anémie et d'anomalies chromosomiques. Les résidus ou matériaux radioactifs de ce polygone ont été enfouis dans un tunnel en juillet 2000 obstrué par l'explosion de 100 tonnes d'explosifs (conventionnels). Le Kazakhstan a

hérité également, lors de son indépendance, de 1400 ogives nucléaires russes. Aujourd'hui ces ogives auraient été restituées à leur propriétaire, mais le Kazakhstan possède encore de grandes réserves d'uranium militaire.

En 1989, un nuage radioactif de 10 km de diamètre a été produit par un essai souterrain. Les autorités militaires du polygone informèrent immédiatement le gouvernement. Les Nations Unies furent informées également. Une enquête menée par les autorités soviétiques a abouti à la conclusion que « tout allait bien et que les maladies signalées étaient sûrement dues à la radiophobie et à l'alcoolisme, à une mauvaise alimentation ou à une pollution chimique » (Diacono, 2007).

Des vastes territoires (21,5 mlns ha) sont occupés par des usines d'armements dans les régions d'Aqtöbe, Atyraou, Taraz, Zhezkazgan, Kyzylorda et à l'Est du Kazakhstan désormais contaminés (Artemiev et al., 2000). Le gouvernement soviétique utilisait le nucléaire à d'autres fins que des fins militaires. En 1974, une bombe de 140 kT (mise à feu à 100 m sous terre) fut utilisée pour relier les rivières Tchagan et Achys par un canal afin d'améliorer l'irrigation de la région. L'explosion de cette bombe projeta dans l'air des milliers de tonnes de roches et de poussières radioactives dont les retombées ont été 3000 à 4000 fois supérieures à la norme internationale. D'autres bombes atomiques furent utilisées pour creuser des cratères destinés à devenir des poubelles pour les déchets nucléaires. Ainsi, 37 cratères ont été créés, dont 17 près de la mer Caspienne.

Un grand apport à la contamination radioactive est dû aux sources industrielles de radiation ionisante (Kadyrzhanov et al., 2002). Les déchets radioactifs sont des risques majeurs pour l'environnement. Au Kazakhstan on a 237.197.000 tonnes de déchets radioactifs. Au total, il existe 529 places d'enfouissement surtout localisées au nord et sud du pays.

L'augmentation de la concentration des radionucléides dans de nombreux sites est un des problèmes radio-écologiques majeur du Kazakhstan. Sept cent ressources naturelles sont contaminées par les radionucléides. Une contamination des eaux périphériques, des lacs de quelques territoires par des isotopes radioactifs de strontium et césium ont été observés. Les cavernes souterraines des explosions nucléaires utilisées comme des « sépulcres » pour enfouir des éléments radioactifs très dangereux. Quelques-uns d'entre eux sont localisés près des grandes rivières (Cherepnin, 2000) ce qui a conduit à contrôler et limiter leurs utilisations pour l'irrigation agricole (Panin, 2002).

Le développement actif des industries d'extraction du pétrole et gaz, qui contiennent l'uranium, dans les régions d'Atyrau et Mangoustau a amené à une contamination radioactive de zones adjacentes. Au total, 650 ha du territoire de ces régions ont été contaminés et 1,3 millions de m<sup>3</sup> de déchets radioactifs sont stockés (Kadyrzhanov et al., 2002).

L'exploitation de mines d'uranium au Tadjikistan et au Kirghizstan était importante pendant le période de l'Union Soviétique. La plupart de ces mines sont abandonnées. Certaines émanations radioactives continuent à se répandre, ce qui contamine les nappes phréatiques environnantes. Certaines de ces nappes phréatiques se jettent dans la mer d'Aral (Ouzbékistan et Kazakhstan) (Diacono, 2007).

### *Agriculture et assèchement de la mer d'Aral*

Plus de 12 % de la superficie du pays est constituée de terres arables et moins de 1 % sont irriguées. L'agriculture est le deuxième secteur économique du pays. Les céréales kazakhes sont exportées dans plus de 25 pays à travers le monde (Anonyme 12). Les principales cultures sont le blé, l'orge, le coton et le riz. Les exportations de blé constituent une source importante de devises étrangères au Kazakhstan; elles se classent au deuxième rang en importance, après les exportations de pétrole et de gaz,

et sont évaluées à 500 millions de dollars US par année (Service d'exportation agroalimentaire du Canada, 2007). Mais, la production de certaines cultures tient également une place importante dans la dégradation et la contamination de l'environnement au Kazakhstan et dans toute l'Asie Centrale. Dans la région du Sud Kazakhstan, la production de coton a nécessité d'importantes quantités d'engrais et de pesticides durant la deuxième moitié du 20<sup>ème</sup> siècle. En 2005, l'utilisation de certains pesticides a été interdite.

Au début des années 1990, la quantité d'engrais chimiques et de pesticides employés dans les Républiques d'Asie centrale était 7 à 8 fois plus élevée que la moyenne de l'ensemble de la République Soviétique (Lahmar, 1997). L'irrigation massive et incontrôlée nécessaire aux cultures soviétiques de coton dans des régions quasi-désertiques a eu d'immenses impacts sur tout l'écosystème de la région de la mer d'Aral. Ainsi le prélèvement abusif d'eau sur les deux fleuves alimentant cette mer a engendré son assèchement. (Schaposhnikov et Prisnyi, 2001 ; Diacono, 2007). La mer d'Aral pour l'année 2008 a perdu plus de 75% de sa superficie et 90 % de son volume (Bosch et al., 2007 ; Usmanova, 2003).

Le sel, le sable et les poussières se déplacent à des centaines de kilomètres transportant avec eux les résidus chimiques (hydrocarbure, phénols, substances synthétiques actives, pesticides organochlorés, métaux lourds) (Figure 2) (O'Hara et al., 2000).

Les conséquences sanitaires les plus importantes se situent à l'est de la mer d'Aral et au sud (jusqu'au nord du Turkménistan). Le climat dans la région est devenu plus continental et la désertification s'est intensifiée engendrant des tempêtes de poussières et la généralisation de la salinisation des terres. L'érosion éolienne a détruit 80% des zones de pâturages du Kazakhstan. La faune sauvage a quasiment disparu et des impacts sur les populations locales sont visibles. En effet, le sel et la poussière provoquent des maladies respiratoires et des cancers de la gorge et de l'œsophage. L'eau potable étant de mauvaise qualité, les populations sont victimes de typhoïde, de paratyphoïde, d'hépatite et de dysenterie (Lahmar, 1997).

Face à ce constat pour le moins alarmant, c'est dire l'ampleur des risques de pollution dans le pays et l'importance d'une vigilance des autorités et des chercheurs pour évaluer ces risques, pour les animaux d'élevage et pour les consommateurs des produits animaux.

De tout ce qui précède, il apparaît que les polluants majeurs au Kazakhstan sont des métaux lourds, les pesticides et les radionucléides. Dans la partie suivante, les propriétés physico-chimiques de chaque polluant sont décrites.

#### 1.2.2.2 Les métaux lourds

On appelle métaux lourds les éléments chimiques métalliques ou dans certains cas métalloïdes caractérisés par une masse volumique élevée, supérieure à 5 grammes par cm<sup>3</sup>. Quarante et un métaux correspondent à cette définition générale auxquels il faut ajouter cinq métalloïdes (Anonyme 15). Ils présentent tous une certaine toxicité pour l'homme. Seules les propriétés de cinq d'entre eux sont décrites ici car le Pb, le Cd, le Cr, le Cu et le Zn abondent dans les endroits pollués du Kazakhstan et sont dangereux pour la santé des populations. Cd et Pb sont les métaux lourds les plus toxiques pour l'homme. Les métaux lourds contrairement à d'autres composés toxiques, ne sont pas dégradables et tendent à s'accumuler dans les organismes exposés. L'exposition chronique des populations à de très faibles quantités peut conduire au

développement d'effets nocifs pour la santé (IARC, 1994 ; WHO, 1995; Satarug and Moore, 2004 ; IARC, 2006)

### Plomb

Le plomb, du latin *plumbum* est un métal, gris, habituellement trouvé en petite quantité dans la croûte terrestre. Il n'a ni goût ni odeur caractéristique. Le plomb est naturellement présent en moyenne à 0,002% dans la croûte terrestre (36e élément de la croûte terrestre), généralement sous forme peu soluble. Des dérivés inorganiques sont présents dans les eaux, les sédiments, les sols, l'atmosphère et éventuellement en microtraces chez les organismes vivants. Il en existe plusieurs isotopes stables dans la nature, le  $Pb^{208}$  étant le plus abondant d'entre eux. La masse moléculaire moyenne de cet élément est de 207,2. Comme c'est un métal mou résistant à la corrosion et ayant un point de fusion bas (327°C), on s'en est servi abondamment depuis l'époque des Romains. Par conséquent, il est fort répandu dans tout l'environnement (Recommandation Canadien pour la qualité du sol : Plomb, 1999).

L'utilisation du plomb est directement liée à la métallurgie. La révolution industrielle a entraîné de nouvelles utilisations massives et une augmentation exponentielle de son exploitation depuis un siècle. Pendant la première moitié du siècle, le plomb a été utilisé dans l'industrie, l'imprimerie et les peintures. Dans la seconde moitié du siècle, l'utilisation dominante est liée aux carburants automobiles, le plomb étant rajouté à l'essence comme antidétonant (Miquel, 2001). Cette utilisation est prohibée en France depuis 2000 mais le plomb est encore largement utilisé dans l'essence au Kazakhstan. Les principaux émetteurs de plomb, après la circulation automobile, sont les industries métallurgiques et les usines d'incinération des déchets (batteries ou accumulateurs en fin de vie). De nombreux progrès ont été faits en Europe grâce au tri des déchets et à l'épuration des effluents industriels, ce qui n'est pas le cas au Kazakhstan. .

Les autres activités entraînant des apports de plomb sont son utilisation dans l'émail de la vaisselle en céramique, les activités artistiques ou artisanales, l'utilisation pour la protection contre le rayonnement, le décapage d'objets peints et la rénovation entraînant la production de poussières ou de vapeurs de peinture.

### Effets toxiques du plomb sur la santé

Le plomb est un toxique cumulatif aux effets nocifs sur la santé, se faisant le plus sentir chez les fœtus, les nouveau-nés, les enfants de six ans ou moins et les femmes enceintes. La dose journalière tolérable pour le plomb est de 3,6 µg/kg de poids corporel. Le plomb peut pénétrer dans l'organisme humain par inhalation de vapeur de plomb ou de poussières (oxyde de plomb); par ingestion, qu'il s'agisse du plomb d'abord inhalé et ingéré à la suite des processus d'épuration pulmonaire, ou du plomb ingéré directement avec les aliments ou avec les poussières se trouvant sur les mains ou les objets portés à la bouche notamment chez le jeune enfant ; par voie cutanée (exposition professionnelle) ou par transmission à travers le placenta. Internationalement, les teneurs en Pb sont largement réglementées. La valeur limite dans l'eau est de 25µg/l dans l'Union Européenne (UE), 10µg/l par l'OMS et 15µg/l aux USA (AFSSA, 2006).

Chez l'adulte, environ 10 % du plomb ingéré est absorbé dans l'organisme. Les jeunes enfants absorbent de 40 à 53 % du plomb ingéré avec leurs aliments. L'absorption digestive du plomb augmente avec la vitamine D, les régimes riches en graisses ou carencés en calcium, phosphore et en fer. Chez l'enfant, on a évalué à 30 % le taux d'absorption gastro-intestinale du plomb contenu dans le sol et les poussières. La proportion de plomb présente dans l'atmosphère qui est absorbée dans les poumons par les adultes varie de 30 à 50 %.

L'intoxication au plomb s'appelle saturnisme, maladie décrite pour la première fois par le physicien Grec Hippocrate (en l'honneur du nom grec de la planète Saturne, l'ancien symbole du plomb). Chez l'adulte, le saturnisme désigne l'ensemble des manifestations de l'intoxication par le plomb. Chez l'enfant, le risque d'intoxication saturnique est plus élevé car il est lié à l'absorption digestive des dérivés du plomb plus importante que chez l'adulte. Chez les enfants dont la plombémie est comprise entre 500 et 700 µg/l, des troubles neurologiques moins sévères sont souvent observés : diminution de l'activité motrice, irritabilité, troubles du sommeil, modifications du comportement, stagnation du développement intellectuel. Les principaux organes cibles du Pb sont : le sang, le système nerveux, les reins, la rate, le foie et, les os (80-95%). Le plomb est responsable d'atteintes neurologiques. En cas d'intoxications massives, l'effet neurotoxique du plomb peut se traduire par une encéphalopathie convulsivante pouvant aller jusqu'au décès. En cas d'intoxication moins sévère, on a observé des troubles neurocomportementaux et une détérioration intellectuelle. Le plomb bloque plusieurs enzymes nécessaires à la synthèse de l'hémoglobine. Ces effets sanguins aboutissent à une diminution du nombre des globules rouges et à une anémie. La demi-vie biologique approximative du plomb est de 16 à 40 jours dans le sang et à peu près de 17 à 27 ans dans les os. Le plomb est principalement (75 %) éliminé dans les urines. 15 à 20 % du plomb sont éliminés dans les fèces. Le plomb est également excrété dans la salive, dans la sueur, dans les ongles, dans les cheveux (Picard, 2002 ; Cecchi, 2008 ; Recommandations canadiennes pour la qualité des sols : Plomb, 1999). Le plomb a été classé dans le groupe IIIB des substances possiblement cancérigènes pour l'homme (données insuffisantes chez l'homme, validité limitée des preuves chez les animaux). Il n'a pas été mis en évidence de surmortalité par cancer dans les populations humaines exposées au plomb bien qu'il ait été impliqué dans la carcinogenèse, la mutagenèse et la tératogenèse chez les animaux expérimentaux (Al-Alawdi, 2008).

### *Cadmium*

Le cadmium est un élément assez rare. Il est réparti uniformément dans la croûte terrestre, où sa concentration moyenne serait de 0,15 à 0,2 mg/kg. Le cadmium est un métal blanc argenté, brillant mais qui se ternit; il est malléable et ductile. Dans la nature, on le trouve sous forme de divers composés minéraux et de complexes de chélateurs naturels; les composés organocadmiés, extrêmement instables, n'ont pas été détectés dans le milieu naturel.

Il se manifeste presque toujours à l'état divalent (Cotton et Wilkinson, 1972). On rencontre en général le cadmium à l'état de sulfure, ou greenockite, et il est souvent présent comme impureté dans le minerai de zinc appelé sphalérite (ZnS). Ce métal sert surtout en électroplastie pour la protection d'autres métaux ou alliages contre la corrosion. Il est largement employé dans la fabrication d'alliages à bas point de fusion, de cuivre à faible teneur en cadmium et comme composant des baguettes de soudage ou de brasage. Parmi les produits nécessitant un apport moindre en cadmium, on cite: les fongicides, les pigments, les stabilisants pour le plastique, les barres de commande et les écrans de protection des réacteurs nucléaires, les luminophores des écrans de télévision, les accumulateurs au nickel/cadmium, les huiles à moteur et les activateurs pour la vulcanisation du caoutchouc (Riihimaki, 1972 ; Int. Agency for Research, 1993). Annuellement de 4000 à 13000 tonnes de cadmium sont rejetées dans l'environnement. Ce sont les déchets industriels et les ordures ménagères qui constituent les principales sources de pollution par le cadmium. Les fortes concentrations de cadmium dans l'air sont le lot des villes très industrialisées (usines d'affinage, fonderies).

## Effets toxiques du cadmium sur la santé

Le cadmium (Cd) est l'un des métaux les plus toxiques. Les principales causes d'exposition au cadmium sont l'alimentation et le tabagisme. L'homme qui fume 20 cigarettes par jour absorbe près de 1µg cadmium chaque jour (Järup and Åkesson, 2009). Le cadmium est transporté dans le sang via l'hémoglobine ou les métallothionéines. Il se concentre surtout dans le foie, les os et les reins, mais également dans le pancréas, la glande thyroïde ou les testicules. Le cadmium est stocké dans ces organes, ou il se fixe sélectivement aux métallothionéines (Bisson, 2011).

L'absorption d'une faible quantité de cadmium (15-30 mg) est suivie de troubles gastro-intestinaux (nausées, vomissements, diarrhées). Ces troubles peuvent, dans les cas sévères, se compliquer d'une déshydratation grave. Des empoisonnements aigus au cadmium ont été produits par l'inhalation de fumées ou de poussières (d'un diamètre inférieur à 5 microns) à des concentrations supérieures à 200 microgrammes par m<sup>3</sup>. Une exposition de façon plus ou moins prolongée peut provoquer rapidement un trouble pulmonaire grave. La concentration admissible de cadmium dans le sang est de 5 µg/l. On a relié l'ingestion chronique de cadmium avec la maladie itai-itai, observée au Japon. Les symptômes, qui se manifestent le plus souvent sont les mêmes que ceux de l'ostéomalacie (ramollissement généralisé des os). A haute concentration, il peut induire le cancer de la prostate (Perry et al., 1979), des mutations, la dysplasie et la mort fœtale (Al-Alawdi, 2008). Le risque de cancérogénicité des sels de cadmium est avéré. Des résultats positifs ont été obtenus chez certains animaux (le rat, mais pas la souris et le hamster...). La Communauté européenne a décidé de classer le sulfate et l'oxyde de cadmium comme cancérogènes « probables » par inhalation pour l'homme et le sulfure de cadmium comme cancérogène « possible » pour l'homme. Les hormones sexuelles et l'ingestion de calcium, de protéines ou de vitamine D, de zinc et de sélénium peuvent modifier la toxicité du cadmium. Les principales voies d'élimination du cadmium sont l'urine, les fèces et les phanères. L'accumulation du cadmium s'effectuant principalement dans les reins, cet organe est considéré, de ce fait, comme un organe « cible » (Järup and Åkesson, 2009 ; Bisson, 2011).

L'Organisation mondiale de la santé a recommandé une dose hebdomadaire tolérable temporaire de 0,4 à 0,5 mg par personne (OMS, 1972).

## Cuivre

Le cuivre (Cu) est un constituant de la croûte terrestre, présent dans le sol sous forme de minéraux (surtout de cuprite, malachite). Les principaux minerais de cuivre sont les sulfures, les oxydes et les carbonates. Le cuivre est connu, extrait et utilisé par les humains depuis plus de 5 000 ans. C'est probablement le deuxième élément le plus important, après le fer, en ce qui concerne son utilité pour les humains. Les tuyaux de cuivre sont très répandus en plomberie, particulièrement pour les systèmes d'alimentation en eau domestique. Le cuivre est utilisé pour la production de fil électrique et dans la fabrication d'alliages comme le laiton et le bronze. Il est aussi employé pour l'électro-placage, en photographie, pour les toitures, comme catalyseur dans l'industrie chimique et pour l'élimination des mercaptans dans le raffinage du pétrole. Le cuivre est beaucoup utilisé dans les préparations de pesticides (fongicides et agents antimicrobien), en particulier pour le traitement du bois et des sources d'approvisionnement en eau potable et en eau destinée à des fins récréatives (Santé Canada, 1992).

Les valeurs de références ou limites de qualité pour la concentration du Cu dans l'eau sont de 2mg/l pour l'UE et l'OMS, 1,3mg/l pour le Canada et 1mg/l pour les USA (AFSSA, 2006).

Le cuivre est un élément essentiel de l'alimentation des mammifères et il est nécessaire à de nombreuses réactions enzymatiques (Faye et Bengoumi, 1994). La carence en Cu entraîne divers troubles cliniques, comme l'anémie, la neutropénie et des perturbations de la formation des os.

Selon l'Organisation mondiale de la santé l'apport quotidien de 0,5 mg/kg de poids corporel de Cu n'est pas dangereux pour la santé humaine (OMS, 1973).

#### Effets toxiques du cuivre sur la santé

L'absorption de doses importantes (plus de 15 mg) de cuivre a des effets nocifs sur la santé. Les cas d'intoxication aiguë par le cuivre sont rares chez les mammifères supérieurs, car le cuivre est un émétique puissant. Parmi les espèces domestiques, le mouton est particulièrement sensible à l'intoxication au cuivre. Chez les humains, la toxicité aiguë du cuivre se manifeste surtout dans des cas d'ingestion accidentelle; ses symptômes sont les suivants : goût métallique dans la bouche, nausée, vomissement, douleur épigastrique, diarrhée, jaunisse, hémolyse, hémoglobinurie, hématurie et oligurie. Dans les cas graves, les selles et la salive peuvent prendre une couleur verte ou bleue; dans la phase terminale, il y a anurie, hypotension et coma précédant la mort. Le cuivre s'accumule surtout dans le cerveau, le foie et les reins. Le Centre international de recherche sur le cancer (CIRC) n'a pas évalué le pouvoir cancérigène du cuivre, ni des composés du cuivre (Santé Canada, 1992).

#### Zinc

Le zinc est un élément abondant qui constitue à peu près 0,004 % de la croûte terrestre. La forme minérale la plus commune du zinc est la sphalérite (ZnS), qui est souvent associée aux sulfures de certains autres éléments métalliques tels que le plomb, le cuivre, le cadmium et le fer. Le zinc se rencontre aussi sous forme de calamine ( $ZnCO_3$ ) dans les sédiments carbonatés; les autres formes du zinc sont habituellement des produits d'oxydation de la sphalérite (Santé Canada, 1979).

L'utilisation de zinc est répartie entre un grand nombre d'industries. L'oxyde de zinc sert à la fabrication de peinture, de caoutchouc, de rayonne, de fils, d'encre, d'allumettes et de produits chimiques; la «poussière» de zinc est utilisée en imprimerie ou pour teindre les tissus, purifier les graisses, ou cémenter les métaux dans des procédés métallurgiques; Le zinc laminé est utilisé dans les pièces ornementales et les batteries; les accessoires de plomberie, les accessoires d'automobiles, dans l'industrie du moulage en coquille. Des sels de zinc servent également à la préparation d'agents de conservation du bois et de pesticides.

Le zinc est un élément essentiel pour tous les organismes vivants, y compris l'homme. Des protéines et des enzymes renfermant du zinc participent à tous les aspects du métabolisme, entre autres à la réplication et à la traduction du matériel génétique. Aux États-Unis, l'apport quotidien recommandé (RDA) est de 15 mg/jour pour un adulte de (National Academy of Sciences, 1974).

Les symptômes généraux d'une carence en zinc chez les humains, sont le retard de croissance, l'hypogonadisme, l'anorexie, la léthargie, la cécité nocturne, la faiblesse du système immunitaire, le ralentissement de la guérison des blessures, l'eczéma et l'acné (Santé Canada, 1979).

#### Effets toxiques du zinc sur la santé

Aucune toxicité d'origine alimentaire, ou professionnelle (Papp, 1968) n'est citée. Des effets tératogènes ont été signalés chez le mouton. Une rupture du métabolisme du cholestérol, et une altération des réactions immunitaires sont rapportés chez l'homme. (Santé Canada, 1979).

### I.2.2.3 Les pesticides

L'usage des Pesticides organochlorés a été très largement répandu dans tous les pays de l'ex-URSS. Ces composés sont très rémanents et ont une capacité élevée d'accumulation dans la chaîne alimentaire. De ce fait, ils présentent un danger élevé pour les organismes vivants.

Un pesticide est une substance utilisée en agriculture pour lutter contre les organismes nuisibles. Selon leur effet sur différents types d'organismes nuisibles, on les classe dans les groupes suivants : les insecticides, les fongicides, les herbicides, les zoocides, les acaricides, les rodenticides, les bactéricides, les alguicides, etc. Ils sont devenus une partie intégrante de la technologie agricole moderne (Shubina et al., 2009). A l'échelle mondiale, du fait des volumes utilisés, les herbicides (50-55 %) sont en 1<sup>ère</sup> place, suivis des fongicides (35-38 %) et des insecticides (5-8 %).

Les pesticides utilisés actuellement sont classés par leur composition et leurs propriétés chimiques : les pesticides organochlorés, les dérivés halogénés polycycliques et les hydrocarbures aromatiques, les pesticides organophosphorés, les carbamates, les pesticides azotés. Le nombre de pesticides connus et utilisés est supérieur à 1500 (Boltina and Zaets, 2006). Chaque année près de 2,5 millions de tonnes de pesticides sont utilisés par l'agriculture mondiale (Van der Welf, 1996).

Ces dernières années, la quantité moyenne de pesticides utilisés au Kazakhstan a augmenté de façon brutale et on répertorie actuellement plus de 250 produits différents (Rashitova, 2009).

#### *Propriétés physico-chimiques des pesticides organochlorés*

Les Pesticides Organochlorés (POC) sont des composés organiques, obtenus par la chloration de différents hydrocarbures insaturés. Les POC se caractérisent par une faible solubilité dans l'eau, mais une solubilité élevée dans les solvants organiques, très résistants à la dégradation biologique, chimique et photolytique.

#### *Le DDT*

Le dichlodiphényltrichloroéthane (DDT) a été synthétisé pour la première fois en Allemagne en 1873 par Othmar Zeidler et ses propriétés insecticides ont été découvertes par Paul Müller en 1939. Pendant la Seconde Guerre Mondiale le DDT était utilisé pour lutter contre le pou de corps (*Pediculus humanus*), vecteur du typhus épidémique. Il est aussi bien utilisé pour démoustiquer les zones contaminées par le paludisme. Le DDT a été largement appliqué sur différentes cultures agricoles (Liliana, 2007).

Le DDT a plusieurs noms commerciaux : Arkotine, Bosan Supra, Citox, Clofenotane, Dedelo, Dykol (Moldavie), Detox, Deoval, Dodat, Dicophane (Moldavie), Estonate, Gesarol, Gyron, Neocid, Zerdane, Zeidane (France) (Anonyme 16).

La semi-volatilité des DDT et de ses isomères (DDD et DDE) favorise leur dispersion dans l'atmosphère et le transport à longue distance. Ils sont toxiques et persistants dans l'environnement (7-38 ans) (Boltina and Zaets, 2006). Cette persistance confère au DDT toutes les propriétés nécessaires pour se bioconcentrer dans les organismes. Comme tous les POC, il est soluble dans la plupart des solvants organiques et des matières grasses. On les retrouve donc majoritairement dans les graisses.

#### *Le HCH*

Le hexachlorocyclohexane (HCH) a été synthétisé pour la première fois en 1825 par Michael Faraday par photochloration du benzène (Liliana, 2007). L'hexachlorocyclohexane (HCH) est connu aussi sous les noms de benzène-

hexachloride (BCH) et 1,2,3,4,5,6- hexachlorocyclohexane. Le HCH a plusieurs noms commerciaux : Gammexane,-666, Dolmix, Gexane, Hexyclan, Hexylan, Kotol, TBH, Tri-6, Hexachloran, Hexablan (Anonyme 16).

Les isomères gamma et delta ont été isolés au début du XXème siècle par Van der Linden, d'où le nom commercial « lindane » de l'isomère gamma. Lindane désigne le produit pur à 99,5% en gamma-HCH, les 0,5% restant étant constitués d'autres isomères du HCH, en quantités variables selon le procédé utilisé.  $\gamma$ -HCH est le seul isomère qui a une grande activité insecticide (Liliana, 2007). Le lindane est modérément soluble dans l'eau, mais très soluble dans différents solvants organiques (benzène, acétone). Les vapeurs du lindane sont incolores et dégagent une odeur de moisi. Le lindane et l'isomère alpha sont classifiés comme des composés volatiles.

Le HCH et le DDT sont deux pesticides abondamment fabriqués et utilisés pendant les années 1940-1970 en Union Soviétique. L'utilisation du DDT pendant cette période était de 320 000 T (Li et MacDonald, 2005).

Selon les recommandations des Organisations Internationales et du Ministère de la Santé de l'URSS, en 1970 l'utilisation du DDT a été interdite. Mais, la production et l'utilisation du DDT ont continué jusqu'à 1981. Le DDT a été produit et utilisé très largement (53 000 T en 1980 et 40 800 T en 1985) en URSS pendant les années 1950-1980 (Li et al., 2004).

Le Kazakhstan a signé en 2001, puis ratifié en 2007, la Convention de Stockholm interdisant ou restreignant l'usage de certains pesticides dont le DDT (Nurzhanova, 2009). En 2001, un projet mondial pour l'environnement parrainé par la Convention de Stockholm a estimé à 1500 tonnes la quantité de pesticides périmés au Kazakhstan. En 2007 le Parlement du Kazakhstan a ratifié les conventions de Rotterdam et Stockholm. Le lindane a été interdit en 1990 dans les pays de l'ex-URSS (Liliana, 2007).

Parallèlement à leurs effets bénéfiques pour la défense des cultures et la protection des récoltes, les pesticides expriment en sourdine leurs effets néfastes sur la santé humaine et environnementale (Lemaire et al., 2004).

Avec l'augmentation des rendements, il a des inconvénients comme le développement des résistances des pathogènes aux pesticides, l'accumulation du pesticide dans la chaîne alimentaire, la dégradation des sols par l'action des pesticides qui finissent par conduire à la production de fruits et légumes de moindre qualité. En effet, la plupart des quantités utilisées de pesticides n'atteignent pas le ravageur visé et passent dans l'environnement. Après 6 heures d'introduction, 90% des pesticides se volatilisent et peuvent être diffusés par l'air. Comme résultat, on obtient un grand nombre d'intoxications des organismes non visés (les insectes utiles comme les pollinisateurs, les oiseaux) jusqu'à leur disparation totale (Boltina and Zaets, 2006 ; Mawussi, 2008).

### *Les effets toxiques des pesticides sur la santé*

Le premier pesticide synthétique était accessible à partir des années 1940, mais les informations sur les impacts des pesticides sur l'environnement et la santé humaine ne sont survenues qu'au début des années 1960. Les pesticides peuvent passer dans l'organisme humain par l'ingestion des aliments et l'eau, la respiration et le contact cutané (Van der Werf, 1996).

Il n'y a pas de pesticides non toxiques pour l'homme. Les effets des pesticides ne seront jamais univoques. Les principaux groupes à risque sont les personnes âgées, les malades avec un système de défense immunitaire diminué, et les enfants (Boltina and Zaets, 2006). Les personnes les plus fréquemment victimes d'intoxications aiguës par les pesticides sont bien sûr les agriculteurs, qui manipulent et appliquent ces pesticides sur leurs cultures (Anonyme 17).

Plusieurs chercheurs mettent sur le même pied les effets des pesticides et des éléments radioactifs sur la santé de la population. L'OMS estime à trois millions par an le nombre de personnes contaminées, et près de 30 000 décès. La plupart dans les pays en voie de développement (FAO, 1994 ; Anonyme 18).

### *Les intoxications aiguës*

Le délai qui sépare l'exposition au pesticide et l'apparition des symptômes est relativement court, de quelques heures à quelques jours.

Les dérivés organochlorés induisent tout d'abord des troubles digestifs (vomissement, diarrhée) suivis par des troubles neurologiques (maux de tête, vertige) accompagnés d'une grande fatigue.

Les dérivés organophosphorés et les carbamates provoquent des troubles digestifs avec hypersécrétion salivaire, nausée, vomissement, crampes abdominales, diarrhée profuse. Des troubles respiratoires, cardiaques et neuromusculaires sont observés. La mort survient rapidement par asphyxie ou arrêt cardiaque. Un antidote spécifique existe pour cette catégorie de produit : le sulfate d'atropine qui neutralise rapidement les effets toxiques (Anonyme 16).

### *Les intoxications chroniques*

Les atteintes dermatologiques (rougeurs, démangeaisons, urticaire) sont très fréquemment observées, touchant les bras, le visage et des lésions sévères au niveau des régions génitales apparaissent. Plus de 10% de composants toxiques ne s'éluent pas dans la fibre de coton et peuvent provoquer des maladies graves de la peau et des réactions allergiques (Anonyme 18). Les pesticides peuvent endommager le système immunitaire (Anonyme 19). Les atteintes neurologiques (fatigabilité musculaire, baisse de la sensibilité tactile) peuvent se produire. Les organophosphorés entraînent à long terme des céphalées, de l'anxiété, de l'irritabilité, de la dépression et de l'insomnie, alliés parfois à des troubles hallucinatoires. Certains provoquent une paralysie, comme les dérivés mercuriels ou arsenicaux. Les organochlorés peuvent augmenter le risque de maladie comme la leucémie. Les atteintes du système cardiovasculaire (les phénomènes de palpitation et de perturbation du rythme cardiaque) et du système respiratoire (les bronchites, rhinites et pharyngites) ont été observées. Quelques types de pesticides peuvent être reprotoxiques (l'infertilité, la délétion croissante de la spermatogenèse). Les pesticides franchissent la barrière placentaire et ont une action tératogène sur l'embryon avec des inconvénients comme l'accouchement prématuré, les avortements et les malformations de l'appareil génital du garçon (Anonyme 16). Au cours de l'année 2000, plus de 250 composants ont été constatés comme prédisposant des perturbations du système endocrine (LeBlanc, 1995). Certains pesticides peuvent augmenter des risques de maladie de Parkinson (Anonyme 20).

Les cancers de la prostate, des testicules et du cerveau sont plus fréquents pendant une intoxication chronique. Un taux élevé de ces types de cancer a été observé chez les agriculteurs (Kelce et *al.*, 1995). Par exemple, la plupart des pesticides utilisés dans l'agriculture de coton sont cancérigènes (Anonyme 18).

## I.2.3 Transfert de polluants dans la chaîne alimentaire

### I.2.3.1 Métaux lourds

Une fois émis dans l'écosystème, les métaux lourds se distribuent dans tous les compartiments de la biosphère : air, eau, sol et végétaux. Les particules en circulation dans l'air après leur émission par les activités humaines et les sources naturelles sont dispersées ou incorporées dans l'eau de pluie, le sol et sur la surface des plantes (Miquel, 2001). Il y a une relation directe entre les niveaux de déposition atmosphérique et la distribution en métaux lourds dans la chaîne sol - alimentation animale - lait. (Vidovic, 2005 ; Voutsas *et al.*, 1996). Ces contaminants peuvent être transmis à l'Homme (Simsek *et al.*, 2000). Des corrélations directes ont été observées entre les concentrations dans l'air et le sol d'éléments toxiques (Cargianno *et al.*, 2005).

#### *Contamination du sol*

Plusieurs cas de contamination du sol par des métaux lourds ont été constatés (Ellen *et al.*, 1990 ; Atta *et al.*, 1997 ; Steinnes *et al.*, 1997). Par exemple, le sol des cultures d'orange en Floride contient 10-20 fois plus de cuivre (He *et al.*, 2005). Sur les sites anciens des explosions nucléaires au Kazakhstan le sol est gravement pollué par le plomb et le cadmium (Kenesariyev *et al.*, 2008).

Si le métal est soluble, il contamine les nappes phréatiques et/ou les plantes ; s'il est insoluble, il ne contamine que le sol (Miquel, 2001). La mobilité et l'accessibilité des éléments traces sont contrôlés par plusieurs processus chimiques et biochimiques (He *et al.*, 2005). Le plomb est surtout abondant dans les horizons de surface du sol (0 à 20 cm) de par son affinité avec la matière organique. La teneur des éléments traces dans le sol dépend de la distance de la source de pollution et de la zone de prélèvement (Krishna et Govil, 2007 ; Bhatia et Choudhri, 1996). Simsek *et al.* (2000) ont permis de montrer que les teneurs en plomb sont supérieures en zones industrielle et routière par rapport aux zones rurales. Des relations entre le niveau de contamination des plantes et la distance à la source de pollution ont également été trouvées (Farmer et Farmer, 2000 ; Nan *et al.*, 2002). Pruvot *et al.* (2006) ont trouvé des teneurs en Cd et en Pb considérablement plus élevées dans les sols et dans les produits cultivés (blé, maïs, légumes) de la zone polluée.

Le sol est un vecteur de contamination des eaux, plantes, invertébrés et animaux. Les chameaux coupent les herbes avec leurs dents ce qui peut réduire l'ingestion de terre. Cependant, dans les milieux vétérinaires, il a été rapporté que des quantités considérables de sol ont été retrouvées occasionnellement dans des estomacs pendant des interventions chirurgicales (Jurjanz, 2008). Hargreaves *et al.* (2011) ont montré le transfert de Hg, Se, Cd, Cu, et Zn du sol aux invertébrés.

#### *Contamination des eaux*

Les substances toxiques dans le sol peuvent également contaminer les eaux à cause d'affouillement du sol par les pluies. Ainsi, les eaux périphériques du site des essais nucléaires Azgyr (Kazakhstan) sont contaminées par le Pb et le Cd (Kenesariyev *et al.*, 2008). Les milieux aquatiques sont très sensibles aux éléments traces en raison de leur bioaccumulation dans la chaîne alimentaire. Le cadmium se concentre chez les poissons et les marsouins ; le plomb, le zinc, le cuivre se concentrent surtout chez des mollusques ce qui est plus dangereux pour les hommes régulièrement consommateurs (Mc Alon et Mason, 2003).

Les concentrations en métaux lourds dans les sols sont beaucoup moins importantes que dans les sédiments. Les sédiments du Lac Balkyldak ont été fortement contaminés par les métaux lourds (Ullrich *et al.*, 2007). Dans tous les poissons pêchés sur la côte égyptienne de la Mer Méditerranée, le contaminant dont les teneurs sont les

plus élevées est le zinc (>57 mg/kg), suivi par du chrome, cuivre, du plomb et du cadmium. Les teneurs de certains de des métaux lourds varient selon l'espèce de poisson (Abdallah, 2008).

Les mêmes résultats ont été obtenus pour des poissons de la Mer Caspienne. Dans tous les poissons, la concentration en zinc a été la plus élevée, suivie par le cuivre, le sélénium, le manganèse et le cobalt, cependant les quantités de Cd et Pb étaient relativement faibles (Anan et al., 2005).

Des faibles concentrations en cuivre, zinc, cadmium et en plomb ont été mesurées dans du caviar frais (Wang et al., 2008).

### *Contamination des plantes*

Le transfert des métaux lourds du sol aux plantes est une étape importante dans l'accumulation des éléments toxiques le long de la chaîne alimentaire. Il existe de nombreux facteurs qui influencent l'accumulation des métaux dans la plante, comme le stade de croissance (Miquel, 2001), la concentration des éléments traces dans le sol et le pH du sol (Peralta-Videa et al., 2009).

Le transfert des métaux dans la chaîne alimentaire dépend de la barrière « sol-plante » qui s'altère quand la concentration de métal dépasse les limites critiques, spécialement pour les métaux toxiques comme le plomb et le cadmium (Cai et al., 2009). La contamination du sol par le cadmium augmente son absorption par les plantes, et son passage dans la chaîne alimentaire (Quarshie et al., 2011). Les céréales peuvent absorber les éléments toxiques du sol contaminé par leurs racines, et même absorber ces toxiques par la surface de leurs feuilles (Liu et al., 2005).

Certaines plantes accumulent des métaux lourds alors que d'autres plantes ne le font pas. En conséquence, les plantes qui se développent sur un sol contaminé peuvent être des sources importantes en éléments toxiques dans la chaîne alimentaire (Swarup et al., 2005). Dans ces conditions, le cadmium et le plomb peuvent être transférés du sol aux plantes en quantités non négligeables (Liu et al., 2005; Li et al., 2007). On a ainsi rapporté des taux élevés de métaux lourds dans de nombreux produits alimentaires végétaux poussant sur des sols contaminés : blé et maïs de printemps (Panin, 1998 ; Bolshakov et Galper, 1998 ; Nan et al., 2002 ; Sarsenbayev et al., 2002), pommes de terre (De Pieri et al., 2006), choux et céleri ((Yang et al., 2011), riz (Li et al., 2005 ; Chaney et al. 2004 cité par Peralta-Videa et al., 2009). La consommation de légumes contaminés est notamment une source importante de cadmium chez les hommes (Millis et al., 2004). Mais on observe une forte variation selon le type de plantes et les saisons (Brekken et Steinnes, 2004).

Les plantes qui constituent la base de la chaîne alimentaire, peuvent ainsi transporter les polluants jusqu'à un niveau plus haut de cette chaîne.

### *Contamination des organismes animaux*

On peut constater l'accumulation d'éléments toxiques dans les organismes vivants à d'autres niveaux de la chaîne alimentaire aussi bien parmi la faune sauvage que domestique. Laskowski et Hopkin (1996) ont montré par exemple que chez le serpent (*H. aspersa*) l'essentiel (43%) du plomb est accumulé dans les tissus mous. Milton et al. (2002) ont montré une corrélation entre la teneur en plomb des plantes et des sauterelles *Chorthippus brunneus*. Le risque de saturnisme est confirmé chez un grand nombre d'oiseaux avec de fortes concentrations en plomb dans les tissus jusqu'à trois fois supérieur à la norme (Miquel, 2001). En Croatie, dans les reins de cerf et de sanglier, la concentration en cadmium était respectivement comprise entre 2,3 et 5,9 ppm, et entre 3,5 et 21 ppm (Bilandžić et al., 2009). Taggart et al. (2011) ont rapporté que la concentration en plomb chez le cerf et le sanglier était plus élevée chez les individus ayant résidé dans la zone minière.

L'accumulation de ces éléments potentiellement toxiques chez le bétail par consommation de fourrage contaminé est un risque réel (Lopez et *al.*, 2003; Chhabra et Singh, 2005 ; Diacono, 2007 ; Cai et *al.*, 2009). Dans l'est du Kazakhstan où est localisée l'industrie métallurgique, la contamination des plantes et des tissus animaux par le plomb, le cadmium et le zinc a été observée (Farmer et Farmer, 2000). Près des mines, une concentration significative du plomb a été observée dans le sang de vaches et mouton (Rodríguez-Estiva et *al.*, 2012). Lopez et *al.* (2000) ont observé une accumulation de plomb, de cadmium, de cuivre et de zinc chez les vaches et les veaux pâturant dans des zones contaminées. Près du four de fusion du plomb et de zinc à Guizhou, en Chine, où la teneur en cadmium était 10 fois plus élevée que les normes chinoises pour le sol et les fourrages, les concentrations en cadmium et en plomb dans les reins de bovins provenant de ces zones polluées, étaient respectivement 97% et 32% plus élevées par rapport aux Standards de la Sécurité Alimentaire de Chine (Cai et *al.*, 2009).

#### *Contamination du lait et des produits laitiers*

Le lait et les produits laitiers peuvent être également contaminés et avoir des effets nocifs quand ils sont consommés en grande quantité. Dey et Swarup (1996) ont montré des relations entre les teneurs en plomb dans le lait du bétail et dans leur alimentation. Des analyses de lait produit par des vaches pâturant le long d'un axe routier et près d'une source de pollution ont montré des teneurs en éléments traces élevées, d'autant plus lorsque le trafic routier était important (Simsek et *al.*, 2000 ; Bhatia et Choudhri, 1996 ; Farmer et Farmer, 2000 ; Cai et *al.*, 2009). Ainsi, dans le lait de vache, la teneur en plomb était en moyenne de 0,0013 ppm en zone rurale (Licata et *al.*, 2003) et de 0,25 ppm en zone non industrielle (Swarup et *al.*, 2005). Il n'y a que très peu d'études menées à ce sujet pour le lait de chamelle. La concentration en plomb dans le lait de vache ne doit pas dépasser 0,1 ppm selon les standards kazakhs pour la consommation humaine. Elle est fixée à 0,05 ppm en Allemagne et en Hollande. Des niveaux très variables de contamination ont été trouvés lors d'études précédentes effectuées au Kazakhstan. Des niveaux très élevés de l'ordre de 0,53 ppm (Konuspayeva et *al.*, 2008c) ont été rapportés mais aussi de plus faibles comme 0,025 ppm (Meldebekova et *al.*, 2008). L'espèce animale n'a pas d'influence sur les teneurs en plomb alors qu'il y a une petite influence saisonnière (Konuspayeva et *al.*, 2008a). Les teneurs en plomb Pb dans le shubat sont très faibles par rapport à celles mesurées dans le lait.

Concernant le cuivre, les teneurs mesurées dans le lait de chamelle de fermes kazakhes étaient sensiblement proches de celles normalement admises (Meldebekova et *al.*, 2008).

Peu de données existent sur la contamination du lait de chamelle au Kazakhstan par le cadmium. La teneur maximale citée dans la littérature est de 0,035 ppm de Cd dans le lait de vache (Fursov et *al.*, 1985), mais sont aussi citées des valeurs plus faibles, de l'ordre de  $0,07 \times 10^{-3}$  ppm (Tripathi et *al.*, 1999 ; Vidovic et *al.*, 2005).

Une étude menée par Saitmurova et *al.* en 2001 dans la région située près de la mer d'Aral, a montré que le lait de chamelle et le *shubat* produits dans cette zone du Kazakhstan pouvaient contenir 0,1 ppm de cadmium.

La présence du zinc dans le lait est normale et fait partie de la composition naturelle du lait. Néanmoins, il devient gênant lorsqu'il est en excès. Ainsi, la FAO a déterminé que la teneur normale en zinc dans le lait de vache était de 3 à 6 ppm. Néanmoins, certains auteurs ont mesuré des teneurs en zinc dans le lait de vache de zones industrielles, routières et rurales respectivement de : 5,01 ppm, 4,49 ppm et 3,77 ppm (Simsek et *al.*, 2000), ou encore de 3,177 ppm (Tripathi et *al.*, 1999) et de 2,016 ppm (Licata et *al.*, 2003). Ces résultats ne montrent pas d'excès de zinc dans le lait de

vache quelque soit le niveau de contamination de l'environnement. Au Kazakhstan, Meldebekova (2008) a mesuré 5 ppm dans le lait de chamelle et le *shubat*.

Le cas du cuivre est similaire à celui du zinc, à savoir que c'est un élément naturellement présent dans le lait, dont les teneurs normales pour le lait de vache sont comprises entre 0,1 et 0,4 ppm (FAO, 1998). Simsek et *al.* (2000) ont observé que le lait produit par les vaches en zone industrielle contenait en moyenne significativement plus de cuivre que celui des vaches en zone routière et rurale, respectivement 0,96 ppm, 0,58 ppm et 0,39 ppm. Ces résultats mettent en évidence l'impact des activités humaines sur les teneurs en cuivre dans le lait de vache, qui dans un environnement industriel et routier deviennent supérieures aux teneurs normales. Cependant d'autres auteurs ont obtenu des résultats extrêmes tels que Licata et *al.* (2003) qui ont trouvé une teneur moyenne en cuivre dans le lait de vache de 0,00198 ppm, soit une valeur très faible par rapport aux teneurs normalement admise.

On observe donc une grande variabilité dans les valeurs observées et relevées dans la littérature. Cette variabilité n'est pas le seul fait des niveaux de contamination. En effet, pour les différentes espèces animales, la biodisponibilité, l'absorption, la mobilité, l'accumulation et l'excrétion d'un élément ne sont pas comparables, et même si la quantité ingérée est comparable, la composition du lait ne le sera pas. Parfois, chez les animaux de même espèce, le métabolisme des éléments est différent au niveau génétique (Coni et *al.*, 1996).

#### *Contamination des hommes*

Tous ces éléments toxiques s'accumulent dans l'organisme humain via la chaîne alimentaire. Chez les habitants situés près de l'ancienne zone des essais nucléaires, un taux élevé de plomb et de cadmium a été mesuré dans le lait des femmes allaitantes et leur sang, en relation avec la consommation des aliments contaminés (Kenesariyev et *al.*, 2008).

L'ingestion de plomb et de cadmium ou autres métaux lourds peut avoir une conséquence sérieuse sur le métabolisme et le stockage du Fe, vitamine C et autres nutriments essentiels, ce qui conduit à la diminution des défenses immunitaires, un retard de croissance intra-utérin, avec des facultés psycho-sociales affaiblies et des incapacités associées à la malnutrition (Lyengar et Nair, 2000 cité par Liu et *al.*, 2005), augmentation de cancer gastro-intestinal (Turkdogan et *al.*, 2003 cité par Liu et *al.*, 2005) et réduction de la durée de la vie humaine de 9-10 ans (Lacatusu et *al.*, 1996 cité par Liu et *al.*, 2005).

Dans ce contexte, un grand nombre de scientifiques s'accordent à penser que l'étude des expositions aux métaux lourds est aujourd'hui nécessaire (Barbera et *al.*, 1993 ; Schuhmacher et *al.*, 1993 ; Ikeda et *al.*, 1996 ; Raghunath et *al.*, 1997).

#### **I.2.3.2 Pesticides**

Malgré l'interdiction d'utiliser certains des pesticides autrefois largement répandus dans les zones agricoles, la plupart d'entre eux demeurent présents dans notre environnement. Comme ces composés chimiques sont liposolubles et persistants, on observe une bioaccumulation de ces composés dans les tissus adipeux des organismes vivants et à la bio magnification par la chaîne alimentaire, avec comme résultat, un niveau de contamination très élevé chez les super-prédateurs (Behrooz et *al.*, 2009 ; Lutter et *al.*, 1998). Ainsi, les carnivores et piscivores situés en bout de chaîne concentrent des doses de pesticides pouvant atteindre 10 000 fois celles des premiers maillons (Anonyme 21).

### *La contamination de l'air*

Emis par des entreprises chimiques de production de pesticides (Bailey, 2001 ; Barber et *al.*, 2005) ou répandus lors de traitement des cultures agricoles (Chevreuil et *al.*, 1996), les pesticides organochlorés (POC) se distribuent dans l'atmosphère. Dans l'air, les POC peuvent se dégrader, se redistribuer, se transporter et retourner sous forme de précipitations sur le sol ou dans les eaux de surface. Les concentrations du DDT, l'un des POC les plus utilisés jusqu'à son interdiction, détectées dans l'air en Europe varient entre 0,004-0,116 ng/m<sup>3</sup> (UNEP, 2003).

Les sédiments contaminés du fond de la Mer d'Aral ont été disséminés sur les vastes territoires par les vents forts. Ce qui a causé une augmentation de la concentration en DDT et des autres polluants organiques (POP) dans le sol, l'eau et dans la chaîne alimentaire (Erdinger et *al.*, 2004).

### *La contamination du sol*

Après le lessivage de sols par les précipitations, les pesticides migrent dans les rivières. Certains facteurs influencent la pénétration et la dispersion dans les sols comme la nature du pesticide, le régime hydrique, la perméabilité et le pH du sol (Ronchi et *al.*, 2008).

Le lit de la mer d'Aral, est désormais en grande partie à découvert, vaste étendue de sable où les tempêtes font rage plus de 90 jours par an, emportant de 15 à 75 millions de tonnes de sable chargés de pesticides sur 250 km à la ronde (Anonyme 22). Selon les propriétés du sol, le DDT migre en moyenne à 75-100 cm de profondeur. Le pp-DDE, le β-HCH et le γ-HCH sont les plus fréquemment détectés dans le sol et à des taux souvent supérieurs aux autres pesticides chlorés (Battu et *al.*, 2005). Le sol reste un milieu très important pour le transfert de pesticides dans les chaînes alimentaires. Une fois localisées dans le sol, les substances dangereuses sont dispersées et migrent dans l'aquifère (Gałuszka et *al.*, 2011).

### *La contamination de l'eau*

Des études ont montré que les pesticides organochlorés peuvent migrer dans les systèmes aquatiques à travers l'interface air-eau. Ce sont d'abord les eaux continentales qui sont contaminées par transfert à partir des sources où ils sont ensuite acheminés vers les océans (Jantunen et Bidleman, 1998). Chaque année, la mer Caspienne reçoit 140 millions de tonnes de polluants. Le taux moyen de pesticides par litre dans la partie nord, notamment celle du delta de la Volga, est de 44 mg/l (Anonyme 22 ; Moore et *al.*, 2003).

Ces composés sont très peu solubles dans l'eau (Smith et Gangolli, 2002). Des concentrations élevées de POC ont été trouvées dans les eaux de la région arctique (>55 ng/l de HCH). Des teneurs en lindane 0,40 µg/l ont été mesurées dans l'eau potable d'Istanbul (Aydin et *al.*, 1999).

Des concentrations élevées de POC ont été mesurées dans les eaux du Danube et du Prut en Roumanie (UNEP, 2003). Le DDT et le HCH ont été également détectés dans les eaux potables, l'eau de pluie et les rivières de l'Ukraine (Tsviliovskii et *al.*, 2004 cité par Liliana, 2007). A St. George Bay (Canada), le PCB a été détecté dans la pluie, la rivière, la mer et les sédiments (Harding et *al.*, 1997). Le lindane est le plus fréquemment détecté dans l'eau (Liliana, 2007). Les sédiments absorbent les composants chimiques qui passent dans l'écosystème aquatique (Maënpaa et *al.*, 2003). Des concentrations élevées de DDT (63-260 µg/kg) ont été mesurées dans les sédiments des rivières indiennes (Guzzella et *al.*, 2005). Les valeurs de la concentration DDT dans les sédiments du lac Oural en Russie variaient entre 0,02 et 64,5 µg/kg (UNEP, 2003). Des valeurs considérables de POC ont été constatées dans les sédiments des rivières Pearl et Haihe de Chine (1,9 -19 ng/g de HCH et 0,3-80 ng/g de

DDT) et dans les sédiments près de la côte (0,1-44 µg/kg) (Wang *et al.*, 2003, Yang *et al.*, 2005).

La rétention des POC dans l'eau et les sédiments donne lieu à une contamination à long terme des milieux aquatiques et notamment des espèces animales et végétales qui vivent dans les eaux (Yehouenou *et al.*, 2006).

#### *La contamination des végétaux*

Couvrant les plantes, les pesticides s'y fixent (de quelques semaines à quelques mois) grâce à leurs propriétés électrostatiques et leur capacité d'absorption. Une partie peut être éliminée par le vent et la pluie. Certains restent sur les feuilles alors que les pesticides hydrosolubles et liposolubles peuvent être absorbés par la racine ou la cuticule. Les concentrations élevées de HCB ont été détectés dans les feuilles de thé (Tanabe et Kunisue, 2007).

Les résidus de POC ont été trouvés dans les racines des espèces végétales comme les carottes, les pommes de terre, les betteraves, dans des fruits et les légumes et autres produits qui font partie du régime alimentaire quotidien (Battu *et al.*, 2005). En 2008 au Kazakhstan dans certains échantillons de choux, de tomate et de carotte, des pesticides ont été détectés (Rashitova, 2009).

Zohair *et al.* (2006) ont trouvé des résidus de HCB (0,001-0,0037 µg/kg) et de DDT (3,6-100 µg/kg) dans les carottes. La carotte est une variété qui bio-accumule fortement le lindane, le DDT et le HCB à partir du sol. Cette accumulation peut être due à de fortes concentrations des POC dans le sol, à l'importance des racines dans l'accumulation des polluants organiques ou à la forte teneur en carotène (substance lipophile) qui retient les POC (Miglioranza *et al.*, 1999). Des teneurs élevées ont ainsi été mesurées dans des carottes (0,48 mg/kg) mais aussi dans des fruits (0,025 mg/kg) par Liliانا (2007). Des études effectuées dans plusieurs pays ont montré que les POC sont présents à l'état de traces dans les céréales (le blé, le maïs, le tournesol), du fait de leur teneur en matière grasse (Bai *et al.*, 2006). Selon un rapport de la Commission de Bruxelles en 2006, des pesticides étaient présents dans 49,5 % des fruits, des légumes et des céréales de l'UE, soit le chiffre le plus haut jamais atteint, mais seulement 4,5 % dépassaient les limites réglementaires (Anonyme 16).

#### *La contamination des animaux*

Les concentrations les plus élevées de DDT sont observées dans la viande, les fruits de mers et les produits laitiers (Jaga and Dharmani, 2003), alors que les concentrations dans les aliments d'origine végétale sont plus faibles (Wong *et al.*, 2005).

Les pesticides peuvent s'accumuler dans les organismes aquatiques selon différents mécanismes: bioconcentration par l'absorption directe de l'eau ou des particules (ingestion) et bio magnification par consommation des nutriments aquatiques contaminés (Van der Oostaj *et al.*, 1996).

Les ΣDDT, Σ-chlordane et ΣPCB ont été détectés chez les principaux poissons et les invertébrés. Si, pour l'accumulation des ΣDDT, et des Σ-chlordane l'âge des organismes est important, pour le ΣPCB la position trophique est prioritaire (McIntyre et Beauchamp, 2007). L'âge et l'espèce jouent un rôle important sur la quantité de PCB dans les poissons (Harding *et al.*, 1997).

Les résidus de pesticides chlorés ont été trouvés dans les poissons de la rivière Ouémé (République du Bénin) avec des teneurs comprises entre 0 et 1664 ng/g (Pazou *et al.*, 2006).

Tous les poissons de la Mer Caspienne contenaient des quantités faibles de composés toxiques à l'exception d'une espèce de poisson (*vobla*) de la région d'Atyrau (PCBs= 250 ng/g) (Hooper *et al.*, 1997). Les niveaux des PCBs, DDTs, HCB, PCDFs et

PCDDs dans les tissus des anguilles sont corrélés avec le niveau de pollution des sédiments. Les composés organochlorés ont été déterminés chez 5 espèces d'esturgeons de la Mer Caspienne au Kazakhstan, Azerbaïdjan, Turkménistan et Iran. Les concentrations en DDT et ses métabolites étaient prédominantes, suivi par les PCBs, CHLs, HCHs, HCB et dieldrin. Les concentrations de composés organochlorés chez le beluga (*Huso huso*) ont été les plus élevées. Les résidus de composés organochlorés étaient plus élevés dans les esturgeons provenant d'Azerbaïdjan et du Kazakhstan, et plus faibles au Turkménistan (Kajiwara *et al.*, 2003).

Les PCB et DDT ont été détectés dans le caviar de différentes espèces (Wang *et al.*, 2008).

Les PCB et les pesticides organochlorés ont été déterminés dans l'huile et le foie de phoques Caspiens (*Phoca caspica*) (Kajiwara *et al.*, 2002). Le polluant prédominant chez le phoque était le DDT (Watanabe *et al.*, 1999). Les traces de DDT, DDE et d'autres résidus organochlorés ont été détectés chez les pingouins et phoques de l'Antarctique.

L'huile de poisson obtenue à partir de poisson contaminé, qui est consommé en quantité non négligeable chez les enfants, présente un danger potentiel pour la santé (Smith et Gangolli, 2002).

Dans la région du Golfe du St. Laurent (Canada), des concentrations de PCB non négligeables ont été détectées dans les différents niveaux de la chaîne alimentaire : benthos, plancton, poisson (Dalcourt *et al.*, 1992), mammifères marins et chez les humains (Harding *et al.*, 1997).

Les toxiques qui ont pénétré dans les végétaux sont transportés et arrivent dans l'organisme des animaux (volaille, bétail etc.), puis les produits toxiques passent très vite dans les œufs et dans le lait (Kan et Meijer, 2007). Une concentration faible des pesticides organochlorés a été observée dans les muscles des oiseaux au Canada (Braune et Malone, 2006).

En Égypte où comme au Kazakhstan, la culture du coton est très importante, la contamination de carcasse des animaux par le DDT, l'HCH, le lindane, l'aldrin, le dieldrin et l'endrin a été mise en évidence. La viande de chameau était moins contaminée que celles des vaches ou des moutons (Sallam et Morshedy, 2008). Il faut rappeler ici que le P-Hexachlorocyclohexane a été largement utilisé comme insecticide chez les moutons au Kazakhstan (Hooper *et al.*, 1998).

#### *La contamination du lait et des produits laitiers*

D'après Ronchi *et al.* (2008) les teneurs en pesticides chlorés dans le lait de vache varient selon la phase de lactation. L'état sanitaire de la mamelle, l'âge de l'animal, sa teneur en matière grasse ou encore le nombre de gestation influencent positivement les concentrations en pesticides. Wong et Lee (1997) ont montré que certains pesticides organochlorés (dont le DDT et le lindane) pouvaient contaminer le lait du bétail 10 ans après leur interdiction. Des concentrations non négligeables de PCDD, PCDF, et PCB ont été déterminées dans le lait de chamelle. Les concentrations du DL-PCB dans deux échantillons d'Atyraou ont dépassé les Normes Européennes (Konuspayeva *et al.*, 2011). Des pesticides organochlorés ont été détectés dans le lait de vache au Kazakhstan (Hooper *et al.*, 1997).

