

Chapitre 1 notion de toxicité

- 1.1. Définitions
- 1.2. Mode de pénétration des substances toxiques
- 1.3. Différentes phases d'action d'une substance toxique : Phase d'exposition - Phase toxicinétique- Phase toxicodynamique
- 1.4. Manifestations de la toxicité : Toxicité aiguë- Toxicité subaiguë - Toxicité à long terme
- 1.5. Evaluation de la toxicité : Tests toxicologiques - Les précautions à prendre - Principaux paramètres (DL 50, DL 10, TL 50, CL 50)- Méthodes analytiques

1. Définitions

1.1. Définition du toxique

Le toxique a été identifié comme un poison, c'est-à-dire des substances qui provoquent chez les animaux et l'homme la mort rapide après l'exposition (**Ramad, 2007**).

Dans l'antiquité le terme toxique signifie poison. Cependant avec le développement de la civilisation technologique moderne qui est responsable de la production d'innombrables produits chimiques, l'être humain, se trouve exposé dans son lieu de travail ou dans son environnement à plusieurs substances chimiques qui peuvent être responsables aux effets chroniques plus ou moins graves. Le concept du toxique a été évolué dès le début de ^{20 ème} siècle ; donc une substance toxique peut être définie comme « *Une substance est dite toxique lorsqu'elle provoque, après pénétration dans l'organisme, des troubles d'une ou de plusieurs fonctions vitales, pouvant aller jusqu'à leur suppression complète et amener la mort – de façon passagère ou durable, – dans l'immédiat, à court terme ou à long terme, – quel que soit l'origine, la voie de pénétration, – à dose relativement élevée, administrée en une fois ou plusieurs fois très rapprochées, – ou par petites doses longtemps répétées.* »

Les substances toxiques n'ont pas seulement des effets sur la santé humaine mais ils affectent également les populations animales et végétales exposées dans leur environnement naturel.

1.2. Définition du toxine : substance toxique issue d'un organisme vivant (bactérie, champignon, plante ...)

1.3. **Définition du xénobiotique** : c'est le terme général utilisé pour une substance étrangère prise dans le corps. Il est dérivé du terme grec *xeno* qui signifie « étranger ». Les Xénobiotiques peuvent produire des effets bénéfiques (tels que des produits pharmaceutiques) ou peuvent être toxiques (comme le plomb), sachant que : *la dose différencie si une substance sera un remède ou un poison (Paracelsus 1541)*. Un xénobiotique en petites quantités peut être non toxique et même bénéfique, mais lorsque la dose est augmentée, des effets toxiques et létaux peuvent en résulter.

1.4. Définition de toxicologie

Selon le dictionnaire médicale Masson 1998 « La toxicologie est définie comme l'étude des poisons et des toxiques ». O'Brien (1967) a défini la toxicologie comme « l'étude des mécanismes par lesquels les substances toxiques exercent leurs effets ».

Ramade (2007) a donné une définition plus large de la toxicologie en prenant en considération l'aspect analytique de la toxicologie, donc selon lui « la toxicologie est l'étude des mécanismes de contamination, de biotransformation et d'action des toxiques aux échelles moléculaires, cellulaires, à celles des organes, et enfin à celles des êtres vivants pris dans leur intégrité, ainsi que des conséquences physiologiques qui en découlent »

2. Modes de pénétration des substances toxiques

Les substances peuvent entrer dans les organismes par différentes voies, les modalités de pénétration dépendent de la nature de l'organisme vivant et de son mode de vie.

2.1. Pénétration des substances toxiques chez les végétaux

Les végétaux sont exposés aux substances toxiques par différentes voies

- Par diffusion directe à travers le parenchyme pour les gaz toxiques
- Par respiration stomatique
- Par contact avec les parties aériennes
- Par absorption radiculaire en cas de pollution du sol.

2.2. Pénétration des substances chez les animaux terrestres (figure)

Les organismes terrestres sont exposés aux substances toxiques par trois voies

A. La voie respiratoire (par inhalation) ou par voie pulmonaire.

Les poumons sont le lieu des échanges gazeux entre l'air des alvéoles et le sang des vaisseaux capillaires qui tapissent les alvéoles pulmonaires. Ils sont le siège de la respiration, qui permet l'absorption et l'élimination des gaz. Les polluants atmosphériques se trouvent dans l'aire entre dans les organismes terrestres par cette voie.

B. Par contact cutané

La peau une barrière imperméable qui protège le corps contre les substances toxiques. Cependant certaines substances toxiques notamment ceux qui sont liposolubles peuvent traverser cette barrière et donc entrer dans la circulation sanguine.

C. Par ingestion ou par voie orale

Elle survient par ingestion accidentelle ou volontaire des substances toxiques ou de l'alimentation

contaminée

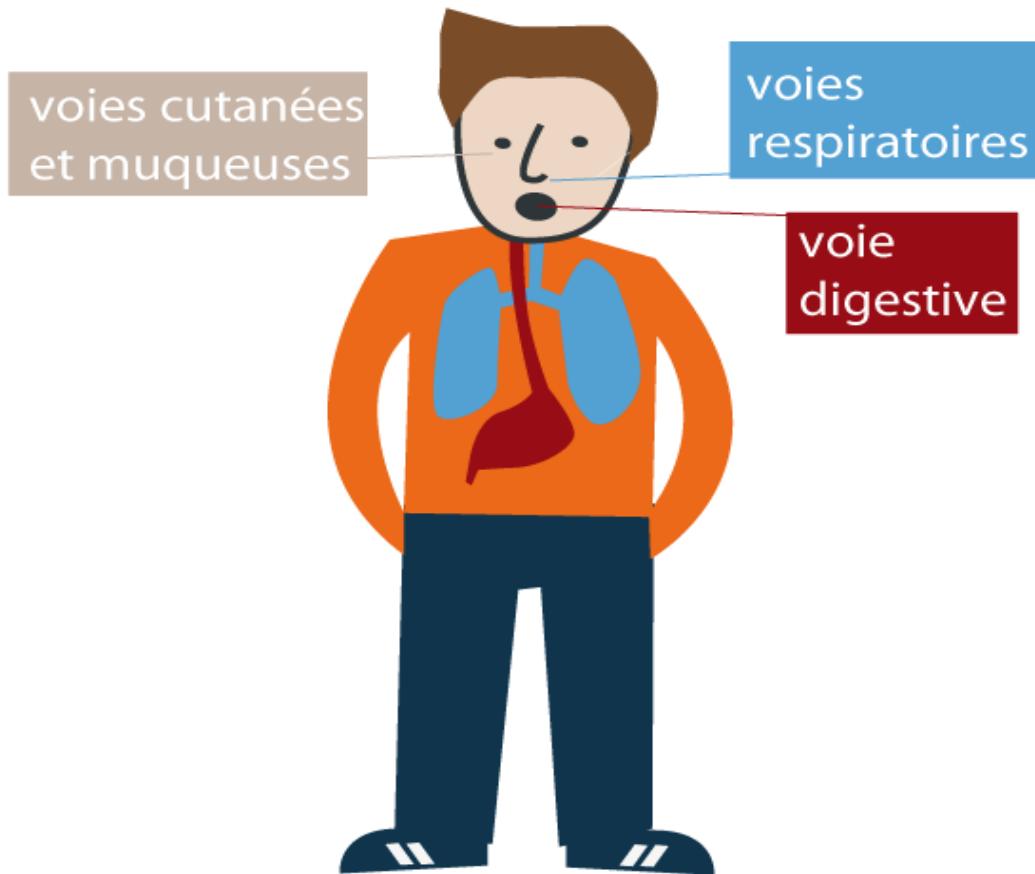


Figure.1. Voies de pénétration des substances toxiques chez les animaux terrestres (exemple l'être humain)

2.3. Voies de pénétration des substances toxiques chez les organismes aquatiques

Chez les organismes aquatiques la pénétration des substances toxiques peuvent se faire par voie transbranchiale (voie respiratoire) par contact cutané ou par voie alimentaire (par ingestion), on ne peut pas séparer les voies de pénétration car elles se produisent simultanément.

