



LIGNE DIRECTRICE DE L'OCDE
POUR LES ESSAIS DE PRODUITS CHIMIQUES

**« Oiseaux, Essai de Toxicité Liée au Régime
Alimentaire »**

1. INTRODUCTION

• Connaissances requises

- Solubilité dans l'eau
- Pression de vapeur

• Informations générales

- Formule de structure
- Pureté de la substance d'essai
- Méthodes d'analyse pour déterminer la concentration de la substance d'essai dans la nourriture
- Stabilité chimique dans l'eau, à la lumière et dans la nourriture
- Coefficient de partage n-octanol/eau
- Résultats d'un essai de biodégradabilité dite « facile » (voir Ligne directrice 301)

• Réserves

- Cet essai ne peut pas être utilisé pour les substances très volatiles.
- La substance d'essai doit posséder des caractéristiques qui permettent de la mélanger uniformément dans la nourriture. Pour assurer un mélange uniforme, on peut employer un véhicule de faible toxicité pour les oiseaux.

• Documents de référence

Voir bibliographie, chapitre 4, références (1) à (4).

2. M É T H O D E

A. INTRODUCTION, OBJET, PORTÉE, PERTINENCE, APPLICATION ET LIMITES DE L'ESSAI

- D é f i n i t i o n s

La CL 50 dans cette Ligne directrice est la concentration létale médiane, c.-à-d. la concentration de la substance d'essai dans la nourriture qui est estimée entraîner une mortalité de 50 pour cent des oiseaux à la suite d'une exposition de cinq jours par l'alimentation, suivie par une période de rétablissement de trois jours ou plus.

Le régime de base est une ration de départ, adaptée à l'espèce étudiée et qui répond aux besoins nutritionnels des jeunes oiseaux.

- S u b s t a n c e s d e r é f é r e n c e

Aucune substance de référence n'est recommandée pour cet essai. Cependant, si une substance de référence est utilisée les résultats doivent être donnés.

- P r i n c i p e d e l a m é t h o d e

Les oiseaux reçoivent de la nourriture qui contient la substance d'essai à différentes concentrations pendant une période de cinq jours. A partir du sixième jour, et pendant au moins trois jours, les oiseaux reçoivent le régime de base exempt de substance d'essai. On note tous les jours la mortalité et les signes de toxicité.

- C o n d i t i o n s d e v a l i d i t é d e l' e s s a i

- La mortalité chez les oiseaux témoins ne doit pas dépasser 10 pour cent à la fin de l'essai.
- On doit démontrer que la concentration de la substance d'essai a été maintenue de façon satisfaisante dans la nourriture (à plus de 80 pour cent de la concentration nominale) tout au long des cinq premiers jours de la période d'essai.

**« Oiseaux, Essai de Toxicité Liée au Régime
Alimentaire »**

- Aucune mortalité ou autre effet toxique observable en relation avec la substance d'essai ne doit intervenir avec le dosage le plus faible.

B. MODE OPÉRATOIRE

• Préparations

Il est nécessaire de disposer d'installations adéquates pour l'élevage des oiseaux en local clos. Cela comprend des dispositifs de régulation de la température, de l'humidité et de l'éclairage, en tant que de besoin, ainsi que des cages de capacité suffisante pour l'élevage des oiseaux.

Les oiseaux doivent être acclimatés pendant au moins sept jours aux installations et au régime de base. Ils doivent être répartis au hasard dans les cages. Les cages doivent être attribuées au hasard aux différents régimes alimentaires. Le régime de base doit être disponible à satiété.

Durant la période de 72 heures qui précède la début de l'essai, on doit surveiller l'état de santé de la population considérée. On note la mortalité et on applique les critères suivants :

- mortalité supérieure à 5 pour cent de la population, pour raison de mauvaise santé ou pour des causes inconnues : rejet du groupe entier ;
- mortalité inférieure à 5 pour cent de la population : acceptation de la population pour les essais.

• Animaux d'expérience

Choix des espèces

Pour cet essai, on peut utiliser une ou plusieurs espèces. L'espèce doit être choisie en fonction des objectifs pour lesquels l'essai est réalisé. Il est préférable de baser le choix sur l'expérience acquise en matière d'élevage et d'essais en laboratoire. Les oiseaux doivent être en bonne santé et exempts de toute malformation apparente. Les espèces d'oiseaux recommandées

**« Oiseaux, Essai de Toxicité Liée au Régime
Alimentaire »**

pour les essais sont données dans le Tableau 1. Si on utilise d'autres espèces, la méthode d'essai doit être adaptée de façon à fournir des conditions d'essai appropriées.

Les oiseaux cités dans le Tableau 1 sont faciles à élever et sont largement disponibles tout au long de l'année. Les oiseaux peuvent être achetés ou élevés depuis le stade d'œuf. Les oiseaux achetés doivent être reconnus exempts de maladies des oiseaux, telles que l'aspergillose, la maladie de Newcastle, la pullorose, etc., ou doivent être issus d'une souche exempte de ces maladies.

Tous les oiseaux utilisés dans l'essai et ceux des groupes témoins doivent appartenir à une même population d'origine connue. La différence d'âge ne doit pas dépasser un jour, du moins quand on utilise des poussins âgés de 10 à 17 jours.