Le DDT et le HCH ont été détectés dans les laits en Roumanie (Hura *et al.*, 1999). Les recherches de Mallatou *et al.* (1997) sur les résidus de POC dans les laits et les fromages ont permis de mettre en évidence des valeurs élevées de p,p'-DDE (16,000-18,000 mg/kg) et de lindane (0,800-7,000 mg/kg).

### *La contamination humaine*

Dans le tissu adipeux humain, la demi-vie de DDT est de 7–8 ans (Wong et *al.*, 2005) et sa concentration augmente avec l'âge (Jaga et Dharmani, 2003). Les polluants les plus notables dans le sang maternel et le cordon ombilical sont les composés organochlorés, comme le HCB, le  $\beta$ -HCH, le pp-DDE et la dioxine (2,3,7,8-TCDD) (Erdinger et *al.*, 2004). Les POP peuvent passer la barrière du placenta et être absorbés par le fœtus (Waliszewski et *al.*, 2001 ; Wong et *al.*, 2005).

Au nord de la mer d'Aral (Kazakhstan), les teneurs sanguines en PCB,  $\beta$ -HCH et DDT et son dérivé DDE étaient plus élevés que celles des enfants suédois (Ataniyazova et *al.*, 2001 ; Erdinger et *al.*, 2004; Jensen et *al.*, 1997). Au Chukotka (Russie), les contaminations humaines par des composés organochlorés ont été démontrés, dues à la consommation de mammifères marins et à l'utilisation de pesticides (Sandanger et *al.*, 2009).

Les tissus adipeux des femmes accumulent certaines quantités de résidus de POP dès la naissance (Lutter et *al.*, 1998). Pendant la lactation, le tissu adipeux maternel est mobilisé et les toxiques passent dans le lait (Jaga and Dharmani, 2003 ; Wong et *al.*, 2005), ce qui tend à considérer le lait de femme comme un biomarqueur de l'exposition environnementale aux résidus organochlorés (Behrooz et *al.*, 2009 ; Ataniyazova et *al.*, 2001; Nadal et *al.*, 2004 ; Lederman, 1996). Le DDE se lie aux lipides aussi, sa concentration dans le lait maternel est 6-7 fois plus élevé que dans le sang.

Des doses très élevées de DDT et HCH qui dépassent les normes de l'OMS de 13-14 fois ont été mesurées dans le lait maternel de certaines régions d'Inde (Banerjee et *al.*, 1997). Dans certains pays en d'Afrique, d'Asie, et d'Amérique Latine ayant une exposition récente au DDT et au DDE, les niveaux dans les tissus humains sont plus élevés qu'en Europe et qu'aux Etats-Unis (Jaga et Dharmani, 2003). Les concentrations élevées de DDT et ses dérivés dans le lait de femme ont été observés dans différents endroits du monde, au Zimbabwe (Hooper et *al.*, 1997), au Mexique (Jaga and Dharmani, 2003), en Ukraine (Gladen et *al.*, 1999), en Australie (Quinsley et *al.*, 1995), en Tunisie (Ennaceur et *al.*, 2008). Les PCB, et le HCH étaient prédominants dans le lait des femmes japonaises et le DDT dans les laits maternels au Vietnam, en Chine, au Cambodge, en Malaisie, le HCH en Chine, en Inde, et le HCB en Chine. (Tanabe et Kunisue, 2007).

Les niveaux de contamination en HCB et en PCB d'enfants allaités au lait maternel étaient plus élevés que chez les enfants nourris avec du lait en poudre. La contamination par du DDT a été mise en évidence dans de nombreux échantillons de lait de femme au Turkménistan, au Tadjikistan et au Kazakhstan (Lederman, 1996).

Une quantité élevée (10-120 pg/g lipides de 2,3,7,8-tétrachlorodibenzo-p-dioxine (TCDD), un toxique et un cancérigène puissant (Hooper et *al.*, 1998 ; Lutter et *al.* (1998) et PCB (She et *al.*, 1998) a été détectée dans le lait de femme des régions agricoles du Kazakhstan. Les sources de la contamination du lait de femme par des pesticides au Kazakhstan sont les suivantes : utilisation de pesticides dans l'agriculture cotonnière au sud de pays, consommation de poisson dans la région de la mer d'Aral qui est très polluée, et l'utilisation de PCB dans les zones industrielles (Hooper et *al.*, 1997). Il y a une différence significative du niveau des organochlorés, dont le DDT, entre les mères qui ont mangé du poisson une fois par semaine et celles qui en ont mangé plus d'une fois (Behrooz et *al.*, 2009).

### I.3. Les Bactéries Lactiques

Les bactéries lactiques sont des procaryotes, hétérotrophes et chimio-organotrophes. Ce peut être des bacilles ou des coques avec différents modes de groupement. Elles sont Gram positif, immobiles, anaérobies mais aérotolérantes, asporulées, oxydase et catalase négative bien que certaines espèces peuvent posséder une pseudocatalase. L'appellation «bactéries lactiques» concerne plusieurs genres et espèces de bactéries ayant des caractéristiques communes, dont la plus importante est leur capacité à fermenter les glucides en acide lactique. Les principaux genres bactériens lactiques sont pour les coques : Streptococcus, Lactococcus, Vagococcus, Enterococcus, Pediococcus, Aerococcus, Tetragenococcus, Leuconostoc et pour les bacilles : Lactobacillus et Carnobacterium (Dellaglio et *al.*, 1994).

#### I.3.1 Le rôle des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont des micro-organismes commensaux des hommes et des autres animaux. Ils sont ubiquistes, et colonisent aussi bien le système digestif, que les muqueuses et la peau. Les bactéries lactiques peuvent être des probiotiques qui, ingérées en quantité adéquate, ont des effets bénéfiques sur l'organisme de l'hôte. Les effets sont soit directs soit indirects. Bien qu'il existe quelques rares espèces pathogènes, elles sont généralement reconnues comme sûres (Chukeatirote, 2003). Les probiotiques agissent en renforçant l'immunité et le maintien de la flore saprophyte du tractus digestif. Ils agissent particulièrement en inhibant les bactéries pathogènes, en neutralisant les produits toxiques comme l'indole, en améliorant la digestibilité de la ration alimentaire et en stimulant l'immunité (Chukeatirote, 2003 ; Roissart et Luquet, 1994 ; Ravinder et *al.*, 2007). Majji et *al.* en 2007 ont montré l'activité antiulcéreuse des produits laitiers contenant des probiotiques. Les probiotiques sont reconnus comme ayant un rôle dans le traitement des diarrhées inflammatoires et dans la prévention des affections respiratoires et des allergies. On leur prête aussi des effets bénéfiques dans la prévention des maladies cardiovasculaires (baisse du taux de cholestérol), des cancers et de l'ostéoporose (fixation du calcium) bien que ces hypothèses n'aient pas été démontrées cliniquement jusqu'à ce jour (Konuspayeva et *al.*, 2003 ; Serikbayeva et *al.*, 2005).

#### I.3.2 Rôle des bactéries lactiques dans les produits fermentés

Le terme de fermentation fait référence à l'ensemble des transformations biochimiques réalisées lors de la fabrication d'un aliment fermenté. C'est un métabolisme énergétique basé sur le transfert d'électrons d'un donneur (composé réduit à bas potentiel  $E^\circ$ ) à un accepteur (oxydant à potentiel  $E^\circ$  supérieur de celui du donneur) par le biais de réactions d'oxydoréduction séquentielles se déroulant dans les micro-organismes. Le plus souvent, le transfert d'électrons est couplé à la production d'ATP, par phosphorylation au niveau du substrat, et à la ré-oxydation du NADH,  $H^+$  en  $NAD^+$ . Le qualificatif de la fermentation est souvent le nom du produit réduit. Dans la fermentation lactique, c'est le pyruvate qui est l'accepteur d'électrons, il est réduit en lactate.

Le principal rôle des bactéries lactiques est donc d'acidifier le milieu à des niveaux de pH et d'acidité qui inhibent la croissance des flores microbiennes d'altération dont les flores microbiennes pathogènes responsables de toxi-infection alimentaires. L'inhibition des flores d'altération est aussi due à la production par ces bactéries de composés antimicrobiens comme les bactériocines et le peroxyde d'hydrogène. Le

métabolisme des bactéries lactiques provoque aussi des changements importants dans les propriétés organoleptiques et physico-chimiques de la matière première d'origine agricole qu'elle soit végétale ou animale. Ces transformations sont responsables de la texture (protéolyse, coagulation), de la couleur, de la saveur et de l'odeur des aliments fermentés. La fermentation lactique permet aussi d'élargir la gamme des produits comestibles en les détoxifiant, c'est le cas du manioc. Elle permet aussi d'améliorer la biodisponibilité des micronutriments.

Les bactéries homofermentaires produisent essentiellement de l'acide lactique au cours de la fermentation à partir des glucides du lait et les bactéries hétérofermentaires, peuvent non seulement produire de l'acide lactique, mais aussi de l'éthanol, de l'acide acétique et du dioxyde de carbone. Une troisième voie de fermentation est celle des bifidobactéries dont le métabolisme est tout à fait particulier (Dellaglio et al., 1994).

Dans de nombreux pays, surtout en zone rurale ou périurbaine, les aliments fermentés traditionnels sont produits à petite échelle, au sein de la famille ou dans des ateliers de petite taille. Mais ce type de produits est le résultat de fermentations non contrôlées qui peuvent conduire à une variabilité des productions finales et à la fabrication d'aliments contaminés mettant en péril la santé des consommateurs.

Les productions d'aliments fermentés à plus ou moins grande échelle dans des installations industrielles mettent en jeu des starters dont la composition microbiologique est bien définie. Le starter peut être constitué d'une souche ou de mélange de plusieurs souches de la même espèce ou d'espèces différentes. C'est le cas des produits laitiers fermentés comme le yaourt, les fromages, le kéfir, les légumes saumurés, les viandes, les salaisons.

On distingue les ferments lactiques acidifiants, comprenant essentiellement des souches homofermentaires qui acidifient rapidement, et les ferments d'arômes avec plutôt des souches hétérofermentaires qui produisent des molécules aromatiques parfois très complexes (Lore et al., 2005).

### 1.3.3 Les bactéries lactiques et les métaux lourds

Deux notions doivent être précisées : la bioaccumulation et la biosorption. La bioaccumulation des polluants est l'absorption par les cellules vivantes tout au long de la chaîne trophique. Le polluant se transporte dans la cellule, s'accumule dans le milieu intracellulaire, traverse la paroi cellulaire et entre dans le cycle métabolique cellulaire (Malik, 2004). Au contraire, la biosorption est une absorption passive par des matériaux morts/inactifs. Elle est indépendante du métabolisme cellulaire lié aux propriétés de la paroi des cellules.

Les méthodes généralement utilisables (précipitation, floculation, échange ionique et filtration de la membrane) pour éliminer les métaux lourds en faible concentration dans un milieu sont déclarées comme coûteuses et peu efficaces. L'utilisation de la biomasse microbienne inactivée comme adsorbant (biosorption), a été suggérée comme alternative possible et économique pour l'élimination des métaux toxiques dans l'eau. Plusieurs travaux de recherches ont étudié la capacité de fixation des nombreux éléments (Al, Au, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, Ni, Pb, Th, U, Zn) par différentes biomasses microbiennes comme les bactéries, les moisissures ou les algues (Volesky et Holan, 1995; Davis et al., 2003; Mehta and Gaur, 2005 ; Vijayaraghavan et Yeoung-Sang, 2008). Loutseti et al. en 2009 ont testé un biofiltre constitué d'un mélange de micro-algues et bactéries séchées pour l'élimination de cuivre et de cadmium contaminants en faible concentration dans des déchets de galvanoplastie.

L'utilisation de la biomasse bactérienne est rendue possible en raison des propriétés de surface de la paroi bactérienne. Les groupements fonctionnels présents dans le peptidoglycane, les acides teichoïque et teichuronique chez les bactéries Gram-positives et les phospholipides, les lipopolysaccharides chez les bactéries Gram-négatives sont responsables de leur caractère anionique qui permet la fixation par la paroi cellulaire des métaux lourds sous forme cationique (Halttunen, 2007). Plus précisément on peut citer comme bases potentielles de la biosorption, les groupements carboxyles (Golab et Breitenbach, 1995), aminés (Kang et al., 2007) et phosphorylés (Mishra et al., 2010). Les exopolysaccharides ont aussi la capacité de fixer les métaux (McLean et al., 1992). Le taux de biosorption ne dépend pas que de la nature du cation métallique à fixer les ions métalliques. Il dépend aussi de l'espèce bactérienne dont les propriétés peuvent varier en fonction de son état physiologique lui-même en relation avec les conditions de croissance.

Tunali et al. (2006) ont analysé l'interaction entre le Pb(II) et Cu(II) avec une souche de *Bacillus sp.* Ils ont pu mettre en évidence un mécanisme d'échange ionique au cours de la biosorption de ces ions métalliques.

La capacité de sorption des souches microbiennes dépendent aussi du mode de préparation des biosorbants. Des études ont montré que la modification chimique de la paroi des bactéries augmentait la capacité de sorption. Des modifications structurales liées à des modifications génomiques des souches produisent le même effet. A composition chimique équivalente, une surface d'échange plus grande permet de fixer d'avantage de métaux (Vijayaraghavan et Yeoung-Sang, 2008).

Le rôle détoxifiant des bactéries lactiques a été l'objet de nombreux travaux. Concernant des polluants chimiques, il a été montré que les bactéries lactiques avaient la capacité de diminuer le taux de mycotoxines (El-Nezami et al., 1998; Hassanane et al., 2007), de cyanotoxines (Meriluoto et al., 2005) ainsi que celui des amines hétérocycliques (Turbic et al., 2002). Concernant les métaux lourds, il faut citer les travaux d'Halttunen et al. (2007a) pour le cadmium et le plomb.

La cinétique de la sorption a été étudiée par de nombreux auteurs (Pardo et al., 2003; Chojnacka et al., 2005; Komy et al., 2006; Lu et al., 2006). Tous ont montré que c'était un processus rapide qui survient pendant les premières minutes de contact entre la solution de métal et la biomasse.

Concernant le rôle détoxifiant des bactéries lactiques dans les aliments fermentés, Dallak (2009) et Al Hashem (2009) ont mis en évidence le rôle protecteur du lait de chamelle contre les métaux lourds. Pour Konuspayeva et al. (2008c), la teneur en plomb du *shubat* tendrait à diminuer après la fermentation lactique du lait de chamelle.

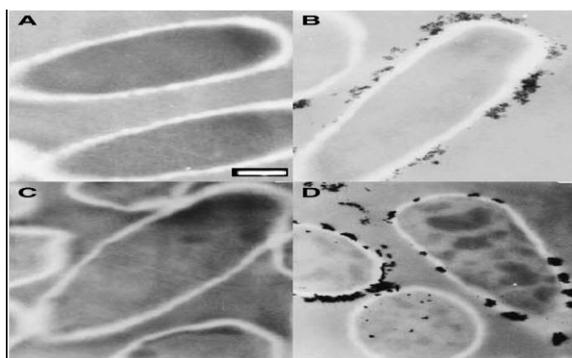
Ibrahim et al. (2006) ont évalué l'interaction des bactéries probiotiques du lait de chamelle avec le cadmium et le plomb, tout d'abord in vitro, dans une étape initiale de criblage afin d'identifier les souches utiles pour la décontamination des métaux lourds dans les aliments et pour l'élaboration de modèles intestinaux. Ils ont caractérisé les isothermes de sorption du cadmium et du plomb chez *Lactobacillus rhamnosus* LC-705, *Propionibacterium freudenreichii subsp sbermanii* JS et un mélange de bactéries lactiques utilisées dans l'industrie alimentaire. Les différences entre les souches et leurs combinaisons pour la capacité de fixation des métaux dans une gamme de concentration comprises entre 0,1 et 100 mg/l ont été évaluées à l'aide du modèle de biosorption de Langmuir. Les impacts du pH, du temps de contact et de la viabilité sur la capacité de fixation ont également été examinés. Toutes les souches et leurs combinaisons ont démontré une fixation efficace du cadmium et du plomb. La fixation des métaux semblait se produire instantanément et d'une manière dépendante du pH. Halttunen et al. (2007), ont travaillé avec une souche de *Lactobacillus casei* DSM20011 native ou après modification chimique de sa surface (amination). Ils ont vu que l'As (V)

avait été éliminé d'une eau de consommation. L'élimination fut rapide, mais dépendante du pH et de la concentration en As (V). Le plus haut pourcentage d'élimination ( $38,1 \pm 9,0\%$ ) a été observé à la plus basse concentration de l'As (V) ( $100 \mu\text{l/l}$ ) à pH 7. Le maximum de capacité d'élimination de l'As (V), calculé, était de  $312 \pm 68 \mu\text{g d'As (V)/g}$  de biomasse sèche. Les interactions entre l'As (V) et la souche semblaient faibles car l'arsenic a été relargué ultérieurement. Il a été possible d'éliminer l'arsenic fixé par un lavage des bactéries avec de l'acide nitrique et de l'hydroxyde de sodium  $1,5 \text{ mM}$ , indiquant que la fixation de ces deux métaux se situait en surface des cellules microbiennes. La surface des bactéries lactiques est chargée négativement ce qui permettrait la capture des cations.

Arauz et al. (2008) ont étudié le rôle du sélénium contre la toxicité du cadmium dans les bactéries lactiques. La distribution de cadmium et du sélénium dans des différentes fractions de masse moléculaire a été obtenue par tamisage moléculaire. Les auteurs ont observé un effet antagoniste du sélénium qui diminue l'incorporation du cadmium au sein des bactéries dans les fractions de masse moléculaire supérieures à  $600 \text{ kDa}$ .

Les souches éliminatrices de métaux lourds de l'eau les plus efficaces sont *Bifidobacterium longum* 46, *Lactobacillus fermentum* ME3 et *Bifidobacterium lactis* Bd 12. Le maximum de capacité d'élimination du cadmium et du plomb est de  $54,7 \text{ mg/g}$  et  $175,7 \text{ mg/g}$  de biomasse sèche avec la souche *Lb longum* 46 (Halttunen, 2007). Les résultats de Halttunen et al. (2008), ont montré que la présence d'autres métaux cationiques et de bloquants des groupes carboxyle et phosphoryles réduisait l'élimination du Cd et Pb. Ces résultats suggèrent l'implication d'une interaction électrostatique dans l'élimination du Cd et du Pb. L'élimination à la fois du Cd et Pb est réversible, ce qui a été démontré par la récupération totale des métaux fixés sur les bactéries après un traitement de celles-ci avec des solutions diluées d'acide éthylène-diamine-tétra-acétique (EDTA) et d'acide nitrique ( $\text{HNO}_3$ ). La capacité de résorption des deux biomasses testées a été diminuée après régénération des cellules par une solution  $10\text{mM}$  d'EDTA et  $15\text{mM}$  d'acide nitrique. Une diminution de la fixation à la fois du Cd et du Pb a été observée lorsque des bactéries modifiées chimiquement étaient comparés aux bactéries natives. Cependant, la fixation du Cd par la souche de *Lb. fermentum* ME3 a augmenté légèrement après méthylation des groupes carboxyles externes. En général, une fixation plus faible est observée après le traitement des groupes phosphoryles comparativement à la méthylation des groupes carbonyles. Les souches *Lb. longum* 46 et *Lb. fermentum* ME3 ont fixé  $0,33 \pm 0,01$  et  $0,45 \pm 0,01 \text{ mmol/g}$  de Pb, respectivement. La fixation du Cadmium était plus faible, soit à  $0,15 \pm 0,01 \text{ mmol/g}$  par *Lb. longum* 46, et  $0,10 \pm 0,02 \text{ mmol/g}$  par *Lb. fermentum* ME3.

Au total, les résultats suggèrent l'implication de plusieurs mécanismes réversibles comme l'échange ionique et la précipitation du Cd et du Pb fixés par les bactéries lactiques. L'observation des surfaces bactériennes par microscopie électronique à balayage (Photo5) réalisée sur les souches *Lb. longum* 46 et *Lb. fermentum* ME3 lyophilisées avant et après la fixation du Pb montre de larges dépôts de plomb visibles sur la surface de deux souches après fixation (B et D) tandis qu'il n'y a pas de Pb visible sur les micrographies de contrôle (A et C) indiquant que la fixation a lieu à la surface de la bactérie. Cela signifie qu'il y a sans doute d'autres mécanismes que ceux de l'échange ionique, sans doute similaires au mécanisme en deux-étapes observé pour *B. subtilis* pour lequel la fixation commence par une réaction stœchiométrique entre les cations et les sites de fixation de surface, puis se termine par le dépôt du métal inorganique (Beveridge et Murray, 1980).



**Photo 5 :** Image de microscopie électronique par transmission de *Lb. longum* 46 (A et B) et *Lb. fermentum* ME3 (C et D) lyophilisées avant et après la fixation du Pb (échelle barre 200nm).

Selon, Halttunen (2007), le nombre de molécules absorbées ne dépassent pas le nombre de sites d'adsorption. Tous les sites d'adsorption ont la même affinité pour les molécules adsorbées. Une molécule réagit à un seul site d'adsorption et la fixation est un processus énergie-indépendant.

Il a été montré que la fixation dépendait de la souche bactérienne et du pH (max. a pH 4-6) (Tunali et al., 2006; Deng et al., 2007; Senthilkumar et al., 2007). La fixation du cadmium et du plomb augmente à pH plus élevé. Ceci a été observé pour les bactéries comme *Lactobacillus rhamnosus* LC705 (Ibrahim et al., 2006), *Lactobacillus plantarum*, *Micrococcus luteus* (Seki et al., 2006), *Bacillus subtilis* (Fein et al., 1997), et *Pseudomonas putida* (Pardo et al., 2003), indiquant la présence d'un mécanisme d'échange ionique (Halttunen, 2007).

Ces données montrent que les métaux ont été fixés par des interactions électrostatiques avec les composants de la paroi cellulaire. Sur la paroi cellulaire de *B. subtilis* certains métaux cationiques comme le cuivre préfèrent se fixer aux groupes aminés neutres. Mais certains comme le plomb, entrent dans des complexes chargés négativement dans l'eau comme  $Pb(OH)_3$  et  $Pb(OH)_4$  et peuvent réagir électrostatiquement avec les groupes aminés chargés positivement (Beveridge and Murray, 1980).

Dans plusieurs cas, les interactions se passent entre les métaux cationiques et les groupes anioniques de la surface cellulaire des microbes (Doyle et al., 1980).

Les résultats d'essais d'adsorption de métal indiquent que les deux types de sites carboxyles et phosphoryles contribuent à l'absorption des métaux. La stabilité des complexes métaux-surface est suffisamment élevée lors des interactions métal - bactérie pour affecter les mobilités de métal dans de nombreux systèmes aqueux, et cette approche permet de faire une évaluation quantitative des effets des bactéries sur les mobilités des métaux (Fein et al., 1997).

Daughney et al. (1998) ont montré qu'il y avait des différences entre *B. licheniformis* et *Bacillus subtilis* dans les propriétés de surface cellulaire (concentration de sites de surface) et les métallos-affinités (les constantes de stabilité en absorption d'un métal).

La fixation du Cd et Pb s'accroît avec l'augmentation de la concentration de la biomasse (Esposito et al., 2002; Ngwenya et al., 2003). Mais certaines études montrent au contraire, une diminution de la fixation avec l'augmentation de la concentration de biomasse. Ces résultats contradictoires peuvent provenir de sorption de métaux par des acides organiques dissous qui interfèrent avec la sorption des structures de surface bactérienne (Puranik et Paknikar, 1999) ou à la formation d'agrégats cellulaires qui réduisent la surface disponible pour la fixation.

Halttunen et al. (2007a) ont rapporté que toutes les bactéries fixent plus le Pb que le Cd. La même préférence a été observée chez d'autres microbes comme

*Saccharomyces cerevisiae* (Göksungur et al., 2005), *Pseudomonas aeruginosa* (Chang et al., 1997), *Pseudomonas putida* (Pardo et al., 2003) et *Citrobacter* (Puranik and Paknikar, 1999).

Topcu et Bulat (2010) ont montré que des souches d'*Enterococcus faecium* (*E. faecium* EF031 et *E. faecium* M74) fixaient le Cd et le Pb. La souche EF031 a absorbé de 77,3% à 98,1% de la totalité du Cd et 66,9% à 98,9% de celle du Pb. La souche M74 a absorbé de 53,5% jusqu'à 91% de la totalité du Cd et 42,9% à 93,1% de celle du Pb pendant 48 h d'incubation à pH 5. Au cours de la première heure, les deux souches ont fixé plus de 60% de la totalité du Cd et du Pb absorbés pendant 48 h. Ce qui prouve que l'absorption est un processus rapide. De plus, les complexes formés entre les métaux lourds et les cellules bactériennes s'avèrent stables.

Gerbino et al. (2012) ont rapporté que *Lactobacillus kefir* CIDCA 8348 et JCM 5818 fixaient efficacement le Pb<sup>++</sup>, le Cd<sup>++</sup> et le Ni<sup>++</sup>.

#### I.3.4 Impacts sur l'absorption dans le tractus digestif

L'homme à l'instar des animaux vit continuellement en association avec la population de microorganismes complexes habitant son tractus intestinal. Selon la littérature, certaines bactéries lactiques sont capables de survivre dans les conditions gastro-intestinales (Corcoran et al., 2007; Guerra et al., 2007; Lambert et Hull, 1996; Takahashi et al., 2004; Duez et al., 2000; Rochet et al., 2008; Su et al., 2007). La résistance de certains microorganismes aux variations du pH est due à leur matériel génétique et à leur capacité à produire une réponse adaptative au stress acide comme l'ont montré Kim et Dunn (1999) et Even et al. (2002).

Les espèces plus résistantes aux conditions gastro-intestinales sont *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus sp.*, les bifidobactéries, *Enterococcus faecalis* et *Streptococcus anginosus* (Nueno-Palop et Narbad, 2011).

L'adhésion de différents acides gras C18 avec une double liaison dans une configuration *cis* ou *trans* chez *Lactobacillus rhamnosus* GG peut augmenter sa survie dans milieu simulant les conditions du suc gastrique (pH 2,5). Les données montrent que ce lactobacille probiotique peut utiliser des sources d'acide oléique exogène pour augmenter sa survie dans un milieu acide (Corcoran et al., 2007).

Berrada et al. (1991) ont montré que les souches de bifidobactéries contenues dans deux laits fermentés différents se comportaient très différemment lorsqu'ils étaient exposés à un environnement gastrique simulé *in vitro*. Une souche survécut très bien au moins pendant 90 mn (population >10<sup>7</sup> / g), mais la deuxième souche étudiée était un peu moins résistante. Les résultats obtenus *in vitro*, ont été confirmés par une étude *in vivo* chez l'homme.

Une augmentation significative du nombre de bifidobactéries (DN-173 010) dans les selles a été observée pendant l'ingestion de lait fermenté, et diminuée lorsque l'ingestion a été arrêtée (Collado et al., 2006).

Les souches qui ont été utilisées pour la fermentation du lait ont une bonne opportunité pour survivre parce que certains probiotiques survivent mieux quand ils sont ingérés dans le lait fermenté (Pochart et al., 1992).

Les taux de survie de *Lactobacillus casei* DN-114 001 ingéré avec le lait fermenté étaient en hausse de 51,2% dans l'iléon et de 28,4% dans les fèces (Oozer et al., 2006).

La consommation de yogourt et de produits laitiers fermentés contenant des bactéries lactiques / probiotiques se traduit par l'augmentation de leur nombre dans les échantillons fécaux (Rochet et al., 2000; Yuki et al., 1999). *Streptococcus thermophilus*, *Lb. bulgaricus* et *Lb. casei*, ainsi que les bifidobactéries ont été trouvés dans les fèces des rats nourris avec du lait fermenté en yogourt (Djouzi et al., 1997).

Toutes ces références montrent que les souches des bactéries lactiques peuvent traverser le tractus gastro-intestinal et être éliminées vivantes dans les fèces. Et si ces bactéries absorbent les métaux lourds et que leurs composés sont stables comme le montrent les travaux cités, il y a des possibilités d'utiliser les bactéries lactiques pour la détoxification des laits et des produits laitiers contaminés par des métaux lourds.

## II. MATERIELS ET METHODES

Pour la réalisation du présent travail, un grand nombre de techniques a du être mis en œuvre faisant appel à des disciplines aussi diverses que la géographie, la chimie organique, la microbiologie ou l'expérimentation animale. Cette partie sera présentée en fonction des différents objectifs affichés dans l'introduction, à savoir (i) la mise en œuvre d'un système d'information géographique pour localiser, identifier et évaluer semi-quantitativement les sources de pollution situées près des fermes échantillonnées, (ii) les méthodes de détermination des polluants (métaux lourds et pesticides) dans les différentes matrices environnementales et dans le lait, (iii) les techniques d'évaluation qualitative et quantitative des polluants dans les bactéries lactiques isolées du lait de chamelle et identifiées par séquençage, et enfin (iv) la procédure expérimentale visant à évaluer l'impact d'une ration contenant des ferments lactiques sur l'absorption du plomb.

### II.1. Identification et localisation des sources de pollutions

Les zones échantillonnées se situaient dans 4 régions du Kazakhstan où la concentration cameline était parmi les plus fortes et où les risques de pollution étaient patents. Une ferme dans la région d'Almaty, une ferme dans la région de Taraz, cinq fermes dans la région du Sud Kazakhstan, cinq fermes dans la région de Kyzylorda et deux fermes dans la région d'Atyraou. Pour chacune des régions, une enquête a été réalisée afin de déterminer les différentes sources de pollution autour de chaque ferme.

#### II.1.1 Description des régions d'étude

Les régions d'Almaty, de Taraz, du Sud Kazakhstan, de Kyzylorda et d'Atyraou sont situées dans la partie sud du pays (Figure 3).

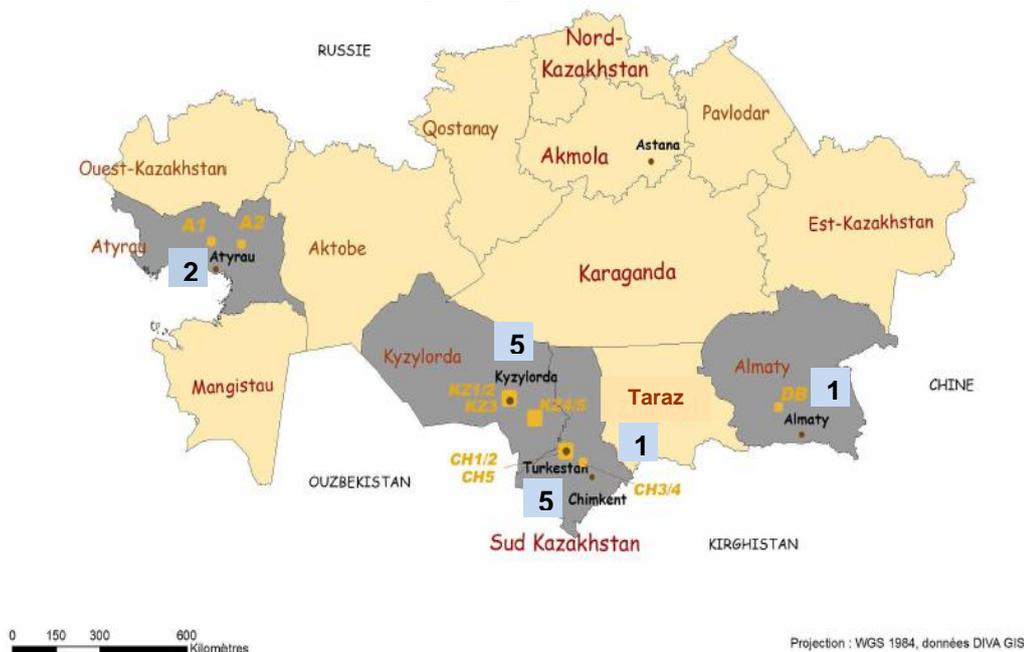


Figure 3 : La carte du Kazakhstan divisée en régions.

#### *Environnement et ressources*

Dans le sud du Kazakhstan (en dessous de 48° de latitude), où commence la région d'étude, les sols sont de type gris/brun, alternant avec de larges bandes de sols

désertiques sableux (dans la partie centrale et la partie méridionale) qualifiés de sols bruns.

La région d'Almaty (Annexe 1) est bordée par les chaînes de montagnes d'Alataou au Sud et s'étend sur une vaste zone de plaines, vallonnées par de petits creux et bosses avec une végétation de type prairial (herbacées, buissons, absence d'arbres) et des sols de sierozems, pauvres en matière organique (Iskakova et Medeu, 2006). Au nord de la région se trouve le lac Balkash. La zone d'étude se situe près du village d'Archi, le long de la rivière Kourti. Elle n'est pas située sur une zone offrant des ressources métallurgiques.

La région du Sud Kazakhstan (Annexe 2) est traversée par le fleuve Syr-Daria, qui prend sa source dans les montagnes du Tian Shan au Kirghizstan pour aller abreuver la mer d'Aral. Les zones cultivées suivent le fleuve tout le long de son parcours. Le nord de la région est traversé par les monts Karataou puis s'étend le désert du Betpak Dala. Au sud des monts Karataou se trouve la ville de Turkestan, située dans une région de déserts, avec une végétation arbustive. C'est une vaste zone de pâturages. Les terres ont un taux de matière organique moyen. Au-dessus de Chymkent, les sous sols de la région regorgent de Pb, Cu et Zn, ainsi que de phosphate (P). Les fermes étudiées se situent au nord, près de Turkestan, où l'on ne trouve pas de ressources métallurgiques (Iskakova et Medeu, 2006).

La région de Kyzylorda (Annexe 3) s'étend un peu plus au nord, avec des plaines palustres le long du fleuve, qui sont soumises à inondation au début du printemps et peuvent se transformer en marécages (Iskakova et Medeu, 2006). C'est une zone de plaines désertiques, caractérisée par une végétation résistante à la sécheresse et par des buissons épineux. Il n'y a pas de gisements minéraux, tout comme pour Atyraou.

La zone d'Atyraou (Annexe 4), au nord de la mer Caspienne est une zone de désert plat de basse altitude. Les terres sont salines. Elle est parcourue par des vents chauds toute l'année.

Elle présente des températures extrêmes en hiver et en été (Iskakova et Medeu, 2006).

Dans la région de Taraz, seuls des échantillons de lait de chamelle et *shubat* ont été pris pour l'analyse de métaux. L'étude géographique et la carte de l'indice de pollution n'ont pas été réalisées pour cette région qui ne faisait pas partie du réseau de fermes initialement suivies ayant servi comme base d'échantillonnage.

### *Industries et pollution*

Dans la région d'Almaty, la zone d'étude se situe au nord de l'ancienne capitale. Le réservoir d'eau de la rivière Kourti a été jugé pollué par une étude datée de 2005. On a observé notamment un dépassement de 12 fois la limite maximale de concentration (LMC) pour le Cu fixées par l'Etat du Kazakhstan (Le Guillou, 2009).

Almaty présente un des plus hauts niveaux de pollution de l'air du pays. Les substances polluantes sont les poussières, les dioxydes de soufre et d'azote, et les hydrocarbures émis par les industries de production d'énergie et la métallurgie. Le rôle de la pollution automobile est également très élevé, et continue d'augmenter. Il peut contribuer à 60% de la pollution de l'air dans les grandes villes et monte jusqu'à 90% pour Almaty (Esekin et al., 1998). Une augmentation de 15% des rejets dans l'atmosphère provenant de la circulation a été enregistrée entre 2001 et 2003 (Agence de statistiques du Kazakhstan, 2009).

Dans la région du Sud Kazakhstan, on trouve des gisements d'uranium. D'une part au nord de la région, de l'autre côté des monts Karataou, à l'entrée du désert de Betpak Dala et d'autre part, près de la vallée du fleuve Syr-Daria. Il y a également un gisement au sud de Turkestan. Une exploitation de Cu et de Ba fonctionne à côté de la ville de Kentaw, au nord de la ville de Turkestan. C'est une région agricole, principalement de cultures de coton et de blé.

La ville de Chymkent est située sur une région renfermant des ressources minérales.

C'est une zone d'exploitation minière et industrielle. Il y a également une usine de distillation du pétrole. En conséquence, la ville enregistre un haut niveau de pollution de l'air. Des concentrations extrêmement élevées en P, F, Pb, Cu et Cd ont été relevées dans l'atmosphère (Esekin et al., 1998). On peut noter également une augmentation de 11% des émissions dans l'atmosphère provenant des transports entre 2002 et 2003 (Agence de statistiques du Kazakhstan, 2009).

Dans la zone industrielle de Chymkent, la pollution des sols par le Pb était en 2000 de plus de 1500 fois la LMC et par le Cd de 200 LMC. A cela se rajoute la fuite des eaux usées et l'absence de gestion des déchets toxiques qui participent à la pollution des sols, notamment par le Zn, F, Cd, As et Se.

Le niveau de pollution du fleuve Syr-Daria est examiné par deux stations de contrôle qui lui attribuent un indice de pollution de quatrième classe (sur une échelle de 1 à 6). Les substances polluantes sont notamment les sulfates, le cuivre, ou les phénols (en moyenne de 2 à 6 fois les LMC) ainsi que les nitrites (16 LMC) et les produits pétroliers (4 LMC) (Esekin et al., 1998). D'autre part, une pollution par les radionucléides, le Pb et l'As des sédiments et des sols longeant la rivière Syr-Daria a été relevée dans une étude menée par Solodukhin de 2005 à 2008. Deux affluents du fleuve, la rivière Arys qui passe au nord de Chymkent et la rivière Badam sont également pollués (Le Guillou, 2009).

Dans la région de Kyzylorda, les principales villes se situent le long du fleuve Syr-Daria. Cette région contient des ressources pétrolifères importantes. Dans le Sud, non loin de la ville de Chieli, on trouve des gisements d'uranium, exploités par des firmes étrangères. Une zone agricole longe le fleuve Syr-Daria (coton, blé).

En 2005, des niveaux de pollution importants ont été trouvés dans les réservoirs d'eau et le fleuve Syr-Daria, principalement par le cuivre et le phosphate (Le Guillou, 2009). La pollution de l'eau est due aux activités agricoles en amont ainsi qu'aux rejets de polluants par les industries. Les rejets de substances polluantes dans l'atmosphère provenant des activités industrielles sont estimés à 19 milliers de tonnes dans la région, avec une augmentation en 2003 de 6 millions de tonnes par rapport à 2002. Les rejets de polluants sont principalement dus à l'industrie pétrolière (quatre compagnies exploitent différents sites au nord de la région).

L'agence de statistique du Kazakhstan (2009) explique cette augmentation par la croissance de la production en général et par l'exploitation de nouveaux sites pétroliers. Elle relève que les principales industries pétrolières n'ont pas de plan de gestion pour la protection de la nature et que les territoires exploités sont pollués.

La région d'Atyraou, au Nord de la mer Caspienne est connue pour sa production de caviar, mais elle est surtout exploitée pour ses ressources pétrolières. Au sud, à côté d'Aqtau des mines d'uranium sont également exploitées. L'agence de statistique du Kazakhstan (2009) enregistre de forte quantité de polluants émis dans l'air. 80 à 85% des émissions seraient dues aux industries d'extraction et de production de gaz et de pétrole. Il y a eu 117,8 millions de tonnes de rejets de substances polluantes (hors émissions automobiles) dans l'atmosphère en 2003, avec une augmentation de 5,3

millions de tonnes par rapport à 2002, ce qui s'explique également par l'augmentation des activités et de la production.

## II.2. Analyse environnementale et spatiale

### II.2.1 Récolte des données

Afin de réaliser l'étude spatiale, les points GPS de chaque ferme et de chaque source de pollution identifiée ont été notés. En parallèle, il a été nécessaire de regrouper des informations, provenant de différentes sources :

- Fond de carte au format ArcGis
  - Internet : Digital Chart of the World (DCW), Diva GIS
- Topographie, relief, bassin versant, carte administrative
  - Faculté de géographie, université de KAZNU Almaty
  - Agence RGKP "Kartographia", Agence RGKP "NKGf", Almaty
- Climat : pluviométrie et vents dominants
  - Institut de géographie, Almaty
- Pédologie
  - Bibliographie

L'étude du paysage a été effectuée sur le terrain afin de relever les informations suivantes :

- Relief
- Végétation (nature, espèces dominantes)
- Hydrologie : présence d'irrigation, circulation de l'eau, canaux
- Occupation des sols (agriculture, industrie, routes...)

Les sources de pollutions recherchées ont été :

- trafic routier
- site industriel
- incinérateurs de déchets ou décharge
- villes
- activités agricoles
- activité minière.

### II.2.2 Traitement des données sous ArcGis

Les données ont été traitées à l'aide du logiciel de cartographie ArcGis 9.2. Les cartes topographiques ont été géo référencées en utilisant le système de coordonnées WGS 1984, système de coordonnées en degrés décimaux, référentiel mondial. Les coordonnées GPS ont été intégrées au logiciel. La cartographie a permis de représenter, sur une même carte, l'évaluation des risques de pollution pour les différentes fermes selon les sources de pollution identifiées, la topographie du milieu, les vents. Une représentation ou la mise en valeur de certaines données (infrastructure, relief, occupation des sols) a été effectuée.

Le logiciel a permis la représentation de zones de risque de différents périmètres autour des sources de pollution. Lorsque les surfaces obtenues se recoupaient, un niveau de risque supérieur a été attribué. A chaque surface correspondait un niveau de risque (de 1 à 4).

L'utilisation de code couleur a permis d'illustrer les différents périmètres et les niveaux de risque. Le choix de la valeur de chaque périmètre est explicité ci-dessous. La direction des vents a été représentée ainsi que les zones sous le vent dominant.

### II.2.3 Indicateurs de risques de pollution

Afin d'agrégier les renseignements environnementaux et d'exploiter plus facilement les données, les différentes informations ont été présentées sous forme d'indicateurs. La mise en place d'indicateurs a permis de comparer les niveaux de risque de pollution selon les fermes.

Les valeurs des différents indicateurs ont ensuite été agrégées afin d'obtenir un indicateur synthétique représentant le risque pour chaque ferme. Ces indicateurs ont été déterminées à partir de la bibliographie, mais les valeurs attribuées sont indicatives et permettent seulement de comparer les données disponibles pour cette étude.

Selon les sources de pollutions identifiées et les données disponibles, les indicateurs suivants ont été retenus :

- Présence de déchets dans la zone de pâture : Les déchets laissés au pâturage se dégradent et déposent des éléments toxiques très peu solubles qui peuvent être ingérés par les animaux pâturant dans ces zones.

- 0 : absence de déchets
- 1 : déchets personnels de la ferme
- 2 : décharge

- Circulation d'engins motorisés dans les pâturages : responsables de dépôts de Cd et Pb.

- 0 : absence
- 1 : présence

- Proximité d'une route à circulation importante : La retombée du Pb et du Cd le long des routes à trafic important (axe routier principal) a été retenue pour une distance de 500 m. Au-delà, on a considéré que les particules sont dispersées par les vents sur tout le territoire (Miquel, 2001).

- 0 : route éloignée de plus de 500 m
- 1 : route à moins de 500m

- Distance usine, ville, exploitation minière ou pétrolière : La dispersion des polluants émis par les usines se fait principalement par les rejets dans l'atmosphère (également par rejet dans l'eau, mais difficile à évaluer). On a retenu un rayon de 5 km pour les retombées proches des particules les plus lourdes. Il est reconnu que les sols les plus pollués sont ceux à proximité d'usine (Miquel, 2001 ; Farmer et Farmer, 2000 ; Cai et al., 2009). Une zone périphérique s'étalant entre 5 et 20 km correspond à la zone de diffusion locale des rejets qui dépend des conditions météorologiques, de l'occupation des sols et du relief de la zone. La dispersion par le vent à l'échelle régionale est considérée à partir de 20 km jusqu'à 400 km environ (CRDP Amiens).

- 0 : usine à plus de 400km
- 1 : usine entre 20km et 400km
- 2 : entre 5 et 20km
- 3 : usine à moins de 5km

- Distance à une zone agricole : La contamination peut avoir lieu si les animaux pâturent sur un champ ayant été mis en culture précédemment, ce qui n'a pas été observé pour les fermes étudiées. Sinon elle peut être due à la dispersion des produits appliqués dans les champs lors de l'épandage. Si l'épandage est réalisé alors que le vent est faible, la dérive des produits ne s'étend pas sur de grandes distances, et on estime la dispersion des gouttelettes à quelques dizaines de mètres (Keichniger, 2006). Le risque de pollution concerne surtout les cours d'eau à proximité de la zone d'épandage (une enquête plus approfondie serait nécessaire pour évaluer les risques liés à l'eau). Une zone de risque de 1 km a été considérée pour prendre en compte la

contamination possible des cours d'eau autour des zones agricoles et la dispersion par le vent.

- 0 : pas de zones de cultures
- 1 : zone de culture à moins de 1 km

La mise en place d'un fichier "base de données" contenant toutes les informations retenues pour chaque ferme permettrait le suivi sur plusieurs années.

### **II.3. Collecte des échantillons**

Les échantillons de lait, de *shubat*, de sol, d'eau et de plantes consommées par les animaux ont été prélevés pour chacune des fermes. Des échantillons de sols ont également été prélevés à proximité de sources de pollution.

Les chameaux élevés sont des dromadaires, des chameaux de Bactriane et des hybrides.

#### **II.3.1 Echantillonnage du lait et du shubat**

Les échantillons de lait et de *shubat* ont été récoltés dans des bouteilles (en plastique pour les analyses de métaux et en verre pour les analyses de pesticides) de 1 litre. Dans chaque ferme, le lait de mélange de la dernière traite et le *shubat* préparé le jour même ont été prélevés. Les échantillons ont été transportés dans une glacière réfrigérée et gardés au froid dans la mesure du possible. Ils ont ensuite été congelés.

#### **II.3.2 Echantillonnage de sol**

L'échantillonnage de sol a été réalisé selon les méthodes utilisées pour différentes études d'analyse des teneurs en métaux lourds dans les sols (Malherbe, 2002 ; Pruvot et *al.*, 2006). Dans chaque zone, 5 à 10 prélèvements de 500g des premiers centimètres de sol (horizon 0-10cm), répartis aléatoirement ont été réalisés. Ils ont ensuite été réunis et homogénéisés en un seul lot et 500g (seulement une faible quantité est nécessaire pour les analyses) ont été gardés pour les analyses de laboratoire. Les cailloux ont été rejetés.

Au laboratoire, les échantillons ont été séchés au four à 50°C pendant 24 heures puis broyés et tamisés et conservés dans des sacs en plastiques.

#### **II.3.3 Echantillonnage de l'eau**

Un litre d'eau a été prélevé dans chaque ferme dans une bouteille (en plastique ou verre), au point d'abreuvement des chamelles.

#### **II.3.4 Echantillonnage des plantes**

Les plantes ont été prélevées dans les lieux où pâturent les animaux, ainsi que sur un site considéré comme source de pollution (décharge sauvage). Seule la partie consommée par les animaux a été prélevée, c'est à dire en coupant avant la racine pour garder les tiges, les feuilles ou les fruits s'il y en avait. Les plantes ont été prélevées par espèce, en essayant de ne prélever que les espèces consommées par les chamelles. On a prélevé 500g de chaque espèce, quantité transportable et suffisante pour qu'une fois séchée, la quantité de matière sèche dépasse les 5g, quantité nécessaire pour les analyses de métaux lourds. Les plantes ont été stockées dans du papier dépourvu d'encre d'imprimerie.

Quand cela a été possible, la nature des espèces a été déterminée avec le fermier ou le berger de la ferme. Les noms kazakhs des plantes ont été notés. Une enquête auprès des bergers a été effectuée pour essayer de déterminer les préférences alimentaires des animaux et les proportions consommées de chaque espèce. Les compléments alimentaires donnés par les fermiers aux chammelles ont également été emportés.

Au laboratoire, l'espèce, le genre et la famille de chaque plante ont été déterminés, dans la mesure du possible. Un herbier a été réalisé. Les échantillons ont été séchés, broyés puis stockés par espèce, dans des sachets plastiques.

### II.3.5 Codage des échantillons

Chaque échantillon a été codé afin de faciliter la lecture des résultats.

Les premières deux lettres font référence à la région où a été prélevé l'échantillon : DB pour Almaty ; CH pour Chymkent ; AT pour Atyrau, KZ pour Kyzylorda et T pour Taraz. La lettre suivante correspond au type d'échantillon : W. pour l'eau ; P. pour les plantes ; S. pour le sol, L pour le lait de chamelle; SH pour le Shubat. La dernière lettre informe sur le numéro de la ferme d'une région précise.

Exemple : CHL1 = Lait échantillonné dans la région de Chymkent, de la ferme 1.

## II.4. Dosage des métaux lourds

La préparation des échantillons de fourrages et sol (séchage et broyage) a été réalisée à Almaty (Kazakhstan), au laboratoire de biotechnologie alimentaire de la faculté de biologie de l'université National Kazakhe Al-Farabi (KAZNU) et dans l'entreprise ANTIGEN.

Les éléments dosés dans le lait et *shubat* ont été: cuivre (Cu), zinc (Zn), plomb (Pb), cadmium (Cd). Dans les échantillons du sol, l'eau et plantes seuls Pb et Cd ont été analysés. Pour les végétaux, l'analyse des métaux lourds a été effectuée sur des échantillons représentant un bol alimentaire, c'est-à-dire regroupant toutes les espèces de plantes prélevées pour chaque ferme.

Remarque : l'unité utilisée est le ppm. 1 ppm équivalant à 1mg/kg de matière sèche (MS) de fourrage, ou 1mg/kg de lait et eau.

DOCUMENT DE RÉFÉRENCE : Comité inter institut d'étude des techniques analytiques: méthodes de référence pour la détermination des éléments minéraux dans les végétaux – Oléagineux, 1973, 28, 87-92. Méthodes Unité Opérationnelle Matériel Végétal CIRAD-AMIS / US49 – ANALYSES.

En éliminant la matière organique et la silice des échantillons, cette méthode permet de mettre en solution, en vue de leur dosage, des éléments minéraux tels que P, K, Ca, Mg, Na, B, Cu, Fe, Zn, Mn, Al, Ni, Cr, Mo, Cd, Pb, Co. Elle s'applique à toutes matrices végétales et biologiques.

Le dosage des métaux lourds et éléments traces commence par une minéralisation par voie humide qui correspond à la destruction de la matière organique par oxydation en présence d'acides concentrés. A 10 ml d'échantillon lait/eau ou 10 mg du sol/plantes, sont ajoutés de l'acide nitrique (10 ml) concentré à 65% de pureté (Carlo Erba Reagents SA). Puis le mélange est transféré dans une capsule en céramique placée 4 heures sur une plaque chauffante réglée à 500 °C. De l'acide nitrique concentré est ajouté sur les cendres et évaporé sur la plaque chauffante jusqu'à la destruction totale de la matière organique. On complète à 10 ml avec de l'eau distillée à 1% d'acide nitrique, le volume de la solution contenue dans la coupelle, devenue blanche. Les solutions minéralisées sont ensuite analysées avec un ICP (Inductively

Coupled argon Plasma–Atomic Emission Spectrometer (ICP AES), Varian Vista MPX–CCD), dans le laboratoire de l'UMR Qualisud-CIRAD- (Montpellier-France).

Les dosages sont effectués en réalisant un étalonnage qui respecte les conditions du milieu analysé : matrice, acidité.

Les calculs sont effectués par interpolation par rapport à la gamme d'étalonnage.

La validation des résultats analytiques repose sur l'analyse d'échantillons de référence internes, dont la teneur en éléments minéraux est connue.

## **II.5. Détermination des Pesticides dans les différentes matrices**

### **II.5.1 Préparation des échantillons : extraction et purification**

Le principe d'une extraction est de transférer le composé d'un mélange initial à un milieu d'extraction, puis de séparer ce dernier du composé. Les pesticides organochlorés présents dans le sol, l'eau, les plantes, lait et *shubat* se trouvent majoritairement dans les matières grasses : l'hexane a donc été utilisé comme solvant d'extraction. La phase hexanique purifiée a servi pour le dosage des pesticides. Les protocoles de préparation de chaque type d'échantillon sont détaillés dans les Annexes 5 à 8.

### **II.5.2 Dosage des pesticides par chromatographie HPLC**

Le laboratoire « Lezart » au Kazakhstan a réalisé les analyses de sept pesticides organochlorés dans chaque échantillon :  $\alpha$ -HCH,  $\beta$ -HCH,  $\gamma$ -HCH, 4,4-DDE, 2,4-DDD, 4,4-DDD, 4,4-DDT.

## **II.6 Analyses Statistiques**

Les statistiques descriptives ont été réalisées (moyenne et écart-type) pour chaque métal. Une analyse de variance simple a été réalisée pour évaluer l'effet de la région. Les corrélations entre les valeurs dans le lait et le *shubat* ont été évaluées par le test de corrélation de Pearson quand il a été justifié. Les concentrations de HAP ont été analysées selon des représentations graphiques de leur profil sur chaque site. Néanmoins, les résultats des pesticides se sont résumés dans une première étape à la fréquence des concentrations de dépassement des seuils d'analyse. Dans une deuxième étape, les concentrations obtenues ont été comparées.

## **II.7. Analyses microbiologiques**

### **II.7.1 Isolement des souches de Bactéries lactiques**

Milieus de culture :

- Milieu MRS (De Man, Rogosa et Sharpe) (liquide Merck, Allemagne ; gélosé Biokar Diagnostics France). Il est généralement utilisé pour l'isolement et la culture des lactobacilles.

- Le milieu M17 (liquide Merck, Allemagne; gélosé Biokar Diagnostics, France). Il est mieux adapté à la croissance des streptocoques lactiques issus essentiellement de produits laitiers.

Une étape de revivification des souches est réalisée en bouillons MRS et M17 à 37°C pendant 24 heures en inoculant les deux milieux par un aliquote de produit laitier décongelé (décongélation lente à 4°C).

A partir des bouillons de revivification, un isolement est réalisé sur les milieux gélosés correspondants et incubés de 24 à 48 heures à 37°C. Un isolement est aussi réalisé directement à partir des produits décongelés.

Des colonies isolées obtenues sont ensuite prélevées et purifiées par deux repiquages successifs sur le même milieu gélosé. Les souches purifiées sont conservées sur le même milieu gélosé en pente à 4°C après incubation de 24 à 48 heures à 37°C. Les souches purifiées ont été caractérisées d'une part par la coloration de Gram (kit de réactif "Color Gram2-E" BioMérieux, France) et par les tests catalase (ID color catalase ID-ASE Biomérieux France) et oxydase (Oxydase reagent Biomérieux, France).

## II.7.2 Conservation des souches bactériennes

Les souches bactériennes pures isolées ont été conservées en utilisant deux méthodes :

- Conservation à 4°C sur gélose nutritive inclinée (Nutrient Agar BLOKAR, France)  
Dans ces conditions, les souches peuvent être conservées pendant 6 mois.
- Conservation après la congélation

Après la croissance des bactéries en milieu bouillon nutritif (Nutrient Broth Biokar France) pendant 24h à 30°C, 1 ml de culture est mis dans un cryotube (Nalgenne®cryoware™, USA) auquel est ajouté 1 ml de glycérol (Merck, Allemagne) dilué à 30% V/V préalablement stérilisé (15 min à 121°C) Les cryotubes sont conservés dans un congélateur à -20°C.

## II.7.3 Identification des souches de bactéries lactiques

### II.7.3.1 Extraction de l'ADN des souches pures

*Réactifs pour extraction d'ADN*

*Tampon Tris-EDTA (TE) à pH 8.0 :*

Tris-HCl 10 mM pH 8,0 (Promega, France) et EDTA 1,0 mM pH 8,0 (Promega, France).  
Stérilisation 15 minutes à 121°C.

*Tampon Tris-Acétate-EDTA (TAE) 50 X à pH 8,3 (Eppendorf, Allemagne) :*

Tris-Acétate 2M pH 8,3 et EDTA 0,05 M pH 8,3. Le tampon est dilué avec de l'eau distillée 50 fois avant usage.

*Solution de lysozyme 25 mg/ml :*

25 mg de Lysozyme (Eurobio, France) sont solubilisés dans 1 ml d'eau pure (Eppendorf, Allemagne).

*Solution de protéinase K 20 mg/ml :*

20 mg de Protéinase K (Eurobio, France) sont solubilisés dans 1 ml d'eau pure (Eppendorf, France).

*Solution de SDS (Dodecyl sulfate de sodium) 20% :*

20 g de Dodecyl sulfate de sodium (Fluka, Allemagne) sont solubilisés dans 100 ml d'eau distillée stérile (qsp).

*Solution de NaCl 3M :*

175,32 g (3M) de NaCl (Panreac, Espagne) qsp 1000 ml d'eau distillée (qsp).  
Stérilisation 15 minutes à 121°C.

*Solution de MATAB (Mixed Alkyl Trimethyl Ammonium Bromide) 2% :*

2 g de MATAB (Fluka, Allemagne) qsp 100 ml de la solution de NaCl 3M.

*Mélange de Phénol/ Chloroforme/ Alcool isoamylique :*

Ce mélange d'extraction des ADN est préparé selon les proportions volumiques suivantes : Phénol (Fluka, Allemagne) 25 ml/Chloroforme (Carlo Erba, France) 24 ml/Alcool isoamylique (Panreac, Espagne) 1 ml.

*Mélange Chloroforme/ Alcool isoamylique :*

Ce mélange d'extraction des ADN est préparé selon les proportions volumiques suivantes : Chloroforme (Carlo Erba, France) 24 ml/Alcool isoamylique (Panreac, Espagne) 1 ml.

*Solution d'acétate de sodium 3M, pH 5,2 :*

246,09 g (3M) de CH<sub>3</sub>COONa (Panreac, Espagne) sont solubilisés dans 1L d'eau distillée. Le pH est ajusté à pH 5,2 par de l'acide acétique. La solution est autoclavée 15 minutes à 121°C

### II.7.3.2 Extraction de l'ADN bactérien à partir des souches isolées

Une colonie d'une souche pure cultivée sur milieu gélosé M17 ou MRS, est mise en suspension dans 500 µl de NaCl (8g/l) dans un microtube de 2 ml. La suspension est homogénéisée au vortex (Stuart Vortex mixer, Bibby Sterilin, UK) à 2500 rpm pendant 10 min. Puis, centrifugée à 12,000 g pendant 15 min (Biofuge, Heraeus Instruments, Allemagne). Les culots contenant les bactéries sont remis en suspension dans 100 µL de tampon TE). La suspension est homogénéisée au vortex (Stuart Vortex mixer, Bibby Sterilin, UK) à 2500 rpm pendant 5 min, puis les cellules du culot subissent une hydrolyse enzymatique provoquée par 100 µL de lysozyme (25 mg/ml, Eurobio, France), et la solution est homogénéisée au vortex à 2500 rpm pendant 5 min. On ajoute 50 µL de protéinase K. Le mélange est agité au Vortex pendant 5 min et incubé pendant 20 min à 42°C au bain marie. 20 µL de Dodecyl sulfate de sodium (SDS) à 20% sont ajoutés, suivi d'une incubation à 42°C pendant 10 min. On ajoute 400 µl de la solution de MATAB. Le mélange est incubé à 65°C pendant 10 min. L'ADN est alors extrait par ajout de 700 µL d'un mélange de phénol/chloroforme/alcool isoamylique. Le tube est agité au Vortex pendant 5 min puis centrifugé à 12,000 g pendant 15 min. Après centrifugation, deux phases sont visibles dans les microtubes : la phase inférieure organique est constituée par le phénol et la phase supérieure aqueuse contient l'ADN. La phase aqueuse contenant l'ADN est prélevée et traitée avec un volume d'un mélange chloroforme/alcool isoamylique (24/1, v/v) puis centrifugée à nouveau. L'extraction avec le mélange phénol/chloroforme/alcool isoamylique est réalisée une seconde fois sur la phase phénolique restant dans les microtubes. L'ADN est précipité par l'addition d'un volume d'isopropanol froid (stocké à -20°C) (Carlo Erba, France) et de 30 µl d'acétate de sodium 3M, pH 5,2 puis les tubes sont placés à -20°C pendant une nuit. Après une centrifugation à 15,000 g pendant 10 min, le culot d'ADN obtenu est ensuite lavé avec 500 µL d'éthanol à 70% (Prolabo, France). Le culot d'ADN final est séché à température ambiante. Enfin, l'ADN est repris dans 50 µl d'eau pure (Eppendorf, Allemagne) et conservé à -20°C.