3. Différentes phases d'action d'une substance toxique : Phase d'exposition - Phase toxicinétique- Phase toxidynamique, phase d'excration

3.1. Toxicocinétique

La toxicité d'une substance dépend de la vitesse de son apparition dans le site récepteur

La toxicocinétique fournit une description des processus mis en jeu dans

L'absorption, la distribution, les interactions le métabolisme et l'élimination (figure.2)

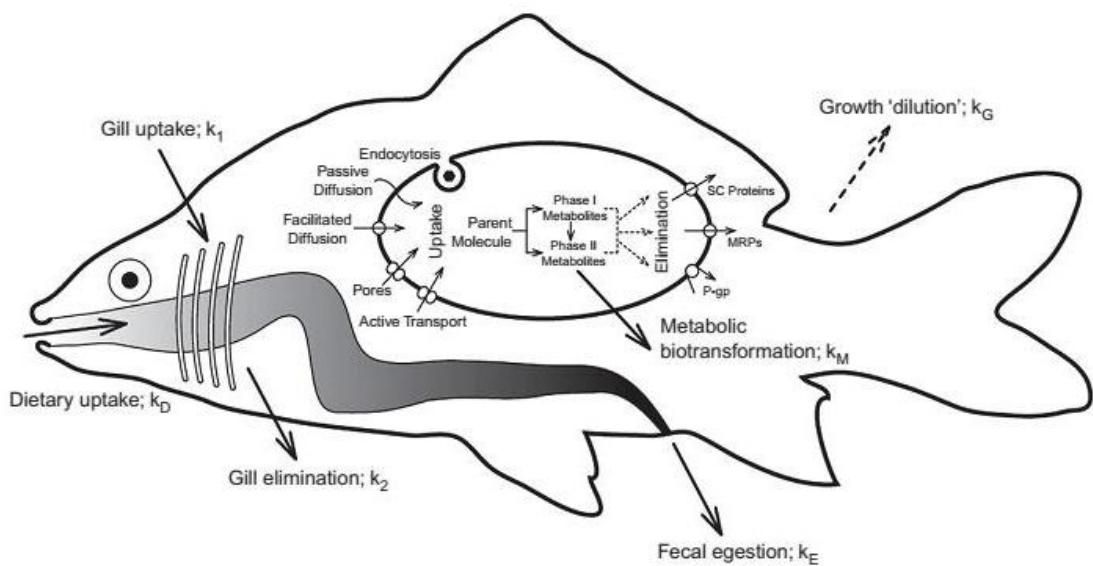
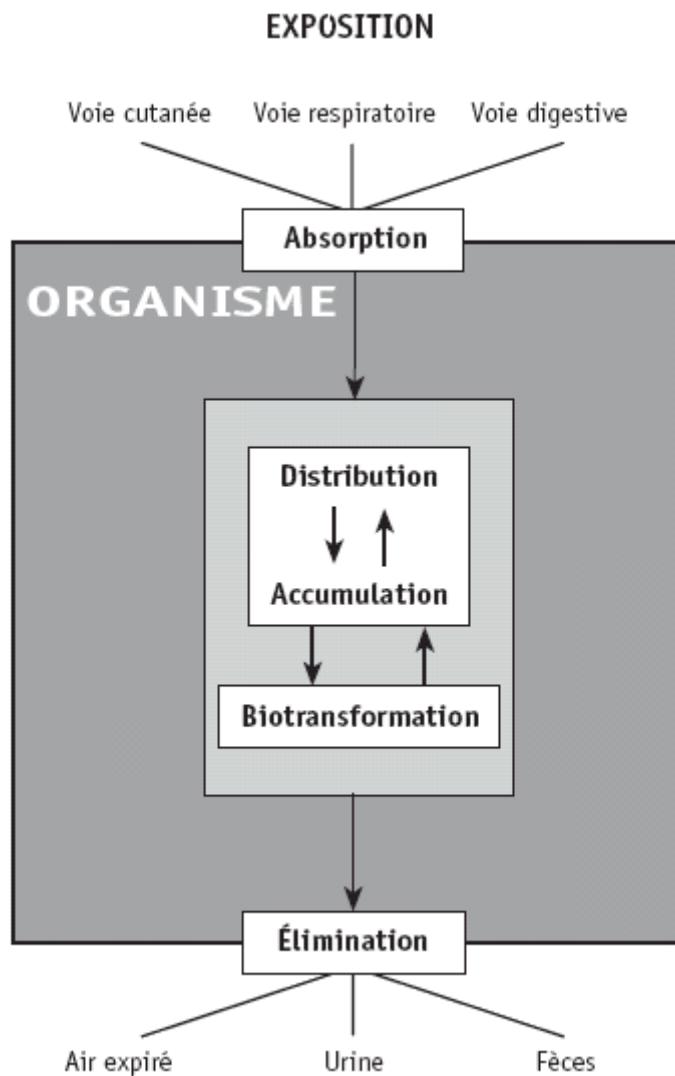


Figure.2. Le devenir d'une substance toxique dans l'organisme (Tierney et al., 2014).



A. Absorption/résorption des xénobiotiques

Cette étape correspond au transfert des substances toxiques depuis la voie d'exposition jusqu'à la circulation générale. Ce processus est influencé par différentes propriétés physicochimiques à savoir : l'hydro solubilité ou la liposolubilité du toxique, son état d'ionisation, sa masse molaire.

L'étape de résorption concerne toutes les voies de pénétration (voie orale, cutanée, ou pulmonaire...), Le processus d'absorption/résorption peut être passif ou actif en fonction des caractéristiques de la membrane ou des couches cellulaires à traverser.

