



Filière Sciences de la Vie -Semestre 6

## Module M<sub>34</sub> : Écotoxicologie et Écosystèmes Aquatiques

### Partie I: Écotoxicologie

*Pr. Mohamed ALOUANI*

*Année universitaire 2019-2020*

***Chapitre 1 :***  
**Généralités sur l'écotoxicologie**

## I- INTRODUCTION ET NOTIONS FONDAMENTALES

Depuis la fin du 19<sup>ème</sup> siècle, l'humanité est devenue face à une augmentation de l'emploi de produits chimiques dans les domaines les plus divers. Aujourd'hui, il y a **plus de 100 000 de produits chimiques** qui sont utilisés régulièrement dans l'industrie et qui sont des **contaminants et polluants potentiels de l'écosystème global**.

Ces polluants et contaminants des milieux naturels peuvent provoquer des perturbations, dont il est indispensable d'apprécier les conséquences. La pollution des écosystèmes est la cause de nombreux problèmes **environnementaux** et **sanitaires**, aussi bien dans les pays développés que les pays en voie de développement.

Le terme **écotoxicologie** rassemble les mots '**écologie**' et '**toxicologie**' ;

✚ **Ecologie** : Étymologiquement c'est la Science de l'habitat

L'écologie est la science qui étudie les **relations des organismes avec leur monde extérieur environnant** dans lequel sont incluses au sens large toutes les conditions d'existence.

✚ **Toxicologie** : est une science multidisciplinaire (chimie, physiopathologie, pharmacocinétique, médecine, etc.) qui étudie les **effets néfastes des composés toxiques** (les toxiques) ou **poisons** sur les organismes vivants.

➤ **Un toxique (xénobiotique) ou un poison** est une substance capable de perturber le fonctionnement normal d'un organisme vivant.

Tout produit **naturel ou synthétique**, qui possède des propriétés toxiques même à **faible concentration** et qui provoque des troubles néfastes (**passagers ou durables**) de façon immédiate ou différée (à **court ou à long terme**).

**Exp. : pesticides, solvants chimiques, Hydrocarbures, médicaments, additifs aliments, métaux, gaz (CO, CO<sub>2</sub>, NOx...)**

✚ Le terme « **écotoxiques** » désigne des substances et des préparations qui présentent ou peuvent présenter des risques immédiats ou différés pour une ou plusieurs composantes de l'environnement.

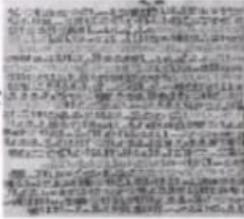
❖ **L'écotoxicologie** est une branche de la toxicologie qui a pour objet l'étude des **effets toxiques des contaminants ou polluants chimiques ou physiques**, produits généralement par l'action humaine, **sur les organismes vivants**, spécialement sur les **populations** et les **communautés** à l'intérieur des écosystèmes et elle inclut les **interactions** de ces agents avec **l'environnement** et leurs voies de transfert.

➔ **Le but de l'écotoxicologie est à la fois de prévenir et de combattre l'effet toxique.**

La toxicologie est une science ancienne tandis que l'écotoxicologie est une science créée en 1969 par le professeur Truhaut et n'est définie qu'en 1997 par Forbes et Forbes.

**La toxicologie: des connaissances dès l'antiquité**

**Chez les égyptiens:**  
Le papyrus d'Ebers daté de 15 siècles av JC compile les connaissances de plus de 700 drogues et poisons.



**Chez les chinois:**  
Pen Ts'ao (-1750 ans av JC) est le père de la médecine chinoise. Description de plantes médicinales et de poisons avec les antidotes.



Au cours de ses premières années, l'écotoxicologie comprenait généralement deux choses: (1) l'emplacement des contaminants chimiques ainsi que leur quantité et (2) une compréhension de base de la toxicité des produits chimiques individuels pour des espèces animales et végétales uniques, avec un accent sur les études à court terme ou aiguës. L'accent a toujours été mis sur les sources anthropiques ou anthropiques de produits

Au fil des ans, l'aspect chimique de l'écotoxicologie s'est élargi pour inclure le cycle de vie des contaminants - comment ils pénètrent dans l'environnement, quels changements se produisent lorsqu'ils sont là et comment les processus naturels ou les activités humaines peuvent réduire ou éliminer ces contaminants. Du côté toxicologique, il y a eu un intérêt croissant pour les études à long terme ou chroniques qui peuvent se produire sur des semaines, des mois ou un stade particulier de la vie d'un organisme, comme le stade larvaire. Plus récemment, les écotoxicologues apprennent comment les interactions des produits chimiques peuvent affecter les organismes et trouvent des résultats très intéressants.

#### **La toxicologie s'intéresse:**

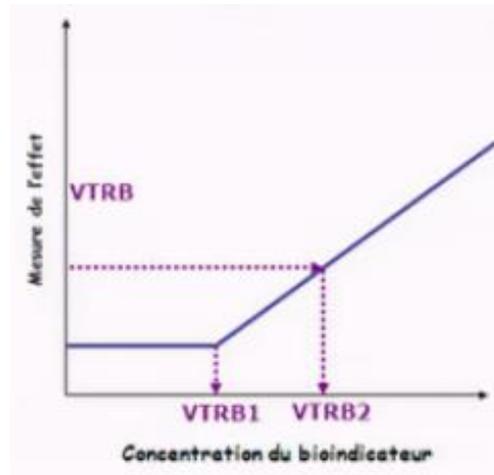
- à l'étiologie (origine) des toxiques et des intoxications
- à l'analyse du risque lié aux toxiques
- aux propriétés physicochimiques des toxiques
- au devenir du toxique dans l'organisme (administration, distribution, métabolisme, élimination)
- aux effets néfastes sur un organisme ou un groupe d'organismes ou sur l'environnement
- aux moyens pour combattre les toxiques (voies d'élimination, antidotes, traitement)
- Aux méthodes de prévention, au diagnostic, au pronostic, à la surveillance médicale, etc.

#### **Quels sont les champs d'application de la toxicologie ?**

Selon le domaine d'application on peut citer :

- ✚ **Toxicologie alimentaire** : qui est destinée à évaluer le risque toxicologique lié à l'ingestion d'un aliment contenant aussi bien des molécules naturelles que celles artificielles (additifs alimentaires, colorants...)

- ✚ **Toxicologie réglementaire**: qui est pratiquée pour obtenir des autorisations de commercialisation de différents produits pouvant s'avérer toxiques, comme les pesticides, OGM ou autres additifs alimentaires et qui fixe les normes d'utilisation de nouveaux produits (seuils de toxicité, risques...).



- ✚ **Pharmacotoxicologie**: qui intervient dans les domaines de l'industrie pharmaceutique en vue d'autoriser l'utilisation des nouveaux produits médicaments.
- ✚ **Écotoxicologie ou «Toxicologie environnementale»**
- ✚ **Etc.**

## II- Relations entre les organismes, l'environnement et ses perturbations

### 1. Relation Dose-Effet (= Dose-Réponse) et Risque

L'étude des effets toxiques consiste à caractériser le "risque" lié à un toxique;

#### ❖ Qu'est ce qu'un risque?

C'est la probabilité pour qu'un effet néfaste sur la santé des êtres vivants survienne à la suite de **l'ingestion ou l'absorption** d'un produit présentant un **danger** (toxicité).

#### ❖ Caractérisation du risque

C'est une estimation de la probabilité et de la gravité des effets nocifs sur la santé, dans une population donnée. C'est aussi l'évaluation qualitative et/ou quantitative de la nature des effets indésirables sur la santé associés au danger. Une bonne caractérisation du danger permet d'établir un **rapport dose-réponse ou dose-effet**. Elle permet d'identifier les doses induisant des effets néfastes surtout les doses létales ( $DL_{50}$ ) et les doses sans effet toxique.

#### ❖ Dose

La dose est la quantité d'une substance toxique qui rentre dans l'organisme. Elle est souvent exprimée en mg du produit toxique/kg de poids corporel (mg/kg)

➔ La dose dépend de :

- Propriétés du toxique (taille, structure, solubilité, ...)
- La fréquence de consommation
- La durée de consommation
- La voie de consommation

## Paracelse: le père de la toxicologie (1493-1541)

1. L'expérimentation est nécessaire pour comprendre la réponse aux toxiques.

2. « La dose fait le poison »



Toute substance peut être potentiellement toxique. La toxicité dépend de la dose (seuil de toxicité).

➔ Des substances chimiques apparemment non toxiques peuvent être très toxiques à des doses élevées.

### Exemples

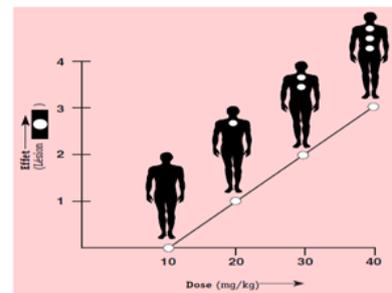
Substance	Dose correspondant à un effet
<b>NaCl</b> (sel de table)	[4000 mg/Kg] = 4g/Kg <i>(320 g/pers. de 80 Kg)</i>
<b>Dioxine</b> (PCBs) (produits utilisés comme isolants électriques)	[0.0001 mg/ Kg] = 0,1 µg/Kg <i>(0,008 mg (8µg)/pers. de 80 Kg)</i>

### ❖ Relation Dose-Effet ou Dose-Réponse

Quelle est la différence entre Dose-Effet et Dose-Réponse?

#### ❖ Dose-Effet

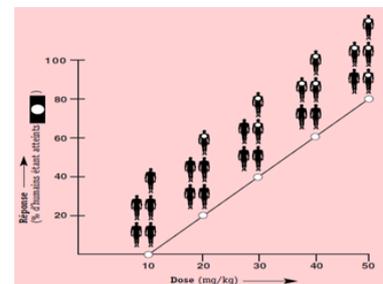
- ❑ L'intensité des effets toxiques augmente avec l'augmentation de la dose. C'est ce qu'on appelle la relation dose-effet.
- ❑ La manifestation des effets toxiques dépend de la quantité du toxique et du seuil d'apparition de ces effets.
- ❑ Au delà du seuil, une augmentation de la dose peut entraîner une augmentation des effets chez un individu.



Relation Dose - Effet

#### ❖ Dose- Réponse

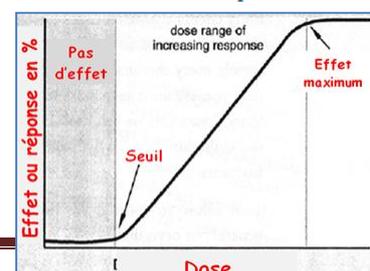
- ❑ L'effet d'un toxique peut se manifester différemment chez plusieurs personnes exposées à une même dose. C'est ce qu'on appelle la relation dose-réponse.
- ❑ La figure illustre bien qu'à certaines doses toutes les personnes ne sont pas atteintes.
- ❑ La proportion des individus atteints par une dose donnée augmente avec l'accroissement de la dose.



Relation dose-réponse

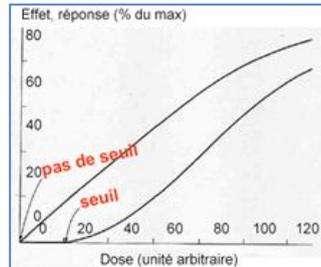
#### ❖ La notion de seuil toxique

- ❑ La valeur seuil représente la quantité sous laquelle il ne se produit pas d'effet. Au-dessus de ce seuil, certains effets



toxiques sont susceptibles d'apparaître chez les organismes exposés à un ou plusieurs toxiques.

- ❑ Ce seuil s'explique par le fait que l'organisme 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.
- ❑ Parfois, nous constatons l'absence de seuil toxique.



### La réponse varie selon l'interaction des xénobiotiques

Il existe différents termes pour décrire les interactions toxicologiques :

- **Addition (additivité)** : la réponse est égale à la somme des réponses des substances prises individuellement, il n'y a pas d'interaction.
- **Synergie** : la réponse est supérieure à la somme des réponses des substances prises individuellement.
- **Potentialisation** : elle se produit lorsqu'une substance ayant peu ou pas de toxicité augmente la réponse d'une autre substance.
- **Antagonisme** : la réponse est inférieure à la somme des réponses des substances prises individuellement.

INTERACTION	MODÈLE	EFFET
Additivité*	Addition	$1 + 2 = 3$ Aucune interaction
Supraadditivité	Synergie	$1 + 2 = 5$
	Potentialisation	$0 + 3 = 5$ Augmentation
Infraadditivité	Antagonisme	$0 + 3 = 2$
		$-2 + 3 = 1$ Diminution

## 2. Finalité des études écotoxicologiques

Les études écotoxicologiques visent essentiellement **la prévention des effets de la pollution** à grand échelle (échelle écosystémique); C'est une sorte de «**sonnette d'alarme**» pour réagir et faire face à la pollution.



Donc, **la prédiction par la détection précoce des effets des polluants** sur l'environnement et sur la santé de l'homme (par extrapolation).



Développement et utilisation d'outils simples, mesurables et fiable (reproductibilité, efficacité).

## II- Notion de « pollution »

### 1. Définition

La pollution est toute **modification défavorable du milieu naturel** par des **polluants** d'origine anthropique (l'action humaine), susceptible d'altérer les **caractéristiques biologiques** ou la **composition physico-chimique** du milieu et la **biodiversité** (la répartition, l'abondance, la diversité des espèces, etc.).



La pollution était essentiellement représentée par la contamination fécale (microbienne, agents pathogènes, etc.). Avec l'essor industriel, technologique et agricole, la pollution s'est diversifiée (chimique, physique, etc.) et son impact est de plus en plus important.

#### ➤ Un polluant

Il correspond à **toute substance naturelle ou d'origine anthropique** soit :

- ✚ étrangère et qui est introduite dans l'écosystème, ou ;
- ✚ qui est spontanément présente dans le milieu mais qui devient polluante sous l'action humaine (mobilisation, modification des propriétés, etc.).

#### Un polluant peut être aussi:

- ✚ toute modification des processus physicochimiques du milieu (paramètres du milieu, cycles biogéochimiques, etc.) pouvant perturber le fonctionnement des écosystèmes;
- ✚ toute perturbation de la biodiversité (la répartition, l'abondance des espèces), soit par :
  - introduction d'espèces allochtones (sp. invasives),
  - surexploitation des ressources,
  - modification de niches écologiques (habitats, etc.).

Plus de **100 000 produits** (artificiels ou naturels) sont rejetés dans l'environnement. La plupart de ces produits ou leurs métabolites (dérivés) auraient un impact négatif sur l'environnement. Ils se divisent en :

#### ➤ Polluants minéraux (inorganiques):

- ✚ **Métaux lourds** : arsenic (As), cadmium (Cd), cuivre (Cu), chrome (Cr), mercure (Hg), nickel (Ni), plomb (Pb), zinc (Zn)...
- ✚ **Polluants atmosphériques**: CO<sub>2</sub>, NO<sub>x</sub>, SO<sub>2</sub>, NH<sub>4</sub>, etc.

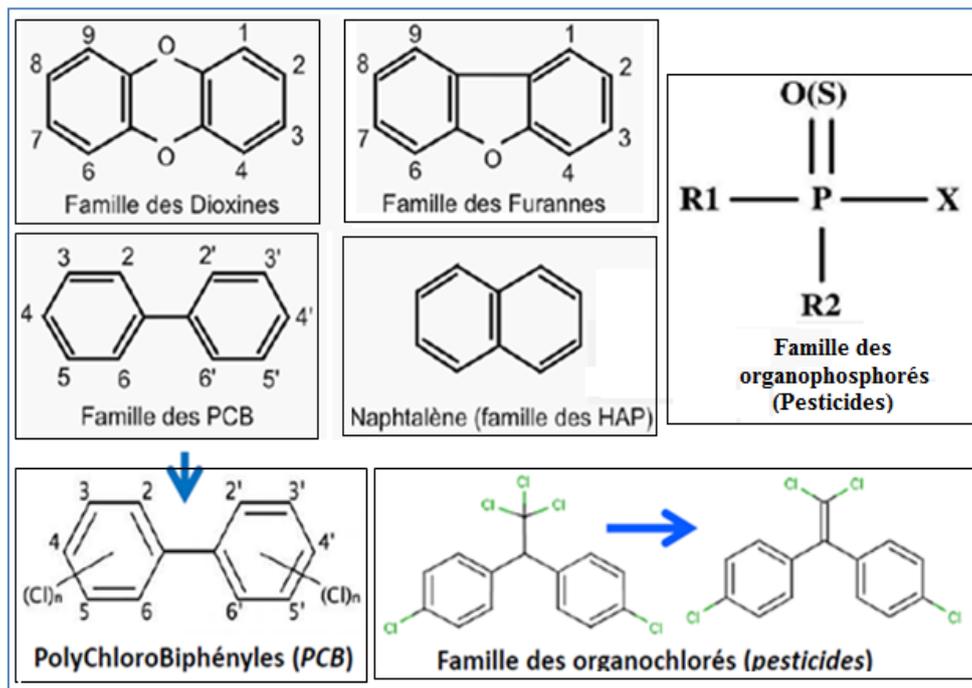
#### ➤ Polluants organiques (POPs "Polluants Organiques Persistants")

- ✚ Hydrocarbures aromatique polycycliques (HAP),
- ✚ Polychlorobiphényles (PCB),
- ✚ Pesticides,
- ✚ Solvants chlorés,
- ✚ Dérivés du benzène,
- ✚ Phénols et leurs dérivés,
- ✚ Composés organiques volatiles (COV), etc.