### II.7.3.3 Vérification de l'extraction d'ADN sur gel d'agarose

La nature et la pureté de l'ADN extrait est vérifié par électrophorèse en gel d'agarose (Promega, France) à 0,8% (w/v) dans un tampon TAE 1X.

8 µl de la solution d'ADN extrait auxquels sont ajoutés 2 µl de colorant bleu/orange (Promega, France) sont déposés dans chaque puits du gel. Le marqueur

de taille moléculaire est un marqueur de 1 kb (Promega, France). La migration dure de 45 min à 1h sous une tension de 100 V.

A la fin de la migration, le gel d'agarose est immergé dans une solution de Bromure d'éthidium (Promega, France) à 50 µg/ml pendant 30 min, puis rincé durant 10 min à l'eau distillée avant d'être observé sur un trans-illuminateur UV à  $\lambda=300$  nm. Le gel est photographié et la photo est traitée avec le logiciel Gel Smart 7.3 (Clara Vision, Les Ulis, France). La concentration de l'ADN extrait est mesurée par le spectrophotomètre BioSpec-nano (Shimadzu Biotech, Japon).

#### II.7.3.4 Amplification de l'ADN bactérien par PCR

Les deux amorces (Tableau 3) utilisées sont : 338f et 518r (Ercolini, 2004; Leesing, 2005) qui amplifient la région V3 très polymorphes du gène de l'ARN 16S. L'amplification conduit à la synthèse d'amplicons de 237 paires de bases quelque soit la bactérie étudiée, seule la séquence de l'amplicon dépend de la souche bactérienne (Tableau 3).

**Tableau 3** : Séquence des amorces 338f et 518r utilisées en PCR.

Amorces	Position*	Séquences
338f (Sigma-Genosys, France)	338-357	5' ACTCCTACGGGAGGCAGCAG 3'
518r (Sigma-Genosys, France)	518-534	5'ATT ACC GCG GCT GCT GG 3'

\*Numérotation établie pour *E. coli*

#### Réalisation de la PCR

La PCR est effectuée dans des plaques de 96 puits standard Sorenson™ (BioScience, USA). Le mélange réactionnel est préparé comme décrit par Ampe et al. (1999) et Leesing (2005) (Tableau 4). On compte quatre puits par souche pure (2 échantillons du même extrait d'ADN et leurs dilutions au 1/10<sup>ème</sup>).

**Tableau 4** : Composition du mix PCR avec les amorces 338f et 518r (Ampe et al., 1999; Leesing, 2005).

Réactifs	Volume par puits (µl)	Concentration finale dans le mix (par litre)
Eau pure	14,5	/
Dntp <sup>1</sup> , 10mM par dNTP (Eppendorf, Allemagne)	2	0,2mM (par dNTP)
Amorce 338f, 1µM (Sigma Genosis, France)	10	0,2µM
Amorce 518r, 1µM (Sigma Genosis, France)	10	0,2µM
Taq buffer, 10x (Eppendorf, Allemagne)	5	1x
Mg Cl <sub>2</sub> , 25mM (Eppendorf, Allemagne)	3	1,5mM
Taq Polymerase, 5U/µl (Eppendorf, Allemagne)	0,5	0,05 U/µl
Extrait d'ADN	5	/

<sup>1</sup> Mélange de nucléotides

### Condition de la PCR et appareillage

Lors de la réaction PCR, des hybridations aspécifiques peuvent se créer. Ces hybridations sont dues à l'appariement de microséquences complémentaires. Pour améliorer la spécificité de l'amplification, une PCR « Touch down » est préconisée (Ampe et al., 1999) (Tableau 5). Une dénaturation initiale à 94°C pendant 1 min, puis 10 cycles de « Touch down » avec une dénaturation à 94°C pendant 1 min, l'hybridation à 65°C (cette température est abaissée de 1°C par cycle jusqu'à 55°C) pendant 1 min, et une élongation à 72°C pendant 3 min. Ensuite, 20 cycles sont réalisés avec une dénaturation à 94°C pendant 1 min, une hybridation à 55°C pendant 1 min et une élongation à 72°C pendant 3 min. L'élongation finale est réalisée à 72°C pendant 10 min. Les réactions de PCR s'effectuent dans un Thermo cycler (PTC-100 Peltier Thermal Cycler, MJ Research Inc., USA).

**Tableau 5** : Conditions des réactions de PCR avec les amorces 338f et 518r.

Nombre de cycles	Température (°C)	Temps (min)
1	94	5
10	94	1
	65*	1
	72	3
20	94	1
	55	1
	72	3
1	72	10

\* : cette température est abaissée de 1°C par cycle jusqu'à 55°C

### Vérification PCR sur gel d'agarose

La taille attendue des produits PCR est de 237 pb.

Le gel d'agarose est à 2 % (W : W), et en TAE, ou Tris-Acétate (40 mM) EDTA (10 mM) (Eppendorf, Allemagne). La migration dure de 30 min à 1h sous une tension de 100 V. Les gels sont observés sur un trans-illuminateur UV à une longueur d'onde de  $\lambda=318$  nm. Le gel est photographié par une caméra digitale et les images acquises et traitées par le logiciel Gel Smart 7.3 (Clara Vision, Les Ulis, France).

Utilisation d'une autre paire des primers (W001 et 23S1).

La séquence partielle de l'ADNr 16S est amplifiée en utilisant un couple d'amorces (Tableau 6). Ces amorces amplifie la région intergénique (ITS : Internal Transcribed Spacer) qui est située entre la région qui code pour l'ARN16S et celle qui code pour l'ARN 23S (Turpin et al., 2011).

**Tableau 6** : Séquence des amorces W001et 23S1 utilisées en PCR.

Amorces	Séquences
W001 (Sigma-Genosys, France)	5'- AGA GTT TGA TCM TGG CTC
23S1 (Sigma-Genosys, France)	5'- CNC GTC CTT CAT CGC CT

Le mélange réactionnel est préparé comme décrit par Turpin et al. (2011) (Tableau 7).

**Tableau 7:** Composition du mélange réactionnel de PCR (W001et 23S1) (volume final 50  $\mu$ L).

Réactifs	Volume par puits ( $\mu$ L)
Eau pure (Eppendorf, Allemagne)	25,75
dNTP 40mM par dNTP (Promega, France)	1
Amorce 16SF 10 $\mu$ M (Promega, France)	2,5
Amorce 23SR 10 $\mu$ M (Promega, France)	2,5
Tampon tag, 10X (Promega, France)	10
MgCl <sub>2</sub> 25 mM (Promega, France)	3
Taq polymerase 5U/ $\mu$ L (Promega, France)	0,25
Extrait d'ADN bactérien	5

Les conditions des cycles de PCR ont été déterminées par Turpin et *al.* (2011) (Tableau 8). L'amplification a été réalisée dans un thermocycler (PTC-100 Peltier Thermal Cycler, MJ Research Inc., USA) avec une dénaturation initiale à 96°C pendant 4 min, puis 30 cycles avec une dénaturation à 96°C pendant 10 sec, l'hybridation à 50°C pendant 30 s, et une élongation à 72°C pendant 2 min. Ensuite, l'élongation finale est réalisée à 72°C pendant 4 min.

**Tableau 8 :** Conditions des réactions de PCR (W001et 23S1).

Nombre de cycles	Température (°C)	Temps (s)
1	96	240
30	96	10
	50	30
	72	120
1	72	240

Après PCR, la vérification et la purification, l'amplicon est envoyé à séquencer avec les amorces sp3, sp4, sp5 (Annexe 9) de manière à couvrir les 1500 pb amplifiés par les amorces W001et 23S.

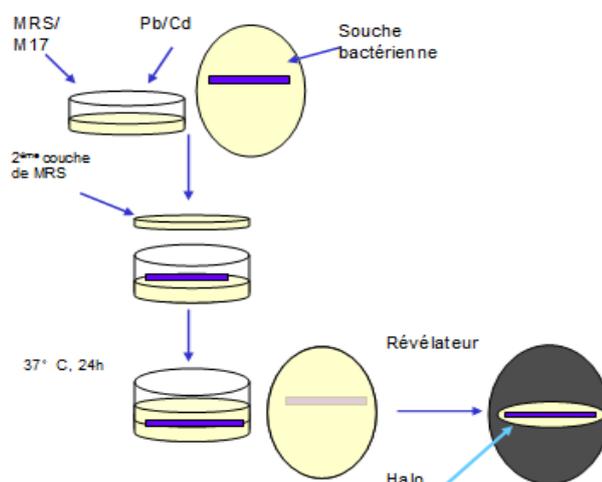
#### *Purification et séquençage des produits PCR*

Les produits de PCR ont été vérifiés sur gel d'agarose QA TM (Q-Biogene, USA) à 1% (w/v) dans un tampon TAE 1X. La bande qui correspond à 1500 pb a été coupée à partir de gel avec un scalpel stérile. La même a été fait avec les produits PCR avec les primers 338f et 518r (Sigma Genosis, France).

Les amplicons de PCR sont purifiés avec un kit Wizard PCR Preps DNA Purification system (Promega, France) (Annexe 10) puis envoyé pour séquençage chez l'entreprise EUROFINs GENOMICS. Les séquences d'ADNr 16S obtenues ont été comparées avec la banque de données disponible sur le site de NCBI (National Center for Biotechnology Information) grâce au programme BLAST afin de déterminer les séquences connues les plus proches.

## II.8. Test de fixation de métaux lourds sur milieu gélosé

Ce test a été réalisé selon le protocole développé par Akhmetsadykova (2008) (Figure 4). L'objet de ce test rapide est de mettre en évidence la capacité de souches de bactéries lactiques à fixer le Pb. Une souche bactérienne est cultivée en strie sur un milieu de culture approprié additionné de Pb sous forme de  $Pb(NO_3)_2$  (Sigma-Genosys, France). Après incubation, la capacité de fixation des métaux lourds est révélée par une solution de sulfure de sodium saturée puis par de l'acide chlorhydrique concentré qui conduisent à la formation de précipités insolubles ou colorés dans le milieu gélosé. L'intensité de la coloration ou de l'opacité du milieu est directement en relation avec la concentration en plomb dans le milieu. La capacité d'une souche à fixer du plomb se traduit par une diminution de la concentration en plomb autour des colonies mise en évidence par une diminution (halo) de la coloration ou de l'opacité du milieu.



**Figure 4 :** Test de fixation de métaux lourds sur le milieu gélosé (Akhmetsadykova, 2008).

La capacité d'interaction des souches isolées avec Pb (50mg/l) et Cd (50mg/l) a été évaluée par les 9 critères suivants :

- Pas de croissance;
- Croissance que sur Pb sans fixation ;
- Croissance que sur Cd sans fixation ;
- Croissance sur Pb et Cd sans fixation ;
- Croissance sur Pb et le fixe ;
- Croissance sur Cd et le fixe ;
- Croissance sur les deux métaux avec fixation du Pb ;
- Croissance sur les deux métaux avec fixation du Cd ;
- Croissance sur les deux métaux avec fixation des deux métaux.

## II.9. Quantification de la capacité des souches bactériennes à fixer du Plomb dans l'eau

### *Protocole de fixation du Plomb*

Il s'agit de mesurer la capacité à fixer le plomb par la bactérie considérée. Le test nécessite de disposer de biomasse bactérienne sèche, ce qui a conduit à produire cette

biomasse. La production de biomasse a débuté par la vérification de la pureté des souches sur milieu MRS ou M 17 par des isollements en boîtes de Pétri. Les souches pures ont été pré-cultivées dans deux tubes de 10 ml des mêmes milieux pendant 24 heures à 37°C. Les deux tubes de pré-culture ont permis d'inoculer 400 ml de milieu liquide stérile (MRS ou M17) en flacons de 500 ml. Après 24 heures d'incubation à 37°C, les cultures ont été centrifugées à 5000 t/mn pendant 10 minutes. Le culot a été lavé avec 10 ml d'eau ultra pure (MolBiograde, Sigma) puis centrifugé dans les mêmes conditions avant d'être congelé pour la lyophilisation. La fixation des métaux lourds a été réalisée selon le protocole décrit par Halttunen et *al.* (2007a). Pour chaque souche, un volume d'une suspension bactérienne à 2 g/l (matière sèche) en eau ultrapure a été ajouté à un volume d'une solution connue de plomb ou de cadmium en eau pure. La biomasse bactérienne finale est de 1 g/l et les concentrations en plomb de 50, 30, 1 et 0 mg/l, à un pH de 5 ajusté avec de la soude ou de l'acide chlorhydrique concentrés. Le plomb est ajouté sous forme de nitrate. Le matériel utilisé est en plastique pour éviter une contamination par le plomb du verre. La mise en contact biomasse/métal a été réalisée dans des tubes coniques de 40 ml, avant une incubation de 1h à 37°C. L'incubation est suivie d'une centrifugation à 5000 t/mn pendant 10mn. Le surnageant est séparé du culot. Avec le surnageant, on prépare trois microtubes de 2 ml stériles contenant 1,5 ml précisément mesurés à la pipette. Dans chacun des microtubes, et dans tous les culots, on ajoute précisément 200 µl d'acide nitrique pur concentré (CarloErba, France) pour éviter la précipitation des métaux lourds sous forme de carbonates. Pour chaque souche, on réalise un témoin sans plomb uniquement avec de l'eau ultrapure et la biomasse (on ajoute aussi 200 µl d'acide nitrique) pour vérifier qu'elle n'était pas contaminée par le plomb. 1,5 ml de chacune des solutions de plomb est aussi additionnés de 200 µl d'acide nitrique. Ces témoins permettent de vérifier les concentrations initiales utilisées pour le test.

➤ *Dosage du plomb*

Pour les culots bactériens, une minéralisation par voie humide est réalisée avec de l'acide nitrique concentré à chaud. Le surnageant n'a pas été minéralisé. Le dosage du plomb a été réalisé par ICP (Inductively Coupled argon Plasma–Atomic Emission Spectrometer (ICP AES), Varian Vista MPX–CCD), dans le laboratoire de l'UMR Qualisud-CIRAD- (Montpellier-France).

## II.10. Test de fixation de plomb in vivo

Quatre-vingt cobayes femelles (250-300g) élevés par la société de Ltd. «ANTIGEN», Almaty (Kazakhstan) ont été divisés en huit groupes par 10 animaux de traitement :

- (1) **Témoin** : cobayes ne recevant pas de plomb et utilisés comme groupe témoin,
- (2) **Groupe Pb** : groupe traité avec 2 ml de solution aqueuse contenant du Pb (0,5 ppm) (5 fois plus que la norme (0,1ppm) pour le Pb dans le lait) dénommé cobayes traités par Pb,
- (3) **4SF** : cobayes traités avec 2 ml de lait fermenté par 4 souches différentes de bactéries lactiques ayant la capacité de fixer du Pb (*Lactobacillus kefir* (S3.2), *Enterococcus faecium* (AT2M10), *Enterococcus faecalis* (SH1S5) et *Enterococcus durans* (S3.3).
- (4) **4SFPb** : cobayes traités avec 2 ml de lait fermenté par 4 souches différentes de bactéries lactiques ayant la capacité de fixer du Pb (*Lactobacillus kefir* (S3.2), *Enterococcus faecium* (AT2M10), *Enterococcus faecalis* (SH1S5) et *Enterococcus durans* (S3.3). additionné de Pb à la même concentration en plomb que les animaux du groupe 2.

- (5) **Gr. *L. mesenteroides***: cobayes traités avec 2 ml de lait fermenté par une seule souche (*Leuconostoc mesenteroides* (S5.1) fixant le Pb,
- (6) **Gr. *L. mesenteroides* Pb**: cobayes traités avec 2 ml de lait fermentés par une seule souche (*Leuconostoc mesenteroides* (S5.1), additionné de nitrate de plomb à la concentration en plomb que les animaux du groupe 2,
- (7) **Gr. *Lb. paracasei*** cobayes traités avec 2 ml de lait fermenté par une seule souche de bactérie lactique (*Lactobacillus paracasei subsp. paracasei* (S33.2)
- (8) **Gr. *Lb. paracasei* Pb** cobayes traités avec 2 ml de lait fermenté par une seule souche (*Lactobacillus paracasei subsp. paracasei* (S33.2) et additionné de Pb à la concentration en plomb que les animaux du groupe 2.

Le lait fermenté utilisé a été du lait de vache (Lactel 2,5% ultrasterilisé, Food Master) fermenté avec des souches de bactéries lactiques isolées lors de cette étude. L'apport de Pb (0,5 ppm) a été réalisé avec du Pb<sub>2</sub>(NO<sub>3</sub>) (Sigma-Genosys, France). Les cobayes ont reçu oralement leurs doses respectives (2 ml) chaque jour pendant 28 jours. L'eau et la nourriture ont été fournies *ad libitum*.

#### ➤ *Echantillonnage et prélèvements*

Les fèces ont été échantillonnées tous les 7 jours. Au 28<sup>ème</sup> jour les échantillons du sang ont été collectés par ponction cardiaque (Rader et *al.* 1981). Le cœur, les poumons, le foie, les reins, la rate ont été prélevés après abattage (Schroeder et *al.*, 1964; Schroeder et *al.*, 1965; Babalola et *al.*, 2010; Chun-yan et *al.*, 2011). Tous les échantillons ont été stockés au congélateur au – 20°C jusqu'à analyse.

#### ➤ *Détermination de la concentration du Plomb*

Les échantillons ont été mélangés par type d'organe et par groupe. Il s'agit donc de moyennes par groupe. Avant analyse, les échantillons (sang, fèces, organes) ont été séchés au four à 150° C pendant 1 heure et homogénéisés. Puis 1 gramme de chaque échantillon a été minéralisé par voie humide en utilisant de l'acide nitrique pur à 65% (Carlo Erba Reagents SA, Italy) par la méthode Kjeldahl (DK6 VELP SCIENTIFICA, Italy). La concentration du Pb dans les échantillons minéralisés a été dosée par Spectrométrie d'absorption atomique 30 (SAA, Carl Zeiss, Germany) au laboratoire «KazMekhanObr» (Almaty, Kazakhstan).

#### ➤ *Analyse statistique*

L'effet du traitement sur la concentration en plomb dans les différents organes a été évalué par le test de Kruskal-Wallis. La matrice de corrélation concernant le tableau traitement x concentration du Pb dans les organes a été analysée par Analyse en composantes principales (ACP). La procédure ANOVA a été utilisée pour observer l'effet de la semaine sur la concentration du plomb dans les fèces. Le logiciel utilisé a été XLStat © (Addinsoft, 2010).

### III. RESULTATS

#### III.1. Identification et localisation des sources de pollutions. Situation des fermes par rapport aux risques de pollution

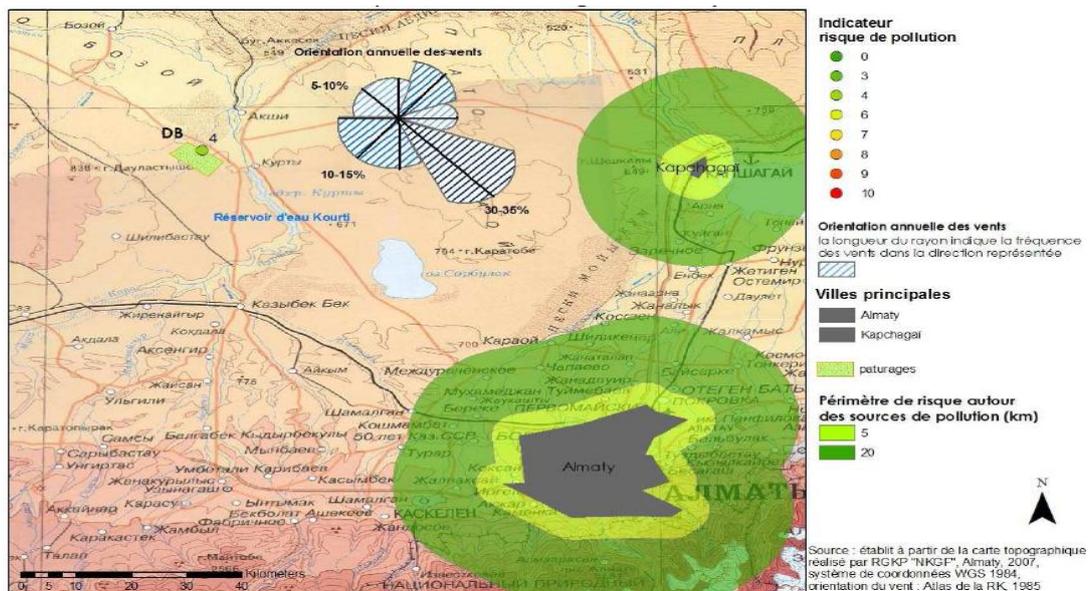
Les fermes étudiées et enquêtées sont situées dans quatre régions du Kazakhstan retenues d'une part parce qu'il s'agit de zones d'élevage des grands camélidés, d'autre part, parce que ce sont des zones de contamination potentielle par des polluants (Figure 5). En s'appuyant sur un système d'information géographique, des cartes d'indice de pollution ont été construites pour chaque ferme échantillonnée dans chacune des régions d'étude.



**Figure 5** : Situation des fermes dans les différentes régions prélevées

##### III.1.1 Région d'Almaty

Ferme DB (Figure 6) : la ferme DB est située à 93 km au Nord Ouest d'Almaty. La zone de pâturage est une zone de semi-steppe, non exploitée, à petites collines. L'eau provient d'une nappe souterraine. La rivière la plus proche est la rivière Kourti. Aucune source d'émission de polluants proche n'a été identifiée, sauf la circulation automobile (trafic personnel dans la ferme et route à proximité avec un faible trafic) et des substances transportées par les vents sur de longues distances. La région n'est pas soumise à des vents forts. Il y a en moyenne 15 jours par an avec un vent de plus de 15 m/s orienté majoritairement vers les montagnes (sud est, sud) (Iskakova et Medeu, 1985).



**Figure 6** : Ferme et source de pollution dans la région d'Almaty.

### III.1.2 Région du Sud Kazakhstan

Les zones de pâturage enquêtées sont des zones de steppe, à végétation d'herbacées pérennes (*Fabaceae*, *Alhagi pseudohagi*), annuelles (*Poaceae*) et à petits arbustes (*Artemisia*).

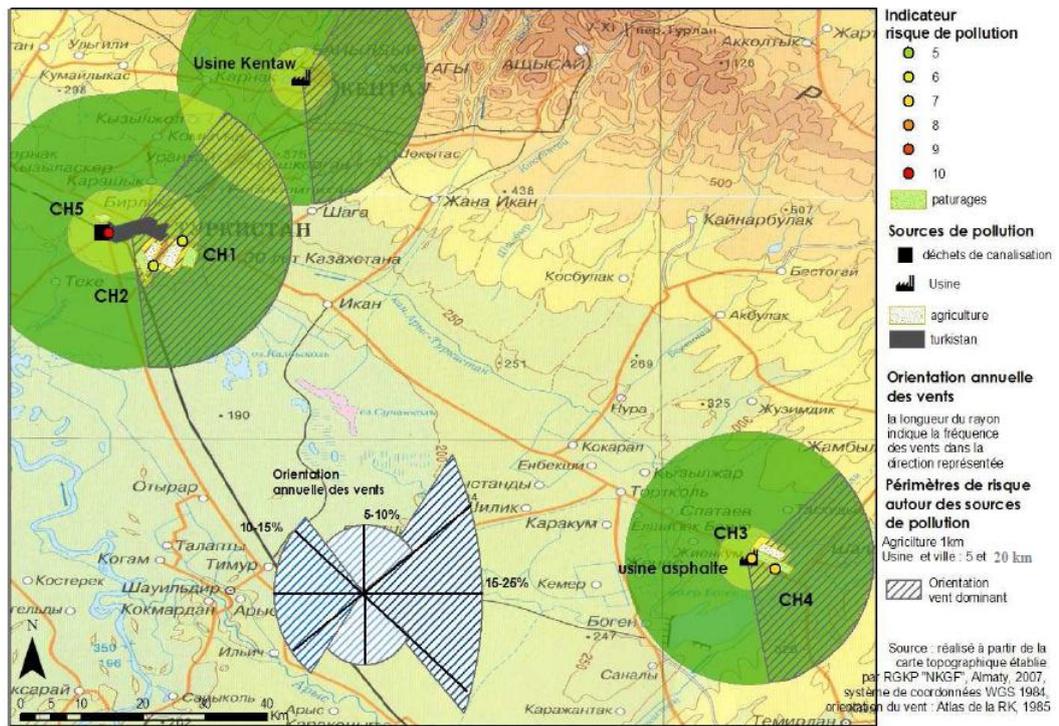
Fermes CH1 et CH2 (Figure 7) : La zone pâturée est proche de cultures de céréales et de coton. Les prélèvements ont été effectués à 500 m de la route. La ville de Turkestan se trouve à 6 km et une usine de polymétal se trouve à 31 km, à Kentaw. L'eau provient d'une nappe souterraine.

Fermes CH3 et CH4 : Les fermes se trouvent à 500 m et 1 km respectivement d'une usine de production d'asphalte. La route principale Chymkent/Kyzylorda longe les pâturages. L'eau provient d'une nappe souterraine. La ville la plus proche est Turkestan à 92 km. Des gisements d'uranium exploités se trouvent à environ 80 km.

Ferme CH5 : L'enclos pour les chameaux est situé dans la ville de Turkestan. Les pâturages se situent à l'orée de la ville. Dans la zone se trouve la canalisation de sortie des égouts de la ville. Dans la ville se trouvent une usine de ciment et la centrale de chauffage.

Les vents dominants sont orientés vers les montagnes, vers le sud est. Ils se répartissent de manière égale pour les autres directions. Les rejets de la ville seraient donc majoritairement dispersés vers le sud est, c'est à dire vers les zones de pâturages des fermes CH1 et CH2. La vitesse du vent est faible mais le vent souffle entre 2 et 4 m/s la majorité de l'année (Iskakova et Medeu, 1985).

Les risques de pollution peuvent également provenir d'activités industrielles comme celles de la métallurgie et de raffinerie de pétrole qui sont regroupées autour de la ville de Chymkent dans le sud de la région.



**Figure 7** : Fermes et sources de pollution dans la région du Sud Kazakhstan.

### III.1.3 Région de Kyzylorda

Les zones de pâturages de la région sont des zones de steppes, à végétation d'herbacées pérennes (Chenopodiaceae), annuelles (Poaceae) et à petits arbustes (Asteraceae : Artemisia). Au nord de la région, à environ 200 km de la ville de Kyzylorda, se trouvent des gisements de pétrole exploités (Kumkol). A la périphérie de la ville se trouve une usine d'asphalte et de ciment.

Ferme KZ1 (Figure 8) : La ferme est située à 16 km de la ville de Kyzylorda. Une route secondaire passe à moins d'1 km des pâturages. Un aéroport se trouve à 3 km. L'eau provient d'une nappe souterraine.

Ferme KZ2 : Les pâturages se trouvent à 10 km de la ville de Kyzylorda. Une partie des pâturages parcourus par les animaux sert aussi de déchetterie à la ville, sur une surface de 1 km<sup>2</sup>. La route secondaire longe les pâturages. L'eau provient d'un canal qui prend sa source dans le fleuve Syr-Daria. Des champs de riz sont cultivés à proximité (à partir de 500m).

Ferme KZ3 : L'enclos pour les animaux se trouve dans la ville, les animaux pâturent à proximité de la ville. L'eau provient du fleuve Syr-Daria.

Fermes KZ4 et KZ5: Les fermes se trouvent dans un village qui longe l'autoroute de Kyzylorda/Chymkent. L'eau provient d'un canal effluent du Syr-Daria, protégé par des talus. La ville de Chieli se trouve à 26 km. Au sud, trois sites d'extraction d'uranium sont exploités.

La région est caractérisée par une vitesse moyenne des vents plutôt élevée, 5 à 6 m/s. Il y a 10% de jours calmes dans l'année et 30 à 35% des vents soufflent vers le nord est. Les vents soufflent également vers le nord et le nord ouest (Iskakova et Medeu, 1985). Les vents dominants sont donc à même d'orienter la dispersion des

polluants de l'usine d'asphalte et de la ville vers les pâturages de la ferme KZ2. De même l'orientation nord des vents peut augmenter la contamination des pâturages des fermes KZ4 et KZ5 par les rejets des exploitations d'uranium.

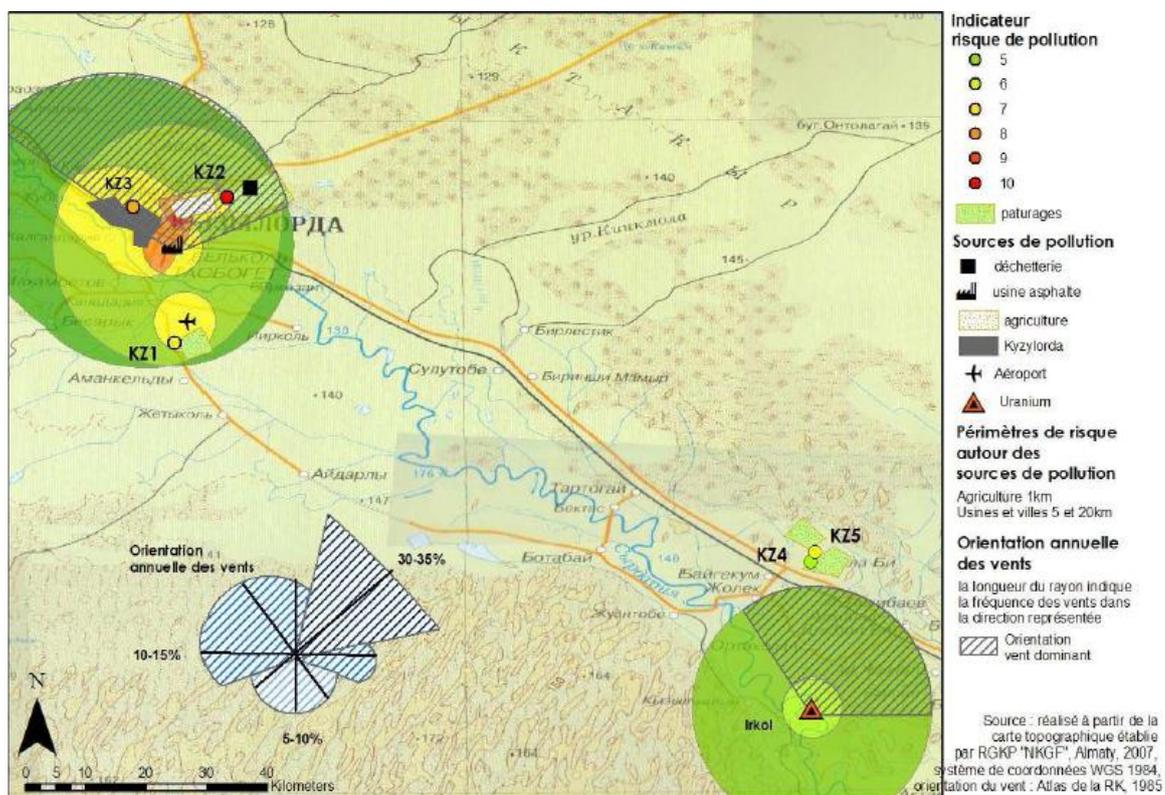


Figure 8 : Fermes et sources de pollution dans la région de Kyzylorda.

### III.1.4 Région d'Atyraou

Les pâturages sont des zones de steppes, à dominance d'*Artemisia*, de *Tamaris*, d'*Ephedra Distachya* et de Poacées.

Ferme AT1 (Figure 9) : La zone de pâture se trouve entre deux exploitations de puits pétroliers (Maten et Joldibaï Nord). L'eau est prélevée d'une nappe souterraine. La ville la plus proche est Makat, à 35 km. Les pâturages sont parcourus par de nombreuses pistes pour les engins à moteur.

Ferme AT2 : La plus proche exploitation pétrolière a été évaluée à 50 km. L'eau provient d'un canal encadré par des talus, le canal prend sa source dans le fleuve Oural qui se jette dans la mer Caspienne. La ville d'Atyraou est à 80 km. La zone est proche de la route Atyraou/Oural.

Les vents de la région soufflent dans toutes les directions de la rose des vents, sauf vers le sud, vers la mer. Tout le long de la côte de la mer Caspienne, les vents sont particulièrement plus forts, sinon dans le reste de la région, la vitesse moyenne est de 5 m/s (Iskakova et Medeu, 2006). Il y a 54 jours où le vent souffle à plus de 15 m/s et seulement 9% de jours calmes dans l'année.

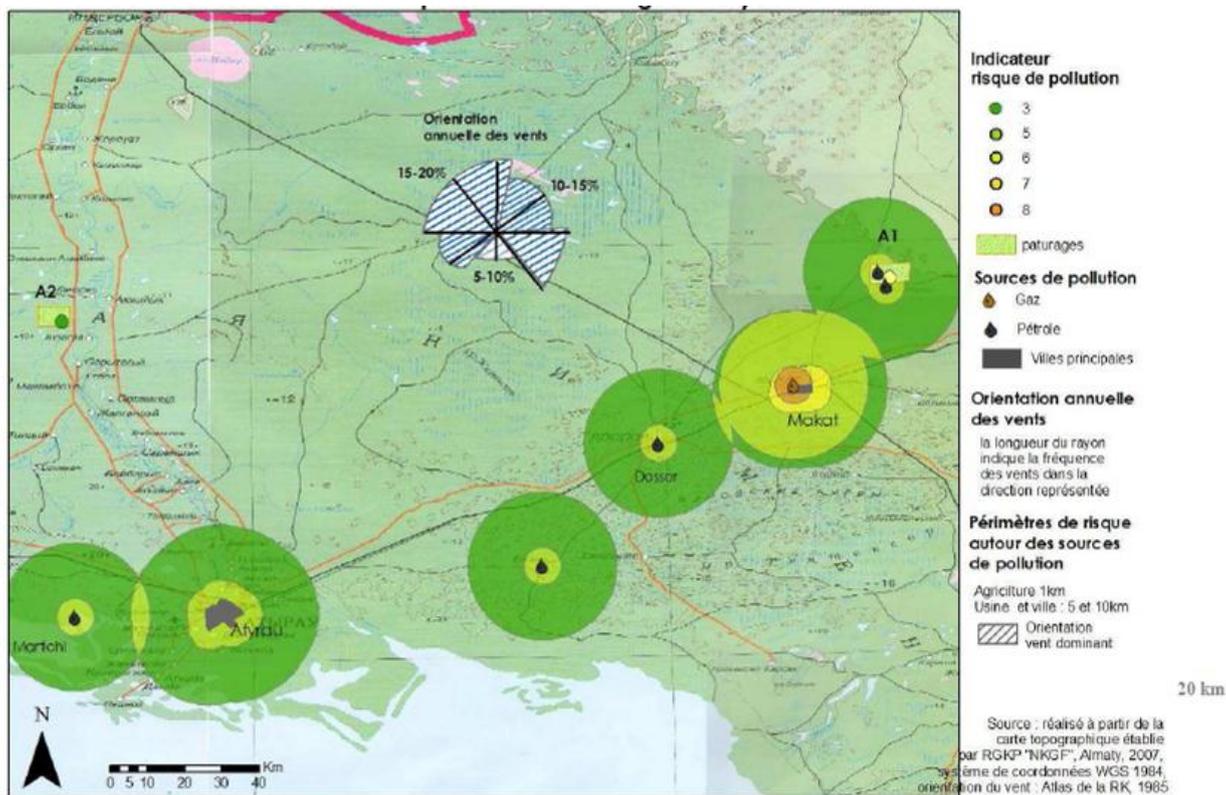


Figure 9 : Fermes et sources de pollution dans la région d’Atyraou.

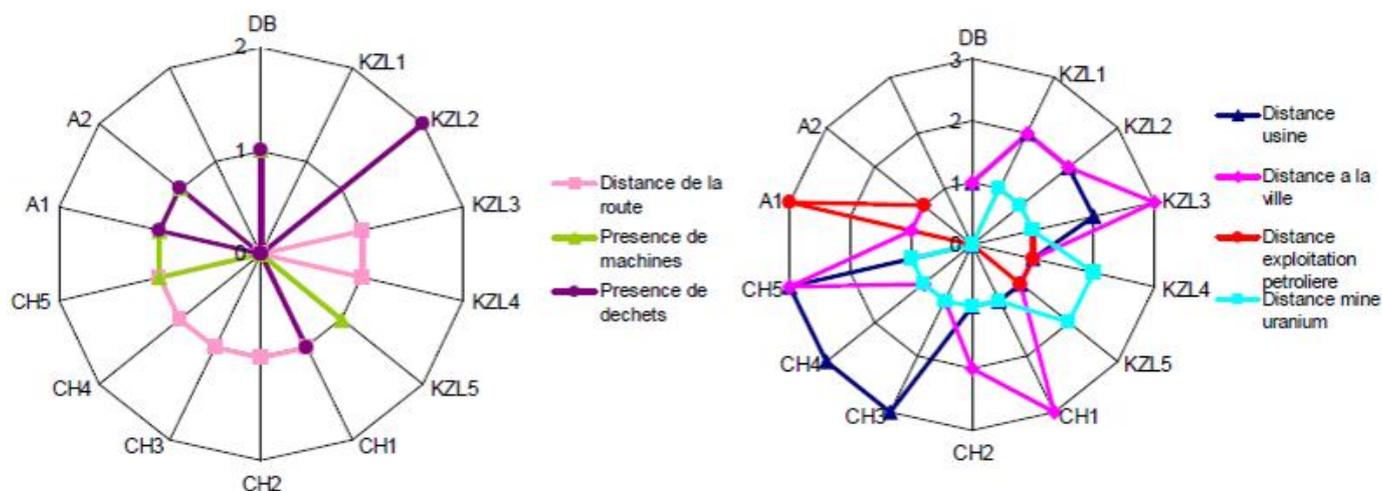
D’après la bibliographie et les enquêtes de terrain, différentes sources de pollution ont pu être identifiées (Figure 10). Les coordonnées GPS sont regroupées en Annexe 11.



Figure 10 : Sources de pollution identifiées dans les régions d’étude

L’utilisation des indicateurs permet de prendre en compte les risques dus à la présence d’engins (voitures) autour des zones de pâturages et à la présence de

déchets dans les fermes qui n'ont pas été représentés sur les cartes. La figure 11 présente certains indicateurs, les valeurs des indicateurs pour chaque ferme sont présentées en Annexe 12.



**Figure 11** : Valeurs de différents indicateurs par ferme

Au final, l'indice synthétique de pollution a varié de 3 à 10 selon les fermes (tableau 8 bis). Cet indice est sensé exprimé un gradient du risque de contamination des fermes sélectionnées.

**Tableau 9** : Indice synthétique du risque de pollution des fermes sélectionnées

Ferme	Ind. Pollut
AT2	3
DB	4
KZ4	6
CH2	6
AT1	6
KZ1	7
KZ5	7
CH1	7
CH3	7
CH4	7
KZ3	8
KZ2	9
CH5	10

Les activités industrielles menacent toutes les fermes dans chacune des régions, mais certaines fermes sont directement exposées à la pollution qui sont plus proches des usines ou des exploitations. Les fermes CH3 et CH4 sont situées dans le proche périmètre d'une usine de production d'asphalte (Kyzylkopir). Mais, cette usine a été exploitée dans l'ancien temps puis abandonnée. Elle vient d'être remise en fonctionnement par de nouveaux investisseurs (2009). Elle n'a donc pas fonctionné à plein régime durant la période d'étude. Les fermes KZ2, KZ1 et KZ3 peuvent également recevoir les retombées du fonctionnement d'une usine d'asphalte.

La ferme KZ2 présente un risque d'autant plus élevé, que les pâturages exploités par les chameaux sont soumis à la présence de déchets.

Les chamelles des fermes CH5 et KZ3, qui pâturent dans la ville où à proximité, sont exposées à de hauts niveaux de pollution dus aux Pb et Cd provenant de la circulation automobile.

Dans la région d'Atyraou, la ferme AT1 est plus exposée à la pollution des rejets de l'exploitation pétrolière qu'AT2. Le risque de pollution des sols et des plantes par les dépôts atmosphériques est plus élevé.

La présence de mines d'uranium dans le sud de la région de Kyzylorda entraîne un fort risque de contamination. En premier lieu par les déchets radioactifs et, en deuxième lieu, par les métaux lourds, déchets d'exploitation de la mine, comme le cuivre, coproduit de l'extraction de l'uranium. La présence de champs agricoles exploités menace principalement les pâturages du Sud Kazakhstan. Le risque de pollution par l'agriculture est surtout lié à la pollution de l'eau.

La cartographie permet de représenter les risques liés à la pollution de l'air et des sols. L'évaluation des risques de pollution de l'eau nécessite de connaître exactement la circulation et la conformation du réseau hydrographique. Notamment, il serait nécessaire de connaître l'origine des nappes souterraines ainsi que les tracés exacts des cours d'eau. Mais les données n'étaient pas disponibles pour la présente étude. Tout comme le rejet d'éléments toxiques par les usines dans les aquifères.

Les données disponibles pour la direction du vent et la vitesse sont les moyennes pour les vents en juillet, en janvier et les moyennes sur l'année. La représentation choisie utilise les données sur l'année, étant donnée que les émissions de pollution ont lieu tout au long de l'année, et donc que les zones susceptibles de recevoir le plus de substances polluantes sont celles qui reçoivent le plus de vent durant toute l'année. Les zones sous les vents dominants seront soumises aux dépôts dus aux industries, aux activités des villes et à l'extraction des ressources primaires. Les données sur les directions du vent datent de 1985 et l'échelle de précision est régionale, c'est-à-dire 1 pour 10 000 000.

Des phénomènes de pollution intense ont lieu selon certaines zones présentant un relief spécifique comme une vallée ou une zone côtière. Les zones étudiées ne présentent pas de tels reliefs, les pâturages se situent tous dans des zones de plaines, éloignées des montagnes, à l'exception de la ferme de DB qui présentent des petites collines de quelques mètres de hauteur (10m).

L'enquête environnementale montre que l'environnement dans lequel évoluent les chameaux est soumis à de multiples pollutions. Les différents éléments étudiés sont donc susceptibles d'être contaminés que ce soit par le Pb avec les gaz automobile, les rejets industriels (usine d'asphalte, pétrole, industrie métallurgique) ou l'agriculture, par le Cd (industrie métallurgique, agriculture, usine asphalte, automobiles), par le Cr (agriculture, décharge), par le Cu (agriculture, pétrole) ou par le Zn (industrie métallurgique, décharge). La représentation cartographique permet de visualiser les différentes pollutions qui menacent les fermes.

Seules les principales sources de pollution les plus proches ont été identifiées. Les animaux au pâturage sont la cible potentielle de nombreuses pollutions et peuvent donc être le vecteur de la contamination alimentaire à l'homme.

## **III.2. Analyses des données expérimentales**

### **III.2.1 Pb et Cd dans différents matrices environnementales**

#### *Sol*

Le taux de Pb dans les échantillons de sols des différentes fermes échantillonnées est compris entre 7,76 et 131,08 ppm. Le taux de Cd est compris entre 0,08 ppm et une valeur inférieure à 0,39 ppm.

### Eaux

Le taux de Pb et Cd est compris entre 5,9-13,6 ppm et >0,05-0,25 ppm.

### Plantes

Le taux de Pb dans les échantillons de plantes est compris entre 0,50 et 2,30 ppm. Le taux de Cd est compris entre une valeur inférieure à 0,05 ppm et un maximum de 0,56 ppm dans la ferme AT1 (Tableau 10).

**Tableau 10** : Teneur du Pb et Cd dans l'eau, le sol et les plantes selon les fermes.

Ferme	Eau		Sol		Plante	
	Pb	Cd	Pb	Cd	Pb	Cd
AT1	8,91	0,09	9,63	0,27	2,3	0,56
AT2	8,91	0,09	10,17	0,21	1,3	0,21
CH1	8,347	0,05	131,08	0,24	1,2	0,05
CH2	6,549	0,05	33,44	0,18	1,5	0,09
CH3	8,777	0,05	16,32	0,29	0,5	0,07
CH4	10,822	0,05	16,05	0,39	0,6	0,1
CH5	6,097	0,05	18,99	0,22	0,9	0,1
DB	5,913	0,05	13,11	0,22	2,2	0,4
KZ1	10,19	0,05	11,37	0,19	1	0,17
KZ2	6,684	0,05	8,42	0,21	1,5	0,15
KZ3	8,528	0,05	12,31	0,33	0,8	0,06
KZ4	12,466	0,25	10,17	0,08	1,7	0,14
KZ5	13,642	0,05	7,76	0,1	0,8	0,13

## III.3. Comparaison avec l'analyse spatiale

### III.3.1 Teneur dans le sol

*Le plomb.* Les valeurs de concentration en métaux lourds obtenues sont contenues dans une échelle de valeurs très large. La ferme CH1 présente la plus forte concentration en Pb ce qui peut être dû à la présence de l'autoroute. La ferme CH2 qui présente une pollution plus importante après la ferme CH2 se trouve aussi près à la circulation automobile.

Les fermes CH3 et CH4 ne semblent pas être fortement touchées par la pollution de l'usine d'asphalte. Mais, la teneur en Pb y est plus haute relativement aux autres fermes. Les prélèvements effectués dans les fermes soumises à de fortes pollutions à proximité d'une source de pollution (déchetterie, canalisation) ne contrastent pas par rapport aux autres prélèvements. Cependant, la ferme CH5 est plus contaminée après les fermes CH1 et CH2.

*Le cadmium.* La ferme CH4 située près de l'usine d'asphalte et des gisements d'uranium à 80 km est plus polluée par rapport aux autres fermes de la région. La ferme CH3 qui se situe proche de CH4 présente aussi un niveau de pollution non négligeable. Les fermes CH1 et CH2 sont placées près des champs de cultures : CH1 s'avère cependant plus polluée que CH2. Les fermes CH5 et KZ2 situées dans la ville avec un pâturage près de la déchetterie et des canalisations ne montrent pas de forte contamination. Cependant, la ferme KZ3 située dans la ville, présente un niveau de pollution plus fort. Les effets de déplacement autour de puits pétroliers ont une conséquence de pollution non négligeable.

### III.3.2 Teneur dans l'eau

*Le plomb.* L'eau de la ferme DB est la moins contaminée par rapport aux autres fermes. Les fermes les plus contaminées dans la région de Sud Kazakhstan sont CH3 et CH4, près de l'usine d'asphalte. Les fermes CH5 et KZ2 près de déchetteries ont un niveau de pollution relativement peu élevé. Les fermes KZ4 et KZ5 sont plus touchées par la contamination au Pb car l'eau provient d'un canal effluent du fleuve Syr-Daria qui pourrait être contaminé, et l'autoroute peut jouer un rôle important. Le niveau de la contamination de la ferme KZ1 est également élevé, ce qui peut être dû à la présence des activités de l'aéroport et de la route secondaire près du pâturage. Les mêmes résultats sont observés pour la ferme CH1 placée près de la route, mais non pour la ferme DB. La présence de puits pétroliers près de la ferme ou à 50 km donne le même niveau de pollution pour les fermes AT1 et AT2.

*Le cadmium.* En ce qui concerne la teneur du Cd dans l'eau, on peut noter que l'eau de la ferme KZ4 contient les valeurs maximales. Les échantillons de cette ferme ont été pollués par le Pb à des teneurs importantes. Mais, les échantillons de la ferme KZ5, riches en Pb, apparaissent moins contaminés que la ferme KZ4. La présence de puits pétroliers joue un rôle non négligeable sur la teneur du Cd dans l'eau de la région d'Atyraou.

### III.3.3 Teneur du Pb et Cd dans les plantes

Les prélèvements effectués à proximité des fermes soumises à de fortes pollutions (KZ2, CH5) sont dans le niveau moyen de pollution des autres matrices prélevées (eau et sol).

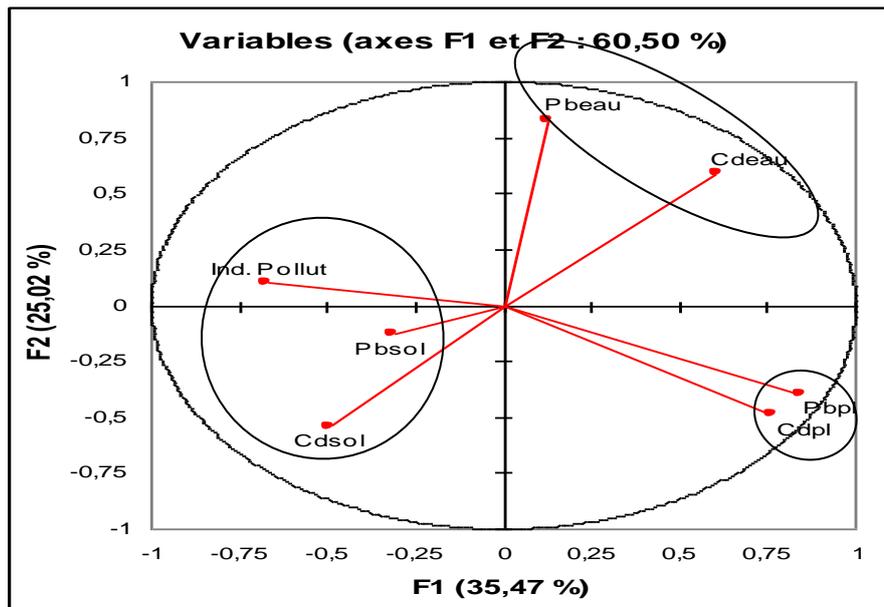
La ferme AT1 présente le niveau de pollution le plus élevé. On pourrait dire que la distance de puits pétroliers a une influence sur la teneur du Pb et Cd comme l'indiquent les données de la ferme AT2, en comparaison avec AT1.

Les fermes CH3 et CH4 ne semblent pas être fortement touchées par la pollution de l'usine d'asphalte. Les fermes CH1 et CH2 présentent une pollution plus importante, qui peut être due à la circulation automobile près des pâturages.

La ferme de DB présente la plus forte concentration en les deux métaux alors qu'il n'y a pas de source de pollution identifiée. La pollution peut être due aux dépôts par les vents qui transportent les molécules sur de longues distances ou à la circulation d'engins motorisés sur les pâturages. On voit que les fermes les plus contaminées par le Pb sont aussi contaminées par le Cd.

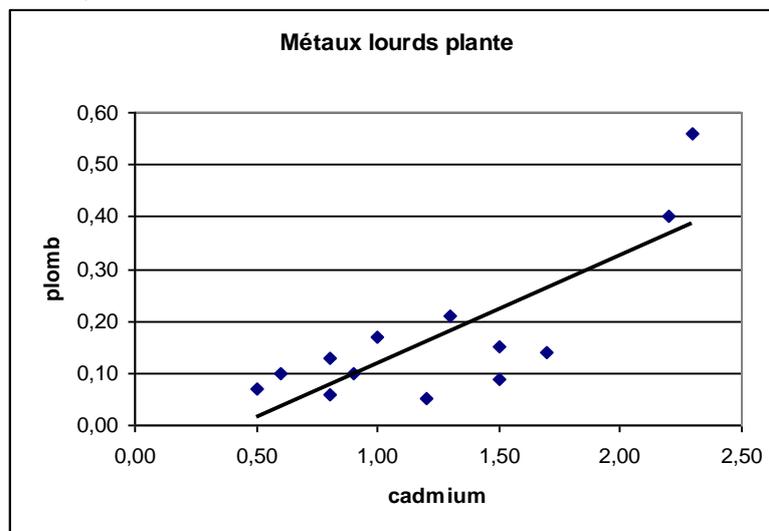
## III.4. Interactions entre matrices environnementales

On observe un lien entre l'indice de pollution et les teneurs en métaux lourds (Pb et Cd) dans les sols montrant l'impact de la proximité et de la nature des sources de polluants sur la contamination des sols. On observe également une corrélation étroite entre la teneur en Pb et en Cd dans les plantes et un lien semblable dans l'eau. Cependant, les teneurs dans le sol sont indépendantes des teneurs dans l'eau et dans les plantes (absence de lien) (Figure 12).



**Figure 12 :** Corrélation entre les teneurs du Pb et Cd dans les différentes matrices.

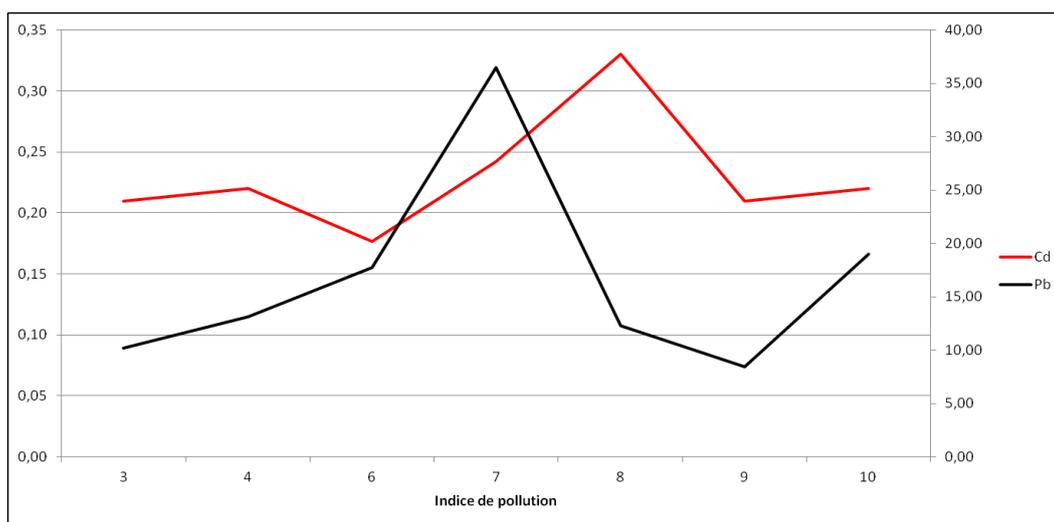
Les relations des variables deux à deux ont été étudiées pour les différentes matrices (eau, sol, plante) ou pour un même élément dans différentes matrices (Pb et Cd). Les corrélations positives ont été observés dans chacune des matrices, tout particulièrement dans les plantes (Figure 13), indiquant un effet global de la pollution ( $r=0.800$  ;  $p < 0.001$ ).



**Figure 13 :** Corrélation entre les Pb et Cd dans les plantes.

Par contre, il n'y a pas de corrélation du même type dans les sols et dans l'eau mais le nombre d'échantillons est limité. De plus, un prélèvement de sol est particulièrement contaminé en Pb, perturbant la variance du Pb par rapport à celle du Cd et rendant la relation statistique difficile à établir (Figure 14).

En revanche, il n'existe pas de liens significatifs entre les teneurs en Pb et Cd (ci-dessous par exemple dans les plantes) et l'indicateur de pollution selon l'échelle de 0 à 10. Seule une tendance peut être observée.



**Figure 14** : Liens entre le teneur en Pb et Cd dans le sol et l'indicateur de pollution.

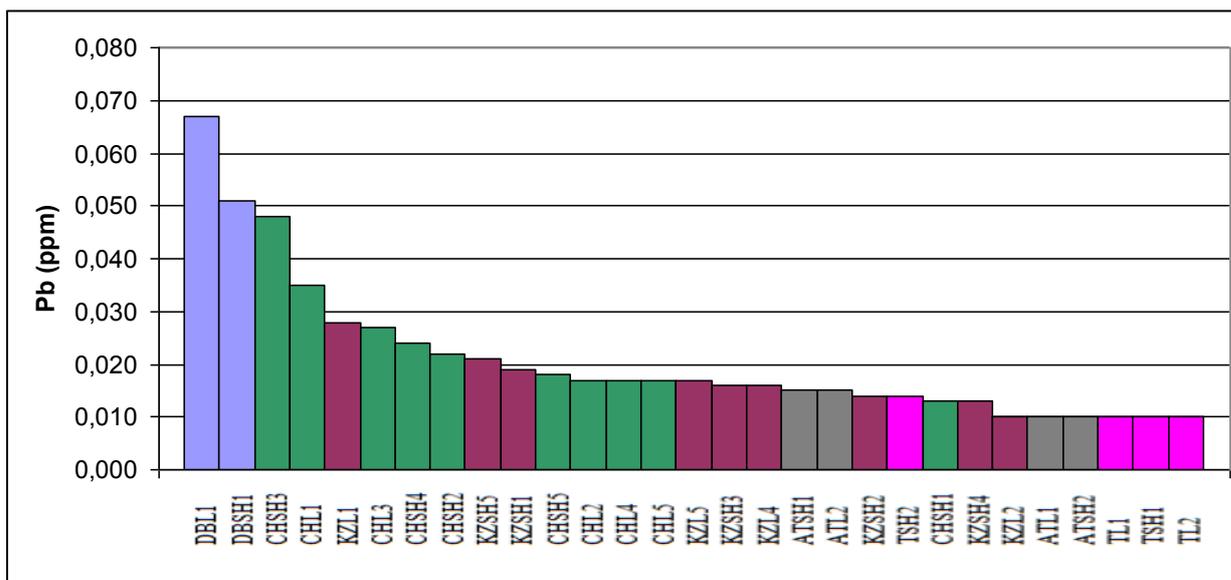
Par exemple ici dans les sols, il y a une tendance à l'augmentation du Pb en fonction de l'indice de pollution, mais il semble qu'il y ait un optimum (indice de 6 ou 7). La pertinence de l'indice est donc à relativiser.

### III.5. Métaux lourds dans le lait et *shubat*: Pb, Cd, Cu et Zn (ppm)

Les données sur le teneur en métaux lourds dans le lait et le *shubat* sont rapportées sur les graphiques suivants pour chaque élément et ferme.

#### *PLOMB*

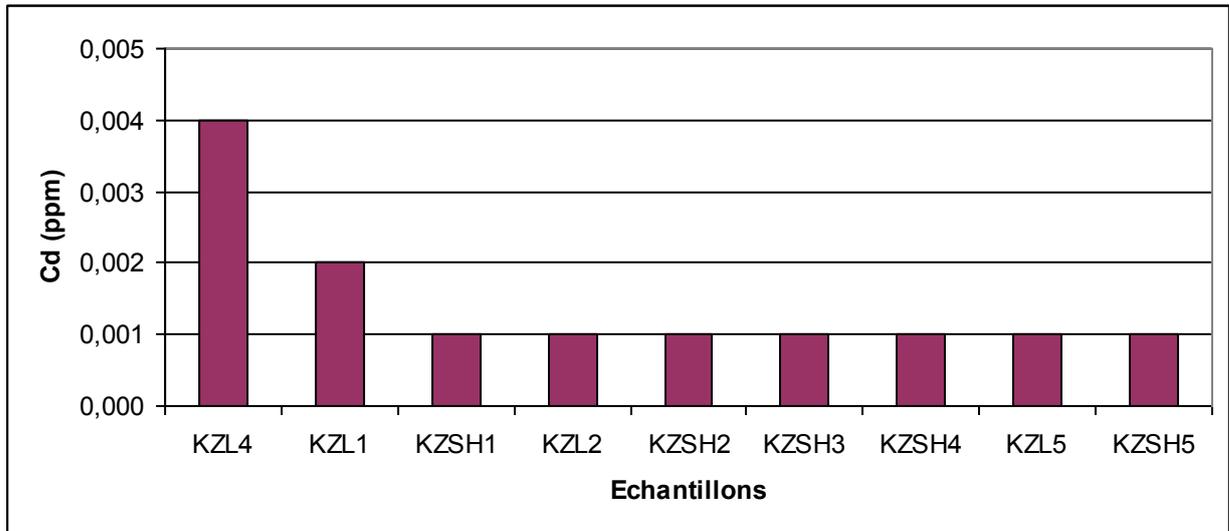
Dans le lait et le *shubat*, les teneurs en Pb sont toutes inférieures de la limite maximale autorisée par l'UE (0,05 ppm), à l'exception de la ferme de la région d'Almaty, réputée pour l'intensité de son trafic routier (Figure 15).