Transfert des xénobiotiques à travers les membranes

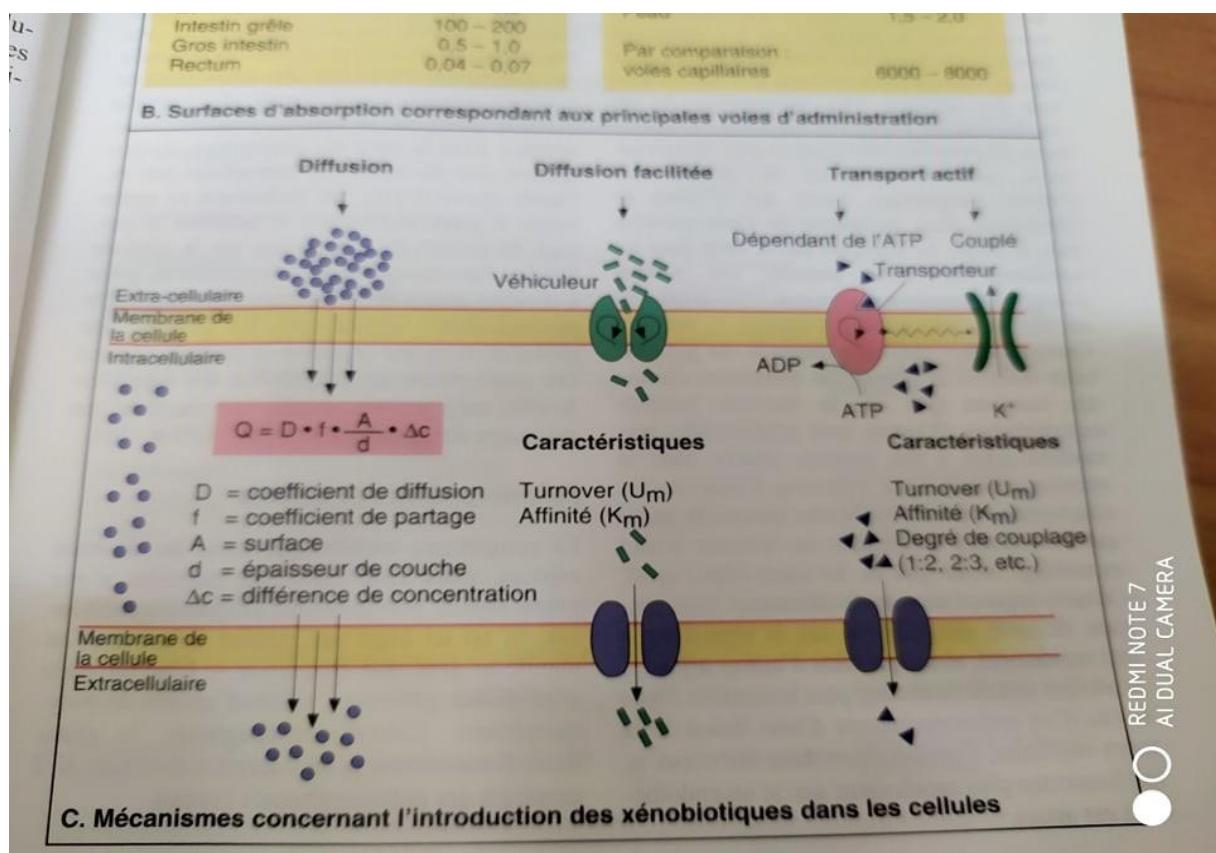


Figure 3. Mécanismes concernant l'introduction des xénobiotiques dans les cellules

Transfert passif

Transfert passif Le passage est dit «passif» quand la substance traverse librement les membranes lipidiques par des phénomènes de franchissement transcellulaire, paracellulaire ou de filtre poreux (essentiellement le glomérule rénal). Ce phénomène suit la loi de Fick. Un gradient de concentration assure le passage du xénobiotique du compartiment où il est plus

concentré vers celui où il l'est le moins. Ce type de transport concerne les substances lipophiles.

Diffusion facilitée

Certaines molécules (glucose, acides aminés...) traversent les membranes lipidiques par ce mécanisme par l'intermédiaire de transporteurs. Le transfert est alors saturable et compétitif.
Transfert actif

Le transport actif

Fait intervenir des transporteurs membranaires spécifiques assurant le transport des anions (OAT, Organic Anion Transporter), des cations (OCT, Organic Cation Transporter) ou des acides biliaires.

B. La distribution

Une fois dans la circulation sanguine, le xénobiotique a d'abord se distribuer dans le sang puis diffuser dans les tissus.

Diffusion sanguine

Le sang renferme des éléments figurés (dont près de 99 % d'hématies) et le plasma qui contient des protéines circulantes pouvant fixer des xénobiotiques :

Albumine (protéine majoritaire : 40 g/L), α_1 -glycoprotéine, lipoprotéines, gammaglobulines...

Dans le plasma, les xénobiotiques sont présents sous deux formes :

- une forme liée des xénobiotiques, qui est sans effet toxique et elle ne diffuse pas, est non métabolisable et non éliminable ; c'est donc une forme de réserve circulante dont le relargage dépend d'une constante de dissociation et du nombre de sites disponibles;
- la forme libre, ou non liée, qui est diffusible (si non ionisée), peut être métabolisée et épurée ; c'est donc la forme toxicologiquement active qui va interagir avec une cible moléculaire (récepteur, enzyme, constituants cellulaires divers...). Le pourcentage de fixation peut varier de 0 % à 99,99 %. Ce phénomène est saturable et soumis à compétition.

Distribution tissulaire

Le xénobiotique pour atteindre sa cible d'action toxicologique doit parfois traverser plusieurs tissus, de natures différentes, et qui eux-mêmes échangent ce principe actif. Tout comme pour la résorption, la diffusion va dépendre des propriétés physicochimiques des molécules (liposolubilité, masse moléculaire, degré d'ionisation...) mais également des caractéristiques des tissus cibles (hydro solubilité ou liposolubilité favorable à tel ou tel xénobiotique entraînant ainsi leur accumulation

Le stockage

C'est le processus d'accumulation de toxiques dans certains tissus et organes tels que le foie et le rein (Cd) tissu adipeux (DDT) les Os (F-).

C. La biotransformation des xénobiotiques

Elle représente la transformation métabolique des xénobiotique

Elle a lieu principalement dans le foie, et en partie dans les poumons les reins, la peau le plasma, l'intestin et les branchies pour les organismes aquatiques ;

Le métabolisme des xénobiotiques se produit généralement pendant deux phases ;



Figure. 4. La biotransformation des xénobiotiques

Phase I (fonctionnalisation) et Phase II (conjugaison)

Les réactions de première phase (phase I), localisées essentiellement au Niveau de la membrane du réticulum endoplasmique, permettent de fixer un groupement Fonctionnel à la molécule initiale, le métabolite produit est plus hydrosoluble. Tandis que les Réactions de la deuxième phase (phase II) sont responsables de la conjugaison aux molécules Endogènes, comme l'acide glucuronique, le glutathion, et les sulfates.etc, les métabolites Produits dans la première phase ou également des substances originales ;

Généralement, les réactions de biotransformation sont catalysées par des systèmes Enzymatiques (**Tableau.1**) conduisant à la transformation des polluants chimiques et en particulier les produits organiques de synthèse lipophiles en métabolites plus hydrophiles et facilement excrétables. Ainsi, ces réactions de biotransformation sont considérées comme des réactions de défense de l'organisme qui conduisent à la détoxicification et l'élimination des produits chimiques toxiques, mais aussi dans certains cas à la production des métabolites intermédiaires hautement plus toxiques que les molécules parents

Tableau 3. Les différentes enzymes impliquées dans les réactions de biotransformation (Walker et al., 2012)

Enzyme	Principale location	Cofacteur	Substrat
Phase 1			
Monooxygénases microsomaux (Fonction mixte Oxydases)	Le réticulum endoplasmique de plusieurs tissus des animaux, en particulier les foies des vertébrés ; les hépatopancréas, les corps gras et les entrailles des invertébrés.	Oxygène, NADPH/ NADH.	La majorité des xénobiotiques lipophiles (poids moléculaire ≤ 800).
réductases	Le réticulum endoplasmique et le cytosol de plusieurs types des cellules animales.	NADH/NADPH .	Composés organonitro, certains organohalogénés, par exemple le DDT
A estérases	le réticulum endoplasmique de certains types de cellules des vertébrés, le sérum et le plasma des mammifères.	Ca ²⁺	Esters et organophosphorés.
Carboxylesterase	Le réticulum endoplasmique de plusieurs tissus des animaux ; le cytosol, le sérum et le plasma des vertébrés.	Inconnu.	Esters carboxyliques lipophiles.
Époxyde hydrolase	le réticulum endoplasmique des cellules animales ; et certains cytosols.	Inconnu.	Époxydes organiques.
Phase II			
UDP-glucuronyl transférase.	le réticulum endoplasmique.	UDP/ Acide glucuronique.	Composés organiques avec groupes OH ; certains composés organiques avec des NH ₂ .
Sulfotransférase.	Le cytosol de plusieurs types des cellules animales.	Phosphoadénine et phosphosulfate.	Composés organiques avec groupes OH libres.
Glutathion-S- transférase.	Le cytosol et le réticulum endoplasmique de plusieurs types des cellules animales.	Glutathion	Composés électrophiles étrangers, y compris certains organohalogénés et époxydes organiques.