#### ➤ Polluants physiques (Radioéléments)

- ✚ Radon 222,
- ✚ Césium 137,
- ✚ Uranium 238 (éléments radioactifs)

## Exemple de polluants de l'environnement



Cependant, certaines substances sont **plus toxiques** que d'autres et donc **plus nocives pour l'environnement**.

## 2. Types de pollutions

Les pollutions sont classées selon :

- ✚ **l'origine** : naturelle, anthropique, systématique ou accidentelle ;
- ✚ **la nature** : chimique, physique ou microbiologique, etc.
- ✚ **Le type d'action ou d'effet**: aiguë (létale), subaiguë (sublétal) ou chronique

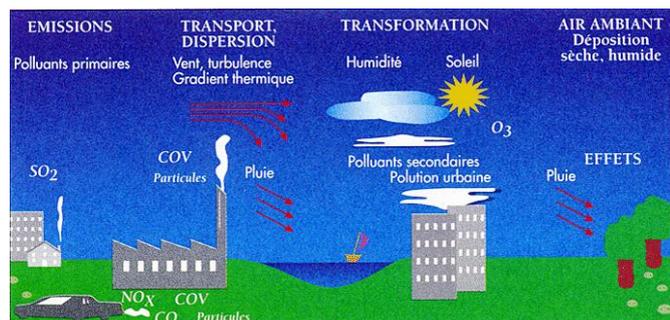
### 2-1- Les différents types de pollution selon l'origine et le biotope contaminé

#### ❖ La pollution atmosphérique

La pollution atmosphérique concerne la dégradation de l'air à cause de substances polluantes qui se retrouvent dans l'atmosphère. Les principaux polluants atmosphériques sont les particules fines, le dioxyde de soufre (SO<sub>2</sub>), l'ozone (O<sub>3</sub>), les oxydes d'azote (NO et NO<sub>2</sub>), les composés organiques volatils (COV : benzène, acétone, ...), etc. Elle peut être primaire ou secondaire :



- **Polluants primaires:** sont émis directement par une source identifiable, exemples : SO<sub>2</sub>, NO<sub>2</sub>.
- **Polluants secondaires:** composés produits par des réactions chimiques entre des polluants primaires et/ou des composés de l'atmosphère.



### ➤ Origine de la pollution atmosphérique

La pollution atmosphérique peut provenir des **phénomènes naturels**, des **industries**, des **activités domestiques** ou encore du **trafic routier**.

- ✚ **Pollution d'origine naturelle** : les océans et les mers se contaminent naturellement par le sodium, les chlorures de magnésium et du calcium, le bromate de potassium. Les volcans émettent des poussières, du SO<sub>2</sub>, du fluor. Les feux de forêts sont sources de gaz CO et CO<sub>2</sub>, etc. Les vents et les tempêtes. Les processus biologiques.
- ✚ **Pollution anthropogénique** : rejets industriels, déchets humains, la combustion incomplète émettrice de SO<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, CO, NO<sub>x</sub>, des particules (SO<sub>4</sub>, Fer, cadmium, hydrocarbures aromatiques polycycliques HAP).
- ✚ **Les polluants provenant des sources mobiles** telles que les automobiles, avions, trains, bateaux, sont : CO, CO<sub>2</sub>, NO, NO<sub>2</sub> (NO<sub>x</sub>), les particules (plomb, fumée noire), les hydrocarbures imbrûlés, les hydrocarbures, les hydrocarbures aromatiques polycycliques, les contaminants organiques volatils.
- ✚ **Les polluants provenant de l'incinération des déchets** urbains, industriels et domestiques.

### ❖ Pollution des eaux

La pollution de l'eau est une altération qui rend son utilisation **dangereuse et/ou perturbe l'écosystème aquatique**. Elle peut concerner les eaux superficielles (rivières, lacs, mer, etc.) et/ou les eaux souterraines. Elle est essentiellement la contamination par des déchets, des produits chimiques ou des micro-organismes.



#### Les différentes formes de pollution des eaux

##### A) Les pollutions résultantes des activités humaines

##### ✚ *Les principaux types de polluants*

- ★ Les matières organiques fermentescibles
- ★ Les éléments minéraux nutritifs
- ★ Les métaux lourds
- ★ Les composés organiques de synthèse
- ★ Les hydrocarbures

##### ✚ *Pollution domestique et urbaine*

- ★ eaux usées domestiques
- ★ eaux usées rejetées par les installations collectives

À de nombreux endroits, les eaux usées ne sont pas traitées avant d'être rejetées. Par conséquent, une grande quantité d'eaux usées est rejetée en mer. Cela peut provoquer, par exemple, des algues qui se reproduisent très rapidement. Elles recouvrent la surface de la mer et risquent de boucher les branchies des poissons.



### ✚ **Pollution industrielle**

- ★ matières organiques et graisses
- ★ Hydrocarbures
- ★ Métaux
- ★ Acides, bases, produits chimiques divers
- ★ Eaux chaudes
- ★ Matières radioactives



### 4- **Pollution d'origine agricole**

- ★ Azote
- ★ Nitrates
- ★ Nitrites



### **B) La pollution des eaux d'origine naturelle**

- ★ Contact de l'eau avec les gisements minéraux peut par érosion ou dissolution, engendrer des concentrations inhabituelles en métaux lourds, en arsenic, etc.
- ★ Pollution d'origine atmosphérique



### ❖ **La pollution du sol**

La pollution du sol correspond à l'accumulation de composés toxiques : produits chimiques, sels, matières radioactives ou agents pathogènes qui, tous, ont des effets nocifs sur la croissance des plantes et la santé des animaux et de l'homme.

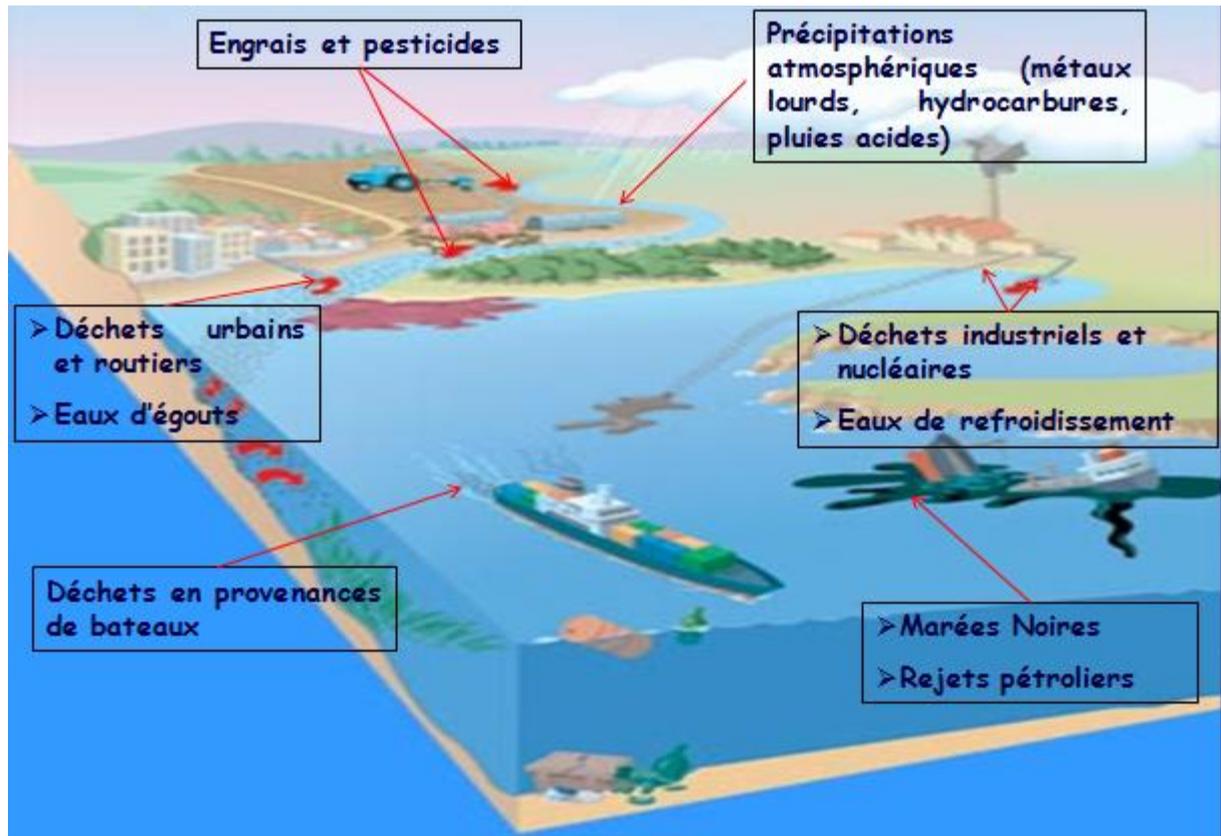
Tableau : Source de pollution des sols

Source de la pollution	Polluants
Épandage de boues d'épuration urbaines ou industrielles	Nitrates, phosphates, métaux lourds
Utilisation de pesticides, engrais	Molécules plus ou moins persistantes : cyanures, nitrates
Industrie	Matières organiques et des graisses (abattoirs, industries agro-alimentaires) Hydrocarbures (industries pétrolières, transports) Métaux lourds (traitements des surfaces, métallurgie) Acides, bases, solvants, produits chimiques divers (industries chimiques, tanneries) Matières radioactives (centrales nucléaires, traitement des déchets radioactifs). Autres molécules plus ou moins persistantes
Retombées de la pollution atmosphérique urbaine ou industrielle	Métaux lourds, dioxines, acides
Stockage d'hydrocarbures (de la station-service au dépôt pétrolier)	Hydrocarbures
Dépôts de munitions, champs de bataille	Molécules complexes et persistantes
La pollution par les déchets solides (urbaine)	Les métaux lourds, les hydrocarbures

## 2-2- Les différents types de pollution selon la nature

- + La pollution physique
- + La pollution chimique
- + La pollution organique
- + La pollution microbiologique

Type de pollution	Nature chimique	Source ou agent causal
<b>Physique</b>		
Turbidité	Rejets industriels	Usines agroalimentaires
Pollution thermique	Rejets d'eau chaude	Centrales électriques
Pollution radioactive	Radio-isotopes	Installations nucléaires
<b>Chimique</b>		
Pollution par les fertilisants	Nitrates-phosphates	Agriculture & lessives
Pollution par des métaux	Mercure, cadmium,	Industrie, agriculture
Pollution par les pesticides	Insecticides, herbicides	Industrie, agriculture
Pollution par les détergents	Agents tensioactifs	Effluents domestiques
Pollution par les hydrocarbures	Pétrole brut et ses dérivés	Industrie pétrolière, transports
Pollution par des composés de synthèse	PCB, insecticides, solvants chlorés	Industries
<b>Matières organiques</b>		
Fermentescibles	Glucides, lipides, protides	Effluents domestiques, agricoles, d'industries agroalimentaires, Papeteries
<b>Microbiologiques</b>		
Agents microbiologiques	Bactéries, virus, champignons	Effluents urbains, élevages, secteur agro-alimentaire



## ***Chapitre 2***

**Notions de toxicité, comportement,  
métabolisme et mode d'action des  
xénobiotiques**

## I- Notion de « Toxicité »

En générale, c'est le degré de nocivité d'un polluant ou xénobiotique.

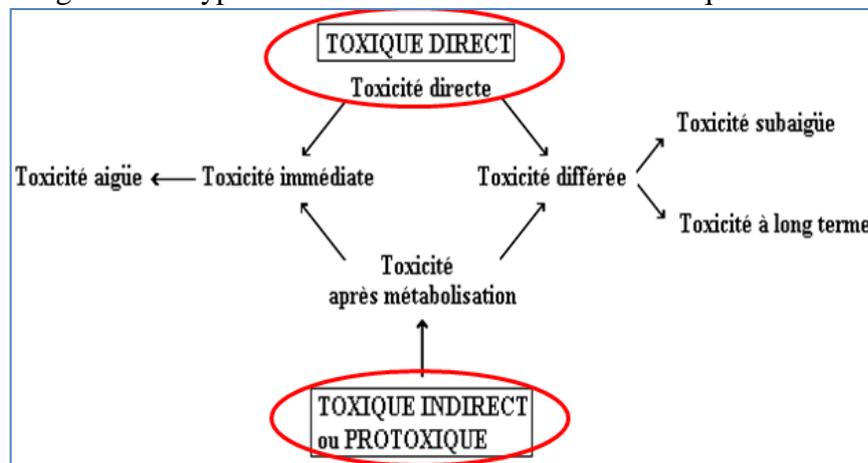
La toxicité d'un toxique est sa capacité à produire des effets indésirables sur un organisme vivant.

L'intensité de la toxicité d'un toxique dépend de :

- + sa nature : propriétés physicochimiques (forme chimique, liposolubilité, etc.)
- + la quantité consommée (dose)
- + la durée et/ou la fréquence de consommation
- + la sensibilité de l'individu
- + Caractère "cumulatif" de dose-effet: relation **bioaccumulation / effet**
- + Potentialisation (mélange de toxiques): notion de synergie ou antagonisme

### 1. La toxicité et la nature du toxique

On peut distinguer deux types de toxicité selon la nature du toxique:



Principaux types de toxicité

#### ➤ Toxicité directe

Le toxique produit ses effets néfastes **sans aucune biotransformation**, sa nature chimique est responsable de sa toxicité.

**Exemples :**

- Acides forts et bases fortes ;
- Les oxydants (ingestion d'eau de javel) ;
- etc.

#### ➤ Toxicité indirecte

Le toxique n'est pas toxique tel quel, **mais nécessite une biotransformation** pour révéler sa toxicité, une réaction métabolique (hydrolyse, oxydation, etc.).

**Exemple:** les nitrates =>Nitrites (toxiques).

### 2. La toxicité et la durée et/ou la fréquence de consommation et l'effet du toxique

On peut distinguer trois types de toxicité selon la fréquence, la durée de consommation et l'effet du toxique:

#### ➤ Toxicité aiguë

C'est l'administration **unique de doses croissantes** de la substance étudiée. Les troubles apparaissent rapidement (pendant **une courte durée** : quelques heures à quelques jours) après l'ingestion ou l'absorption de la substance toxique.

**Exemple:** neurotoxine de champignon : vomissement et diarrhée puis mort

### ❑ Test de l'évaluation de la toxicité aiguë

Il détermine les paramètres de toxicité exprimés selon l'effet mesuré :

- ✚ **La DL50** (la dose létale 50%) ou **CL<sub>50</sub>** (**concentration létale 50%** en milieu aquatique ou l'air) : c'est la dose (ou concentration) du toxique causant la mort de la moitié (50 %) d'une population animale donnée (souvent des souris, des rats ou des espèces aquatiques) dans des conditions d'expérimentation précises.
- ✚ **CI<sub>50</sub>/CE<sub>50</sub>** (**concentration inhibitrice ou effectrice 50%**): effet d'inhibition d'une fonction.

#### Ex. **Test Daphnie** (*Daphnia magna*)

Méthode d'analyse utilisée pour déterminer la **toxicité aiguë** des toxiques en milieu aquatique.

Il mesure la **CL<sub>50</sub>-24h**: la concentration qui cause la mort de 50% de la population de Daphnies exposée pendant 24h (durée du test).