**Figure 15.** Teneur en Plomb dans le lait et *shubat*

## CADMIUM

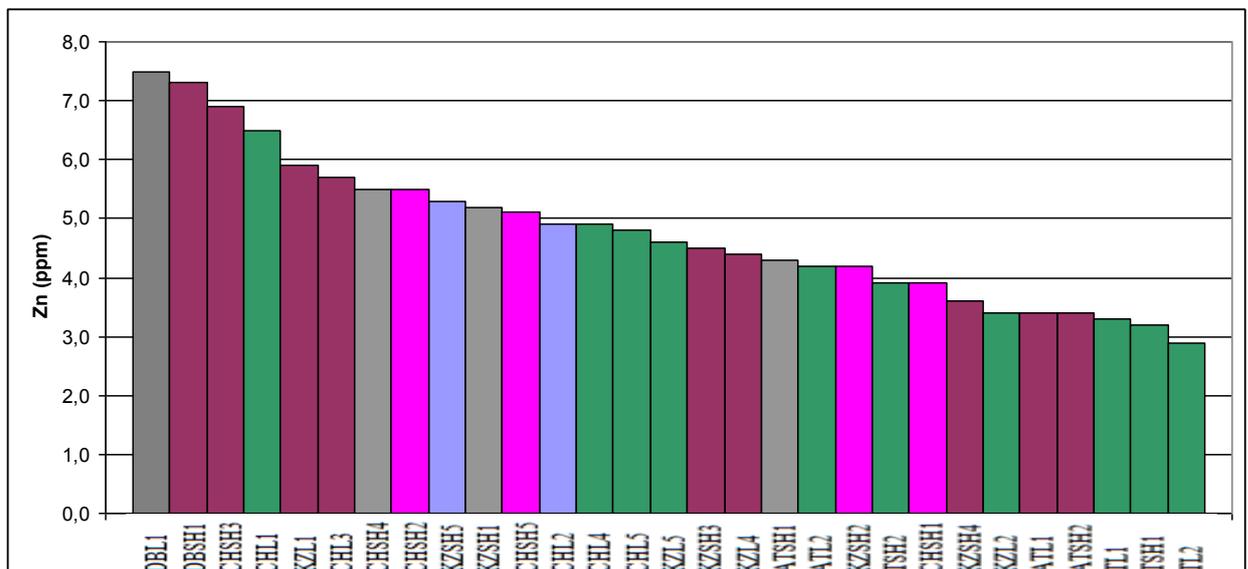
Les teneurs en Cd dans tous les échantillons du lait et du shubat sont inférieures à 1 ppb sauf dans la région de Kyzylorda (ferme KZ4), mais qui reste cependant inférieure à la limite maximale autorisée dans UE qui est de 10 ppb (Figure 16).



**Figure 16.** Teneur en Cadmium dans le lait et *shubat*

## ZINC

Concernant le Zn, on constate des teneurs au-delà de la limite maximale autorisée dans l'UE, dans 11 échantillons sur 25, soit 5 ppm. La teneur en Zn est plus élevée dans le *shubat* de la ferme AT1 (7,5 ppm) (Figure 17).



**Figure 17.** Teneur en Plomb dans le lait et *shubat*

## CUIVRE

Aucune valeur du cuivre n'a dépassé la limite maximale autorisée dans l'UE (0,05 ppm), sauf dans un échantillon de la région d'Almaty (0,085 ppm).

## Synthèse

La concentration en métaux lourds dans les cinq régions du Kazakhstan (Almaty, Atyraou, Kyzylorda, Taraz et Sud Kazakhstan) a été en moyenne faible en cuivre

(moins que 0,05 ppm), normale en zinc (près de 5 ppm) et cadmium, mais un peu élevée pour le plomb (Tableau 11).

**Tableau 11** : Teneurs en Cuivre, Zinc, Plomb et Cadmium dans le lait de chamelle et le *shubat* de 5 régions du Kazakhstan (moyenne et E.T. en ppm).

Regions	Cu		Zn		Pb		Cd	
	Lait	Shubat	Lait	Shubat	Lait	Shubat	Lait	Shubat
<b>Almaty</b>	0,07 <sup>a</sup>	0,06 <sup>a</sup>	4,90	5,50	0,06 <sup>a</sup>	0,06 <sup>a</sup>	0,003 <sup>a</sup>	0,003
<b>Atyraou</b>	<0,05 <sup>b</sup>	<0,05 <sup>b</sup>	4,75 <sup>b</sup>	6,50	<0,01 <sup>c</sup>	<0,01 <sup>a</sup>	<0,001 <sup>b</sup>	<0,001
<b>Kyzylorda</b>	<0,05 <sup>b</sup>	<0,05 <sup>b</sup>	5,31 <sup>a</sup>	5,70	0,02 <sup>c</sup>	0,02 <sup>a</sup>	<0,001 <sup>b</sup>	<0,001
<b>Taraz</b>	<0,05 <sup>b</sup>	<0,05 <sup>b</sup>	4,85 <sup>b</sup>	4,50	0,01 <sup>c</sup>	0,01 <sup>a</sup>	<0,001 <sup>b</sup>	<0,001
<b>Sud Kazakhstan</b>	<0,05 <sup>b</sup>	<0,05 <sup>b</sup>	4,07 <sup>b</sup>	4,16	0,04 <sup>b</sup>	0,04 <sup>c</sup>	0,002 <sup>b</sup>	0,002
<b>Effet de region</b>	P<0,05	P<0,001	NS	NS	P<0,001	P<0,05	NS	NS
<b>MSE</b>	0,007	0,002	1,115	1,593	0,013	0,014	0,001	0,001
<b>Total moyen</b>	0,05±0,01	0,05±0,03	4,70±1,16	5,06±1,59	0,03±0,02	0,03±0,02	0,002±0,001	0,002±0,001

a, b, c les différents lettres expriment les différences significatives minimal est de P<0,05.

L'analyse de la variance a montré des valeurs significativement plus élevées à Almaty en comparaison des autres régions pour tous les paramètres sauf le Zn, à la fois dans le lait et le *shubat*, et pour le Cd dans le *shubat* uniquement. La teneur en Pb a été significativement plus élevée dans la région du Sud Kazakhstan par rapport aux régions de Kyzylorda, de Taraz et d'Atyraou, à la fois dans le lait et le *shubat*. Une légère différence significative a été observée pour le zinc dans le lait entre Kyzylorda et les autres régions.

Selon la matrice des corrélations, il apparaît d'une part que les concentrations en Pb et Cd sont significativement corrélées entre elles aussi bien dans le lait que dans le *shubat* (tableau 12), d'autre part, les teneurs en Pb, Cd et Zn dans le lait sont corrélées à celle du *shubat*.

**Tableau 12** : Matrice de corrélation entre les métaux lourds dans le lait et le *shubat*.

N°	Variables	Cu Lait	Zn Lait	Pb Lait	Cd Lait	Cu Shubat	Zn Shubat	Pb Shubat	Cd Shubat
1	Cu Lait	1							
2	Zn Lait	-0,082	1						
3	Pb Lait	0,397	-0,037	1					
4	Cd Lait	0,109	-0,167	0,606	1				
5	Cu Shubat	0,203	0,021	0,351	0,354	1			
6	Zn Shubat	-0,114	0,606	-0,193	-0,308	0,016	1		
7	Pb Shubat	0,120	-0,174	0,737	0,477	0,389	-0,094	1	
8	Cd Shubat	-0,143	0,026	0,639	0,458	0,321	0,004	0,677	1

### III.6. Teneur des pesticides organochlorés dans des différentes matrices

#### III.6.1 Teneur des pesticides organochlorés dans le sol

Le tableau ci-après représente les valeurs moyennes des teneurs en pesticides organochlorés dans le sol des quatre régions étudiées calculées à partir des résultats rapportées dans l'Annexe 13. Toutes les régions sont contaminées par l' $\alpha$ -HCH et le  $\gamma$ -HCH à des concentrations 6 à 7 fois supérieures selon les régions. Les sols des régions d'Almaty, du Sud Kazakhstan et d'Atyraou semblent moins pollués que ceux de Kyzylorda. Ce dernier est contaminé par six des sept pesticides étudiés, dont trois à des concentrations importantes :  $0,029 \pm 0,022$  ppm de 4,4-DDE et  $0,064 \pm 0,065$  ppm de 4,4-DDT (Tableau 13). De plus le  $\beta$ -HCH (max=0,023 ppm) n'a été détecté que dans cette région. Le sol de la région du Sud Kazakhstan est plus touché par la contamination avec l' $\alpha$ -HCH. En effet, les teneurs dans le sol en  $\alpha$ -HCH des régions d'Almaty et de Kyzylorda ont été respectivement de  $0,007 \pm 0,006$  ppm et de  $0,045 \pm 0,019$  ppm, soit 6 fois plus de  $\alpha$ -HCH dans la région de Kyzylorda. Le 2,4-DDD n'est présent dans aucun des échantillons. Par ailleurs, certains écarts type observés sont supérieurs à la moyenne qui leur correspond. Ceci s'explique soit par le fait qu'un ou plusieurs des échantillons étaient plus contaminés que les autres soit qu'il n'y avait qu'un seul échantillon contaminé. Les teneurs en pesticides sont apparues très hétérogènes entre les régions pour un même pesticide.

**Tableau 13** : Teneur moyenne en pesticides organochlorés dans le sol dans 4 régions

Région		$\alpha$ -HCH	$\beta$ -HCH	$\gamma$ -HCH	4,4-DDE	2,4-DDD	4,4-DDD	4,4-DDT
Almaty	Moyenne	0,007	0	0,006	0	0	0	0
	Ecart type	0,006	0	0,005	0	0	0	0
	Minimum	0,001	0	0,001	0	0	0	0
	Maximum	0,012	0	0,011	0	0	0	0
Sud Kazakhstan	Moyenne	0,08	0	0,021	0	0	0	0
	Ecart type	0,114	0	0,033	0	0	0	0
	Minimum	0,002	0	0,003	0	0	0	0
	Maximum	0,351	0	0,100	0	0	0	0
Kyzylorda	Moyenne	0,045	0,003	0,016	0,029	0	0,004	0,064
	Ecart type	0,019	0,008	0,008	0,022	0	0,007	0,065
	Minimum	0,015	0	0,003	0,006	0	0	0
	Maximum	0,084	0,023	0,031	0,074	0	0,015	0,185
Atyraou	Moyenne	0,022	0	0,013	0	0	0	0,018
	Ecart type	0,008	0	0,003	0	0	0	0,018
	Minimum	0,014	0	0,010	0	0	0	0
	Maximum	0,029	0	0,015	0	0	0	0,035

#### III.6.2 Teneur des pesticides organochlorés dans l'eau

Les valeurs moyennes des teneurs en pesticides organochlorés dans l'eau sont calculées à partir des résultats mentionnés dans l'Annexe 14. Dans les échantillons d'eau des régions d'Almaty et d'Atyraou, aucun pesticide n'a été détecté. Quant aux régions du Sud Kazakhstan et de Kyzylorda leur eau contenait de  $\alpha$ -HCH à l'état de

traces, à raison de  $0,001 \pm 0,001$  ppb (Tableau 14). Les résultats semblent parfaitement homogènes entre les régions, et ce, pour chaque pesticide.

**Tableau 14** : Teneur moyenne en  $\alpha$ -HCH dans l'eau dans les régions du Sud Kazakhstan et Kyzylorda en ppb

$\alpha$ -HCH				
Région	Almaty	Atyraou	Sud Kazakhstan	Kyzylorda
Moyenne			0,001	0,001
Ecart type			0,001	0,001
Minimum			0	0
Maximum			0,003	0,002

### III.6.3 Teneur des pesticides organochlorés dans les plantes

Le tableau ci-dessous présente les valeurs moyennes des teneurs en pesticides organochlorés dans les plantes, calculées à partir des résultats répertoriés dans l'Annexe 15. Certains des pesticides, le  $\beta$ -HCH, le  $\gamma$ -HCH et le 2,4-DDD, sont peu ou pas présents dans les plantes, et ce pour chacune des régions. Alors que d'autres, tel que le 4,4-DDE est détecté à des concentrations plus importantes, de  $0,037 \pm 0,049$  à  $0,076 \pm 0,029$  ppm. Là encore, certains écarts type observés sont supérieurs à la moyenne leur correspondant, les mêmes explications que celles décrites pour les échantillons de sol sont avancées.

Dans les échantillons de plantes de la région de Kyzylorda tous les pesticides étudiés ont été détectés. Les teneurs maximum en  $\beta$ -HCH (0,021 ppm) et en 2,4-DDD (0,136 ppm) mesurées l'ont été dans les échantillons de cette région. Les autres valeurs étaient relativement au même niveau que dans les autres régions (Tableau 15). Le maximum pour 5 ( $\alpha$ -HCH,  $\gamma$ -HCH, 4,4-DDE, 4,4-DDD, 4,4-DDT) de 7 pesticides étudiés a été détecté dans la région d'Atyraou.

**Tableau 15** : Teneur moyenne en pesticides organochlorés dans les plantes des 4 régions en ppm

Région		$\alpha$ -HCH	$\beta$ -HCH	$\gamma$ -HCH	4,4-DDE	2,4-DDD	4,4-DDD	4,4-DDT
Almaty	Moyenne	0,024	0	0,005	0,076	0	0,027	0,032
	Ecart type	0,004	0	0,001	0,029	0	0,014	0,011
	Minimum	0,020	0	0,003	0,020	0	0	0,020
	Maximum	0,031	0	0,007	0,100	0	0,040	0,045
Sud Kazakhstan	Moyenne	0,023	0,003	0,006	0,050	0	0,014	0,025
	Ecart type	0,009	0,006	0,003	0,029	0	0,012	0,024
	Minimum	0,012	0	0,003	0,015	0	0	0
	Maximum	0,036	0,015	0,012	0,086	0	0,027	0,063
Kyzylorda	Moyenne	0,029	0,004	0,006	0,037	0,037	0,008	0,017
	Ecart type	0,010	0,008	0,002	0,049	0,049	0,018	0,019
	Minimum	0,018	0	0,003	0	0	0	0
	Maximum	0,042	0,021	0,009	0,136	0,031	0,047	0,050
Atyraou	Moyenne	0,026	0	0,009	0,043	0	0,015	0,035
	Ecart type	0,014	0	0,006	0,047	0	0,019	0,026
	Minimum	0,004	0	0,003	0	0	0	0
	Maximum	0,049	0	0,019	0,140	0	0,053	0,080

### III.6.4 Teneur des pesticides organochlorés dans le lait

Le tableau ci-après représente les valeurs moyennes des teneurs en pesticides organochlorés dans le lait des quatre régions étudiées calculées à partir des résultats mentionnés dans l'Annexe 16. La plus haute teneur de  $\alpha$ -HCH a été trouvée dans le lait de la région d'Atyraou. Le  $\beta$ -HCH n'a pas été détecté dans le lait des régions d'Almaty et Sud Kazakhstan. Sa teneur était plus élevée dans la région d'Atyraou (0,014 ppm) que dans celle de Kyzylorda (0,005 ppm). Les valeurs maximum de  $\gamma$ -HCH et 4,4-DDD ont été aussi observées pour la région d'Atyraou. La quantité de 4,4-DDE a été 3 fois plus élevée dans la région d'Almaty par rapport aux autres régions. Pour la région d'Almaty seul un échantillon du lait a pu être analysé aussi les écarts type des teneurs en pesticides détectés sont nuls. Les résultats ont montré que le 2,4-DDD n'est pas présent dans le lait, et ce pour chacune des régions. Par ailleurs, il existe une grande hétérogénéité des teneurs pour un même pesticide entre les différentes régions étudiées : ainsi le lait de la région du Sud Kazakhstan contenait 0,05 ppm en moyenne de 4,4-DDT contre 0 ppm dans celui d'Almaty (Tableau 16). Les écarts types supérieurs à la moyenne leur correspondant sont dus au fait qu'il n'y a qu'un seul échantillon pollué pour chacun des pesticides concerné ou un des échantillons est très contaminé par rapport aux autres.

**Tableau 16** : Teneur moyenne en pesticides organochlorés dans le lait des 4 régions en ppm

Région		$\alpha$ -HCH	$\beta$ -HCH	$\gamma$ -HCH	4,4-DDE	2,4-DDD	4,4-DDD	4,4-DDT
Almaty	Moyenne	0,027	0	0,005	0,040	0	0	0
	Ecart type	0	0	0	0	0	0	0
	Minimum	0,027	0	0,005	0,040	0	0	0
	Maximum	0,027	0	0,005	0,040	0	0	0
Sud Kazakhstan	Moyenne	0,010	0	0,022	0	0	0,013	0,050
	Ecart type	0,004	0	0,016	0	0	0,009	0,045
	Minimum	0,006	0	0,003	0	0	0	0
	Maximum	0,015	0	0,042	0	0	0,020	0,110
Kyzylorda	Moyenne	0,021	0,001	0,004	0,008	0	0,004	0,003
	Ecart type	0,010	0,002	0,002	0,007	0	0,009	0,007
	Minimum	0,008	0	0,003	0	0	0	0
	Maximum	0,038	0,005	0,009	0,018	0	0,025	0,020
Atyraou	Moyenne	0,036	0,008	0,021	0,008	0	0,018	0,025
	Ecart type	0,006	0,006	0,022	0,006	0	0,026	0,035
	Minimum	0,028	0	0,003	0	0	0	0
	Maximum	0,042	0,014	0,052	0,015	0	0,055	0,075

### III.6.5 Teneur des pesticides organochlorés dans le *shubat*

Les valeurs moyennes des teneurs en pesticides organochlorés dans le *shubat* sont calculées à partir des résultats mentionnés dans l'Annexe 16. La pollution des échantillons de *shubat* par l' $\alpha$ -HCH s'est située relativement au même niveau dans toutes les régions. La teneur en  $\beta$ -HCH était plus élevée dans la région de Kyzylorda (Tableau 16). Des traces de  $\gamma$ -HCH ont été détectées dans tous les échantillons. Le maximum de 4,4-DDE a été observé dans la région d'Atyraou. Les pesticides 2,4-DDD, 4,4-DDD et 4,4-DDT ne sont pas détectés dans le *shubat* des régions de Sud Kazakhstan, Kyzylorda et Atyraou. Dans la région d'Almaty les 2,4-DDD et 4,4-DDT ne sont pas détectés, mais le 4,4-DDD s'est présenté en quantité de 0,033 ppm en

moyenne (Tableau 17). Là encore, l'écart type supérieur à la moyenne observé pour le pesticide 4,4-DDE de la région du Sud Kazakhstan est expliqué par le fait qu'il n'y avait qu'un échantillon sur les trois qui était pollué.

**Tableau 17** : Teneur moyenne en pesticides organochlorés dans le shubat des 4 régions en ppm

Région		$\alpha$ -HCH	$\beta$ -HCH	$\gamma$ -HCH	4,4-DDE	2,4- DDD	4,4- DDD	4,4-DDT
Almaty	Moyenne	0,021	0,004	0,005	0	0	0,033	0
	Ecart type	0,010	0,004	0,001	0	0	0,033	0
	Minimum	0,011	0	0,004	0	0	0	0
	Maximum	0,030	0,007	0,005	0	0	0,065	0
Sud Kazakhstan	Moyenne	0,013	0	0,002	0,003	0	0	0
	Ecart type	0,012	0	0,001	0,005	0	0	0
	Minimum	0,003	0	0	0	0	0	0
	Maximum	0,030	0	0,003	0,010	0	0	0
Kyzylorda	Moyenne	0,024	0,010	0,005	0,025	0	0	0
	Ecart type	0	0	0	0	0	0	0
	Minimum	0,024	0,010	0,005	0,025	0	0	0
	Maximum	0,024	0,010	0,005	0,025	0	0	0
Atyraou	Moyenne	0,023	0	0,005	0,018	0	0	0
	Ecart type	0,008	0	0,001	0,018	0	0	0
	Minimum	0,015	0	0,004	0	0	0	0
	Maximum	0,030	0	0,006	0,035	0	0	0

Si, on examine les liens entre les matrices, le lait et le *shubat*, on retrouve trois molécules recherchées en quantité importante dans la région d'Atyraou.

Dans la région de Kyzylorda seul le  $\beta$ -HCH est fortement présent dans le *shubat*. Le 4,4-DDT est présent dans le lait du Sud Kazakhstan.

Pour la région d'Almaty, le lait et le *shubat* contiennent des teneurs élevées en dérivés du DDT, malgré leurs faibles concentrations dans les matrices environnementales.

### III.6.6 Corrélation entre les teneurs en pesticides dans l'environnement et le lait et entre le lait et le shubat

Les trois figures ci-dessous représentent les graphiques des corrélations des teneurs des sept pesticides organochlorés étudiés entre l'environnement et le lait (Figures 18 à 20). Au vu des résultats, aucune relation entre les teneurs en pesticides dans l'environnement et le lait n'a été observée. Cependant, étant donné le faible nombre d'échantillons, les résultats ne sont pas statistiquement vérifiables, nous ne pouvons alors parler que de «tendance». Ainsi une forte pollution de l'environnement ne semble pas être liée nécessairement à une forte contamination du lait et du *shubat*.

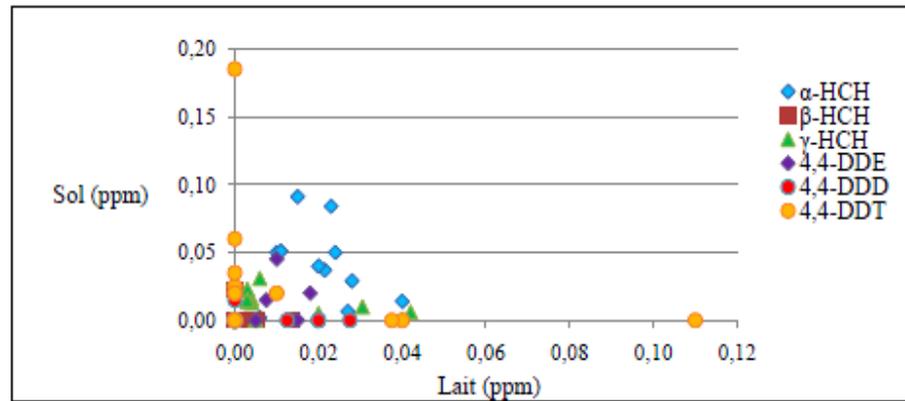


Figure 18 : Corrélation des teneurs en pesticides entre le sol et le lait ou le *shubat*

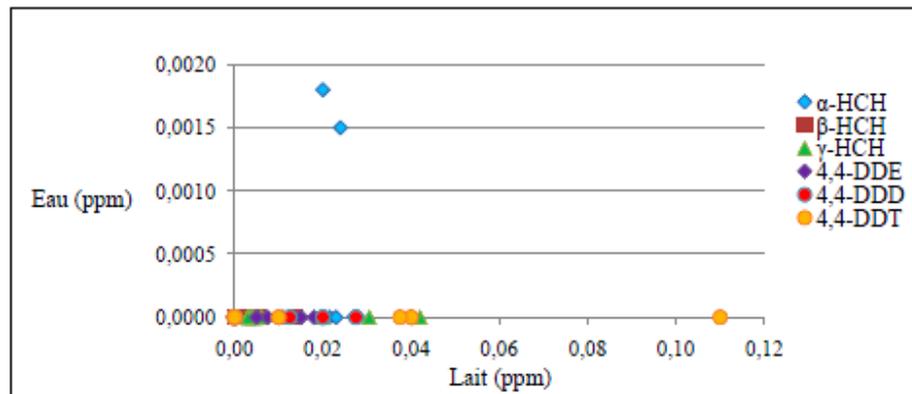


Figure 19 : Corrélation des teneurs en pesticides entre l'eau et le lait ou le *shubat*

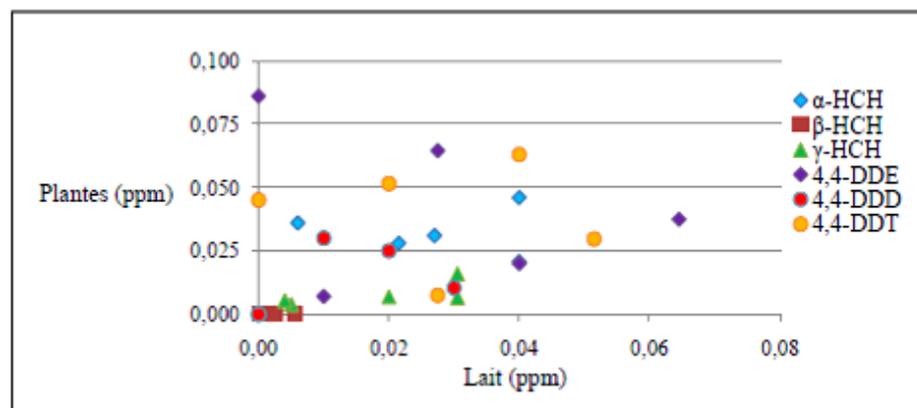


Figure 20 : Corrélation des teneurs en pesticides entre les plantes et le lait ou le *shubat*

Tableau 18 : Valeurs des coefficients de corrélation de Pearson des teneurs en pesticides entre l'environnement et le lait.

	$\alpha$ -HCH	$\beta$ -HCH	$\gamma$ -HCH	4,4-DDE	2,4-DDD	4,4-DDD	4,4-DDT
Coefficient de corrélation entre le sol et le lait	-0,218	-0,153	-0,433	-0,067		-0,338	-0,322
Coefficient de corrélation entre l'eau et le lait	0,067						
Coefficient de corrélation entre les plantes et le lait	-0,049		<b>0,687</b>	-0,319		<b>0,451</b>	-0,108

Les cases vides sont dues au fait que tous les échantillons d'au moins une des deux séries (environnement ou lait) ne contient pas le pesticide correspondant. Une corrélation significative n'est observée qu'entre les plantes et le lait pour seulement deux des sept pesticides, le lindane et le 4,4-DDD (Tableau 18).

### III.7. Les bactéries lactiques et leur rôle dans la détoxification

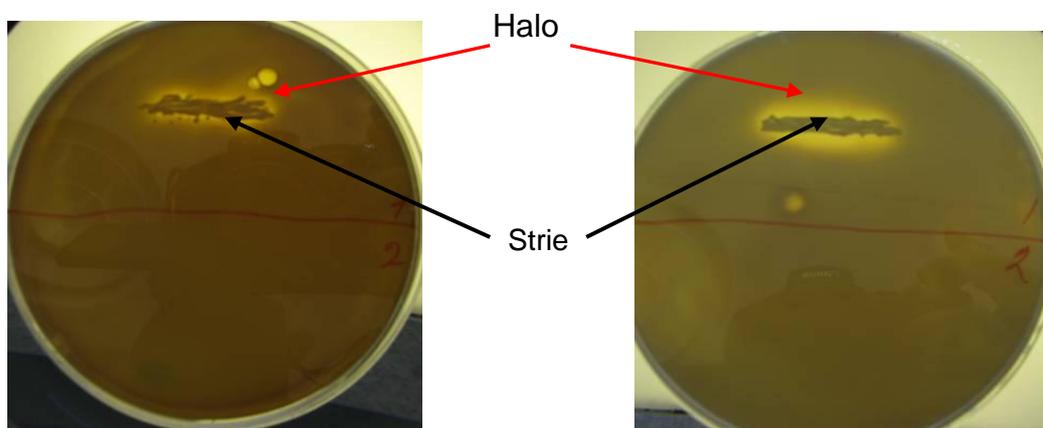
#### III.7.1 Caractérisation et Identification des flores lactiques du lait et du shubat

Au total, 138 souches ont pu être isolées à partir de 25 échantillons du lait et de *shubat*. La plupart sont des coques (109), 17 sont des bacilles et 12 des levures.

Après la coloration de Gram ainsi que des tests de recherche de la catalase et de l'oxydase 118 souches, pouvaient être assimilées à des bactéries lactiques et ont été utilisées pour réaliser des tests de fixation du Pb et Cd.

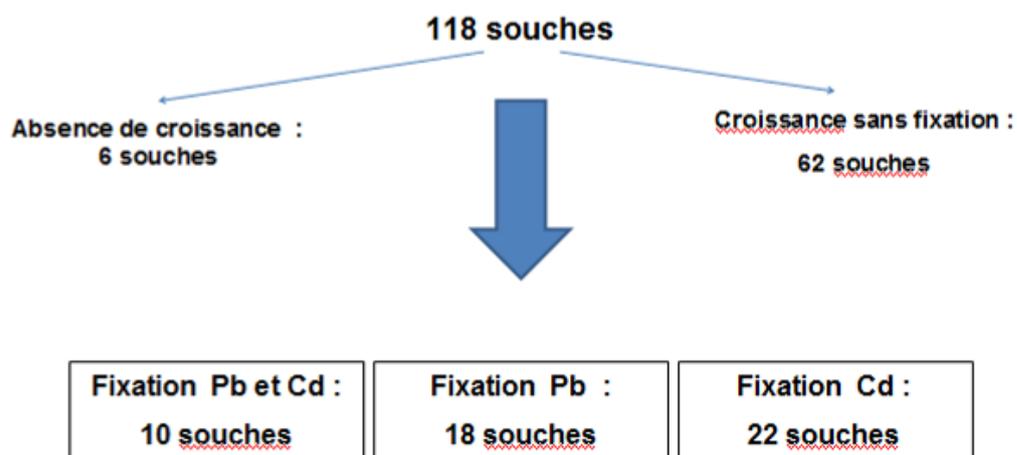
#### III.7.2 Etude qualitative de la capacité des bactéries lactiques à fixer les métaux lourds

Les photos 6-7, montrent les résultats obtenus lors de deux tests de fixation avec le plomb (Photo 6) et avec le Cd (Photo 7). On observe la croissance des souches testées et leur capacité à fixer les métaux lourds par la présence d'un halo autour des stries. Le halo signifiant une diminution voire une absence des ions métalliques considérée dans cette zone.



**Photo 6** : Interaction d'une souche avec du Pb    **Photo 7** : Interaction d'une souche avec du Cd

Les résultats de ce test ont montré que sur 118 souches testées : 6 ne se développent pas en présence de Pb et de Cd, 62 ne fixent ni le Pb, ni le Cd. Parmi les cinquante souches restantes : 10 fixent à la fois le Pb et le Cd, 18 uniquement le Pb et 22 uniquement le Cd (Figure 21).



**Figure 21** : Répartition de souches isolées selon leur capacité à croître sur des milieux additionnés de Pb ou de Cd et à fixer ces métaux

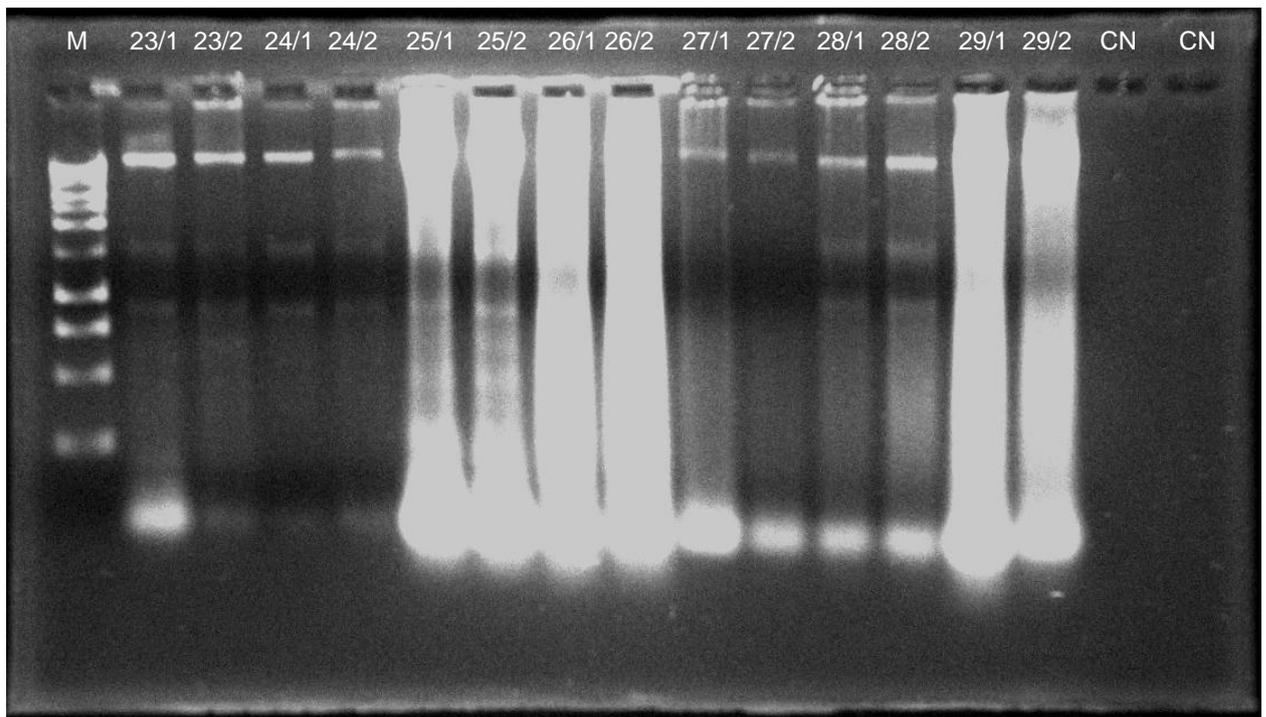
Seules les 45 souches ayant montré une capacité à fixer les métaux lourds ont été retenus pour une identification par des méthodes moléculaires.

### III.7.3 Identification des souches isolées à partir du lait et *shubat*.

Les ADN ont été directement extraits des 45 souches pures de bactéries cultivées 24 heures à 37 °C sur les milieux gélosés MRS ou M17.

*Vérification de l'extraction d'ADN sur gel d'agarose 0,8%.*

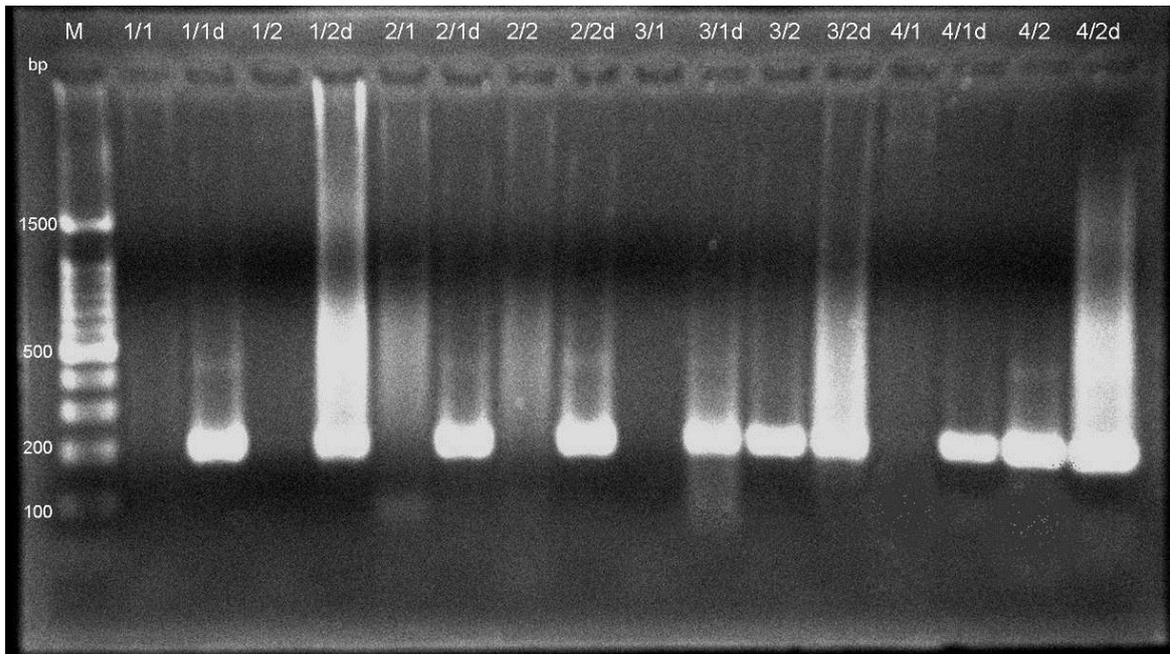
Avant de réaliser la PCR, une vérification de l'extraction d'ADN sur gel d'agarose 0,8% a été faite (Photo 8) pour chaque échantillon en deux répétitions. Le marqueur de 100 pb a été utilisé. L'aspect des bandes 25, 26, 29 correspond à des dépôts trop concentrés en ADN.



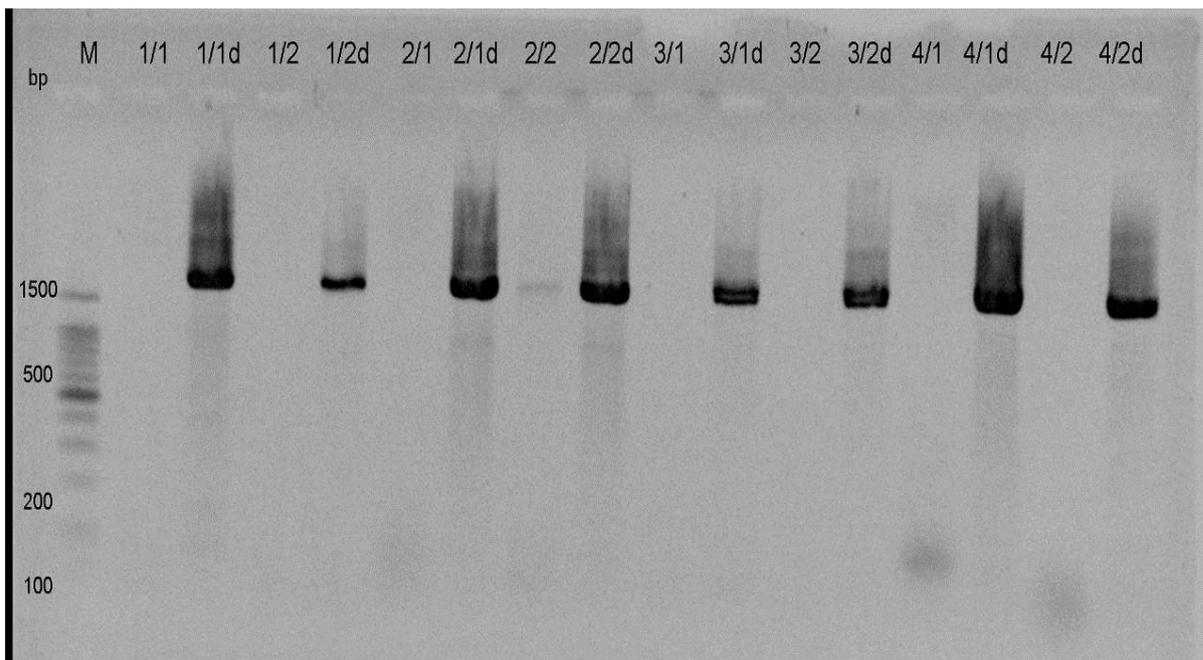
**Photo 8** : Gel d'agarose à 0,8% pour vérifier la qualité de vérification de l'extraction de l'ADN de souches de bactéries lactiques isolées de lait et de *shubat*

#### PCR

Les ADN bactériens extraits de chaque souche ont été amplifiés en utilisant la paire d'amorces 338f et 518r et la paire d'amorces W001/23S1. La paire d'amorces 338f et 518r conduit à des produits d'amplification de 237 paires de bases ce qui est une séquence de faible taille qui ne permet pas toujours d'identifier précisément les souches bactériennes isolées ou de différencier des souches de la même espèce. Pour certaines souches, seul le nom du genre bactérien est accessible. La seconde paire d'amorce a été utilisée pour permettre une identification plus fine des souches en produisant une séquence de 1500 paires de bases. Les photos 4 et 5 montrent l'efficacité de cette étape d'amplification et la taille des amplicons produits.



**Photo 9** : Gel d'agarose à 2% de vérification des produits de la PCR avec les amorces 338f et 518r produisant des amplicons de 237 pb à partir d'ADN extrait de bactéries lactiques isolées de lait de chamelle ou de *shubat*.



**Photo 10** : Gel d'agarose à 2% de vérification des produits de la PCR avec les amorces W001/23S1 produisant des amplicons de 1500 pb à partir d'ADN extrait de bactéries lactiques isolées de lait de chamelle ou de *shubat*.

Les bandes d'ADN obtenues sur ces gels ont été coupées et purifiées en utilisant le Wizard Kit de Promega et conservées au -20 °C jusqu' au séquençage.

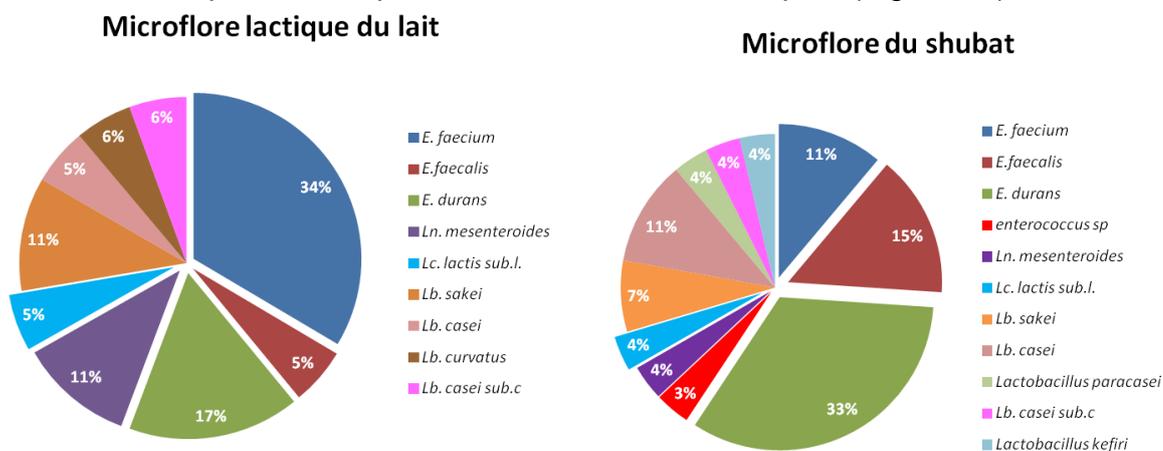
#### *Identification des souches*

L'exploitation du séquençage des produits de la PCR a permis d'identifier 45 souches isolées de lait de chamelle et de *shubat*.

**Tableau 18** : Les noms des souches isolées du lait de chamelle et de *shubat* de 4 régions de Kazakhstan

N°	Origine / Type de produit	Lait de chamelle	<i>Shubat</i>
1	AT1		<i>Enterococcus faecalis</i>
2	AT2	<i>Enterococcus faecium</i>	
3	CH1	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	<i>Lactobacillus sakei</i>
		<i>Enterococcus durans</i>	<i>Lactobacillus sakei</i>
4	CH2	<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Lactobacillus kefir</i>
		<i>Lactobacillus curvatus</i>	<i>Enterococcus durans</i>
		<i>Enterococcus durans</i>	<i>Enterococcus durans</i>
		<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
		<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
5	CH3	<i>Lactobacillus sakei</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
		<i>Lactococcus lactis subsp. lactis</i>	<i>Enterococcus durans</i>
		<i>Enterococcus faecium</i>	
6	CH4	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
		<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Lactobacillus casei subsp. casei</i>
			<i>Lactobacillus paracasei</i>
			<i>Enterococcus faecium</i>
7	CH5	<i>Enterococcus durans</i>	<i>Enterococcus durans</i>
8	DB		<i>Enterococcus durans</i>
9	KZ1		<i>Lactobacillus casei</i>
10	KZ2		<i>Enterococcus sp.</i>
			<i>Lactobacillus casei</i>
			<i>Lactobacillus casei</i>
			<i>Lactococcus lactis subsp. lactis</i>
			<i>Enterococcus durans</i>
11	KZ3		<i>Enterococcus durans</i>
12	KZ4	<i>Lactobacillus sakei</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
13	KZ5	<i>Lactobacillus casei subsp. casei</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
		<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Enterococcus faecium</i>

Les résultats du séquençage de souches isolées du lait et du *shubat* montrent une prédominance de coques lactiques dans le lait et le *shubat*. Les coques sont majoritairement représentées par des souches d'entérocoques (Figure 22).



**Figure 22** : Microflore lactiques dans le lait et le *shubat*

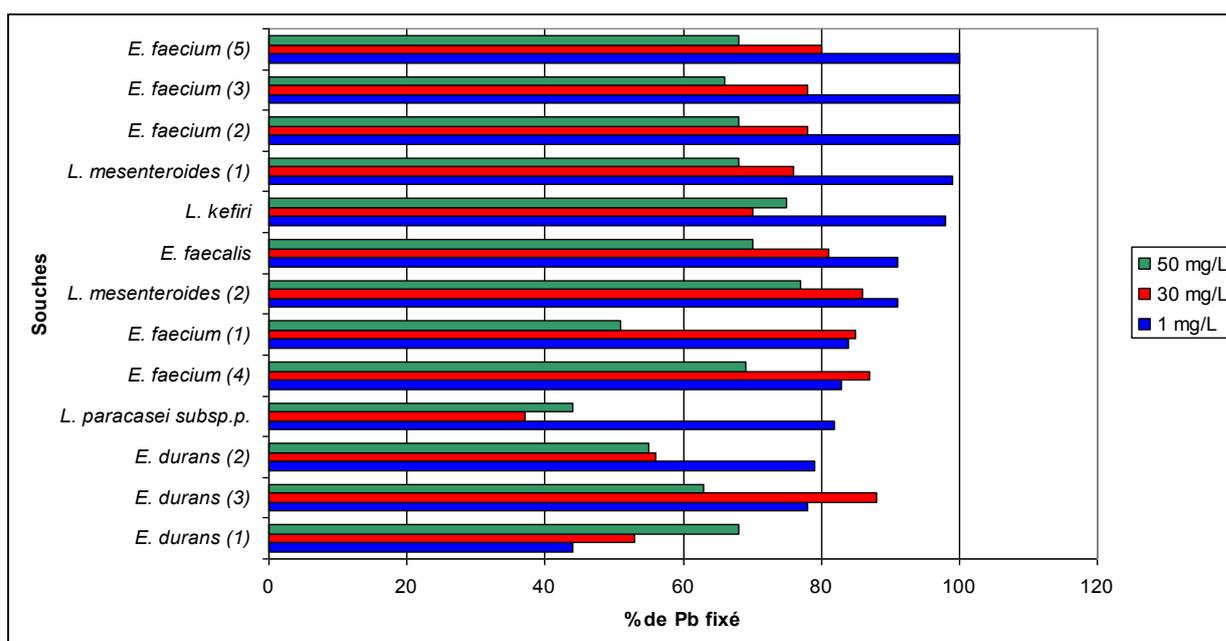
### III.7.4 Etude quantitative de fixation dans l'eau additionnée par le Pb

Pour cette étude 13 souches (Tableau 19) ont été choisies pour avoir montré une grande capacité à inter-réagir avec le Pb lors du test sur milieu de culture gélosé additionnée de Pb.

**Tableau 19** : Liste des souches de bactéries lactiques utilisées pour l'étude quantitative de fixation dans l'eau additionnée par le Pb.

Nom de souche utilisée	Code des souches
<i>Enterococcus durans</i>	s5.3
<i>Enterococcus durans</i>	SH2M3N2
<i>Enterococcus sp</i>	s3.3
<i>Enterococcus faecalis</i>	SH1S5
<i>Enterococcus faecium</i>	35m17
<i>Enterococcus faecium</i>	S19
<i>Enterococcus faecium</i>	35mrs
<i>Enterococcus faecium</i>	AT2M10
<i>Enterococcus faecium</i>	s36
<i>Lactobacillus paracasei subsp. paracasei</i>	s33.2
<i>Lactobacillus kefiri</i>	s3.2
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	s60
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	SH1M6N1

La biomasse sèche de 13 souches isolées de lait de chamelle et de *shubat* a été mise en suspension dans des solutions aqueuses à 0, 1, 30 et 50 mg de Pb par litre. La figure 22 présente le pourcentage de plomb fixé par chacune des souches. Ces résultats confirment ceux obtenus sur milieux gélosés additionnés de plomb : toutes les souches fixent le plomb mais avec des capacités différentes.



**Figure 22** : Pourcentage de plomb total fixé par de la biomasse sèche de 13 souches isolées de lait de chamelle et de *shubat* en suspension dans des solutions à 1, 30 et 50 mg de Pb /L

On observe des comportements différents d'une souche à l'autre. Pour certaines souches on observe un phénomène de saturation : le pourcentage de Pb fixé diminue quand la concentration en plomb augmente. Des souches montrent des capacités de fixation très importantes : c'est le cas des souches d'*Enterococcus faecium*, alors que d'autres en fixe beaucoup moins comme *E. durans* (1). Les quatre souches testées ici ont été utilisées pour le test *in vivo* ce sont : *L. kefir*, *E. faecalis*, *E. faecium* (4) et *E. durans* (3).

### III.7.5 Test physiologique (*in vivo*) et analyses des organes cibles

L'objet de cette étude réalisée sur des cobayes était de valider l'hypothèse selon laquelle la présence dans le lait de souches de bactéries capables de fixer le plomb contaminant ce lait limitait son absorption par l'organisme avec pour conséquence une élimination accrue de Pb dans les fèces et une moindre concentration de Pb dans les organes des cobayes. Les cobayes ont été alimentés avec du lait de vache fermenté par les souches seules ou en mélange, choisies pour leur capacité à fixer le Pb. Hors les groupes témoin et groupe Pb, les 6 souches testées ont été associées en différents groupes (Tableau 20).

**Tableau 20** : Les noms de souches utilisées dans l'étude physiologique (*in vivo*)

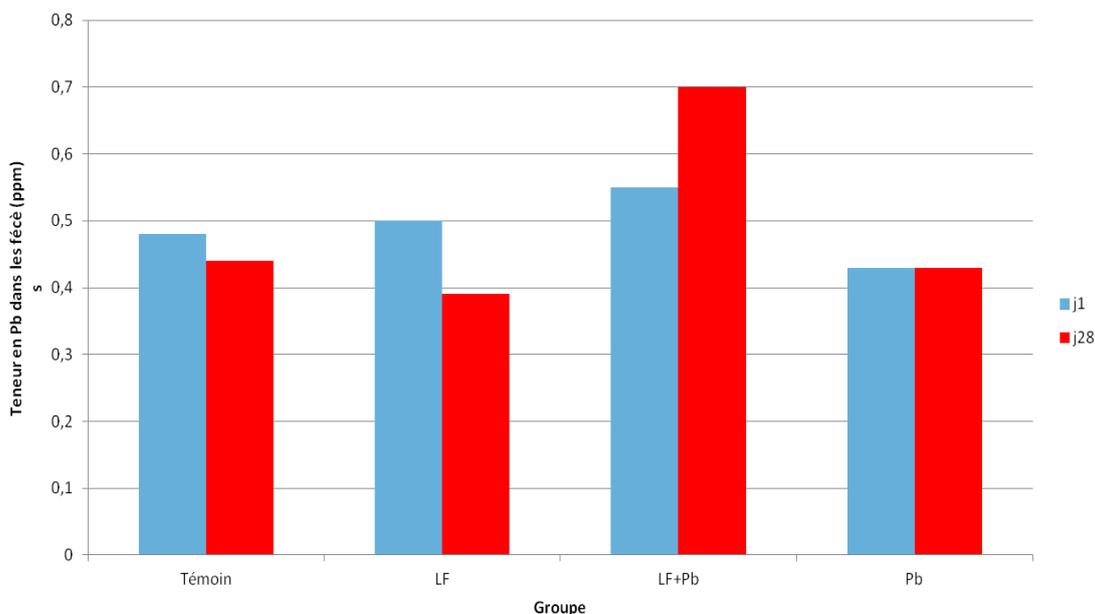
Nº	Nom de groupe	Nom des souches utilisées
1	4SF/4SFPb	<i>Lactobacillus kefir</i>
		<i>Enterococcus faecium</i>
		<i>Enterococcus faecalis</i>
		<i>Enterococcus durans</i>
2	<i>L. mesenteroides</i> / Pb	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
3	<i>Lb. paracasei</i> / Pb	<i>Lactobacillus paracasei subsp. paracasei</i>

#### Teneur du Pb dans le Fèces

Selon l'hypothèse de départ, la teneur du Pb dans les fèces doit augmenter dans les groupes traités par les bactéries lactiques.

Dans les conditions de notre expérimentation, on observe une sensible différence intergroupe entre le début (J1) et la fin de l'expérimentation (J28).

Si la teneur du Pb dans les groupes témoin et le groupe Pb apparaît relativement stable, la teneur en Pb diminue de 22% en moyenne dans les groupes recevant du lait fermenté et augmente de 27% dans les groupes recevant du lait fermenté enrichi de plomb (Figure 23).



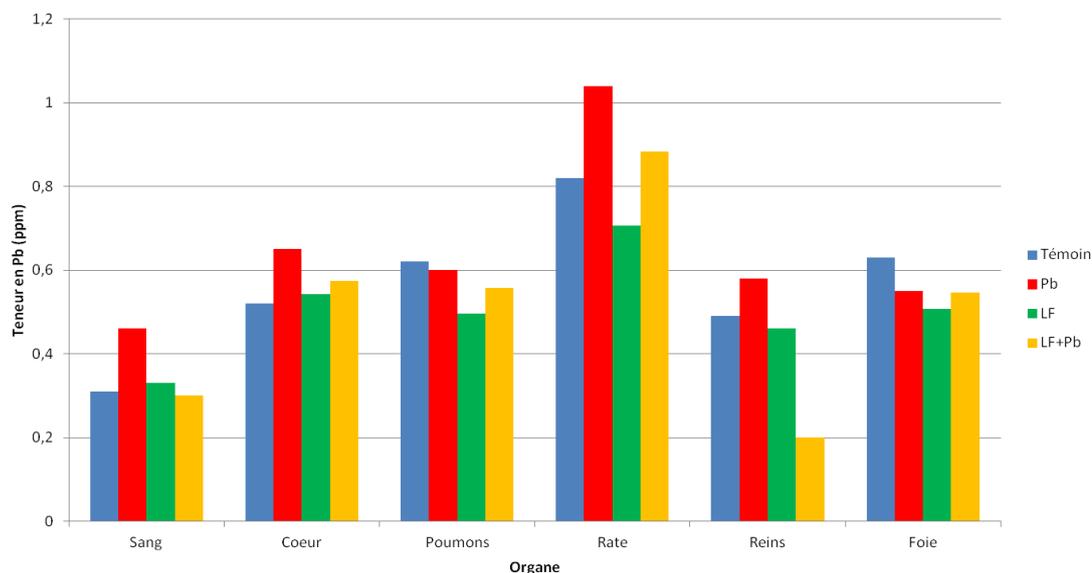
**Figure 23 : Teneur en Plomb dans les fèces**

*Teneur en Pb dans les différents organes*

Concernant la concentration dans les tissus, on a observé une tendance à l'augmentation du Pb dans le sang et les principaux organes- cible à savoir la rate et les reins dans le groupe Pb.

D'autre part, on observe une diminution marquée dans les reins des groupes alimentés avec du lait fermenté enrichi de plomb, ce qui pourrait témoigner de l'effet capture par les bactéries lactiques et donc une moindre disponibilité pour le principal organe cible.

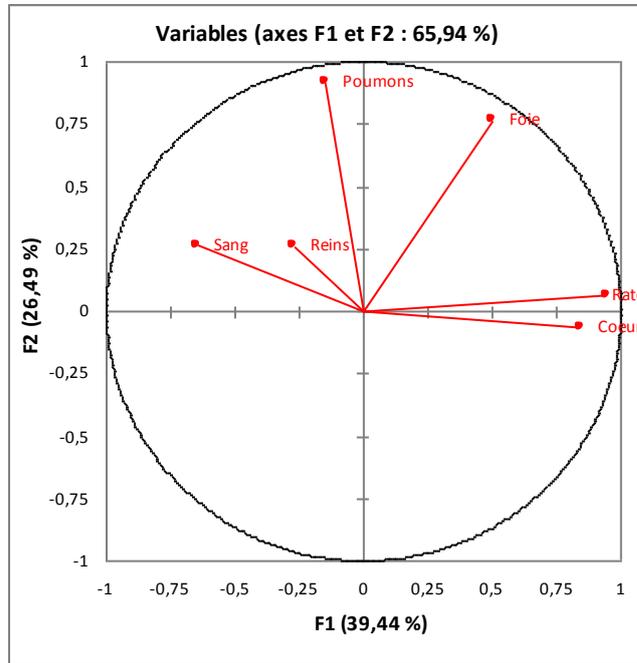
Toutefois, cette tendance n'est pas confirmée dans les autres organes (Figure 24).



**Figure 24 : Teneur en Plomb dans les tissus**

*Corrélation entre les concentrations en plomb dans les différents organes des différents groupes*

La concentration en Pb dans le cœur est significativement corrélée à celle de la rate. Il n'y a aucune corrélation significative entre les autres organes. Toutefois, on peut observer dans le cercle des corrélations (Figure 27) que les teneurs dans le cœur et la rate sont d'autant plus élevées que les teneurs dans les reins et surtout le sang sont faibles.



**Figure 25** : Le cercle de corrélation en teneur du Pb dans les différentes matrices

Les teneurs dans les poumons et le foie sont indépendantes des concentrations observées dans les autres organes. Par rapport aux groupes, les teneurs élevées dans le cœur et la rate sont proches du groupe *L. mesenteroides* Pb. Les teneurs élevées dans le sang sont associées aux groupes *Lb. paracasei* et 4SFPb. Les groupes Témoin et Group Pb sont associés à des teneurs élevées dans le foie et les poumons. Le groupe *L. mesenteroides* se caractérise par une teneur faible dans tous les organes, et les groupes *Lb. paracasei* Pb et 4SF par des valeurs moyennes pour tous les organes.

## IV. DISCUSSION

### IV.1. Situation des fermes par rapport aux risques de pollution

Les cartes d'indice de pollution de chaque ferme de différentes régions ont donné une possibilité de comparer leur niveau de pollution en fonction des risques d'atteinte des différentes matrices, selon leur situation géographique et la distance aux différentes sources de pollution. Avec l'identification des sources de pollution potentielles autour de chaque ferme étudiée, on peut estimer quel type de polluant et quel niveau potentiel de contamination on peut attendre dans chaque échantillon. Par exemple, les fermes (CH3 et CH4) placées près de l'usine d'asphalte peuvent recevoir des grandes quantités d'éléments fugitifs toxiques au niveau du sol (BREDL, 2007). De plus, la vitesse du vent joue un rôle dans la dispersion des polluants. Plus le vent sera fort, plus les polluants seront dispersés (Venetsanos, 2002) alors que les périodes de calme peuvent entraîner une pollution plus forte autour de la source.