Réactions de la phase 1

Dans les réactions de la phase I, des groupes fonctionnels (tels que les groupes OH, NH₂, et SH) sont introduits dans les xénobiotiques lipophiles, absorbés par l'organisme, par des réactions d'oxydation, de réduction ou d'hydrolyse. Plusieurs enzymes tels que les monooxygénases dépendants du cytochrome P450 (cytochrome P450 [ct P450], cytochrome b5 [ct b5], NADPH cytochrome P450 réductase [P450 RED]) et les carboxylestérases sont impliquées dans ces réactions ;

Les cytochromes P450 (CYP) constituent une super-famille des protéines hémisphériques, localisées dans le réticulum endoplasmique et les membranes internes des mitochondries, qui catalysent les réactions d'oxydation et de réduction dans les milieux biologiques **al.** . Ils ont la capacité d'activer les molécules de dioxygène aux entités hautement réactives et d'insérer ensuite l'oxygène moléculaire dans un nombre important des substrats tant au niveau d'un atome de carbone que d'azote ou de soufre selon la réaction suivante



Les cytochromes P450 existent sous différentes formes dont 70 à 80% de ces enzymes sont impliquées dans le métabolisme des médicaments.

Réactions de la phase II.

La phase II, ou phase de conjugaison, conduit à la liaison des ligands hydrophiles endogènes à des composés polaires étrangers. Elle a lieu soit à la suite de la phase I, soit directement sur les molécules parents à groupements polaires. En effet, le groupe introduit dans la phase initiale n'est pas toujours nécessaire aux réactions de biotransformation

. La plupart des substances conjuguées ont une solubilité considérable dans l'eau et peuvent être facilement excrétées par la bile et/ou les urines.

Les réactions de conjugaison sont généralement catalysées par des enzymes membranaires ou cytosoliques (les glutathion S-transférases (GST), les UDP-glucuronosyl-transférases (UDPGT) et les sulfo-transférases) qui fonctionnent avec différents cofacteurs (glutathion, sulfates, acide glucuronique). Ces enzymes peuvent jouer un rôle important dans l'homéostasie ainsi que dans la détoxicification de nombreux composés xénobiotiques. La voie principale pour la détoxicification des composés et des métabolites électrophiles est la conjugaison avec le GSH, alors que pour les composés nucléophiles, la conjugaison avec l'acide glucuronique est la voie principale de détoxicification. Les autres voies jouent un rôle mineur chez les poissons

Les glutathion-S-transférases. sont des enzymes de la phase II catalysant nombreuses réactions dont la plus connue est la conjugaison avec un tri peptide (gamma-glutamyl-cysteinyl-glycine) le GSH réduit à des substrats endogènes et aux xénobiotiques électrophiles ayant des propriétés toxiques, mutagènes et cancérogènes afin de neutraliser et éliminer des produits chimiques capables d'engendrer des effets toxiques

D. Élimination des xénobiotiques

L'élimination représente la phase finale du devenir d'un toxique de l'organisme. Elle concerne l'ensemble des xénobiotiques quel que soit leur forme sous forme inchangée (molécule hydrosoluble), sous forme de métabolites toxiques, actifs ou inactifs, ou sous forme conjuguées ou non.

Les principales voies d'élimination des xénobiotiques de l'organisme sont la voie rénale et la voie biliaire.

La voie rénale

Les reins sont généralement responsables de l'excration des xénobiotiques hydrosolubles

L'élimination rénale implique trois processus: (1) la filtration glomérulaire, (2) la sécrétion tubulaire active et (3) réabsorption passive. La filtration à travers les pores capillaires permet le passage de la plupart des xénobiotiques sauf ceux liés aux protéines plasmatiques

Filtration glomérulaire

La filtration glomérulaire suit un processus de diffusion passive non saturable à travers les pores du glomérule rénal. De ce fait, seules les molécules de masse moléculaire inférieure à 68 000 Da peuvent franchir la paroi glomérulaire.

Réabsorption tubulaire

La réabsorption tubulaire est une étape facultative qui conduit au retour du toxique dans la circulation générale. Elle concerne des molécules préalablement filtrées. Le processus est passif et dépend de la liposolubilité, du degré d'ionisation des molécules, fonction du pH urinaire. Les molécules hydrosolubles ne sont pas réabsorbées.

Sécrétion tubulaire

Les cellules du tube proximal sont capables de sécréter des substances du plasma dans l'urine. La sécrétion tubulaire est une étape facultative qui concerne les molécules qui n'ont pas encore été filtrées ou qui ont été réabsorbées. Ce processus actif fait intervenir des transporteurs. Il est saturable et compétitif donc susceptible d'engendrer des interactions entre les xénobiotiques ;

Voie biliaire

La voie biliaire est responsable d'élimination des molécules mère et les molécules métabolisées qui ne peuvent pas être éliminé par voie rénale (grosses molécules et des molécules liposolubles). Ces molécules sont généralement éliminées dans la matière fécale.

Autres voies d'excrétion

Il existe d'autres voies d'excrétion, parfois considérées comme les seules issues pour se débarrasser du toxique, voici quelques exemples :

- Sueur : Plomb –

Salive : Mercure –

Lait : PCB (liposoluble)

- Excrétions pulmonaires : solvants volatils, CO2 –

Phanères : Arsenic

3.2. Phase toxicodynamique

La toxicodynamique concerne les effets toxiques exercés par les xénobiotiques sur l'organisme

Les effets toxiques qui résultent d'interactions biochimiques entre la molécule toxique et des structures de l'organisme, varient selon les produits, l'organe cible, les mécanismes d'action, les facteurs liés à l'individu et les interactions chimiques. Caractéristiques générales Effet local et effet systémique,

L'effet local correspond à une action immédiate du produit au niveau de la zone de contact : tube digestif, peau, appareil respiratoire.

L'effet systémique résulte de l'action du toxique après absorption et distribution dans différentes parties de l'organisme humain

Effet réversible et effet irréversible

Les effets réversibles disparaissent dès que l'exposition à la molécule toxique cesse.

Les effets irréversibles persistent voire progressent après la phase d'exposition

A. Effet immédiat ou aigu et effet retardé ou chronique

Contrairement aux effets immédiats ou aigus qui apparaissent rapidement après l'exposition, certains effets apparaissent tardivement, comme par exemple l'effet cancérogène qui survient plusieurs années après l'exposition, dans ce cas il s'agit d'effet retardé ou chronique.

Cette chronologie variable dans les effets est liée à la fois à la dose de toxique et au niveau d'exposition. Le terme d'effet subaigu est employé pour décrire un état intermédiaire entre les effets aigus et les effets chroniques

■ Effet morphologique, fonctionnel ou biochimique

L'effet morphologique conduit à une modification tissulaire comme par exemple une nécrose ou une néoplasie. Il est généralement irréversible.

L'effet fonctionnel correspond à un changement des fonctions d'un organe. Il est en général réversible comme par exemple la stéatose hépatique ou l'hépatite.

