



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة وهران للعلوم والتكنولوجيا محمد بوضياف

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université des Sciences et de la Technologie d'Oran Mohamed BOUDIAF
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département du Vivant et environnement

Polycopié pédagogique

Titre : Évaluation des risques toxicologiques

Cours destiné aux étudiants de 1ère année Master
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Toxicologie Fondamentale Appliquée (M1 TFA)

Élaboré par Dr KADDOUR Amina (MCB)
En vue de l'obtention de l'habilitation universitaire

Préambule

Ce polycopié dresse une présentation générale du module enseigné (évaluation des risques toxicologiques), dont l'objectif principal est la compréhension de la démarche relative à l'évaluation des risques toxicologiques par l'acquisition de méthodes utilisés pour préciser la dangerosité de xénobiotiques pour l'homme.

Les études de la toxicité aiguë et chronique, de tolérance locale sont particulièrement développées s'y ajoutent, dans un but pratique, la présentation de tests de cytotoxicité et des bonnes pratiques de laboratoire, ainsi que l'exploitation d'enquêtes épidémiologiques et de données de toxicovigilance.

Ce module semestriel est destiné aux étudiants Master 1, spécialité Toxicologie Fondamentale Appliquée. Ces derniers doivent justifier d'un diplôme de Licence dans les disciplines demandées et avoir suivi tout le cursus prévu dans cette spécialité. Ils doivent aussi avoir des connaissances en Biologie cellulaire, Biochimie et en Chimie. Au terme de cet enseignement, les étudiants sont censés être apte à caractérisé le risque toxique en suivant une démarche systémique.

Il est à rappeler que le mode d'évaluation des connaissances acquises par les étudiants est basé sur le contrôle continu, le travail personnel (TD), et un examen à la fin du semestre.

Sommaire

Abréviations & Acronymes

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale 1

Partie I : Différentes méthodes d'étude des xénobiotiques

I. Estimation de la toxicité 3

I.1. Définition et généralités..... 3

I.2. Différentes méthodes/techniques utilisées pour établir la toxicité des produits 3

I.2.1. Étude épidémiologique 4

I.2.2. Étude expérimentale animale *in vivo*..... 5

a. *Extrapolation à l'Homme*..... 5

I.2.3. Études *in vitro* 6

I.2.4. Modélisation..... 7

Partie II : Toxicité aiguë, subaiguë et chronique des xénobiotiques

I. Caractérisation toxicologique 8

I.1. Rappel sur la notion de dose et d'effet 8

I.1.1. Notions de dose 8

I.1.2. Notion d'effet toxique..... 9

I.2. Relations dose-effet 10

I.3. Relation dose-réponse 10

Sommaire

I.3.1. Effets toxiques à seuil « déterministes ».....	11
I.3.2. Effets toxiques sans seuil « stochastiques ».....	11
II. Formes de toxicité.....	12
II.1. La toxicité aiguë.....	12
II.2. La toxicité chronique.....	13
II.2.1. Effets généraux (non cancérigènes, non reprotoxiques)	14
<i>a.</i> Toxicité chronique due à l'accumulation de la dose.....	15
<i>b.</i> Toxicité due à l'accumulation des effets.....	16
II.2.2. Effets cancérigènes.....	17
<i>a.</i> Étude de la mutagenèse.....	17
<i>b.</i> Étude de la cancérogenèse.....	17
<i>c.</i> Relation entre le pouvoir mutagène et le pouvoir cancérogène.....	18
III. Exposition aux xénobiotiques.....	19
III.1. Élaboration des scénarios d'exposition.....	19
III.1.1. Détermination du scénario d'exposition.....	19
III.2. Estimation de l'exposition.....	20
III.2.1. Détermination de l'estimation de l'exposition.....	20
<i>a.</i> La source de pollution.....	20
<i>b.</i> Les voies d'exposition.....	21
<i>c.</i> Les conditions d'exposition.....	22

Sommaire

<i>d. Les catégories de populations impactées.....</i>	23
III.2.2. Éléments de base des tests toxicologiques pour la caractérisation de l'exposition.....	24
<i>Partie III : Tolérance/Résistance aux xénobiotiques</i>	
I. Phénomènes rencontrés lors d'une exposition aux xénobiotiques	25
I.1. Tolérance aux xénobiotiques.....	25
I.1.1. Désensibilisation des récepteurs.....	25
I.2. Résistance aux xénobiotiques.....	26
<i>Partie IV : Tests de cytotoxicité et de génotoxicité</i>	
I. Concept de la cytotoxicité	28
I.1. Méthodes d'études de la cytotoxicité.....	28
I.1.1. Exemples de tests de cytotoxicité	28
a. Test au rouge neutre	28
b. Test au MTT	29
c. Mesure de l'activité de la lactico-déshydrogénase (LDH).....	29
II. Concept de la génotoxicité.....	30
II.1. Différentes atteintes du génome.....	30
II.1.1 Exemples de tests de génotoxicité.....	31
a. Test des micronoyaux (test des MNx)	31
a. Test des comètes.....	32
<i>Partie V : Bonnes pratiques de laboratoire</i>	
I. Évaluation des risques toxicologiques en laboratoire.....	33

Sommaire

I.1. Généralités.....	33
I.2. Démarche scientifique de l'évaluation des risques chimiques en laboratoire.....	33
I.2.1. Identification des dangers.....	33
I.2.2. Évaluation de l'exposition du personnel	35
<i>a.</i> Critères d'exposition.....	35
<i>b.</i> Critères de protection.....	36
<i>c.</i> Calculs des indices de risques (IRs).....	36
II. Évaluation des risques chimiques : cas d'un laboratoire pharmaceutique.....	36
II.1. Présentation de la méthode OHB Rhodia.....	37
II.1.1. Évaluation des dangers des substances et préparations.....	37
<i>a.</i> Avantages.....	38
<i>b.</i> Inconvénients.....	38
III. Guide de bonnes pratiques en laboratoire.....	38
Conclusion générale	40

Références Bibliographiques

Sommaire

Abréviations & Acronymes

ADN :	Acide désoxyribonucléique
ATP :	Adénosine triphosphate
CAA :	Concentration admissible dans l'air
CE50 :	Concentration efficace pour 50% des cellules
CL50 :	Concentration létale médiane
CMR :	Cancérogènes, mutagènes ou reprotoxique
DDT :	Dichlorodiphényltrichloroéthane
DJA :	Dose journalière admissible
DL50 :	Dose létale médiane
FDS :	Fiches de données de sécurité
GRK :	Protéines kinases des récepteurs couplés aux protéines G
INRS :	Institut National de Recherche et Sécurité
IRIS :	Integrated risk information system
IR :	Indice de risque
LDH :	Lactico-déshydrogénase
LOAEC :	Lowest observed adverse concentration
MNx :	Micronoyaux
NOAEC :	No observed adverse effect concentration
NOAEL :	No observed adverse effect level
OMS :	Organisation mondiale de la santé
PKA :	Protéine kinase A
RD :	Ratio de danger
RN :	Rouge neutre
TOCP :	Triorthocrésylophosphate
VIH :	Virus de l'immunodéficience humaine
VTR:	Valeur toxicologique de référence

Abréviations & Acronymes

Liste des Figures

Figure 1. Relation entre la dose et l'effet.....	10
Figure 2. Relation entre la dose et la réponse.....	10
Figure 3. Relation dose-effet (réponse=mortalité).....	13
Figure 4. Relation dose ou concentration versus effet ou réponse.....	14
Figure 5. Toxicité chronique due à une accumulation de la dose.....	15
Figure 6. Toxicité chronique due à une sommation d'effets toxiques.....	16
Figure 7. Compartiments d'exposition possibles et moyens de contact correspondants.....	21
Figure 8. Désensibilisation des récepteurs couplés aux protéines G.....	26
Figure 9. Principaux tests de génotoxicité déclinés en tests mesurant les lésions primaires, les mutations géniques (mutagènes), chromosomiques (clastogènes) et génomiques (aneugènes).....	31
Figure 10. Démarche scientifique regroupant les étapes dans l'étude de l'évaluation du risque chimique pour la santé humaine et la santé environnementale.....	34

Liste des Tableaux

Tableau 1. Effets toxiques sur certains tissus et systèmes biologiques.....	9
Tableau 2. Effets toxiques sur certains tissus et systèmes biologiques.....	12
Tableau 3. Mesures de prévention lors de situations dangereuses en laboratoire.....	39

Introduction générale

Le risque toxicologique pour la santé humaine est une préoccupation courante de notre société. Il est vrai que le développement agricole et industriel des sociétés humaines a conduit à une explosion d'émissions de contaminants potentiellement toxiques dans l'environnement. Certaines substances chimiques engendrent, par exemple, des intoxications aiguës alors que d'autres sont soupçonnées de provoquer le cancer ou d'avoir des effets neurotoxiques.

L'évaluation du risque toxicologique (*Risk Assessment*) pour l'humain traite des impacts potentiels de l'omniprésence de substances chimiques dans l'environnement sur la santé de la population. Pour ce faire, cette démarche combine : données biologiques, relations dose/réponse et niveau d'exposition, pour produire une estimation qualitative et quantitative des effets nocifs d'une activité ou d'un agent chimique sur la santé humaine. L'évaluation de ces impacts représente un défi de taille pour les intervenants.

La méthodologie de l'évaluation des risques toxicologiques a été développée à partir des années 1980 en tant qu'outil permettant d'apprécier les impacts de l'exposition aux contaminants de l'environnement sur la santé de la population. Elle consiste en une opération systématique, faisant intervenir plusieurs étapes :

- Identification du danger : extraire la liste des produits chimiques manipulés et rechercher leur toxicité. Les fiches de données de sécurité (FDS), les fiches toxicologiques INRS (Institut National de Recherche et Sécurité), et les bases de données toxicologiques servent à la caractérisation des dangers des produits.
- Évaluation des effets : grâce à des données préexistantes, à la modélisation ou à des expérimentations, les scientifiques établissent la relation dose-réponse (ou concentration-effet), en fonction du temps.
- Estimation de l'exposition : les concentrations *in situ* des polluants ainsi que les différentes conditions d'exposition (durée, ampleur, fréquence, voies d'internalisation, etc.) sont évalués.
- Caractérisation du risque : l'intégration des données toxicologiques et les doses d'exposition aboutiront à la définition de l'incidence probable d'impacts adverses sur des récepteurs potentiels dans des conditions variables d'exposition.

L'évaluation du risque environnemental fait intervenir des études toxicologiques pour l'établissement de la relation dose-réponse. La toxicologie est l'étude des poisons (xénobiotiques = substances étrangères à l'organisme), de leurs effets sur l'organisme et de leurs

mécanismes d'action. Placée dans un contexte clinique et populationnel, c'est à la fois l'étude des approches curatives et préventives associées à l'exposition de l'être humain à des poisons.

La prise en compte de facteurs d'ordre économique, social, politique, éthique et scientifique pouvant influencer la décision finale, le risque environnemental sera soit accepté soit traité pour essayer de le réduire.

Le présent polycopié s'articule en différentes parties décrivant les grands principes de la toxicologie à savoir :

- Les différentes méthodes d'étude des xénobiotiques ;
- La toxicité aiguë, subaiguë et chronique des xénobiotiques ;
- L'étude de la tolérance/résistance aux xénobiotiques ;
- Les tests de cytotoxicité ;
- Les bonnes pratiques de laboratoire.

*Partie I : Différentes méthodes d'étude des
xénobiotiques*

I. Estimation de la toxicité

I.1. Définition et généralités

La toxicité d'un composé chimique étranger à l'organisme (xénobiotique) est une caractéristique biologique qui dépend de la structure atomique ou moléculaire du composé, et donc de son interaction avec la matière vivante.

L'estimation de la toxicité, grâce aux méthodes statistiques et/ ou à la modélisation mathématique, sert à :

- Définir une relation entre le niveau d'exposition aux substances chimiques et la probabilité d'occurrence de développer un effet délétère.
- Estimation du risque en fonction de la dose.
- Extrapoler des risques observés des hautes doses (expérimentations contrôlées, etc.) aux faibles doses (environnement).

Cependant, certaines données préliminaires sont utiles avant même de procéder à l'évaluation toxicologique d'un produit. Ces informations concernent notamment :

- Caractéristiques physico-chimiques (structure et forme chimique, densité, températures de fusion ou d'ébullition, solubilité dans différents milieux, stabilité, produits de dégradation, impuretés et additifs).
- Conditions d'utilisation (types d'emplois, intensités des expositions probables ou mesurées et nature des expositions quelles soit ponctuelles, répétées ou accidentelles).
- Information toxicologique disponible (sur le produit lui-même ou sur des analogues chimiques).

I.2. Différentes méthodes/techniques utilisées pour établir la toxicité des produits

La toxicologie vise la réduction et la prévention de la morbidité et de la mortalité reliées aux expositions à des substances toxiques. Pour ce faire, il est primordial d'évaluer l'incidence et la gravité des effets indésirables susceptibles de se produire dans une population humaine ou une composante de l'environnement en raison de l'exposition, réelle ou prévisible, aux agents toxiques.