Les liens entre contamination des matrices et sources potentielles de pollution ont été étudiées par exemple en Italie par Ronchi et *al.* (2008), mais sans utiliser un index synthétique. Un tel index peut être utile dans la mesure où les différents critères qui le composent s'avèrent pertinents au regard de la contamination étudiée. Toutefois, sa limite réside dans le fait qu'on attribue le même poids à chacun des critères retenus : ainsi la distance à la source de pollution est de même poids que la force des vents dominants. Au regard de nos résultats, cet index s'avère intéressant pour évaluer les risques de pollution dans les sols, mais peu pour les autres matrices.

### IV.2. Pb et Cd dans les différentes matrices environnementales

Nous discuterons dans cette partie, les valeurs observées dans les différentes matrices ainsi que leurs relations aussi bien entre matrices (sol, eau, plante) qu'entre minéraux (Pb et Cd).

#### IV.2.1 Pb et Cd dans le sol

Le Pb a été détecté dans le sol de différents pays, par exemple en Irlande à raison de 0,5-138 ppm (Dickson et Stevens, 1983), aux USA <1-135 (Holmgren et *al.*, 1993), en Pologne 4,5-286,5 (Kabata-Pendias et Dudka, 1991), à Bangkok, Thaïlande 12,1-269,3 (Wilcke et *al.*, 1998) (cités par Markus et *al.*, 2001). En Norvège, des teneurs en Pb et Cd dans le sol naturel ont été évalués à 111,3 ppm et 1,38 ppm, respectivement (Steinnes et *al.*, 1997). Dans 3 fermes de trois régions différentes d'Égypte, la teneur en Pb dans le sol était de 6,4 ; 12,0 et 29,0 ppm, respectivement. Il existe donc une forte variabilité, celle-ci étant due à une multitude de facteurs, dont la pollution, mais aussi probablement la précision analytique. Le sol peut passer dans l'organisme animal avec les plantes sous forme des petites particules de terre et par l'air sous forme de poussières. Le sol peut ainsi devenir la principale source de contamination par les métaux lourds pour les animaux (Healy et *al.*, 1970; Hargreaves et *al.*, 2011), d'autant que certains herbivores ingèrent une part importante de sol dans leur ration lors de leur séjour au pâturage (voir plus loin).

La contamination des sols est majoritairement d'origine atmosphérique et les sources de pollution peuvent être les gaz d'échappement et les fumées d'usine. Dans la littérature, ce sont donc surtout les facteurs liés à la proximité des routes, des aéroports et des usines polluantes qui ont été étudiées. Ainsi, les endroits situés près des autoroutes à fort trafic apparaissent plus pollués notamment par les métaux lourds comme le Pb, Zn, Cu, Cd (Omar et Al-Khashman, 2004).

- *Le rôle du trafic routier*

Le taux de Pb dans les échantillons de sols des différentes fermes échantillonnées dans notre étude est compris entre 7,76 et 131,08 ppm. Même si, la ferme KZ5 qui présente les valeurs les plus faibles est située dans un village qui longe l'autoroute, on n'a pas détecté une quantité importante de Pb par rapport aux autres fermes. Cela peut être simplement dû au faible volume du trafic routier à proximité de la ferme. En effet, plusieurs travaux ont souligné que c'est l'intensité du trafic qui pouvait expliquer un taux élevé de plomb dans le lait des animaux paissant à proximité des routes (Bhatia and Choudhri, 1996). Cependant, les effets sont notables lorsque le trafic dépasse 3000 à 15000 véhicules par jour (Diacono et al., 2007).

Ainsi, la teneur maximale de Pb observée dans la ferme CH1 (Sud Kazakhstan), (131,08 ppm) correspond à une ferme située à 500 m de l'autoroute où le trafic est moyennement important.

Dans une étude réalisée en Iran par Samani-Madj et al. (2006), il a été montré que les concentrations moyennes du Pb et du Cd dans le sol ont été pour les sites avec un volume de trafic élevé, de 183 et 2,57 ppm et pour les sites avec le volume de trafic faible, de 70,64 et 2,25 ppm, respectivement. De plus, la teneur en Pb diminuait en fonction de la distance à l'autoroute.

Dans une autre étude réalisée au Pakistan, les concentrations moyennes du Pb et Cd dans le sol ont été déterminées près des routes principales, secondaires et tertiaires (Khan et al., 2011). La teneur moyenne y était de 53,9 ppm pour le Pb et 6,0 ppm pour le Cd, respectivement mais il y avait une variation significative ( $P < 0,01$ ) dans les concentrations selon le type de route (principale, secondaire et tertiaire) qui se distinguaient par la densité du trafic (Khan et al., 2011).

- *Le rôle des industries polluantes*

La proximité d'industries polluantes peut être un puissant facteur de contamination des sols, comme l'attestent de très nombreuses références bibliographiques et nos propres résultats.

La ferme CH1, la plus contaminée de notre échantillon (Pb : 131,08 ppm), se trouve près des cultures de coton et de céréales et proche de l'autoroute. Les activités agricoles peuvent être une source de contamination par l'usage de pesticides et surtout des épandages de fumier. Par exemple, le sol d'une bananeraie à l'île Hainan (Chine) contenait 16-58,4 ppm de Pb et 0,43-3,21 ppm de Cd (Lin et al., 2010).

Mais dans la ville de Chymkent, située à proximité de la ferme CH1 évoquée plus haut, il existe aussi 69 unités de production métallique, non ferreux, chimique, ou de transformation du pétrole. Dans cette région, se trouve également l'usine de production du plomb "Iyuzhnyipolimetall" (Anonyme 23).

Si, la quantité du sol qu'on trouve dans l'estomac des herbivores a été rapporté comme potentiellement considérable (Jurjanz et al., 2008), une concentration de 131,08 ppm de Pb dans le sol peut avoir une conséquence importante. En effet, la concentration maximale admissible de plomb dans le sol est de 32 ppm (Anonyme 24). Dans l'échantillon du sol de la ferme CH1 la quantité du Pb est donc 4 fois plus élevée. Concernant le Cd, la quantité admise par la législation est de 6 ppm en Russie

(Shikhova, 2004), et de 3 ppm en Serbie (Vidovic et *al.*, 2005). La teneur maximale en Cd dans notre étude était de 0,39 ppm dans la ferme CH4. Bien que cette valeur se situe en-dessous des normes évoquées plus haut, cette ferme est placée à moins d'1 km de l'usine de production d'asphalte.

Une source potentielle de contamination est la présence de sites nucléaires. La quantité brute (totale) de cadmium dans le sol de la région du polygone de tir atomique près de la ville de Semeï (Kazakhstan) a été de 0,39 ppm (Pilguk, 2005), ce qui est au même niveau que le taux du cadmium dans l'échantillon le plus élevé de notre étude (ferme CH4).

Les teneurs en Pb et Cd dans le sol sont également élevés dans les régions de Kyzylorda et Atyraou. Il faut remarquer dans ces régions, la présence de plusieurs sites d'extraction du pétrole et de leurs déchets. Les productions du pétrole et gaz ont une grande influence sur la pollution de l'atmosphère, 75% des déchets passant dans l'air, 20 % dans l'eau et 5% dans le sol.

On considère que 99,9% de la pollution de l'air dans la région d'Atyraou est la conséquence d'activités des entreprises du secteur pétrole-gaz (Saavedra et *al.*, 2004). Dans la région d'Almaty, la teneur en Pb dans le sol était relativement faible par rapport aux autres régions. En effet, il n'y pas de sites de production dans cette région. Toutefois, la ferme DB qui présente un taux relativement élevé se situe à proximité de l'autoroute Almaty-Astana.

Une autre source potentielle de pollution est l'épandage des boues d'épuration et les sols de décharge. Par exemple, en Norvège, la concentration du Cd dans le sol de surface dans les zones de décharge du sud du pays a été en moyenne de 1-3 ppm. Ce qui correspond à la concentration maximale acceptable dans les sols agricoles traités par les boues d'épuration au sein de l'UE (Commission of the European Community, 1986; Flaten et Steinnes, 1999). Les échantillons du sol de décharge fermée à Thessaloniki, (Nord de la Grèce) ont été testés pour la quantité de métaux lourds. Les teneurs étaient de 0,5 -19 ppm pour le Cd et 2,5 – 92,5 ppm pour le Pb (Kasassi et *al.*, 2008).

L'activité minière est aussi une source potentielle de contamination des sols en métaux lourds. Dans la région minière Bibiani (Ouest région du Ghana), la teneur du Cd y est comprise entre 0,7 - 4,15 ppm dans le sol (Quarshie et *al.*, 2011). Près des résidus miniers au sud-est de l'Espagne, des teneurs très élevées en Pb (5000–8000 ppm) et zinc (7600–12 300 ppm) dans le sol ont été détectées (Cones et *al.*, 2006). Dans le sol des pierres de serpentine en Albanie, les concentrations maximales (poids sec) étaient de 14 ppm pour le Cd et 172 ppm pour le Pb (Shallar et *al.*, 1998). Autour de la mine Dabaoshan (Sud-Chine) le sol du village Fandong près de cette mine était fortement contaminé : Pb (386 ppm) et Cd (5,5 ppm) (Zhuang et *al.*, 2009).

Les industries métallurgiques sont également amplement impliquées dans les contaminations par les métaux lourds. Ainsi, dans le sol des pâturages de la zone industrielle du Panjab (Inde) 36,8 ppm de Pb a été relevé (Sidhu et *al.*, 1994). Anuratha (2006) a observé un niveau de Cd élevé dans les zones industrielles (cité par Rajaganapathy et *al.*, 2011). La concentration en Zn, Cu, Cd et Pb dans le sol des endroits pollués par les industries métallurgiques est de 4 à 20 fois plus élevé que les endroits de référence au Pays-Bas (Notten et *al.*, 2005).

Autour de fours de fusion de Pb/Zn en Chine la concentration du Cd était 10 ppm dans le sol des régions très polluées soit 4 fois plus que dans les zones non polluées (2,7 ppm). Rappelons que la norme chinoise est de 1,0 ppm pour le Cd. La

concentration en Pb dans le sol a également augmenté de 37 ppm (contrôle) à 467 ppm (zone très polluée), mais ces teneurs étaient en deçà de la norme chinoise (500 ppm) (Cai et *al.*, 2009). La concentration du Pb dans le sol autour de l'usine de batteries au plomb à Lalupon, (Nigeria) était entre 104,5-166,9 ppm (Adegoke et *al.*, 2009) la concentration maximale permmissible étant de 100 ppm selon Kabata Pendias (1995).

A Kirov (Russie) dans le sol de forêt situé à l'est de centres industriels, dans la direction de la rose des vents, la teneur en Pb était supérieure à 7,0 ppm et celle du Cd de 0,4-1,5 ppm (Shikhova, 2004).

Dudka et *al.* (1996) ont obtenu des teneurs très élevées de métaux lourds (Cd : 3,2–106 ppm, Pb : 146–3452 ppm, Zn : 465–11 375 ppm) dans le sol de la zone industrielle.

- *Autres facteurs de variations*

La teneur en métaux dans le sol peut être également sous l'influence de facteurs propres aux sols tels que le pH ou la structure du sol.

Le pH du sol en effet, joue un rôle important dans l'absorption des métaux par le sol. A pH 6,1-7,0, des teneurs plus élevées en Cd (2,5 ppm) et Pb (80 ppm) ont été obtenues par rapport à des sols avec un pH plus acide (Teofilova et *al.*, 2010).

La taille des particules des fractions du sol a une influence sur la distribution des métaux dans la matrice terrestre et leur disponibilité pour les plantes. La boue constituée des particules les plus fines (2–50 µm) notamment est la fraction majeure dans le sol qui concentre la part la plus importante des métaux lourds (Qian et *al.*, 1996). La biodisponibilité dépend aussi du pH et de la concentration du métal dans le sol (Millis et *al.*, 2004, Tudoreanu et Phillips, 2004, Kirkham, 2006).

Finalement, les teneurs obtenues dans notre étude paraissent plutôt moyennes pour le Pb et plutôt faibles pour le Cd par rapport aux valeurs observées dans les zones industrielles polluantes, mais les comparaisons demeurent délicates compte-tenu de la variabilité des procédures analytiques et des conditions de l'environnement pédologique

#### IV.2.2 Pb et Cd dans l'eau

Les lacs, rivières, les eaux souterraines sont contaminés par des polluants à cause des facteurs anthropiques. Par exemple, en Turquie, 3 échantillons d'eau ont été prélevés dans des mares situées dans des roches stériles. Leur teneur en Pb y était entre 6,4 et 113 ppm (Gemici et Tarcan, 2007). Dans l'oasis d'Al-Ahssa (Arabie Saoudite), les concentrations maximales (en ppm) en Pb et Cd observées ont été 0,008 et 0,013ppm dans les échantillons d'eau souterraine et 0,091 et 0,091 dans les eaux résiduaires respectivement (Assubaie, 2011). En Inde, dans les eaux résiduaires de la rivière Musi une teneur de 0,21 en Pb et 0,0025 ppm en Cd a été relevée (Raj et *al.*, 2006). En Inde, dans les échantillons d'eau de surface du lac de Bhopal, le Pb (0,03-0,12 ppm) et le Cd (0,014-0,41 ppm) ont été quantifiés lors du festival religieux (Gupta et *al.*, 2005) (cité par Rajaganapathy et *al.*, 2011). En Chine, la teneur de Cd dans l'échantillon d'eau de zone polluée par le four de fusion Pb/Zn a été 10 fois (0,01 ppm) plus élevée que le contrôle (0,001 ppm) avec une norme chinoise 0,05 ppm, et pour le Pb 0,006 ppm et 0,002 ppm, respectivement, en-dessous de la norme (0,1 ppm) (Cai et *al.*, 2009). Dans les échantillons d'eau de la zone industrielle de Jeedimetla (Inde), 0,10-0,50 ppb de Pb et 0,60-31,8 ppb de Cd ont été déterminés (Govil, 2001 cité par Rajaganapathy et *al.*, 2011).

Dans notre étude, les teneurs maximales de Pb et Cd ont été obtenues dans les échantillons d'eau de la région de Kyzylorda. La rivière de Syr-Daria dans la région de Kyzylorda qui pourvoit 4 fermes sur 5 en eau d'abreuvement pour les chameaux contient de 7-14 ppm de Pb et 0,05-0,25 ppm de Cd. Il n'y pas de grandes différences avec l'échantillon d'eau de nappe souterraine (KZ1) de cette région (10 ppm de Pb et 0,05 ppm de Cd). La quantité de ces métaux dans la nappe souterraine de la région d'Almaty est presque 2 fois moindre pour le Pb (5,9 ppm) et identique pour le Cd (0,05 ppm). Dans la région de Sud Kazakhstan les échantillons d'eau de nappe souterraine ont contenu 11 ppm de Pb et 0,05 de Cd. Le taux plus élevé du Pb dans l'eau des régions Kyzylorda et Sud-Kazakhstan peut être dû aux activités industrielles et agricoles.

Diacono (2007) avait analysé les différents métaux dans les échantillons d'eau des régions d'Almaty, Atyraou, Sud-Kazakhstan et Aral. Certaines des fermes échantillonnées dans le suivi de Diacono ont également été incluses dans notre étude : ce sont les fermes DB (Almaty), CH4 (Sud-Kazakhstan) et AT1, AT2 (Atyraou). Mais, dans ces échantillons aucune trace de plomb n'avait été détectée par Diacono, (la méthode utilisée était la même et les analyses ont été faites dans le même laboratoire), alors que les valeurs suivantes ont été relevées dans notre travail : DB 5,9 ppm ; CH4 10,8 ppm ; AT1 8,9 ppm et AT2 8,9 ppm de Pb.

En général, les teneurs du Pb et Cd dans nos échantillons d'eau étaient comprises entre 5,9 – 13,6 ppm et 0,05 (77% des échantillons d'eau) - 0,25 ppm, respectivement. Les concentrations maximales recommandées dans l'eau sont (ppm) 0,01 pour le Cd et 5,0 pour le Pb (FAO, 1985). En comparaison avec ces données dans nos échantillons étudiés, les teneurs moyennes sont donc 7 fois (0,07 ppm) plus élevées pour le Cd et presque 2 fois (9 ppm) pour le Pb.

Les teneurs de ces métaux lourds dans les échantillons d'eau sont légèrement élevées si l'on se base sur les normes FAO. Mais, au moins pour le Cd, les teneurs observées au Kazakhstan apparaissent plutôt plus faibles que dans les références disponibles. On ne peut écarter cependant (même si nos teneurs moyennes observées sont inférieures à certaines normes nationales comme celles de Serbie et du Monténégro- 10 ppm pour le Cd), l'idée d'une légère contamination visible dans l'eau destinée à l'abreuvement des animaux.

#### IV.2.3 Pb et Cd dans les plantes

En ce qui concerne les teneurs observées dans les plantes, les valeurs apparaissent faibles étant données que les teneurs toxiques de Cd pour les plantes sensibles sont de 5 à 10 ppm de MS et les teneurs critiques sont de 10 à 20 ppm de MS.

La teneur moyenne en plomb des fourrages ( $1,25 \pm 0,5$  ppm) au Kazakhstan semble proche de celle obtenue par Caggiano et al. (2005) (1,2 ppm) en Italie. Parkpian et al. (2003) a détecté de 0,76 à 6,63 ppm dans le fourrage en Thaïlande. Rashed (1994) a montré que la teneur du Pb dans le fourrage autour de fermes en Egypte était en moyenne entre 7,70-16,0 ppm.

Le taux de Pb dans nos échantillons de plantes est plus faible que celui obtenu précédemment par Diacono et al. (2007) où les teneurs en Pb dans le fourrage de différentes fermes de 4 régions (Almaty, Sud-Kazakhstan, Atyraou et Aral) étaient en moyenne de  $4,3 \pm 9,60$  ppm. Dans les mêmes fermes étudiées par Diacono la teneur en Pb a été de 1,5 ;(DB) 34,90 (CH4); 0,7 (AT1); 0,8 (AT2) ppm vs 2,2 ; 0,6 ; 2,3 et 1,3 ppm dans nos échantillons, respectivement. Si, les résultats obtenus par Diacono

(2007) étaient globalement comparables aux nôtres dans 3 des fermes, en revanche, une différence très notable est observée dans la ferme CH4 où la teneur relevée est passée de 34,9 en 2007 à 0,6 ppm lors de notre passage en 2010. Il existe donc de fortes variations temporelles difficiles à expliciter en l'absence d'une réelle procédure d'échantillonnage basée sur des prélèvements chronologiques rigoureux (même saison, même type de plante, même zone de pâturage).

- *Le rôle du trafic routier*

Dans la ferme AT1 le fourrage a contenu les teneurs les plus élevées en Pb (2,30 ppm) et Cd (0,56 ppm) par rapport aux autres fermes. Elle se situe entre deux puits pétroliers, et les pâturages sont parcourus par de nombreuses pistes pour les engins à moteur. Dans la ferme DB qui est située près de l'autoroute avec une densité moyenne de voiture, les teneurs en Pb et Cd étaient 2,20 et 0,4 ppm, respectivement.

Dans la ville de Dar es Salaam (Tanzanie,) les plantes des espèces *Cynodon* ont été analysées près de l'autoroute. Les résultats ont montré des teneurs en métaux lourds (ppm) de 0,24 – 2,58 pour le Cd et de 1,15 -25,53 pour le Pb.

Parkpian et *al.* (2003) ont rapporté en Thaïlande que les teneurs en Pb et Cd dans les plantes autour d'une autoroute étaient de 0,76-6,62 ppm et 0,17-0,73 ppm, respectivement. Les teneurs étaient plus élevées que dans 6 fermes étudiées se trouvant le long d'une route secondaire de moindre trafic où les teneurs du Pb étaient entre 0,8-2,2 ppm et pour le Cd 0,06-0,4 ppm.

Les concentrations moyennes en Pb et Cd dans les plantes près des routes à Peshawar City, Pakistan, étaient de 49,1 et 10,9 ppm, respectivement pour les routes principales et secondaires. La variation significative ( $P < 0,01$ ) dans les concentrations du Pb et Cd dans le sol et les plantes le long des routes selon leur statut serait donc due à la différence de densité du trafic (Khan et *al.*, 2011). De nombreuses études indiquent que la teneur en Pb est apparue corrélée avec la moyenne journalière du trafic sur les routes alors que la teneur en Cd ne l'était pas. Cela signifie que la source du Pb dans les plantes provient des véhicules contrairement au Cd. Cependant, cette corrélation entre certains métaux lourds dans la végétation et la densité du trafic n'est pas toujours observée (Gish et Christensen, 1973).

Quelques études ont également montré que les teneurs en Pb et Cd dans les plantes diminuent avec la distance à la route (Ndiokwere, 1984, Ferretti et *al.*, 1995, Bhatia et Choudhri, 1991 Nan et *al.*, 2002, Farmer et Farmer, 2000). La teneur en plomb a varié en progression géométrique (exponentiellement) avec la distance à la route.

En Europe, l'utilisation d'essence sans plomb a permis de diminuer considérablement le risque de contamination des zones de pâturage près des réseaux routiers. La part du trafic routier dans le total des émissions de plomb dans l'atmosphère est ainsi passée de 93 à 4% entre 1990 et 2000. Au Kazakhstan, cependant ; l'utilisation d'essence sans plomb n'est pas encore répandue.

- *Le rôle des industries polluantes*

Dans ce domaine aussi, de fortes variabilités sont observées selon les références. Globalement, on observe des teneurs plus élevées dans les pâturages situés à proximité des zones industrielles. Ainsi, Sidhu et *al.* (1994) ont observé une valeur de 102-382 ppm de Pb dans le fourrage des zones industrielles du Punjab (Inde) (cité par Rajaganapathy et *al.*, 2011). Dey et *al.* (1996) dans le fourrage de la région industrielle de Delhi (Inde) ont observé des teneurs de 46 ppm pour le Pb et 1,1 ppm pour le Cd. Dans la région métallifère de Bulgarie, la concentration du Pb était de 3500 ppm et celle du Cd de 280 ppm dans les plantes (Stefanov et *al.*, 1995).

En Chine près du four de fusion Pb/Zn déjà cité, la teneur en Pb dans les graminées et les feuilles pâturées par les animaux a augmenté sensiblement dans le fourrage passant de 3,6 ppm dans les zones non polluées à 132 ppm dans les zones très polluées, soit une valeur 40 fois plus élevée que la norme admise pour les plantes dans ce pays (8 ppm) (Cai et al., 2009). Dans une ferme de moutons et chevaux située près de four de fusion de métal non ferreux de Baiyin (Chine) les contenus en Pb et Cd ont été 9,3 et 690 fois plus élevés dans le fourrage par rapport à un fourrage témoin situé en zone non polluée (Liu, 2003). Raj et al. (2006) ont rapporté que dans les plantes poussant sur un sol contaminé et irrigué avec des eaux résiduaires, des taux élevés de métaux lourds ont été relevés : 0,79 ppm pour le Cd et 19,22 ppm pour le Pb.

Près des résidus miniers au sud-est de l'Espagne, sur le sol qui contient 5000–8000 ppm de Pb, dans la plante *Helichrysum decumbens* 390 ppm de Pb a été détecté (Cones et al., 2006). La concentration du Cd dans les pousses de 6 espèces différentes (*Trifolium alexandriu*, *Cichorium intybus*, *Avena sativa*, *Medicago polymorpha*, *Brassica campestris*, *Medicago sativa*) de fourrage s'est situé entre 6,69 et 8,32 ppm de la matière sèche. Dans les plantes autour de la mine Dabaoshan (Sud-Chine), sur un sol très fortement contaminé (Cd 5,5 ppm et Pb 386 ppm), les teneurs du Cd et Pb détectés (Cd :2,6 – 6,3 ppm ; Pb :1,4 – 2 ppm) étaient concentrés surtout dans les graines (Zhuang et al., 2009). Les teneurs observées varient en effet en fonction de la partie prélevée de la plante, ce qui peut induire des biais d'observation. Dans deux plantes médicinales (*Datura stramonium* et *Amaranthus spinosus*) de différentes espèces de déchèterie à Pretoria (Afrique du Sud), les concentrations de métaux lourds ont été déterminées dans l'ordre suivant racine > feuille > tige (Olowoyo et al., 2012). Dans notre étude cependant, nous avons prélevé l'ensemble de la plante consommé par les chameaux et les analyses ont été réalisées sur le mélange des différentes parties collectées.

La contamination des plantes par les métaux lourds ne semble pas forcément augmenter à proximité des sites nucléaires. C'est le cas par exemple des plantes sauvages près de la rivière Irtych à côté de la ville de Semeï, près des anciens sites nucléaires où la teneur moyenne du Cd était de 0,049 ppm soit des teneurs sensiblement inférieures à nos résultats moyens (0,56 ppm).

- *Autres facteurs de variation*

La végétation récupère les éléments trace surtout du sol, mais parfois de dépôts sur les feuilles. Les plantes absorbent les métaux sous différentes formes disponibles. Cette disponibilité des métaux est influencée par des facteurs comme le pH, le contenu de la matière organique, la conductivité électrique, etc. (Flaten and Steinnes, 1999). Ces paramètres ne sont pas toujours constants dans l'environnement.

Il existe aussi des variations saisonnières : une diminution des concentrations a ainsi été observée entre le printemps et l'été pour le Cd (- 47%). Les données individuelles variaient entre 7 et 2700 ppb (Brekken et Steinnes, 2004). En Angleterre, des résultats similaires ont été obtenus avec une diminution en printemps, et une augmentation vers l'automne et jusqu'à une concentration maximale en fin d'hiver (Matthews and Thornton, 1982).

La différence entre les résultats de Diacono (2007) et notre étude peut être expliquée en partie par ces facteurs, les prélèvements n'ayant pas été réalisés durant la même saison.

L'absorption des métaux lourds dépend aussi de l'espèce et du type de plante. En effet, il s'avère que les parties différentes de plante absorbent les quantités différentes de ces métaux comme cela a été évoqué plus haut.

La concentration du Cd dépend de l'espèce et de la morphologie d'une même espèce poussant sur le même sol (Flaten et Steinnes, 1999). Par exemple, les plantes de la famille des Asteraceae qui étaient identifiées pendant notre étude comme une des plantes importantes ingérée par les chameaux, sont réputées comme hyper accumulatrices du Pb (Tanhan et al., 2007, Pilguk, 2005). Ces plantes peuvent contenir 1377 ppm dans les pousses et 4236 ppm dans les racines, et peuvent résister jusqu'à 100 000 ppm dans le sol (Tanhan et al., 2007).

Les légumes feuilletés sont plus contaminés que les légumes non feuilletés. Par exemple, dans le chou-fleur chinois, la teneur du Cd était 4,5 fois plus élevée que la teneur accessible maximale (0,05 ppm) (Li et al., 2006). Si, dans la graine de maïs (*Zea mays*) une teneur de 0,1 ppm de Cd a été rapporté, dans les feuilles de cresson (*Thlaspi caerulescens*) des teneurs atteignant 380 ppm sont relevés (Kirkham, 2006).

Jarvis et al. (1976) ont observé que 34 à 97% du Cd total dans la plante s'accumule dans la racine. La rétention de métaux lourds dans la racine (Zhang et al., 2010) est très élevée surtout dans le fourrage, dans les graines de légumes et céréales. Les racines n'étant pas utilisées, la consommation des métaux lourds par les animaux et hommes en est réduite (Ahmad et al., 2011).

Avec une concentration moyenne en Cd de 1,26 ppm dans le sol, le carambole (*Averrhoa carambola*) a accumulé les plus fortes concentrations en Cd, dans la racine (7,57), les branches (10,84), les feuilles (9,01) et les plus faibles dans les fruits (2,15 ppm) (Li et al., 2006).

- *Ingestion de plantes par les animaux*

Dans la forêt de Niepolomice en Pologne, située en zone polluée, la nourriture des chevreuils *Capreolus capreolus*, a été analysée pour la quantité de métaux lourds. La concentration moyenne (par rapport à la matière sèche) était de 2-3 pour le Cd et 12-8 ppm pour le Pb. La flore du sol avait accumulée une teneur très élevée en Pb (35 ppm). Pendant 110 jours les chevreuils ont ingéré 196 g de métaux lourds (y compris 93 g de très toxiques Cd, Pb, Ni et Cr). Cela représentait 8,5 fois plus que dans les endroits non pollués (Grodzińska et Grodziński, 1983).

Certaines plantes sont de grandes consommatrices alors que d'autres ne peuvent fixer certaines molécules. Ne connaissant pas précisément le régime alimentaire des chameaux aux pâturages et les proportions de plantes ingérées on ne peut se faire une idée précise de la quantité de métaux lourds ingérée par les chameaux. Néanmoins les valeurs observées montrent que la déposition en Pb et Cd a bien eu lieu sur les pâturages.

En conclusion, le taux moyen de Cd dans notre étude (0,17 ppm) est relativement faible par rapport aux normes pour la teneur admissible de Cd dans le fourrage citée dans la littérature, 0,5 ppm (Vidovic et al., 2005 ; Cai, 2009) et 5,0 ppm selon Ahmad et al. (2011). La teneur moyenne du Pb (1,25 ppm) dans notre étude semble similaire aux teneurs rapportées dans la littérature pour les zones pas très contaminées. Cette teneur est inférieure à la norme admise pour le fourrage en Chine (8 ppm) ou en Allemagne (10 ppm) (Cai, 2009). Cependant, même si, les concentrations dans les plantes n'apparaissent pas très élevées, du fait de l'ingestion pendant une longue période par les animaux, il peut y avoir une influence sur la qualité des produits animaux (Luilo et Othman, 2003).

- *Corrélation entre les matrices*

Les concentrations en Pb et en Cd sont donc probablement interdépendantes, et les mécanismes de fixation dans les sols ainsi que le prélèvement et l'incorporation dans le métabolisme végétal sont liés. Ceci est corroboré par les corrélations positives significatives observées dans notre étude entre les teneurs en Cd et Pb dans les différentes matrices environnementales, et de façon particulièrement marquée dans les fourrages. Hovmand et *al.* (1983) ont publié que de 20 à 60% du cadmium total de la plante (0,02–0,4 ppm) provient du cadmium atmosphérique. Mais, Pavlik et *al.* (1997) considèrent que 90% du Cd dans les plantes est originaire du sol et seulement 10% de l'atmosphère. Plusieurs travaux ont montré le transfert des métaux du sol pollué par les résidus atmosphériques vers les céréales (Dudka et *al.*, 1996, Gzyl, 1990, Dudka et Miller, 1999).

Plus la concentration du Cd dans le sol augmente, plus le Cd dans les légumes se retrouve en quantité élevée (Yang et *al.*, 2009). Ce qui globalement n'a pas été observé dans notre étude. D'autres auteurs ont fait le même constat. Par exemple Pichtel et *al.* (2000) ont rapporté que le Cd de la plante est peu corrélé avec celui du sol. Le Pb est un des seuls métaux qui s'accumule dans les plantes et dont la concentration dans les plantes peut être corrélée à celle de sol (Zhang et *al.*, 2010, Pichtel et *al.*, 2000). La relation entre le Pb dans le sol et les plantes (l'orge et le tubercule de pomme) y était linéaire avec une inclinaison très basse (0,0001–0,0003) (Zhang et *al.*, 2010). Cela n'a pas été confirmé dans notre étude. Cependant, compte-tenu qu'un de nos échantillons de sol (ferme CH1) contenait une valeur 10 fois supérieure à la moyenne de nos échantillons, alors que la même concentration se trouvait dans la moyenne pour les plantes de la même ferme, la variance du sol par rapport à celle des plantes s'en est trouvée perturbée rendant la relation statistique difficile à établir du fait du nombre restreint d'échantillons.

Dans notre étude, le taux de métaux lourds dans l'eau n'est pas corrélé significativement avec celui de fourrage et ce qui correspond aux rares résultats cités dans la littérature (Ahmad, 2011).

### **IV.3. Les teneurs de métaux lourds dans le lait de chamelle et *shubat***

Les échantillons de lait de chamelle et *shubat* des 5 régions étudiées contenaient en moyenne (ppm) moins de 0,05 de Cu, 4,75 de Zn, 0,001 de Cd et 0,02 de Pb.

Si, on ne prend pas en compte les données du Zn, les taux du Pb, Cu, et Cd ont été plus élevés dans les échantillons de la ferme DB de la région d'Almaty (0,06 ppm Pb, 0,075 ppm Cu, 0,003 ppm Cd). Après la région d'Almaty, les teneurs en Pb, les plus élevées ont été rapportées dans la région de Sud Kazakhstan (0,035 ppm) notamment dans la ferme CH1.

Pour le Cd, dans le *shubat*, la teneur la plus élevée a été observée également dans la ferme DB (0,04 ppm), et dans le lait de la ferme KZ4 (0,04 ppm). Pour le Zn, le lait le plus riche était celui de KZ1 (7,3 ppm) et dans le *shubat*, celui d'AT1 (7,5 ppm). Pour le Cu, il s'agit de la ferme DB (0,09 ppm) pour le lait et dans les fermes DB et CH5 (0,06 ppm pour le *shubat*).

Il semble difficile d'établir un lien entre teneurs en métaux lourds dans le sol, l'eau, les fourrages et celle retrouvées dans le lait et *shubat*. Compte-tenu des teneurs en métaux lourds plus importantes dans les fourrages des fermes AT1 et AT2, on s'attendait à ce que les teneurs, de ces éléments dans le lait de chamelle et le *shubat* issus de ces fermes, soient également plus élevées. Or il s'avère que ce n'est pas le

cas. Toutefois, la teneur en Pb dans le lait apparaît plus élevée dans la ferme CH1 où une teneur plus importante dans le sol a été détectée.

Rappelons que les teneurs moyennes (ppm) en métaux lourds dans le lait de chamelle prélevé au Kazakhstan par Diacono (2007) ont été :  $0,07 \pm 0,04$  de Cu ;  $5,16 \pm 2,17$  de Zn et  $0,025 \pm 0,02$  de Pb, soient des valeurs proches de nos résultats  $0,05 \pm 0,01$  ;  $4,70 \pm 1,16$  et  $0,02 \pm 0,02$ , respectivement.

Quelques études ont été menées sur la composition minérale du lait de chamelle et les résultats obtenus sont variables.

#### IV.3.1 Le cuivre dans le lait et les produits laitiers

Ainsi, pour le Cu les teneurs reportées sont en moyenne :  $0,36 \pm 0,02$  ppm (Al-Awadi et Srikumar, 2001) ;  $0,36 \pm 0,2$  ppm (Meldebekova et al., 2008);  $1,6 \pm 0,2$  ppm (Sawaya et al., 1984) et  $6,5 \pm 2,8$  ppm (Abdel- Rahim, 1987). La teneur moyenne en Cu de nos échantillons de lait de chamelle est inférieure à ces références et paraissent même faibles. Les teneurs en Cu obtenues dans le lait de vache et de jument échantillonnés dans la région d'Almaty par Diacono (2007), présentent des teneurs de 0,49 et 0,1 ppm.

D'après la FAO, les teneurs normales en Cu du lait de vache sont comprises entre 0,1 et 0,4 ppm. Mais, pour l'Union Européen la limite maximale admissible pour le Cu est 0,05 ppm.

L'échantillon de lait de la ferme DB, le plus riche en Cu (0,09 ppm,) présentait finalement une teneur légèrement élevée, par rapport à la norme européenne. Le niveau de la contamination du lait en cuivre dépend aussi de la zone d'élevage. Simsek et al. (2000) ont échantillonné du lait de vache dans 3 zones différentes ayant des caractéristiques de pollution de l'environnement différentes : zones industrielle, routière et rurale. Les laits issus de ces 3 zones contenaient respectivement 0,96 ppm, 0,58 ppm et 0,39 ppm de Cu en moyenne, le lait de zone industrielle étant significativement plus riche en Cu que celui de zone routière ( $p < 0,01$ ) lui-même significativement plus riche que celui de zone rurale ( $p < 0,01$ ). D'après ces résultats, il semblerait donc que nos échantillons de lait de chamelle et *shubat* ne soient pas contaminés par des teneurs excessives en cuivre, mais l'échantillon le plus contaminé provenait aussi d'une ferme à proximité de la route. Les échantillons de *shubat* prélevés au Kazakhstan par Diacono (2007), ont contenus apparemment plus de Cu ( $0,16 \pm 0,16$  ppm de Cu) que nos échantillons ( $0,05 \pm 0,03$ ).

#### IV.3.2 Le zinc dans le lait et les produits laitiers

Sawaya et al. (1984), rapportent que la teneur moyenne en zinc du lait de chamelle est de  $4,4 \pm 0,4$  ppm ce qui est en accord avec les résultats de Al-Awadi et Srikumar (2001) ( $4,9 \pm 0,5$  ppm en moyenne). Diacono (2007) a obtenu une teneur en Zn légèrement plus élevée ( $5,16 \pm 2,17$  ppm). La teneur moyenne de nos échantillons semble comparable ( $4,70 \pm 1,16$  ppm). Meldebekova et al. (2008) rapportent une teneur en zinc dans le lait de chamelle du Kazakhstan de  $1,29 \pm 1,26$  ppm en moyenne ce qui est inférieur aux autres résultats cités ci-dessus. Dans le lait de vache les teneurs normales en Zn sont de 3 à 6 ppm (FAO, 1998).

Pour le Zn, il existe aussi un effet de la situation des fermes par rapport aux zones polluées. Dans un environnement contaminé par des activités industrielles, Simsek et al. (2000) ont trouvé une teneur moyenne de 5,01 ppm dans le lait de vache. Cette teneur est significativement ( $p < 0,05$ ) supérieure à celle du lait produit par des vaches dans une zone routière et rurale (respectivement : 4,49 et 3,77 ppm en moyenne). Ces teneurs restent dans la fourchette des teneurs normales en Zn du lait de vache (2,30

ppm) analysé par Diacono (2007) dans la région d'Almaty. Dans le lait de jument de la même région, cette auteure a observé une teneur très élevée (36 ppm) et seulement 3,80 ppm pour le lait de chamelle de la même ferme et région, cet écart étant dû probablement aux différences spécifiques. Mais, il faut noter que les teneurs maximales de Zn dans nos échantillons de lait (7,3 ppm dans la ferme KZ1) et *shubat* (7,5 ppm dans la ferme AT1) semblent plus élevées par rapport à ces données. Les indices de pollution pour ces fermes étaient moyennement importants (respectivement 7 et 6 sur une échelle atteignant 10). La teneur en zinc dans le *shubat* de la ferme KZ1 est sensiblement moins riche en Zn (5,9 ppm), que le lait (7,5 ppm). Une telle observation n'est pas constante. En effet dans la ferme AT1, il y a moins de zinc dans le lait que le *shubat* associé. En moyenne cependant, la teneur en Zn dans le *shubat* apparaît légèrement supérieure à celle du lait de chamelle lui correspondant. Il semblerait également que l'exposition à un excès de Zn dans les sols ou les fourrages n'augmente pas de façon importante et excessive la teneur en Zn du lait.

Diacono (2007) a obtenu 10,4 ppm de Zn dans le lait d'une ferme de la région d'Aral. Cette teneur était élevée par rapport à la moyenne et aux autres résultats de la littérature. Pourtant, l'échantillon de fourrages associé ne contenait que 26 ppm de Zn, teneur inférieure à la moyenne ( $33 \pm 27,15$  ppm).

#### IV.3.3 Le plomb dans le lait et les produits laitiers

Concernant le plomb, les références sont nombreuses sur le lait de vache. La littérature montre clairement l'effet de la contamination de l'environnement par les activités anthropiques telles que les industries ou les infrastructures routières, libérant du plomb dans le milieu environnant, contaminant alors les plantes et le lait des animaux consommant ces plantes.

Pourtant, aucun auteur ne donne les teneurs en Pb des aliments consommés par les animaux sur lesquels ils prélèvent le lait pour les analyses. Néanmoins, Bhatia et Choudhry (1996), Dey et Swarup (1996) et Simsek et al. (2000) s'accordent sur le fait que le lait produit par des animaux vivant auprès des usines, des routes, est significativement plus riche en Pb, que le lait produit en zone rurale ou en zone non polluée. Néanmoins, dans ces études, les résultats sont extrêmement variables avec des teneurs maximales en Pb pouvant aller de 0,032 ppm (Simsek et al., 2000) à 7,20 ppm (Bhatia et Choudhri, 1996). Pourtant ces deux teneurs reflètent la contamination du lait des animaux pâturant auprès des routes avec un trafic intensif (Simsek et al., 2000), et un trafic correspondant à 15000 voitures par jour (Bhatia et Choudhri, 1996).

Dans nos échantillons étudiés, la teneur moyenne du Pb a été identique dans le lait et le *shubat* ( $0,02 \pm 0,02$  ppm). Cette teneur était au même niveau que la quantité moyenne de Pb obtenue par Diacono (2007) dans le lait de chamelle  $0,025 \pm 0,02$  ppm, un peu plus élevée cependant dans le *shubat* 0,01 ppm (vs 0,021 dans nos échantillons).

Meldebekova et al. (2008) ont obtenu une teneur en Pb dans le lait de chamelle provenant aussi du Kazakhstan, supérieure à celle rapportée ici ( $0,06 \pm 0,018$  ppm). Dans la région d'Almaty  $0,3 \pm 0,06$  ppm de Pb dans le lait et  $0,3 \pm 0,008$  dans le *shubat*, dans la région de Sud-Kazakhstan, 0,28 et 0,33 ppm, respectivement ont été obtenues par Akhmetsadykova (2008).

Dans notre étude, le lait de chamelle et le *shubat* de la ferme DB contenaient les valeurs les plus élevées soit 0,07 et 0,05 ppm de Pb respectivement. Cette ferme étant située non loin d'une route avec un trafic non négligeable, il se peut que les animaux consomment des plantes sur le bord de cette route ou à des endroits plus exposés.

Ces résultats laissent supposer que ces animaux doivent être exposés à une source de plomb via leur alimentation, liée à la présence d'une industrie ou d'une route sur leur zone de parcours.

Cependant, les teneurs des fourrages associés à cette même ferme (DB) n'étaient pas particulièrement élevés, bien qu'au-dessus de la moyenne (1,25 ppm) des fourrages échantillonnés lors de cette étude. A l'inverse, l'échantillon de fourrage de la ferme AT1 a eu les teneurs maximales en Pb (2,30 ppm) et Cd (0,56 ppm), or aucun excès de ces métaux lourds dans les échantillons laitiers associés n'a été perçu. Il se peut donc que les fourrages prélevés ne reflètent pas de façon optimale ce qui est consommé par ces animaux (Diacono, 2007).

Le transfert du Pb par le biais des fourrages semble avoir le même impact sur le lait de vache que sur le lait de chamelle. La fermentation du lait en *shubat* dans nos échantillons ne semble pas diminuer les concentrations, et Diacono (2007) a constaté, que soit la teneur en Pb augmente, soit elle devient nulle dans le *shubat* par rapport au lait frais de chamelle. Dans une autre étude, il a été observé que la concentration du Pb diminuait dans tous les échantillons de *shubat* par rapport au lait frais (Konuspayeva et al., 2009). La technologie de la production des produits laitiers semble avoir une influence sur la quantité de métaux lourds. Les quantités semblent plus importantes dans le yaourt que dans le lait frais (Cd 0,63; Pb 0,06 et 1,01; 0,11 ppm, respectivement) (Güler, 2007). Dans une autre étude, les teneurs en Pb dans le fromage ont été en moyenne de 1,5 à 10,7 µg/g, soient des valeurs plus élevées que dans le lait (Vural et al., 2008). Cependant, dans un cas, il peut y avoir un apport extérieur en Pb par rapport à ce qui était déjà présent dans le lait, ce qui augmente la teneur en Pb dans les produits transformés comme le *shubat* (par exemple par l'utilisation d'ustensiles contenant du plomb). Et dans un autre cas, le phénomène de capture des molécules de Pb par les bactéries lactiques présentes dans le lait peut avoir pour conséquence que la teneur en Pb du *shubat* devient nulle ou plus faible.

Les seules normes disponibles sont celles de la teneur de plomb maximale tolérée dans le lait qui de plus est variable en fonction des pays (0,02 ppm en Turquie, 0,05 ppm en Allemagne et Hollande, 0,1 ppm au Kazakhstan). La teneur moyenne du Pb dans nos échantillons laitiers (lait 0,023 ppm et *shubat* 0,022 ppm) se situe autour de la teneur admise en Turquie. Seul le Pb dans les échantillons de la ferme DB est en quantité légèrement plus élevée (lait 0,07 et *shubat* 0,05 ppm) que les normes admises en Allemagne et Hollande, mais en deçà des normes admises au Kazakhstan. La teneur maximale admissible du Pb dans le lait selon le Codex Alimentarius (2007) est de 0,02 ppm (Ataro et al., 2008).

#### IV.3.4 Le cadmium dans le lait et les produits laitiers

Dans la littérature, les teneurs suivantes du Cd ont été obtenues, dans le lait de chamelle autour de la mer d'Aral (Saitmuratova et al., 2001).

Akhmetsadykova (2008) a détecté  $0,012 \pm 0,008$  ppm de Cd dans le lait et  $0,012 \pm 0,0005$  dans le *shubat* de la région d'Almaty et 0,012 et 0,011 ppm dans la région de Sud Kazakhstan, respectivement. Les résultats du Cd obtenus dans ce travail sont beaucoup plus faibles (0,001 ppm). Dans notre étude, la teneur maximale a été observée dans la ferme KZ4 (0,004 ppm), qui reste cependant inférieure à la limite maximale autorisée dans l'UE qui est de 0,01 ppm. A remarquer, que c'est aussi dans l'eau d'abreuvement de cette ferme que la teneur du Cd était aussi maximale (0,25 ppm) par rapport aux autres fermes.

En France la teneur du lait en Cd est inférieure à la limite de détection des méthodes d'analyse (0,0002 à 0,0005 ppm). Les concentrations dans les fromages

peuvent atteindre 0,05 ppm chez la vache et 0,2 ppm chez la brebis et la chèvre (Direction générale de l'alimentation, 1996). Le Cd dépasse rarement 0,002 ppm dans le lait. Dans la crème, les teneurs moyennes se situent entre 0,001 et 0,003 ppm. Dans les caillés et les fromages, elles sont un peu plus élevées, mais dépassent rarement 0,005 ppm (Milhaud et al., 2000). Licata et al. (2004) ont rapporté 0,00002 ppm de Cd dans le lait de vache en Italie. La teneur en Cd dans le fromage a été en moyenne de 0,0001 à 0,0006 ppm en Turquie (Vural et al., 2008). Caggiano et al. (2005) ont rapporté une teneur en Cd moyenne dans les échantillons de fromages italiens de 0,11 ppm. Les teneurs maximales de Pb et Cd dans le lait de vache de la commune de Navarra (Espagne) ont été de 0,019 et 0,0017 ppm, respectivement (Sola-Larrañaga et Navarro-Blasco, 2009).

Dans des zones industrielles contaminées par du Cd, Kirova (1993) a observé des teneurs comprises entre 0,0016 et 0,012 ppm dans du lait de brebis en Bulgarie et Krelowska-Kulas (1990) 0,0034 à 0,0089 ppm dans des laits de vache de la région de Cracovie (Pologne).

Des variations saisonnières sont également décrites. La teneur en Cd dans le lait en été a été de  $0,05 \pm 0,01$  et en hiver  $0,07 \pm 0,02$  mg/g MS dans une étude réalisée en Italie (Caggiano et al., 2005).

Globalement, il apparaît donc que le cadmium est présent en faibles quantités dans le lait et produits laitiers. Toutefois, il existe une corrélation positive significative entre les concentrations en cadmium et plomb dans le lait, ainsi que dans le *shubat*. Il n'est donc pas impossible que des valeurs en Cd dépassant les normes admises puissent être observées dans le cas de fortes contaminations par le plomb.

L'absence de liens très nets entre les teneurs observées dans les matrices environnementales et le lait ou le *shubat* peut en partie être attribué au comportement alimentaire des chameaux. En effet, si on considère comme Jurjanz (2008) que le sol est le principal vecteur de la contamination des animaux ingérant une part non négligeable de particules terrestres dans leur ration, le fait que les chameaux aient un comportement de brouteurs plutôt que de paiseurs va limiter les risques de contamination par une plus faible ingestion de terre. Contrairement aux moutons ou aux bovins par exemple qui arrachent les plantes au ras des racines, les chameaux sélectionnent plus volontiers les parties aériennes. Cette particularité comportementale peut représenter un avantage comparatif aussi pour la contamination des produits laitiers par les pesticides.

#### **IV.4. Teneur des pesticides organochlorés dans la chaîne alimentaire**

L'utilisation des pesticides a été et est encore largement répandue au Kazakhstan. La vigilance est donc de mise et leur quantification dans les produits destinés à la consommation humaine représente une étape importante de l'évaluation des risques de contamination pour l'homme.

##### **IV.4.1 Les teneurs dans les différentes matrices environnementales**

Dans notre étude, les teneurs les plus élevées en pesticides sont observées dans les **sols** de la région de Kyzylorda, notamment la ferme KZ2. Cela pourrait s'expliquer par le fait que cette ferme se situe à 500 m de cultures et donc potentiellement proche d'une source de pollution aux pesticides. Cependant les fermes CH1 et CH2 de la région du Sud Kazakhstan sont elles aussi proches de zones de culture et les valeurs observées pour cette région ne semblent pas indiquer de contamination des sols excessive, par rapport par exemple, à la région d'Atyraou moins cultivée. Or, l'orientation des vents dominants du Sud Kazakhstan indiquent que ces deux fermes

sont susceptibles de recevoir des résidus de polluants si les agriculteurs voisins en utilisent (Le Guillou, 2009). Aussi, l'agriculture locale n'utilise peut être pas de pesticides organochlorés ou à de faibles quantités. Nous manquons de données sur les pratiques agricoles à proximité des fermes échantillonnées pour pouvoir confirmer ou infirmer ces suppositions. Par ailleurs, il n'existe aucune norme internationale quant à la teneur maximale tolérée en pesticides dans les sols. Selon la Ministère de la Santé de la Russie, les teneurs de  $\gamma$ -HCCH, HCCH et DDT sont de 0,1 mg/kg dans le sol.

Les teneurs en pesticides dans l'eau sont, majoritairement, très inférieures à celles des normes internationales admises de 0,001 ppb (Fabre et al., 2005) et à celles habituellement observées dans la littérature. En effet, une étude menée sur l'eau potable en Ukraine a révélé des teneurs en  $\gamma$ -HCH de 0,5 ppb et en DDT de 1,6 ppb (Tsviliovskii et al., 2004 cités par Liliana, 2007). Aydin et al. (1999) (cités par Liliana, 2007) ont trouvé des teneurs comparables dans l'eau potable d'Istanbul en Turquie pour le DDT : 0,4 ppb. Une étude conduite par l'UNEP en 2003 sur l'affluent Olt en Roumanie a décelé 0,15 ppb d'  $\alpha$ -HCH. Dans l'Océan Arctique à l'ouest (60 m de profondeur)  $\alpha$ -HCH et  $\gamma$ -HCH ont été détectés en moyenne à des teneurs de  $2,42 \pm 0,23$  ppb et  $0,47 \pm 0,11$  ppb, respectivement. La concentration du  $\gamma$ -HCH n'est pas changée avec la profondeur (Jantunen et Bidleman, 1998). En Chine, les concentrations du DDTs (6,2 ppb) et HCHs (18,0 ppb) ont été relevées dans l'eau, mais étaient inférieures aux limites admises dans ce pays (1000 ppb pour DDTs et 5000 ppb pour HCHs). Chen et al. (2008) ont obtenu des teneurs importantes soient 13,98 ppb de DDT et 146,42 ppb de HCHs dans l'eau à Pékin.

Ainsi, les valeurs pour l'eau de la littérature sont bien supérieures aux nôtres. Ceci pourrait s'expliquer par le fait que les POP étant pratiquement insolubles dans l'eau (Liliana, 2007), on ne les retrouve pas ou très peu dans l'eau. D'autre part, certains des échantillons mis en bouteille de verre à l'abri de la lumière ont été conservés plus d'une année avant analyse, or dans l'eau les isomères du DDT s'évaporent très rapidement (FAO, 2005). Ainsi les résultats pourraient être biaisés et ne reflèteraient donc pas fidèlement la réalité. Une autre explication avancée par Sibali et al. (2009) est que les faibles quantités de métabolites du DDT suggèrent une contamination récente en DDT de l'eau. Mais cette hypothèse ne semble pas correspondre ici car la pollution aux pesticides dans les régions du Sud Kazakhstan et de Kyzylorda remonte à plusieurs dizaines d'années durant la période soviétique. Cependant nos résultats semblent trop différents de ceux de la littérature pour être totalement fiables.

Les valeurs moyennes observées dans les **plantes** sont assez proches pour chacun des pesticides entre les quatre régions, ce qui laisse penser que la contamination des plantes est homogène sur l'ensemble des régions étudiées. De plus, on pourrait s'attendre à ce que se soit les végétaux des régions cultivées du Sud Kazakhstan et de Kyzylorda qui soient les plus contaminés, or ce n'est pas le cas. Dans les échantillons de plantes d'Atyrau, les teneurs maximales de 5 pesticides ont été détectées. Trois hypothèses peuvent être avancées: soit il n'y a aucun lien entre la pollution de l'air et du sol et celles des plantes, soit les pesticides étudiés ont pratiquement disparu depuis leur utilisation, soit les pesticides étudiés n'ont pas été les plus utilisés dans ces régions. La consommation des plantes est la principale source de pesticides pour expliquer le passage aux vaches plutôt que le sol (Willett et al., 1993). Dans nos échantillons de foin, le DDT et ses dérivés sont plus élevés que dans le sol. Leurs quantités sont encore plus faibles dans les échantillons d'eau. Cela signifie que les résidus de pesticides peuvent être également d'origine atmosphérique et donc inhalés par les animaux.

En moyenne, les quantités mesurées dans nos échantillons de **lait** sont inférieures ou égales aux normes internationales de l'OMS et kazakhes (0,05 ppm). Dans le lait et produits laitiers, les limites admises des teneurs en HCH sont <0,05 mg/kg et en DDT <0,01 mg/kg (Agence de Contrôle Sanitaire de Russie, 1984). La teneur admissible du  $\beta$ -HCH dans le lait de vache à l'UE est 0,003 ppm (Ronchi et Danielli, 2008). Cependant, dans l'échantillon de Sud Kazakhstan, la teneur du 4,4 – DDT s'est avérée deux fois plus élevée que les normes internationales et dix fois plus qu'en Russie. Ce qui peut être dû à l'agriculture intensive pratiquée dans cette région. Losada et *al.* (1996) ont mesuré des teneurs en DDT total et en HCH total dans le lait en Espagne de 0,0003 à 0,017 ppm et 0,0015 à 0,0039 ppm, respectivement. Nos résultats sont supérieurs pour le DDT total dans le lait dans toutes les régions sauf celle de Kyzylorda et supérieurs pour le HCH total dans le lait dans les régions d'Almaty et d'Atyraou. Hute et *al.* (1999) (cités par Liliانا, 2007) ont observé des valeurs de 0,0012 à 0,122 ppm pour le DDT total et de 0,0065 à 0,081 ppm pour le HCH total dans des laits de Roumanie. En 2008, Konuspayeva et *al.* n'avaient pas détecté de DDT dans le lait de chamelle et seulement des traces d'HCH (0,00044  $\pm$  0,00019 ppm), or dans notre étude, quatre échantillons de lait contiennent du DDT. Waliszewski et *al.* (1997) ont rapporté les teneurs moyennes suivantes du HCH et DDT dans le lait de vache : 0,094 et 0,159 ppm, et dans le beurre : 0,093 et 0,049 ppm (Kampire et *al.*, 2011). La teneur du DDT est ainsi presque au même niveau que nos données, contrairement au HCH. Dans une autre étude, les teneurs moyennes (en ppm) dans le lait de vache pasteurisé ont été:  $\alpha$ -HCH = 0,015;  $\beta$ -HCH = 0,039; DDT + métabolites = 0,067 (Martinez et *al.*, 1997). Si, la teneur du  $\alpha$ -HCH (0,021ppm) dans nos échantillons était légèrement élevée, la teneur du  $\beta$ -HCH était très basse (0,002 ppm) par rapport à ces données.

Les teneurs en pesticides du lait dans nos échantillons sont très hétérogènes d'une région à l'autre. Il existe en effet une grande variabilité entre les niveaux de contamination environnementale de chaque région. La région qui semble la plus polluée pour le lait est Atyraou (Konuspayeva et *al.*, 2011) et même d'ailleurs pour les échantillons de lait maternel (Hooper et *al.*, 1998). Ceci peut être dû à l'extraction du pétrole. Il apparaît ne pas y avoir de lien évident entre les contaminations de l'environnement et du lait. Mais, les résultats semblent indiquer une liaison entre une contamination des végétaux et celle du lait pour deux pesticides, le  $\gamma$ -HCH et le 4,4-DDD.

Dans le lait maternel prélevé sur les femmes près de la mer Aral (Karakalpakstan, Ouzbékistan), les molécules de  $\beta$ -HCH et pp-DDE ont été détectés à un niveau élevé à raison de 1000 ng/g de graisse (Ataniyazova et *al.*, 2001 ; Beth et *al.*, 1999 ; Hooper et *al.*, 1997). Ennaceur et *al.* (2008) ont rapporté des teneurs élevées en p,po -DDT (1931 ng/g) et selon Hooper et *al.* (1997) en p,p'-DDT (300 ng/g lipide dans le lait maternel). La teneur du DDT (1,730 ng/g lipide) est deux fois plus élevée dans le lait maternel au Kazakhstan qu'en Europe (Lutter et *al.*, 1998). La concentration moyenne du  $\beta$ -HCH dans le lait maternel au Kazakhstan (1994) était de 2210 ng/g lipide, ce qui est plus élevé qu'en Europe (200 ng/g lipide) (Hooper et *al.*, 1998, Lutter et *al.*, 1998). A cause de l'utilisation du HCH comme insecticide au Japon et en Chine, sa teneur dans le lait maternel à été détectée à hauteur de 6,500 ng/g lipide (Jensen et Slorach, 1991). En Tunisie, Ennaceur et *al.* (2008) ont relevé du  $\beta$ -HCH (42 ng/g) dans le lait maternel. En général, les teneurs des pesticides sont plus élevées dans le lait maternel de zone rurale qu'en zone urbaine, ce qui laisse penser que cela est dû à l'utilisation intensive dans l'agriculture (Lederman, 1996, Ennaceur et *al.*, 2008).

Cok et *al.* (1999) et Burgaz et *al.* (1995) ont montré que la quantité de polluants dans le lait maternel se trouve dans l'ordre suivant : DDTs > HCHs > HCB (cité par Behrooz et *al.*, 2009). Dans nos échantillons les HCHs sont en quantité légèrement plus

que les DDTs. En premier lieu, cela peut être dû au changement de la quantité des pesticides utilisés à des niveaux différents selon les saisons (Lederman, 1996). Si, en mars le p,p'-DDT n'était pas détecté dans le lait de vache, en juin il en a été trouvé 10-90 µg/l. De la même manière, en juin, γ-HCCH (2-30 µg/l) et α-HCCH (2-110 µg/l) ont été détectés, alors qu'en mars, ont été retrouvés 6,5 µg/l de γ-HCCH et aucune trace de α-HCCH. Les résidus de pesticides organochlorés ont été plus élevés dans le lait de vache et buffle en hiver par rapport aux autres saisons (John et al., 2001). En second lieu, il s'agit de la physiologie qui est différente d'une espèce à l'autre.

Les résultats suggèrent qu'il existe une certaine homogénéité des teneurs en pesticides dans le *shubat* entre chacune des régions, celui-ci apparaissant contaminé de la même façon dans les différentes régions. Ceci semble indiquer qu'il n'y a pas de lien entre la contamination de l'environnement et celle du *shubat* dans les conditions de notre étude. En outre, la variabilité pour un même pesticide entre deux régions semble avoir diminué. La teneur du *shubat* en 4,4-DDT des régions du Sud Kazakhstan et d'Almaty est identique : 0 ppm alors que pour le lait, une différence de l'ordre de plus de 15 fois a été observée. Selon les résultats de la littérature, les teneurs de pesticides doivent être plus élevées dans les produits transformés.

