

**DOCUMENT**

Agence de l'eau  
Rhin-Meuse

n° 13346

**OBJECTIFS  
DES  
ESSAIS  
TOXICOLOGIQUES**

# TABLE DES MATIERES

	<u>Pages</u>
AVANT-PROPOS	1
I. INTRODUCTION	2
II. CONSIDERATIONS GENERALES	4
III. TOXICOLOGIE	16
A) Toxicologie globale	16
1. Toxicité aiguë	16
2. Toxicité subaiguë	18
3. Toxicité chronique	20
B) Toxicologie spécifique	23
1. Tolérance locale cutanée et oculaire	23
2. Sensibilisation de la peau	24
3. Détection des effets mutagènes	26
4. Essais de cancérogénèse	31
5. Etudes de reproduction	34
IV. ECOTOXICOLOGIE	39
V. INTERPRETATION DES DONNEES-APPRECIATION DES RISQUES	45
VI. CONCLUSION	49
<hr/>	
ANNEXE 1 : Exemple de fiche d'identification d'une substance	50
ANNEXE 2 : Principe de détermination pratique de la DL 50 ou de la CL 50	51
ANNEXE 3 : Principe de l'examen anatomopathologique	58
ANNEXE 4 : Tests de mutagénèse	61
ANNEXE 5 : Liste des méthodes disponibles pour la réalisation des Essais de Toxicologie et d'Ecotoxicologie	62
ANNEXE 6 : Coûts et délais des études toxicologiques	67
ANNEXE 7 : Glossaire	68
ANNEXE 8 : Membres du Groupe de Travail	72
<hr/>	

A V A N T - P R O P O S

Ce document est principalement destiné aux personnes non spécialistes des questions de toxicologie et d'écotoxicologie mais qui sont intéressées par ces problèmes comme par exemple les personnes travaillant dans des entreprises où sont utilisés des produits chimiques.

Son objectif n'est donc pas de former des toxicologues, mais d'aider tous ceux qui souhaitent comprendre et utiliser les résultats des expérimentations toxicologiques, et écotoxicologiques, c'est-à-dire, des études réalisées en vue d'évaluer les risques pour l'Homme et l'environnement. Le terme "toxicologie" doit être ici compris dans le sens "études expérimentales" réalisées dans le but de prévoir les effets nocifs des produits chimiques pour l'Homme". Celui d'"écotoxicologie" doit être compris dans le sens "études expérimentales permettant de prévoir les effets nocifs pour les écosystèmes\*"

Pour faciliter la lecture de ce document, un glossaire des principaux termes techniques<sup>(1)</sup> a été placé en annexe (cf. Annexe 7). Les définitions qui y sont données n'ont pas un caractère exhaustif et ne sont applicables que dans le cadre de ce travail.

---

(1) Dans le corps du texte ces termes sont indiqués par un astérisque.

## I - INTRODUCTION

Jusqu'à une époque encore récente, les connaissances sur la nocivité d'un produit chimique provenaient essentiellement des observations faites directement sur l'Homme à la suite d'accidents toxiques. Les exigences actuelles en matière de sécurité s'accommodent mal de cette approche passive des problèmes de toxicologie industrielle. Ainsi, progressivement, l'expérimentation sur organismes vivants non humains a pris une place de plus en plus importante. Elle est maintenant généralisée et a été intégrée dans les dispositifs réglementaires concernant la sécurité des produits chimiques dont se sont dotés récemment de nombreux pays. La France a occupé dans ce domaine une position de pionnier en Europe (Loi sur le contrôle des produits chimiques du 12 juillet 1977).

Les essais toxicologiques actuellement pratiqués sont destinés à rechercher si un produit présente ou non des effets toxiques ou nocifs et, si cela est le cas, quelle est la nature de ces effets et leur degré de toxicité.

Grâce aux connaissances résultant de l'expérimentation, on peut évaluer le niveau de risques que le produit testé présente pour l'Homme et l'environnement. Le but de l'évaluation du risque n'est cependant pas de prouver qu'une substance est sans danger mais plutôt de définir dans quelles conditions un produit potentiellement dangereux mais néanmoins utile voire indispensable peut être employé avec le minimum de risque pour l'Homme et l'environnement.

La toxicologie et l'écotoxicologie sont des sciences en pleine évolution. Les modèles expérimentaux\* sont progressivement modifiés ou renouvelés afin d'améliorer les valeurs de prédiction des risques toxiques.