L'estimation du niveau de risque doit mettre en relation les informations sur les caractéristiques toxicologiques des contaminants (valeurs de référence et estimateurs de risque cancérigène) avec les doses d'exposition.

L'évaluation de la toxicité s'appuie sur des études qualitatives (non mesurables) ou quantitatives (mesurables) adéquates. Il existe plusieurs types d'études qui nous permettent d'évaluer les effets d'un toxique.

On peut les classer dans quatre catégories :

- Les études épidémiologiques, qui comparent plusieurs groupes d'individus ou les études de cas.
- Les études expérimentales *in vivo*, qui utilisent des animaux (ex : lapin, rat et souris).
- Les études *in vitro*, effectuées sur des cultures de tissus ou des cellules.
- Les études théoriques par modélisation (ex : structure-activité).

Les données fournies par les différentes études citées ci-dessus ; doivent être analysées, ajustées pour les rendre comparables et synthétisées par une approche statistique. L'avantage de la modélisation étant de donner un caractère plus général à la relation dose-effet générée, en prenant en compte des conditions environnementales diverses (zones géographiques diverses) et un effectif de population important, aux caractéristiques variées.

I.2.1. Étude épidémiologique

L'étude épidémiologique est une opération qui consiste à rechercher, rassembler, recueillir l'information, puis à l'analyser en vue de résoudre une ou plusieurs questions spécifiées à l'avance. Elle relève du domaine de l'épidémiologie si l'objet de l'enquête concerne l'état de santé d'une population sélectionnée sur des critères bien définis. Le diagramme 1, ci-dessous, représente la structure des études épidémiologique.

Les enquêtes épidémiologiques peuvent concerner l'ensemble de la population : elles sont dites exhaustives. Elles peuvent au contraire concerner un échantillon d'effectif réduit, extrait par sondage et représentatif de la population étudiée : il s'agit alors d'enquêtes par échantillonnage.

Il existe de nombreux types d'études épidémiologiques que l'on peut classer en trois grandes catégories : expérimentale, observationnelle ou de modélisation. Il est aussi possible de faire des synthèses des études réalisées sous forme narrative ou quantitative (méta-analyse). Elles ont chacune des avantages et des inconvénients qui sont appréciés en fonction des objectifs poursuivis.

Dans ce type d'études, l'exposition des individus à un facteur est décidée par l'investigateur. L'expérimentation humaine est rigoureusement encadrée par la loi. Il est interdit d'exposer des

individus à des facteurs dangereux, sauf dans des conditions particulières, très encadrées, qui relèvent de la recherche clinique plus que de l'épidémiologie.

En revanche, l'expérimentation est licite sur le plan éthique lorsque l'on teste une hypothèse de bénéfice. C'est ce qu'il faut faire pour évaluer les médicaments après que les premières phases de leur développement ont donné des raisons solides de penser qu'ils ont un intérêt potentiel pour les patients. Lorsque l'exposition à un facteur est attribuée par tirage au sort, l'étude est dite « randomisée ». Sinon, c'est une étude quasi expérimentale. Les études expérimentales sont aussi utilisées à des fins d'évaluation. Idéalement, on tire au sort des groupes qui sont soumis à différentes actions. On mesure les résultats obtenus au regard de critères définis au préalable.

I.2.2. Étude expérimentale animale *in vivo*

Des évaluations toxicologiques sont réalisées chez des animaux de laboratoire auxquels l'on administre des substances potentiellement toxiques suivant des conditions expérimentales rigoureusement contrôlées (nombre de sujets, durée d'exposition, doses ou concentrations d'exposition) dans le but de caractériser qualitativement et quantitativement les effets toxiques qui y sont reliés.

Ces données sont par la suite utilisées pour prédire leur potentiel de toxicité chez l'humain. Cette démarche offre certains avantages tels que la production relativement rapide de données toxicologiques et la possibilité de prédire, à priori, l'impact d'une exposition à une substance donnée sur la santé humaine.

a. Extrapolation à l'Homme

En générale, l'espèce humaine est qualitativement similaire aux autres animaux. Dans la réponse aux molécules toxiques cette similitude est à la base de l'extrapolation des résultats obtenus sur animaux mais il faut signaler qu'il y'a des différences quantitatives marquées. Afin de transposer les valeurs à l'homme des facteurs de sécurité sont appliquées aux valeurs obtenues expérimentalement :

- Dose journalière admissible (DJA) : C'est la dose d'un produit qui peut être ingérée journalièrement par un individu pendant sa vie entière sans inconvénients prévisible pour sa santé.
- La valeur NOAEL (no observed adverse effect level) : C'est la dose maximale n'induisant aucun signe de toxicité dans l'espèces animale la plus sensible et la plus appropriée et en utilisant l'indicateur de toxicité le plus sensible.

- Concentration admissible dans l'air (CAA) dans le cas d'une exposition respiratoire.
Pour ces effets déterministes, la caractérisation des risques prend la forme d'un ratio de danger (RD) qui correspond respectivement à :
 - $RD = \text{Dose moyenne absorbée} / \text{DJA pour une exposition orale / cutanée},$
 - $RD = \text{Concentration atmosphérique moyenne} / \text{CAA pour une exposition respiratoire}.$Selon la valeur du ratio de danger, il est ainsi possible de distinguer les populations théoriquement hors de danger ($RD < 1$) de celles pour lesquelles l'effet est susceptible d'apparaître ($RD > 1$). Dans le 2ème cas, la probabilité de survenue de l'effet au sein de la population est inconnue mais le nombre de personnes touchées par l'effet toxique et la gravité de cet effet augmentent avec l'intensité de l'exposition.
- Facteur de sécurité : C'est un facteur est destiné à compenser les différences de sensibilité entre les espèces, à tenir compte des larges variations de sensibilité à l'intérieur de la population humaine.

I.2.3. Études *in vitro*

La toxicologie tente une évolution des concepts méthodologiques en réponse à la multiplicité des substances chimiques à évaluer et à la nécessité de limiter le recours à l'expérimentation animale. Elle s'oriente donc désormais vers le développement des méthodes d'évaluation (approches *in silico*, *in vitro*) pour une caractérisation détaillée des voies de toxicité conduisant à des effets néfastes.

L'étude des voies biologiques des agents toxiques sur des modèles expérimentaux *in silico* et *in vitro* offrent une meilleure compréhension des mécanismes biologiques et de leurs étapes successives vers la survenue d'une pathologie, ce qui permettra d'anticiper les éventuelles perturbations liées à des expositions aux substances chimiques.

Différents outils et méthodes ont été développés et ont évolués afin d'être replacés dans un cadre conceptuel : le mode d'action, les chemins de l'effet adverse, les stratégies de test intégrées et les approches intégrées en matière d'essai et d'évaluation. Le mode d'action et les chemins de l'effet adverse sont des concepts élaborés afin d'améliorer la compréhension de la toxicité des substances chimiques. Les stratégies de test intégrées et les approches intégrées en matière d'essai et d'évaluation sont quant à elles des méthodes destinées à être mise en œuvre en pratique afin de guider l'évaluateur sur la stratégie à appliquer pour évaluer une substance chimique.

I.2.4. Modélisation

La modélisation décrit sous une forme mathématique le comportement, le transfert de polluants dans un milieu. Elle permet d'estimer une exposition globale et une prise en compte multifactorielle des polluants. Elle n'a pas pour fonction de remplacer les essais en laboratoire mais de comprendre et de prédire des mécanismes d'intoxication au sein des écosystèmes, ou au sein de l'organisme humain. Trois approches méthodologiques peuvent se distinguer :

- Modéliser les phénomènes de dispersion de polluants dans un milieu précis.
- Déterminer le dosage interne de contaminants selon une voie d'exposition spécifique.
- Calculer l'exposition en fonction des doses de polluants dans l'espace et le temps.

Les données provenant la modélisation sont utilisées afin d'estimer l'exposition de la population. Si la limite supérieure de l'intervalle de confiance à 95% est supérieure à la valeur maximale, cette dernière doit être utilisée. Si le nombre de données disponibles ne permet pas d'obtenir une distribution, la valeur maximale des concentrations mesurées est alors utilisée.

- Construction d'un modèle (série de paramètres présentant chacun une distribution de probabilité).
- Présentation sous forme de faisceau de courbes, nuages de points ou valeurs incluses dans des intervalles de confiance.
- Prise en compte de la variabilité et de l'incertitude.

Différentes méthodes de calcul sont avancées en évaluation du risque telles que :

- La méthode de Monte Carlo en calcul probabiliste.
- La méthode possibiliste.
- La méthode hybride.
- Les méthodes bayésiennes.
- Les théories de la complexité.

*Partie II : Toxicité aiguë, subaiguë et
chronique des xénobiotiques*

I. Caractérisation toxicologique

L'étape de la caractérisation toxicologique sert principalement à déterminer les doses de contaminants pour lesquelles des effets néfastes sur la santé des êtres vivants sont susceptibles de survenir. Elle vise à établir une relation entre la dose d'exposition, la dose absorbée ou la dose biologiquement effective d'un contaminant et la réponse toxique chez l'animal en termes de gravité et d'incidence.

I.1. Rappel sur la notion de dose et d'effet

Pour une meilleure compréhension de la démarche d'évaluation des risques toxicologiques, il est important de faire un rappel de quelques notions de base.

I.1.1. Notions de dose

Selon Paracelse : « *Dosis Sola Facit Venenum* », toute substance peut causer une toxicité (même les substances nécessaires à l'organisme), ce n'est qu'une question de dose.

La dose est le rapport entre le poids de la substance absorbée et le poids de l'organisme qui l'absorbe. Elle est exprimée de différentes manières en tant que quantité (mg/kg de poids corporel) de xénobiotique ayant pénétré l'organisme:

- La dose d'exposition, est la concentration dans le milieu (air, eau, aliment, etc.) d'un polluant durant une certaine période.
- La dose retenue ou absorbée (également appelée charge corporelle) est la quantité présente dans l'organisme à un moment donné pendant ou après une exposition.
- La dose tissulaire est la quantité de substance dans un tissu spécifique.
- La dose cible est la quantité de produit chimique (en mg) fixée par mg de macromolécule spécifique dans un tissu.

La notion de dose comporte souvent un paramètre temporel, même s'il n'est pas toujours exprimé. La prise en compte du temps est généralement plus importante pour comprendre les expositions répétées et les effets chroniques que pour les expositions uniques et les effets aigus.

La dose théorique selon la loi de Haber est :

$$D = C \times T$$

Où D est la dose, C la concentration du xénobiotique dans le milieu et T la durée d'exposition au xénobiotique.

I.1.2. Notion d'effet toxique

L'effet toxique est une perturbation et un dysfonctionnement de l'équilibre des processus d'adaptations de l'organisme face à de nombreuses situations d'agression (biologique, chimique, physique) résumés dans le **Tableau 1**.

Il peut être sous l'influence de certains paramètres comme :

- La dose.
- La voie d'absorption.
- Le type et la gravité des lésions.
- Le temps nécessaire à l'apparition d'une lésion : un effet aiguë se fait sentir dans un temps relativement court (minutes, heures, jours), un effet chronique ne se manifeste qu'après un temps d'exposition relativement long et de façon permanente (semaines, mois, années).
- La voie de pénétration (digestive, pulmonaire, cutanée et muqueuses).
- L'exposition à plusieurs toxiques (addition, synergie, antagonisme).
- L'expositions antérieures à la même substance (tolérance ou sensibilisation).

Tableau 1. Effets toxiques sur certains tissus et systèmes biologiques

Tissus et système	Effets toxiques
Œil	Irritation, Corrosion
Peau	Irritation, Corrosion, Dermatose
Système digestif	Irritation, Corrosion
Système cardiovasculaire	Anomalie du rythme cardiaque
Système nerveux central	Dépression (nausées, vomissements et étourdissements)
Système nerveux périphérique	Neuropathie (perte de sensation et trouble de la coordination)
Système respiratoire	Irritation, corrosion et essoufflement
Système sanguin	Carboxyhémoglobinémie
Système urinaire	Urines foncées et sang dans les urines

I.2. Relations dose-effet

La relation dose-effet est la relation entre la dose et l'effet à l'échelle de l'individu. L'augmentation de la dose peut accroître l'intensité ou la sévérité d'un effet. En effet, plus la dose est élevée plus l'effet est nocif.

L'exemple suivant illustre bien cette relation : si une personne inhale accidentellement une substance très volatile, la manifestation des effets toxiques dépend de la quantité de vapeurs inhalées et du seuil d'apparition de ces effets (**Fig 1**). Ainsi, au-delà de la dose seuil, les effets seront d'autant plus toxiques que la personne aura inhalé davantage de vapeurs.

La relation entre une dose et son effet est représentée par une grandeur numérique appelée valeur toxicologique de référence (VTR). Etablies par diverses instances internationales telles qu'IRIS (integrated risk information System), et l'OMS (organisation mondiale de la santé) sur l'analyse des connaissances toxicologiques animales et épidémiologiques, ces VTRs sont une appellation générique regroupant tous les types d'indices toxicologiques établissant une relation quantitative entre une dose et un effet (toxiques à seuil de dose) ou entre une dose et une probabilité d'effet (toxiques sans seuil de dose).