#### IV.4.2 Les relations entre matrices

Il semble que le lait et le *shubat* contiennent en moyenne des concentrations moins élevées que le sol et les plantes. Il convient de rappeler ici que le comportement du chameau au pâturage peut en partie expliquer du moins l'absence de lien entre contamination du sol et celle des produits laitiers en fin de chaîne alimentaire. Cependant aucune conclusion ne peut-être tirée étant donné le faible nombre d'échantillons analysés. D'autre part, les valeurs du *shubat* sont soit égales soit inférieures à celles du lait, le *shubat* paraissant dès lors moins contaminé que le lait. L'échantillon de *shubat* de la ferme DB d'Almaty contient quatre pesticides dont le 4,4-DDD à une concentration de 0,065 ppm qui est légèrement élevée par rapport aux normes internationales et kazakhes. Par ailleurs, le seul pesticide présent dans toute la chaîne alimentaire est l'α-HCH, et ce, à des concentrations souvent supérieures à celles des six autres pesticides. Dès lors, il semble que ce pesticide ait soit été utilisé en plus grande quantité que ces homologues soit qu'il se dégrade moins vite dans l'environnement. La deuxième hypothèse semble être vérifiée puisque les isomères d'HCH sont connus pour très peu s'évaporer et entre tous les isomères du HCH, c'est l'α-HCH qui possède la demi-vie la plus grande (FAO, 2005). Quant à la première hypothèse, aucune donnée n'a pu être trouvée dans la littérature quant aux quantités utilisées pour chacun des pesticides au Kazakhstan. Les pesticides β-HCH, γ-HCH, 2,4-DDD et 4,4-DDD ne sont présents qu'à l'état de « traces » dans la chaîne alimentaire, ce qui laisse penser qu'ils ont soit été faiblement utilisés soit qu'ils se dégradent rapidement dans l'environnement. Or, les études menées sur le DDT et ses métabolites montrent que ces pesticides persistent plus de 15 ans en région steppique (FAO, 2005). Ainsi, l'hypothèse d'une faible utilisation de ces types de pesticides semble pouvoir être avancée. Ce sont les plantes qui contiennent le plus de différents types de pesticides, dès lors elles semblent plus sensibles à ce type de POP. Quant à l'eau, les valeurs ne reflètent peut-être pas la réalité, et des précautions doivent donc être prises pour leur interprétation. Le fait qu'il n'y ait pas ou très peu de pesticides peut s'expliquer par le fait que la concentration en pesticide ait été inférieure à la limite minimale détectable. De plus, les teneurs dans le sol et les plantes sont en moyenne plus élevées que dans les trois autres matrices. Ainsi ceux-ci semblent avoir la capacité de concentrer plus de types de pesticides et en plus grande quantité. Or, dans la

littérature les études suggèrent qu'il y a une accumulation tout au long de la chaîne alimentaire (Van Der Werf, 1996). Nos résultats ne semblent pas en adéquation avec ceux observés habituellement. Enfin, les deux régions les plus polluées aux pesticides semblent être le Sud-Kazakhstan et Kyzylorda, ce qui paraît logique aux vues des zones d'utilisation de ces POP.

#### *Limites de l'étude*

Il existe un certain nombre de limites à cette étude, des limites dans les zones d'étude, dans l'échantillonnage et dans la méthode d'analyse des pesticides. Tout d'abord étant donné le faible nombre d'échantillons et l'étendue de la zone d'échantillonnage, les résultats ne sont statistiquement pas interprétables. Ainsi, pour étudier rigoureusement les teneurs en pesticides dans la chaîne alimentaire, il aurait été préférable d'étudier quelques fermes d'une seule région et réaliser une dizaine de prélèvements pour chaque matrice de l'environnement (sol, eau, plantes) à différents endroits, et ce, dans chaque ferme.

Un seul échantillon de chaque matrice environnementale n'est pas représentatif de l'ensemble du territoire pâturé par les chameaux, les résultats ne représentent donc pas toutes les variabilités possibles en termes de concentration en pesticides. En effet, les fourrages échantillonnés ont été prélevés à un seul endroit dans chaque ferme, ils ne sont donc pas caractéristiques de l'ensemble de l'alimentation des chameaux, espèce qui se déplace sur de longues distances pour se nourrir. Pour les prélèvements de sol, d'eau et de plantes une méthode d'échantillonnage scientifique doit être utilisée, par exemple la méthode des transects. De plus, le *shubat* prélevé n'est pas issu du lait correspondant prélevé puisqu'il faut au moins 24h pour que la fermentation ait lieu. Il faudrait donc prélever le premier jour le lait de chacune des fermes, puis le lendemain les *shubat* leur correspondant. Ainsi les liens entre les teneurs des pesticides dans la chaîne alimentaire pourraient être étudiés rigoureusement. Par ailleurs, les systèmes d'élevage étant différents d'une ferme à l'autre (intensif ou extensif), les animaux ne consomment pas les mêmes végétaux, ce qui peut-être un facteur non négligeable de variabilité dans l'exposition des animaux aux pesticides. En outre, il faudrait connaître avec précision les sources de pollution aux pesticides dans les environs de chaque ferme et analyser une ferme non contaminée (sol, eau, plantes) afin d'observer les différences.

Enfin, les méthodes de dosage des pesticides diffèrent énormément dans la littérature et il n'existe aucune technique standard pour analyser les pesticides. Dès lors, la comparaison de résultats entre différentes études devient problématique.

## **IV.5. Les bactéries lactiques et leur rôle dans la détoxification**

Les consommateurs réguliers de lait de chamelle frais ou fermenté attribuent à ces produits la capacité de diminuer les risques d'empoisonnement et d'intoxication y compris par exemple par les produits radioactifs. Il existe au demeurant relativement peu d'études sérieuses attestant de la véracité de ces effets. Qu'en est-il des risques d'intoxication au plomb ?

### **IV.5.1 Inventaire des bactéries lactiques dans le lait de chamelle et le shubat**

Grillet (2006) a isolé 178 souches de bactéries à partir de 36 échantillons de lait de chamelle et de *shubat* de 4 régions de Kazakhstan, et dans notre étude nous avons

isolé 138 souches à partir de 25 échantillons laitiers. La plupart des souches isolées sont des coques, ce qui est en accord avec les travaux de Grillet, (2006) et de Kacem et *al.*, (2002). Cette prépondérance des coques et en particulier celle des entérocoques est sans nul doute le fait de la plus grande résistance de ces souches aux conditions défavorables car les échantillons ont été prélevés puis conservés au froid puis congelés pour être transportés par avion jusqu'à Montpellier avec des possibles ruptures de la chaîne du froid. Cependant la prépondérance des coques lactiques dans la microflore du lait de chamelle a déjà été décrite par de nombreux auteurs. Les travaux de Khedid et *al.* (2009), ont mis en évidence la présence majoritaire de *Lactobacillus* et de *Lactococcus*. Les espèces dominantes étaient *Lactococcus lactis subsp. lactis* (17,5%), *Lactobacillus helveticus* (10%), *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* (9,2%), *Lactobacillus casei subsp. casei* (5,8%), *Lactobacillus plantarum* (5%) et *Leuconostoc mesenteroides subsp. mesenteroides* (4,2%). Pour, Zadi-Karam et Karam (2005) après avoir analysé huit échantillons de lait cru de chamelle provenant de huit animaux différents dans cinq fermes des régions de Timimoune et Béchar (Sud-ouest algérien), il y avait autant de souches de lactocoques que d'enterocoques (34,6 %). Les lactocoques étaient représentés par : *Lc. lactis ssp diacetylactis* (28,4 %), *Lc. lactis ssp cremoris* (4,9 %) et *Lc. lactis ssp lactis* (1,2 %). Le genre *Leuconostoc* (12,3 %) était représenté par *Leuconostoc lactis* (7,4 %) et *Leuconostoc dextranicum* (4,9 %). Les souches de *Lactobacillus plantarum* constituaient 18,5 % des bactéries lactiques isolées. Enfin, la présence d'entérocoques peut aussi avoir pour origine de mauvaises conditions d'hygiène pendant la traite (Khedid et *al.*, 2009, Martin and Mundt, 1972 cité par Stiles et Holzapfel, 1997). Pour de nombreux auteurs, la présence d'entérocoques témoigne de possibles contaminations fécales et constitue donc un risque pour la santé des consommateurs car bien que ces souches soit connues pour leur faible virulence, elles posent de graves problèmes de santé dus à l'émergence de nombreuses souches antibiorésistantes, par exemple des souches d'*E. faecalis* (Giraffa et *al.*, 2000 cité par Khedid et *al.*, 2009). Cependant, il ne faut pas omettre le rôle positif de ces coques lactiques dans l'élaboration de la qualité des produits laitiers fermentés. Les propriétés protéolytiques de ces souches conduisent à partir des caséines à la libération d'acides aminés précurseurs des molécules impliquées dans la saveur des fromages (Mc Sweeny and Fox, 1997 ; Urbach, 1995 cité par Khedid et *al.*, 2009). Les entérocoques produisent des entérocoques qui ont une activité inhibitrice spécifique contre certaines bactéries pathogènes (Sabia et *al.*, 2002). Il a été également rapporté que *E. faecalis* produisait des bactériocines anti-listera dans le lait et le fromage. Les entérocoques contribuent significativement au développement des propriétés organoleptiques du fromage mature (Litopoulou-Tzanetaki, 1990). Les entérocoques ont un effet bénéfique sur la croissance d'autres bactéries lactiques du à leur activité protéolytique intense qui favorise la production de gaz par les souches de *Leuconostoc* et la production d'acide lactique par les lactocoques, ce pourquoi les entérocoques sont utilisés très souvent dans la production de fromages dans les pays Méditerranéens (Macedo et *al.*, 1995). Les *Leuconostoc*s sont des bactéries lactiques hétérofermentaires utilisées en industrie laitière pour leur capacité à produire du CO<sub>2</sub> et des composés d'arôme grâce au co-métabolisme du citrate et du lactose (Levata-Jovanovic et Sandine, 1996 cité Zadi-Karam et *al.*, 2011).

#### IV.5.2 Fixation du Pb et du Cd par les souches de bactéries lactiques isolées

Nous avons mis au point un test qualitatif sur milieu gélosé qui nous a permis de mettre en évidence la capacité plus ou moins grande des souches de bactéries lactiques à fixer le Pb ou le Cd. La majorité des 118 souches testées (94,9%), ont

cultivé sur les milieux de culture additionnés de Pb ou de Cd. Parmi elles, 36 % des souches testées ont montré une capacité à fixer le Pb ou le Cd, et 9% les deux métaux. (Akhmetsadykova et *al.*, 2011). Peu de données sont disponibles relatives à la sensibilité des bactéries lactiques vis-à-vis du Pb et du Cd. Il semble cependant que l'absence de croissance de certaines des souches testées soit d'avantage due à une mauvaise revivification des souches congelées qu'un effet antimicrobien du Pb et du Cd. Le faible pourcentage de souches montrant une capacité de fixation selon ce test renseigne sur sa faible sensibilité car selon la littérature toutes les bactéries du fait de la présence et de la composition de leur paroi sont susceptibles de fixer des métaux lourds. Sans pouvoir quantifier précisément cette capacité, le test pourrait permettre de classer les différentes souches testées en fonction de leur capacité de fixation plus ou moins importante en relation avec l'importance du halo autour des stries de culture microbienne car selon notre hypothèse la taille du halo témoigne de la diminution de la concentration en métal autour de la strie. L'absence de halo ne signifiant pas obligatoirement l'absence de capacité de fixation des deux métaux testés car cette propriété est soumise à des modulations diverses. A l'inverse l'observation d'un grand halo autour des stries témoigne d'une grande capacité de fixation (biosorption).

La biosorption pouvant être le fait de bactéries biologiquement actives ou passives quand le métal se fixe sur la paroi des bactéries (sorption) voire des composés produits par les bactéries (complexation). De fait, ce test ne renseigne pas d'avantage sur les processus de biosorption car il y a contact entre des bactéries vivantes en quantité de biomasse importante et les ions métalliques.

Concernant le test réalisé avec de la biomasse sèche, il n'a mis en évidence que la capacité de sorption des souches qui est influencée par le pH, la température, la force ionique, la quantité de biosorbant, la taille du biosorbant, la concentration de la solution initiale et la vitesse d'agitation (Vijayaraghavan et Yeoung-Sang, 2008). Cette capacité varie aussi selon les espèces et les souches bactériennes comme nous avons pu le constater dans cette étude dans laquelle la souche SH1M6N1 (*Leuconostoc mesenteroides*) est capable de fixer plus 38 mg de Pb par gramme de biomasse sèche alors que dans les mêmes conditions la souche SH2M3N2 (*Enterococcus durans*) n'en fixait que 22 mg/g de biomasse, 60% moins.

L'influence du pH est aussi très forte (Kulczycki et *al.*, 2002, Kapoor et *al.*, 1999; Yan et Viraraghavan, 2003; Feng et Aldrich, 2004), car la valeur du pH détermine la compétition pour les sites de fixation chargés négativement entre les cations de métaux lourds et les protons (H<sup>+</sup>) (Huang et *al.*, 1991). Bien que Halttunen *et al.* (2007) mais aussi Fein et *al.*, (1997) ; Pardo et *al.*, (2003) ; Puranik and Paknikar, (1999) ; Mrvacic et *al.*, (2009) aient rapporté que la fixation était plus élevée pour le Pb et le Cd quand le pH était proche de la neutralité, nous avons choisi de réaliser le test à pH 5 pour se rapprocher du pH moyen du lait lors de la fermentation. Compte tenu du contexte de cette étude nous n'avons pas testé *in vitro* l'éventuel désorption du Pb par la biomasse aux pH acides que rencontrent les bactéries lactiques lors du transit intestinal comme cela est cité dans la littérature (Mrvcic et *al.*, 2009).

Lors du test *in vitro*, la suspension de biomasse bactérienne dans les solutions de Pb a été incubée à 37°C qui est une température pas trop éloignée de celles mises en œuvre pour les fermentations mais c'est aussi la température corporelle humaine. L'influence de ce paramètre sur la fixation du Pb et du Cd par de la biomasse bactérienne sèche est discutée. Pour certains auteurs, son influence serait pratiquement nulle (Halttunen et *al.*, 2007, Puranik et Paknikar, 1999, Cho et Kim, 2003). Pour d'autres, (Mrvcic et *al.*, 2009a, Halttunen et *al.*, 2003, Mrvacic et *al.*, 2009) l'augmentation de la température influence la stabilité du complexe métal-microorganisme, qui dépend des sites de biosorption, de la configuration de la paroi

cellulaire du microorganisme, et de l'ionisation de fractions chimiques de la paroi cellulaire. Une température élevée fait habituellement augmenter la sorption due à l'augmentation de l'activité de surface et de l'énergie cinétique de la solution (Vijayaraghavan et Yeoung-Sang, 2007). Cependant, une température élevée peut aussi endommager physiquement le biosorbant (Vijayaraghavan et Yeoung-Sang, 2008). L'influence de ce paramètre serait à prendre en compte et à étudier dans les situations qui nécessiteraient le refroidissement du lait et du *Shubat*.

La fixation de métaux lourds par des bactéries vivantes est influencée par la température d'incubation qui détermine le niveau du métabolisme bactérien et en particulier des mécanismes de transports actifs (Hao et al., 1999 ; Halttunen, 2007).

Pour notre test, nous avons fixé la durée de contact entre la biomasse et le Pb à 1 heure. C'est une durée relativement courte comparativement à la durée de la fermentation du lait de chamelle et du temps de stockage du *shubat*. L'effet de la durée d'incubation n'apparaît pas constant, celle-ci pouvant ne pas avoir d'effet ou avoir des effets contradictoires selon les souches de bactéries lactiques. Halttunen et al. (2007) ont rapporté qu'après une incubation de 5 min la fixation du Cd (10 mg/l, pH 6) et Pb (50 mg/l, pH 5) s'est située entre  $61,8 \pm 3,3 - 88 \pm 3\%$  et  $30,2 \pm 7,9 - 93 \pm 1,9\%$ , respectivement. Mais, dans le cas de *Lb. casei shirota*, la fixation du Cd est augmentée de  $61,8 \pm 3,3\%$  après 5 min et jusqu'à  $74,5 \pm 3,3\%$  après 4 h. A l'inverse, il est constaté, avec *Lb. fermentum* ME3 une diminution de  $81,2 \pm 5,3$  après 5 min et jusqu'à  $62,2 \pm 3,4\%$  après 4 h.

La taille du biosorbant joue aussi un rôle vital dans la biosorption. Les particules plus petites ont proportionnellement une surface plus élevée (Volesky, 2001) ce qui est le cas des coques, en accord avec la forte représentation de coques parmi les souches les plus fixatrices.

La force ionique influence l'adsorption de métal sur la surface de la biomasse (Daughney and Fein, 1998; Borrok and Fein, 2005 ; Vijayaraghavan et Yeoung-Sang, 2008). La force ionique de la solution aqueuse de Pb lors du test réalisée est sans aucun doute éloignée de celle du lait et du *Shubat* qui sont des aliments très minéralisés et riches en micro particules (micelles). La présence d'autres cations peut réduire la fixation du Cd (Pb et Zn par exemple) et Pb (Fe pour la fixation du Pb) par *Lb. longum* 46 et *L. fermentum* ME3 (Halttunen et al., 2008).

La concentration du métal joue aussi un rôle important dans la fixation. Le pourcentage de fixation de Pb et Cd par les bactéries lactiques a diminué avec l'augmentation de la concentration de ces éléments. Nos résultats en la matière sont en accord avec ceux d'Halttunen (2007) qui a montré qu'aux basses concentrations (0,01 et 1 mg/l), les souches de bactéries lactiques étaient capables de fixer en grande proportion le Cd (99%) et le Pb (97%). La diminution du pourcentage de la fixation de Pb avec l'augmentation de la concentration du métal observée dans notre étude indique une saturation des sites de fixation. Les teneurs en plomb mesurées dans le lait de chamelle et le *shubat* lors de cette étude, sont faibles ce qui laisse penser que la biomasse lactique produite lors de la fermentation (plusieurs centaines de mg de biomasse par litre) du lait de chamelle en *Shubat* serait suffisamment importante pour fixer la presque totalité du plomb présent dans le lait. *A contrario*, la population lactique du lait cru pourrait ne pas suffire.

Il existe différentes voies pour améliorer et augmenter la capacité de fixation de biosorbants comme la modification chimique (Vijayaraghavan et Yeoung-Sang, 2007; Selatnia et al., 2004; Göksungur et al., 2005; Bai et Abraham, 2002), génétique (Bae et al., 2000), et techniques de l'immobilisation (Volesky, 2001).

Une diminution dans la fixation du Pb et du Cd a ainsi été observée chez les bactéries modifiées chimiquement par rapport à celle de la nature. Par exemple, la

fixation du Cd par *Lb. fermentum* ME3 est augmentée légèrement après la méthylation de groupes carboxyles. La fixation après le traitement de groupes phosphoryles s'est révélée plus faible qu'après la méthylation de groupes carboxyles (Kapoor et Viraraghavan, 1997 ; Halttunen, 2007). Cela signifie que les modifications chimiques neutralisent la charge négative des groupes carboxyle et phosphoryle et réduisent la fixation du Pb et du Cd. Les traitements physiques possibles sont : chauffage, ébullition, congélation, décongélation, séchage et lyophilisation (Wang et Chen, 2009). L'ébullition n'a pas eu d'effet sur la capacité de la fixation maximale du Pb et Cd (Halttunen, 2007). La lyophilisation de bactéries lactiques peut mener à la détérioration partielle de la paroi cellulaire et conduire à l'augmentation de la quantité de sites de fixation accessibles : nous aurions alors surestimé la capacité de fixation des souches étudiées.

#### IV.5.3 Test physiologique (*in vivo*) et analyses des organes cibles

Nous avons choisi d'utiliser des femelles cobayes car les femelles rats et souris montrent une accumulation du Pb significativement plus élevée que les mâles (Schroeder et al., 1964; Donald et al., 1987).

Plusieurs études sont disponibles sur la détoxification de l'eau et des aliments par l'utilisation de différents microorganismes (Halttunen et al., 2007; Ibrahim et al., 2006). Plusieurs expériences ont été réalisées avec des animaux de laboratoire pour étudier la distribution du Pb *in vivo* par voie orale, l'inhalation ou l'injection (Smith et al., 1992; Rader et al., 1981 ; Castellino et Aloij, 1969 ; Dallak, 2009). Mais, il n'y a peu d'études sur l'interaction des bactéries lactiques et les métaux lourds *in vivo*, et leur influence sur la rétention ou l'élimination du Pb et encore moins dans les aliments dont les produits laitiers.

L'hypothèse qui a prévalu à cette étude était que des bactéries lactiques fixatrices de Pb pouvait combiner ce métal et empêcher son passage des voies digestives vers d'autres organes en particulier les organes cibles. Dans cette hypothèse, le Pb fixé par les bactéries lactiques serait excrété dans les selles fixées par des bactéries intègres voire même vivantes. Cette hypothèse est justifiée par les études antérieures qui ont montré que ces bactéries pouvaient passer le tube gastro-intestinal et restaient vivantes (Corcoran et al., 2007; Guerra et al., 2007; Lambert et Hull, 1996 ; Takahashi et al., 2004 ; Duez et al., 2000; Rochet et al., 2008; Su et al., 2007). La résistance des bactéries aux conditions du tube digestif dépend du type de souche. Berrada et al. (1991) ont montré que deux souches différentes de *Bifidobacterium* de deux laits fermentés différents, ont des niveaux de résistance variable aux conditions gastro-intestinales simulées *in vitro*. Une souche a survécu pendant 90 min, et l'autre souche s'est avérée beaucoup moins résistante. Ces résultats *in vitro*, avec une différence légère, ont été confirmés par l'étude *in vivo* chez l'homme (Berrada et al., 1991). Chez des consommateurs de laits fermentés, le taux de *Lactobacillus casei* DN-114 001 survivants a été de 51,2% dans l'iléum et de 28,4% dans les fèces (Oozeer et al., 2006). Cette propriété semblerait s'exprimer d'avantage avec les produits laitiers fermentés (Pochart et al., 1992). La quantité de bactéries lactiques/probiotiques dans les fèces est augmentée après l'ingestion de lait fermenté ou de yaourt et diminue après arrêt de l'ingestion (Rochet et al., 2000; Yuki et al., 1999, Collado et al., 2006). *Streptococcus thermophilus*, *Lb. bulgaricus* and *Lb. casei*, et des Bifidobacteries ont été dénombrées dans les fèces de rats nourris de yaourt (Djouzi et al., 1997).

Selon, notre objectif de montrer qu'il est possible de limiter l'impact d'une pollution aux métaux lourds et en particulier au plomb sur la santé des consommateurs, il était important de mesurer plus particulièrement la quantité de Pb dans les selles des cobayes.

Les résultats obtenus indiquent que la quantité de Pb dans les fèces de groupes traitées par du lait fermenté par des souches fixatrices additionné ou non de nitrate du plomb est relativement élevée par rapport au groupe témoin et groupe Pb. Une telle observation sous-entend que l'utilisation de souches de bactéries lactiques pour produire du lait de chamelle fermenté favoriserait l'élimination du Pb contaminant le lait de chamelle. Une des limites de notre expérimentation est que les mesures ont été effectuées sur un échantillon de fèces collecté pendant moins de 10h à chaque cycle, alors qu'il aurait fallu calculer la moyenne des concentrations sur une période de 3 jours.

De plus nous n'avons pas pesé les fèces et en conséquence nous ne pouvons pas estimer les quantités totales de plomb excrétées. Enfin, les mesures ayant été effectuées sur un mélange par lot, seules les tendances peuvent être observées en l'absence de la pertinence d'analyses statistiques. Pour ce faire, il aurait fallu doser le plomb dans 10 fois plus d'échantillons, ce qui était incompatible avec notre budget.

La demi-vie du Pb est de 1,5 à 2 mois (Babalola et *al.*, 2010) jusqu'à 3 mois dans certains tissus (Rabinowitz et *al.*, 1976) d'où l'intérêt de mesurer les teneurs en plomb des principaux organes.

Le choix des différents organes des cobayes l'a été en relation avec les informations citées dans la littérature quand aux organes cibles. Ainsi le traitement de rats jeunes et adultes alimentés chaque jour avec une solution aqueuse de Pb a montré de plus fortes concentrations dans le sang, le cerveau, les reins, et le fémur (Rader et *al.*, 1981). Pour Morgan et *al.* (1977), 20 % du Pb a été accumulé dans les reins de rats après l'injection d'une solution de Pb<sup>203</sup> et avec une demi-vie de près de 100 heures. Une autre étude sur la distribution du Pb chez les rats albinos a montré que 10% du plomb seulement avait été stocké dans les reins, le foie et le cerveau (Babalola et *al.*, 2010).

La concentration en Pb du sang est plus constante que celle de l'urine (Rabinowitz, 1998). Environ, 98–99% du Pb dans le sang est localisé dans les hématies et les leucocytes (Rabinowitz, 1998 ; Chun-yan et Deng-jun, 2011), et seulement 1–2% dans le plasma (Willes et *al.*, 1977).

Le sang traverse les tissus abondamment irrigués ; aussi le Pb s'y concentre préférentiellement. Certaines références ont rapporté que l'augmentation de la concentration du Pb dans le sang est transitoire et ne dure après l'exposition que quelques jours (Rabinowitz et *al.*, 1976). Au contraire, Hilts et *al.* (2001) ont montré que le sang était un bon indicateur de l'exposition au Pb après une exposition de 25-35 jours. Dans notre étude le sang a été échantillonné après 28 jours. Castellino et Aloj (1964) ont montré qu'une seule injection de 100 µg du Pb chez les rats, amenait à une accumulation élevée de Pb dans les reins, le foie et les os. Dans l'étude de Castellino et Aloj (1964), la teneur en Pb du fémur de rats traités par le Pb a augmenté très vite au début puis s'est ralentie.

Après une semaine d'exposition, 25-30% du Pb a été détecté dans les os. Certaines références rapportent que plus de 90% du Pb se concentre dans les os, ce pourquoi le squelette est considéré comme le meilleur indicateur de l'exposition au Pb (Rabinowitz et *al.*, 1976). Il a été rapporté que la demi-vie du Pb dans les os des doigts humains était proche de 5 années.

En tout cas, l'élimination du Pb chez les rats est plus rapide que chez l'homme (Hac et Krechniak, 1996). Si le sang est un indicateur d'une exposition récente aux contaminations minérales, les poils, cheveux et ongles sont des indicateurs d'une exposition chronique de longue durée (Kello et *al.*, 1976 ; Babalola et *al.*, 2005). En regard de ces informations, nous devons reconnaître que les conclusions de notre étude auraient mérité d'être enrichies par la mesure des teneurs en Pb dans des organes non prélevés comme les os, les poils et les phanères des cobayes.

Dans notre étude, l'accumulation du Pb dans les tissus est la conséquence de 28 jours d'exposition. La distribution du Pb dans les organes de cobayes du groupe Pb est en ordre croissant : rate> sang> cœur> poumons> foie> reins. Ces résultats sont différents de celles de Chun-yan et Deng-Jun (2011) où après le traitement de souris avec une solution de nitrate de plomb (0,1 ppm), la distribution du Pb est observée dans l'ordre suivant : reins> foie> rate> poumons> cerveau> cœur.

Schroeder et al. (1964) ont déterminé la quantité du Pb dans les organes de 700 souris après les avoir traitées par 5 ppm de Cd et Pb dans de l'eau buvable. Un taux élevé du Pb a été obtenu dans la rate et les reins (Schroeder et al., 1964). Cela correspond à nos résultats obtenus pour la rate, mais pas pour les reins. Cette différence pourrait s'expliquer par le mode d'alimentation orale qui ne permet pas de déterminer la quantité exacte de métal ingéré par animal. La quantité de métal absorbée par l'organisme est en effet liée à la quantité d'aliment et d'eau ingérée par les animaux.

Nous avons choisi d'ajouter de faibles quantités de Pb (0,5 ppm) au régime alimentaire des cobayes. Un apport de Pb plus important aurait sans doute permis de mieux caractériser la distribution du Pb dans les organes et de mettre en évidence le rôle détoxifiant des bactéries lactiques. Un apport de Pb plus important est possible sans effet fatal pour les animaux (O'Tuama et al., 1976 ; Sierra et al., 1992).

Chez les cobayes, des corrélations positives significatives ont été observées entre la teneur en Pb du cœur et de la rate. La concentration du Pb dans les reins est liée avec celle du sang. Ce qui correspond aux résultats obtenus par Smith et al. (1992) qui ont montré la présence de sites spécifiques qui absorbent le Pb après une exposition à faible concentration. Egalement, Rader et al. (1981) ont observé des corrélations positives entre la teneur en Pb du sang et des reins et entre le sang et le fémur chez des rats ayant ingéré du Pb par l'eau.

La présence de Pb dans les fèces, sang et tissus de cobayes non traités par le Pb est sans nul doute due à la présence du métal dans les aliments donnés aux animaux (Schroeder et al., 1965).

En conclusion, nous pouvons dire que l'apport de lait fermenté par des bactéries lactiques plus ou moins fixatrices de Pb a diminué la quantité totale du Pb dans l'organisme des cobayes. Cela peut traduire un effet bénéfique du lait fermenté ou/et celui des souches de bactéries lactiques qui ont limité l'absorption du Pb par l'organisme. Ce travail a montré les potentialités d'utiliser de telles bactéries qui doit être complété par des travaux capables de préciser les processus et les conditions qui conduisent les souches de bactéries lactiques à fixer ou à libérer du Pb dans un environnement laitier particulier.

Il nous apparaît important d'avoir à étudier la physiologie des différentes souches lactiques fixatrices pour en déterminer : les paramètres de croissance (vitesse de croissance, rendement en biomasse, rendement en acide), la capacité à produire des exopolysaccharides ce qui est le cas de souches de *Leuconostoc mesenteroides*, exopolysaccharides pouvant interagir avec les métaux lourds ; et aussi la capacité d'adsorption par des mécanismes actifs.

Enfin, des études *in vitro* dans des dispositifs expérimentaux simulant les conditions rencontrées par les bactéries lactiques pendant la fermentation et le transit dans les voies digestives devraient permettre de quantifier et modéliser les échanges bactéries/métal.

## V. CONCLUSION

Ce travail a comporté deux grandes phases :

- Une évaluation environnementale des risques de pollution dans différentes matrices en lien avec la qualité du lait des chamelles produit dans des fermes situées à proximité de sites potentiellement polluants
- Une évaluation du pouvoir détoxifiant des bactéries lactiques isolées dans le lait de chamelle

Concernant, la première phase, cette étude a permis de faire une première analyse environnementale des risques de pollution autour des d'élevage camelin situées dans 4 régions du Kazakhstan. Les cartes réalisées ont permis dans une certaine mesure le suivi de l'étude des impacts environnementaux sur la qualité du lait.

La contamination du lait, du *shubat*, de l'eau, du sol et des plantes a varié selon les fermes. Cependant les relations entre les concentrations en polluants dans le lait et le *shubat* et les concentrations dans les différents éléments de l'environnement ont été difficiles à établir.

La zone d'étude étant considérable, les sources de pollution étant multiples, les interactions entre matrices environnementales ont pu être mal élucidées du fait d'effets dilution dans l'environnement et d'une rigueur insuffisante dans le plan d'échantillonnage

Au final, le travail réalisé dans cette première phase s'est heurté aux limites de l'échantillonnage, le dépôt majoritairement atmosphérique des polluants n'étant fort probablement pas homogène dans un milieu donné. Sans doute pour obtenir des résultats plus précis, il aurait fallu se limiter à une ferme proche d'une source unique de polluants sur la base d'un échantillonnage spatialisé rigoureux des plantes et du sol. Toutefois, il a été possible d'obtenir un premier regard sur les risques de contamination du lait de chamelle dans des zones potentiellement polluées et la situation est apparue moins catastrophique que ce qu'on pouvait craindre au regard des constats donnés par les agences environnementales dans le pays..

Il sera donc nécessaire ultérieurement de développer des protocoles de recherche se focalisant sur le métabolisme des polluants dans l'organisme animal, ce qui sera l'objet d'une future thèse déjà engagée.

Dans la seconde phase de ce travail, les souches de bactéries lactiques isolées de lait ou de *shubat* ont montrées la capacité de fixer de grandes quantités de plomb.

L'utilisation de souches de bactéries lactiques capables de fixer le plomb dans le test *in vivo* chez des cobayes semblerait pouvoir faire diminuer la quantité du Pb absorbée par l'organisme.

Là aussi, des protocoles plus pertinents (durée de l'expérimentation, dose de plomb dans l'alimentation, choix des souches de bactéries lactiques, caractérisation chimique et microbiologique du lait fermenté, etc.) auraient permis d'obtenir des effets plus marquant. L'expérience acquise au cours de ce travail devrait permettre d'améliorer de futurs essais sur ce même sujet.

## PERSPECTIVES

Compte tenu de nos résultats qui posent beaucoup de questions, plusieurs perspectives peuvent être proposées.

Afin de mieux évaluer les risques environnementaux, on peut par exemple,

- Valider la valeur de l'indice de pollution par des analyses des polluants à différentes distances des sources de pollution, et relier ces indices à la qualité du lait sur la base d'un échantillonnage se limitant à des zones d'élevage très contaminées en comparaison à des zones non contaminées.
- Réaliser des enquêtes de terrain pour déterminer les pratiques des agriculteurs et l'utilisation des pesticides.

Concernant la meilleure compréhension des mécanismes d'intoxication-détoxification, on peut envisager de :

- se focaliser sur le métabolisme des polluants chez le chameau de Bactriane en situation de contamination pilotée
- réaliser un nouveau test *in vivo* avec une quantité plus élevée de Pb, et analyser les autres organes comme les muscles, le cerveau, les poils, les os.
- étudier la distribution des métaux lourds (bactéries, sérum, lipides, protéines) lors de la transformation du lait en *shubat*
- une étude pourrait être réalisée *in vitro* sous conditions simulées du tube digestif avec des bactéries lactiques.

Au final, si ce travail de thèse n'a pas toujours répondu précisément aux questions qui s'étaient posées au début de la mise en place des enquêtes et expérimentations, il ouvre de nombreuses perspectives en cours de concrétisation par la mise en place de nouveaux travaux de thèse.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

**Abdallah M.A.M. 2008.** Trace element levels in some commercially valuable fish species from coastal waters of Mediterranean Sea, Egypt. *Journal of Marine Systems*, 73, p. 114–122.

**Abdel-Rahim A.G. 1987.** The chemical composition and nutritional value of camel (*Camelus dromedarius*) and goat (*Capra hircus*) milk. *World Review of Animal Production*. 23(1): p. 9-12.

**Adegoke J.A., Owoyokun T.O., Amore I.O. 2009.** Open Land Dumping: An Analysis of Heavy Metals Concentration of an Old Lead-Battery Dumpsite. *The Pacific Journal of Science and Technology*, 10 (2).

**AFNOR. 1997.** NF E 1528-2 Aliments gras-Dosage des pesticides et des polychlorobiphényles (PCB)-Partie 2 : extraction de la matière grasse, des pesticides et des PCB, et détermination de la teneur en matière grasse, France.

**AFSSA. 2006.** Fiche 4 et 13 : Evaluation des risques sanitaires liés au dépassement de la limite de qualité du cuivre et du plomb dans les eaux destinées à la consommation humaine, saisine n°2004-SA-0064.

**Agence de statistiques de la République du Kazakhstan. 2009,** (21-04-2009) <URL : <http://www.stat.kz/Pages/default.aspx>>

**Agence de Control Sanitaire, Russie. 1987.**

**Ahmad K., Khan Z.I., Bayat A.R., Ashraf M., Rizwan Y. 2011.** Cadmium and chromium concentrations in six forage species irrigated with canal, sewage or mixed canal and sewage water. *Pak. J. Bot.*, 43(5): p. 2411-2414.

**Ahmed A.I. 2011.** Some minerals contents of Fermented Camel (*Camelus dromedarius*) Milk (Gariss) from Khartoum state, Sudan. *Research Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 7(1): p. 47-51.

**Akhmetsadykova S. 2008.** *Interactions entre les bactéries lactiques et les métaux lourds.* Mémoire de Master 2: Nutrition, agro-valorisation en santé publique : SupAgro, Montpellier : p. 45.

**Akhmetsadykova Sh.N., Loiseau G., Faye B., Konuspayeva G.S., Baubekova A.C. 2009.** Razrabotka metoda opredeleniya sposobnosti molochnokislyh bakterii svyazyvat iony svinsa I kadmiya po kachestvennoi reakcii. *Izdenister, natizheler*, 3, p. 27-31.

**Akhmetsadykova Sh.N., Baubekova A.S., Raiymbek G., Faye B., Loiseau G., Konuspayeva G.K. 2011.** Opredelenie sposobnosti molochnokislyh bakterii verblyuzhego moloka i shubata fiksirovat iony svinsa I kadmiya. *Vestnik KazNU, série biologique*, 4 (50), p. 121-124.

**Al-Hashem F. 2009.** Camel's Milk Protects against Aluminum Chloride-Induced Toxicity in the Liver and Kidney of White Albino Rats. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 5 (3): p. 98-109.

**Al-Awadi F.M. et Srikumar T.S. 2001.** Trace elements and their distribution in protein fractions of camel milk in comparison to other commonly consumed milks. *Journal of Dairy Research*, 68, p. 463-469.

**Al-Awadi F.M. 2008.** Copper, Zinc, Cadmium, and Lead in sheep grazing in North Jordan. In: Faye B., Sinyavskiy Y. (ed), *International Conference on Impact of Pollution on animal Product*, Almaty (Kazakhstan). NATO Science Series, Dordrecht (Netherlands), Springer Science + Business Media B.V.: p.91-96.

**Ampe F., Omar N.B., Moizan C., Wachter C., Guyot J.P. 1999.** Polyphasic study of the spatial distribution of microorganisms in Mexican Pozol, a fermented maize dough, demonstrates the need for cultivation-independent methods to investigate traditional fermentations. *Applied Environmental Microbiology*, 65: p. 5464-5473.

**Anan Y., Kunito T., Tanabe S., Mitrofanov I., Aubrey D.G. 2005.** Trace element accumulation in fishes collected from coastal waters of the Caspian Sea. *Marine Pollution Bulletin*, 51, p. 882–888.

**Anonyme 1.**

([http://www.knews.kz/en/news/analytics/the\\_most\\_consumed\\_food\\_in\\_the\\_republic\\_of\\_kazakhstan\\_is\\_milk\\_and\\_dairy\\_products.html?sphrase\\_id=841](http://www.knews.kz/en/news/analytics/the_most_consumed_food_in_the_republic_of_kazakhstan_is_milk_and_dairy_products.html?sphrase_id=841)) (25.10.2011).

**Anonyme 2.** ([http://kazakh-](http://kazakh-zerno.kz/index.php?option=com_content&view=article&id=42818&fromfeed=1)

[zerno.kz/index.php?option=com\\_content&view=article&id=42818&fromfeed=1](http://kazakh-zerno.kz/index.php?option=com_content&view=article&id=42818&fromfeed=1)) (30.10.2011).

**Anonyme 3.** ([http://www.kazakh-](http://www.kazakh-zerno.kz/index.php?option=com_content&view=article&id=33755:-----8----&catid=49:popular)

[zerno.kz/index.php?option=com\\_content&view=article&id=33755:-----8----&catid=49:popular](http://www.kazakh-zerno.kz/index.php?option=com_content&view=article&id=33755:-----8----&catid=49:popular)) (25.10.2011).

**Anonyme 4.**

([http://agrozharsky.kz/sharua/index.php?option=com\\_content&view=article&id=1481:2011-08-25-12-13-48&catid=39:2011-08-18-06-15-26&Itemid=40](http://agrozharsky.kz/sharua/index.php?option=com_content&view=article&id=1481:2011-08-25-12-13-48&catid=39:2011-08-18-06-15-26&Itemid=40)) (25.10.2011).

**Anonyme 5.** (<http://www.camelmilkusa.com/>) (29.10.2011).

**Anonyme 6.** (<http://www.universalis.fr/encyclopedie/ressources-naturelles/>) (03.11.2011).

**Anonyme 7.** (<http://www.asie-centrale.com/Les-ressources-naturelles-du.html>) (15.11.2011).

**Anonyme 8.** (<http://simpletreasuresinc.com/trans/fr/respublika-kazaxstan>) (15.11.2011).

**Anonyme 9.** (<http://www.universalis.fr/encyclopedie/ressources-naturelles/>) (03.11.2011).

**Anonyme 10.**

(<http://www.invest.gov.kz/?option=content&section=4&itemid=71&lang=fr>)  
(17.11.2011).

**Anonyme 11.**

(<http://perspective.usherbrooke.ca/bilan/servlet/BMAnalyse?codeAnalyse=1086>)  
(25.11.2011).

**Anonyme 12.** République de Kazakhstan. *Revue l'islam aujourd'hui* N° 26, 2009

(<http://www.isesco.org.ma/francais/publications/islamtoday/26/p8.php#>)  
(25.11.2011).

**Anonyme 13.** (<http://simpletreasuresinc.com/trans/fr/respublika-kazaxstan>)

(25.11.2011).

---

**Anonyme 14.** (<http://europe-asie.org/cms/index.php/asie-centrale/kazakhstan/112-le-kazakhstan-geant-economique-aux-pieds-dargile>) (20.11.2011).

**Anonyme 15.** (<http://www.senat.fr/rap/l00-261/l00-2610.html>) (05.12.2011)

**Anonyme 16.** (<http://fr.wikipedia.org/wiki/Pesticide>) (04.12. 2011).

**Anonyme 17.** (<http://www.mdrgf.org/25pesticides.html>) (04.12. 2011).

**Anonyme 18.** (<http://mama-san.ru/organic/1/simple/>) (05.12.2011).

**Anonyme 19.** (<http://www.danger-sante.org/effets-des-pesticides/>) (05.11.2011).

**Anonyme 20.** ([http://www.endure-network.eu/about\\_endure/all\\_the\\_news/long\\_term\\_prospects\\_to\\_cut\\_pesticide\\_use\\_in\\_maize](http://www.endure-network.eu/about_endure/all_the_news/long_term_prospects_to_cut_pesticide_use_in_maize)) (05.12.2011).

**Anonyme 21.** ([http://www.sante-environnement-travail.fr/minisite.php3?id\\_rubrique=869&id\\_article=2668](http://www.sante-environnement-travail.fr/minisite.php3?id_rubrique=869&id_article=2668)) (09.12.2011).

**Anonyme 22.** DILA, la documentation française « Environnement et pollutions en Russie et en Asie Centrale : « héritage soviétique ».

(<http://www.ladocumentationfrancaise.fr/dossiers/heritage-sovietique/index.shtml>)  
(02.10.2011).

**Anonyme 23.** ([URL://http.ru.ontustik.gov.kz/gw/business-in-list](http://ru.ontustik.gov.kz/gw/business-in-list)) (27.11.2011).

**Anonyme 24.** (<http://coolreferat.com/>) (27.12.2011).

**Arauz I.L.C., Afton S., Wrobel K., Caruso J. A., Corona J. F.G., Wrobel K. 2008.** Study on the protective role of selenium against cadmium toxicity in lactic acid bacteria: An advanced application of ICP-MS. *Journal of Hazardous Materials*. 153 (3): p.1157-1164.

**Arbouche F., Arbouche Y., Arbouche R., Arbouche H.S. 2009.** Effets du stade phénologique des prairies permanentes forestières du Nord Est Algérien sur leur

**Artemiev O.I., Strilchuk Y. G., Zhumadilov K.Sh., Larin V.N. 2000.** Sovremennaya radiacionnaya obstanovka na Semipalatinskoy yadernom poligone. Vestnik Radioekologiya. Okhrana okruzhayushei sredy, 3, p. 35-44.

**Assubaie F.N. 2011.** Assessment of the levels of some heavy metals in water in Alahsa Oasis farms, Saudi Arabia, with analysis by atomic absorption spectrophotometry. *Arabian Journal of Chemistry*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2011.08.018>,

**Ataniyazova O.A., Baumann R.A., Liem A.K.D., Mukhopadhyay U.A., Vogelaar E.F., Boersma E.R. 2001.** Levels of certain metals, organochlorine pesticides and dioxins in cord blood, maternal blood, human milk and some commonly used nutrients in the surroundings of the Aral Sea (Karakalpakstan, Republic of Uzbekistan). *Acta Paediatr.*, 90, p. 801–808.

**Atarhouch T., Bendahman N., Hamers-Casterman C., Hamers R., Muyltermans S. 1997.** cDNA sequence coding for the constant region of the dromedary gamma3 heavy Chain antibody. *J Camel Pract. Res.* 4 : p. 177-182.

**Ataro A., McCrindle R.I., Botna B.M., McCrindle C.M.E., Ndibewu P.P. 2008.** Quantification of trace elements in raw cow's milk by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). *Food Chemistry*, 111(1), p. 243-248.

**Atta M.B., El-Sebaie L.A., Noaman M.A., Kassab H.E. 1997.** The effect of cooking on the content of heavy metals in fish (*Tilapia nilotica*). *Food Chem.* 58: p. 1-4.

**Aydin A. et Yurdin T. 1999.** Residues of organochlorine pesticides in water sources of Istanbul. *Water, air and soil pollution*, 111: p. 385-398.

**Babalola O.O., Ojo L.O., Aderemi M.O. 2005.** Lead levels in some biological samples of automechanics in Abeokuta, Nigeria. *Indian J. Biochem. Biophys.*, 42: p. 401-403.

**Babalola O.O., Okonji R.E., Atoyebi J.O., Sennuga T.F. 2010.** Distribution of lead in selected organs and tissues of albino rats exposed to acute lead toxicity. *Scientific Research and Essay*, 5(9), p. 845-848.

**Bae W., Chen W., Mulchandani A., Mehra R.K. 2000.** Enhanced bioaccumulation of heavy metals by bacterial cells displaying synthetic phytochelators. *Biotechnol Bioeng*, 70: p. 518–24.

**Bai Y., Zhou L., Li J. 2006.** Organochlorine pesticide (HCH and DDT) residues in dietary products from Shaanxi Province, People's Republic of China. *Bulletin of environmental contamination and toxicology* 76: p. 422-428.

**Bai R.S. et Abraham T.E. 2002.** Studies on enhancement of Cr(VI) biosorption by chemically modified biomass of *Rhizopus nigricans*. *Water Res.*, 36: p. 1224–36.

**Bailey R.E. 2001.** Global hexachlorobenzene emissions. *Chemosphere*, 43: p. 167-182.

- Baize, D. 2002.** Les éléments traces métalliques dans les sols. INRA éditions.
- Banerjee B.D., Zaidi S.S.A., Pasha S.T., Rawak D.S., Koner B.C., Hussain Q.Z. 1997.** Levels of HCH residues in human milk samples from Delphi, India. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 59: p. 403-406.
- Barber J.L. 2005.** Hexachlorobenzene in the global environment: Emissions, levels, distribution, trends and processes: a review. *Science of the total environment*, 349: p. 1-44.
- Barbera R., Farre R., Mesado D. 1993.** Oral intake of Cd, Co, Cu, Fe, Pb, Ni, Mn and Zn in the University student's diet. *Nahrung*. 3: p. 241-245.
- Battu R.S., Singh B., Kang B.K., Joia B.S. 2005.** Risk assessment through dietary intake of total diet contaminated with pesticide residues in Punjab, India, 1999-2002. *Ecotoxicology and environmental safety*, 62(1): p. 132-139.
- Behrooz R.D., Sari A.E., Bahramifar N., Ghasempouri S.M. 2009.** Organochlorine pesticide and polychlorinated biphenyl residues in human milk from the Southern Coast of Caspian Sea, Iran. *Chemosphere*, 74, p. 931–937.
- Benkerroum N., Mekkaoui M., Bannani N., Hidane K. 2004.** Antimicrobial activity of camel's milk against pathogenic strains of *Echerichia coli* and *Listeria monocytogenes*. *International Journal of Dairy Technology*. 57(1): p.39-43.
- Berrada N., Lemeland J.F., Laroche G., Thouvenot P., Piaia M. 1991.** Bifidobacterium from fermented milks: survival during gastric transit. *J Dairy Sci.*, 74 (2): p. 409-413.
- Beveridge T.J. et Murray R.G.E. 1980.** Site of metal deposition in the cell wall of *Bacillus subtilis*. *J Bacteriol.*, 141, p. 876-887.
- Bhatia I. et Choudri G.N. 1996.** Lead poisoning of milk – The basic need for the foundation of human civilization. *Indian J. Public health*. 40 (1): p. 24-26.
- Bisson M. 2011.** Cadmium et ses derives, Edit. I N E R I S
- Boltina I.V. et Zaets E.R. 2006.** Kompleksnoe obsledovanie beremennyh s fibromiomami. *Sovremennye problemy toksikologii*, 1, p. 70-73.
- Bolshakov V.A. et Galper I.Y. 1998.** Zagryaznenie pochv i rastenii TM. Moskva, p. 52.
- Borrok D., Fein J. B., Kulpa C. H. 2004.** Proton and Cd adsorption onto natural bacterial consortia: testing universal adsorption behavior. *Geochim Cosmochim Acta*, 68, p. 3231-3238.
- Bosch K., Erdinger L., Ingel F., Khussainova S., Utegenova E., Bresgen N., Eck P.M. 2007.** Evaluation of the toxicological properties of ground- and surface-water samples from the Aral Sea Basin. *Science of the Total Environment* 374, p. 43–50.

- Braune B.M. et Malone B.J. 2006.** Organochlorines and trace elements in upland game birds harvested in Canada. *Science of the Total Environment*, 363, p. 60– 69.
- BREDL. 2007,** Asphalt plant production, (21-04-2009) <URL : [www.bredl.org/pdf/Young&McQueen071004.pdf](http://www.bredl.org/pdf/Young&McQueen071004.pdf)>
- Brekken A. et Steinnes E. 2004.** Seasonal concentrations of cadmium and zinc in native pastureplants: consequences for grazing animals. *Science of the Total Environment* 326, p. 181–195.
- Brummell P. 2008.** Kazakhstan, ed. Bradt Travel Guides, p. 408.
- Caggiano R., Sabia S., D’Emilio M., Macchiato M., Anastasio A., Ragosta M., Paino S. 2005.** Metal levels in fodder, milk, dairy products, and tissues sampled in ovine farms of southern Italy. *Environmental Research*. 99: p. 48-57.
- Cai Q., Long M.-L., Zhu M., Zhou Q.-Z., Zhang L., Liu J. 2009.** Food chain transfer of cadmium and lead to cattle in a lead–zinc smelter in Guizhou, China. *Environmental Pollution*, 157, p. 3078–3082.
- Campilo N., Vinas P., Lopez-Garcia L., Hernandez-Cordoba M. 1998.** Direct determination of copper and zinc in cow milk, human milk and infant formula samples using electrothermal atomization atomic absorption spectrometry. *Talanta*. 46: p. 615-622.
- Cecchi M. 2008.** Devenir du plomb dans le système sol-plante. Cas d’un sol contaminé par une usine de recyclage du plomb et de deux plantes potagères (Fève et Tomate). Thèse de doctorat de l’INP Toulouse : p. 226.
- Centre international de recherche sur le cancer. 1982.** IARC Monogr. Eval. Carcinog. Risk Chem. Man, Suppl. 4: p. 91.
- Chang, J., Law R., Chang, C.1997.** Biosorption of lead, copper and cadmium by biomass of *Pseudomonas aeruginosa* PU21. *Water Res.*, 31, p. 1651-1658.
- Chaney R.L., Reeves P.G., Ryan J.A., Simmons R.W., Welch R.M., Angle J.S. 2004.** An improved understanding of soil Cd risk to humans and low cost methods to phytoextract Cd from contaminated soils to prevent soil Cd risks. *BioMetals*, 17: p. 549–53.
- Chaudhary Z.I. et Azeem Sh. 2004.** Is camel milk good for human health? <http://archives.dawn.com/weekly/science/archive/041009/science7.htm2004>
- Chen J., Lui C., Yang Z., Wang J. 2008.** Residues and Characteristics of Organochlorine Pesticides in the Surface Water in the Suburb of Beijing. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1872579109600051> - item1 *Earth Science Frontiers*, 15 (5), p. 242–247.
- Chevreuil M., Garmouma M., Teil M.J., Chesterikoff A. 1996.** Occurrence of organochlorine (PCBs, pesticides) and herbicides (triazines, phenylureas) in the atmosphere and in the fallout from the urban and rural stations of the Paris area. *Science of total environment* , 182: p. 25-37.

**Cherepin Y.S. 2000.** Radiasionnoe zagryaznenie territorii Semipalatinskogo ispytatelnogo poligona. Tyazhelye metally i radionuklidy v okruzhayushei srede: Materiels de la conference intern. Semei. SGU de Shakarim, p. 135-144.

**Chhabra A. et Singh P. 2005.** Antinutritional factors and contaminants in animal feeds and their detoxification: A review. *Indian Journal of Animal Sciences*. 75(1): p. 101-112.

**Cho D.H. et Kim E.Y. 2003.** Characterization of Pb<sup>2+</sup> biosorption from aqueous solution by *Rhodotorula glutinis*. *Bioprocess Biosyst Eng.*, 25, p. 271-277.

**Chojnacka K., Chojnacki A., Górecka H. 2005.** Biosorption of Cr<sup>3+</sup>, Cd<sup>2+</sup> and Cu<sup>2+</sup> ions by blue-green algae *Spirulina* sp.: kinetics, equilibrium and the mechanism of the process. *Chemosphere*, 59, p. 75-84.

**Chukeatirote E. 2003.** Protential use of probiotics. *Journal Sci. Technol.*, 25(2): p. 275-282.

**Chun-yan C., Yi L., Deng-jun M. 2011.** Distribution of lead in blood and organs of mice exposed to lead-contaminated drinking water. Computer Distributed Control and Intelligent Environmental Monitoring (CDCIEM), International Conference, p. 52-55.

**Chuvakova Z.K., Beisembayeva R.U., Puzyrevskaya O.M., Saubenova M.G.. 2000.** Chemical composition, microbial control and antiviral properties of freshly made and conserved shubat "Bota". Proceeding 2nd Int. Camelid Conf. "Agroeconomics of camelid farming", 8 – 12 September, Almaty, Kazakhstan, p.97

**Codex Alimentarius Commission. 2007.** Joint FAO/WHO food standards programme. Codex committee on methods of analysis and sampling, twenty-eighth session, Budapest, Hungary, 5–9 March 2007.

**Collado M.C., Moreno Y., Cobo J.M., Mateos J.A., Hernández M. 2006.** Molecular detection of *Bifidobacterium animalis* DN-173010 in human feces during fermented milk administration. *Food Research International*, 39 (5), p. 530-535.

**Commission of the European Communities. 1986.** Council Directive on the protection of the environment, and in particular of the soil, when sewage sludge is used in agriculture. Official Journal of the European Communities 1986; L 181: p. 6–12.

**Cones H.M., Faz Á., Arnaldos R. 2006.** Heavy metal accumulation and tolerance in plants from mine tailings of the semiarid Cartagena–La Unión mining district (SE Spain) *Science of The Total Environment*, 366 (1), p. 1–11.

**Coni E., Bocca A., Coppolelli P., Caroli S., Cavallucci C., Trabalza M. 1996.** Minor and trace element content in sheep and goat milk and dairy products. *Food Chemistry*, 57 (2) p. 253-260.

**Corcoran B. M., Stanton C., Fitzgerald G. F., Ross R. P. 2007.** Growth of probiotic lactobacilli in the presence of oleic acid enhances subsequent survival in gastric juice. *Microbiology*, 153, p. 1 291-299.

- Cotton F.A. et Wilkinson G. 1972.** Zinc, cadmium and mercury. Advanced inorganic chemistry. 3<sup>e</sup> édition. Interscience Publishers. p. 503.
- Dalcourt M.-F., Béland P., Pelletier, E. et Vigneault Y. 1992.** Caractérisation des communautés benthiques et étude des contaminants dans des sires fréquentés par le béluga du Saint-Laurent. *Can. Tech. Rep. Fish. Aquat. Sci.*, 1845, p. 86.
- Dallak M. 2009.** Camel's Milk Protects Against Cadmium Chloride-Induced Hypochromic Microcytic Anemia and Oxidative Stress in Red Blood Cells of White Albino Rats. *American Journal of Pharmacology and Toxicology*. 4 (4): p. 134-141.
- Daughney C. J., Fowle D.A., Fortin D.E. 2001.** The effect of growth phase on proton and metal adsorption by *Bacillus subtilis*. *Geochim Cosmochim Acta*, 65, p. 1025-1035.
- Davis T.A., Volesky B., Mucci A., 2003.** A review of the biochemistry of heavy metal biosorption by brown algae. *Water Research*. 37: p. 4311–4330.
- Delcour J., Ferain T., Deghorain M., Palumbo E., Hols P. 1999.** The biosynthesis and functionality of the cell-wall of lactic acid bacteria. *A van Leeuwenhoek*, 79, p. 159-184.
- Dellaglio F., de Roissart H., Torriani S., Curk M.C., Janssens D. 1994.** Caractéristiques générales des bactéries lactiques, in: Bactéries Lactiques. Aspects fondamentaux et technologiques. H. de Roissart & F.M. Luquet. Loriga, France. Vol. 1: p. 25-116.
- Deng L., Su Y., Su H., Wang X., Zhu X. 2007.** Sorption and desorption of lead (II) from wastewater by green algae *Cladophora fascicularis*. *J Hazard Mater*, 143, p. 220-225.
- De Pieri L.A., Buckley W.T., Kowalenko C.G. 2006.** Cadmium and lead concentrations of commercially grown vegetables and of soils in the Lower Fraser Valley of British Columbia. *Can. J. of soil science*, p. 51-57.
- Dey S. et Swarup D., 1996.** Lead concentration in bovine milk in India. *Arch. Environ. Health*, 51(6): p. 478-479.
- Dey S., Dwivedi S. K., Swarup D. 1996.** Lead concentration in blood, milk and feed of lactating buffalo after acute lead poisoning. *Veterinary Record*, 138, p. 336.
- Diacono E. 2007.** *Métaux lourds et radionucléides dans le lait de chamelle frais et fermenté au Kazakhstan*. Rapport de stage de Master 2 : Productions animales en régions chaudes : Montpellier II : p. 53.
- Diacono E., Faye B., Meldebekova A., Konuspaeva G. 2008.** Plant, Water and Milk pollution in Kazakhstan. In: Faye B., Sinyavskiy Y. (ed), *International Conference on Impact of Pollution on animal Product., Almaty (Kazakhstan)*. NATO Science Series, Dordrecht (Netherlands), ed Springer Science + Business Media B.V.: p. 107-116.
- Dickson E.L. et Stevens R.J. 1983.** Extractable copper, lead, zinc and cadmium in Northern Ireland Soils. *J Sci Food Agric.*, 34: p. 1197–1205.

**Direction générale de l'alimentation.1996.** Bilan des plans de surveillance des produits laitiers, Ministère de l'agriculture et de la pêche.

**Djangabilov A.K., Bekishev A.C., Mamirova T.N., 2000.** Medicinal properties of camel milk and shubat. Proceeding 2nd Int. Camelid Conf. "Agroeconomics of camelid farming", 8 – 12 september, Almaty, Kazakhstan, p.100

**Djouzi Z., Andrieux C., Degivry M.C., Bouley C., Szylit O. 1997.** The association of yogurt starters with *Lactobacillus casei* DN 114.001 in fermented milk alters the composition and metabolism of intestinal microflora in germ-free rats and in human flora-associated rats. *J Nutr.*, 127(11): p. 2260-6.