L'effet biochimique est conventionnellement considéré comme ne donnant pas de modifications morphologiques visibles.

4. Manifestations de la toxicité : Toxicité aiguë- Toxicité subaiguë - Toxicité à long terme

Les effets des substances toxiques sur les êtres vivants varient selon la dose et la durée d'exposition

4.1. Toxicité aigue

Elle est définie comme celle qui provoque la mort ou de très graves troubles physiologiques après un court délai (généralement 24heures) suivant l'absorption ou l'exposition à une substance toxique à une dose importante en une seule prise ou à plusieurs reprises. Exemple la toxicité aiguë par des champignons

4.2. Toxicité subaiguë

C'est l'intoxication due à l'exposition des organismes vivants à des concentrations plus faibles que celle responsables de la toxicité aiguë pendant une durée qui ne dépasse pas 28 jours. Une fraction importante de la population voir la totalité peut survivre en présentant des signes cliniques de l'intoxication

4.3. La toxicité chronique

La toxicité chronique est celle qui est due à l'exposition répétée à de très petites concentrations pendant une période supérieure à 3 mois ; ce type d'intoxication est très répondu chez les organismes vivants qui sont continuellement exposés à des concentrations faibles dans leur milieu naturel, ainsi que dans le milieu de travail pour l'homme.

5. Evaluation de la toxicité

Elle a pour but d'évaluer le degré de sensibilité ou de résistance des organismes vivants vis-à-vis une substance toxique ou un xénobiotique et de déterminer les différentes formes de toxicité (par inhalation, par contact cutané ou par ingestion) ainsi que l'évaluation des différents effets létaux et sublétaux. (Mortalité, baisse de reproduction, baisse de respiration...). Ces tests sont menés dans des conditions contrôlées de lumière, température, milieu de culture ou support d'élevage

Pour l'écotoxicologie l'évaluation des paramètres de toxicité n'est pas déterminée au niveau de l'individu isolée mais au niveau de la population.

5.1.Les précautions à prendre

Les tests de toxicité doivent être réalisés dans des conditions expérimentales standardisées sur une espèce de référence convenablement choisie.

Trois précautions doivent être prises en considération dans tous les tests écotoxicologiques

1. Rassembler des échantillons homogènes de l'espèce testée. Il faut sélectionner des individus de même sexe de même âge et de même poids.
2. Utilisé une technique d'exposition qui assure une normalisation des conditions d'expérimentation pendant toute la durée d'exposition ;
3. Recueillir les données numériques et les analyser avec une méthode statistique appropriée.

5.2.Modèle à choisir

Les tests de toxicité peuvent être effectués sur des modèles In vitro et sur des modèles In vivo

Modèle in vitro

Dans le Modèle in vitro le test n'est pas effectué sur l'organisme entier mais plutôt sur des organes isolés, des tissus isolés, sur des cellules isolées et sur des extract cellulaire (ou des constituants cellulaires (organites, enzymes)

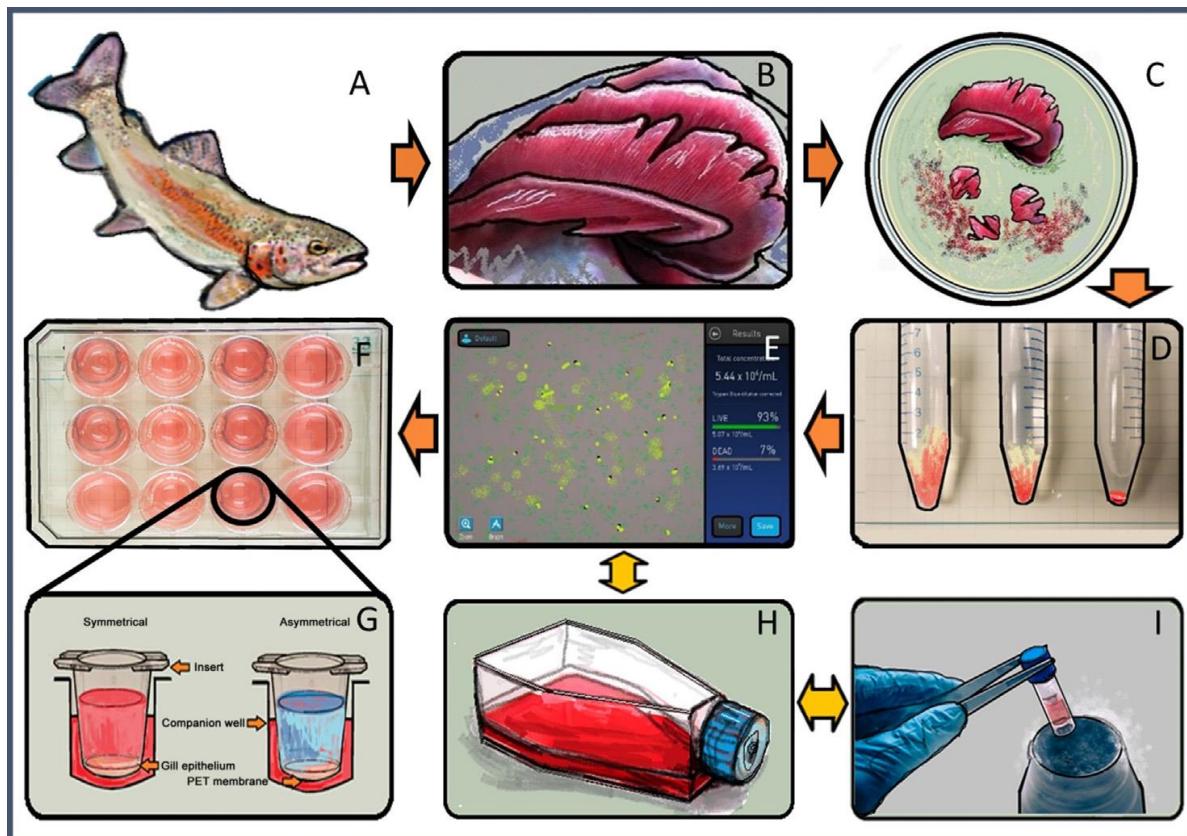


Figure.5. modèle in vitro

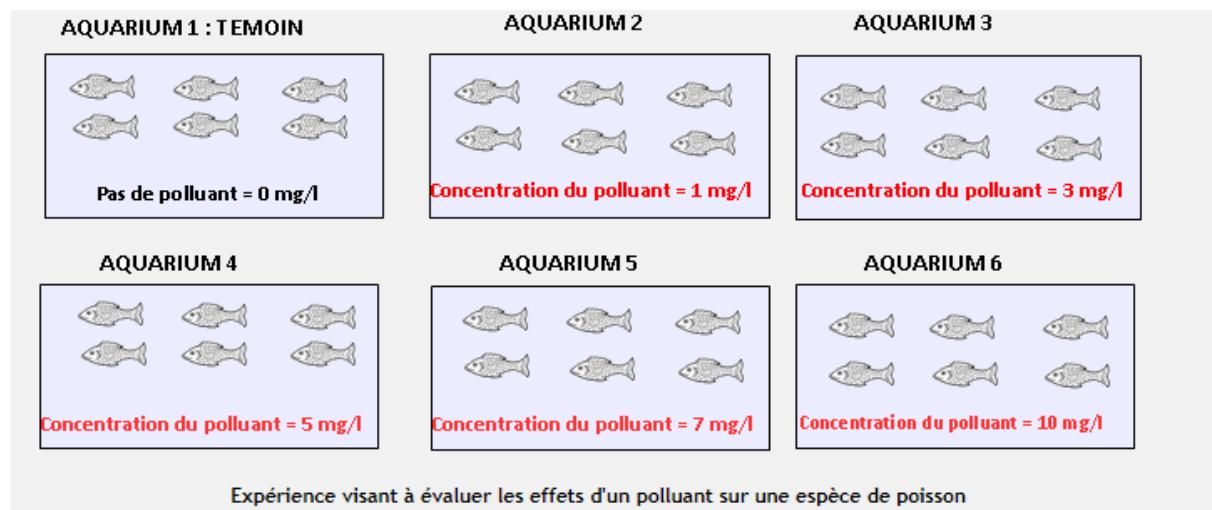
Modèle in vivo

Dans le Modèle in vivo en utilise des animaux de laboratoires vivants

En toxicologie on utilise généralement les souris les rats et le lapin

En écotoxicologie aquatiques on utilise les daphnies, les algues marines, les crustacées les poissons et les amphibiens dans la toxicologie aquatique