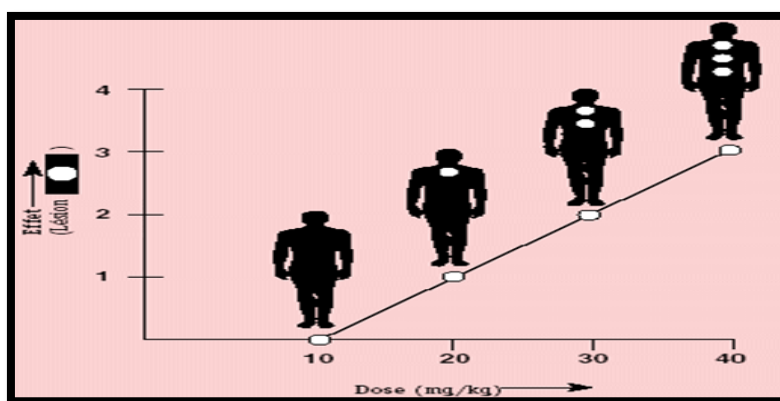


Figure 1. Relation entre la dose et l'effet.

I.3. Relation dose-réponse

La relation dose-réponse désigne la corrélation entre la dose et le pourcentage d'individus présentant un effet spécifique. La **Fig 2** illustre bien qu'à certaines doses toutes les personnes ne sont pas atteintes. Ainsi, une augmentation de la dose peut entraîner une augmentation des effets chez un individu ; et la proportion des individus affectés par une dose donnée devrait augmenter avec l'accroissement de la dose.

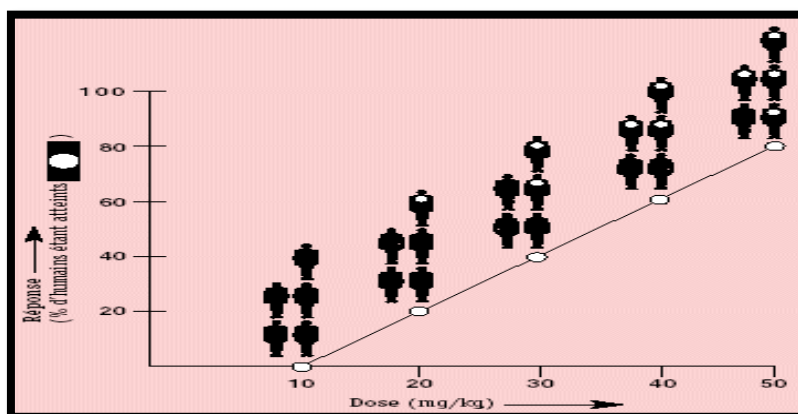


Figure 2. Relation entre la dose et la réponse

Deux catégories de relation doses-réponses sont considérées en évaluation des risques, selon des hypothèses conventionnelles sur les mécanismes mis en jeu dans la survenue des effets toxiques : les effets toxiques à seuil et les effets toxiques sans seuil.

La dose seuil est le niveau de dose en dessous duquel aucun effet observable ne survient. Il existe des seuils pour certains effets, notamment les effets toxiques aigus, mais non pour d'autres, par exemple pour les effets cancérigènes. La notion de seuil toxique est importante, car elle peut servir à fixer des normes. Ce seuil s'explique par le fait que le corps humain est constitué d'un grand nombre de cellules, de tissus et d'organes ayant une sensibilité variable et qu'il possède des mécanismes de défense ou d'adaptation.

I.3.1. Effets toxiques à seuil « déterministes »

Ils correspondent aux effets aigus et effets chroniques, non génotoxiques et non mutagènes, dont la gravité est proportionnelle à la dose. Selon cette approche classique de la toxicologie, les effets ne surviennent que si une certaine dose est atteinte et dépasse les capacités de détoxification, de réparation ou de compensation de l'organisme : il existe donc une dose ou une concentration limite en-dessous de laquelle le danger ne peut apparaître. Le danger n'a théoriquement pas lieu de survenir si ces seuils ne sont pas dépassés.

I.3.2. Effets toxiques sans seuil « stochastiques »

Il s'agit, pour l'essentiel, des effets cancérigènes génotoxiques (et des mutations génétiques), pour lesquels la fréquence de survenue de la maladie, mais non la gravité, est proportionnelle à la dose. Ces effets réputés sans seuil pourraient apparaître quelle que soit la dose reçue par l'organisme.

II. Formes de toxicité

Le **Tableau 2** présente une terminologie pratique sert à désigner les diverses formes d'intoxication selon la fréquence et la durée de l'exposition Chez l'homme et chez l'animal. la distinction entre exposition aiguë et effet aigu ainsi qu'entre exposition chronique et effet chronique est souvent difficile à faire. Certains effets sont également difficiles à classer dans une catégorie, puisqu'une exposition aiguë peut causer un effet chronique. Ainsi, le pronostic entre l'exposition et l'effet n'est pas nécessairement prévisible.

Tableau 2. Effets toxiques sur certains tissus et systèmes biologiques

Forme d'intoxication	Fréquence d'administration	Durée d'exposition
Aiguë	Unique	< 24heures
Subaiguë	Répétée	<= 1 mois
Subchronique	Répétée	De 1 à 3 mois
Chronique	Répétée	> 3mois

II.1. La toxicité aiguë

La toxicité aiguë d'une substance chimique est l'ensemble des effets sur l'organisme provoqués par une exposition de courte durée à une dose (concentration) forte, généralement unique. En effet, dans les études expérimentales chez l'animal, la toxicité aiguë se détermine par la dose létale médiane (DL50) et la concentration létale médiane (CL50).

- La DL50 est la dose unique déduite statistiquement, censée provoquer la mort de 50 % des animaux auxquels la substance a été administrée. La valeur de la DL50 est exprimée en masse de la substance étudiée rapportée à l'unité de masse corporelle des animaux soumis à l'expérimentation (mg.kg^{-1}). Cette dose permet d'identifier les symptômes de l'intoxication et de comparer les substances entre elles quant à leur potentiel toxique.
- La CL50 est la concentration d'une substance déduite statistiquement qui devrait provoquer au cours d'une exposition ou, après celle-ci, pendant une période définie, la mort de 50 % des animaux exposés pendant une durée déterminée. La valeur de la CL50 est exprimée en masse de substance étudiée rapportée à un volume standard d'air (mg. L^{-1}).

En laboratoire, le produit à tester est administré généralement à des rats ou à des souris répartis en plusieurs groupes, et ce, à des doses croissantes suffisantes pour obtenir un pourcentage de mortalité s'échelonnant entre 0 % et 100 %. Une courbe dose-effet peut être tracée pour l'ensemble de l'organisme, la cellule ou la molécule cible. Certains effets toxiques, comme la mort ou le développement d'un cancer, n'ont pas un caractère progressif : ils représentent des effets « tout ou rien ».

Plusieurs courbes dose-réponse peuvent être tracées pour un même produit chimique ; une par type d'effet. La courbe dose-réponse pour la plupart des effets toxiques a une forme sigmoïde (Courbe en S) (Fig 3).

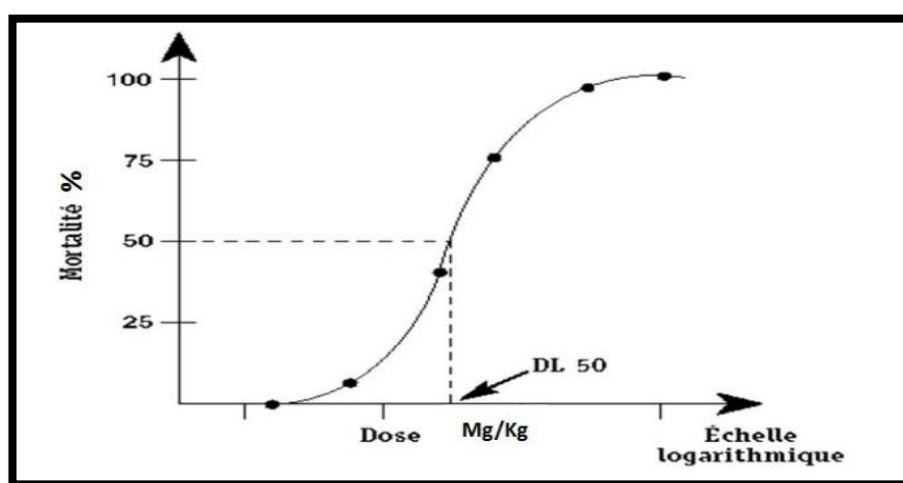


Figure 3. Relation dose-effet (réponse=mortalité).

II.2. La toxicité chronique

La toxicité chronique regroupe l'ensemble des effets délétères liés à des expositions répétées à des faibles doses pendant une longue période de temps (plusieurs semaines ou de nombreuses années). Ces doses sont insuffisantes pour provoquer un effet immédiat, mais la répétition de leur absorption sur une longue période de temps à des effets délétères. Chez l'animal elle correspond à des expositions durant la quasi-totalité de la durée de vie. Elle peut être réversible ou non (ex : la neurotoxicité de l'hexane).

Le terme chronique caractérise bien l'objet de ce type d'évaluation. Des études, qualifiées de pluridisciplinaires, sont généralement effectuées par plusieurs chercheurs spécialisés dans différents aspects de la toxicologie, par exemple l'immunotoxicologie et la cancérogénicité. Elles supposent généralement la collaboration de chercheurs de divers domaines scientifiques, comme la chimie, la biochimie, la biologie et la médecine.

II.2.1. Effets généraux (non cancérigènes, non reprotoxiques)

Les principales études disponibles chez l'animal et chez l'homme sont analysées et retenues selon leur pertinence (qualité de l'étude, relation dose-effet, etc.) pour chaque voie d'exposition (inhalation, orale, cutanée), les symptômes cliniques liés à l'effet toxique et le (ou les) organe(s) cible(s) principal(aux) et les doses, ou concentrations, auxquels ils sont observés seront décrits.

Une courbe représentant la relation dose ou concentration versus effet ou réponse peut être tracée faisant mention des valeurs NOAEL/NOAEC et LOAEL/LOAEC (Fig 4).

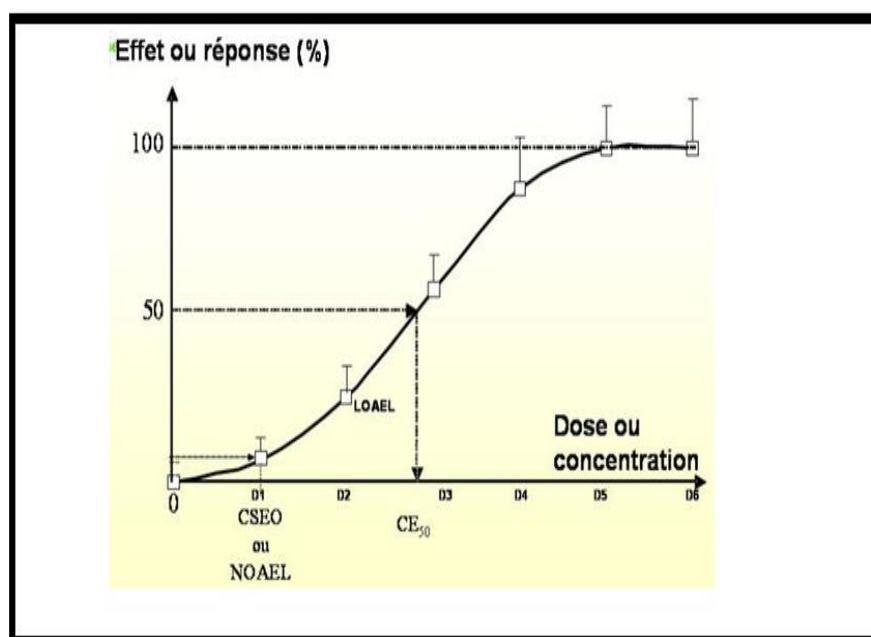


Figure 4. Relation dose ou concentration versus effet ou réponse.

- La valeur NOAEL ou NOAEC (no observed adverse effect concentration) correspond à la dose (ou la concentration) à laquelle aucun effet (nocif) n'est observé, ou encore la plus forte dose n'entraînant aucun effet toxique. Pour établir une valeur NOAEL, il faut disposer de nombreuses doses dans une population importante mais aussi d'autres informations pour s'assurer que l'absence de réponse n'est pas simplement le résultat d'un phénomène statistique.
- La valeur LOAEL (lowest observed adverse effect level) ou LOAEC (lowest observed adverse concentration) correspond à la dose (ou la concentration) efficace la plus faible sur une courbe dose-réponse, ou à la plus faible dose provoquant des modifications distinctes de celles observées chez les animaux témoins.

a. Toxicité chronique due à l'accumulation de la dose

Le toxique s'accumule dans l'organisme c'est à dire que la quantité éliminée est inférieure à la quantité absorbée. La concentration du toxique dans l'organisme augmente progressivement jusqu'à l'obtention d'une quantité suffisante pour engendrer des manifestations cliniques (**Fig 5**). Exemple de toxiques cumulatifs : les métaux (ex : Cadmium, Mercure, Plomb, etc.) les non métaux (ex : Arsenic, Fluore, Insecticide organochloré).