**Donald J.M., Cutler M.G., Moore M.R. 1987.** Effects of lead in the laboratory mouse. Development and social behaviour after lifelong exposure to 12  $\mu$ M lead in drinking fluid. *Neuropharmacology*, 26 (4), p. 391-399.

**Doyle R. J., Matthews T. H., Streips U. N. 1980.** Chemical basis for selectivity of metal ions by the *Bacillus subtilis* cell wall. *J Bacteriol* 143, p. 471-480.

**Dudka S., Piotrowska M., Terelak H. 1996.** Transfer of cadmium, lead, and zinc from industrially contaminated soil to crop plants: A field study. *Environmental Pollution*, 94 (2), p. 181–188.

**Dudka S. et Miller W.P. 1999.** Permissible concentrations of arsenic and lead in soils based on risk assessment. *Water Air Soil Pollut.*, 113, p. 127–132.

**Duez H., Pelletier C., Cools S., Aissi E., Cayuela C.. 2000.** A colony immunoblotting method for quantitative detection of a *Bifidobacterium animalis* probiotic strain in human faeces. *Journal of Applied Microbiology*, 88 (6), p. 1019–1027.

**El Agamy E.I., Ruppanner R., Ismail A., Champagne C.P., Assaf R. 1992,** Antibacterial and antiviral activity of camel milk protective proteins. *Journal of Dairy Research*.59: p.169-175.

**El Agamy E.I., Ruppanner R., Ismail A., Champagne C.P., Assaf R. 1996.** Purification and characterization of lactoferrin, lactoperoxidase, lysozyme and immunoglobulins from camel's milk. *Int. Dairy J.* 6: p. 129-145.

**El-Hatmi H., Levieux A., Levieux D. 2006,** Camel (*Camelus dromedarius*) immunoglobulin G,  $\alpha$ -lactalbumin, serum albumin and lactoferrin in colostrum and milk during the early post partum period. *Journal of Dairy Research*. 73: p.1-6.

**Ellen G., Loon J.W., Tolsma K. 1990.** Heavy metals in vegetables grown in the Netherlands and in domestic and imported fruits. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 190: p. 34-39.

**El-Nezami H., Ahokas J., Kankaanpää P., Salminen S. 1998a.** Ability of dairy strains of lactic acid bacteria to bind a common food carcinogen, aflatoxin B1. *Food Chem Toxicol*, 36, p. 321-326.

**Ennaceur S., Gandoura N., Driss M.R. 2008.** Distribution of polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides in human breast milk from various locations in Tunisia:

Levels of contamination, influencing factors, and infant risk assessment. *Environmental Research* 108, p. 86– 93.

**Erdinger L., Eckl P., Ingel F., Khussainova S., Utegenova E., Mann V., Gabrio T. 2004.** The Aral Sea disaster--human biomonitoring of Hg, As, HCB, DDE, and PCBs in children living in Aralsk-and Akchi, Kazakhstan. *Int J Hyg Environ Health*, 207(6): p. 541-7.

**Ercolini D. 2004.** PCR-DGGE fingerprinting: novel strategies for detection of microbes in food. *Journal of Microbiological Methods*, 56: 297-314.

**Esekin B., Bogachev V., Karibayeva K., Shabanova A., Azhigalev E. 1998.** State of Environment in Kazakhstan Sostoyanie okryzhayuzhei sredi v Respublike Kazakhstan. Report. National Ecological Center on Sustainable Development of the Republic of Kazakhstan. Ministry of Natural Resources and Protection of the Environment. (<http://www.grida.no/prog/cee/enrin/htmls/kazakhst/soe.start.htm>).

**Esposito A., Pagnanelli F., Veglió F. 2002.** pH-related equilibria models for biosorption in single metal systems. *Chem Eng Sci.*, 57, p. 307-313.

**Even S., Lindley U. D., Loubière P., Cocaign-Bousquet M. 2002.** Dynamic reponse of catabolic pathway of autoacidification in *Lactococcus lactis*: transcript profiling and stability in relation of metabolic and energetic constraints. *Mol. Microbiol.* 45: p. 1143-1152.

**Eyassu S. 2007.** Handling, preservation and utilization of camel milk and camel milk products in Shinile and Jijiga Zones, eastern Ethiopia. *Livestock Research for Rural Development. Volume 19, Article #86.* Retrieved doc October 31, 2011, from <http://www.lrrd.org/lrrd19/6/seif19086.htm>.

**Fabre R., Toth E., Heintz V. 2005.** «Les isomères de l'hexachlorocyclohexane» *Rapport bibliographie*, collaboration UHA-ADEME.

**FAO. 1994.** Prévention et destruction de pesticides périmés.

**FAO. 1998.** Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Série FAO: Alimentation et nutrition -28. FAO, Département économique et social.

**FAO. 2005.** Global Livestock Production and Health Atlas.

**FAO. 2005a.** *Livestock sector brief, Kazakhstan. Livestock information, sector analysis and policy branch Agal.*

**FAO. 2011.** Dairy development in Kazakhstan. Anton van Engelen

**Farah Z. et Rüegg M. 1991.** The creaming properties and size distribution of fat globules in camel milk. *Journal of Dairy Sci.* 74(9): p. 2901-2904.

**Farmer A.A. et Farmer A.M., 2000.** Concentrations of cadmium, lead and zinc in livestock feed and organs around a metal production centre in eastern Kazakhstan. *The Science of the Total Environment*, 257, p. 53-60.

- Faye B. et Bengoumi M. 1994.** Trace-elements status in camels: a review. *Biol. Trace Element Res.*, 41, p. 1-11.
- Faye B. 2008.** Synthesis and recommendations. Proc. of Intern. Workshop, « Impact of pollution on animal products”. Almaty (Kazakhstan), 27-30 Septembre 2007, B. Faye and Y. Sinyavskiy (Eds), p. 199-202.
- Faye B. et Sinyavskiy Y. 2008.** Impact of Pollution on Animal Products. Proceedings of the NATO Advanced Research Workshop, NATO, Springer Publ., Dordrecht (The Netherland), p. 205.
- Faye B. 2009.** Programme de coopération franco-kazakh 2009 sur la qualité du lait dans les filières non conventionnelles, Rapport de mission 26 février-6 mars 2009, p. 37.
- Fein J., Daughney C., Yee N., Davis T. 1997.** A chemical equilibrium model for metal adsorption onto bacterial surfaces. *Geochim Cosmochim Acta*, 61, p. 3319-3328.
- Feng D. et Aldrich C. 2004.** Adsorption of heavy metals by biomaterials derived from the marine alga *Ecklonia maxima*. *Hydrometallurgy*, 73, p. 1-10.
- Ferretti M., Cenni E., Bussotti F., Batistoni P. 1995.** Vehicle-induced lead and cadmium contamination of roadside soil and plants in Italy. *Chem. Ecol.*, 11: p. 213–228.
- Flaten T.P. et Steinnes E. 1999.** Soil and fresh waters. In: Ballantyne B, Marrs TC, Syversen T, editors. General and applied toxicology. London: Macmillan, 1999. p. 1365 –1389.
- Fursov B.I., Baranov E.Yu., Klemyshev M.P. 1985.** *Sov. J.At. Energy*. 59: p. 899.
- Gałuszka A., Migaszewski Z.M., Manecki P. 2011.** Pesticide burial grounds in Poland: A review. *Environment International*, 37, p. 1265–1272.
- Gemici U. et Tarcan G.I. 2007.** PI Assessment of the Pollutants in Farming Soils and Waters Around Untreated Abandoned Tu"rko"nu" Mercury Mine (Turkey). *Bull Environ Contam Toxicol.*, 79: p. 20–24.
- Gerbino E., Mobili P., Tymczyszyn E. E., Frausto-Reyes C., Araujo-Andrade C., Gómez-Zavaglia A. 2012.** Use of Raman spectroscopy and chemometrics for the quantification of metal ions attached to *Lactobacillus kefir*. *Journal of Applied Microbiology*, 112: p. 363–371.
- Ginn B. et Fein J.B. 2009.** Temperature dependence of Cd and Pb binding onto bacterial cells. *Chemical Geology*, 259, p. 99–106.
- Giles J. 2005.** Study links sickness to Russian launch site Baikonur Cosmodrome may cause disease in Siberia. *J. Nature*. 433 (7022): p. 91-95.
- Gintzburger G., Toderich K.N., Mardonov B.K., Mahmudov M.M. 2003.** Rangelands of the arid and semi-arid zones in Uzbekistan, ed. CIRAD-ICARDA, p. 426.

**Gish C.D. et Christensen R.E. 1973.** Cadmium, nickel, lead, and zinc in earthworms from roadside soil. *Environ. Sei. & Technol.*, 7: p. 1060-1062.

**Gladen B.C., Monaghan S.C., Lukyanova E.M., Hulchiy O.P., Shkyryak-Nyzhnyk Z.A., Sericano J.L., Little R.E. 1999.** Organochlorines in Breast Milk from Two Cities in Ukraine. *Environmental Health Perspectives*, 107 (6), p.459-462.

**Göksungur Y., Üren S., Güvenc U. 2005.** Biosorption of cadmium and lead ions by ethanol treated waste baker's yeast biomass. *Biores Tech.*, 96, p. 103-109.

**Golab Z. et Breitenbach M. 1995.** Sites of copper binding in *Streptomyces pilosus*. *Water Air Soil Pollut.*, 82: p. 713–21.

**Grillet N. 2006.** *Caractérisation de la flore microbienne du lait de chamelle cru et fermenté du Kazakhstan par une technique biomoléculaire, innovante.* Mémoire de Master 2 : Biologie Géosciences Agroressources et Environnement, spécialité Biodiversité et Interactions Microbiennes et Parasitaires : Montpellier I et II, France : p. 35.

**Grodzińska K. et Grodziński W. 1983.** Contamination of roe deer forage in a polluted forest of southern Poland. *Environmental Pollution Series A, Ecological and Biological*, 30 (4), p. 257–276.

**Guerra N.P., Bernárdez P.F., Méndez J., Cachaldora P., Castro L.P. 2007.** Production of four potentially probiotic lactic acid bacteria and their evaluation as feed additives for weaned piglets. *Animal Feed Science and Technology*, 134 (1-2), p. 89-107.

**Güler Z. 2007.** Levels of 24 minerals in local goat milk, its strained yoghurt and salted yoghurt (tuzlu yoğurt) // Small Ruminant Research. - 2007. - V. 71. – p. 130-137.

**Guzzella L., Roscioli C., Viganò L., Saha M., Sarkar S.K., Bhattacharya A. 2005.** Evaluation of the concentration of HCH, DDT, HCB and BCP and PAH in the sediments along the lower stretch of Hugli estuary, West Bengal, northeast India. *Environmental International* 31: p. 523-534.

**Gzyl J. 1990.** Lead and cadmium contamination of soil and vegetables in the upper Silesia region of Poland. *Sci Total Environ.*, 96, p. 199–209.

**Hac E. et Krechniak J. 1996.** Lead Levels in Bone and Hair of Rats Treated with Lead Acetate. *Biological Trace Element Research*, 52, p. 293-301.

**Halttunen T., Kankaanpää P., Tahvonen R., Salminen S., Ouweland A.C. 2003.** Cadmium removal by lactic acid bacteria, *Biosci. Microflora*, 22, p. 93–97.

**Halttunen T. 2007.** *Removal of cadmium, lead and arsenic from water by lactic acid bacteria.* These: University of Turku: p. 97.

**Halttunen T., Finell M., Salminen S. 2007.** Arsenic removal by native and chemically modified lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 120(1-2): p. 173-178.

**Halttunen T., Salminen S., Tahvonen R. 2007.** Rapid removal of lead and cadmium from water by specific lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 114, p. 30–35.

**Halttunen T., Salminen S., Meriluoto J., Tahvonen R., Lertola K. 2008.** Reversible surface binding of cadmium and lead by lactic acid and bifidobacteria. *International Journal of Food Microbiology*. 125: p.170–175.

**Harding G.C., LeBlanc R.J., Vass W.P., Addison R.F., Hargrave B.T., Pearre S.Jr., Dupuis A., Brodie P.F. 1997.** Bioaccumulation of polychlorinated biphenyls ( PCBs) in the marine pelagic food web, based on a seasonal study in the southern Gulf of St. Lawrence, 1976-1977. *Marine Chemistry*, 56, p. 145-179.

**Hargreaves A.L., Whiteside D. P., Gilchrist G. 2011.** Concentrations of 17 elements, including mercury, in the tissues, food and abiotic environment of Arctic shorebirds. *Science of the Total Environment*, 409, p. 3757–3770.

**Hassanane M.S., Abdel Aziz K.B., Abd Alla E.A.M., Zaher M., Yehia I., Ali H.M. 2007.** Protective role of two *Lactobacillus bacteria* species against the genotoxicity induced by the mycotoxin deoxynivalenol. *Inter. J. of probiotics and prebiotics*, 2 (2-3), p. 111-122.

**Van der Werf H.M.G. 1996.** Agriculture, Assessing the impact of pesticides on the environment. *Ecosystems and Environment*, 60, p. 81-96.

**He Z.L., Yang X.E., Stoffella P.J. 2005.** Trace elements in agroecosystems and impacts on the environment. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 19, p.125–140.

**Hilts S.R. 2003.** Effect of smelter emission reductions on children's blood lead levels. *Science of The Total Environment*, 303 (1-2), p. 51-58.

**Ho K.C., Chow Y.L., Yau J.T. 2003.** Chemical and microbiological qualities of The East River (Dongjiang) water, with particular reference to drinking water supply in Hong Kong. *Chemosphere*, 52, p. 1441-1450.

**Hao Z., Reiske H. R. et Wilson D. B. 1999.** Characterizaion of cadmium uptake in *Lactobacillus plantarum* and isolation of cadmium and manganese uptake mutants. *Appl Environ Microbiol.*, 65, p. 4741-4745.

**Holmgren G.G.S., Meyer M.W., Chaney R.L., Daniels R.B. 1993.** Cadmium, lead, zinc, copper and nickel in agricultural soils of the United States of America. *J Environ Qual*, 22: p. 335– 48.

**Hooper K., Petreas M.X., She J., Visita P., Winkler J. 1997.** Analysis of Breast Milk to Assess Exposure to Chlorinated Contaminants in Kazakstan: PCBs and

Organochlorine Pesticides in Southern Kazakstan. *Environmental Health Perspectives*, 105, p. 1250-1254.

**Hooper K., Petreas M.X., Chuvakova T., Kazbekova G. 1998.** Analysis of breast milk to assess exposure to chlorinated contaminants in Kazakhstan: high levels of 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) in agricultural villages of Southern Kazakhstan. *Environ. Health Perspect.*, 106, p. 797–806.

**Hovmand M.F., Tjell J.C., Mosbaek H. 1983.** Plant uptake of airborne cadmium. *Environmental Pollution Series A, Ecological and Biological*, 30 (1), p. 27–38.

**Huang C., Huang C. P., Morehart A. L. 1991.** Proton competition in Cu(II) adsorption by fungal mycelia. *Water Res.*, 25, p. 1365-1375.

**Hura C., Leanca M., Rusu L., Hura B.A. 1999.** Risk assessment of pollution with pesticides in food in the Eastern Romania areas (1996-1997). *Toxicology letters*, 107: p. 103-107.

**IARC, 1994.** Beryllium, cadmium, mercury, and exposures in the glass manufacturing industry. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans 58, p. 1–444.

**IARC, 2006.** Inorganic and organic lead compounds. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans 87, p. 519.

**Ibrahim F., Halttunen T., Tahvonen R., Salminen S. 2006.** Probiotic bacteria as potential detoxification tools: assessing their heavy metal binding isotherms. *Can. J. Microbiol.* 52(9): p. 877–885.

**Ikeda M., Zhang Z.W., Moon C.S., 1996.** Background exposure of general exposure to Cd and Pb in Tainan City. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 30: p.121-126.

**Iliin V.B. 1983.** Tyazhelye metally v sisteme «pochva-rastenie». Novosibirsk. *Nauka*, p. 5-22.

**International Agency for Research (1993)** on Cancer and IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans.

**Iskakova N.A. et Medeu A.R. 1985.** Republic of Kazakhstan. Volume1: Natural settings and natural resources. Almaty, p. 506.

**Iskakova N.A. et Medeu A.R. 2006.** Republic of Kazakhstan. Volume1: Natural settings and natural resources. Almaty, p. 506.

**Iyengar V. et Nair P. 2000.** Global outlook on nutrition and the environment: meeting the challenges of the next millennium. *Sci Total Environ.*, 249: p. 31– 46.

**Jaga K. et Dharmani C. 2003.** Global surveillance of DDT and DDE levels in human tissues. *Int. J. Occup. Med. Environ. Health*, 16, p. 7–20.

**Jantunen L.M.M. et Bidleman T.F. 1998.** Organochlorine pesticides and enantiomers of chiral pesticides in Arctic Ocean water. *Archives of environmental contamination toxicology* 35: p. 218-228.

**Järup L. et Åkesson A. 2009.** Current status of cadmium as an environmental health problem, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 238: p. 201–208.

**Jensen S., Mazhitova Z., Zetterstrom R. 1997.** Environmental pollution and child health in the Aral Sea region in Kazakhstan. *The Science of the Total Environment*, 206, p. 187-193.

**Jensen A.A. et Slorach S.A. 1991.** Chemical Contaminants in Human Milk. Boca Raton, FL: CRC Press.

**John P.J., Bakore N., Bhatnagar P. 2001.** Assessment of organochlorine pesticide residue levels in dairy milk and buffalo milk from Jaipur City, Rajasthan, India. *Environment International*, 26 (4), p. 231–236.

**Jurjanz S. 2008.** Dairy livestock exposure to persistent organic pollutants and their transfer to milk: a review, in impact of pollution on animal products, ed. Springer NATO, p. 63-84.

**Kabata-Pendias A. et Dudka S. 1991.** Baseline data for cadmium and lead in soils and some cereals of Poland. *Water, Air, Soil Pollut.*, 57– 58, p. 723– 31.

**Kacem M., Zadi-Karam H., Karam N.-E. 2002.** Bactéries lactiques isolées de lait de vaches, de brebis et de chèvres de l'Ouest Algérien. *Renc. Rech. Ruminants*, 9, p. 375.

**Kadyrzhanov K., Lukashenko S., Soloduhin V., Marabaev Zh. 2002.** Radioaktivnoe zagryaznenie: sobytiya i posledstviya. *Ekologiya i ustoichivoe razvitie*, 12, p. 36-38.

**Kajiwara N., Ueno D., Monirith I., Tanabe S., Pourkazemi M., Aubrey D.G. 2003.** Contamination by organochlorine compounds in sturgeons from Caspian Sea during 2001 and 2002. *Marine Pollution Bulletin*, 46, p. 741–747.

**Kajiwara N., Niimi S., Watanabe M., Ito Y., Takahashi S., Tanabe S., Khuraskin L.S., Miyazaki N. 2002.** Organochlorine and organotin compounds in Caspian seals (*Phoca caspica*) collected during an unusual mortality event in the Caspian Sea in 2000. *Environmental Pollution*, 117, p. 391–402.

**Kampire E., Kiremire B.T., Nyanzi S.A., Kishimba M. 2011.** Organochlorine pesticide in fresh and pasteurized cow's milk from Kampala markets. *Chemosphere*, 84 (7), p. 923–927.

**Kan C.A. et Meijer G.A.L. 2007.** The risk of contamination of food with toxic substances present in animal feed. *Anim Feed Sci Technol.*, 133: p. 84–88.

**Kang S.-Y., Lee J.-U., Kim K.-W. 2007.** Biosorption of Cr(III) and Cr(VI) onto the cell surface of *Pseudomonas aeruginosa*. *Biochem Eng J.*, 36: p. 54–58.

- Kapoor A. et Viraraghavan T. 1997.** Heavy metal biosorption sites in *Aspergillus niger*. *Biores Technol.*, 61: p. 221–7.
- Kasassi A., Rakimbei P., Karagiannidis A., Zabaniotou A., Tsiouvaras K., Nastis A., Tzafeiropoulou K. 2008.** Soil contamination by heavy metals: Measurements from a closed unlined landfill. *Bioresource Technology*, 99 (18), p. 8578–8584.
- Kazakhstan Agribusiness Report Q1, 2011.** Business Monitor International, p. 41. <http://www.prlog.org/11129655-kazakhstan-agribusiness-report-q1-2011-new-research-report-available-at-fast-market-research.html>
- Keichinger O. 2006.** Construction des indicateurs de la méthode INDIGO pour les cultures légumières de pleins champs, Document INRA Colmar, p. 52.
- Kelce W.R., Stone C.R., Laws S.C., Gray L.E., Kempainen, J.A., Wilson E.M. 1995.** Persistent DDT metabolite p,p'- DDE is a potent androgen receptor antagonist. *Nature*, 375: p. 581-585.
- Kello D. et Kostial K. 1978.** Lead and Cadmium in Hair as an Indicator of Body Burden in Rats of Different Age. *Bull. Environm. Contam. Toxicol.*, 20, p. 618-623.
- Kenesariyev U., Bekmagambetova Z., Zhakashov N., Sultanaliyev Y., Amrin M. 2008.** Assessing the Hazards of Radiological and Environmental Factors for the Public Health in the Western Kazakhstan. In: B. Faye and Y. Sinyavskiy, Eds., *Impact of Pollution on Animal Products*, Springer Sciences, Dordrecht, The Netherland, p. 47-52.
- Khan S., Khan M.A., Rehman S. 2011.** Lead and Cadmium Contamination of Different Roadside Soils and Plants in Peshawar City, Pakistan. *Pedosphere*, 21 (3), p. 351–357.
- Khedid K., Faid M., Mokhtari A., Soulaymani A., Zinedine A. 2009.** Characterization of lactic acid bacteria isolated from the one humped camel milk produced in Morocco. *Microbiological Research*, 164 (1), p. 81-91.
- Kim W. S. et Dunn N. W. 1999.** Differentiation of *Lactococcus lactis* subsp *lactis* and subsp *cremoris* strains by their adaptative reponse to stress. *FEMS Microbiology Letter*, 171: p. 57-65.
- Kirkham M.B. 2006.** Cadmium in plants on polluted soils: Effects of soil factors, hyperaccumulation, and amendements. *Geoderma*, 137 (1–2), p. 19–32.
- Kirova M. 1993.** Cadmium content in milk from an industrially polluted region, Khranit. *Prom. Sofia*, 42, p. 26–27.
- Komy Z.R., Gabar R.M., Shoriet A.A., Mohammed R.M. 2006.** Characterisation of acidic sites of *Pseudomonas* biomass capable of binding protons and cadmium and removal of cadmium via biosorption. *World J Microbiol Biotechnl.*, 22, p. 975-982.
- Konuspayeva G., Faye B., Serikbaeva A. 2003.** Les produits traditionnels à base de lait de chamelle en Asie Centrale. *Atelier Int. sur le lait de chamelle en Afrique. FAO-CIRADKARKARA*, Niamey (Niger), 5: p. 71-82.

**Konuspayeva G. 2007.** *Variabilité physico-chimique et biochimique du lait des grands camélidés (Camelus bactrianus, Camelus dromedarius et hybrides) au Kazakhstan.* Thèse : Science des aliments : Montpellier II : p. 269.

**Konuspayeva G., Faye B., Loiseau G., Levieux D. 2007.** Lactoferrin and Immunoglobulin content in camel milk (*C. bactrianus*, *C. dromedarius* and hybrids) from Kazakhstan. *Journal of Dairy Sciences*. 90, p. 38-46.

**Konuspayeva G., Narmuratova M., Meldekova A, Faye B., Loiseau G., 2008.** Variation factors of some minerals in camel milk, B.Faye and Y Sinyaskiy (eds), Impact of pollution on animal products, NATO sciences series, Dordrecht (Netherlands), Springer Sciences + Business Media B.V: p. 125-132.

**Konuspayeva a G., Faye B., Loiseau G. 2008a.** The composition of camel milk : A meta-analysis of the literature data. *J. Food Compos. Anal.*, 22, p. 95-101.

**Konuspayeva b G., Lemarie E., Faye B., Loiseau G., Montet D. 2008b.** Fatty acid and cholesterol composition of camel (*Camelus bactrianus*, *Camelus dromedarius* and hybrids) milk in Kazakhstan. *Journal of Dairy sciences and Technology*, 88, p. 327-340.

**Konuspayeva G., Faye B., Loiseau G., Diacono E., Akhmetsadykova S. 2008c.** Pollution of camel milk by heavy metals in Kazakhstan. First IDF/INRA International Symposium on Minerals and Dairy products October 1-3, 2008 in Saint-Malo, France, abstract n°3, p. 3.

**Konuspayeva G., Faye B., Loiseau G., Barci V., Diacono E. 2008.** Radionuclides in camel milk from polluted areas of Kazakhstan First IDF/INRA International Symposium on Minerals and Dairy products October 1-3, 2008 in Saint-Malo, France, poster n°7, p. 53.

**Konuspayeva G., Faye B., Loiseau G., Diacono E., Akhmetsadykova S. 2009.** Pollution of camel milk by heavy metals in Kazakhstan. *The open environmental pollution & toxicology journal*, 1, p. 112-118.

**Konuspayeva G., Jurjanz S., Loiseau G., Barci V., Akhmetsadykova Sh., Meldebekova A., Faye B. 2011a.** Contamination of Camel Milk (Heavy Metals, Organic Pollutants and Radionuclides) in Kazakhstan. *Journal of Environmental Protection*, 2, p. 90-96.

**Konuspayeva G. et Faye B. 2011.** Identité, vertus thérapeutiques et allégation santé : les produits fermentés d'Asie Centrale. Coll. Culture des laits du Monde, Paris 5-6 mai 2010. In : Les cahiers de l'OCHA n°15, p. 135-145.

**Konuspayeva G., Faye B., De Pauw E., Focant J.-F. 2011.** Levels and trends of PCDD/Fs and PCBs in camel milk (*Camelus bactrianus* and *Camelus dromedarius*) from Kazakhstan, *Chemosphere* 85: p. 351–360.

**Krelowska-Kulas M. 1990.** Lead, cadmium, iron, copper and zinc in fresh milk from the selected areas of the Cracow region. *Nahrung*, 34, p. 213–217.

**Krishna A.K. et Govil P. K. 2007.** Soil contamination due to heavy metals from an industrial area of Surat, Gujarat, Western India. *Environ Monit Assess*, 124: p. 263–275.

**Kulczycki E., Ferris F.G., Fortin D. 2002.** Impact of Cell Wall Structure on the Behavior of Bacterial Cells as Sorbents of Cadmium and Lead. *Geomicrobiology Journal*, 19 (6), p. 553-565.

**Lahmar R. 1997.** « L'opération terres vierges du Kazakhstan » Site web : Alliance pour un monde responsable, pluriel et solidaire

**Lambert J. et Hull R. 1996.** Upper gastrointestinal tract disease and probiotics. *Asia Pacific J Clin Nutr.*, 5: p. 31-35.

**Laskowski R. et Hopkin S.P. 1996.** Accumulation of Zn, Cu, Pb, and Cd in the garden snail (*Helix aspersa*): implications for predators. *Environ Pollut*, 91: p. 289–97.

**de Roissart H. et Luquet F.M. 1994.** Bactéries Lactiques. I et II volumes. Ed. Loriga, Paris.

**LeBlanc, G.A. 1995.** Are environmental sentinels signalling? *Environ. Health Perspect.*, 103: p. 888-890.

**Lederman S.A. 1996. Environmental contaminants in breast milk from the central asian republics. Reproductive Toxicology, 10 (2), p. 93-104.**

**Leesing R. 2005.** Identification et validation de marqueurs spécifiques pour la traçabilité des poissons d'aquacultures lors de leur import / export. Thèse : Sciences des aliments, Université Montpellier II: p. 182.

**Le Guillou M. 2009.** *Diagnostic et cartographie des risques de pollution de l'environnement (eau, plantes, sol), par les métaux lourds, autour de fermes camelines, au Kazakhstan.* Mémoire de Master 2 : Biologie Geosciences Agroressources Environnement : Montpellier II : p. 53.

**Lemaire G., Terouanne B., Mauvais P., Michel S., Rahmani R. 2004.** Effect of organochlorine pesticides on human androgen receptor activation *in vitro*. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 196 : p. 235–246.

**Levieux D., Levieux A., El-Hatmi H., Rigaudière J.-P. 2006.** Immunochemical quantification of heat denaturation of camel (*Camelus dromedarius*) whey proteins. *Journal of Dairy Research*.73: p. 1-9.

**Li Z., Li L., Pan G., Chen J. 2005.** Bioavailability of Cd in a soil–rice system in China: soil type versus genotype effects. *Plant and Soil*, 271, p. 165–173.

**Li J.T., Qiu J.W., Wang X.W., Zhong Y., Lan C.Y., Shu W.S. 2006.** Cadmium contamination in orchard soils and fruit trees and its potential health risk in Guangzhou, China. *Environmental Pollution*, 143 (1), p. 159–165.

**Li M.S., Luo Y.P., Su Z.Y. 2007.** Heavy metal concentrations in soils and plant accumulation in a restored manganese mineland in Guangxi, South China. *Environmental Pollution*, 147: p. 168–175.

**Li Y.F. et MacDonald R. 2005.** Sources and pathways of selected organochlorine pesticides to the Arctic and the effect of pathway divergence on HCH trends in biota: a review. *Science of the total environment*, 342 (1-3) : p. 87-106.

**Li Y.F., Zhulidov A.V., Robarts R.D., Korotova L.G. 2004.** Hexachlorocyclohexane use in the Former Soviet Union. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 48: p. 10-15.

**Li X., Zhang Q., Dai J., Gan Y. 2008.** Pesticide contamination profiles of water, sediment and aquatic organisms in the effluent of Gaobeidian wastewater treatment plant. *Chemosphere*, 72 (8), p. 1145-1151.

**Licata P., Trombetta D., Cristani M., Giofre F., Martino D., Calo M., Naccari F. 2003.** Levels of «toxic» and «essential»metals in samples of bovine milk from various dairy farms in Calabria, Italy. *Environment International*. 30: p. 1-6.

**Liliana J. 2007.** Etude des risques liés à l'utilisation des pesticides organochlorés et impact sur l'environnement et la santé humaine. Thèse : Lyon I : p. 180.

**Lin D., Ouyang Y., Huang C.H., Huang D.Y. 2010.** Characterization of Heavy Metals from Banana Farming Soils. *CLEAN – Soil, Air, Water*, 38(5-6),p. 430–436.

**Litopoulou-Tzanetaki E. 1990.** Changes in numbers and kinds of lactic acid bacteria during ripening of kefalotyri cheese, *J. Food Sci.*, 55, p. 111–113.

**Liu Z.P. 2003.** Lead poisoning combined with cadmium in sheep and horses in the vicinity of non-ferrous metal smelters. *Science of the Total Environment*, 309, p. 117-126.

**Liu H., Probst A., Lia B. 2005.** Metal contamination of soils and crops affected by the Chenzhou lead/zinc mine spill (Hunan, China). *Sci Total Environ.*, 339 (1-3) : p. 153-66.

**Liu J., Qian M., Cai G., Yang J., Zhu Q. 2007.** Uptake and translocation of Cd in different rice cultivars and the relation with Cd accumulation in rice grain. *J Hazard Mater*, 143: p. 443–7.

**Loiseau G., Faye B., Serikbaeva A., Montet D. 2001.** Enzymes ability to serve as markers of pasteurized camel milk. Int. Conf. On new horizons in biotechnology, 18-21 avril 2001, Trivandrum, Inde.

**Loones A. 1994.** Laits fermentés par les bactéries lactiques *in*: Bactéries Lactiques. Aspects fondamentaux et technologiques. H. de Roissart & F. M. Luquet. Lorica, France, 2: p. 135-154.

**L´opez A.M., Benedito J.L., Miranda M., Castillo C., Hern´andez J., Shore R.F. 2000.** Arsenic, cadmium, lead, copper and zinc in cattle from Galicia, NW Spain. *The Science of the Total Environment* 246, p. 237-248.

**Lore T.A., Mbugua S.K., Wangoh J. 2005.** Enumeration and identification of microflora in *suusac*, a Kenyan traditional fermented camel milk product. *Lebensmittel - Wissenschaft und Technologie*, 38: p. 125-130.

**Loutseti S., Danielidis D.B., Economou-Amilli A., Katsaros Ch., Santas R., Santas Ph. 2009.** The application of a micro-algal/bacterial biofilter for the detoxification of copper and cadmium metal wastes. *Bioresource Technology*, 100, p. 2099–2105.

**Lu, W.B., Shi J.J., Wang C.H., Chang J.S. 2006.** Biosorption of lead, copper and cadmium by an indigenous isolate *Enterobacter* sp. J1 possessing high heavy-metal resistance. *J Hazard Mater.*, 134, p. 80-86.

**Luilo G.B. et Othman C. 2003.** Heavy metal levels of pasture grasses in metropolitan area. *Journal Phys. IV France*, 107, p. 797-800.

**Lutter C., Lyengar V., Barnes R., Chuvakova T., Kazbekova G., Sharmanov T. 1998.** Breast milk contamination in Kazakhstan: Implications for infant feeding. *Chemosphere*, 37, p. 1761–1772.

**Lutz S., Feidt C., Monteau F., Rychen G., Le Biezc B., Jurjanz S. 2006.** Effect of Exposure to Soil-Bound Polycyclic Aromatic Hydrocarbons on Milk Contaminations of Parent Compounds and Their Monohydroxylated Metabolites. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(1), p. 263-268.

**Macedo A.C., Malcata F.X., Hogg T.A. 1995.** Microbiological profile in Serra ewes' cheese during ripening, *J. Appl. Bacteriol.*, 79, p. 1–11.

**Maenpaa K.A., Sormunen A.J., Kukkonen J.V.K. 2003.** Bioaccumulation and toxicity of sediment associated herbicides (ioxynil, pendimethalin, and bentazone) in *Lumbricus variegatus* (Oligochaeta) and *Chironomus riparius* (Insecta). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 56, p. 398–410.

**Magnusson K. et Tiselius P. 2010.** The importance of uptake from food for the bioaccumulation of PCB and PBDE in the marine planktonic copepod *Acartia clausi*. *Aquatic Toxicology*, 98, p. 374–380.

**Majji N., Sujatha D., Bharathi K., Kumar A.P.A., Koganti V.S.R.G. 2007.** Evaluation of a probiotic dairy product for antiulcer activity in rats. *Int. J. of probiotics and prebiotics*, 2 (2-3), p. 137-140.

**Mal G., Suchitra Sena D., Jain V.K., Singhvi N.M., Sahani M.S. 2000.** Therapeutic utility of camel milk as an adjuvant nutritional supplement against multiple drug resistant patient. Proc. Int. Camelid Conf., Almaty, Kazakhstan: p. 99.

**Malherbe L. 2002.** Designing a contaminated soil sampling strategy for human health assessment, *Accred Qual Assur*, 7 : p. 189-194.

**Malik A. 1992.** Metal bioremediation through growing cells. *Environ Int.*, 30: p. 261–278.

**Mallatou H., Pappas C.P., Kondyli E., Albanis T.A. 1997.** Pesticide residues in milk and cheeses from Greece. *The science of the total environment*, 196: p. 111-117.

**Markus J. et McBratney A.B. 2001.** A review of the contamination of soil with lead II. Spatial distribution and risk assessment of soil lead. *Environment International*, 27, p. 399– 411.

**Martinez M.P., Angulo R., Pozo R., Jodral M. 1997.** Organochlorine pesticides in pasteurized milk and associated health risks. *Food and Chemical Toxicology*, 35 (6), p. 621–624.

**Matthews H. et Thornton I. 1982.** Seasonal and species variation in the content of cadmium and associated metals in pasture plants at Shipham. *Plant Soil*, 66: p. 181 – 193.

**Mawussi G. 2008.** *Bilan environnemental de l'utilisation de pesticides organochlorés dans les cultures de coton, café et cacao au Togo et recherche d'alternatives par l'évaluation du pouvoir insecticide d'extraits de plantes locales contre le scolyte du café (Hypothenemus hampei Ferrari)*. Thèse: l'Institut National Polytechnique de Toulouse : p. 207.

**McAloon K. M. et Mason R. P. 2003.** Investigations into the bioavailability and bioaccumulation of mercury and other trace metals to the sea cucumber, *Sclerodactyla briareus*, using in vitro solubilization. *Marine Pollution Bulletin* 46, p.1600–1608.

**McIntyre J.K. et Beauchamp D.A. 2007.** Age and trophic position dominate bioaccumulation of mercury and organochlorines in the food web of Lake Washington. *Science of the Total Environment*, 372, p. 571–584.

**McLean R.J.C., Beauchemin D., Beveridge T.J. 1992.** Influence of oxidation-state on ironbinding by *Bacillus licheniformis* capsule. *Appl Environ Microbiol.*, 55: p. 3143–9.

**Mehta S.K. et Gaur J.P. 2005.** Use of algae for removing heavy metal ions from wastewater: progress and prospects. *Critical Reviews in Biotechnology*, 25: p. 113–152.

**Meldebekova A., Konuspayeva G., Diacono E., Faye B. 2008.** Heavy metals and trace elements content in camel milk and shubat from Kazakhstan, B. Faye and Y Sinayaskiy (eds), *Impact of pollution on animal products*, NATO sciences series, Dordrecht (Netherlands), Springer Sciences + Business Media B.V : 117-123.

**Meldebekova A.A., Abaildaev A.O., Narmuratova G.H., Konuspayeva G.S., Ivashenko A.T. 2010.** Shubat mikroorganizmderinin myrysh pen korgasyn iondaryn adsorbsialau kasieti. *Vestnik, série biologique*, 4(46), p. 171-175.

**Meriluoto J., Gueimonde M., Haskard C.A., Spoo L., Sjövall O., Salminen S. 2005.** Removal of the cyanobacterial toxin microcystin-LR by human probiotics. *Toxicon.*, 46, p. 111-114.

**Miglioranza K.S.B., Aizpun de Moreno J.E., Osterrieth M.L., Escalante A.H. 1999.** Fate of organochlorine pesticides in soils and terrestrial biota of « Los Padres » pond watershed, Argentina. *Environmental pollution*, 105: p. 91-99.

**Milhaud G.E., Delacroix-Buchet A., Han M., Mehennaoui S. 2000.** Devenir du cadmium du lait de chèvre dans la crème et les caillés présure et lactique. *Lait*, 80, p. 277–288.

**Millis P., Ramsey M.H., John E.A. 2004.** Heterogeneity of cadmium concentration in soil as a source of uncertainty in plant uptake and its implications for human health risk assessment. *Sci Total Environ*, 326: p. 49–53.

**Milton A., Johnson M.S., Cooke J.A. 2002.** Lead within ecosystems on metalliferous mine tailings in Wales and Ireland. *Sci Total Environ*, 299: p. 177–90.

**Ministère de la protection de l'environnement de la République du Kazakhstan, 2007.** Bulletin d'information sur l'état du milieu environnemental de la République du Kazakhstan, Almaty, [http://www.eco.gov.kz/ekolog/buleten/kaz\\_9.pdf](http://www.eco.gov.kz/ekolog/buleten/kaz_9.pdf)

**Miquel G. 2001.** Les effets des métaux lourds sur l'environnement et la santé, rapport du Sénat n 261, p. 365, <http://www.senat.fr/rap/l00-261/l00-2611.pdf>

**Mishra B., Boyanov M., Bunker A.B., Shelly K.D., Kenneth K.M., Fein J.B. 2010.** High- and low-affinity binding sites for Cd on the bacterial cell walls of *Bacillus subtilis* and *Shewanella oneidensis*. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 74, p. 4219–4233.

**Mohamed H.E., Mousa H.M., Beynen A.C. 2005.** Ascorbic acid concentration in milk from Sudanese camels. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 89: p. 35–37.

**Mohamad R.H., Zekry Z.K., Al-Mehdar H.A., Salama O., El-Shaieb S.E., El-Basmy A.A., Al-said M.G., Sharawy S.M. 2009.** Camel milk as an adjuvant therapy for the treatment of type 1 diabetes: verification of a traditional ethnomedical practice. *J Med Food*, 12(2): p. 461–465.

**Moore M.J., Mitrofanov I.V., Valentini S.S., Volkov V.V. 2003.** Cytochrome P4501A expression, chemical contaminants and histopathology in roach, goby and sturgeon and chemical contaminants in sediments from the Caspian Sea, Lake Balkhash and the Ily River Delta, Kazakhstan. *Marine Pollution Bulletin*, 46, p. 107–119.

**Mrvacic J., Stanzer D., Bacun-Druzina V., Stehlik-Tomas V. 2009.** Copper Binding by Lactic Acid Bacteria (LAB). *Bioscience Microflora*, 28 (1), p. 1–6.

**Mrvacic J., Prebeg T., Barisik L., Stanzer D., Bakun-Druzina V., Stehlik-Tomas V. 2009a.** Zinc Binding by Lactic Acid Bacteria. *Food Technol. Biotechnol.*, 47 (4), p. 381–388.

**Nadal M., Espinosa G., Schuhmacher M., Domingo J. 2004.** Patterns of PCDDs and PCDFs in human milk and food and their characterization by artificial neural networks. *Chemosphere*, 54, p. 1375–1382.

**Nan Z., Jijun L., Jianming Z., Guodong C. 2002.** Cadmium and zinc interactions and their transfer in soil-crop system under actual field conditions. *The Science of the Total Environment*, 285, p. 187–195.

**National Academy of Sciences. 1974.** Recommended daily allowances. 8<sup>e</sup> édition. Washington, DC.

**Ndiokwere C.L. 1984.** A Study of Heavy metal pollution from motor vehicle emission and its effect on road side vegetation and crop in Nigeria. *Environ. Pollut. Series*, 8(7): p. 35 – 42.

**Ngwenya B.T., Sutherland I.A., Kennedy L. 2003.** Comparison of the acidbase behaviour and metal adsorption characteristics of gram-negative bacterium with other strains. *Appl Geochem*, 18, 527-538.

**Notten M.J.M., Oosthoek A.J.P., Rozema J., Aerts R. 2005.** Heavy metal concentrations in a soil–plant–snail food chain along a terrestrial soil pollution gradient. *Environmental Pollution*, 138 (1), p. 178–190.

**Nriagu J.O. 1978.** The biogeochemistry of lead in the environment. Ed JO Nriagu, Elsevier Biomedical Press, Amsterdam.

**Nueno-Palop C. et Narbad A. 2011.** Probiotic assessment of *Enterococcus faecalis* CP58 isolated from human gut. *International Journal of Food Microbiology*, 145(2-3): p. 390-394.

**Nurzhanova A., Zhambakin K., Rakhymbayev I., Sedlovsky A. 2009.** Proof Organic Polluants: Pesticides, p. 28.

**O'Hara S.L., Wiggs G.F.S., Mamedov B., Davidson G., Hubbard R.B. 2000.** Exposure to airborne dust contaminated with pesticide in the Aral Sea region. *Lancet* 355, p. 627-628.

**Olowoyo J.O., Okedey O.O., Mkolo N.M., Lion G.N., Mdakane S.T.R. 2012.** Uptake and translocation of heavy metals by medicinal plants growing around a waste dump site in Pretoria, South Africa. *South African Journal of Botany*, 78, p. 116–121.

**Omar A. et Al-Khashman. 2004.** Heavy metal distribution in dust, street dust and soils from the work place in Karak Industrial Estate, Jordan. *Atmospheric Pollution*, 38, p. 6803–6812.

**OMS. 1972.** Long term programme in environmental pollution control in Europe. The hazards to health of persistent substances in water. Annexes d'un rapport au groupe de travail. Documents techniques portant sur l'arsenic, le cadmium, le plomb, le manganèse et le mercure. Copenhague.

**OMS. 1973.** Trace elements in human nutrition; a report of a WHO Expert Committee. WHO Technical Report Series 532, Genève. p. 70.

**Oozeer R., Leplingard A., Mater D.D., Mogen A., Michelin R., Seksek I. 2006.** Survival of *Lactobacillus casei* in the human digestive tract after consumption of fermented milk. *Appl Environ Microbiol.*, 72(8): p. 5615-7.

**O'Tuama L.A., Kim C.S., Gatzky J.T., Krigman M.R., Mushak P. 1976.** The distribution of inorganic lead in guinea pig brain and neural barrier tissues in control and lead-poisoned animals. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 36 (1), p. 1-9.

**Ouadghiri M. 2009.** *Biodiversité des bactéries lactiques dans le lait cru et ses dérivés « Lben » et « Jben » d'origine marocaine.* These : Microbiologie et Biologie moléculaire : Univ. Mohammed V – AGDAL : p. 132.

**Panin M.S. 1998.** Vliyanie technogennyh faktorov i agrohimicheskoi deyatel'nosti cheloveka na sodержanie i migrasiyu tyazhelyh metallov v sisteme "pochva-rastenie". Sostoyanie i racionalnoe ispolzovanie pochv Respubliki Kazakhstan. Sb.mater. nauch.-techn. Konf., Almaty, p. 76-79.

**Panin M.S. 2002.** Radioaktivnoe zagryaznenie territorii Kazakhstana, *Vestnik KazNu, seria ekologicheskaya*, 2 (11).

**Papp J.P. 1968.** Metal fume fever. *Postgrad. Med.*, 43: p. 160.

**Pardo R., Herguedas M., Barrado E., Vega M. 2003.** Biosorption of cadmium, copper, lead and zinc by inactive biomass of *Pseudomonas putida*. *Anal Bioanal Chem.*, 376, p. 26-32.

**Parkpian P., Shing T.L., Laortanakul P., Thunthaisong N. 2003.** Regional monitoring of lead and cadmium contamination in a tropical grazing land site, Thailand. *Environ.Monit.Assess.*, 85, p. 153-173.

**Pazou A.E.Y., Lalèyè Ph., Boko M., van Gestel C.A.M., Ahisou H. 2006.** Contamination of fish by Organochlorine pesticide residues in the Ouémé River catchment in the Republic of Bénin. *Environmental international*, 32: p. 594-599.

**Peralta-Videa J.R., Lopez M.L., Narayan M., Saupe G., Gardea-Torresdey J. 2009.** The biochemistry of environmental heavy metal uptake by plants: Implications for the food chain. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 41, p. 1665–1677.

**Perry T.W., Dunn W.J., Peterson R.C., Beeson W.M., Stob M., Mohler M.T. 1979.** Ammoniamineral-suspension treated corn silage, protein levels and monensin for growing and finishing beef cattle. *J. Anim. Sci.* 48: p. 742.

**Pichard A. 2002.** Plomb et ses dérivés. Fiche INERIS

**Pichtel J., Kuroiwa K., Sawyerr H.T. 2000.** Distribution of Pb, Cd and Ba in soils and plants of two contaminated site. *Environmental Pollution*, 110 (1), p.171–178.

**Pilguk O.N. 2005.** Ekologicheskaya osenka sostoyaniya kadmiya v sisteme "pochva-rastenie" v usloviyah Semipalatinskogo Priirtyshya. These: p. 172.

**Pochart P., Marteau P., Bouhnik Y., Goderel I., Bourlioux P., Rambaud J.C. 1992.** Survival of bifidobacteria ingested via fermented milk during their passage through the human small intestine: an in vivo study using intestinal perfusion. *American Journal of Clinical Nutrition*, 55, p. 78-80.

**Pruvot C., Douay F., Hervé F., Waterlot C. 2006.** Heavy Metals in Soil, Crops and Grass as a Source of Human Exposure in the Former Mining Areas. *J Soils Sediments* 6 (4), p. 215 – 220.

- Puranik P. R. et Paknikar K. M. 1999.** Biosorption of lead, cadmium, and zinc by *Citrobacter* strain MCM B-181: Characterization studies. *Biotech Prog.*, 15, p. 228-237.
- Puzyrevskaya O.M., Saubenova M.G., Baizhomartova M.G., Baimenov E.K. 2000.** Microbiological and biochemical characterization of shubat. Proceeding 2<sup>nd</sup> Int. Camelid Conf. "Agroeconomics of camelid farming", Almaty (Kazakhstan), p. 98.
- Quarshie E., Nyarko B.J.B., Serfor-Armah Y. 2011.** Studies of the Levels of Some Toxic Elements in Soil and Tailings from Bibiani Mining Area of Ghana. *Research Journal of Environmental and Earth Sciences* 3(5): p. 512-520.
- Qian J., Shan X.-q., Wang Z., Tu Q. 1996.** Distribution and plant availability of heavy metals in different particle-size fractions of soil. *Science of The Total Environment*, 187 (2), p. 131–141.
- Quisey P.M., Donohue D.C., Ahokas J.T. 1995.** Persistence of Organochlorines in Breast Milk of Women in Victoria, Australia. *Fd Chem. Toxic.*, 33 ( 1), p. 49-56.
- Rabinowitz M.B., Wetherill G.W., Kopple J.D. 1976.** Kinetic Analysis of Lead Metabolism in Healthy Humans. *The Journal of Clinical Investigation*, 58, p. 260-270.
- Rader J.I., Peeler J.T., Mahaffey K.R. 1981.** Comparative Toxicity and Tissue Distribution of Lead Acetate in Weanling and Adult Rats. *Environ Health Perspect.* 42: p. 187–195.
- Raghunath R., Tripathi R.M., Khandekar R.N., Nambi K.S.V. 1997.** Retention times of Pb, Cd, Cu and Zn in children's blood. *Sci. Total Environ.* 207: p. 133-139.
- Rashed M. N. 1994.** Trace elements in camel's milk from Aswan sity and desert (Egypt). In: Dromedaires et chameaux, animaux laitiers. Actes du colloque, 24-26 octobre 1994.
- Rashitova T.T. 2009.** *Gigienicheskaya osenka zagryazneniya rastenievodcheskoi produkcii nitratami i pestisidami, razrabotka normativnyh urovnei sodержaniya nitratov dlya sushennyh ovoshei i fruktov.* Avtoreferat dissertasii. Typography GU "Kazakhskaya Respublikanskaya SES", Almaty, p. 28.
- Ravinder N., Yadav H., Kumar A.P., Singh K., Jain S., Marotta F. 2007.** Potential of probiotics and prebiotics for symbiotic functional dairy foods: an overview. *Int. J. of probiotics and prebiotics*, 2 (2-3), p. 75-84.
- Recommandations canadiennes pour la qualité des sols : Plomb. 1999.** Environnement et santé humaine, Conseil canadien des ministres de l'environnement.
- Reinfelder J.R., Fisher N.S., Luoma S.N., Nichols J.W., Wange W.-X. 1998.** Trace element trophic transfer in aquatic organisms: A critique of the kinetic model approach. *The Science of the Total Environment* , 219, p. 117-135.
- Riihimaki V. 1972.** Cadmium. Long term programme in environmental pollution control in Europe. The hazards to health of persistent substances in water. Annexe du rapport au groupe de travail, Organisation mondiale de la santé.

**Rochet V., Rigottier-Gois L., Sutren M., Kremetscki M.N. 2000.** Effects of orally administered *Lactobacillus casei* DN-114 001 on the composition or activities of the dominant faecal microbiota in healthy humans. *Br J Nutr.*, 95(2): p. 421-9.

**Rochet V., Rigottier-Gois L., Ledaire A., Andrieux C. 2008.** Survival of *Bifidobacterium animalis* DN-173 010 in the Faecal Microbiota after Administration in Lyophilised Form or in Fermented Product. *J Mol Microbiol Biotechnol.* 14(1-3): p. 128-136.

**Rodríguez-Estival J., Barasona J.A., Mateo R., 2012.** Blood Pb and d-ALAD inhibition in cattle and sheep from a Pb-polluted mining area. *Environmental Pollution*, 160, p. 118-124.

**Ronchi B. et Danieli P.P. 2008.** Contamination by Persistent Chemical Pesticides in Livestock Production Systems. IMPACT OF POLLUTION ON ANIMAL PRODUCTS. NATO Science for Peace and Security Series C: Environmental Security, 2008, II, 147-162, DOI: 10.1007/978-1-4020-8359-4\_16

**Ronchi B., Danieli P.P., Faye B., Sinyvaski Y. 2008.** Contamination by persistent chemical pesticides in livestock production systems. *Impact of pollution on animal products*, p. 147-162.

**Saavedra L., Castellano P., Sesma F. 2004.** Purification of Bacteriocins Produced by Lactic Acid Bacteria. In: Public Health Microbiology: Methods and Protocols. Series: Methods in Molecular Biology. Spencer J.F., Ragout de Spencer A.L. (Eds). - 2004. - Vol. 268. - p. 331-336.

**Sabia C., Manicarda G., Messai P., De Niederhänsern S., Bondi M. 2002.** Enterocin 416 K1, an antilisterial bacteriocin produced by *Enterococcus casseliflavus* IM 416 K1 isolated from Italian sausages, *Int. J. Food Microbiol.*, 75, p. 163–170.

**Sabumukama C. 1997,** Recherche d'enzymes adaptées pour la vérification de la pasteurisation du lait de dromadaire et mise au point d'un test simple de contrôle. Mastère ENSIA, Montpellier, France 45 p.

**Saitmuratova Kh., Sulaimanova G. I., Sadykov A. A. 2001.** Camel's Milk and Shubat from the Aral Region. *CHEMISTRY OF NATURAL COMPOUNDS*, 37 (6), p. 566-568.

**Sallam K.I. et Morsheby A.E.M.A. 2008.** Organochlorine pesticide residues in camel, cattle and sheep carcasses slaughtered in Sharkia Province, Egypt. *Food Chemistry*, 108 (1), p. 154-164.

**Samani Majd S., Taebi A. et Afyuni, M. 2006.** Lead and cadmium distribution in urban roadside soils of Isfahan, Iran. In: *Proceedings of the 7<sup>th</sup> International Conference on Civil Engineering*. Tehran, Iran: Tarbiat Modarres University.

**Sandanger T.M., Anda E.E., Dudarev A.A., Nieboer E. 2009.** Combining data sets of organochlorines (OCs) in human plasma for the Russian Arctic. *Science of the Total Environment*, 407, p. 5216–5222.

**Santé Canada. 1979.** Santé de l'environnement et du milieu de travail. Le Zinc.

**Santé Canada. 2009.** Qualité de l'eau- Rapports et publication, (14-05-2009), <URL : <http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/pubs/water-eau/index-fra.php>>

**Sarsenbaev B.T., Atabaeva S.D., Kirshibaev E., Kenzhebaeva Sh.K., Usenbekov B.N., Asrandina S.Sh. 2002.** Harakter zagryazneniya pochv i rastenii Vostochno-Kazakhstanskoi oblasti tyazhellymi metallami. *Biotehnologiya. Teoriya i praktika*, 2, p. 119-123.

**Satarug S. et Moore M.R. 2004.** Adverse health effects of chronic exposure to low-level cadmium in foodstuffs and cigarette smoke. *Environmental Health Perspectives*. 112: p. 1099–1103.

**Saubenova M.G., Puzyrevskaya O.M., Nikitina E.T., Baïzhomartova M.M. 2002.** Les perspectives d'amélioration de qualité et les propriétés médicinales -thérapeutiques du shubat (Perspektivy povysheniya kachestva i lechebno-profilakticheskikh svoistv shubata), *Vestnik KazNU, série de biologie*. 1 (16) : 23-27.

**Sawaya W.N., Khalil J.K., Al-Shalhat A., Al-Mohammad H.1984.** Chemical composition and nutritional quality of camel milk. *J. Food Sci.*, 49: p. 744–747.

**Schaposnikov, A. et Prisnyi, A. 2001.** Dangerous heavy metals in the organs of pigs. *Svinovodstvo (Mosk)*. 4: p. 20-21.

**She J., Petreas M.X., Visita P., McKinney M., Sy F.J., Winkler J.J., Hooper K., Stephens R.D. 1998.** Congener-specific analysis of PCBs in human milk from Kazakhstan. *Chemosphere*, 31 (3), p. 431-442.

**Schroeder H.A., Balassa J.J., Vinton W.H. Jr. 1964.** Chromium, Lead, Cadmium, Nickel and Titanium in Mice : Effect on Mortality, Tumors and Tissue Levels '. *J. Nutrition*, 83: '64

**Schroeder H.A., Balassa J.J., Vinton W.H. Jr. 1965.** Chromium, Cadmium and Lead in Rats: Effect on life span, tumors and tissue levels. *J Nutr.*, 86: p. 51-66.

**Schuhmacher M., Domingo J.L., Llobet J.M., Coebella J. 1993.** Dietary intake of Cu, Cr and Zn in Tarragona province, Spain. *Sci. Total Environ*. 132: p. 3-10.

**Seki H., Noguchi A., Suzuki A., Inoue N. 2006.** Biosorption of heavy metals onto Gram-positive bacteria, *Lactobacillus plantarum* and *Micrococcus luteus*. *Kagaku Kogaku Ronbunshu*, 32, p. 352-355.

**Selatnia A., Bakhti M.Z., Madani A., Kertous L., Mansouri Y. 2004.** Biosorption of Cd<sup>2+</sup> from aqueous solution by a NaOH-treated bacterial dead *Streptomyces rimosus* biomass. *Hydrometallurgy*, 75: p. 11–24.

**Senthilkumar R., Vijayaraghavan K., Thilakavathi M., Iyer P.V.R., Velan M. 2007.** Application of seaweeds for the removal of lead from aqueous solution. *Biochem Eng J.*, 33, p. 211-216.

**Serikbayeva A., Konuspayeva G., Faye B., Loiseau G., Narmuratova M. 2005.** Probiotic properties of a sour-milk shubat from the camel milk. In: "Desertification

Combat and Food Safety. The Added Value of Camel producers”, Ashkabad (Turkmeniata), NATO Science Series, Life and Behavioural Sciences. Vol. 362. Faye B., Esenov P. (Eds), IOS Press, Amsterdam (Pays-Bas): 187-191.

**Service d'exportation agroalimentaire du Canada, 2007.** Synopsis sur le commerce agroalimentaire Kazakhstan, <http://www.ats.agr.gc.ca>

**Shallar S., Schwartz C., Hasko A., Morel J.L. 1998.** Heavy metals in soils and plants of serpentine and industrial sites of Albania. *Science of The Total Environment*, 209 (2–3), p. 133–142.

**Shikhova L. 2004.** Heavy metals in soils – a problem of definition of a background content and level of contamination, Metal Ions in Biology and Medicine : vol. 8. Eds M. A. Cser, I. Sziklai Laszlo, J.-C. Etienne, Y. Maynard, J. Centeno, L. Ph. Collery, John Libbery Eurotext, Paris 2004, p. 214-215.

**Shubina A.G., Sinyutina S.E., Shubin R.A. 2009.** Soderzhanie pesticidov v zerne zlakovyh kultur i pahotnyh pochvah ryada raionov Tambovskoi oblasti. *Vestnik TGTU*, 15, 1.

**Sibali L.L., Okonkwo J.O., Zvinowanda C. 2009.** « Determination of DDT and Metabolites in Surface Water and Sediment Using LLE, SPE, ACE and SE» *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 83, p. 885-891.

**Sibhu P.K., Sandhu J., Singh J., Kwatra M.S. 1994.** Lead toxicosis in bovine due to industrial pollution in Punjab. *Indian J. Anim. Sci.*, 64, p. 1359-1360.

**Sierra E.M. et Tiffany-Castiglioni E. 1992.** Effects of low-level lead exposure on hypothalamic hormones and serum progesterone levels in pregnant guinea pigs. *Toxicology*, 72 (1), p. 89-97.

**Simsek O., Gultekin R., Oksuz O., Kurultay S. 2000.** The effect of environmental pollution on heavy metal content of raw milk. *Nahrung*. 44: p. 360-363.

**Smith A.G. et Gangolli S.D. 2002.** Organochlorine chemicals in seafood: occurrence and health concerns. *Food and Chemical Toxicology*, 40, p. 767–779.