Tous les essais doivent être réalisés dans des laboratoires expérimentés disposant d'un personnel compétent et respectant les Bonnes Pratiques de Laboratoire<sup>(1)</sup>.

De nombreux protocoles d'essais sont actuellement proposés. Certains sont standardisés aux niveaux national ou international, d'autres sont recommandés par des organisations internationales (OCDE, CEE) (cf. Annexes 5 et 6) d'autres enfin sont encore au stade de "projet" ou de mise au point. Dans certains cas la possibilité d'organiser des essais inter-laboratoires permettra de déterminer la reproductibilité des résultats.

Par ailleurs, en raison de l'extrême complexité des organismes vivants, le produit testé est susceptible d'exercer des effets à des niveaux les plus divers, de sorte que, pour pouvoir en rendre compte, les modèles expérimentaux\* sont nécessairement très variés et font appel à des méthodologies souvent complexes.

Pour comprendre tout l'intérêt de ces essais toxicologiques, mais aussi leurs difficultés et leurs limites, nous allons donc analyser les principes des différents types de méthodes employées en rappelant au préalable quelques considérations générales importantes.

Nous terminerons par un chapitre concernant l'utilisation des résultats de l'expérimentation et les problèmes d'extrapolation qu'ils posent pour l'appréciation des risques toxiques pour l'Homme et l'environnement, afin d'attirer l'attention des lecteurs non initiés sur les précautions à prendre dans l'interprétation des résultats expérimentaux.

---

(1) Expression écrite en abrégé G.L.P., de l'anglais "Good Laboratory Practice".

A N N E X E 5

LISTE DES METHODES DISPONIBLES (CEE, OCDE, AFNOR) POUR  
LA REALISATION DES TESTS DE TOXICOLOGIE  
ET D'ECOTOXICOLOGIE

DIRECTIVE CEE 79/831

**PARTIE B : Méthodes de détermination de la toxicité .....**

- Introduction générale .....
- B. 1. Toxicité aiguë — administration orale .....
- B. 2. Toxicité aiguë — administration par inhalation .....
- B. 3. Toxicité aiguë — administration cutanée .....
- B. 4. Toxicité aiguë — irritation de la peau .....
- B. 5. Toxicité aiguë — irritation des yeux .....
- B. 6. Toxicité aiguë — sensibilisation de la peau .....
- B. 7. Toxicité subaiguë — administration orale .....
- B. 8. Toxicité subaiguë — administration par inhalation .....
- B. 9. Toxicité subaiguë — administration cutanée .....
- B. 10. Autres effets: mutagenèse — épreuve cytogénétique *in vitro* sur mammifère .....
- B. 11. Autres effets: mutagenèse — épreuve cytogénétique *in vivo* sur moelle osseuse de mammifère, analyse chromosomique .....
- B. 12. Autres effets: mutagenèse — épreuve du micronoyau .....
- B. 13. Autres effets: mutagenèse — essais de mutation réverse sur *Escherichia coli* .....
- B. 14. Autres effets: mutagenèse — essais de mutation réverse sur *Salmonella thyphimurium* .....

**PARTIE C : Méthodes de détermination de l'écotoxicité .....**

- C. 1. Toxicité aiguë pour les poissons .....
- C. 2. Toxicité aiguë pour les daphnies .....
- C. 3. Dégradation biotique: test de screening OCDE modifié .....
- C. 4. Dégradation biotique: essai AFNOR NF T 90/302 modifié .....
- C. 5. Dégradation biotique: essai Sturm modifié .....
- C. 6. Dégradation biotique: essai en fiole fermée .....
- C. 7. Dégradation biotique: essai MITI modifié .....
- C. 8. Dégradation: demande biochimique en oxygène .....
- C. 9. Dégradation: demande chimique en oxygène .....
- C. 10. Dégradation abiotique: hydrolyse en fonction du pH .....