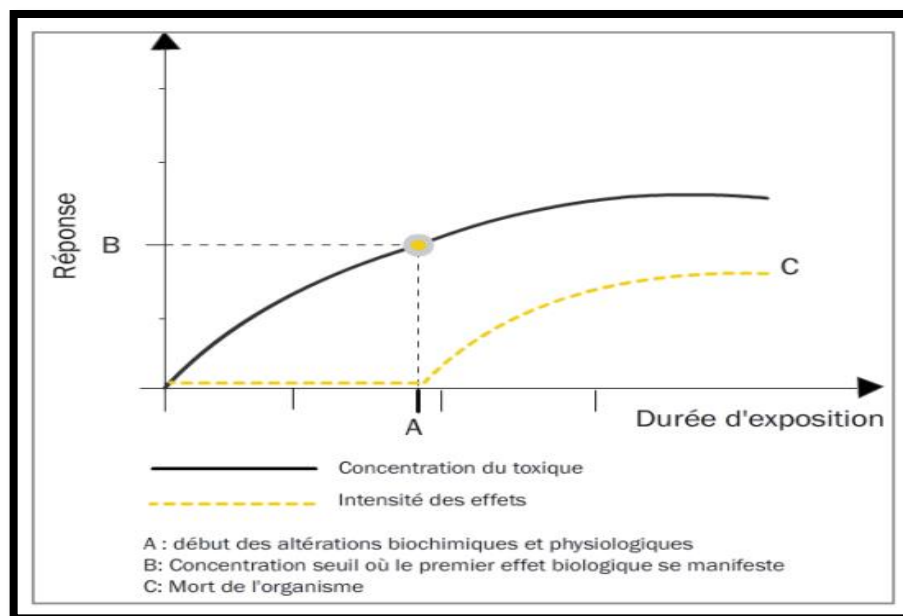


Figure 5. Toxicité chronique due à une accumulation de la dose.

Les Facteurs favorisant l'accumulation des toxiques dans l'organisme sont :

- Facteurs physiques : ↑ de la liposolubilité.
- Facteurs chimiques : Exemple : l'affinité de fluor pour le calcium. Affinité toxiques thioloprives pour les groupements thiols des protéines soufrées (telles que la kératine) des phanères.
- Facteurs biologiques : action néphrotoxique de certains métaux lourds tel que le mercure qui entravent ainsi leur propre site d'élimination par voie rénale.

Certains toxiques s'accumulent dans l'organisme sans entraîner aucun effet qu'après relargage dans des conditions précises, par exemple, le Dichlorodiphényltrichloroéthane (DTT) qui s'accumule au niveau des tissus adipeux et qui est relargué pendant les périodes de jeun ce qui va engendrer les effets toxiques sur le système nerveux central. Le cadmium stocké au niveau de foie pourrait être libéré suite à des atteintes hépatiques favorisant ainsi des lésions tubulaires rénales.

b. Toxicité due à l'accumulation des effets

Le toxique ne se dépose pas et ne s'accumule pas dans l'organisme, alors que les effets de l'exposition répétée à ce toxique s'additionnent elle est souvent irréversible et indépendante de la dose (**Fig 6**).

Exemple : intoxication chronique au disulfure de carbone et au n-hexane (et ses métabolites) qui endommage les cellules nerveuses des orteils et des doigts.

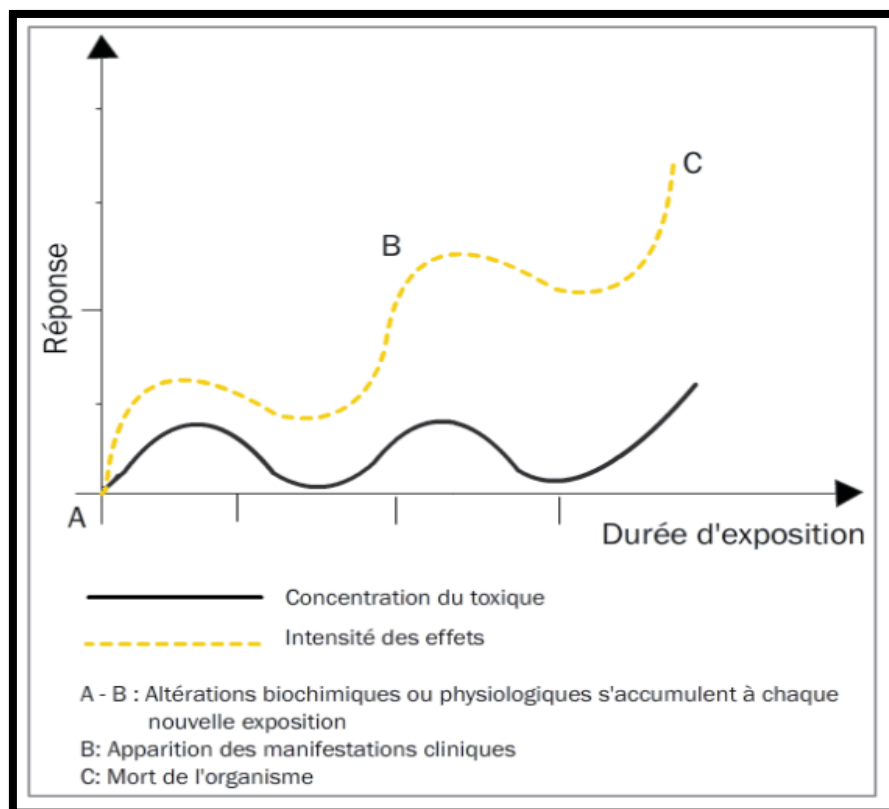


Figure 6. Toxicité chronique due à une sommation d'effets toxiques

Remarque : Il faut faire la distinction entre une exposition aiguë ou chronique et des effets aigus ou chroniques :

- Une exposition aiguë entraîne un effet persistant : Exemple : une seule dose de triorthocrésylphosphate (TOCP) produit chez l'homme, une lésion nerveuse permanente.
- Une exposition chronique entraîne un effet aigu (Ex : des rats exposés au DDT de manière prolongée, en quantité croissante sans aucune altération métabolique apparente. Soumettre ces animaux à un jeûne prolongé, mobilise les graisses des tissus adipeux et libère dans la circulation une quantité importante de DDT toxique pour le système nerveux central.

II.2.2. Effets cancérogènes

Les principales études épidémiologiques et expérimentales seront décrites et tout particulièrement celles qui sont à l'origine des différentes classifications. Une place importante sera réservée aux méta-analyses qui permettent d'accéder à des synthèses de données généralement bien documentées. Les excès de risque seront précisés par type de cancer.

a. Étude de la mutagenèse

Trois types de mutations sont observés selon leur localisation :

- Les mutations géniques résultant de substitutions de paires de bases par transitions ou transversions, sont ponctuelles. En revanche celles apparaissant suite à un décalage du sens de lecture (frameshift), qui est dû à l'insertion ou la délétion d'une ou plusieurs paires nucléotidiques, aura pour effet possible de modifier un gène ou un groupe de gènes, pouvant ensuite modifier l'expression et la régulation de nombreux autres, mais surtout aboutir à des protéines tronquées, non fonctionnelles.
- Les mutations chromosomiques suites à des cassures de la double hélice d'ADN, entraînant des pertes de chromosomes (partielles ou entières), des aberrations structurales et des translocations chromosomiques, qui affectent des dizaines, voire des centaines de gènes. Étant donné que la régulation de l'activité d'un gène dépend en partie de sa localisation dans le génome, les mutations chromosomiques ont en général des effets considérables, car elles éliminent une partie du gène, ou modifient le moment où un gène donné est activé ou désactivé.
- Les mutations génomiques dues à la perturbation de la ségrégation des chromosomes durant la méiose ou la mitose, provoquant une mauvaise distribution du matériel génétique dans les cellules filles, sont néfastes pour l'organisme, car elles modifient l'équilibre des fonctions de milliers de gènes.

b. Etude de la cancérogenèse

Processus néoplasique, qui est l'ensemble de phénomènes qui conduisent à la transformation d'un tissu normal en tissu cancéreux. Les effets cancérogènes doivent être recherchés pour :

- Les produits qui présentent une analogie structurale étroite avec les composés reconnus cancérogènes ; les produits qui, lors de l'étude toxicologique à long terme, ont provoqué des manifestations suspectes.

- Les produits ayant donné des résultats douteux aux tests de mutagenèse ou à d'autres tests de court terme.
- Les substances entrant dans la composition des médicaments susceptibles d'être administrés à vie (les antihypertenseurs, les antidiabétiques oraux, etc.).

Parmi les substances reconnues cancérogènes chez l'homme, on compte de nombreuses molécules industrielles comme le benzène, chlorure de vinyle.

Les Méthodes d'évaluation de la cancérogenèse des substances chimiques sont :

- Méthodes épidémiologiques : la découverte d'une augmentation de la prévalence de cancers parmi les travailleurs exposés pendant de nombreuses années à certains corps chimiques a permis de démontrer leur activité cancérogène chez l'homme.
- Méthodes expérimentales :
 - Test classique *in vivo* : administration prolongée d'une dose de produit à des animaux de laboratoire durant la vie entière puis : Examens macroscopique et microscopique des tissus d'animaux en post mortem à la recherche de tumeurs et les résultats seront comparés à un groupe témoin de même sexe.
 - Tests rapides d'inductions des tumeurs : on réduit dans ce cas la période de latence avant l'apparition des tumeurs (emploi d'animaux nouveau-nés).
 - Tests rapides prédictifs : ce sont des tests dont le résultat n'est pas nécessairement le développement de tumeurs mais de transformations cellulaires et de mutations

c. Relation entre le pouvoir mutagène et le pouvoir cancérogène

Un enchaînement génotoxicité /lésion/mutation/cancérisation est dans la majorité des cas impliqué dans le développement du cancer pour cette raison les tests de génotoxicité et de mutagenicité peuvent être utilisés comme tests rapides et prédictifs d'une activité cancérogène.

Ces données doivent être analysées, ajustées pour les rendre comparables et synthétisées par une approche statistique. L'avantage de la modélisation étant de donner un caractère plus général à la relation dose-effet générée, en prenant en compte des conditions environnementales diverses (zones géographiques diverses) et un effectif de population important, aux caractéristiques variées.

III. Exposition aux xénobiotiques

En évaluation des risques toxicologiques, l'estimation de l'exposition consiste à mesurer l'intensité, la fréquence et la durée de l'exposition humaine à une substance, dans les divers compartiments et en fonction des différentes voies de pénétration dans l'organisme. Elle concerne tout le cycle de vie de la substance, de la fabrication aux diverses utilisations identifiées.

La démarche expérimentale décrite ci-dessus peut être appréhendé selon :

- La quantification des composés libérés présents dans le milieu ambiant et l'environnement (dose externe ou dose potentielle).
- La quantité de polluants présents dans les milieux biologiques (dose interne ou dose absorbée) qui dépend de la consommation (inhalation, ingestion) et de l'absorption cutanée de ses polluants par l'individu exposé en fonction du temps.

III.1. Élaboration des scénarios d'exposition

Le scénario d'exposition décrit les conditions de fabrication ou d'utilisation de la substance et la manière de contrôler l'exposition de l'être humain et de l'environnement. Il comprend à la fois les conditions d'exploitation et les mesures de gestion des risques mises en œuvre par le fabricant, l'importateur ou les utilisateurs. Ces derniers sont les principaux destinataires des scénarios d'exposition et doivent vérifier la conformité de leurs utilisations avec les conditions décrites.

Le niveau de détail requis pour un scénario d'exposition peut considérablement varier d'un cas à l'autre, selon les utilisations, les propriétés dangereuses des substances et le volume d'informations disponibles.

III.1.1. Détermination du scénario d'exposition

Les données comme les concentrations du produit chimique dans les milieux d'exposition, associées aux différents paramètres d'exposition permettent de définir des scénarios d'exposition pour lesquels sont calculées des doses journalières d'exposition, bases de la caractérisation du risque.

Il convient le plus souvent de définir plusieurs scénarios pour décrire la diversité des individus dans la population et la diversité des situations comme :

- La distance du lieu d'habitation ou lieu fréquenté quotidiennement par rapport à la source de pollution (lieu de travail, école, habitation, etc).
- L'âge de la population exposée, (-6ans, -4 ans, adultes, personnes âgées).
- Les signes et symptômes cliniques éventuellement observables et les données et études épidémiologiques existantes.
- Les activités et habitudes de vie.
- La consommation alimentaire.
- Les durées et fréquences d'exposition (école, travail, domicile, etc. Par exemple, un enfant de 6 ans passe 10% du temps à l'école (6h/j, 144j/an) et 90% à domicile ; un travailleur passe 20% du temps au travail (8h/j, 218j/an).

III.2. Estimation de l'exposition

L'estimation de l'exposition, effectuée pour chaque scénario comprend trois éléments :

- L'estimation des émissions
- L'évaluation du devenir chimique et des voies de transfert.
- L'estimation des niveaux d'exposition.