Autres organismes de référence utilisés dans les tests latéraux: rotifères, truitelles, lombrique



### ❑ Méthode

On administre à un lot d'animaux, une dose unique de la substance à tester et on recherche expérimentalement la dose qui tue 50% de la population (appelée DL<sub>50</sub>).

### DL 50 : Dose létale 50

- ✚ La Dose létale (DL50) est exprimée en mg/kg du poids de l'animal.
- ✚ Obtenue à partir de la courbe dose-réponse lorsque la réponse étudiée est la mortalité des individus
- ✚ Elle renseigne sur le potentiel toxique d'un xénobiotique donné
- ✚ L'indice DL50 sert fréquemment pour exprimer la toxicité aiguë ainsi que pour classer et comparer les toxiques.

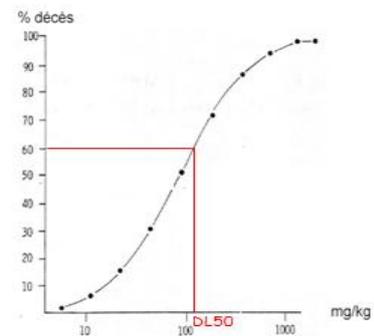


Tableau : Classification des produits chimiques selon leurs toxicités relatives

Catégorie	DL <sub>50</sub>
Ultra toxique	5 mg/kg ou moins
Extrêmement toxique	5-50 mg/kg
Très toxique	50-500 mg/kg
Moyennement toxique	0,5-5 g/kg
Légèrement toxique	5-15 g/kg
Non toxique	> 15 g/kg

Plus la substance est toxique, moins il en faut pour provoquer la mort et plus la DL<sub>50</sub> est faible.

### ➤ Toxicité subaiguë ou Toxicité à court terme

Les signes apparaissent après une **courte durée de consommation** d'un toxique. Elle est due à l'ingestion de doses répétées du produit toxique pendant une **période allant de 14 jours à 3 mois**

**Exemple: -doses répétées de tabac : bronchite, essoufflement**

### ■ Le test de toxicité subaiguë ou à court terme

Principe: on administre à un lot d'animaux **une dose journalière** de la substance à tester pendant **une durée** qui correspond à **10% de sa vie** (soit 90 jours chez un rat).

- ❖ pendant cette durée : on étudie la **croissance**, la **reproduction** et le **comportement des animaux**.
- ❖ **au terme du traitement** : on tue les animaux et on examine les tissus pour voir les lésions éventuelles.

**Intérêt** : c'est d'obtenir des informations sur les risques d'une **exposition REPETEE** (mais sur une courte durée) à telle substance toxique et sur les **EFFETS CUMULATIFS possibles**.

### ➤ Toxicité chronique ou toxicité à long terme

Les signes apparaissent après une **longue durée** (quelques mois à plusieurs années) de **consommation répétée et fréquente** de **différentes doses** de la substance toxique.

Intoxication se fait par :

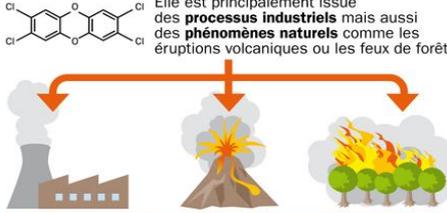
- ✚ **accumulation des toxiques**
- ✚ **addition des effets**

**Exemples :**

- **Alcool** : cirrhose du foie ;
- **Dioxine** : effet cancérigène, trouble de la reproduction ;
- **Certains polyphénols**: effet tératogène (déformation du fœtus), etc.

**La dioxine**

**Origine :**  
Elle est principalement issue des **processus industriels** mais aussi des **phénomènes naturels** comme les éruptions volcaniques ou les feux de forêt.



**Risques :**

- Lésions dermatiques (tâches sombres sur la peau)
- Dysfonctionnement du système nerveux, immunitaire et endocrinien
- Troubles de la reproduction

**Cas historiques :**

- La surchauffe d'un réacteur à **Seveso** (Italie) en 1976, 37 000 habitants contaminés.
- L'ancien président ukrainien, **Viktor Iouchtchenko**, a été empoisonné à la dioxine.

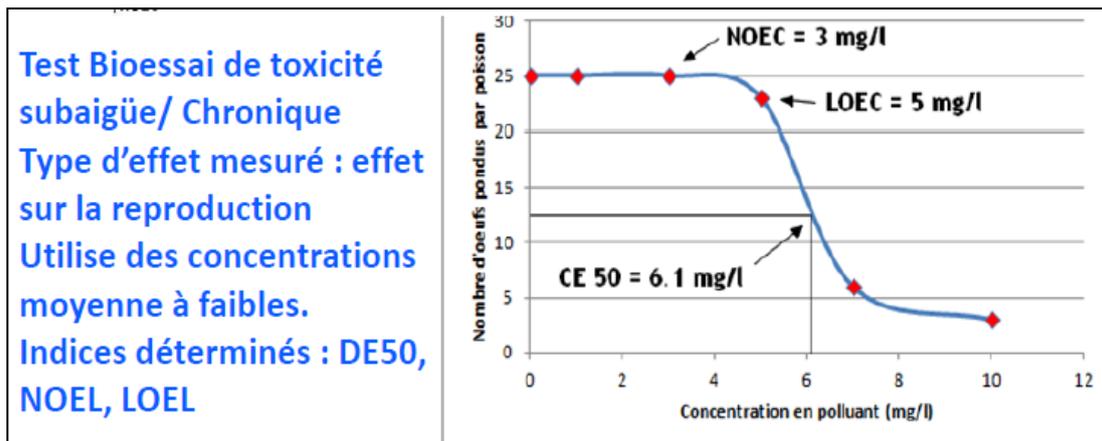
### ■ Le test de toxicité à long terme ou chronique

**Principe** : on administre aux animaux des doses de substance connues pendant **TOUTE LA VIE**.

- ☐ On étudie pendant toute l'expérience **la croissance, la reproduction, le comportement, l'examen anatomopathologique, poids des organes, etc.**

Il détermine les paramètres suivant :

- ✚ la latence d'apparition des effets (seuil) et leur réversibilité ou non.
- ✚ la concentration expérimentale en dessous de laquelle aucun effet toxique n'est observé sur l'espèce testée: **NOEC/ NOEL (No Observed Effect Concentration) ou bien dose sans effet (DSE)**;
- ✚ la concentration la plus basse, à partir de laquelle un effet est observé sur l'espèce testée: **LOEC/LOEL (Lowest Observed Effect Concentration)**.



### ■ Détermination de la dose sans effet (DSE)

La DSE (dose sans effet) = quantité maximale de substance toxique qui peut être ingérée par un animal quotidiennement, **pendant toute sa vie**, sans provoquer de troubles physiologiques (exprimée en mg/Kg de poids corporel).

**Intérêt:** mettre en évidence si la substance est tératogène (entraîne des malformations fœtales), mutagène (mutation des gènes) ou cancérigène (tumeurs).

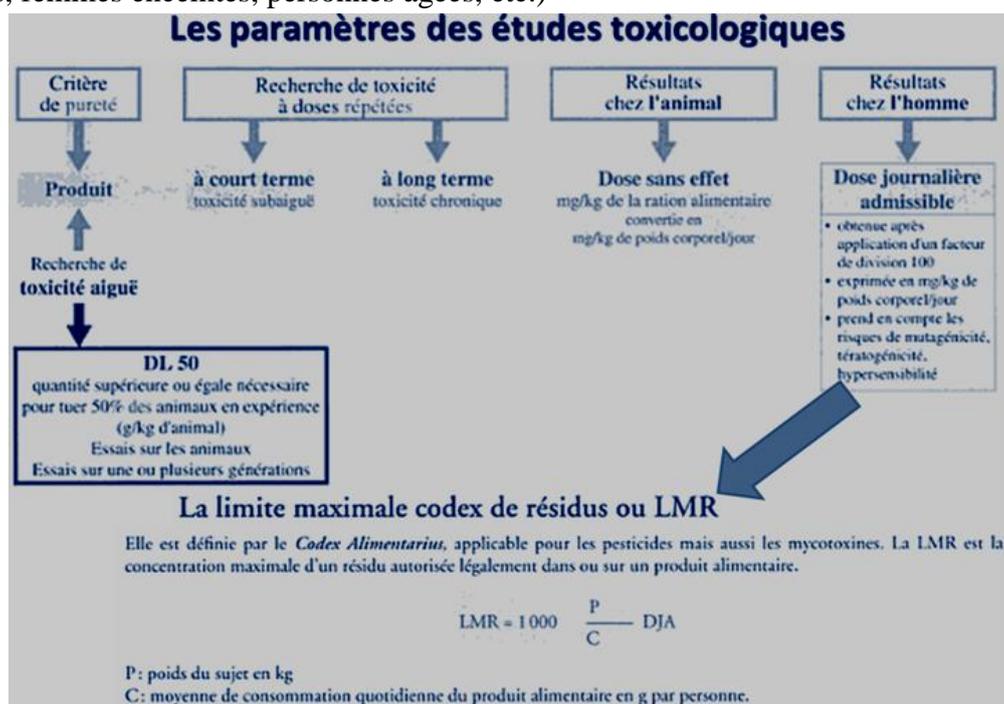
### ■ Etablissement des doses journalières admissibles (= DJA humaine)

Elle est calculée à partir de la DSE:

$$\text{DJA humaine} = \text{DSE} / 100 \text{ (en mg/Kg de poids corporel/jour)}$$

**Le coefficient de Sécurité:**

- **Un facteur x 10** = facteur spécifique : on suppose que l'espèce humaine est 10 fois plus sensible que l'espèce animale testée.
- **Un facteur x 10** = facteur de sécurité individuel : dans un groupe humain, tous les individus n'ont pas la même sensibilité; certains peuvent être 10 fois plus sensibles que la moyenne (enfants, femmes enceintes, personnes âgées, etc.)



### D'autres méthodes de quantification de la toxicité

- **DE50 (la dose efficace):** elle est basée sur la recherche de la quantité de produit provoquant des effets nuisibles, mais non mortels, chez 50% des individus d'une population animale.
- **LMR:** limite maximale codex des résidus applicable pour les mycotoxines et les pesticides. C'est la concentration maximale d'un résidu autorisée légalement dans un ou sur un produit alimentaire. **LMR= 1000 P/C DJA.**
- **Effet-Dose TD50:** Tumor Dose 50% = dose journalière qui donne un cancer à 50% des rats (ou des souris)

### Les alternatives aux tests de toxicité sur animaux (les études expérimentales in vitro)

- Essais de cytotoxicité in vitro

Les tests de culture de cellules humaines sont plus précis que la DL50 chez les animaux. Ils offrent une prédiction sur la toxicité chez les humains avec une précision de 90 %.

Les avantages des cultures de cellules humaines dans le cadre de prédiction de la toxicité

- Elles sont d'origine humaine et donc permettent d'éviter les différences d'espèces.
- Elles peuvent être prélevées à partir d'un tissu (peau, foie) susceptible d'être affecté par une substance particulière.
- Elles permettent au chercheur d'étudier comment une substance endommage les cellules et donc de savoir pourquoi elle est toxique.
- Elles permettent d'éviter de faire souffrir et de tuer des animaux.

### 3. La toxicité et la sensibilité de l'individu

La population humaine est un groupe hétérogène au sein duquel il existe une grande variabilité de réponse entre les individus exposés aux mêmes doses du toxique. Deux principaux facteurs contribuent à expliquer cette variation:

#### ❑ Facteurs génétiques:

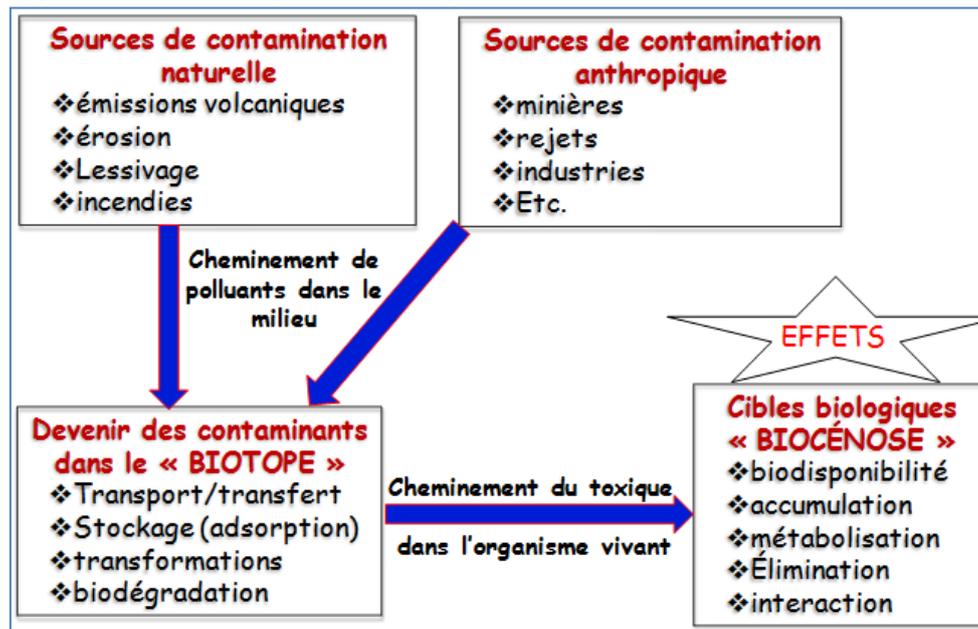
Des différences génétiques peuvent intervenir dans la capacité des individus à transformer des toxiques.

#### ❑ Facteurs physiopathologiques:

- ❖ La sensibilité aux effets toxiques est habituellement plus grande chez les enfants et les personnes âgées.
- ❖ IL existe des différences entre les hommes et les femmes.
- ❖ L'état de santé: Les individus en bonne santé sont plus résistants, car ils métabolisent et éliminent les toxiques plus facilement que ceux qui souffrent de maladies hépatiques ou rénales.
- ❖ **La grossesse:** Il se produit des modifications de l'activité métabolique des toxiques au cours de la Grossesse.

## II-Devenir des polluants dans l'environnement (toxicocinétique) et leurs effets sur les organismes vivants (toxicodynamique)

Les polluants sont rejetés dans l'environnement et ils subissent des **phénomènes de cheminement** dans le milieu et de transfert dans les différentes composantes de l'écosystème (**air, eau, sol et les organismes vivants**). Le transfert des polluants dans le milieu et leur devenir dans les organismes vivants sont influencés par divers **facteurs biotiques et abiotiques** déterminant ainsi **leur(s) impact(s)** (effets). Le schéma ci-dessous illustre les principaux phénomènes biotiques et abiotiques contribuant à ce cheminement.



### A. Comportement et distribution des polluants dans le milieu

Le comportement des polluants dans le milieu est variable, il dépend essentiellement des facteurs abiotiques (paramètres physicochimiques) et des facteurs biotiques (action des microorganismes, bioaccumulation, etc.). Il peut :

- ✚ se complexer ou interagir avec d'autres substances (antagonisme/synergie),
- ✚ être piégés et stockés dans les compartiments de l'environnement (colloïdes, MES, sédiments, tissus des organismes, etc.),
- ✚ être transformés (dégradation) ou **biotransformés** (biodégradation) → **dérivés (métabolites) plus ou moins toxiques**.