Pour évaluer les effets des polluants du sol on utilise les invertébrés terrestres



Daphnia magna



Fig.1

Amphibien s

5.3. Différents type de testes

A. Tests de toxicité aigue

Dans ce teste les organismes sont exposés aux substances toxique à forte concentration pendant une courte durée.

Ce teste consiste à utiliser 3 groupes d'animaux chaque groupe contient 10 individus. Chaque groupe reçoit une dose bien déterminer après une administration pendant 14 jours toute la mortalité sont notés. Les effets comportementaux doivent être aussi signalés, après la fin de test tous les organismes doivent être autopsies.

Il est important de noter que la notion de toxicité aigüe est relative à la durée de vie de l'organisme testé. Ainsi, une durée de test de 14 jours chez le ver de terre et de 24h chez la daphnie correspondent tous deux à une évaluation de la toxicité aigüe.

Calcul de la DL50, CL50

On calcule la DL50 et la CL50 à partir des résultats de obtenus de l'expérience de toxicité ai

Toxicology 7

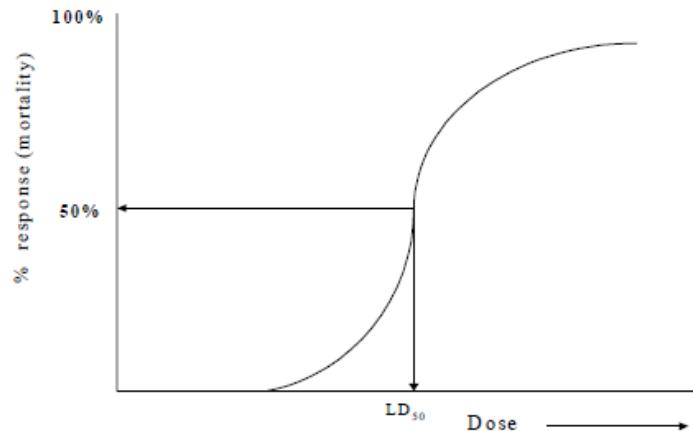


Fig. 1.2 Derivation of an LD_{50} value from a dose-response curve.
gue

Figure.6. calcul de la DL50

La DL50 représente la dose qui tue 50% de la population exposé généralement par injection

La CL50 représente la concentration qui tue 50% de la population exposée par contact ou par inhalation. On peut aussi calculer la DL10 et CL10 qui représente la dose ou la concentration qui tue 10% de la population exposée.

La DL90 et LA CL90 représentent la dose et la concentration qui tuent 90% de la population exposée.

La DL et CL 50 permettent de classer la substance toxique

Tableau .2. classement des substances toxiques selon la DL50

DL50	Indice ou classe de toxicité
Moins de 5 mg/Kg	ultra toxique
5-50 mg/kg	Extrêmement toxique
50-500mg/kg	Très toxique
0.5-5 g/kg	Moyennement toxique
5-15 g/kg	Légèrement toxique
Plus de 15 g/kg	Non toxique

B. Relation entre la mortalité et le temps d'exposition

L'évaluation de la mortalité en fonction du temps consiste à mesuré le taux de mortalité à intervalle du temps croissant (en heure s en jours et en semaines selon la taille de l'organisme étudié) après l'exposition aux substances toxiques

On obtient ainsi une groupe sigmoïde à partir du quelle on peut calculer la TL50 qui représente le temps qui provoque la mort de 50% de population exposée à une dose déterminée du toxique.

C. Mesure des effets non létaux

Parfois la mortalité est difficile à évaluer avec certaines substances et chez certains invertébrés qui peuvent présenter une paralysie temporaire et peuvent survivre à l'intoxication. Dans ces cas n se refera à d'autres paramètres qui ne correspondent pas la dose ou la concentration létale

Mais selon le cas une concentration d'inhibition CI ou une concentration efficace CE

CI 50 représente la concentration qui inhibe la mobilité de 50% de la population testée, ou celle qui inhibe 50% d'une activité physiologique.

Pour les insectes qui sont exposés aux pesticides on calcule le « Knock- Dawn » ce phénomène est caractérisé par l'apparition des incoordinations motrice suite à 'intoxication, avec une incapacité de vol chez les insectes intoxiqués qui atteignent une ataxie locomotrice gisso sur le dos, on peut calculer le KD 50 qui la concentration des pesticides qui responsable du knock-down de 50% des insectes exposés au insecticides.

On utilise CE50ou DE 50 pour déterminer les effets sur les acticité physiologiques tel que l'effet sur la fécondité (stérilisation de la population), effet sur le succès de reproduction, effet sur la croissance et sur la productivité primaire.

D. Tests de toxicité chronique

Les test de toxicité chronique permet d'investiguer les effets cumulées qui sont dus à l'exposition répété à de très faibles concentration pendant toute la vie ou une long partie de vie ; ces tests de toxicité ont un intérêt spécial vue qui nous donnent des information intéressantes sur l'effets toxique à long terme du à la présence des xénobiotiques dans notre environnement, dans notre alimentation et dans e milieu de travail. Ces teste nous ont permet de déterminer NOEL(**No Observed Adverse Effect Level**) et LOEL. **Lowest Observed Adverse Effect Level** .

Exemple

Dans notre exemple, nous allons prendre le cas d'une toxicité chronique : au bout d'1 mois, les œufs pondus par les poissons et le nombre de décès seront comptés. Le schéma ci-dessous permet de comprendre comment une expérience peut permettre la détermination des valeurs de référence d'un test écotoxicologique : la CE 50, la NOEC et la LOEC.