Si des données mesurées concernant l'exposition sont disponibles et représentatives, elles seront particulièrement considérées. Des modèles appropriés ou des données de surveillance pertinentes portant sur des substances analogues peuvent aussi servir à l'évaluation de l'exposition.

Si l'on considère l'exposition comme étant le résultat d'un processus physique d'émission – transport – absorption, il est alors possible de distinguer les déterminants relatifs au compartiment source, ceux ayant une influence sur le transport des polluants et ceux influençant l'absorption par l'individu.

III.2.1. Détermination de l'estimation de l'exposition

a. La source de pollution

L'identification de la source de pollution est essentielle dans la délimitation de la zone d'étude. Une source de pollution peut être une installation industrielle, artisanale, minière, une carrière, un axe routier, une zone de culture (terres agricoles), une zone de captages d'eau pour l'alimentation en eau potable, l'abreuvement des animaux ou l'irrigation, une décharge, un puits à proximité d'une décharge, une zone de pêche, de chasse et/ou de baignade à proximité d'un

point de rejet industriel, un aliment local ou importé, un produit ou un article de consommation courante, etc.

Compte tenu du fait que plusieurs substances chimiques peuvent être contenues dans une même source de pollution ; l'évaluation des risques ne concernant qu'une substance chimique, son choix dépendra des critères suivants :

- Grande nocivité pour la santé humaine même à très faible concentration dans les différents compartiments d'exposition (métaux lourds, dioxines, Polychlorobiphényles, pesticides, etc.
- Dispersion dans les milieux récepteurs et son devenir dans l'environnement (mobilité, accumulation, produits de dégradation).
- Vulnérabilité des populations et ressources à protéger.
- Dépassement des normes sanitaires.
- Évaluation de son impact sur la santé dans le cas d'un programme national.
- Suivi de facteurs de risque chimique dans le cadre de la stratégie nationale de prévention et de contrôle des maladies non transmissibles.

b. Les voies d'exposition

Les voies d'exposition renvoient au cheminement physique suivi par une substance chimique se déplaçant d'une source vers un point de contact avec une personne. Le milieu ou compartiment d'exposition renvoie à l'air, à l'eau, au sol, à la nourriture ou aux produits (de consommation, commerciaux ou industriels) qui sont censés contenir la substance chimique d'intérêt (**Fig 7**).

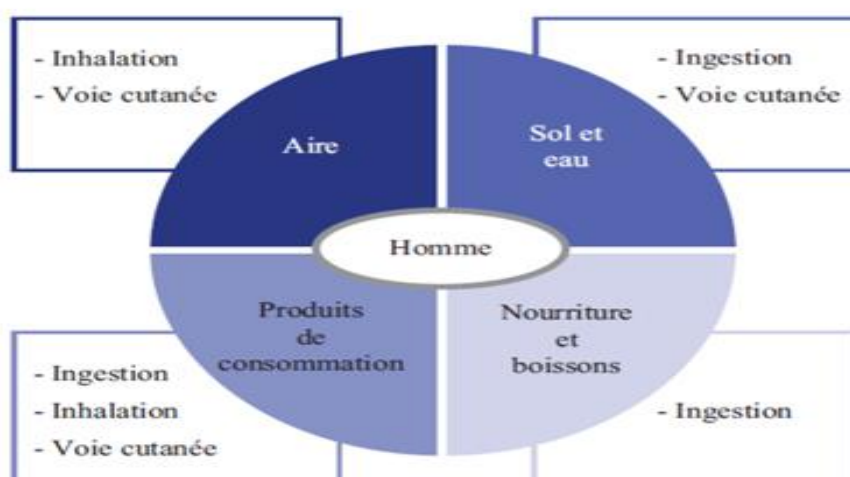


Figure 7. Compartiments d'exposition possibles et moyens de contact correspondants.

Les concentrations de la substance dans les différents milieux d'exposition jusqu'à son point de contact avec la personne est déterminante pour la construction des scénarios d'exposition. Elles sont obtenues soit par mesures (mesures de surveillance ou mesures in situ, soit estimées par calculs sur modèles mathématiques ou généralisées à partir de données existantes. Des comparaisons avec des données de la littérature pour des situations semblables sont utiles pour confirmer les modèles retenus pour les estimations. Les modes d'exposition renvoient à l'absorption par la peau, par ingestion ou par inhalation.

Une bonne connaissance de la nature et des propriétés physicochimiques et toxicologiques des produits chimiques permet d'identifier le mode d'exposition le plus pertinent par catégorie de population. Par exemple, l'exposition au plomb par inhalation est considérée en milieu professionnel alors que l'ingestion de poussières de plomb est plus pertinente pour les enfants en bas âge.

c. Les conditions d'exposition

La durée d'exposition est la période de temps pendant laquelle l'exposition présente un intérêt pour la caractérisation des risques sanitaires. La fréquence d'exposition ou taux d'exposition est la fraction du nombre total annuel d'heures ou de jours d'exposition sur le nombre d'heures ou de jours de l'année.

La durée et la fréquence d'exposition sont des éléments cruciaux dans l'évaluation et l'estimation des risques sanitaires car la période d'exposition, liée aux propriétés toxiques de la substance chimique, est déterminante de l'effet sur l'organisme.

- Une exposition unique et à court terme de quelques minutes ou heures ou d'un jour correspond à des substances chimiques ayant un effet nocif immédiat ou rapide sur le corps à certaines concentrations. L'effet augmente avec la concentration. C'est le cas des gaz solubles dans l'eau comme le dioxyde de soufre ou les asphyxiants comme le monoxyde de carbone.
- Une exposition intermédiaire ou à moyen terme correspond aux substances chimiques qui, à certaines concentrations, sont censées avoir des effets néfastes sur une période de contact allant de quelques semaines à quelques mois. C'est le cas des irritants respiratoires, comme le sulfure d'hydrogène.
- Une exposition à faible dose à long terme ou répétée dans le temps correspond aux substances chimiques à effet chronique comme les polluants organiques persistants ou les

métaux lourds. Les évaluations du risque de cancer constituent des cas particuliers d'exposition à long terme pour lesquels l'exposition moyenne est considérée pendant toute la durée de vie.

d. Les catégories de populations impactées

Les catégories de populations impactées sont recensées dans la zone d'étude, définie selon la dispersion de la substance d'intérêt.

Elles sont décrites, notamment par les informations suivantes :

- Localisation des habitations (isolées ou regroupées, urbaines ou rurales) et nombre de personnes concernées.
- Types de populations (tranches d'âge, activités, type, caractéristiques socio-économiques, habitudes alimentaires, etc.).
- Localisation des installations sensibles : crèches, établissements scolaires, centres de soins.
- Localisation des installations recevant du public : terrains de sport, centres commerciaux, administrations, etc.
- Localisation d'autres installations susceptibles d'être polluantes (industries, décharges, centre de stockage de produits chimiques, etc.).
- Inventaire des projets immobiliers, ou plans locaux d'urbanisme.

Une attention particulière est accordée aux personnes :

- Les plus exposées, du fait de leur localisation (les plus proches) ou de leur comportement (ex : consommateurs de produits locaux).
- Les plus vulnérables, du fait notamment de leur âge (enfants, personnes âgées),

Les jeunes enfants et les personnes âgées sont généralement plus vulnérables que les adultes à l'exposition chimique pour des raisons liées tant à l'exposition qu'aux effets. Les enfants, par exemple, absorbent davantage d'eau, de nourriture et d'air par unité de poids corporel que les adultes. En outre, certains organes (ex : le système nerveux) continuent de se développer au cours des premières années de vie, ce qui amplifie la vulnérabilité des enfants.

De même, les personnes âgées peuvent être moins mobiles que les jeunes adultes et les enfants et, par conséquent, présenter une moyenne d'exposition, pondérée dans le temps, supérieure, à l'intérieur comme à l'extérieur de leurs habitations. En outre, les personnes âgées peuvent

présenter une maladie préexistante, comme une affection respiratoire ou cardiovasculaire, qui peut les rendre plus vulnérables encore aux effets nocifs de l'exposition aux polluants.

III.2.2. Éléments de base des tests toxicologiques pour la caractérisation de l'exposition

Les éléments importants à prendre en considération lors des tests toxicologiques afin d'estimer l'exposition sont :

- Sélection d'un organisme pour l'essai (matériel biologique représentatif du milieu, soit des microorganismes, des invertébrés, des vertébrés et des végétaux terrestres et aquatiques).
- Choix d'une réponse pour la mesure (et une méthode pour mesurer cette réponse).
- Une période d'exposition.
- Durée du test (durée d'observation).
- Séries de doses à tester.

Les organismes choisis pour le test peuvent être un matériel cellulaire isolé ou bien des souches bactériennes isolées des tissus végétaux ou animaux. La réponse peut varier d'un léger changement physiologique de l'organisme et peut aller jusqu'à la mort de ce dernier. Les périodes d'exposition peuvent varier de quelques heures jusqu'à plusieurs années.

En conclusion, l'estimation de l'exposition permet d'identifier les populations qui ont été, sont, ou seront en contact avec l'agent dangereux ainsi que les voies, niveaux et durées d'exposition correspondants.

*Partie III : Tolérance/Résistance aux
xénobiotiques*

I. Phénomènes rencontrés lors d'une exposition aux xénobiotiques

I.1. Tolérance aux xénobiotiques

En toxicologie, la tolérance ou accoutumance est un phénomène retrouvé lors de l'exposition chronique aux xénobiotiques. La tolérance à un agent toxique peut être partielle, en ne se développant que pour une partie de ses effets. Par exemple, lors de l'administration chronique de morphine, une tolérance à ses effets analgésique et dépresseur respiratoire se développe alors qu'il n'y a pas de tolérance pour son effet constipant et son effet myotique.

La stimulation prolongée d'une cellule par un transmetteur extracellulaire (ex : dopamine), entraîne au cours du temps une diminution de la sensibilité de la cellule à cette molécule appelé désensibilisation. Cette dernière est un véritable mécanisme de protection cellulaire de première ligne. Ce processus d'adaptation de l'organisme est généralement relié à une modification pharmacodynamique : désensibilisation des récepteurs (ex : récepteurs β_2 adrénergiques).

I.1.1. Désensibilisation des récepteurs

Les récepteurs sont des macromolécules impliquées dans la signalisation chimique des signaux inter- et intracellulaires ; ils peuvent être situés sur la membrane de surface cellulaire ou dans le cytoplasme. Les récepteurs activés agissent en régulant de façon directe ou indirecte des processus biochimiques cellulaires (ex : conductance ionique, phosphorylation des protéines, transcription de l'ADN, activité enzymatique).

Les molécules (ex : médicaments, hormones, neurotransmetteurs) qui se lient à un récepteur sont appelées ligands. La liaison peut être spécifique et réversible. Un ligand peut activer ou inactiver un récepteur ; l'activation peut augmenter ou diminuer une fonction cellulaire particulière. Chaque ligand peut interagir avec plusieurs sous-types de récepteurs.

Dans la cellule, l'activation prolongée par un agoniste se traduit par une diminution de l'affinité du récepteur pour son ligand, une baisse de son couplage aux protéines G et une diminution du nombre de récepteurs à la surface cellulaire. Ces événements sont distincts dans le temps et dans l'espace (**Fig 8**). Quand le ligand se lie sur le récepteur, il active les protéines G hétérotrimériques. La protéine kinase A (PKA) et les protéines kinases des récepteurs couplés aux protéines G (GRK) phosphorylent le récepteur. À ce moment, le récepteur est fonctionnellement découplé des protéines G et son affinité augmente pour les protéines arrestines. La fixation de l'arrestine sur le récepteur empêche toute nouvelle activation d'autres

protéines G. En outre l'arrestine est capable de se lier avec la clathrine pour permettre l'endocytose du récepteur. Dans les endosomes, les phosphatases garantissent le recyclage du récepteur pour autoriser son retour à la membrane, mais il peut aussi être dirigé vers les lysosomes. A plus long terme, la régulation peut aussi intervenir à l'échelle des phénomènes de transcription.

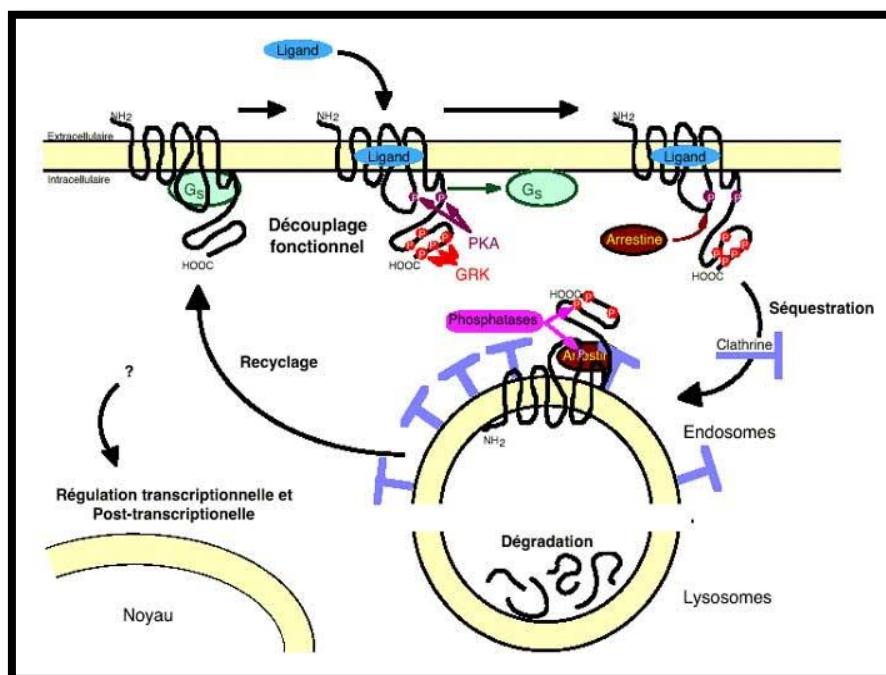


Figure 8. Désensibilisation des récepteurs couplés aux protéines G.