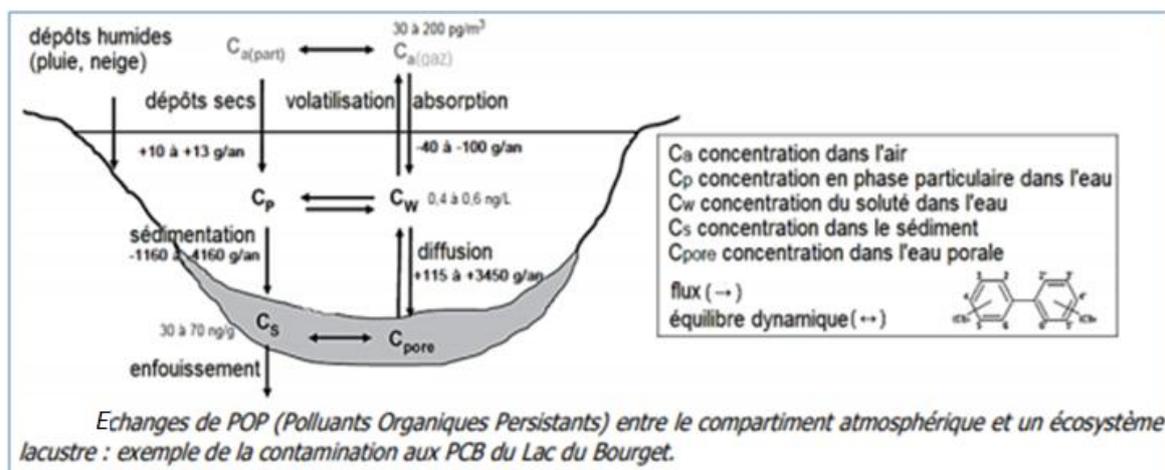
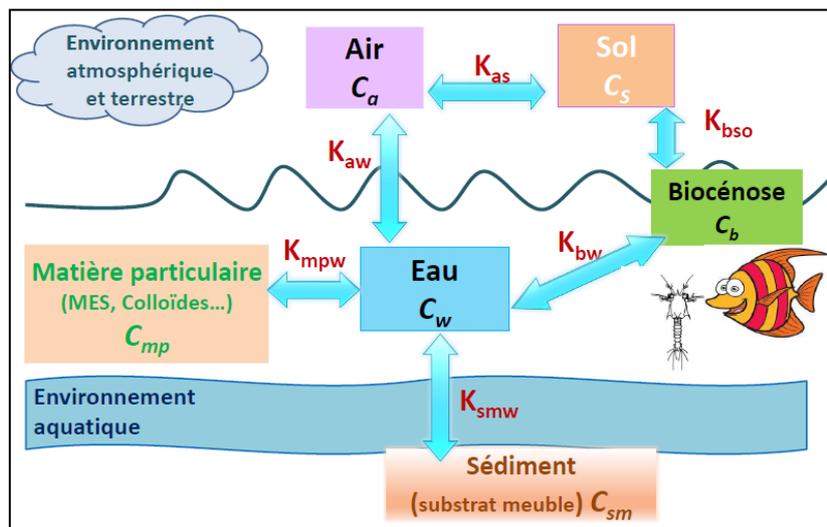
Des **flux d'échanges** et de **transfert** de différentes formes chimiques formées s'établissent entre les compartiments (**biotope et biocénose**) de l'écosystème (**état de saturation, équilibre**, etc.).

#### 1. Paramètres physico-chimiques agissant sur la distribution des polluants

- ✚ Chaque forme chimique d'une substance "X" dans un compartiment de l'écosystème (air, sol, eau, biocénose) est caractérisée par **une concentration (Cx)** et **un coefficient de partage** Octanol - Eau spécifique (**Kow**) ;
- ✚ Kow détermine le degré de liposolubilité (hydrophobicité);
- ✚ Les variations ( $\Delta$ ) de pH et du potentiel Red-Ox dans un milieu influencent ces paramètres;

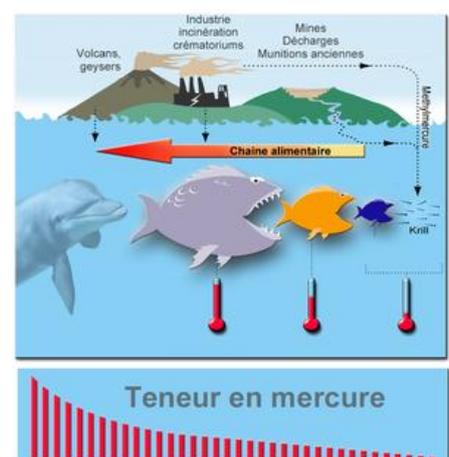
- ✚ Ces paramètres caractérisent la **spéciation chimique** d'un polluant (notamment métaux traces) dans le milieu;
- ✚ Ils définissent la **biodisponibilité** d'un polluant et son pouvoir de **bioaccumulation dans les tissus**;
- ✚ le **devenir des polluants** (dégradation, biotransformation /métabolisation et/ou l'effet toxique) dans le milieu et les organismes dépend de paramètres physicochimiques du milieu.

### 1.1. Flux de transfert (distribution ou dispersion) d'un polluant dans l'écosystème



### 1.2. Biodisponibilité et bioaccumulation d'un polluant

- ✚ **Biodisponibilité** : est la propriété d'un élément ou d'une substance à franchir les membranes cellulaires et d'atteindre les biomolécules vitales des organismes.
- C'est un paramètre qui influence l'écotoxicité : le **changement de la biodisponibilité** d'un polluant correspond à un **changement de sa toxicité**.
- Un polluant biodisponible est un polluant auquel les organismes sont réellement exposés.

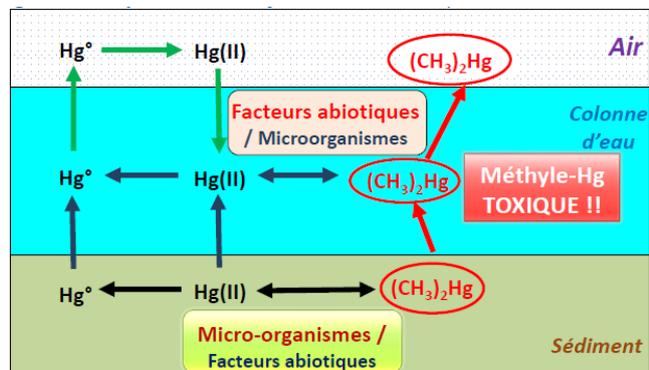


- ✚ **Bioaccumulation**: C'est l'augmentation de concentration d'un contaminant dans les tissus des organismes vivants par rapport à sa concentration dans le milieu externe et elle est due à une vitesse d'incorporation du contaminant qui est supérieure à son taux d'élimination (excrétion et métabolisation). est l'accumulation de substances toxiques
- Tous les organismes sont capables, à différents degrés, d'accumuler (séquestrer) des substances toxiques pour atténuer leurs effets.
- La bioaccumulation entraîne le transfert et l'amplification (bioamplification) des polluants: correspond à l'augmentation de concentration le long du réseau trophique). La compréhension de la structure du réseau trophique et de son fonctionnement améliore la capacité de prévoir la concentration des contaminants chimiques persistants dans les différents niveaux trophiques.

## 2. Transformation des contaminants dans le milieu : Spéciation chimique

- ✚ **Spéciation chimique** : la forme chimique spécifique (= configuration atomique; état d'oxydation; ionisation, etc.) sous laquelle un élément est **présent dans le milieu** et qui est **effectivement toxique**.

**Exemple du mercure (Hg) par transformation en méthyle-mercure ((CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Hg) par les microorganismes (bactéries sulfato-réductrices) dans le milieu.**

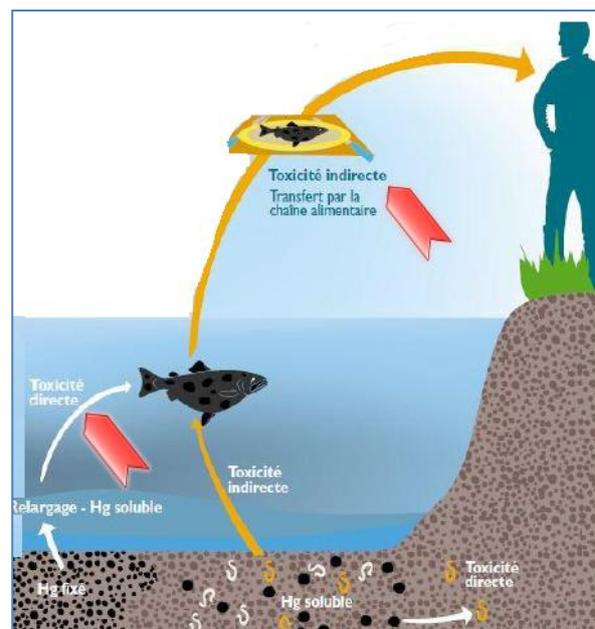


## 3. Relation Biodisponibilité- Exposition- Bioaccumulation

Un polluant, dans un compartiment de l'écosystème, peut-être à la fois toxique et non toxique pour un organisme selon sa biodisponibilité ou non:

- ✚ **Hg fixé dans les sédiments**, est considéré comme **non toxique** à l'inverse du Hg en solution dans les sédiments ou relargué dans l'eau est biodisponible;
- ✚ La fraction biodisponible du mercure correspond à la fraction à laquelle les organismes sont réellement exposés.

**Un polluant peut être indirectement biodisponible pour un organisme par son transfert et amplification via la chaîne alimentaire.**



## B. Cheminement et distribution des polluants dans l'organisme

Dans l'organisme, les substances toxiques sont transportées par le sang ou la lymphe (ou liquides équivalents) et distribuées dans les autres parties de l'organisme.

Les polluants peuvent être véhiculés sous forme de molécules liées à des macromolécules de transport, comme l'albumine (protéine plasmatique transporteuse d'autres biomolécules vitales : les hormones).

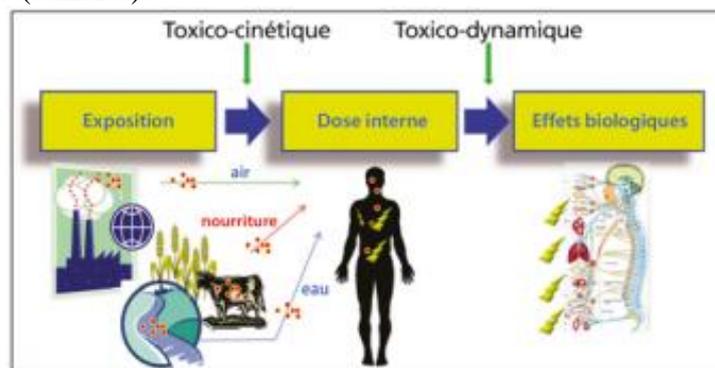
Les propriétés physicochimiques des xénobiotiques et la nature des tissus sont à l'origine de l'affinité et l'accumulation des polluants dans certains organes ou tissus :

**Exemples :** le **mercure** (Hg) (systèmes nerveux, foie, rein), le **Cadmium** (Cd) (reins et os), le **Plomb** (cerveau et os) et les **polluants lipophiles** s'accumulent dans les tissus adipeux (lipidiques) où sont séquestrés (stockés) jusqu'à une certaine concentration limite.

## C. Mécanismes d'action et établissement des effets toxiques

L'écotoxicologie étudie les effets des toxiques sur le fonctionnement des écosystèmes qui se sont déroulés en trois étapes :

- ✚ **Exposition:** Les effets toxicologiques d'un xénobiotique donné ne sont produits qu'une fois le toxique ou ses métabolites atteignent le site d'action approprié dans l'organisme.
- ✚ **La toxicocinétique :** c'est l'étude du **devenir des xénobiotiques** durant leur passage dans l'organisme. Elle s'intéresse à l'influence qu'exerce l'organisme sur un toxique par l'intermédiaire des processus **d'absorption, de distribution, de métabolisme et d'excrétion**.
- **La toxicodynamique :** ensemble des **effets négatifs du toxique** sur l'organisme (interaction, induction/stimulation, inhibition, blocage, etc.) se traduisant par divers effets nocifs (**toxicité**).



L'interaction entre les deux processus compétitifs (**toxicocinétique** et **la toxicodynamique**) définit un ensemble de réactions biologiques qui détermine le **type** et **l'intensité** de «l'effet» **toxique** sur l'organisme.

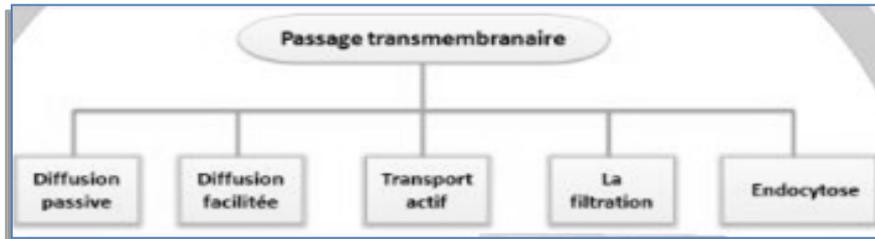
### 1. Toxicocinétique

Elle se déroule en quatre étapes essentielles:

#### ☐ Phase 1: Absorption

Elle se fait par trois voies: cutanée, respiratoire et digestive. C'est l'étape qui conduit les xénobiotiques de son site d'administration jusqu'à la circulation sanguine. Ce processus implique le passage des xénobiotiques à travers des membranes biologiques; c'est le passage

transmembranaire. Ce passage dépend des propriétés physico-chimiques du toxique : **sa liposolubilité, sa biodisponibilité, son affinité à la cible biologique, etc.**



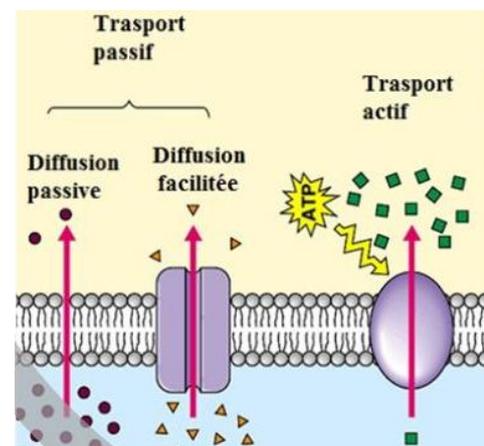
- Deux mécanismes «naturels»: la diffusion passive et la filtration, régis par des modèles physiques
- Deux mécanismes particuliers: le transport actif et la diffusion facilitée
- L'endocytose

#### ✚ Diffusion passive

- ❖ La diffusion s'effectue suivant le gradient de concentration
- ❖ Seuls les toxiques non chargés (non ou peu polaires) et lipophiles passent facilement à travers les membranes

#### ✚ Diffusion facilitée

- ❖ Processus similaire à la diffusion p. s'effectue suivant le gradient de concentration mais nécessite un transporteur
- ❖ ne nécessite pas d'énergie

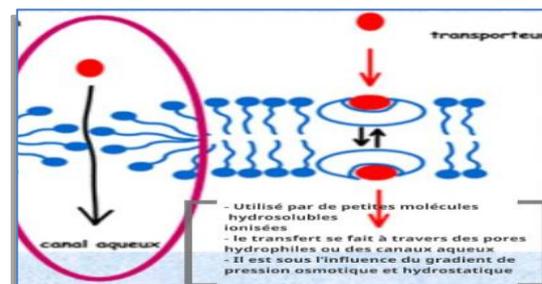


#### ✚ Transport actif

- ❖ s'effectue contre un gradient de concentration
- ❖ Spécifique à un toxique, ou un groupe de toxiques apparentés

#### ✚ La filtration

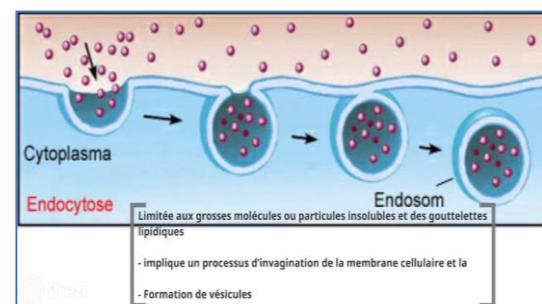
- ❖ Le flux de l'eau au travers des pores membranaires peut autoriser le passage de toxiques.
- ❖ Pour la plupart des cellules, le diamètre des pores est voisin de 4 nm: seuls les toxiques hydrosolubles de masse molaire faible peuvent passer.



#### ✚ Endocytose

Concerne l'absorption des particules :

- ❖ Solides : on parle alors de phagocytose
- ❖ Liquides : on parle alors de pinocytose



#### Facteurs modifiant l'absorption

- ❖ Alimentation,
- ❖ pH,
- ❖ Age,

- ❖ Interactions avec d'autres substances chimiques exogènes et/ou endogènes,
- ❖ Quand les cellules ont une grande affinité pour des molécules déterminées, cette particularité entraîne une absorption sélective de certains produits au niveau de certains organes
- ❖ Pathologies digestives

#### ❑ Phase 2: Distribution du toxique

Une fois les xénobiotiques sont absorbés et après avoir atteint la circulation générale (sang, lymph, etc.), ils sont distribués dans les divers tissus et organes. Durant cette étape une partie du toxique est éliminée (par excrétion) de l'organisme soit directement ou après métabolisation, l'autre partie peut :

- ❖ s'accumuler dans les tissus cibles (bioaccumulation);
- ❖ se redistribuer dans l'organisme;
- ❖ interagir avec les biomolécules (protéines, enzymes, lipides...) et générer l'effet toxique.