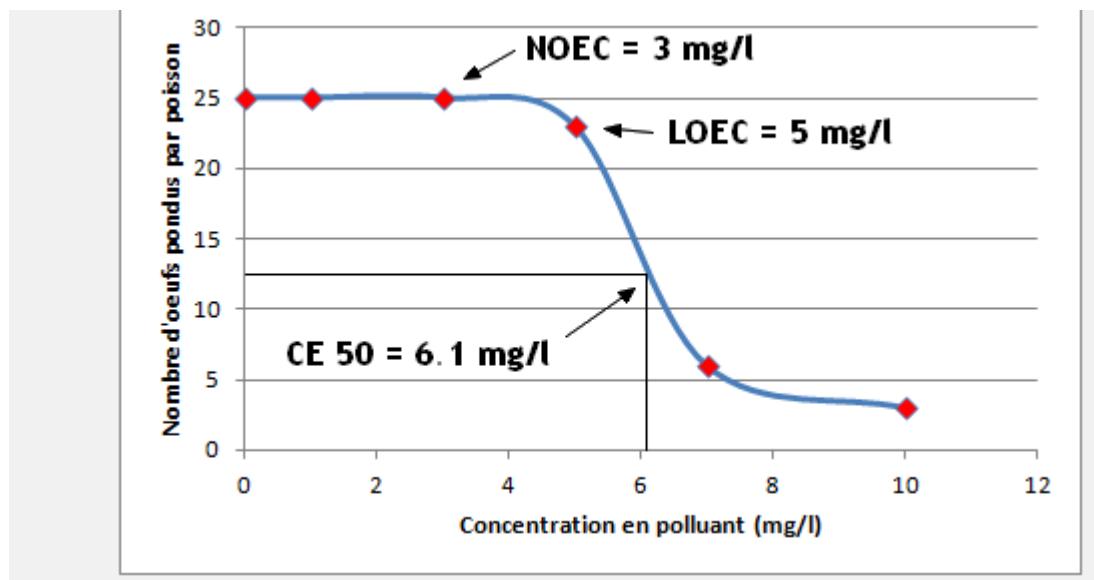


Figure.7 .Exemple de toxicité chronique

6. Les bios essais

Les bios essais ont pour but:

- **d'évaluer la dangerosité d'une ou plusieurs substances** : ce peut être un polluant que l'on trouve dans les milieux naturels (ex : un pesticide) ou un nouveau produit industriel dont on souhaite connaître les effets potentiels sur l'environnement (ex : un conservateur de produits cosmétiques)
- **d'évaluer la qualité d'un milieu** : par exemple, si un sol a été pollué aux métaux lourds à cause d'une usine, on souhaite savoir si la pollution de ce sol est dangereuse pour la faune qui y vit (vers de terre etc.)
- **de comprendre les mécanismes d'action d'un polluant** : étude de la bioaccumulation d'une substance (= faculté à s'accumuler dans les tissus d'un organisme), compréhension des phénomènes de toxicité du polluant, etc.

6.1.Définition de bios essais

Un bio essai consiste à exposer un organisme vivant (ou une cellule) à une substance dont on souhaite évaluer la toxicité. Cette substance peut être ingérée (la substance est ajoutée dans la nourriture), injectée directement dans l'animal, inhalée (c'est à dire respirée) ou encore se trouver dans le milieu de vie de l'organisme (par exemple dans l'eau d'un aquarium).

Les bios essais normalisés

D'après une livre de **Calow** de 1993, un bon test écotoxicologique doit respecter la règle des 5R (en anglais) :

- **Relevance** : ce qui signifie réalisme, pertinence, représentativité. L'organisme vivant choisi pour le test doit être représentatif du milieu évalué : ex un ver de terre représente bien les organismes du sol puisqu'il est très présent et très important dans la "vie d'un sol"
- **Reliability** : fiabilité. Une méthode fiable peut être utilisée à n'importe quel moment.
- **Repeatability** : répétabilité. Lorsque le test est répété, il doit donner des résultats qui varient peu.
- **Reproducibility** : reproductibilité. Si différents laboratoires à travers le monde réalisent le test sur une même substance, ils doivent trouver des résultats voisins.
- **Robustness** : robustesse. Une méthode robuste est susceptible d'être utilisée par n'importe quel technicien moyennement entraîné ou formé.
-

A. Tests d'écotoxicité aquatique

Essais de toxicité aiguë (à court terme)

Essai de mobilité de daphnies (norme ISO 6341)

Les tests utilisant des daphnies sont les plus utilisés en écotoxicologie, du fait notamment, de leur facilité d'utilisation. Ce test a pour objectif d'évaluer la toxicité aiguë du produit testé pour la faune aquatique (micro-crustacés). Ce test permet de déterminer la concentration du produit testé qui, en 24 h, immobilise 50 % des daphnies (*Daphnia magna*) mises en expérimentation (concentration efficace initiale inhibitrice, CE 50i – 24 h).



Figure.7. daphnies

Test microtox (norme NF EN ISO 11348-3 (1999))

Il permet d'évaluer la toxicité aigüe d'un ou de plusieurs produits vis-à-vis des bactéries. *Vibrio fischeri*, la bactérie marine utilisée dans ce test, émet naturellement des photons (= lumière). En présence de toxiques, son métabolisme (=ensemble des dépenses énergétiques) est affecté, ce qui se traduit par une chute de sa luminescence (émission lumineuse). En utilisant cette propriété, ce test permet donc de déterminer la concentration du produit testé qui diminue de 50 % le métabolisme de la bactérie étudiée (CI 50).

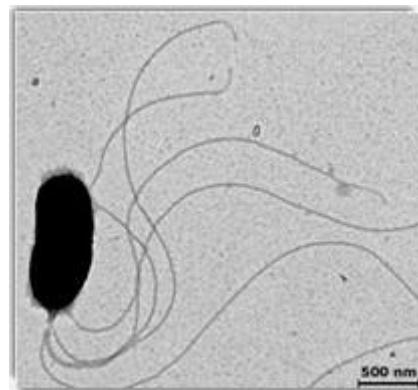


Figure.8. La bactérie marine *Vibrio fischeri* – Source : [pnas.org, 2011](https://www.pnas.org)

Test de survie des poissons :

Ce test vise à évaluer la toxicité aigüe de produits sur une espèce de poisson d'eau douce (le poisson zèbre *Danio rerio*) à différents stades de son développement. Ainsi, les concentrations en polluants induisant une mortalité de 50 % des individus (CL50) peuvent être déterminées pour les poissons adultes mais aussi pour les œufs de poissons.



Figure.9. Le poisson zèbre *Danio rerio* – Source : [aquaportal.com, 2011](https://www.aquaportal.com)

Test de toxicité chronique (à long terme)

Essai de reproduction de daphnies (norme OCDE 211.1998) :

Ce test évalue la toxicité chronique (à long terme) du produit testé pour la faune aquatique (micro-crustacés). Il consiste à mesurer la reproduction (nombres de jeunes produits) de daphnies exposées à différentes concentrations d'un composé après 21 jours d'expérimentation. Comme l'ensemble des essais de toxicité chronique, ce test s'intéresse en particulier à la NOEC (No Observed Effect Concentration) et à la LOEC (Lowest Observed Effect Concentration):

- la NOEC: dans ce test, c'est la plus forte concentration testée où la reproduction des daphnies n'est pas différente de celle des témoins
- la LOEC: dans ce test, c'est la plus faible concentration testée où la reproduction des daphnies est statistiquement différente de celle des témoins

Test algues (norme AFNOR T90-304 (mai 2005)) :

Ce test vise à évaluer la toxicité chronique du produit testé pour la flore aquatique. Il consiste à mesurer la croissance (sous microscope) de l'algue d'eau douce *Pseudokirchneriella subcapitata* après 72h d'exposition au produit ou au prélèvement d'eau testé : certains composés auront pour effet d'inhiber la croissance de l'algue, révélant ainsi leur toxicité vis à vis des végétaux aquatiques

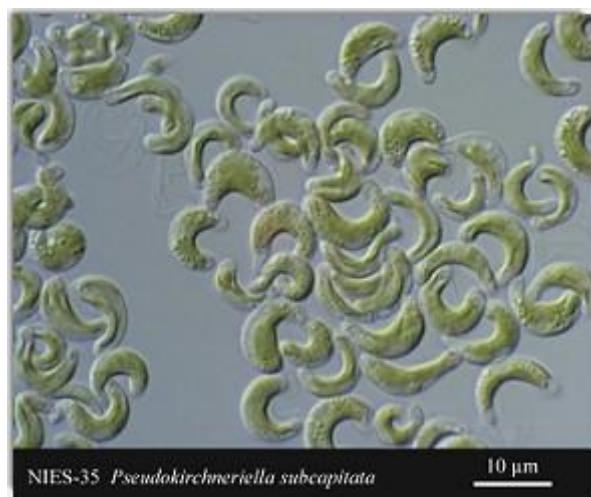


Figure.9. L'algue d'eau douce *Pseudokirchneriella subcapitata* (chaque croissant correspond à un individu)
– Source : ecotox.ca, 2011

B. Tests d'écotoxicité terrestre

Différents tests permettent d'évaluer la toxicité de polluants sur les organismes terrestres tels que les animaux vivant dans le sol (vers de terre, collemboles, etc.) ou les végétaux.