I.2. Résistance aux xénobiotiques

La résistance se développe en réponse aux mutations qui apparaissent spontanément dans un groupe quelconque de microorganismes ou de cellules en croissance, qu'elles soient ou non exposées à des médicaments.

La résistance aux antibiotiques constitue aujourd'hui l'une des plus graves menaces pesant sur la santé mondiale, la sécurité alimentaire et le développement. Un nombre croissant d'infections, comme la pneumonie, la tuberculose ou la gonorrhée, la salmonellose, deviennent plus difficiles à traiter les antibiotiques utilisés pour les soigner perdant leur efficacité. La résistance aux antibiotiques entraîne une prolongation des hospitalisations, une augmentation des dépenses médicales et une hausse de la mortalité.

La majorité des mutations modifient de façon préjudiciable la structure ou les voies biochimiques du microorganisme ou de la cellule. Cependant, certaines mutations modifient les

parties du microorganisme ou de la cellule qui sont affectées par les médicaments, réduisant la capacité du médicament à fonctionner (c'est-à-dire, provoquant une résistance). Ce type de mutations étant très rare, on ne compte normalement que quelques microorganismes ou cellules résistants dans un groupe quelconque. Néanmoins, si la totalité ou une grande partie des cellules ou des microorganismes « normaux » sont détruites par un médicament, un pourcentage nettement plus élevé des survivantes est à même de développer une résistance. Si les cellules résistantes qui ont survécu ne sont pas détruites par les défenses naturelles de l'organisme, ce qui est plus probable lorsque les médicaments sont arrêtés trop vite ou ne sont pas pris correctement, elles peuvent se reproduire et transmettre leurs caractéristiques de résistance à leurs descendantes.

Pour prévenir le développement d'une résistance, les médecins essaient de ne recourir aux antibiotiques qu'en cas de nécessité (pas pour des infections virales telles qu'un rhume) et font en sorte que les personnes les prennent pour un traitement complet. Dans le traitement de certaines infections graves, comme l'infection au virus de l'immunodéficience humaine (VIH), les médecins prescrivent généralement deux médicaments différents ou plus à la fois, car la probabilité est très faible qu'une cellule résiste spontanément à deux médicaments à la fois.

Toutefois, prescrire un médicament pour une courte durée, puis un autre, peut produire une résistance à plusieurs médicaments. La multirésistance est devenue un problème, en particulier avec la tuberculose. Dès lors qu'une tolérance ou une résistance à un médicament est avérée, les médecins pourront augmenter la dose ou utiliser un autre médicament.

En conclusion, vue les différences de sensibilités entre les animaux et l'homme ainsi que les variations interindividuelles existants au sein de l'espèce humaine les recherches toxicologiques et malgré les progrès et la mise en œuvre d'examen de plus en plus nombreux incorporés dans les protocoles d'essais à long terme, restent insuffisants et nécessitent des études supplémentaires pour élargir nos connaissances sur la nature de la toxicité et les mécanismes d'actions des substances chimiques.

*Partie IV : Tests de cytotoxicité et de
généotoxicité*

I. Concept de la cytotoxicité

La cytotoxicité est la propriété d'un agent toxique à détruire des cellules vivantes (ex : les médicaments cytostatiques). Les cibles biologiques de l'action des cytotoxiques sont :

- Les membranes cellulaires : pouvant être le siège d'altérations diverses telles que la peroxydation lipidique, la perte de la perméabilité sélective de la membrane plasmique.
- Les mitochondries : les toxiques inhibent la phosphorylation oxydative, la bêtaoxydation des acides gras, la respiration cellulaire, et par conséquent, entraînent une chute de la concentration en adénosine triphosphate (ATP).
- Les lysosomes : les toxines inhibent les capacités de dégradation de la cellule.
- Le patrimoine génétique peut-être altéré par les génotoxiques.

I.1. Méthodes d'études de la cytotoxicité

Il existe trois grands groupes de méthodes d'études de la cytotoxicité :

- Méthodes fondées essentiellement sur des perturbations de la perméabilité membranaire (les méthodes utilisant des colorants sont à distinguer de celles mesurant le relargage des molécules dans le milieu extra cellulaire).
- Méthodes fondées sur des altérations de la prolifération cellulaire (les méthodes de numération sont à distinguées des méthodes biochimiques qui quantifient l'acide désoxyribonucléique (ADN), les protéines totales, reflet du nombre de cellules).
- Autres méthodes (ex : les méthodes morphologiques fondées sur l'étude des altérations cellulaires jusqu'à la lyse).

I.1.1. Exemples de tests de cytotoxicité

Les tests de cytotoxicité *in vitro* ont été mis au point pour évaluer le potentiel cytotoxique d'un produit chimique. L'évaluation de la viabilité cellulaire est surtout basée sur la mesure de l'intégrité de la membrane cellulaire.

a. Test au rouge neutre

Le test de cytotoxicité cellulaire au rouge neutre est l'une des méthodes couramment utilisées pour détecter la viabilité cellulaire ou la cytotoxicité des médicaments. Le rouge neutre (RN : 3-Amino-7-diméthylamino-2-méthylphénazine hydrochloride), colorant cationique, traverse librement la membrane cellulaire par diffusion passive non ionique ; puis par protonisation, il se retrouve piégé dans les lysosomes où il s'accumule, pouvant être observé par microscopie.

Le degré d'emprisonnement de ce marqueur lysosomotrope dépend du pH du lysosome autant que l'efficacité de la pompe à protons associés à la membrane. Lorsque leur membrane cellulaire est déstabilisée, le colorant se répendra plus ou moins vite dans le cytoplasme, suivant un degré de cytotoxicité.

La quantité de colorant libérée peut être utilisée pour déterminer le nombre total de cellules viables ou la cytotoxicité du médicament. Le test d'absorption du rouge neutre fournit une mesure quantitative du nombre de cellules viables et peut être mesuré à une DO de 540 nm.

b. Test au MTT

Le MTT (3[4,5-diméthylthiazol-2-yl] -2,5-diphényltétrazolium bromure) est un colorant de type tétrazolium qui est réduit par les enzymes mitochondriales en un composé coloré en bleu. Seules les cellules dont les mitochondries sont viables vont donner cette réaction ; en conséquence, l'intensité de la couleur est directement proportionnelle au degré d'intégrité des mitochondries. Il s'agit d'un test utile pour détecter des composés cytotoxiques en général ainsi que les agents ayant les mitochondries pour cible spécifique.

Il suffit donc après l'incubation des cellules avec du MTT pendant un certain temps à 37 °C (environ trois heures) de dissoudre les cellules, leurs mitochondries et donc les précipités de Formazan violets dans du DMSO 100 %. Un simple dosage de la densité optique à 570 nm par spectroscopie permet de connaître la quantité relative de cellules vivantes et actives métaboliquement.

c. Mesure de l'activité de la lactico-déshydrogénase (LDH)

LDH est une enzyme normalement présente dans le cytoplasme des cellules vivantes. Lorsque les membranes cellulaires sont lésées par un agent toxique cette dernière est libérée dans le milieu de culture. Des prélèvements de petites quantités de milieu de culture effectués à différents moments après le traitement chimique des cellules permettent de mesurer la quantité de LDH libérée dans le milieu et de suivre le déroulement de la toxicité en fonction du temps. Bien que la libération de LDH constitue une évaluation très générale de la cytotoxicité, elle n'en est pas moins utile parce qu'elle est facile à réaliser, et ce en temps réel.

Les données recueillies par l'une de ces méthodes permettent de déterminer leur toxicité relative d'une série de produits chimiques. La toxicité relative d'un agent chimique, dans un test *in vitro*, est exprimée par la concentration permettant d'obtenir 50% de réponses par rapport à des cellules non traitées. Cette détermination, qui représente la CE50 (concentration efficace pour

50% des cellules), est utilisée pour comparer la toxicité *in vitro* de différents produits chimiques.

II. Concept de la génotoxicité

La génotoxicité est la capacité de certains agents physiques, chimiques ou biologiques dits « génotoxiques » à produire des changements dans le matériel génétique des organismes exposés.

La détection de ces agents génotoxiques, la détermination des mécanismes moléculaires et cellulaires impliqués dans les modifications de l'ADN (par exemple : la clastogénicité, l'aneugénicité, les mutations ponctuelles, etc.), et l'évaluation des conséquences des lésions sur la structure génétique, sont les principales visées de la génotoxicologie.

L'essor de la génotoxicologie a été considérable ces dernières décennies en raison de la révolution de la biologie moléculaire et de l'analyse génétique, ayant contribué à la richesse des informations nouvelles sur la régulation de la différenciation cellulaire et la cancérogenèse.

II.1. Différentes atteintes du génome

Face à un stress environnemental, l'ADN, centre de l'information génétique, peut subir une très grande variété d'altérations, considérées comme des réponses précoces, pouvant être utilisées comme biomarqueurs génotoxiques. Ces derniers représentent une réelle opportunité d'associer les effets mesurés à l'échelle moléculaire vers les échelles biologiques supérieures, de l'individu jusqu'aux populations.

Compte tenu de la grande diversité des anomalies susceptibles d'être induites au niveau d'un patrimoine génétique, les scientifiques ont accès à de nombreux tests, afin de déterminer l'effet des agents génotoxiques (**Fig 9**), dont le plus utilisé est le test des micronoyaux, capable de détecter des anomalies chromosomiques de nombre et/ou de structure.

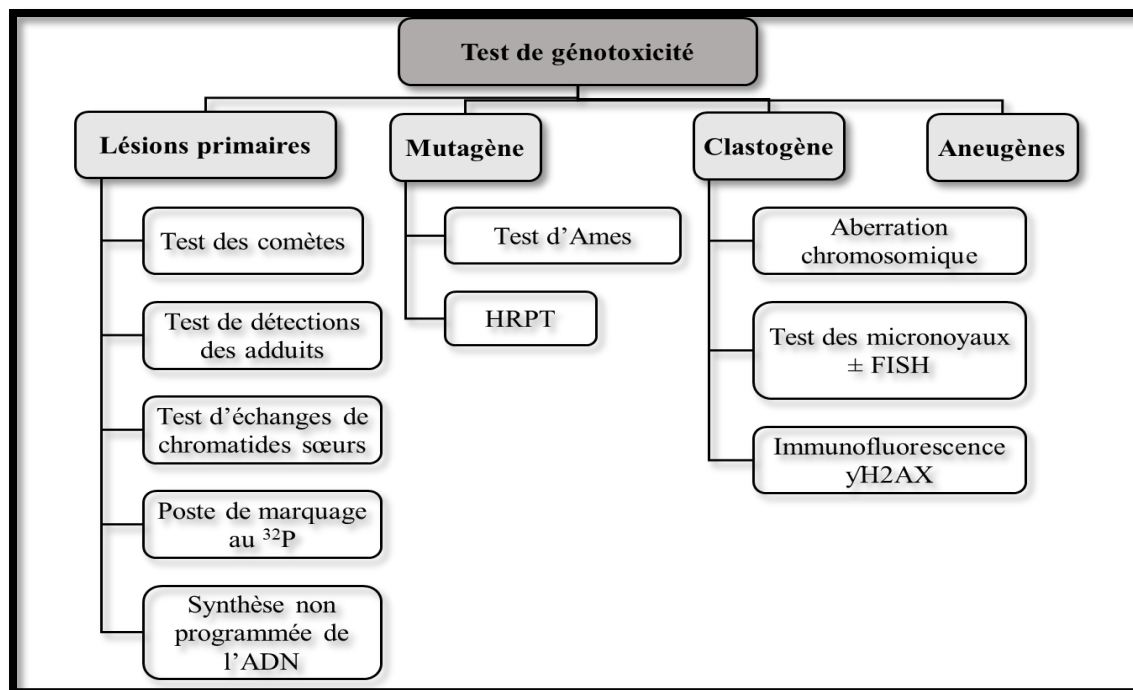


Figure 9. Principaux tests de génotoxicité déclinés en tests mesurant les lésions primaires, les mutations géniques (mutagènes), chromosomiques (clastogènes) et génomiques (aneugènes).