#### + La distribution dépend de quatre principaux facteurs :

- ❖ Débit sanguin: les tissus les plus vascularisés (surtout le foie et le rein) fixent plus aisément les xénobiotiques que ceux à faible vascularisation (os),
- ❖ L'affinité des xénobiotiques pour les protéines tissulaires: ce qui est à l'origine de la fixation préférentielle dans certains organes. Le foie et le rein sont les meilleurs fixateurs à cause de leurs fonctions métaboliques,
- ❖ Liaison aux protéines plasmatique: ex. l'albumine représente un site de stockage pour certains xénobiotiques ce qui limite leur distribution en dehors du compartiment vasculaire.
- ❖ Barrières de l'organisme:
  - Barrières hémato-encéphalique s'oppose au passage des toxiques vers le cerveau.
  - Barrières hémato-placentaire s'oppose au transfert des toxiques de la mère au fœtus.

#### ❑ Phase 3: Métabolisation (biotransformation) du toxique

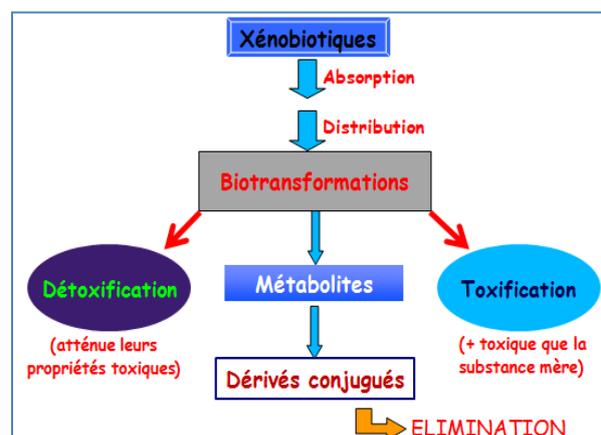
C'est l'ensemble des réactions de la biotransformation des xénobiotiques surtout liposolubles en substances hydrosolubles plus facilement éliminables.

La biotransformation est donc un processus qui permet la conversion des **molécules mères des xénobiotiques** en **métabolites** et ultérieurement en **dérivés conjugués**.

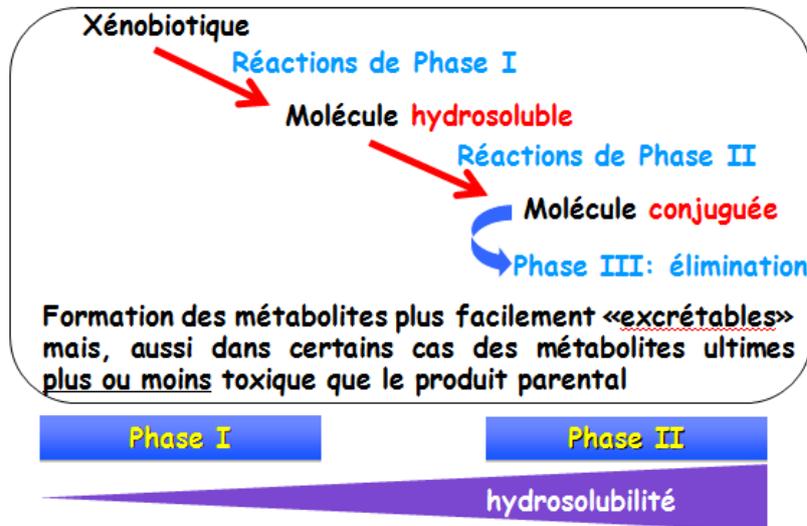
Les **métabolites** et les **conjugués** sont généralement plus **hydrosolubles** et **plus polaires**, donc plus facilement excrétables. La biotransformation peut donc être considérée comme un mécanisme de détoxification par l'organisme. Cependant, dans **certains cas**, les **métabolites sont plus toxiques que les molécules-mères**: de telles réactions sont qualifiées de "**bioactivation**".

La biotransformation des toxiques se font généralement en trois phases:

- ❑ **phase I de fonctionnalisation** (oxydation, réduction et hydrolyse): addition d'un groupement fonctionnel (OH, NH<sub>2</sub>, COOH, etc.)



- ❑ phase II de conjugaison
- ❑ phase III d'élimination qui permet l'exportation active des conjugués de la phase II hors des cellules



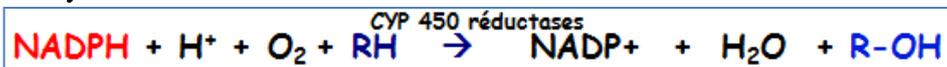
➤ **Métabolisation enzymatique**

Les enzymes impliquées dans le métabolisme des xénobiotiques (**Enzymes Métabolisant les Xénobiotiques (EMX)**) sont **polymorphes** et peuvent être associés avec des activités enzymatiques variables; **un même système enzymatique métabolise plusieurs xénobiotiques.**

Les enzymes de phase I (dites de "**fonctionnalisation**") induisent l'introduction d'une fonction chimique nouvelle qui rend la molécule du toxique **plus polaire.**

❑ **Oxydations**

Ex.: monoxygénation d'une chaîne aliphatique ou aromatique catalysée par des enzymes de la famille du cytochrome P450 :



❑ **Hydrolyse**

$$\text{R-C-O-R}' + \text{H}_2\text{O} = \text{R-C-O-H} + \text{R}'\text{OH}$$

ester                      eau                      acide carboxylique                      alcool

❑ **Réductions**

**Azoréduction:** R-N=N-R' (azoïques) → R-NH2 + R'-NH2

**Nitroréduction:** R-NO2 (nitrés) → R-NH2

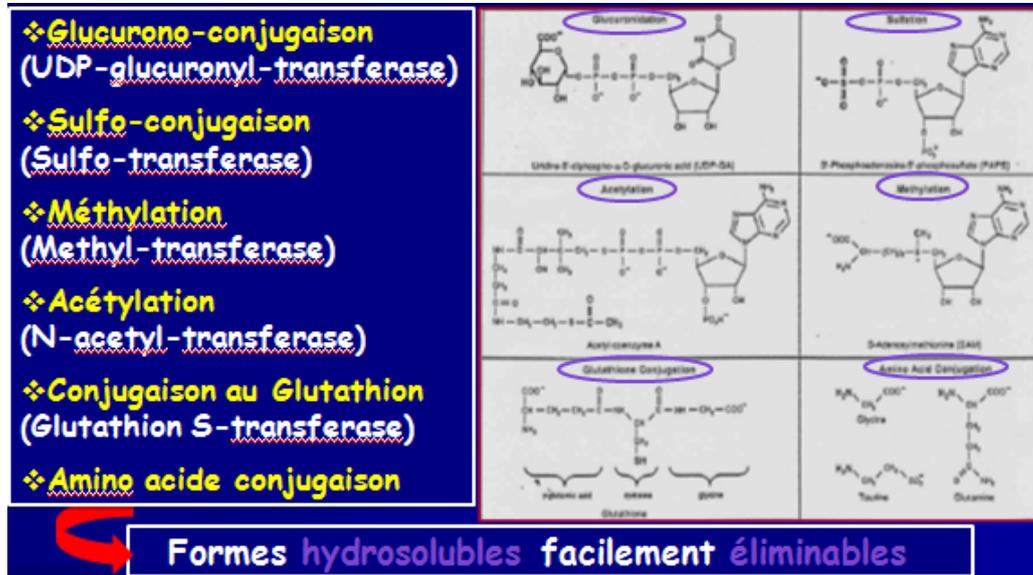
**Carbonylréduction:** R-C(=O)-R' → R-CH(OH)-R'

REACTION	ENZYME
<i>Phase I</i>	
Hydrolyse	carboxylestérases peptidases époxyde hydrolases
Réduction	azo-, nitro-réduction  réduction carbonyl réduction disulfure réduction sulfoxyde réduction quinone déhalogénéation réductive
oxydations	alcool déshydrogénase aldéhyde déshydrogénase aldéhyde oxydase xanthine oxydase monoamine oxydase diamine oxydases prostaglandine H synthétase flavine <span style="border: 1px solid red; padding: 2px;">monoxygénases (FMO) Cyt P450</span>

## Les enzymes de phase II: réactions de conjugaison

Elles permettent le transfert d'un **radical hydrophile (polaires)** sur les **métabolites " fonctionnalisés"** générés par la phase I, pour les rendre **hydrophiles**.

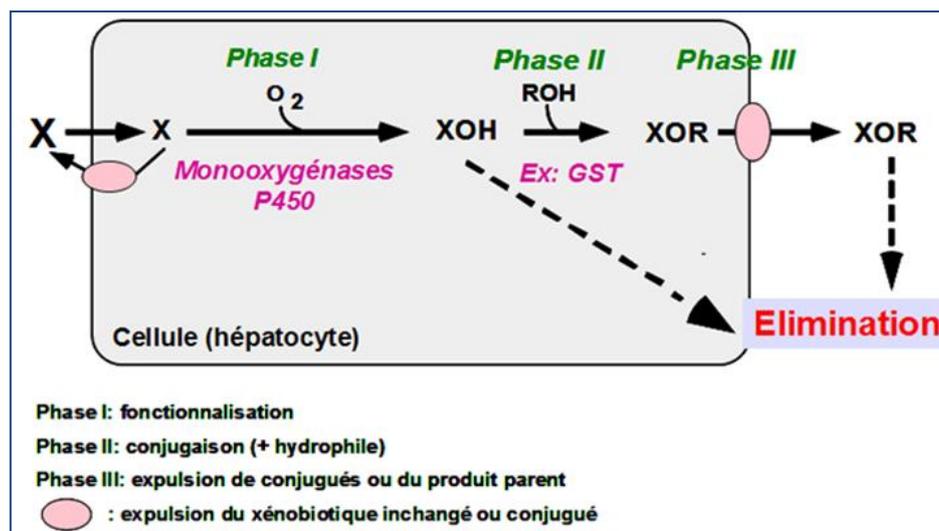
La conjugaison est réalisée par des enzymes « transférases » assurant une multitude de réactions de transfert sur une variété de molécules endogènes (comme le glutathion : GSH).



- Les **glutathion S-Transférases GST** représentent une des familles d'enzymes universelles intervenant dans les réactions de conjugaison de divers composés sur le tripeptide GSH (glutathion) :

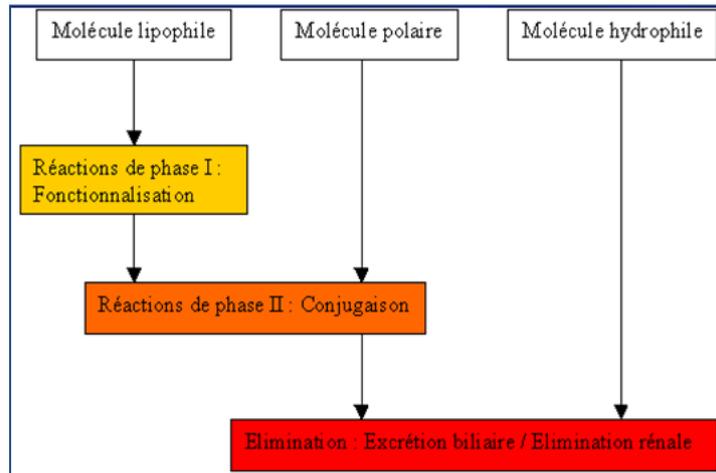
### Exemple de métabolisme des xénobiotiques (X)

Les systèmes de détoxification assurent une biotransformation des substances étrangères pour **diminuer leur lipophilie, augmenter leur polarité et favoriser leur élimination**.



Après fonctionnalisation et conjugaison, les transporteurs de la phase III (**P-glycoprotéine** ou Pgp, **multidrug resistance associated proteins** ou MRP) transportent au travers des membranes les xénobiotiques conjugués en vue de leur élimination de la cellule.

## Vue d'ensemble du métabolisme des Xénobiotiques



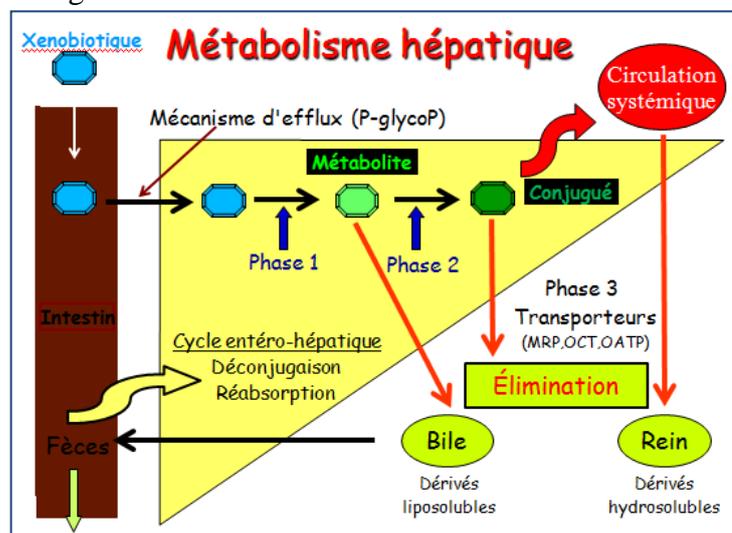
- **Biotransformation non-enzymatique du toxique** : Réactions radicalaires (radicaux libres)
  - ❖ En dehors du métabolisme des phases I et II, des réactions de biotransformations non enzymatiques interviennent à travers les eSpèces Réactives de l'Oxygène (ROS) induites par le métabolisme oxydatif cellulaire de divers composés.
  - ❖ Ce sont des réactions de peroxydation qui constituent une part importante du métabolisme chez beaucoup d'organismes (bactéries, mollusques, vers, poissons, etc.). Elles conduisent souvent à la formation des radicaux libres toxiques s'ils ne sont pas contrôlés par l'organisme!
  - ❖ Ce sont des réactions métaboliques naturelles, mais qui peuvent être induites d'une manière anormale par une multitude de polluants toxiques (HAP, PCB, métaux...);
  - ❖ Les radicaux libres sont des dérivés instables très réactifs qui peuvent s'attaquer aux autres biomolécules de l'organisme dont les lipides, les protéines et acides nucléiques (l'ADN).

### ❑ Phase 4: Élimination ou excrétion

L'étape finale du devenir du xénobiotique est son élimination de l'organisme ou excrétion. Le processus d'excrétion peut concerner :

- ❖ un xénobiotique sous forme inchangée
- ❖ un métabolite inactif
- ❖ un métabolite actif
- ❖ un métabolite toxique
- ❖ un métabolite conjugué
- ❖ un xénobiotique conjugué.

Ce phénomène d'élimination est très important car **toute insuffisance de l'organe responsable de l'élimination se traduit par un ralentissement de l'élimination et un risque d'accumulation du produit pouvant entraîner des effets toxiques.**

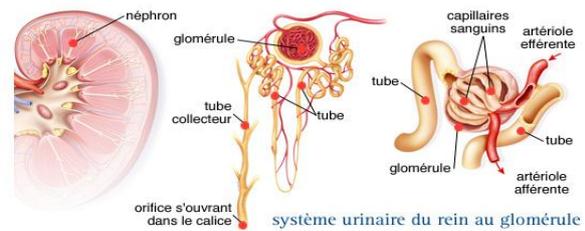


Elle se fait soit par :

### ■ **Élimination rénale**

Basée sur les processus physiologiques utilisés pour l'excrétion des substances endogènes :

- Filtration glomérulaire
- Sécrétion tubulaire



### ■ **Élimination fécale**

Elle concerne :

- ❖ Les xénobiotiques non absorbés au niveau des voies digestives
- ❖ Les xénobiotiques qui passent dans la bile et sont déversés dans l'intestin :
  - ✓ composés inchangés
  - ✓ métabolites et conjugués non réabsorbés selon le cycle entéro-hépatique

Elle concerne également quelques composés qui passent directement du sang dans la lumière intestinale (comme la digitoxine, l'ochratoxine A, l'hexachlorobenzène, etc.)