Test vers de terre (normes ISO 11268.1 (1998) et ISO 11268.2 (1993)) :

Il existe deux tests vers de terre : l'un évalue la toxicité aigüe (court terme) et l'autre la toxicité chronique (long terme). Pour le premier, on évaluera la mortalité de vers de terre exposés, pendant 14 jours, à un sol pollué : on déterminera la concentration léthale pour 50 % des individus (CL50). Pour le second, on déterminera les effets à long terme (4 à 8 semaines) de polluants sur la reproduction des organismes : on s'interessera à la concentration sans effet sur la reproduction (NOEC). Pour ces deux tests, on utilisera l'espèce de vers de terre *Eisenia fetida*.



Figure.10. Le ver de terre *Eisenia fetida* – Source : worm-farm.co.za , 2011

C. Tests de génotoxicité / cancérogénicité

Ces tests évaluent la toxicité de polluants sur l'ADN (génotoxicité) et leur faculté à induire un cancer chez un organisme (cancérogénicité).

Essai des comètes :

L'essai des comètes permet de mesurer les cassures de l'ADN (molécule support de l'information génétique) induites par un polluant, qu'on appellera alors agent génotoxique. Après application d'une technique particulière appelée électrophorèse, les noyaux dont l'ADN a subi des cassures (dues à un polluant) prennent une forme de comète alors que les noyaux dont l'ADN n'est pas endommagé restent ronds (voir photographie ci-dessous) (ifremer.fr, 2011).

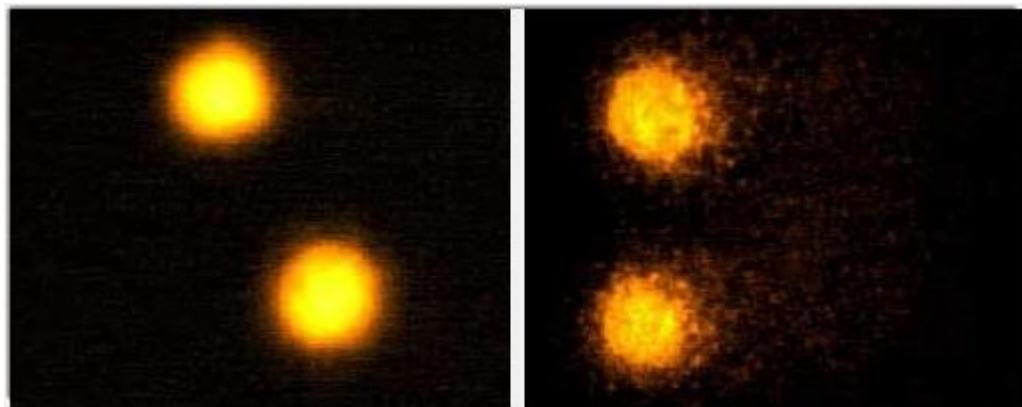


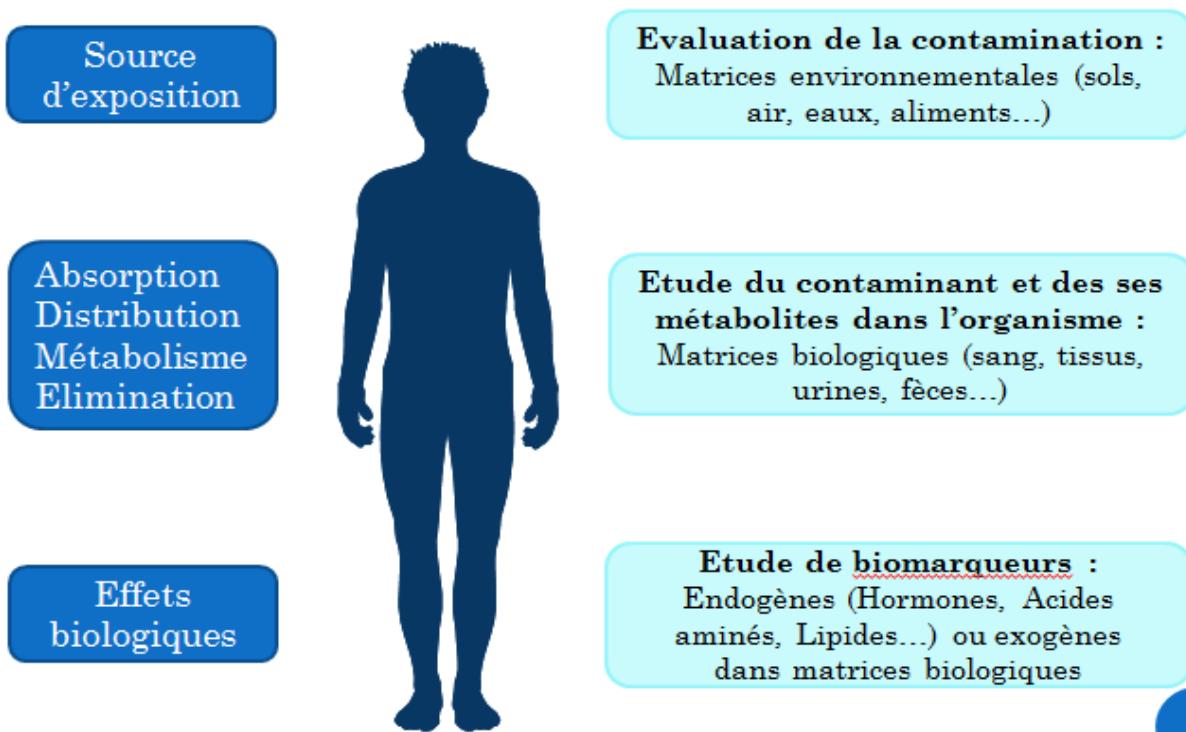
Figure.11. Essai des comètes : noyaux d'ADN sans cassure à gauche (témoin) et avec cassure (queue de la comète) à droite (exposé à un produit génotoxique) – Source : ifremer.fr, 2011

7. Méthodes analytiques

La toxicologie analytique est définie comme la détection, l'identification et le dosage des xénobiotiques dans les milieux biologiques et non biologiques.

Ces analyses sont appliquées à plusieurs domaines de toxicologie notamment :

- La toxicologie hospitalière et l'addictologie
- La toxicologie médico-légale
- La toxicologie professionnelle ou industrielle
- La toxicologie environnementale
- La toxicologie alimentaire



7.1. *Méthodologie (plan à suivre)*

1. Prélèvement d'échantillon
2. Stockage
3. prétraitement
4. Extraction
5. Analyse instrumentale
6. traitement et interprétation des résultats

7.2. *Ex, de méthode d'analyse*

Immunochimique
(Elisa, RIA,
Chémiluminescence)

Chromatographique
(HPLC, GC,...)