- 63 -

LIGNES DIRECTRICES DE L'OCDE POUR LES ESSAIS  
DE PRODUITS CHIMIQUES

EFFETS SUR LA SANTE

TOXICOLOGIE A COURT TERME

- 401 Toxicité orale aiguë
- 402 Toxicité cutanée aiguë
- 403 Toxicité aiguë par inhalation
- 404 Effet irritant/corrosif aigu sur la peau
- 405 Effet irritant/corrosif aigu sur les yeux
- 406 Sensibilisation de la peau
- 407 Toxicité orale à doses répétées - rongeurs:  
28/14 jours
- 408 Toxicité orale subchronique - rongeurs: 90 jours
- 409 Toxicité orale subchronique - non-rongeurs:  
90 jours
- 410 Toxicité cutanée à doses répétées: 21/28 jours
- 411 Toxicité cutanée subchronique: 90 jours
- 412 Toxicité à doses répétées par inhalation:  
28/14 jours
- 413 Toxicité subchronique par inhalation: 90 jours
- 414 Tératogénèse
- 415 Etude de toxicité pour la reproduction sur une  
génération
- 416 Etude de toxicité pour la reproduction sur deux  
génération
- 417 Toxicocinétique
- 418 Neurotoxicité aiguë différée de substances  
organophosphorées
- 419 Neurotoxicité subchronique différée de  
substances organophosphorées: 90 jours

TOXICOLOGIE A LONG TERME

- 451 Etudes de cancérogénèse
- 452 Etudes de toxicité chronique
- 453 Etudes combinées de toxicité chronique et de  
cancérogénèse

TOXICOLOGIE GENETIQUE

- 471 Essai de "reverse mutation" sur Salmonella  
typhimurium
- 472 Essai de "reverse mutation" sur Escherichia coli
- 473 Essai cytogénétique in vitro sur les mammifères
- 474 Essai du micronucléus
- 475 Essai cytogénétique in vivo sur moelle osseuse  
de mammifères - Analyse chromosomique
- 476 Essais in vitro de mutation génique sur des  
cellules de mammifères
- 477 Essai de mutation létale récessive liée au sexe  
chez Drosophila melanogaster
- 478

EFFETS SUR LES SYSTEMES BIOLOGIQUES

- 201 Algues, essai d'inhibition de la croissance
- 202 Daphnia sp., essai d'immobilisation immédiate et essai de reproduction sur 14 jours
- 203 Poisson, essai de toxicité aiguë
- 204 Poisson, toxicité prolongée : étude sur 14 jours
- 205 Oiseaux, essai de toxicité liée au régime alimentaire
- 206 Oiseaux, essai de reproduction
- 207 Ver de terre, essais de toxicité aiguë
- 208 Plantes terrestres, essai de croissance
- 209 Boue activée, essai d'inhibition de la respiration

DEGRADATION ET ACCUMULATION

BIODEGRADABILITE DITE FACILE

- 301 A Essai AFNOR modifié
- 301 B Essai Sturm modifié
- 301 C Essai MITI modifié (I)
- 301 D Essai en fiole fermée
- 301 E Essai de "screening" modifié de l'OCDE

BIODEGRADABILITE DITE INTRINSEQUE

- 302 A Essai SCAS modifié
- 302 B Essai Zahn Wellens modifié
- 302 C Essai MITI modifié (II)

ESSAI DE SIMULATION

- 303 A Traitement aérobie des eaux usées : Essai d'unités couplées

BIODEGRADABILITE DANS LE SOL

- 304 A Biodégradabilité intrinsèque dans le sol

BIOACCUMULATION

- 305 A Essai statique séquentiel chez le poisson
- 305 B Essai semi-statique chez le poisson
- 305 C Degré de bioconcentration dans le poisson
- 305 D Essai statique chez le poisson
- 305 E Essai dynamique chez le poisson