### ■ **Autres voies d'élimination**

- ❖ **Salive et sueur** : voies mineures, par diffusion passive. Par la salive, très forte réingestion dans le tractus digestif. Par la sueur, risques de dermatites au contact de la peau
- ❖ **Lait** : risque de contaminations mère - enfant. Concerne surtout des substances basiques et/ou lipophiles

## 2. La toxicodynamique

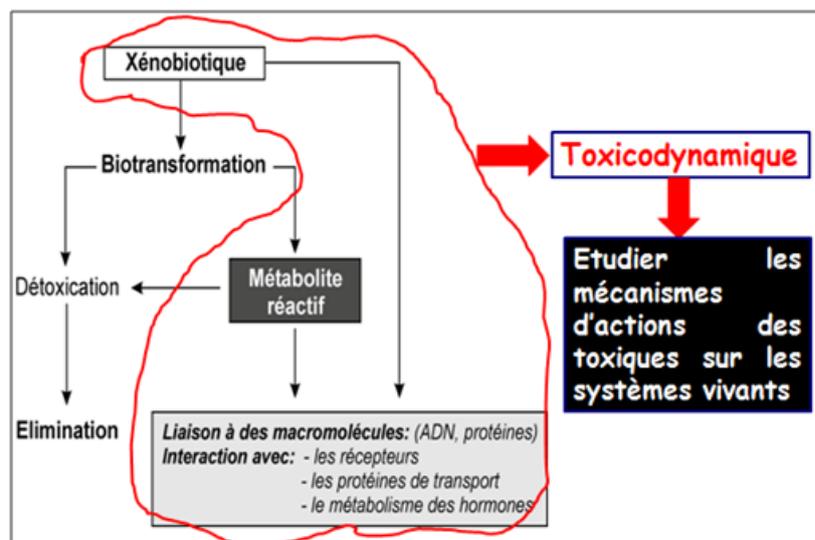
### ■ **Notion de récepteur moléculaire**

On peut distinguer deux types de récepteurs selon leurs propriétés fondamentales:

- Récepteur reconnaît spécifiquement un agent toxique.
- Récepteur produit un effet néfaste en réponse à la fixation de cet agent toxique.

La quasi-totalité des toxiques est électrophile ou

les devient après biotransformation. Les récepteurs moléculaires sont donc des sites nucléophiles (Radicaux contenant des hétéros atomes (OH, SH, NH-, etc.) portés par des biomolécules (ADN, ARN, protéines, etc.).



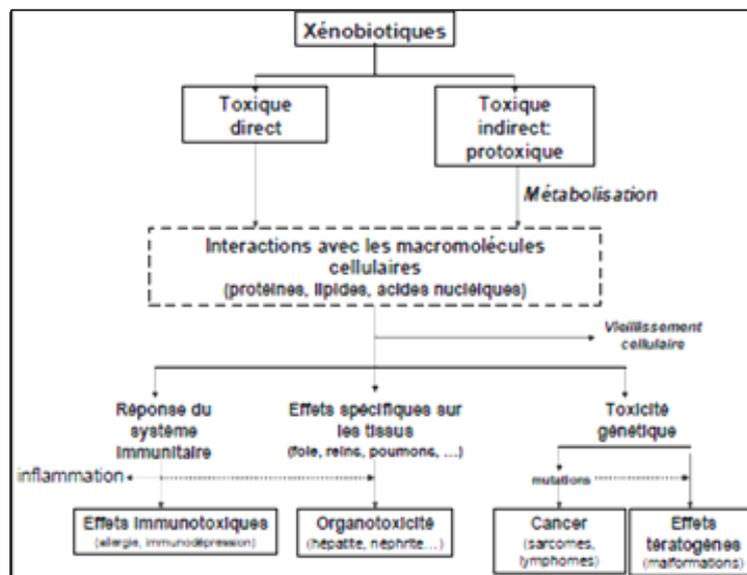
**Remarques :**

- ✚ Les macromolécules biologiques (ADN, ARN, protéines, lipides) sont riches en sites nucléophiles et sont des récepteurs de choix pour des toxiques électrophiles.
- ✚ Les sites nucléophiles des protéines sont représentés par quelques acides aminés riches en électrons; histidine, cystéine, lysine, tyrosine, tryptophane, méthionine, ces acides aminés réagissent avec les cancérigènes.
- ✚ Les substituant des bases nucléiques constituent des sites d'attaque des xénobiotiques: exemple les hydrocarbures attaquent le groupe aminé de la guanine.
- ✚ Les lipides insaturés sont également des sites d'attaque privilégiés des agents toxiques

**■ Notion de toxique ultime**

C'est une espèce chimique active produisant les effets délétères, à partir

- Du toxique directement
- De composés parents: acides et bases fortes, métaux lourds (Pb), dioxine, etc.
- Des produits de bio-activation

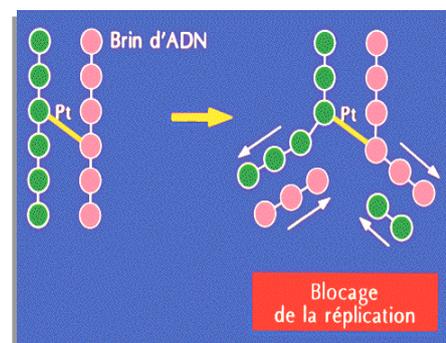
**1.1. TOXICITE DIRECTE DES XÉNOBIOTIQUES**

Les xénobiotiques agissent directement sur les organes cibles ou les tissus sans aucune biotransformation. C'est le cas d'agents alkylants très réactifs (sulfate de méthyle, formaldéhyde, etc.).

Au niveau cellulaire, les agents alkylants attaquent les protéines et les acides nucléiques, ce qui transforme ces constituants cellulaires en dérivés substitués qui sont modifiés et ne peuvent plus assurer normalement leurs fonctions.

**Ex.: les agents alkylants forment des liaisons covalentes avec l'ADN cellulaire** en créant des ponts (Pt) intramoléculaires entre deux chaînes d'ADN. → Inhibition de la réplication et de transcription de l'ADN

**La liaison de ces alkylants fonctionnels au ADN est la cause de la mort des cellulaires (mutagenèse, apoptose)**



## 1.2. TOXICITÉ INDIRECTE DES XÉNOBIOTIQUES

Le xénobiotique n'est pas toxique tel quel mais nécessite une biotransformation préalable dans l'organisme pour qu'un effet toxique se manifeste.

Souvent, on constate l'apparition d'intermédiaires au cours de la métabolisation bénéfique des toxiques dans le foie (centre anti-poisons)

### Exemples:

- Interaction des xénobiotiques avec les protéines
  - - nécrose plus ou moins réparable
  - atteintes immunitaires ...
- Interaction des xénobiotiques avec les acides nucléiques (ADN)
  - Apparition d'une mutation suivie éventuellement d'un processus tumoral

## 1.3. Notion d'effet réversible et effet irréversible

- ✚ **Les effets réversibles** disparaissent dès que l'exposition à la molécule toxique cesse. C'est une action basée sur liaison réversible (non covalente): la propriété fondamentale de cette action est qu'elle est liée à la concentration du toxique et que cette action disparaît avec l'élimination du toxique.

Parmi les toxiques ayant une liaison réversible avec leur site moléculaire: **les pesticides organophosphorés, les pesticides carbamates**

- ✚ **Les effets irréversibles** persistent voire progressent après la phase d'exposition. C'est une action basée sur une **liaison irréversible**: Les toxiques sont en principe toujours activés avant d'exercer leur action et se sont les sites nucléophiles (NH<sub>2</sub>, SH) des biomolécules qui sont visés; les liaisons sont covalentes et stables.

Parmi les effets toxiques observés, on range **la mutagenèse, la cancérogenèse, la tératogénèse et la sensibilisation allergique.**

## 1.4. Toxicité selon le mode d'action des toxiques

### a- Effet morphologique, fonctionnel ou biochimique

- ❑ **L'effet morphologique** conduit à une modification tissulaire comme par exemple une *nécrose*. Il est généralement irréversible.
- ❑ **L'effet fonctionnel** correspond à un changement des fonctions d'un organe. Il est en général réversible comme par exemple la stéatose hépatique (apparition de vésicules lipidiques dans le foie) ou l'hépatite.
- ❑ **Les altérations biochimiques** peuvent également se produire sans être accompagnées de changements morphologiques apparents (ex.: l'inhibition des acétylcholinestérases causée par les insecticides organophosphorés).

### b-Mutagenèse

Le phénomène de mutagenèse résulte d'interactions entre des agents mutagènes et le matériel génétique des organismes. L'action se traduit par des *mutations* génétiques et/ou des modifications chromosomiques.

#### Exemple : L'action mutagène du méthylmercure

Au fait du caractère électrophile du groupement CH<sub>3</sub>Hg<sup>+</sup> qui se comporte comme un **agent alkylant** vis-à-vis des groupements **azotés des bases nucléiques** notamment de la thymine. Cette fixation aboutit à la **dénaturation de l'ADN**.

**c- Cancérogène:** L'ADN du noyau cellulaire est la cible privilégiée des agents cancérogènes (Arsenic, Aflatoxines...).

**d- Tératogène:** Ce sont des substances qui agissent principalement sur l'embryon à des stades bien précis de son développement en induisant des anomalies, se manifestant par des malformations après exposition de la femme enceinte à des facteurs d'altération exogènes.

**e- Immunotoxicité:** Modification du nombre de cellules du système immunitaire. On distingue 2 types d'effets :

- **L'immunosuppression :** augmente la sensibilité aux infections
- **L'immunostimulation :** se manifeste par le développement d'une maladie auto – immune ou par un syndrome allergique

## f. Altération des processus de reproduction et de développement

**Chez l'homme :** beaucoup de composés toxiques, appelés perturbateurs endocriniens, sont à l'origine de :

- ✚ Perturbations des processus de reproduction : perturbation du système hormonal (régulation) gamétogénèse, ovulation...
- ✚ toxicité maternelle et toxicité fœtale ou embryonnaire : les Malformations et la Tératogénicité (déformation des nouveaux nés = les thalidomides).



**Chez les oiseaux :** les composés comme les pesticides organo - polychlorés induisent des perturbations de la reproduction :

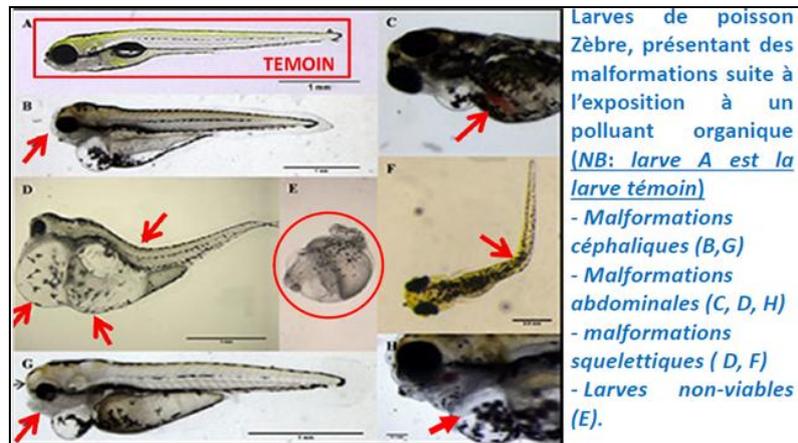
Ex. "**DDT**" et sa métabolite "**DDE**" causent la fragilisation des coquilles des œufs d'oiseaux (aigles, grèbes, goélands...) → cassure d'œufs et mort des embryons → **réduction des populations.**

Ex. stérilité des grèbes (oiseaux migrateurs) vivant au niveau d'un lac californien: **sur 3000 couples → 30 couples sont stériles (1%)!!**

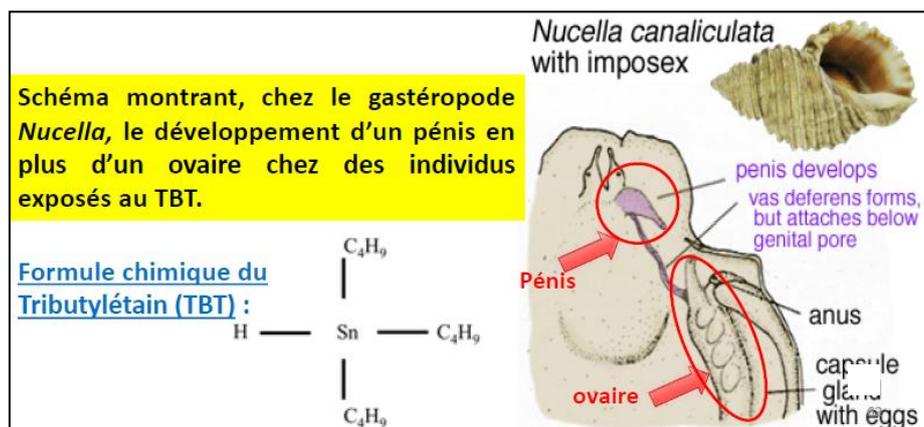


**Exemple fragilisation de la coquille d'œuf des aigles suite à l'exposition au DDT**

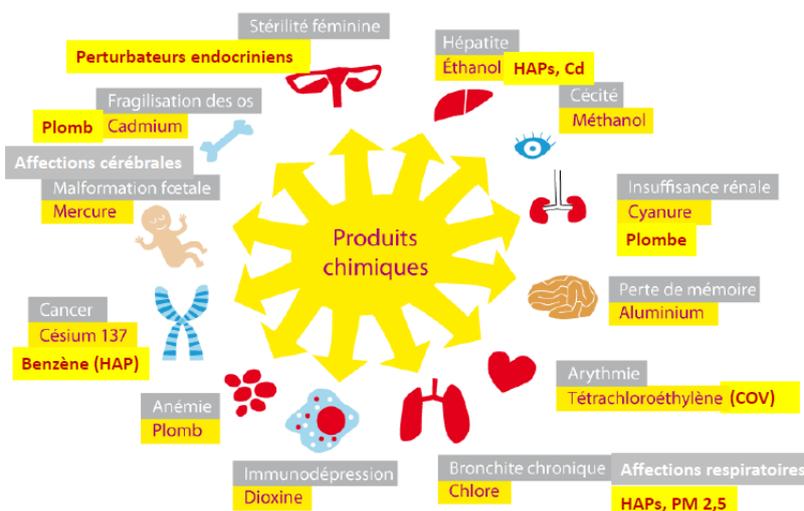
**Chez les vertébrés (poissons) :** des troubles de fertilité (réduction ou absence d'œufs chez les femelles) et des anomalies **d'intersexuation** (des mâles qui développent des caractères femelles) ou de Tératogénicité (malformation chez les embryons).



**Chez les invertébrés (mollusques):** apparition du phénomène **d'imposex** chez les organismes exposés au **Tributylétain** (TBT). Ce composé utilisé comme produit antifouling dans les peintures navales (protection des parois des bateaux) cause le **développement simultané d'organes génitaux femelles et mâles** chez les animaux exposés (gastéropodes).



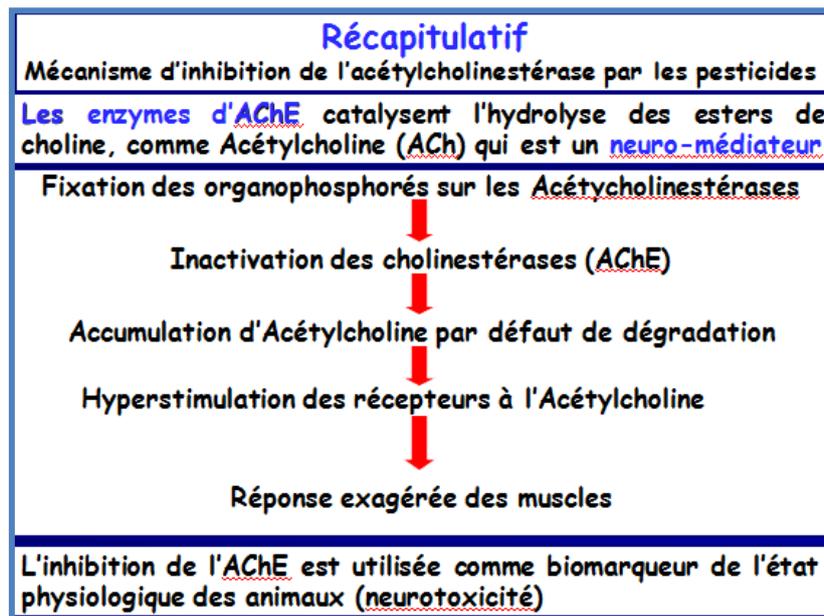
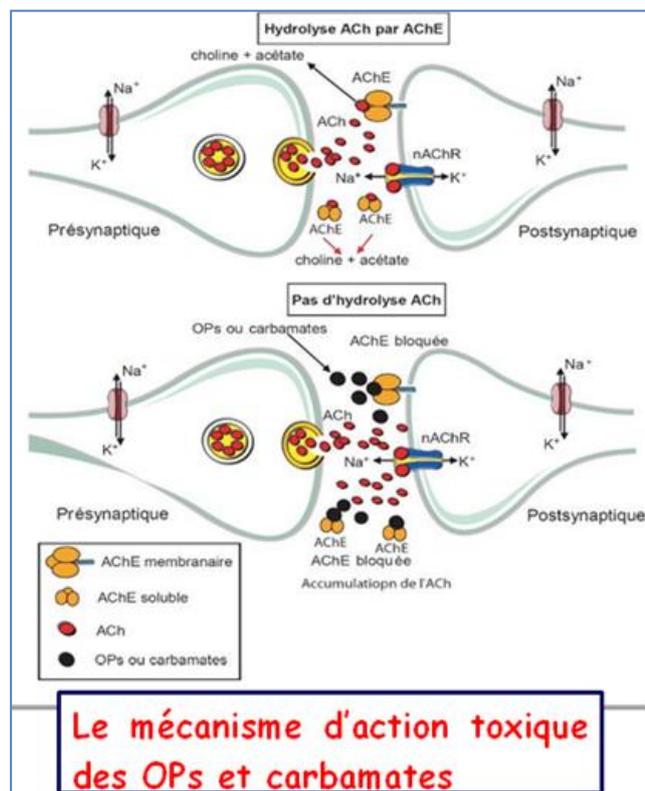
i. Récapitulatif de quelques effets et les polluants correspondant



## 1.5. Quelques exemples de mécanisme d'action des xénobiotiques

❑ **Les organophosphorés (OPs) et carbamates**, très lipophiles, franchissent toutes les barrières biologiques et se fixent de façon covalente aux cholinestérasés du SNC, des muscles, des globules, etc.. Ils bloquent la dégradation de l'acétylcholine au niveau des synapses cholinergiques par inhibition des cholinestérasés (AChE) en forme membranaire et soluble. Le résultat de l'inhibition est l'accumulation d'acétylcholine.

