

Chapitre 4 : Evaluation de la toxicité

1. Evaluation des différentes formes de la toxicité

La toxicité d'une substance peut être définie comme étant sa capacité à provoquer des effets nocifs à un organisme vivant. C'est ainsi qu'une substance hautement toxique entraîne des effets nocifs à de faibles doses tandis qu'une substance faiblement toxique n'entraîne de tels effets que si elle est utilisée ou administrée à de forte dose. Pour l'évaluation de cette toxicité, plusieurs facteurs sont à prendre en considération tels que :

- La dose absorbée.
- La voie d'administration.
- La fréquence d'administration.
- Le temps nécessaire pour faire apparaître un effet.
- Etude physico-chimique, expérimentation animale sur la substance.

Dans le cadre de cette relation, en liaison avec les modalités d'exposition au xénobiotique, on peut distinguer plusieurs formes de toxicité, tel la toxicité aiguë, sub-aiguë et chronique.

1.1. Toxicité aiguë

Elle résulte de l'administration unique et massive d'un produit, soit par voie orale ou parentérale, dans le cas des produits liquides ou solides, soit par voie pulmonaire, dans le cas de gaz ou de vapeur de façon à établir la dose qui provoque la mort de 50 % du lot d'expérience dans un délai de 15 jours.

La plupart des études entreprises en toxicologie alimentaire s'effectuent par voie orale. Cependant d'autres voies d'administration sont possibles (intraveineuse, sous-cutanée, par inhalation...). Cette étude a lieu sur deux à trois espèces animales. Pour réduire le nombre d'animaux testés on admet maintenant la notion de «test limite» qui est la suivante : si une dose de 2500 mg/kg de masse corporelle ne provoque pas de mortalité, la détermination de la DL 50 n'est pas utile. La détermination de la DL 50 chez le rat permet une classification de la substance suivant sa dangerosité. L'intérêt de l'évaluation de la toxicité aiguë est d'écarter les substances trop toxiques et d'orienter les autres types de toxicité

	Par voie orale (mg/kg)		Par voie dermique (mg/kg)	
	Solides	Liquides	Solides	Liquides
I _a extrêmement dangereux	≤ 5	≤20	≤10	≤40
I _b très dangereux	5 – 50	20 – 200	10 – 100	40 –400
II modérément dangereux	50 – 500	200 – 2000	100 – 1000	400 - 2500
III peu dangereux	> 500	> 2000	> 1000	> 2500

Exemples de Toxiques Aigus Dose létale 50 (DL ₅₀) mg/kg chez le rat mâle par voie orale	
Composé chimique	DL ₅₀ (rat mâle/voie orale)
Ethanol	7060
Chlorure de sodium	3000
DDT	87
Nicotine	50
Strychnine	2,3
Dioxine : dérivé chloré du phénol (TCDD)	0,02

1.2. Toxicité subaiguë ou à court terme (toxicité à dose répétées)

Elle est conduite en administrant à l'animal **des doses répétées de la substance pendant une période de l'ordre de 10 % de la durée de vie de l'animal** (soit 90 jours pour le rat et une année pour le chien). Ce n'est donc qu'une variante de la toxicité aiguë correspondant à une exposition en un court délai, à plusieurs doses ; là encore le critère d'évaluation est la mort. Parallèlement à cette observation, nous devons étudier le comportement des animaux, la croissance pondérale (baisse du poids), les modifications hématologiques, les fonctions et les caractéristiques histologiques des principaux organes.

La toxicité subaiguë apporte :

- des informations sur les effets toxiques principaux d'une substance et les organes cibles concernés
- des précisions sur la réversibilité ou l'irréversibilité des effets précisant si ceux-ci sont cumulatifs
- Des précisions sur le choix des doses qui pourraient être utilisées lors des études à long terme

L'étude de la toxicité à court terme ne suffit pas, mais il est bon de la souligner pour juger de l'existence ou de l'absence d'une possible action allergénique, cancérogène ou tératogène. Ainsi, elle oriente l'épreuve de la toxicité à long terme notamment en ce qui concerne les organes et les fonctions qu'il faut surveiller spécialement.

1.3. Toxicité chronique ou à long terme ou réitérée (toxicité à dose répétées)

Elle résulte de l'**exposition prolongée et longtemps répétée à des petites doses dont l'action, envisagée isolément est pratiquement impossible à mettre en évidence.**

L'étude doit être envisagée sur une espèce donnée au moins **sur la plus grande partie de la vie et sur plusieurs générations** (rat 2 ans et 1,5 pour la souris). On observe le comportement des animaux, la croissance pondérale, le développement, le nombre et la constitution des portées, les manifestations d'accoutumance, de blocage des systèmes enzymatiques, de sensibilisation, d'accumulation, d'effets tératogènes, la mortalité, la longévité... etc.