NORMES FRANÇAISES AFNOR

TOXICOLOGIE

<p>NORME FRANÇAISE ENREGISTRÉE</p>	<p>PRODUITS CHIMIQUES DÉTERMINATION DE LA TOXICITÉ AIGUË CHEZ LE RAT ADMINISTRATION UNIQUE ORALE</p>	<p>NF T 03-021 Août 1980</p>
<p>NORME FRANÇAISE ENREGISTRÉE</p>	<p>PRODUITS CHIMIQUES DÉTERMINATION DE LA TOXICITÉ AIGUË CHEZ LE RAT ADMINISTRATION UNIQUE PAR INHALATION</p>	<p>NF T 03-022 Août 1980</p>
<p>NORME FRANÇAISE ENREGISTRÉE</p>	<p>PRODUITS CHIMIQUES DÉTERMINATION DE LA TOXICITÉ AIGUË CHEZ LE RAT ADMINISTRATION UNIQUE PERCUTANÉE</p>	<p>NF T 03-023 Août 1980</p>
<p>NORME FRANÇAISE HOMOLOGUÉE</p>	<p>PRODUITS CHIMIQUES DÉTERMINATION DE LA TOXICITÉ AIGUË CHEZ LE LAPIN Administration unique percutanée</p>	<p>NF T 03-033 Juin 1981</p>
<p>NORME FRANÇAISE HOMOLOGUÉE</p>	<p>PRODUITS CHIMIQUES ÉVALUATION DE LA TOXICITÉ SUBAIGUË CHEZ LE RAT Administration répétée dans la nourriture ou l'eau de boisson pendant 28 jours</p>	<p>NF T 03-100 Juin 1981</p>
<p>NORME FRANÇAISE HOMOLOGUÉE</p>	<p>PRODUITS CHIMIQUES ÉVALUATION DE LA TOXICITÉ SUBAIGUË CHEZ LE RAT Administration répétée par gavage pendant 28 jours</p>	<p>NF T 03-101 Juin 1981</p>
<p>NORME FRANÇAISE HOMOLOGUÉE</p>	<p>PRODUITS CHIMIQUES ÉVALUATION DE LA TOXICITÉ SUBAIGUË CHEZ LE RAT Administration répétée par inhalation pendant 28 jours</p>	<p>NF T 03-102 Août 1982</p>
<p>NORME FRANÇAISE HOMOLOGUÉE</p>	<p>PRODUITS CHIMIQUES ÉVALUATION DE LA TOXICITÉ SUBAIGUË CHEZ LE LAPIN Administration percutanée répétée pendant 28 jours</p>	<p>NF T 03-113 Août 1982</p>
<p>NORME FRANÇAISE HOMOLOGUÉE</p>	<p>PRODUITS CHIMIQUES ÉVALUATION DE L'IRRITATION ET/OU DE LA CORROSION CUTANÉES CHEZ LE LAPIN Détermination de l'indice d'irritation primaire cutanée</p>	<p>NF T 03-263 Avril 1982</p>

NORME FRANÇAISE HOMOLOGUÉE	PRODUITS CHIMIQUES ÉVALUATION DE L'IRRITATION ET/OU DE LA CORROSION OCULAIRES CHEZ LE LAPIN Détermination d'indices d'irritation oculaire	NF T 03-264 Avril 1982
-------------------------------	--	------------------------------

NORME FRANÇAISE HOMOLOGUÉE	PRODUITS CHIMIQUES DÉTERMINATION DE L'ACTIVITÉ MUTAGÈNE VIS-À-VIS DE <i>SALMONELLA TYPHIMURIUM</i> (Test d'AMES)	NF T 03-351 Août 1982
-------------------------------	---	-----------------------------

ECOTOXICOLOGIE

NORME EXPÉRIMENTALE	ESSAIS DES EAUX Détermination de l'inhibition de la mobilité de <i>Daphnia magna</i> Straus (Crustacé , Cladocère)	T 90-301 Avril 1974
------------------------	--	------------------------

NORME EXPÉRIMENTALE	ESSAIS DES EAUX DÉTERMINATION DE LA TOXICITÉ AIGUË D'UNE SUBSTANCE VIS A VIS DE <i>BRACHYDANIO RERIO</i> (essai statique)	T 90-303 Juin 1978
------------------------	--	-----------------------

NORME EXPÉRIMENTALE	ESSAIS DES EAUX DÉTERMINATION DE L'INHIBITION DE CROISSANCE DE <i>SCENEDESMUS SUBSPICATUS</i> PAR UNE SUBSTANCE	T 90-304 Août 1980
------------------------	---	-----------------------

NORME FRANÇAISE HOMOLOGUÉE	ESSAIS DES EAUX DÉTERMINATION DE LA DEMANDE CHIMIQUE EN OXYGÈNE (DCO) (Méthode par le dichromate de potassium)	NF T 90-101 Septembre 1971
-------------------------------	---	----------------------------------

NORME FRANÇAISE ENREGISTRÉE	ESSAIS DES EAUX DOSAGE DE L'OXYGÈNE DISSOUS	NF T 90-106 Novembre 1973
--------------------------------	--	---------------------------------

NORME FRANÇAISE ENREGISTRÉE	ESSAIS DES EAUX DÉTERMINATION DE LA DEMANDE BIOCHIMIQUE EN OXYGÈNE (DBO)	NF T 90-103 Décembre 1975
--------------------------------	--	---------------------------------

NORME EXPÉRIMENTALE	ESSAIS DES EAUX MÉTHODE D'ÉVALUATION EN MILIEU AQUEUX DE LA BIODÉGRADABILITÉ DITE « TOTALE »	T 90-302 Août 1977
------------------------	---	-----------------------