I.1.1. Exemples de tests de génotoxicité

a. Test des micronoyaux (test des MNx)

Les micronoyaux (MNx), sont des entités nucléaires indépendantes du noyau principal, présentes au sein du cytoplasme, générés par la perte de fragments chromosomiques, voire de chromosomes entiers lors de la transition métaphase/anaphase. Ces deux types de contenu correspondent à des mécanismes de formation différents : les fragments chromosomiques acentromériques (MN acentromériques), traduisent un évènement clastogène, car issus de cassures double brin de l'ADN, du fait de leur incapacité à se rattacher au fuseau mitotique. Alors que, les chromosomes entiers (MN centromériques) révèle un évènement aneugène, du fait qu'ils proviennent essentiellement d'altérations et de dysfonctionnement des fuseaux mitotiques impliquées dans la ségrégation et la migration des chromosomes.

Une fois formés, si le MN ne provoque pas la mort cellulaire par apoptose (mort cellulaire programmée), il persistera tout le temps de la vie de la cellule et sera généralement associé à un effet mutagène, et parfois cancérigène. En effet, il a été récemment montré que ces structures nucléaires participent activement au développement des tumeurs par la rupture fréquente et

irréversible de leur enveloppe nucléaire, qui se traduit par l'exposition de leur contenu en ADN au cytoplasme.

Le test des MNx, par conséquent, offre un indice d'évaluation d'événement clastogène ou aneugène, non ou mal réparé par la cellule. De plus, Les MNx sont des dommages post-mitotique non réparables, ils signent à ce titre une altération génotoxique grave et quasi-irréversible. Pratique et fiable, le test des MNx repose sur des techniques histologiques, une coloration au Giemsa, et un comptage au microscope optique.

Applicable, aussi bien *in vitro* qu'*in vivo*, sur tout type cellulaire. Toutefois, son utilisation présente quelques limites, dont la nécessité de rechercher les MNx sur un grand nombre de cellules, ce qui peut s'avérer très fastidieux.

b. Test des comètes

Le test de comètes est une technique d'électrophorèse, de noyaux de cellules isolées en gel d'agarose, sur lames de microscope, en conditions alcalines. Ce test rencontre un intérêt certain ces dernières années car elle permet la mesure du degré de dommages à l'ADN au sein d'une population cellulaire et non au niveau tissulaire comme la plupart des autres techniques d'étude des dommages à l'ADN. Cette méthode très économique est révélatrice de dommages génétiques au niveau cellulaire.

La conduite des étapes de déroulement de l'ADN et d'électrophorèse à certains pH, dans le test des comètes permet la détection différentielle :

- Des cassures double-brin à pH < 9,0.
- Des cassures simple et double-brin, du fait de la dénaturation des liaisons hydrogène de la double hélice d 'ADN à pH < 12,1.
- Des cassures simple et double-brin et d'une majorité de sites alcali labiles à pH >13.

En conclusion, les tests de cytotoxicités et de génotoxicités offrent la possibilité de mesurer l'effet toxique. Néanmoins, en dépit de la complexité et des nombreuses difficultés que présente l'extrapolation des données obtenues *in vitro* aux fins d'une exploitation *in vivo*, ces tests *in vitro* se sont révélés très utiles en raison de leur simplicité et de leur faible coût. Ils peuvent être employés comme tests de dépistage pour détecter les médicaments ou les produits chimiques très toxiques dès le début des travaux de développement.

Partie V : Bonnes pratiques de laboratoire

I. Évaluation des risques toxicologiques en laboratoire

I.1. Généralités

Le risque chimique est un risque d'intoxication, d'allergie, de brûlure par inhalation, ingestion ou contact cutané de produits mis en œuvre ou émis sous forme de gaz, de particule solides ou liquides. Il peut en résulter des maladies professionnelles.

L'évaluation du risque : « procédure d'étude d'une situation dangereuse, basée sur les principes de l'analyse du risque, permettant de décider si le risque tolérable est atteint ou non ». L'analyse du risque étant l'estimation du risque associé à la manipulation d'un agent chimique dangereux.

L'évaluation du risque des produits chimiques sur la santé humaine peut être utilisées pour évaluer les expositions passées, actuelles et même futures de toute substance chimique présente dans l'air, le sol, l'eau, la nourriture, les produits de consommation ou d'autres éléments. Qu'elle soit de nature quantitative ou qualitative, elle dépend des facteurs suivants :

- La quantité de substance chimique présente dans un compartiment environnemental (le sol, l'eau ou l'air, par exemple), un aliment et/ou un produit.
- Le degré de contact (exposition) d'une personne avec le polluant dans le compartiment environnemental.
- La toxicité de la substance chimique.

Comme ces trois facteurs sont rarement connus, de nombreuses évaluations des risques nécessitent de faire des estimations ou des hypothèses concernant certaines caractérisations ou données utilisées. Par conséquent, les résultats des évaluations des risques présentent des incertitudes associées, qui doivent être caractérisées autant que possible.

I.2. Démarche scientifique de l'évaluation des risques chimiques pour la santé humaine

L'étude de l'évaluation du risque chimique pour la santé humaine et pour l'environnement suit la démarche scientifique illustrée dans la **Fig 10**.

I.2.1. Identification des dangers

- L'identification consiste à recenser l'ensemble des agents chimiques utilisés au sein du laboratoire, qu'ils soient sous forme gazeuse (gaz anesthésiques par ex.), solide (poudres) ou liquides (solvants, peintures, désinfectants, etc.). Parmi les différentes sources

d'informations permettant de caractériser le danger lié aux produits chimiques, les sources suivantes sont utilisées par ordre de priorité :

- Les FDS de chaque produit commercial, obtenues à partir des sites internet des fournisseurs ou demandées par courrier.
- Les Fiches toxicologiques diffusées par l'INRS.

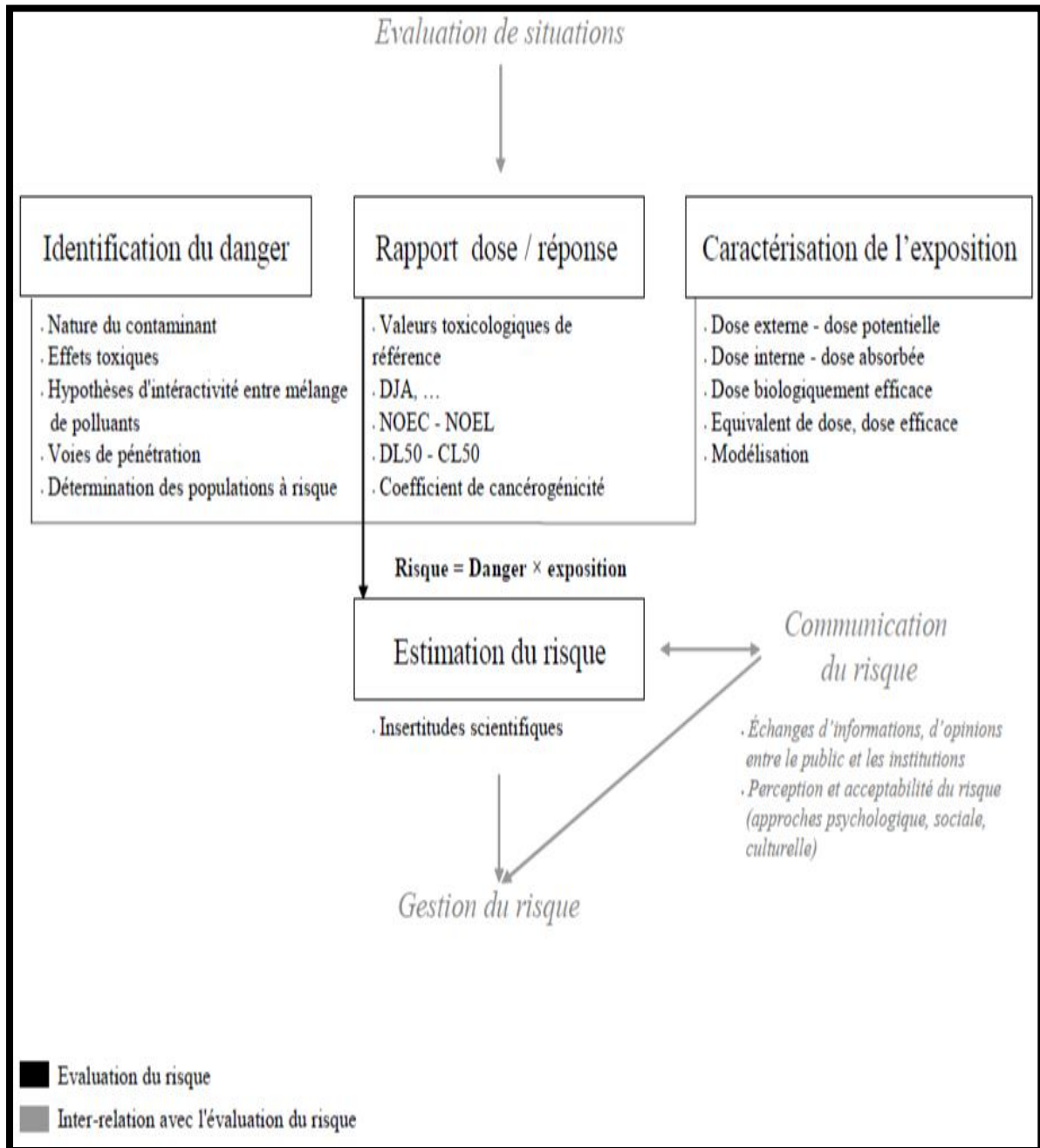


Figure 10. Démarche scientifique regroupant les étapes dans l'étude de l'évaluation du risque chimique pour la santé humaine et la santé environnementale.

La caractérisation du danger toxicologique renseigne sur les voies de pénétration préférentielles des substances dans l'organisme (respiratoire, cutanée, orale) et le type d'effet redouté.

Exemples :

- Danger d'effet local (noté Local), danger d'effet systémique non CMR (CMR désigne les effets cancérogènes, mutagènes ou toxiques pour la reproduction).
- Exposition par voies respiratoire (systémique resp), cutanée (systémique cut) ou orale (systémique orale),
- Danger d'effet cancérigène (systémique c), mutagène (systémique m), reprotoxique (systémique r).

Il a été décidé de ne définir pour ces effets que 3 niveaux de danger :

- En niveau 1 sont regroupés les produits ou mélanges de danger faible ou modéré.
- En niveau 2 sont regroupés les produits ou mélanges dangereux.
- En niveau 3 sont présents les produits ou mélanges très dangereux.

I.2.2. Évaluation de l'exposition du personnel

L'exposition des personnes aux agents chimiques dangereux est caractérisée par la prise en compte de divers facteurs, liés aussi bien au matériel, aux moyens de protection qu'à la personne, permettant d'en estimer l'intensité (de manière semi-quantitative).

La méthode validée doit prendre en compte deux critères importants :

a. Critères d'exposition

Ces critères concernent : la Fréquence de manipulation, les quantités manipulées, la concentration des produits manipulés. Chacun de ces critères comprend 3 niveaux :

Fréquence :

- Quelques fois par an ou par mois = coté 1.
- Quelques fois par semaine = coté 2.
- Tous les jours = coté 3.

Quantités :

- Faibles (< au mL) = coté 1.
- Moyennes (de 1 mL à 100 mL) = coté 2.

- Importantes (> 100 mL) = coté 3.

b. Critères de protection

Il est important que l'exposition étudie les moyens de protection visant à réduire l'exposition par ces voies de pénétration. De ce fait, les critères suivants sont pris en considération :

Exemple : protection vis à vis de la voie cutanée :

- Gants adaptés = coté 10^{-2} .
- Crème barrière = coté 10^{-1} .
- Pas de gants = coté 10.

c. Calcul des indices de risques

Pour chaque type de danger il est décidé que l'estimation du niveau de risque (sous la forme d'e l'indice de risque IR) prenne en compte tant le niveau de danger du produit que l'intensité de l'exposition et l'efficacité des moyens de protection en rapport avec la voie d'absorption du produit.

L'IR (d'un effet par une voie de pénétration) s'obtient de la manière suivante :

$$IR = \text{niveau de danger} \times \text{exposition potentielle} \times \text{indice de protection}$$

À partir de ces indices de risques, doivent pouvoir être définis trois niveaux de risque :

- Niveau de risque faible.
- Niveau de risque intermédiaire, acceptable sous réserve de précautions appropriées,
- Niveau de risque élevé (priorités d'action).

En conclusion, les situations de travail associés à un niveau de risque élevé devraient faire l'objet de propositions rapides de prévention / protection, en complément du recours à d'autres approches permettant de caractériser le risque de façon plus précise (métrologies atmosphériques et/ou biologiques).

II. Évaluation des risques chimiques : cas d'un laboratoire pharmaceutique

L'évaluation du risque est le processus d'analyse du danger chimique et de la situation de travail permettant d'estimer le risque et de le comparer à un critère d'aide à la décision (exemples :

seuil au-dessus duquel le risque est très élevé, seuil au-dessous duquel le risque peut être estimé faible).

Elle consiste à déterminer quels produits chimiques sont utilisés et la nature de leurs dangers, c'est-à-dire à rechercher s'ils présentent le risque de l'une ou de plusieurs des éventualités suivantes: maladie aiguë ou chronique due à la pénétration dans l'organisme par inhalation, absorption percutanée ou ingestion; lésion ou maladie due au contact avec la peau ou avec les yeux; lésion due au feu, à une explosion ou à d'autres événements résultant de leurs propriétés physiques ou de leur réactivité chimique.