**Smith D.R., Osterloh J.D., Niemeyer S., Flegal A.R. 1992.** Stable isotope labeling of lead compartments in rats with ultralow lead concentrations. *Environmental Research*, 57 (2), p. 190-207.

**Soldberg W. et Steinnes E. 1983.** Heavy metal contamination of terrestrial ecosystems from long-distance atmospheric transport. In: Müller G., (ed), *International Conference on Heavy Metals in the Environment*. CEP Consultants, Heidelberg, Germany. 1: p. 170-173.

**Solomon G.M. et Weiss P.M. 2002.** Chemical Contaminants in Breast Milk: Time Trends and Regional Variability. *Environmental Health Perspectives*, 110 (6), p. 339-347.

- Stefanov K., Seizova K., Yanishlieva N., Marinova E., Popov S. 1995.** Accumulation of lead, zinc and cadmium in plant seeds growing in metalliferous habitats in Bulgaria. *Food Chemistry*, 54 (3), p. 311–313.
- Steinnes E., Allen R.O., Petersen H.M., Ranbaek J.P., Varskog P. 1997.** Evidence of large scale heavy-metal contamination of natural surface soils in Norway from long-range atmospheric transport. *Sci. Total Environ.* 205: p. 255-266.
- Stiles M.E. et Holzapfel W.H. 1997.** Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *International Journal of Food Microbiology*, 36, p. 1- 29.
- Su P., Henriksson A., Mitchell H. 2007.** Survival and retention of the probiotic *Lactobacillus casei* LAFTI L26 in the gastrointestinal tract of the mouse. *Lett. Appl Microbiol.*, 44 (2): p. 120-5.
- Swarup D., Patra R. C., Naresh R., Kumar P., Shekhar P. 2005.** Blood Lead Levels in Lactating Cows Reared around Polluted Localities; Transfer of Lead into Milk. *Science of Total Environmental*, 349 (1-3), p. 67-71. doi:10.1016/j.scitotenv.2004.12.079
- Takahashi N., Xiao J.Z., Miyaji K., Yaeshiima T., Hiramatsu A., Iwatsuki K., Kokubo S., Hosono A. 2004.** Selection of acid tolerant Bifidobacteria and evidence for a low-pH-inducible acid tolerance response in *Bifidobacterium longum*. *J Dairy Res.*, 71(3): p. 340-5.
- Tanabe S. et Kunisue T. 2007.** Persistent organic pollutants in human breast milk from Asian countries. *Environmental Pollution*, 146, p. 400-413.
- Tanhan P., Kruatrachue M., Pokethitiyook P., Chaiyarat R. 2007.** Uptake and accumulation of cadmium, lead and zinc by Siam weed [*Chromolaena odorata* (L.). *Chemosphere*, 68 (2), p. 323–329.
- Teofilova T., Kodzhabashev N., Gerasimov S., Markova E. 2010.** Comparative characterization of the heavy metal contents in samples from two regions in Bulgaria with different anthropogenic load. *Natura Montenegrina, Podgorica*, 9 (3): p. 897-912.
- Tincknell R.C. 1980.** Pesticides: an industry view of safety. *Pesticide Information* 6: p. 22-25.
- Tripathi R.M., Raghunath R., Sastry V.N., Krishnamoorthy T.M. 1999.** Daily intake of heavy metals by infants through milk and milk products. *The science of The Total Environment*. 227: p. 229-235.
- Topcu T.B. 2010.** Removal of Cadmium and Lead from Aqueous Solution by *Enterococcus faecium* Strains. *Journal of Food Science*, 75 (1), p. T13–T17.
- Troubetzkoy A., 2000.** Exporter au Kazakhstan, eds. Centre français du commerce extérieur, Paris, p. 163.
- Tsviliovskii V.I., Meliniciuc S.D., Lohanska V.I. 2004.** Monitoring hlororganicheskikh pestitsidov u proridnii ta pitanii vodi M. Kieva. Conference scientifique: Chistota dovkillia v nashemu misti. Acte de congres (en ukrainien): p. 109-110.

**Tudoreanu L. et Phillips C.J.C.** Modeling Cadmium Uptake and Accumulation in Plants. *Advances in Agronomy*, 84, p. 121–157.

**Tunali S., Cabuk A., Akar T. 2006.** Removal of lead and copper ions from aqueous solutions by bacterial strain isolated from soil. *Chem Eng J.*, 115: p. 203–11.

**Tunali S., Akar T., Ozcan A.S., Kiran S., Ozcan A. 2006.** Equilibrium and kinetics of biosorption of lead (II) from aqueous solutions by *Cephalosporium aphidicola*. *Separation and Purification Technology*, 47, p. 105-112.

**Turbic A., Ahokas J., Haskard C. 2002.** Selective in vitro binding of dietary mutagens, individually or in combination, by lactic acid bacteria. *Food Addit Contam.*, 19, p. 144-152.

**Turpin W., Humblot C., Guyot J.P. 2011.** Genetic screening of functional properties of lactic acid bacteria in a fermented pearl millet slurry and in the metagenome of fermented starchy foods. *Appl Environ Microbiol.*, 77, p. 8722-8734.

**Ullrich S.M., Ilyushchenko M.A., Kamberov I.M., Tanton T.W. 2007.** Mercury contamination in the vicinity of a derelict chlor-alkali plant. Part I: Sediment and water contamination of Lake Balkyldak and the River Irtysh. *Science of the Total Environment*, 381, p. 1–16.

**UNEP, 2003.** Regionally based assessment of persistent toxic substances. Global Report. UNEP Chemicals, Geneva, p. 29.

**Urazakov N.U., Bainazarov S.H., 1974.** Problemy Tuberkuleza, 2, 89-90.

**Usmanova R.M. 2003.** Aral sea and sustainable development. *Water Sci. Technol.* 47, p. 41-47.

**Van der Oost R., Opperhuizen A., Satumalay K., Heida H., Nice P.E., Vermeulen C. 1996.** Biomonitoring aquatic pollution with feral eel (*Anguilla anguilla*). Bioaccumulation: biota-sediment ratios of PCBs, OCPs, PCDDs and PCDFs. *Aquatic Toxicology*, 35, p. 21-46.

**Venetsanos A.G. 2002.** Studies on pollutant dispersion from moving vehicles. Water, air and soil pollution. *Focus*, 2 : p. 325-337.

**Vidovic M., Sadibasic A., Cupic S., Lausevie M. 2005.** Cd and Zn in atmospheric deposit, soil, wheat, and milk. *Environmental Research*. 97: p. 26-31.

**Vijayaraghavan K. et Yeoung-Sang Y. 2007.** Utilization of fermentation waste (*Corynebacterium glutamicum*) for biosorption of Reactive Black 5 from aqueous solution. *J Hazard Mater.*, 141: p. 45–52.

**Vijayaraghavan K. et Yeoung-Sang Y. 2008.** Bacterial biosorbents and biosorption. *Biotechnology Advances*, 26, p. 266–291.

**Volesky B. et Holan Z.R. 1995.** Biosorption of heavy metals. *Biotechnology Progress*. 11: p. 235–250.

**Volesky B. 2001.** Detoxification of metal-bearing effluents: biosorption for the next century. *Hydrometallurgy*, 59: p. 203–16.

**Voutsas D., Grimanis A., Samara C. 1996.** Trace elements in vegetables grown in an industrial area in relation to soil and air particulate matter. *Environ. Pollut.* 94: p. 325-335.

**Yagil R. et Van Creveld C. 2000.** Medicinal use of camel milk – fact or fancy? Proceeding 2nd Int. Camelid Conf. “Agroeconomics of camelid farming”, 8 – 12 september, Almaty, Kazakhstan, p.100.

**Yang R.Q., Lv, A.-H., Shi, J.B., Jiang, G.-B. 2005.** The levels of distribution of organochlorine pesticides (OCPs) in sediments from Haihe River, China. *Chemosphere*, 61, p. 347-354.

**Yang Y., Zhang F.-S., Li H.-F., Jiang R.-F. 2009.** Accumulation of cadmium in the edible parts of six vegetable species grown in Cd-contaminated soils. *Journal of Environmental Management*, 90 (2), p. 1117–1122.

**Yang Y., Nan Z., Zhao Z., Wang Z., Wang S., Wang X., Jin W., Zhao C. 2011.** Bioaccumulation and translocation of cadmium in cole (*Brassica campestris* L.) and celery (*Apium graveolens*) grown in the polluted oasis soil, Northwest of China. *Journal of Environmental Sciences*, 23(8), p. 1368–1374.

**Yehouenou E., Pazou A., Laèyè Ph., Boko M. 2006.** Contamination of fish by pesticides residues in the Ouémé River catchment in the Republic of Bénin. *Environment international*, 32, p. 594-599.

**Yuki N., Watanabe K., Mike A., Tagami Y., Tanaka R., Ohwaki M., Morotomi M. 1999.** Survival of a probiotic, *Lactobacillus casei* strain Shirota, in the gastrointestinal tract: selective isolation from faeces and identification using monoclonal antibodies. *Int J Food Microbiol.*, 48(1): p. 51-57.

**Waliszewski S.M., Aguirre A.A., Infanzon R.M., Silva C.S., Siliceo J. 2001.** Organochlorine pesticide levels in maternal adipose tissue, maternal blood serum, umbilical blood serum, and milk from Inhabitants of Veracruz, Mexico. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 40, p. 432–438.

**Wang J. et Chen C. 2009.** A chemical equilibrium model for metal adsorption onto bacterial surfaces. *Biotechnology Advances* 27, p. 195–226.

**Wang W.-X. et Rainbow P.S. 2005.** Influence of metal exposure history on trace metal uptake and accumulation by marine invertebrates. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 61, p. 145–159.

**Wang X.T., Chu S.G., Xu X.B. 2003.** Organochlorine pesticide residues in water from Guanting reservoir and Yongding River, China. *Bulletin of environmental contamination and toxicology* 70: p. 351-354.

**Wang W., Batterman S., Chernyak S., Nriagu J. 2008.** Concentrations and risks of organic and metal contaminants in Eurasian caviar. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 71, p. 138–148.

**Watanabe M., Tanabe S., Miyazaki N., Petrov E.A., Jarman W.M. 1999.** Contamination of Tris(4-Chlorophenyl) methane and Tris(4-Chlorophenyl) methanol in marine mammals from Russia and Japan: body distribution, bioaccumulation and contamination status. *Marine Pollution Bulletin*, 39 (1–12), p. 393–398.

**Weisbrod A.V., Shea D., Moore M.J., Stegeman J.J. 2001.** Species, tissue and gender-related Organochlorine bioaccumulation in white-sided dolphins, pilot whales and their common prey in the Northwest Atlantic. *Environmental Research*, 51, p. 29-50.

**WHO. 1995.** Environmental Health Criteria 165: Inorganic Lead. World Health Organization, Geneva.

**Willett L.B., O'Donnell A.F., Durst H.I., Kurz M.M. 1993.** Mechanisms of Movement of Organochlorine Pesticides from Soils to Cows via Forages. *Journal of Dairy Science*, 76 (6), p. 1635–1644.

**Williams D.R. 1972.** Metals, ligands, and cancer. *Chem. Rev.*, 72: p. 203

**Wong S.K. et Lee W. 1997.** Survey of organochlorine pesticide residues in milk in Hong Kong (1993-1995). *Journal of AOAC international*, 80, p. 1332-1335.

**Wong M.H., Leung A.O.W., Chan J.K.Y., Choi M.P.K. 2005.** A review on the usage of POP pesticides in China, with emphasis on DDT loadings in human milk. *Chemosphere*, 60, p. 740–752.

**Zadi-Karam H. et Karam N.-E. 2005.** Bactéries lactiques du lait de chamelle. *Renc. Rech. Ruminants*, 2005, p. 12.

**Zadi-Karam H., Kalbaza K., Karam N.-E. 2011.** Identification et caractéristiques technologiques de 18 souches de *Leuconostoc* isolées de lait de chamelle de Béchar. *Renc. Rech. Ruminants*, p. 18.

**Zhang H., Cui B., Xiao R., Zhao H. 2010.** Heavy metals in water, soils and plants in riparian wetlands in the Pearl River Estuary, South China. International Society for Environmental Information Sciences 2010 Annual Conference (ISEIS). *Procedia Environmental Sciences*, 2, p. 1344–1354.

**Zhuang P., Zou B., Li N.Y., Li Z.A. 2009.** Heavy metal contamination in soils and food crops around Dabaoshan mine in Guangdong, China: implication for human health. *Environmental Geochemistry and Health*, Vol. *in press*, p. 707-715.

**Zhuang P., McBride M.B., Xia H., Li N., Li Z. 2009.** Health risk from heavy metals via consumption of food crops in the vicinity of Dabaoshan mine, South China. *Science of The Total Environment*, 407 (5), p. 1551–1561.

**Zohair A., Salim A.-B., Soyibo A.A., Beck A.J. 2006.** Residues of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), polychlorinated biphenyls (PCBs) and organochlorine pesticides in organically-farmed vegetables. *Chemosphere*. 63 (4), p. 541-553.

## ANNEXES

**Annexe 1** : Zone d'étude dans la région d'Almaty

**Annexe 2** : Zone d'étude dans la région du Sud Kazakhstan

**Annexe 3** : Zone d'étude dans la région de Kyzylorda

**Annexe 4** : Zone d'étude dans la région d'Atyraou

**Annexe 5** : Protocole de préparation des échantillons de sol pour le dosage des pesticides. Source : laboratoire « Lezart »

**Annexe 6** : Protocole de préparation des échantillons d'eau pour le dosage des pesticides. Source : laboratoire « Lezart »

**Annexe 7** : Protocole de préparation des échantillons de plantes pour le dosage des pesticides. Source : laboratoire « Lezart »

**Annexe 8** : Protocole de préparation des échantillons de lait et de *shubat* pour le dosage des pesticides. Source : laboratoire « Lezart »

**Annexe 9** : Tableau des amorces pour le séquençage de produits PCR de 1500pb

**Annexe 10** : Purification de l'ADN à partir du gel d'agarose low melting température

**Annexe 11** : Points GPS

**Annexe 12** : Les indicateurs de risque

**Annexe 13** : Concentration en pesticides organochlorés dans le sol des fermes (ppm)

**Annexe 14** : Concentration en pesticides organochlorés dans l'eau des fermes (ppm)

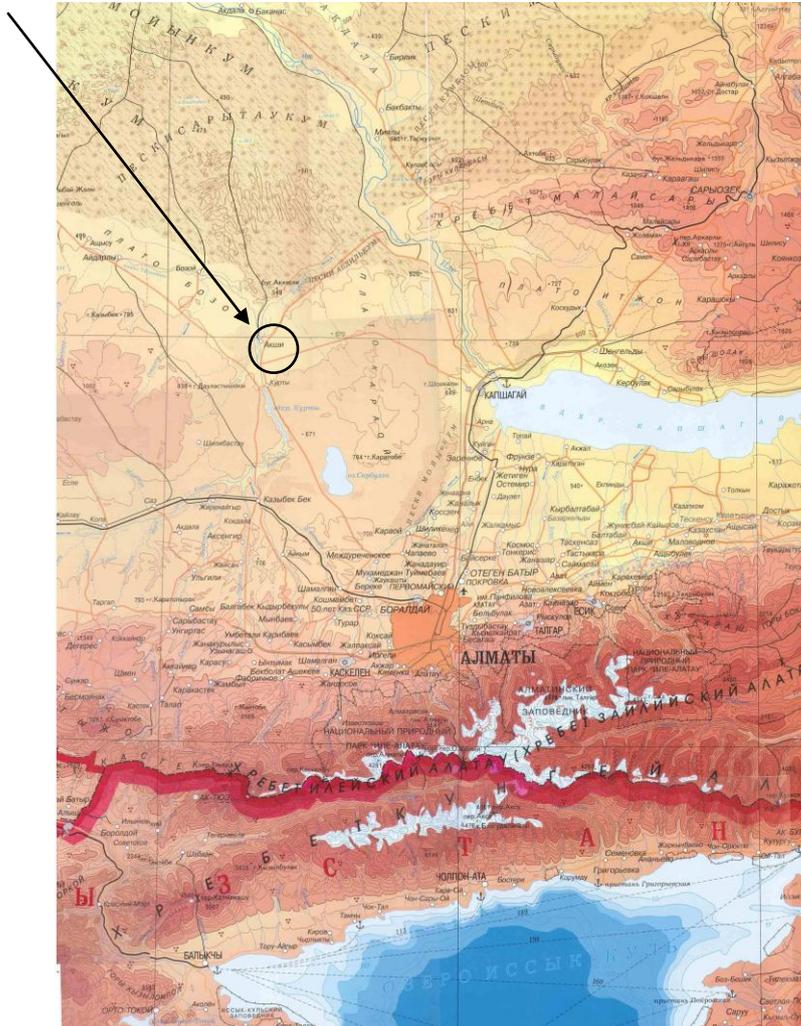
**Annexe 15** : Concentration en pesticides organochlorés dans les plantes

**Annexe 16** : Concentration en pesticides organochlorés dans le lait et le *shubat*

**Annexe 17** : Liste exhaustive des publications de S. Akhmetsadykova

# Annexe 1 : Zone d'étude dans la région d'Almaty

Akschi

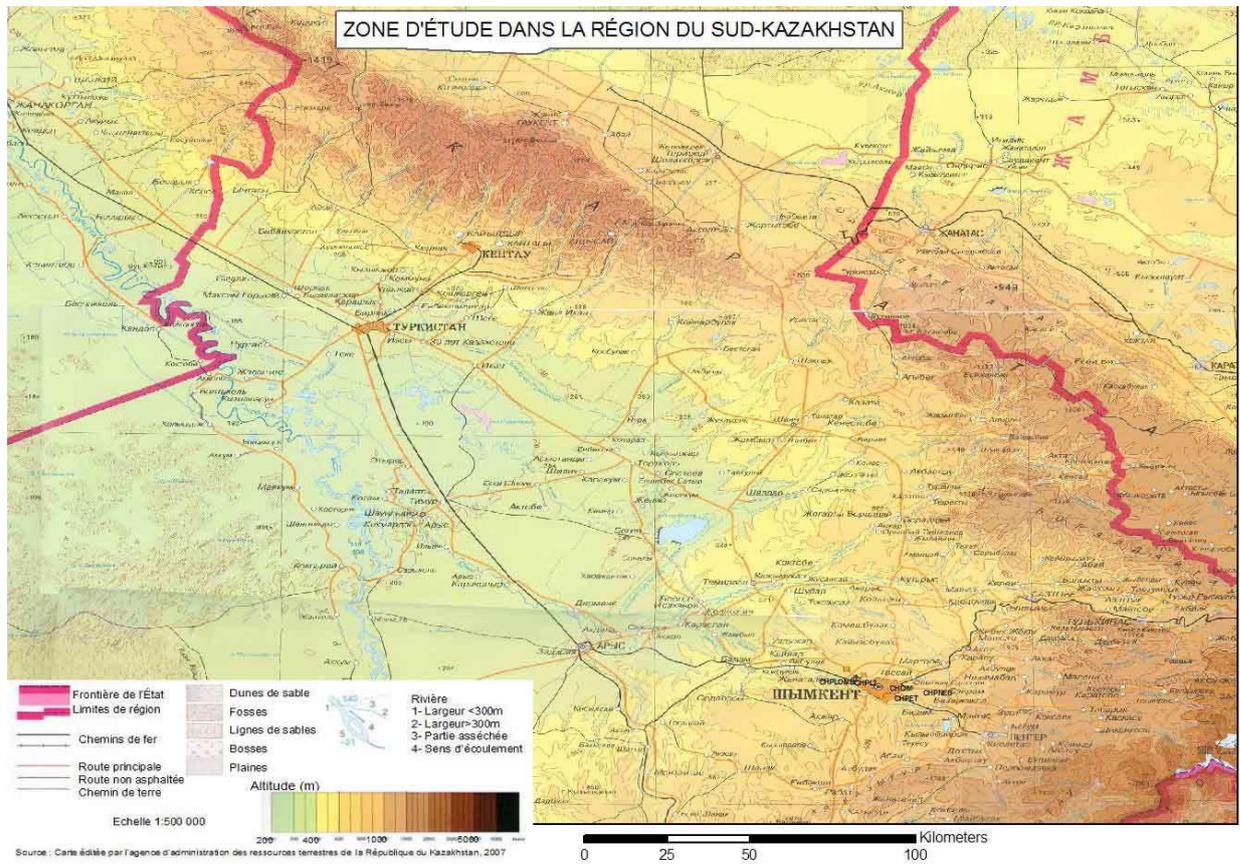


Zone d'étude dans la région d'Almaty



Source : Carte éditée par l'agence d'administration des ressources terrestres de la République du Kazakhstan, 2007

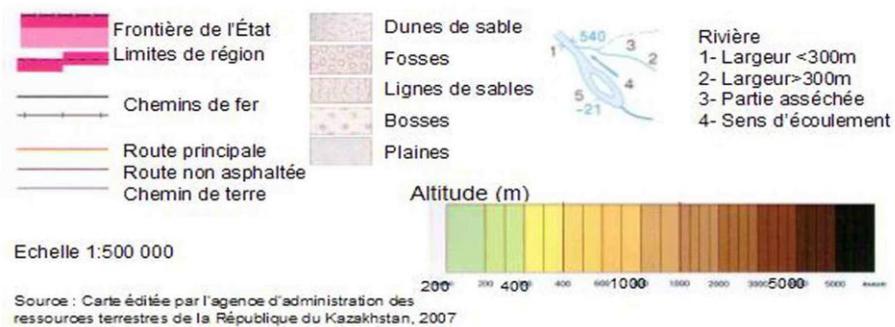
## Annexe 2 : Zone d'étude dans la région du Sud Kazakhstan



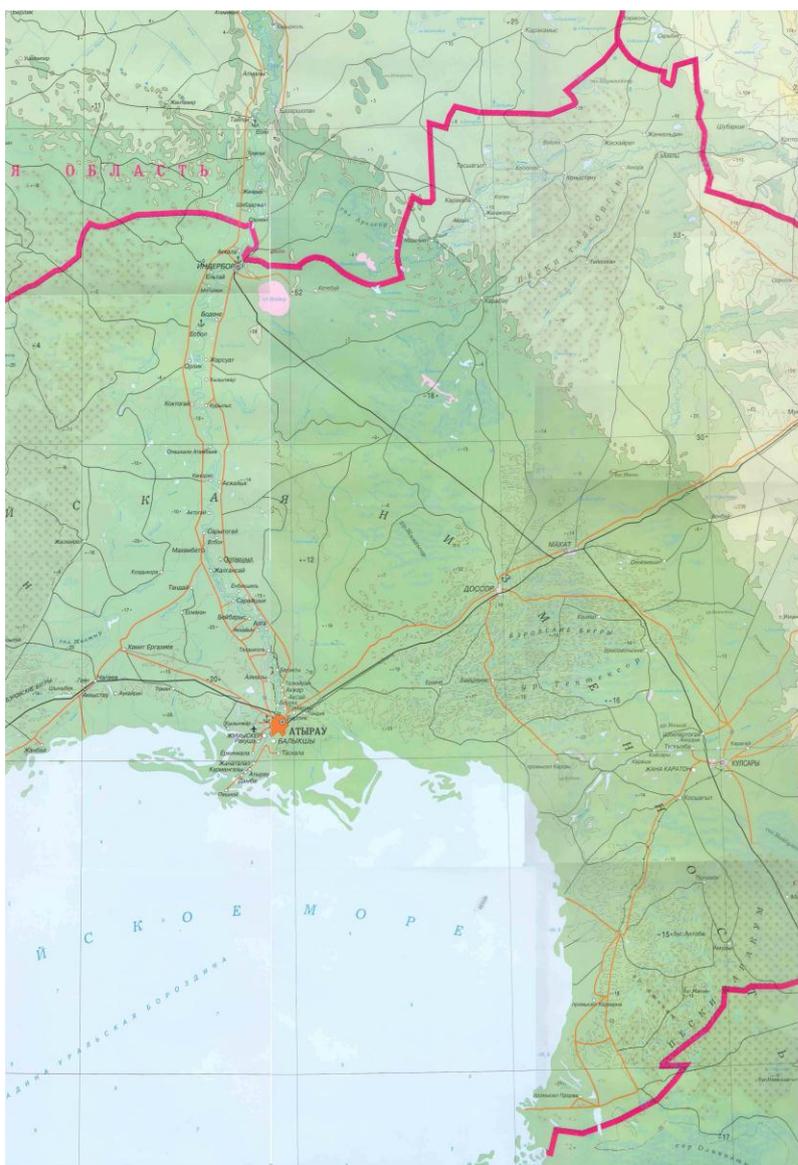
### Annexe 3 : Zone d'étude dans la région de Kyzylorda



**Zone d'étude dans la région de Kyzylorda**



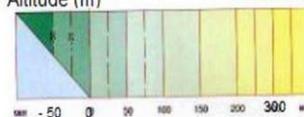
## Annexe 4 : Zone d'étude dans la région d'Atyraou



Zone d'étude dans la région d'Atyraou

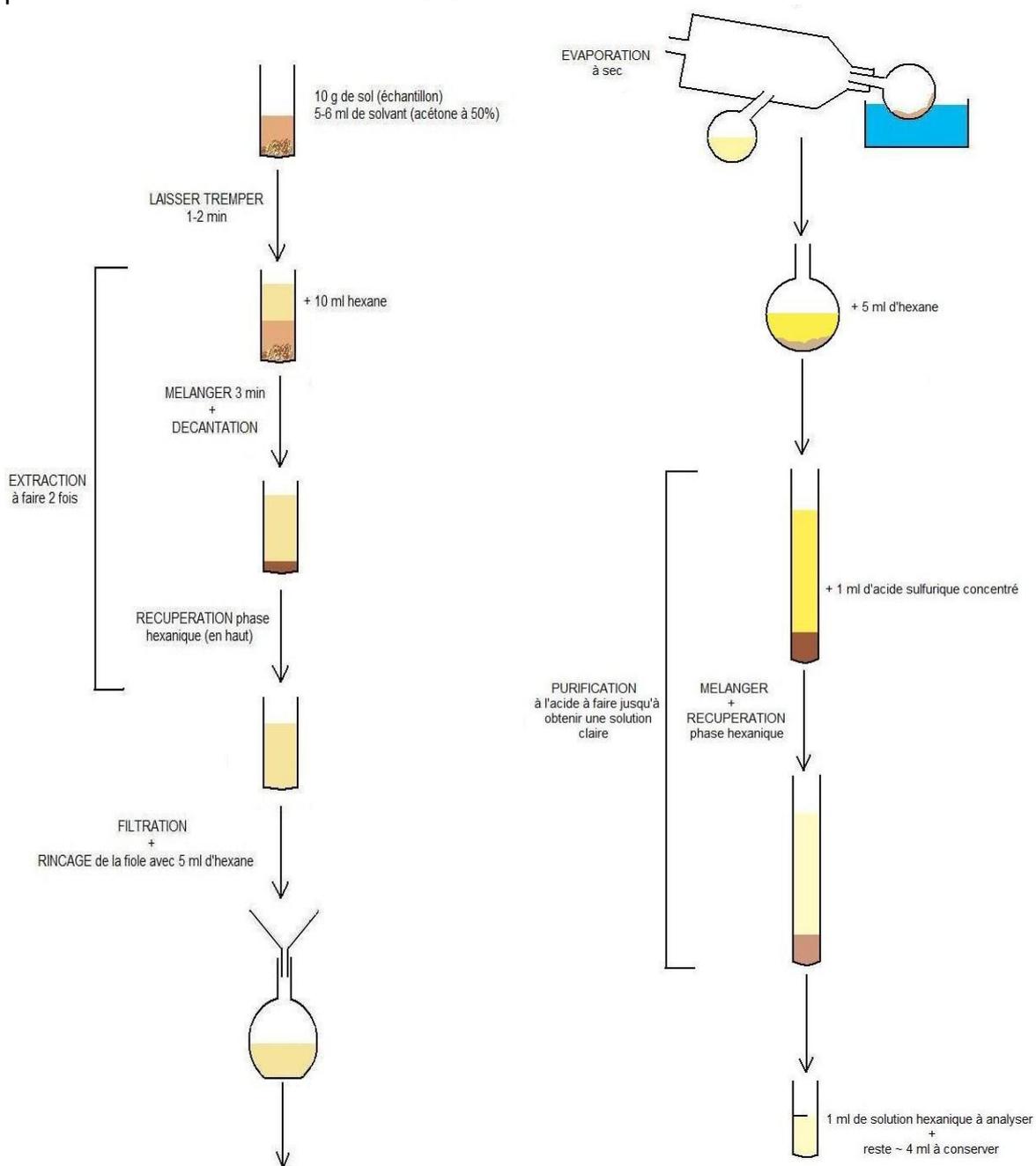


Altitude (m) Échelle 1:500 000

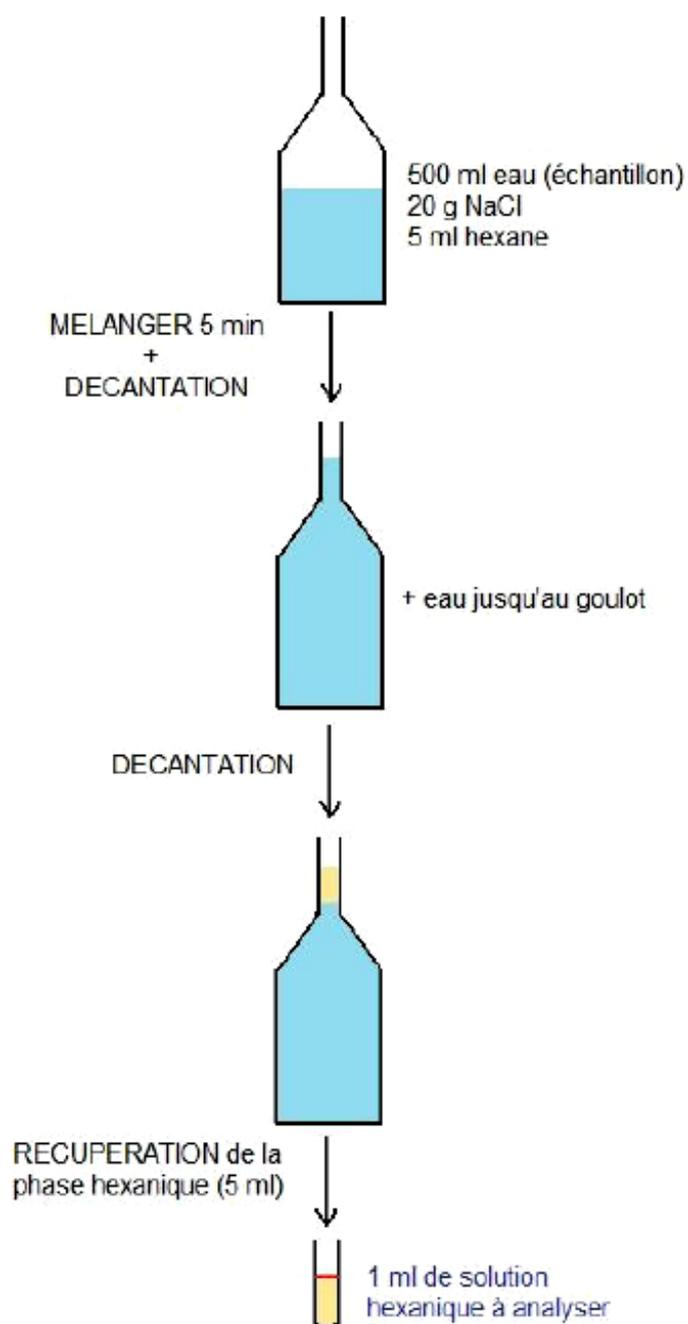


Source : Carte éditée par l'agence d'administration des ressources terrestres de la République du Kazakhstan, 2007

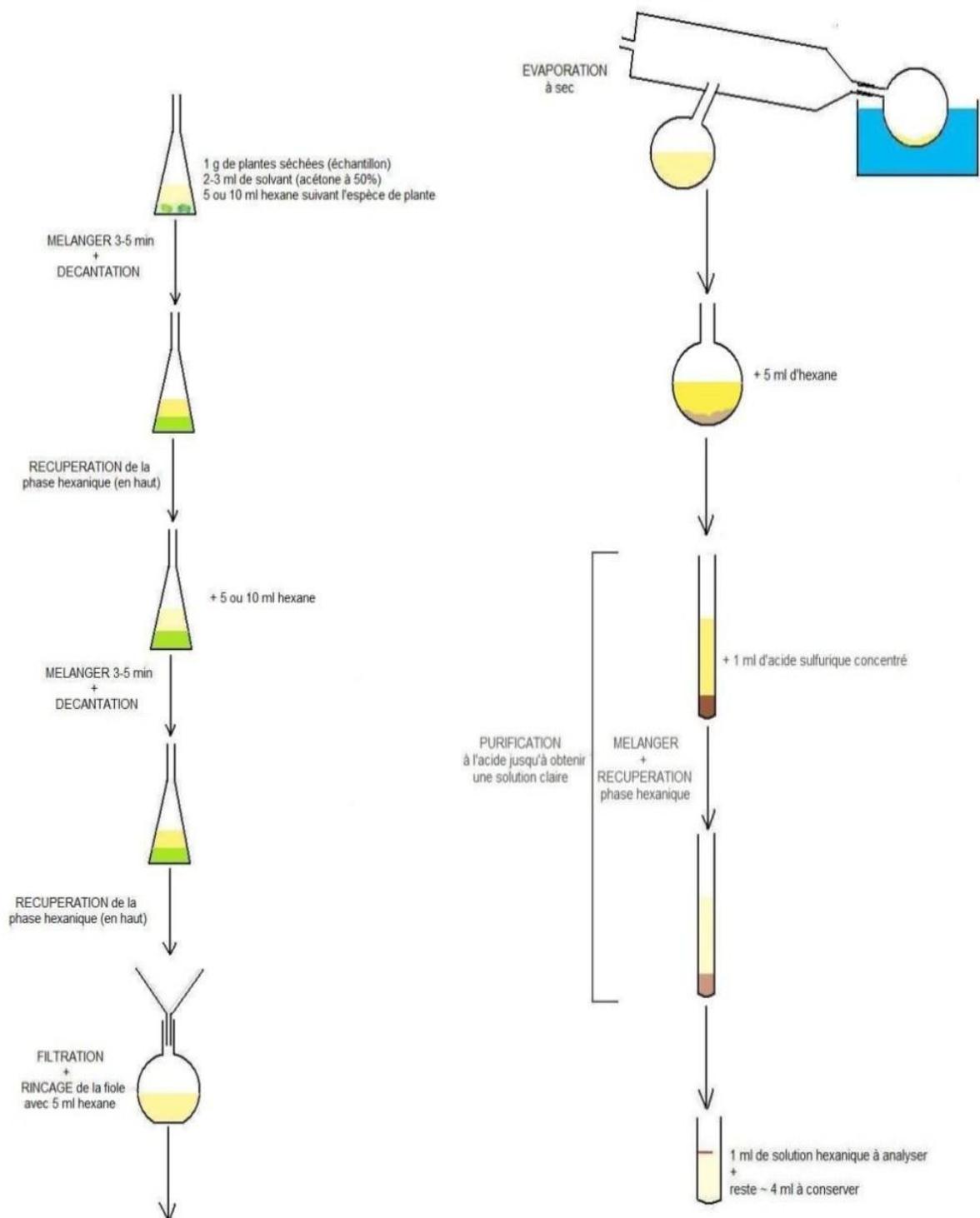
**Annexe 5 : Protocole de préparation des échantillons de sol pour le dosage des pesticides. Source : laboratoire «Lezart»**



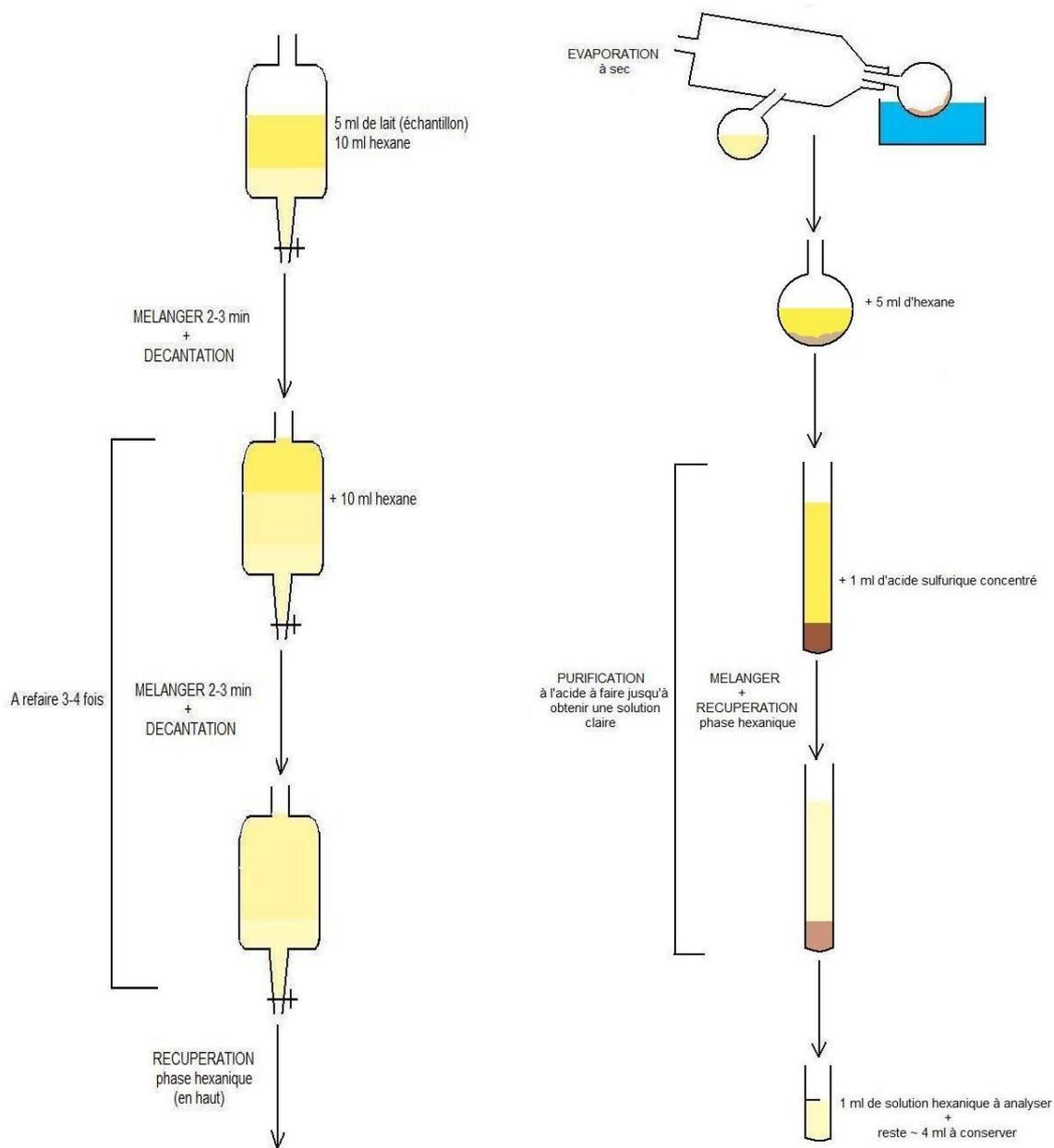
**Annexe 6** : Protocole de préparation des échantillons d'eau pour le dosage des pesticides. Source : laboratoire «Lezart»



**Annexe 7** : Protocole de préparation des échantillons de plantes pour le dosage des pesticides. Source : laboratoire «Lezart»



**Annexe 8** : Protocole de préparation des échantillons de lait et de *shubat* pour le dosage des pesticides. Source : laboratoire «Lezart»



**Annexe 9** : Tableau des amorces pour le séquençage de produits PCR de 1500pb.

Tableau des amorces sp3, sp4, sp5.

<b>Amorces</b>	<b>Séquences</b>
<b>Sp3</b> (Sigma-Genosys, France)	5'- TAC GCA TTT CAC C(GT)C TAC A
<b>Sp4</b> (Sigma-Genosys, France)	5'- CTC GTT GCG GGA CTT AAC
<b>Sp5</b> (Sigma-Genosys, France)	5'- G(AGCT)T ACC TTG TTA CGA CTT

**Annexe 10** : Purification de l'ADN à partir du gel d'agarose low melting température (www.promega.com)

1. **Objectif** :

Purification de l'ADN récupéré du gel d'agarose low melting temperature

2. **Matériels et équipements** :

**Matériels** :

- Lames de scalpel chirurgical stériles
- Micro-colonne, kit Wizard PCR Preps DNA Purification system (Promega, France)

**Produits** :

- Résine du kit Wizard
- Isopropanol 80%
- Eau ultra pure

**Équipement** :

- Centrifugeuse (10 000x g)
- Congélateur -20 C

3. **Mode opératoire** :

1. Placer le morceau ( $\pm 300$ mg) du gel d'agarose low melting temperature correspondant à une bande visible découpé à l'aide d'une lame de scalpel stérile dans un tube eppendorf de 1.5 ml.
2. Incuber à 70 °C dans un bain-marie jusqu'à la fusion totale de l'agarose.
3. Malaxer la résine PCR Preps, s'il y a des cristaux et des agrégats, les faire fondre en chauffant à 25-37 °C pendant 10 minutes.
4. Refroidir jusqu'à 30 °C avant utilisation.
5. Ajouter 1 ml de résine à la bande d'agarose fondu.
6. Agiter pendant 20 s, manuellement sans vortexer
7. Il faut travailler rapidement pour éviter un refroidissement qui nuirait à la qualité de l'extraction
8. Pour chaque échantillon de PCR, préparer un Wizard Minicolumn. Enlever et séparer le poussoir à part de la seringue de 5 ml. Attacher la seringue à la partie Luer-Lok de chaque minicolonne.
9. Pipeter le mélange résine dans la seringue. Insérer le poussoir lentement, et pousser doucement le produit à travers la colonne.
10. Détacher la seringue de la minicolonne et enlever le poussoir de la seringue. Rattacher la seringue à la minicolonne.
11. Pour nettoyer la colonne, ajouter 2 ml 80 % isopropanol dans la seringue, insérer le poussoir et pousser doucement à travers la colonne.
12. Sécher la résine pas plus de 30 sec. Enlever la seringue et transférer le contenu de la colonne dans un microtube de 1.5 ml.
13. Centrifuger la colonne à 10,000g pendant 2 min. Pour enlever les résidus d'isopropanol.
14. Transférer la colonne sur un microtube neuf de 1.5ml. Ajouter 50  $\mu$ l de l'eau stérile et attendre 1 min. Centrifuger le tube à 10,000g pendant 20 sec.
15. Conserver l'ADN à -20 C.

## Annexe 11 : Points GPS

Tableau 1 : Position GPS des sources de pollution

Nom	Description	Source des données	Position	Altitude
Aca	Usine phosphate	GPS	N43.03954 E71.12530	491 m
Aralkoum	Chemin de fer	GPS	N46.50721 E61.89086	118 m
Baikonour	Station spatiale	GPS	N45.68208 E63.37223	187 m
Kengtaw	Usine polymétal	GPS	N43.51076 E68.47955	398 m
Kumkol	Pétrole	d'après observation terrain	N46.66660 E65.45148	
Tekeli	Usine polymétal	GPS	N44.84768 E78.82084	1076 m
Ickinié	Pétrole	data garmin	N47.36755 E52.66571	
Makat	Gaz	data garmin	N47.65045 E53.31665	
Doccor	Pétrole	GPS	N47.53104 E52.97809	118 m
KZL Z2	Usine asphalte Kyzylorda	GPS	N44.81540 E65.56348	122 m
KZL Z1	Déchetterie ouverte	GPS	N44.90111 E65.67946	138 m
CHPET	Raffinage pétrole	GPS	N42.26838 E69.65684	550 m
CHPL2	Usine polymétal	GPS	N42.31048 E69.54803	479 m
CHPNEU	Fabrication pneus	GPS	N42.28135 E69.73396	625 m
CHZAVKK	Usine asphalte Kizyl kopir	GPS	N42.82967 E69.13120	284 m
CHCA	Canal évacuation eaux usées	GPS	N43.29227 E68.18981	213 m
Zaratechnoe	Uranium	Solodukhin <i>et al.</i> , 2008	Région Sud Kazakhstan	
Xarasan	Uranium	Solodukhin <i>et al.</i> , 2008	Région Kyzylorda	
Irkol	Uranium	Solodukhin <i>et al.</i> , 2008	Région Kyzylorda	
Monyoukoum	Uranium	Solodukhin <i>et al.</i> , 2008	Région Kyzylorda	
Karamouroun	Uranium	Solodukhin <i>et al.</i> , 2008	Région Sud Kazakhstan	
Maten	Pétrole	d'après observations terrain	Région Atyrau	
Joldibaï	Pétrole	d'après observations terrain	Région Atyrau	

Tableau 2 : Position GPS des fermes

Nom	Region	Position	Altitude
Daulet beket	Almaty	N43.91307 E76.25747	563 m
KZL1	Kyzylorda	N44.66929 E65.56767	113 m
KZL2 Ferme	Kyzylorda	N44.88680 E65.64326	119 m
KZL2 Pâturages	Kyzylorda	N44.90332 E65.68960	124 m
KZL3	Kyzylorda	dans la ville, pas de réception GPS	
KZL4	Kyzylorda	N44.32257 E66.49960	140 m
KZL5	Kyzylorda	N44.33372 E66.50770	142 m
CH1	Chimkent	N43.27931 E68.30691	206 m
CH2	Chimkent	N43.24419 E68.26550	206 m
CH3	Chimkent	N42.82925 E69.13635	266 m
CH4	Chimkent	N42.81408 E69.17027	269 m
CH5	Chimkent	dans la ville, pas de réception GPS	
A1	Atyrau	39T0691261 UTM 5307650	
A2	Atyrau	39T0538509 UTM 5299528	
T1	Taraz	N43.45293 E070.73267	410 m
T2	Taraz	N43.53415 E070.67953	387 m

Lat/Long hddd.ddddd°

Système de référence : WGS 84

## Annexe 12 : Les indicateurs de risque

Fermes	Présence de machines	Provenance de l'eau	Distance de la route		Distance usine		Distance zone agricole		Distance a la ville		Présence aéroport		Distance exploitation pétrolière		Distance mine uranium		Présence déchets, décharge	Total indicateur
			km	Indicateur	km	Indicateur	km	Indicateur	km	Indicateur	km	Indicateur	km	Indicateur	km	Indicateur		
Dalet beket	1	Nappe souterraine	3,5	0	100	1	#	0	65 Kapchagai	1	#	0	#	0	#	0	1	4
KZL1	0	Nappe souterraine	0,6	0	16	2	#	0	19	2	3	1	#	1	110	1	0	7
KZL2 Ferme	0	Canal provenant de Syrdaria	1	0	10	2	0,5	1	10	2	#	0	#	1	110	1	2	9
KZL3	0	Syr Darya	0	1	5	2	#	0	0	3	#	0	#	1	110	1	0	8
KZL4	0	Tracé de SyrDaria	0,5	1	90	1	#	0	26	1	#	0	#	1	20	2	0	6
KZL5	1	Tracé de SyrDaria	0,8	0	90	1	#	0	26	1	#	0	#	1	20	2	1	7
CH1	0	Nappe souterraine	0,5	1	31 Kentaw	1	0,5	1	5	3	#	0	#	0	80	1	0	7
CH2	0	Nappe souterraine	0,5	1	31 Kentaw	1	0,5	1	6,5	2	#	0	#	0	80	1	0	6
CH3	0	Nappe souterraine	0,5	1	0,5	3	0,5	1	92,5	1	#	0	#	0	150	1	0	7
CH4	0	Nappe souterraine	0,5	1	1	3	0,5	1	92	1	#	0	#	0	150	1	0	7
CH5	1	Nappe souterraine	0	1	2	3	#	0	0	3	#	0	#	0	80	1	1	10
A1	1	Nappe souterraine	20	0	#	0	#	0	35	1	#	0	4 et 8	3	#	0	1	6
A2	1	Rivière	5	0	#	0	#	0	80 (Atyrau)	1	#	0	50	1	#	0	0	3

Daulet Beket=DB; A1=AT2; A2=AT2.

**Annexe 13** : Concentration en pesticides organochlorés dans le sol des fermes (ppm)

Région	Ferme	$\alpha$ -HCH	$\beta$ -HCH	$\gamma$ -HCH	4,4-DDE	2,4-DDD	4,4-DDD	4,4-DDT
Almaty	DB	0,012	0	0,011	0	0	0	0
Almaty	DB	0,001	0	0,001	0	0	0	0
Sud Kazakhstan	CH1	0,091	0	0,006	0	0	0	0
Sud Kazakhstan	CH1	0,021	0	0,003	0	0	0	0
Sud Kazakhstan	CH2	0,05	0	0,014	0	0	0	0
Sud Kazakhstan	CH2	0,351	0	0,1	0	0	0	0
Sud Kazakhstan	CH3	0,002	0	0,005	0	0	0	0
Sud Kazakhstan	CH4	0,02	0	0,012	0	0	0	0
Sud Kazakhstan	CH5	0,022	0	0,005	0	0	0	0
Kyzylorda	KZ1	0,05	0	0,016	0,02	0	0	0,025
Kyzylorda	KZ1	0,015	0	0,003	0,006	0	0	0
Kyzylorda	KZ2	0,037	0	0,013	0,045	0	0,015	0,02
Kyzylorda	KZ2	0,036	0	0,011	0,074	0	0	0,138
Kyzylorda	KZ3	0,051	0	0,023	0,02	0	0,015	0,06
Kyzylorda	KZ4	0,084	0,023	0,031	0,015	0	0	0,02
Kyzylorda	KZ5	0,04	0	0,015	0,02	0	0	0,185
Atyraou	AT1	0,014	0	0,01	0	0	0	0
Atyraou	AT2	0,029	0	0,015	0	0	0	0,035

**Annexe 14** : Concentration en pesticides organochlorés dans l'eau des fermes (ppm)

Région	Ferme	$\alpha$ -HCH	$\beta$ -HCH	$\gamma$ -HCH	4,4-DDE	2,4-DDD	4,4-DDD	4,4-DDT
Almaty	DB	0	0	0	0	0	0	0
Sud Kazakhstan	CH1	0	0	0	0	0	0	0
Sud Kazakhstan	CH2	0	0	0	0	0	0	0
Sud Kazakhstan	CH3	0	0	0	0	0	0	0
Sud Kazakhstan	CH4	0,0025	0	0	0	0	0	0
Sud Kazakhstan	CH5	0,002	0	0	0	0	0	0
Kyzylorda	KZ1	0,0015	0	0	0	0	0	0
Kyzylorda	KZ2	0	0	0	0	0	0	0
Kyzylorda	KZ3	0	0	0	0	0	0	0
Kyzylorda	KZ4	0	0	0	0	0	0	0
Kyzylorda	KZ5	0,0018	0	0	0	0	0	0
Atyraou	AT1	0	0	0	0	0	0	0
Atyraou	AT2	0	0	0	0	0	0	0

**Annexe 15** : Concentration en pesticides organochlorés dans les plantes des fermes (ppm)

Région	Ferme	$\alpha$ -HCH	$\beta$ -HCH	$\gamma$ -HCH	4,4-DDE	2,4-DDD	4,4-DDD	4,4-DDT
Almaty	DB	0,031	0	0,004	0,02	0	0	0,045
Sud Kazakhstan	CH3	0,036	0	0,007	0,086	0	0,025	0,063
Sud Kazakhstan	CH4	0,012	0	0,003	0,02	0	0	0
Sud Kazakhstan	CH5	0,03	0	0,012	0,079	0	0,02	0,039
Kyzylorda	KZ6	0,041	0,021	0,009	0,136	0,031	0,047	0,05
Kyzylorda	KZ6	0,019	0	0,003	0,057	0	0	0,02
Kyzylorda	KZ2	0,024	0	0,003	0,028	0	0	0,03
Kyzylorda	KZ2	0,042	0	0,006	0	0	0	0
Kyzylorda	KZ2	0,028	0	0,005	0	0	0	0
Kyzylorda	KZ2	0,018	0	0,008	0	0	0	0
Atyraou	AT1	0,015	0	0,003	0,02	0	0	0
Atyraou	AT1	0,004	0	0,003	0	0	0	0
Atyraou	AT2	0,032	0	0,014	0,14	0	0,053	0,055
Atyraou	AT2	0,027	0	0,005	0	0	0	0,03
Atyraou	AT2	0,022	0	0,003	0,035	0	0	0,08
Atyraou	AT2	0,034	0	0,016	0,05	0	0,02	0,023
Atyraou	AT2	0,011	0	0,003	0,017	0	0	0,02

**Annexe 16** : Concentration en pesticides organochlorés dans le lait et le *shubat* des fermes (ppm)

Région	Ferme	Objet	$\alpha$ -HCH	$\beta$ -HCH	$\gamma$ -HCH	4,4-DDE	2,4-DDD	4,4-DDD	4,4-DDT
Almaty	DB	<i>shubat</i>	0,03	0,007	0,005	0	0	0,065	0
Almaty	DB	lait	0,027	0	0,005	0,04	0	0	0
Sud Kazakhstan	CH1	lait	0,015	0	0,042	0	0	0,02	0,11
Sud Kazakhstan	CH1	<i>shubat</i>	0,007	0	0,003	0	0	0	0
Sud Kazakhstan	CH2	lait	0,01	0	0,003	0	0	0	0
Sud Kazakhstan	CH3	lait	0,006	0	0,02	0	0	0,02	0,04
Sud Kazakhstan	CH3	<i>shubat</i>	0,003	0	0	0,01	0	0	0
Sud Kazakhstan	CH5	<i>shubat</i>	0,03	0	0,003	0	0	0	0
Kyzylorda	KZ1	<i>shubat</i>	0,024	0,01	0,005	0,025	0	0	0
Kyzylorda	KZ1	lait	0,024	0	0,004	0,018	0	0	0
Kyzylorda	KZ2	lait	0,028	0,005	0,005	0,01	0	0	0,02
Kyzylorda	KZ2	lait	0,015	0	0,003	0,01	0	0	0
Kyzylorda	KZ3	lait	0,011	0	0,003	0	0	0	0
Kyzylorda	KZ4	lait	0,038	0	0,009	0,015	0	0,025	0
Kyzylorda	KZ4	lait	0,008	0	0,003	0	0	0	0
Kyzylorda	KZ5	lait	0,02	0	0,003	0	0	0	0
Atyraou	AT1	lait	0,042	0,011	0,009	0	0	0	0
Atyraou	AT1	lait	0,038	0	0,052	0,01	0	0,055	0,075
Atyraou	AT2	<i>shubat</i>	0,03	0	0,006	0	0	0	0
Atyraou	AT2	lait	0,028	0,014	0,003	0,015	0	0	0

## Annexe 17. Liste exhaustive des publications de S. Akhmetsadykova

1. **Akhmetsadykova S.**, Narmuratova M.H., Meldebekova A.A. **2007**. Some physicochemical parameters of camel milk colostrum. 1<sup>st</sup> International Congress of students and young scientists, Mir nauki, Almaty, p. 126-127 (in kazakh).
2. **Akhmetsadykova S.** **2008**. *Interactions entre les bactéries lactiques et les métaux lourds*. Rapport de stage Master 2: Nutrition, agro-valorisation en santé publique : SupAgro, Montpellier : p. 45.
3. Konuspayeva G., Faye B., Loiseau G., Diacono E., **Akhmetsadykova S.** **2008**. Pollution of camel milk by heavy metals in Kazakhstan. First IDF/INRA International Symposium on Minerals and Dairy products October 1-3, Saint-Malo, France, abstract n°3, p. 3.
4. Abilakan U., Atishova M., Zhumagazieva A., Raiymbek G., Kanayat S., **Akhmetsadykova S.**, Serikkyzy A. **2009**. Lactoserum proteins of camel milk. 3<sup>rd</sup> International Congress of students and young scientists, Mir nauki, Almaty, p. 167-168 (in kazakh).
5. **Akhmetsadykova S.N.**, Loiseau G., Faye B., Konuspayeva G.S., Baubekova A.C. **2009**. Developpement of quality test to determine the binding capacity of lead and cadmium ions by LAB. *Izdenister, natizheler*, 3, p. 27-31 (in russian).
6. Konuspayeva G., Faye B., Loiseau G., Diacono E., **Akhmetsadykova S.** **2009**. Pollution of camel milk by heavy metals in Kazakhstan. *The open environmental pollution & toxicology journal*, 1, p. 112-118.
7. Le Guillou M., **Akhmetsadykova S.** **2009**. Diagnostic and spatial analysis of pollution around farm provide data for studying the impact of environmental pollution on milk quality in Kazakhstan. 3<sup>rd</sup> International Congress of students and young scientists, Mir nauki, Almaty, p. 197-198.
8. Loiseau G., Faye B., Konuspayeva G., **Akhmetsadykova S.** **2009**. Interaction of lead and cadmium with lactic bacteria isolated from camel milk and *shubat* from Kazakhstan. 2<sup>nd</sup> conference of the International Society of Camelids Reserch and development (ISOCARD), march 11-14, Djerba, Tunisia.
9. **Akhmetsadykova S.**, Loiseau G., Faye B., Konuspayeva G. **2009**. Interaction du plomb et du cadmium avec les bactéries lactiques du lait de chamelle et *shubat* (lait fermenté). Proceeding 16 Rencontre autour des Recherches sur les Ruminants, 2-3 decembre, INRA, Paris, p.164.
10. **Akhmetsadykova S.**, Loiseau G., Faye B., Le Guillou M., Konuspayeva G. **2010**. Pollution index and potential detoxification of fermented camel milk face to heavy metals. Proc. Intl Camel Symp. « Camel science & development for sustainable livelihoods », Garissa (Kenya), KARI Ed., 10-15th June, poster n°26.

11. Bari A., Zhumagazieva A., Baubekova A.S., **Akhmetsadykova S.**, Konuspayeva G.S. **2010**. Creation of new fermented milk products from camel milk. 3<sup>rd</sup> International Congress of students and young scientists, Mir nauki, Almaty, p. 164-165 (in russian).
12. Konuspayeva G., Faye B., Loiseau G., Ivashchenko A., Narmuratova M., **Akhmetsadykova S.**, Davletov S. **2010**. Physiological Change in Camel Milk composition (Camelus dromedarius) 2. Physico-chemical composition of colostrum. *Tropical animal health and production*. 42:501-505 DOI 10.1007/s11250-009-99450-4.
13. Narmuratova G.H., Meldebekova A.A., **Akhmetsadykova S.**, Abaildaev A.O., Narmuratova M.H., Konuspayeva G.S. **2010**. Determination of heavy metals in the food chaine : water-fourrage- camel milk and *shubat*. 3<sup>rd</sup> International Congress of students and young scientists, Mir nauki, Almaty, p. 201 (in kazakh).
14. **Akhmetsadykova S.N.**, Baubekova A.S., Raiymbek G., Faye B., Loiseau G., Konuspayeva G.K. **2011**. Determination the binding capacity of lead and cadmium ions by LAB isolated from camel milk and *shubat*. *Vestnik KazNU, biology serie*, 4 (50), p. 121-124(in russian).
15. Konuspayeva G., Jurjanz S., Loiseau G., Barci V., **Akhmetsadykova S.**, Meldebekova A., Faye B. **2011**. Contamination of Camel Milk (Heavy Metals, Organic Pollutants and Radionuclides) in Kazakhstan. *Journal of Environmental Protection*, 2, p. 90-96.
16. **Akhmetsadykova S.**, Konuspayeva G., Loiseau G., Baubekova A., Kanayat Sh., Akhmetsadykov N., Faye B. **2012**. Protection against lead contamination by strains of lactic acid bacteria from fermented camel milk. *Emirates Journal of Food and Agriculture* (accepté).