La concentration élevée d'acétylcholine provoque la contraction musculaire et l'excès d'ACh peut être excitatrices (cause des secousses musculaires).



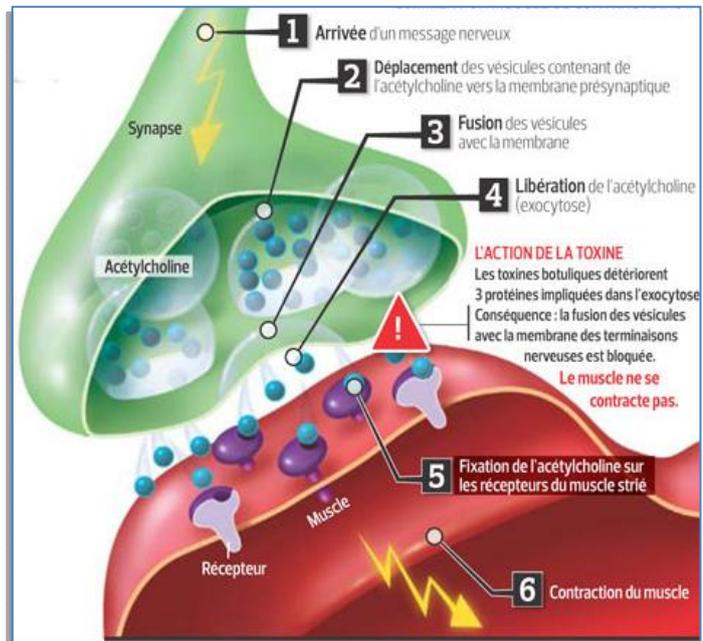
### ❑ Mode d'action de la toxine botulique

La toxine botulique est une neurotoxine affectant le système nerveux. Elle provoque une paralysie musculaire progressive, qui commence en général au niveau oculaire (la ptose)



A l'arrivée du message nerveux, il y a déplacement des vésicules contenant l'acétylcholine. Ensuite il y a une fusion des vésicules avec la membrane et donc la libération de l'acétylcholine par exocytose. Acétylcholine se fixe sur les récepteurs du muscle strié en donnant une contraction normale de ce muscle.

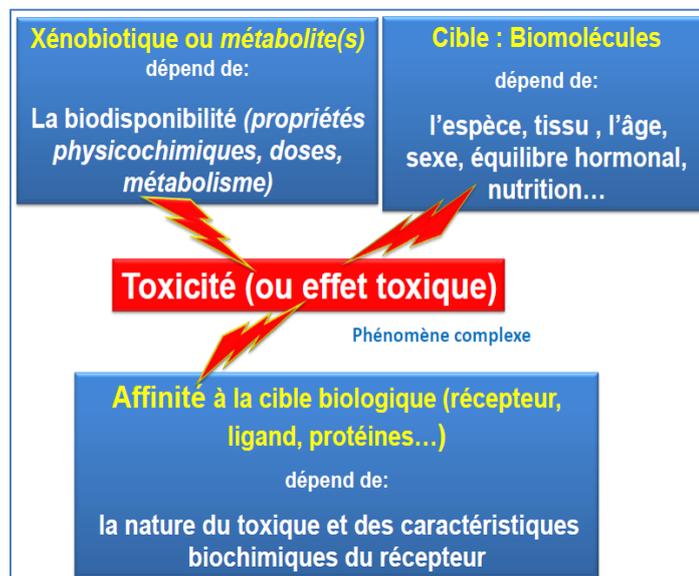
La toxine botulique intervient avant la fusion des vésicules. Elle se lie à la membrane cellulaire des neurones et pénètre dans le neurone par endocytose. La chaîne légère de la toxine botulique détériore les 3 protéines impliquées dans l'exocytose des vésicules. Conséquence: la fusion des vésicules avec la membrane est bloquée et donc le muscle ne se contracte pas.



### Complexité de l'effet toxique

L'effet toxique est un phénomène complexe :

- ✚ Il est la conséquence de divers processus toxicologiques (absorption, métabolisme, accumulation/élimination, interaction, ...)
- ✚ Il en résulte diverses perturbations physiologiques et métaboliques se traduisant par un effet négatif sur l'organisme.



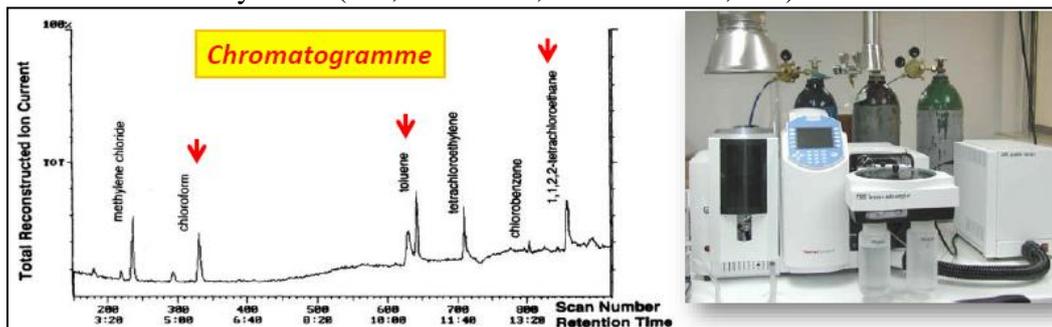
***Chapitre 3 :***

**Méthodes d'évaluation du risque  
environnemental et notion de la  
Biosurveillance de l'environnement**

## Méthodes d'évaluation du risque environnemental

### 1. Approche chimique analytique

- Le suivi de la pollution dans le milieu, se faisait essentiellement au moyen de **mesures de concentration des micropolluants toxiques dans le milieu**,
- Ces analyses **se limitaient** à celles **des métaux lourds** et de quelques **substances organiques** connues,
- Le développement de **méthodes analytiques sophistiquées** (chromatographies, spectrométries de mass, absorption atomique, etc.) a permis le **dosage quantitatif et qualitatif** d'un **large spectre de substances micropolluants** dans différentes matrices de l'écosystème (eau, sédiments, tissus vivants, etc.).



#### Avantages et limites des techniques chimiques

L'approche chimique d'évaluation de la pollution, a l'avantage d'être :

- sensible** et **précise** dans la détection des concentrations des polluants;
- permet une **analyse qualitative** et **quantitative** des polluants.

**MAIS**, elle présente **des limites d'application** en relation avec les réalités du terrain, à cause de son **caractère ponctuel** :

- résultats **peu ou pas fiables** dans l'interprétation des effets toxiques sur l'organisme (très faible signification écotoxicologique des données).
- ces analyses sont souvent **couteuses et difficiles à mettre en œuvre!**

### 2. Approche biologique

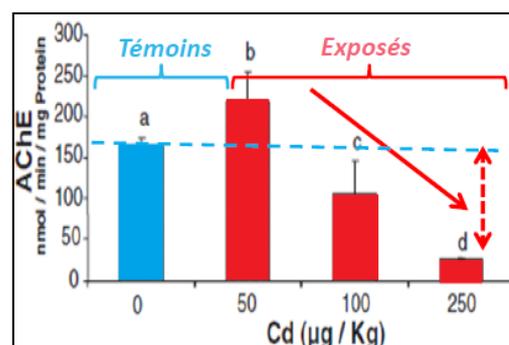
Pour tenir en compte de la **présence de substances toxiques et de leurs effets sur l'environnement**, l'approche biologique pour l'évaluation des conséquences des contaminations a été développée :

- basée sur des **méthodes biologiques de mesure de l'écotoxicité** ;
- renseignant les niveaux de danger ou d'effet dans le milieu;

Ces **méthodes biologiques** sont complémentaires aux informations recueillies par les mesures de concentration dans le milieu (**approche chimique**) **permettant ainsi la mesure du niveau d'exposition**.

**Exemple:** Effet de l'exposition (2 jours) aux **différentes concentrations du Cd** sur l'activité AChE chez le poisson : *Seriola dumerilli*.

**Bonne corrélation** entre le **niveau d'exposition au Cd** ([Cd] dans les tissus) et l'**inhibition de l'activité AChE** chez poissons.



### 3. Notion de la Biosurveillance de l'environnement (Biomonitoring)

Elle repose sur l'utilisation de bio-indicateurs (lichens, mousses, insectes, etc.) à **différents niveaux d'organisation biologique** (moléculaire, cytologique, tissulaire, physiologique ou comportementale) pour «**surveiller**» l'évolution des modifications et d'**altérations** de l'état de santé d'un écosystème.

- ✚ Le "**biomonitoring**" (ou **biosurveillance**) permet la **détection et le suivi** de la pollution dans un écosystème au travers des **effets des polluants sur les organismes vivants et le milieu**.
- ✚ Plusieurs gammes d'outils sont mises au point, allant du simple test en laboratoire (tests de bioessais) aux analyses plus poussées sur les organismes in situ et/ou in vivo (**Bioindicateurs et Biomarqueurs**).
  - Ces outils sont **simples et faciles** à mettre en œuvre (peu coûteux),
  - La **spécificité** des tests et leur **forte signification biologique**,
  - la **détection précise et précoce** (prédiction des effets) de la pollution.

#### 3.1. Notion de Bioessais : test d'écotoxicité

Les essais de toxicité ou bioessais sont des tests en laboratoire au cours desquels une population d'organismes (ou une cellule) est exposée à un polluant dont on veut estimer la toxicité. Cette substance peut être ingérée (la substance est ajoutée dans la nourriture), injectée directement dans l'animal, inhalée (c'est à dire respirée) ou encore se trouver dans le milieu de vie de l'organisme.

Les bioessais ont pour but:

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

#### Quel est l'avantage d'un bioessai par rapport à une analyse chimique classique ?

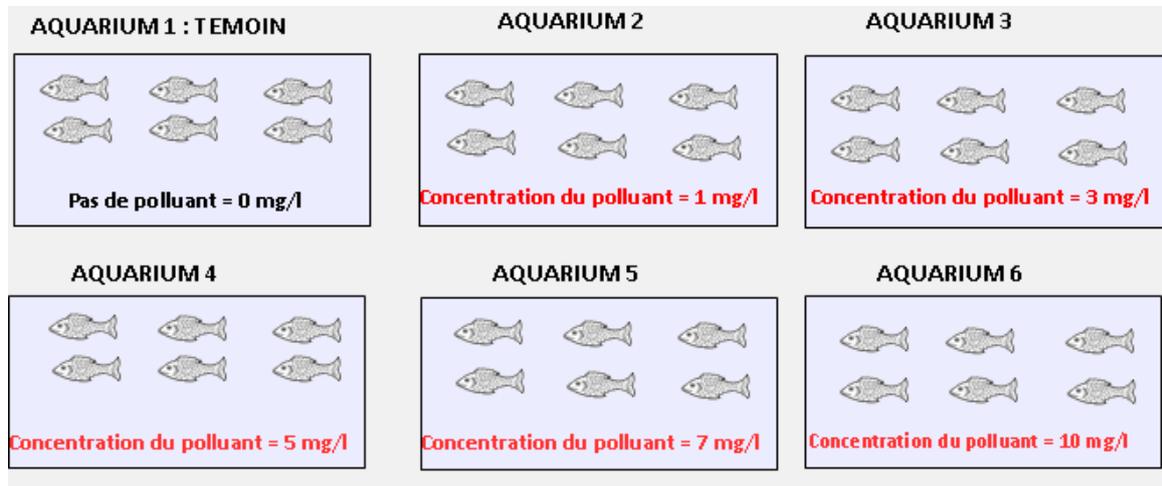
Une analyse chimique donne les concentrations de différents polluants dans un échantillon : par exemple, elle pourra dire qu'une rivière a une teneur de 0,2µg/l en DDT (un pesticide). Par contre, elle ne pourra pas dire si le DDT est biodisponible, c'est-à-dire, s'il est assimilable par les organismes vivants, et si ce polluant peut les affecter. A l'inverse, en réalisant un " test daphnie " par exemple, on met en contact un échantillon de l'eau de la rivière avec des organismes et on observe la toxicité sur le crustacé.

#### ➤ Limite d'utilisation

Les bioessais ne tiennent pas en compte les multiples facteurs influençant la toxicité en milieu naturel résultats → **non extrapolables à l'échelle des écosystèmes**.

Par exemple, on ajoute une substance dans le milieu de vie de l'organisme :

Cela peut consister à disposer **plusieurs aquariums** contenant des **poissons** et de **l'eau avec différentes quantités d'un polluant**. Un des aquariums ne contient pas de polluant : c'est le **témoin** qui sert de référence pour détecter d'éventuels effets du polluant.

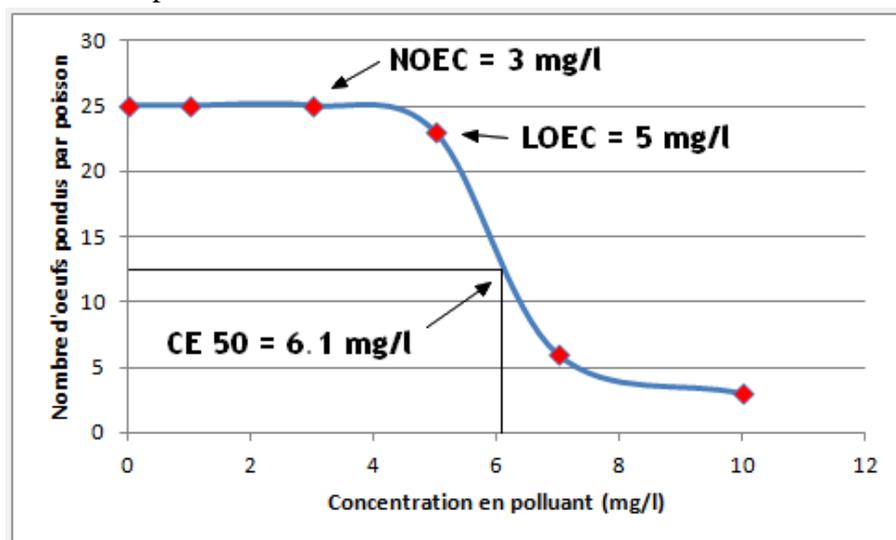


Ce test peut permettre de révéler :

- ✚ **une toxicité aiguë du composé testé** : c'est à dire une toxicité à court terme,
- ✚ **une toxicité chronique du composé testé** : c'est à dire des effets à long terme du produit.