II.1. Présentation de la méthode OHB Rhodia

La méthode OHB- Rhodia distingue elle les CMR par une classe spécifique « X » mais pas les autres types d'effets ; les critères considérés (durée d'exposition, indice de dilution, indice de confinement) ne nous paraissent pas par ailleurs prendre en compte les différentes composantes de l'exposition. Les autres méthodes classent les phrases R dans une seule catégorie « effet sur la santé sans distinction de types ».

II.1. 1. Évaluation des dangers des substances et préparations

La détermination d'un score de danger se fait à partir des informations suivantes, par ordre de Priorité :

- Valeurs limites d'exposition professionnelle (VLEP) officielles ou internes, en ppm ou mg/m³.
- Données toxicologiques existantes (phrases de risque des FDS).
- Résultats de tests toxicologiques complémentaires.

Obtention d'un score de danger de 1 (produit non dangereux) à 5 (produit très dangereux), et d'une classe spécifique pour les produits CMR (classe X).

La classe de danger maximale (niveau X) concerne les produits Cancérogènes, Mutagènes ou Reprotoxiques (CMR) de catégorie 1 ou 2 CEE ; viennent ensuite successivement les produits très toxiques T+ (niveaux 5 ou 4), les produits toxiques T et les CMR de catégorie 3 CEE (niveau 3); les produits nocifs (Xn) et irritants (Xi) sont niveau 2 et les produits sans danger niveau 1.

Existence de notations spéciales permettant de préciser la voie de pénétration préférentielle dans l'organisme ou son délai d'action toxique.

a. Avantages

Le type d'effet est précisé (systémique ou local) ; l'étude des données toxicologiques animales permet d'évaluer le danger de substances peu connues, les produits Cancérogènes, Mutagènes ou Reprotoxiques (C, M, R) sont classés à part.

b. Inconvénients

Le danger physico-chimique des produits n'est pas pris en compte ; les voies de pénétration préférentielles sont peu précisées et non exploitées ; nombre important de classes de danger.

III. Bonnes pratiques de laboratoire

Les bonnes pratiques de laboratoire (BPL) forment un système de garantie de qualité portant sur le mode d'organisation des études de sécurité non cliniques ayant trait à la santé et à l'environnement et sur les conditions dans lesquelles ces études sont planifiées, réalisées, contrôlées, enregistrées, archivées et diffusées.

Les recommandations peuvent varier d'une autorité à l'autre. Les points suivants sont notamment abordés :

- Organisation du personnel et distribution des responsabilités.
- Planification de l'étude.
- Assurance qualité.
- Stockage.
- Gestion des déchets.
- Registres et archivage.
- Étiquetage des réactifs.
- Respect du bien-être animal.
- Documentation des déviations au mode opératoire.
- Utilisation, entretien et étalonnage des appareils de mesure.
- Validation, entretien et sécurité des systèmes informatiques.
- Collecte, identification et manipulation des échantillons.
- Forme du rapport final.

Le **Tableau 3** présente quelques mesures de prévention lors de situations dangereuses en sein du laboratoire.

Tableau 3. Mesures de prévention selon le danger et/ou situation dangereuse en laboratoire

Danger et/ ou Situation dangereuse	Mesures de prévention
<ul style="list-style-type: none">➤ Présence dans le laboratoire de produits toxiques ;➤ Préparations, transvasement ;➤ Stockage des produits toxiques dans de mauvaises conditions (ex : absence d'aération) ;➤ Absence d'étiquetage des récipients de transvasement ;➤ Ventilation inadaptée ou absente.	<ul style="list-style-type: none">✓ Demander aux fournisseurs des fiches FDS récentes ;✓ Hiérarchiser les produits selon leur toxicité ;✓ Limiter les manipulations et l'exposition (ex : utiliser des produits en vase clos, ventiler les locaux, prendre compte des déchets, etc.) ;✓ Faire porter les protections individuelles adaptés (ex : blouses ; gangs ; etc.) ;✓ Stocker ls produit dans de bonnes conditions (préconiser par les fournisseurs ;✓ Informer le personnel des risques :✓ Mettre en place de douches, de rince œil, etc.

Conclusion générale

De multiples facteurs sont à considérer en amont de toutes évaluations, de l'aspect physicochimique/ biologique à l'impact physiologique et cancérigène ; une connaissance approfondie du devenir des interactions et de la toxicité des polluants est primordiale.

L'évaluation des risques toxicologiques se conclut par la caractérisation qualitative et/ou quantitative du risque. Cette étape présente une estimation de l'incidence et de la gravité des effets indésirables susceptibles de se produire dans une population humaine ou une composante de l'environnement en raison de l'exposition, réelle ou prévisible, à une substance. L'estimation du niveau de risque doit mettre en relation les informations sur les caractéristiques toxicologiques des contaminants (valeurs de référence et estimateurs de risque cancérigène) avec les doses d'exposition.

De ce fait, la caractérisation du risque vise à développer une compréhension juste du risque et de ses conséquences possibles sur la santé en vue d'éclairer les décisions. Il s'agit de poser un diagnostic de santé publique sur le risque à la santé. Cette conclusion s'appuie sur le jugement professionnel des évaluateurs pour estimer le niveau de risque qui représente en fait une appréciation de son importance.

Une fois le risque toxicologique caractérisé, des mesures de prévention doivent être définies afin de prévenir des accidents et/ou des maladies professionnelles. En effet, l'évaluation du risque toxicologique fournit de l'information scientifique objective nécessaire à la gestion du risque. Toutefois, l'évaluation du risque toxicologique est un domaine qui se signale par une évolution rapide des connaissances et des approches méthodologiques.

En matière de prévention des risques chimiques, plusieurs types d'actions sont possibles pour aboutir à la meilleure maîtrise possible du risque chimique. Le plan d'actions constitué combine des mesures techniques (suppression ou substitution de produits ou de procédés, protection collective (captage à la source des émissions par exemple) et organisationnelles (procédures d'urgence, règles d'hygiène, etc.) ainsi que des actions d'information et de formation des travailleurs.

Références bibliographiques

Albertini RJ, Anderson D, Douglas GR, et al. (2000). IPCS guidelines for the monitoring of genotoxic effects of carcinogens in humans. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research* 463(2): 111-172.

Attia SM (2011) Comparative aneugenicity of doxorubicin and its derivative idarubicin using fluorescence in situ hybridization techniques. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 715(1-2) : 79-87.

Amiard-Triquet C, Rainbo PS, Roméo M (2011) *Tolerance to Environmental Contaminants*. CRC Press, Boca Raton 464p.

Babich H, Goldstein SH, Borenfreund E (1990) In vitro cyto- and genotoxicity of organomecrls to cells in culture. *Toxicology letters* 50: 143-149.

Baken KA, Sjerps RMA, Schriks M, et al. (2018) Toxicological risk assessment and prioritization of drinking water relevant contaminants of emerging concern. *Environment International* 118, 293-303.

Bado-Nilles A, Jolly S, Lamand F, et al. (2015) Involvement of fish immunomarkers in environmental biomonitoring approach : Urban and agri-viticultural context. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 120 : 35-40.

Bakare AA, Pandey AK, Bajpayee M, et al. (2007) DNA damage induced on human peripheral blood lymphocyte by industrial solid waste and municipal sludge leachaks. *Environmental and Molecular Mutagenesis* 48 : 30-37.

Belfiore N, Anderson (2001) Effects of contaminants on genetic patterns in aquatic organisms : a review. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research* 489(2-3) : 97-122.

Betancourt M (2017) A conceptual introduction to Hamiltonian Monte Carlo. arXiv preprint arXiv : 1701-02434.

Bonassi S, Znaor A, Ceppi M, et al. (2007) An increased micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes predicts the risk of cancer in humans. *Carcinogenesis* 28 : 625-631.

Boya P, Kroemer G (2008) Lysosomal membrane permeabilization in cell death. *Oncogene* 27(50) : 6434-6451.

Carrier G, Bard D (2003) *Environnement et santé publique-Fondements et pratique. Analyse du risque toxicologie*. 226p.

Cassarett, Doull's (2010) *Essentials of toxicology*, Second edition, 2 : 5-17.

Chen Q, Riviere JE, Lin Z (2022) Toxicokinetics, dose–response, and risk assessment of nanomaterials : Methodology, challenges, and futureperspectives. *Wiley Interdisciplinary Reviews : Nanomedicine and Nanobiotechnology* 14(6) : e1808.

Dab W (2021) *Les différentes études épidémiologiques dans les fondamentaux de l'épidémiologie*. sous la direction de DAB William. Rennes, Presses de l'EHESP, « Vademecum Pro » 67-74.

Elespuru RK, Sankaranarayanan K (2007) New approaches to assessing the effects of mutagenic agents on the integrity of the human genome. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 616(1-2) : 83-89.

Iarmarcovai G, Bonassi S, Sari-Minodier I, et al. (2007) Exposure to genotoxic agents, host factors, and lifestyle influence the number of centromeric signals in micronuclei : A pooled re-analysis. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 615(1-2) : 18-27.

Iarmarcovai G, Ceppi M, Botta A, et al. (2008). Micronuclei frequency in peripheral blood lymphocytes of cancer patients: A meta-analysis. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research* 659(3) : 274-283.

Jean-Soro L, Bordas F, Bollinger JC (2012) Column leaching of chromium and nickel from a contaminated soil using EDTA and citric acid. *Environmental Pollution* 164 : 175-181.

Kase R, Korkaric M, Werner I, et al. (2016) Criteria for Reporting and Evaluating ecotoxicity Data (CRED): comparison and perception of the Klimisch and CRED methods for evaluating reliability and relevance of ecotoxicity studies, *Environmental Sciences Europe* 28(1): 7.

Kirsch-Volders M, Sofuni T, Aardema M, et al. (2003) Report from the *in vitro* micronucleus assay working group. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 540(2) : 153-163.

Kwon M, Leibowitz ML, Lee JH (2020) Small but mighty : the causes and consequences of micronucleus rupture. *Experimental & Molecular Medicine* 52 : 1777-1786.

Kushwaha B, Pandey S, Sharma S, et al. (2012) *In situ* assessment of genotoxic and mutagenic potential of polluted river water in *Channa punctatus* and *Mystus vittatus*. *International Aquatic Research* 4(1) : 16.

Mamaca E, Bechmann RK, Torgrimsen S, et al. (2005) The neutral red lysosomal retention assay and Comet assay on haemolymph cells from mussels (*Mytilus edulis*) and fish (*Symphodus melops*) exposed to styrene. *Aquatic Toxicology* 75(3) : 191-201.

Maertens A, Golden E, Luechtefeld TH, et al. (2022) Probabilistic risk assessment—the keystone for the future of toxicology. *Altex* 39(1) : 3.

Marchi B, Burlando B, Moore MN, et al. (2004) Mercury- and copper-induced lysosomal membrane destabilisation depends on [Ca²⁺] i dependent phospholipase A2 activation. *Aquatic Toxicology* 66(2) : 197-204.

Mindell JA (2012) Lysosomal Acidification Mechanisms. *Annual Review of Physiology* 74(1) : 69-86.

Perera RM, Zoncu R (2016) The Lysosome as a Regulatory Hub. *Annual Review of Cell and Developmental Biology* 32(1) : 223-253.

Persoons R (2011) Etude des méthodes et modèles de caractérisation de l'exposition atmosphérique aux polluants chimiques pour l'évaluation des risques sanitaires. Médecine humaine et pathologie. Université Grenoble Alpes, 2011. Français.

Reichi F.X, Ritter L (2011) Illustrated handbook of toxicology, Thieme, 2-6.

Roberts SM, James RC, Williams PL. (Eds.) (2022). Principles of toxicology: environmental and industrial applications. John Wiley & Sons.

Serra R, Rossi S, Ferroni F et al. (2003) Primary prevention of chemical risk: evaluation of the efficiency of fume hoods in the laboratories of Bologna University. Indoor and Built Environment 12: 185-190.

USGS (2012). Mineral Commodity Summaries 2012. In USGS. United States Geological Survey.

Valcke M, Nong A, Krishnan K (2012). Modeling the Human Kinetic Adjustment Factor for Inhaled Volatile Organic Chemicals : Whole Population Approach versus Distinct Subpopulation Approach. Journal of Toxicology 1-14.

Vecchio D, Sasco AJ, Cann CI (2003) Occupational risk in health care and research. American Journal of Industrial Medicine 43 : 369-397.

Vincent R, Bonthoux F, Mallet G, et al. (2004) Méthodologie d'évaluation simplifiée du risque chimique : un outil d'aide à la décision. Cahier de Notes Documentaires 195 :7-30.

Vindimian E. (2004) Le nouveau dispositif européen de gestion des substances chimiques. Environnement, Risques et Santé 3 (4) : 205-208.

Wang F, Gómez-Sintes R, Boya P (2018). Lysosomal membrane permeabilization and cell death. Traffic 36p.

Zheng W, Miller GW (2018) Toxicological Sciences Papers of the Year. Toxicol Sci. 168(2) : 285-286.