Dans la toxicité chronique on distingue deux variantes, soit qu'elle résulte d'une accumulation de doses ou d'effets.

a) Par accumulation de doses : Ce sont les « **toxiques dits cumulatifs** » tels que les métaux lourds thioloprives (Pb, Cd, Hg ...etc.) et les métalloïdes (As, antimoine), qui ont des affinités diverses, physiques (liposolubilité) ou chimiques (la formation de combinaisons stables, cas des métaux thioloprives) s'accumulent à la longue dans certains récepteurs où ils peuvent atteindre des concentrations toxiques, responsables de lésions irréversibles.

b) Par accumulation d'effets : C'est généralement le cas de substances cancérogènes tel le colorant «jaune de beurre » (le diméthyl amino-azobenzène) qui a été longtemps employé pour colorer la margarine et a provoqué le cancer du foie chez le rat. Pour lequel Durckrey a montré que quel que soit le jeu des éliminations, il semble que **les effets correspondant à chaque dose, si minime soit-elle**, puissent se cumuler et entraîner, pour une dose globale fixe, l'apparition d'un hépatome, au bout d'un temps évidemment variable suivant l'importance et la fréquence d'administration des doses individuelle.

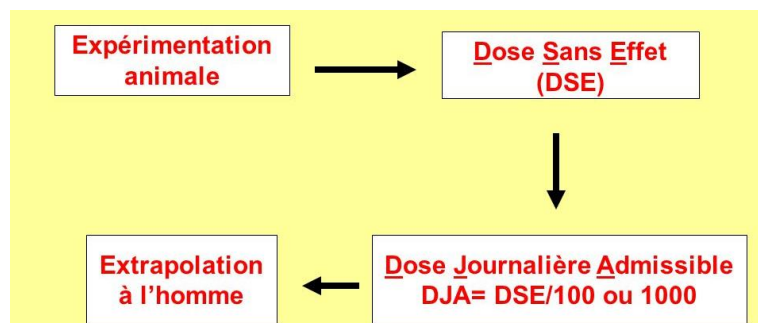
c) Par absorption d'une dose unique : se sont d'une part, les toxiques qui sont suffisamment cumulatifs pour qu'une seule dose suffise à réaliser d'emblée et à maintenir au niveau de certains récepteurs une concentration suffisante pour entraîner des lésions devenant irréversibles, et d'autre part les toxiques dont l'effet d'une dose unique se développe au

niveau de l'organe cible. Ex : le du Paraquat (Dichlorure de 1-1'-diméthyl-4-4'-dpyridium, commercialisé sous le nom de Gramoxone), herbicide très efficace dérivé du bi-pyridium qui, plusieurs semaines après l'ingestion d'une dose unique, n'ayant entraîné sur le moment que des troubles gastro-intestinaux mineurs, provoque une prolifération de fiboblastes au niveau de l'épithélium pulmonaire, entraînant, à la longue une anoxie mortelle. Ce dernier type de toxique a été qualifié par les Anglais de «hit and run » (toxique qui frappe et qui s'en va) : le toxique est parti, mais le coup est resté et ses conséquences s'amplifient.

2.4. Relation dose- réponse (notion des doses D.J.A. ou D.J.T, D.H.A ou D.H.T)

Dans les études toxicologiques on admet différents paramètres significatifs qui mettent en relation la dose du toxique avec sa réponse dans l'organisme. Parmi ces paramètres nous avons : la D.S.E. (dose sans effet), la **D.J.A** (Dose journalière admissible), la D.L.50 (dose létale 50),...etc.

Pour une substance faisant l'objet de plusieurs essais in vivo. On obtient la dose qui a provoqué la toxicité chronique. On diminue cette dose et on l'injecte à des différentes espèces, on obtient plusieurs doses sans effet suivant l'espèce sur laquelle ils ont été effectués. On choisit alors, en général, l'espèce la plus sensible, donc qui a la dose sans effet la plus basse pour obtenir la **D.J.A**.