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

La figure ci-dessous représente les résultats de ce test :



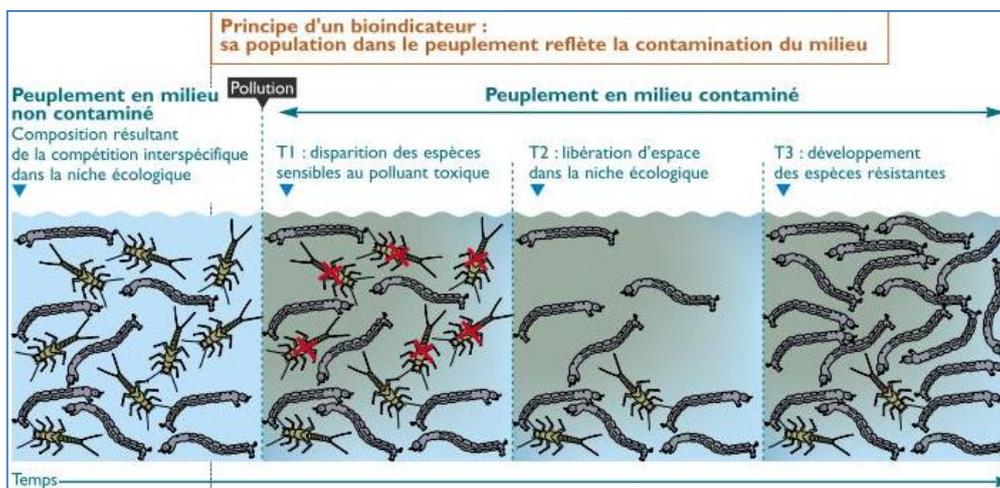
Ces valeurs de référence (**NOEC**, **LOEC** et **CE50**) sont très utiles car elles permettent de déterminer les **normes de rejet des différents produits potentiellement polluants**.

Si on s'intéresse aux décès des poissons, on peut déterminer une CL50 (Concentration Léthale 50%) : la concentration en polluant qui tue 50% des individus en un temps donné.

### 3. 2. Notion de «BIOINDICATEUR»

C'est l'utilisation d'espèce ou groupe d'espèces (**espèces bioindicatrices**) qui, par leur présence/absence, renseignent sur l'état écologique des écosystèmes qu'elles représentent, notamment le niveau de contamination.

A l'échelle d'un peuplement, les individus ou les espèces les **plus faibles** vont **disparaître** sous la pression du polluant (**mort ou fuite**), laissant la possibilité aux **espèces résistantes** de **se développer davantage**. Ce phénomène entraîne l'établissement de peuplements dont la structure reflète la qualité de l'eau, notamment au travers de l'analyse des présences/absences. Ils serviront de bioindicateurs.



#### ✚ Caractéristiques d'un indicateur biologique idéal

- L'espèce devrait être capable d'accumuler le polluant sans être tuée ni même que sa reproduction en soit perturbée par les niveaux maximum de polluants
- L'espèce devrait être abondante dans la région étudiée et si possible devrait avoir une distribution géographique étendue pour favoriser les comparaisons entre zones distinctes
- Les espèces à forte longévité sont préférables. Elles permettent l'exposition à un contaminant pendant de longues périodes
- L'espèce devrait être de taille suffisante pour fournir des tissus en quantité importante pour analyse
- L'espèce devrait être facile à échantillonner et suffisamment résistante pour être amenée en laboratoire afin d'effectuer des études de décontamination.

#### ✚ Avantages

- Outils simples : l'inventaire des organismes indicateurs de pollution présents dans un milieu;
- Ils déterminent le niveau de pollution des milieux par simple analyse de **présence/absence** de bioindicateurs.
- Ils ont une bonne signification écologique (évaluation du niveau de perturbation de l'écosystème)

### ✚ Limite d'utilisation

- ❑ Les espèces bioindicatrices ne permettent pas une **détection précoce** de la pollution (à cause du fait qu'ils sont basés sur la mortalité, la disparition ou l'abondance)
- ❑ Elles sont utilisées comme outils de **diagnostic et non pas comme outils préventif**.

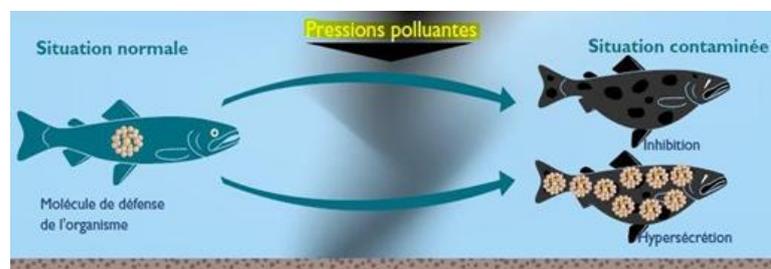
**Exemples de bio-indicateurs : Indice oligochètes** (vers annélides vivant dans les sédiments des lacs et des cours d'eau) qui permet d'évaluer la qualité biologique des sédiments fins ou sableux et indique des tendances fortes sur l'incidence écologique des micropolluants organiques et métalliques.



### 3.3. Notion de «Biomarqueur» : Méthode d'évaluation d'effet et/ou d'exposition

Toute réaction biochimique, physiologique, histologique et morphologique en réponse à un contaminant, mesurée à l'intérieur d'un organisme, et qui indique une déviation de son état normal.

Le principe des biomarqueurs est de **mesurer les molécules biochimiques produites** (en général des molécules de détoxification) ou **inhibées dans l'organisme en présence de toxiques**. La



concentration du biomarqueur dans l'organisme reflète que celui-ci est exposé ou non à un toxique.

Les biomarqueurs permettent ainsi de **détecter et/ou mesurer les effets** d'une pollution de manière **précoce** (=avant que les effets toxiques de la pollution ne soient visibles) et **spécifique**.

### Types de biomarqueurs

#### ✚ Enzymes:

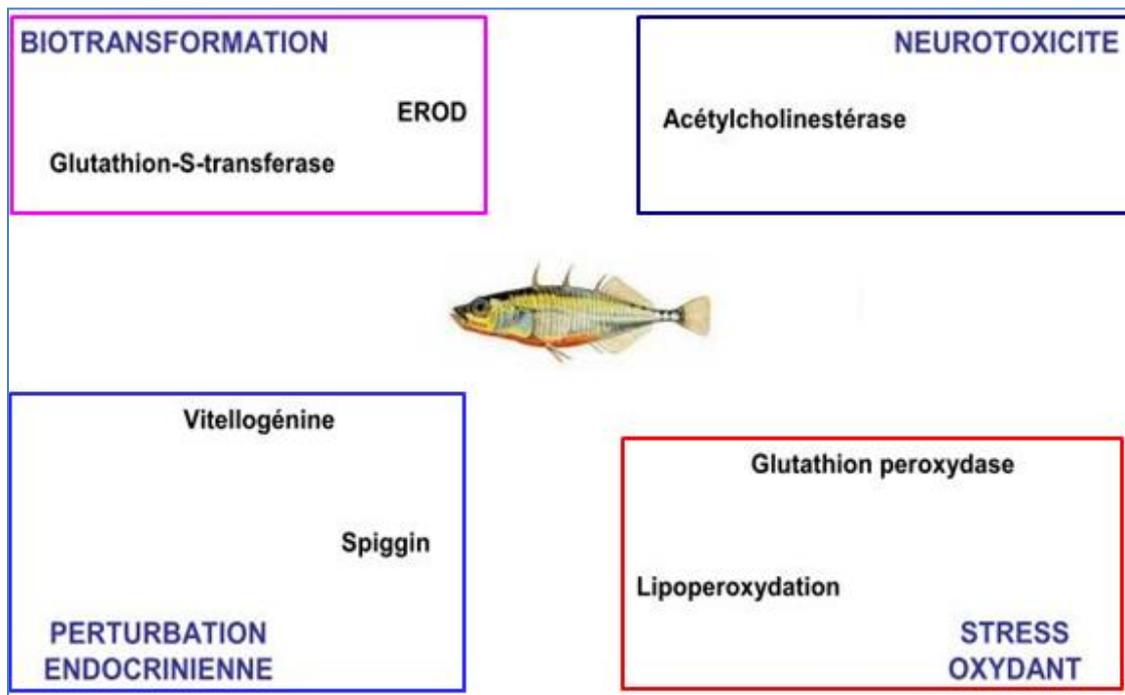
- **Activité aminolévulinatase déshydratase (ALAD)** inhibée par le **plomb**,
- **Cytochromes P450 (test EROD : Ethoxyrésorufine-o-dééthylase)**: **augmente** sous l'effet des **hydrocarbures**,
- **Cholinestérases**: activité inhibée par les **carbamates et les pesticides organophosphorés**.
- **Enzymes de conjugaison**: accroissement causé par les **HAP**, ou les **métaux traces**. Ex: **glutathion-S-transférase**.
- **Enzymes de stress oxydatif**. Ex: glutathion reductase, malondialdéhyde
- Etc.

✚ **Métallothionéines (MTs)**: augmentation causée par les métaux traces.

✚ **Protéines de stress** (glucose-regulated proteins, heat stress proteins): spécificité relativement faible.

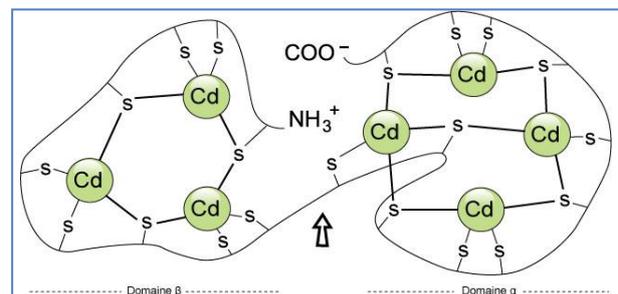
✚ **ADN**: modifications de la structure d'ADN (formation d'adduits).

## Exemples de biomarqueurs parmi les plus utilisés :



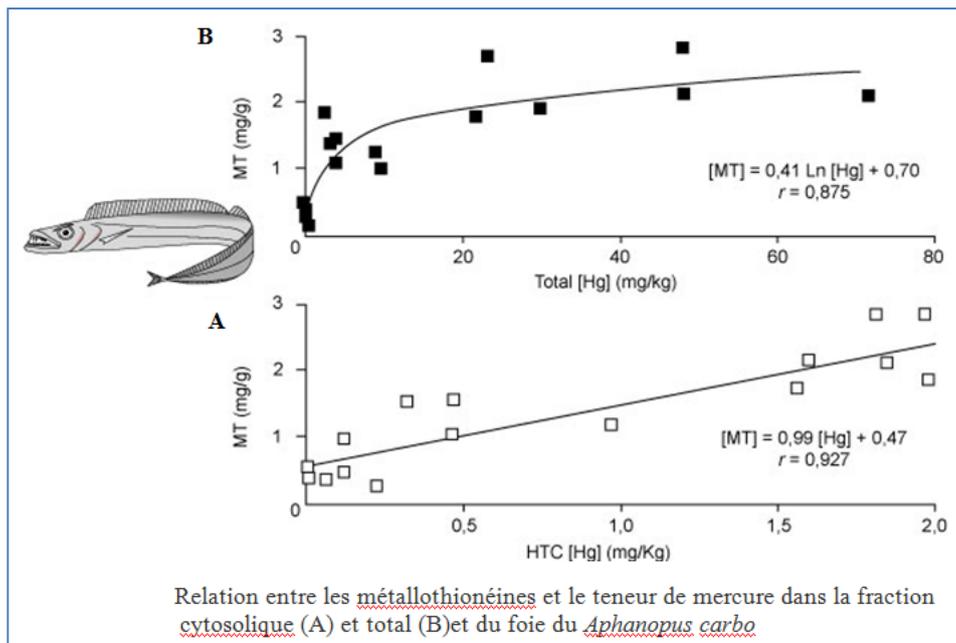
➤ **Les Métallothionéines (MTs): biomarqueur de pollution métallique**

Ce sont des protéines soufrées très riches en cystéines (acide aminé soufré), à faible poids moléculaire (12 à 15Kda). Elles sont capables de fixer des ions métalliques grâce à leur groupement thiol (-SH) des cystéines. Les Métallothionéines sont fortement induites par les métaux (dans l'ordre: Cd>Hg>Zn>Cu...) et leur synthèse est à l'origine de l'**homéostasie métallique**: régulation des concentrations et équilibre des métaux essentiels chez les organismes vivants; comme le **Zn et Cu**. Elles jouent un rôle dans la détoxification des métaux toxiques par leur **stockage** (piégeage ou séquestration) dans les tissus vivants;



L'induction (*stimulation de la synthèse*) des MTs par la pollution est utilisée comme **biomarqueur de contamination métallique (stress métallique)**.

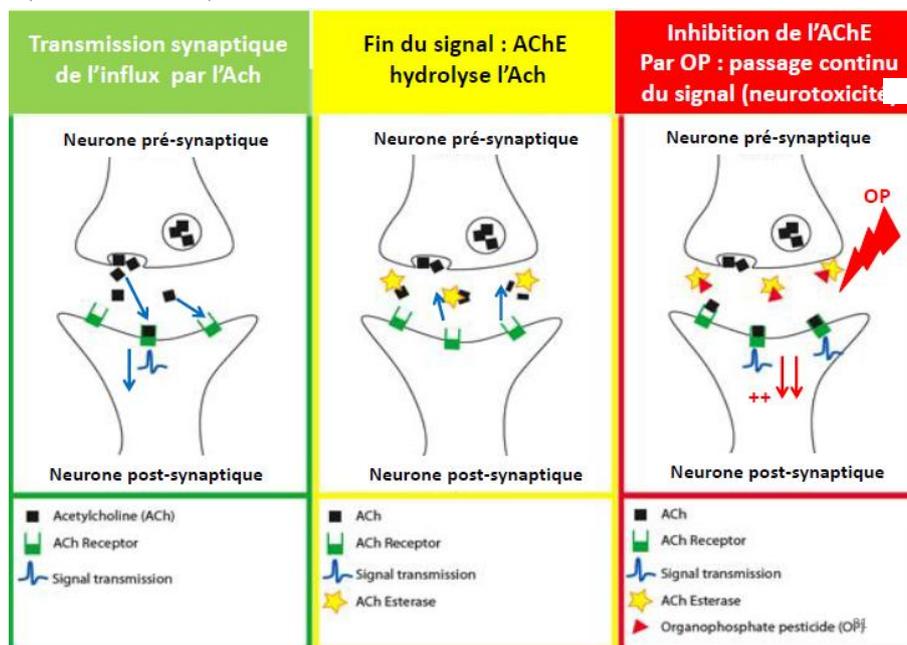
**Comme par exemple**, une bonne corrélation a été observée entre la concentration des métaux et celles des métallothionéines dans les tissus de certains organismes. La figure ci-dessous met en évidence l'accroissement de la teneur en métallothionéines du foie du poisson de profondeur *Aphanopus carbo* en fonction du mercure (Hg) total (B) ou dans la fraction cytosolique accumulée dans cet organe (A).



➤ **Acétylcholinestérase (AChE) : biomarqueur de pollution par les pesticides (biomarqueur de neurotoxicité)**

- ✚ Enzymes qui catalysent l'**hydrolyse** (dégradation) des esters de choline, comme **Acétylcholine (ACh)** qui est un **neuromédiateur**;
- ✚ Elle intervient après le passage de l'influx nerveux en dégradant **ACh** en choline et acétate et le retour à l'état normal des **neurones**.
- ✚ l'AChE est **Inhibée** (inactivée) essentiellement par: les **Pesticides Organophosphorés** et organochlorés, les **détergents** (produits de nettoyage puissants et déstabilisants) et certains métaux (comme Cd).
- ✚ L'inhibition de l'AChE engendre des **effets neurotoxiques** chez les organismes exposés à ces polluants;

→ L'inhibition de l'AChE est utilisée comme **biomarqueur** de l'état physiologique des animaux (**neurotoxicité**).



#### 4. Démarche écotoxicologique pour l'évaluation du risque environnemental et la réduction de la pollution

- ✚ Cette démarche consiste en l'utilisation des diverses informations complémentaires apportées par chaque approche (chimique et biologique) pour établir un système cohérent d'évaluation et de réduction des pollutions;
- ✚ Ce système d'évaluation et de réduction de la pollution comporte trois principales étapes:
  - **phase d'état des lieux et de diagnostic de la pollution:** Recueil des informations sur les concentrations des polluants (analyses chimiques) et l'évaluation du risque (par bioessais) ainsi que sur les effets *in situ* (à travers les bioindicateurs et biomarqueurs);
  - **phase de choix de stratégie:** la définition des objectifs à atteindre et mise en œuvre du plan d'action convenable;
  - **phase d'action:** application de mesures et de réglementations (des lois) pour réduire la pollution.

#### Synthèse : étapes de la démarche écotoxicologique pour l'évaluation et la réduction de la pollution