Le plus souvent on divise la dose sans effet par un facteur arbitraire qu'on appelle **facteur de sécurité** qui tient compte de considérations variées telles que : la sensibilité de l'homme par rapport à celle des espèces animales, le type d'effet toxique observé, c'est ainsi que le cas d'effet tératogène ou cancérigène, il sera plus élevé que pour les autres effets. Dans le cas des produits alimentaires, ce facteur varie de 100 à 1000. : il tient compte de la différence possible de sensibilité entre les animaux d'expérience et l'homme (facteur estimé à 10) et de la différence de sensibilité entre individus de même espèce (facteur estimé à 10 également). Le facteur de sécurité peut être plus ou moins élevé si on dispose d'arguments expérimentaux pour le modifier.

Le concept de Dose Journalière Admissible pour l'homme (DJA) a été initialement utilisé pour les additifs alimentaires, mais qui peut être étendu à toute substance chimique définie. Il s'agit de la quantité de cette substance qui peut être ingérée quotidiennement pendant toute la durée de la vie sans entraîner de risque appréciable pour la santé des consommateurs, sur la base des fait connus au moment de sa fixation. Elle est généralement exprimée par rapport au poids corporel.

De par sa définition, la DJA ne peut pas être considérée comme une valeur mathématique marquant une nette séparation entre l'innocuité et le risque avéré pour la santé. On admet en particulier, pour

- les additifs alimentaires, qu'il n'y a pas lieu de s'inquiéter d'un dépassement accidentel ou limité en valeur.

- **les contaminants (doses tolérables provisoires sont des doses hebdomadaires (DHTP))**, on utilise généralement le concept, voisin de celui de DJA, de dose tolérable provisoire : on considère en effet qu'il n'y a pas lieu d'« admettre » la présence de contaminants, qu'on ne peut que « tolérer ». La dose journalière n'ayant pas de signification pour des substances dont la présence est aléatoire et les effets le plus souvent cumulatifs, les doses tolérables provisoires sont des doses hebdomadaires (DHTP).

- **les micro-organismes pathogènes, minimale infectante (ou infectieuse, DMI)**. la question qui se pose est celle de dose minimale infectante (ou infectieuse, DMI). Il est très difficile de déterminer une telle dose qui aurait une portée générale pour des individus se trouvant dans des conditions physiopathologiques très variées, et pour des espèces dont la virulence peut connaître des différences considérables entre souches.

Le tableau suivant présente, pour illustrer la caractérisation de dangers liés à l'alimentation, quelques exemples de DJA, de doses tolérables et de doses minimales infectieuses.

Tableau 2 – Caractérisation des dangers : quelques exemples de seuils d'innocuité		
	Seuils d'innocuité	Source
Agents biologiques		
• <i>E. Coli</i> O157:H7	DMI : 2 à 2 000 cellules	— littérature scientifique
• <i>Listeria monocytogenes</i>	DMI : 100 germes par gramme d'aliment (?)	— littérature scientifique
Agents chimiques		
• Allergènes	— pas de seuils déterminés	— littérature scientifique
• Pesticides :		
lindane	— DJA : 1 µg/kg de masse corporelle.jour	— JMPR (FAO/OMS), 1997
malathion	— DJA : 0,3 mg/kg de masse corporelle.jour	— JMPR (FAO/OMS), 1997
phosalone	— DJA : 20 µg/kg de masse corporelle.jour	— JMPR (FAO/OMS), 1997
• Médicaments vétérinaires Somatotropine bovine (BST)	— DJA non spécifiée	— JECFA (FAO/OMS), 1998
• Contaminants :		
plomb	— DHTP : 25 µg/kg de masse corporelle.semaine	— JECFA (FAO/OMS)
cadmium	— DHTP : 7 µg/kg de masse corporelle.semaine	— JECFA (FAO/OMS)
dioxines	— DJA : 1 pg/kg de masse corporelle.jour	— CSHP France, 1991
• Additifs :		
acide citrique	— DJA non spécifiée	— JECFA (FAO/OMS)
sulfites	— DJA : 0,7 mg/kg de masse corporelle.jour	— JECFA (FAO/OMS)
rocou (colorant)	— DJA : 65 µg/kg de masse corporelle.jour	— JECFA (FAO/OMS)
Agents physiques		
• radioactivité	— Équivalent de dose : 1 mSv/personne.an	— CIPR, 1990
DHTP : dose hebdomadaire tolérable provisoire DJA : dose journalière admissible pour l'homme DMI : dose minimale infectante (ou infectieuse) CIPR : commission internationale de protection radiologique CSHP : conseil supérieur d'hygiène publique JECFA : Joint Expert Committee on food additives JMPR : Joint Meeting of FAO and WHO Expert Group on pesticide residues		