Conditions d'encagement et d'alimentation

Les conditions du milieu ambiant sont les mêmes pour la période de maintien et pour la période d'essai, sauf que durant la première période, l'on ne donne pas de substance d'essai dans la nourriture. Des conditions de milieu ambiant spécifiques aux espèces sont indiquées dans le Tableau 1. Les conditions générales suivantes doivent être maintenues : eau propre disponible à satiété ; 12 à 16 heures de lumière par jour ; 5 à 10 oiseaux par cage, excepté pour les pigeons qui doivent être encagés individuellement ; une bonne ventilation.

On doit éviter toute perturbation qui pourrait altérer le comportement des oiseaux.

« Oiseaux, Essai de Toxicité Liée au Régime
Alimentaire »

TABLEAU 1 : Espèces d'oiseaux et conditions de milieu ambiant recommandées

Espèces recommandées	Conditions recommandées			
	Température (°C)	Humidité relative (pour cent)	Age (jours)	Espace (cm ² / oiseau)
<i>Anas platyrhynchos</i> (canard colvert)				
Age 0 - 7 jours	32 - 35	60 - 85	10 - 17	600
8 - 14 jours	28 - 32			
>14 jours	22 - 28			
<i>Colinus virginianus</i> (colin de Virginie)				
Age 0 - 7 jours	35 - 38	50 - 75	10 - 17	300
8 - 14 jours	30 - 32			
>14 jours	25 - 28			
<i>Columba livia</i> (pigeon biset)				
Age > 35 jours	18 - 22	50 - 75	56 - 70	2500*
<i>Coturnix coturnix japonica</i> (caille des blés japonaise)				
Age 0 - 7 jours	35 - 38	50 - 75	10 - 17	300
8 - 14 jours	30 - 32			
>14 jours	25 - 28			
<i>Phasianus colchicus</i> (faisan commun)				
Age 0 - 7 jours	32 - 35	50 - 75	10 - 17	600
8 - 14 jours	28 - 32			
>14 jours	22 - 28			
<i>Alectoris rufa</i> (perdrix rouge)				
Age 0 - 7 jours	35 - 38	50 - 75	10 - 17	450
8 - 14 jours	30 - 32			
>14 jours	25 - 28			

* Les pigeons sont engagés individuellement.

**« Oiseaux, Essai de Toxicité Liée au Régime
Alimentaire »**

- Conditions expérimentales

Aliments contenant la substance d'essai

Pour l'essai, un minimum de cinq régimes alimentaires sont nécessaires, chacun contenant des concentrations différentes de la substance d'essai. Chaque concentration doit différer de la suivante par un facteur constant ne dépassant pas 2,0. Pour déterminer les concentrations à utiliser, il peut être nécessaire d'effectuer un essai d'orientation.

Une étude complète utilisant cinq niveaux de dose peut ne pas être nécessaire dans le cas où un essai avec un seul niveau de dose, égal ou supérieur à 5000 ppm, ne fait apparaître aucune mortalité ou autre effet toxique observé.

On prépare les aliments contenant les quantités requises de la substance d'essai en mélangeant de façon uniforme la quantité appropriée de la substance d'essai au régime de base prescrit pour les jeunes oiseaux. La distribution uniforme de la substance d'essai dans la nourriture constitue le critère permettant de choisir la méthode de mélange. Pour assurer une distribution uniforme, on peut utiliser, si nécessaire, un véhicule de faible toxicité pour les oiseaux. Les véhicules ne doivent être présents à plus de 2 pour cent en poids de la nourriture. Si l'on utilise un véhicule pour les oiseaux d'essai, le même véhicule doit être ajouté à la nourriture des oiseaux du groupe témoin. Sont acceptables l'eau, l'huile de maïs ou d'autres véhicules pour lesquels il existe des preuves bien documentées qu'ils n'interfèrent pas avec la toxicité des substances d'essai.

- Exécution de l'essai

Dans l'essai on utilise deux groupes témoins et au moins cinq groupes soumis à des concentrations différentes de la substance d'essai dans la nourriture. Chaque groupe est composé de dix oiseaux. Les aliments témoins doivent être disponibles à satiété. L'usage d'une médication prophylactique ou d'autres produits chimiques doit être évité si possible et dans le cas contraire il doit être mentionné.

**« Oiseaux, Essai de Toxicité Liée au Régime
Alimentaire »**

La durée minimale de l'essai est de huit jours : cinq jours d'alimentation d'essai, suivis de trois jours d'alimentation normale. Si des décès surviennent le 7^{ème} jour ou le 8^{ème} jour, ou si des signes de toxicité persistent le 8^{ème} jour et ne sont pas nettement en régression, l'essai doit être poursuivi jusqu'à ce que deux jours consécutifs se passent sans aucun décès et que l'on soit assuré que les oiseaux sont en voie de guérison, ou bien pendant 21 jours après le début de l'essai, selon que l'un ou l'autre survient en premier.

Observations

Les observations suivantes doivent être faites au cours de l'essai :

- signes d'intoxication et autres anomalies de comportement : deux fois le premier jour, une fois par jour ensuite
- mortalité : deux fois le premier jour, une fois par jour ensuite
- poids corporels : jours 0, 5, 8 et à la fin de l'essai (s'il est prolongé au-delà de 8 jours)
- consommation de nourriture : entre les jours 0-5, 5-8 et du 8^{ème} jour à la fin de l'essai (si celui-ci est prolongé).

3. RÉSULTATS ET RAPPORT

• Traitement des résultats

La concentration létale médiane (CL 50) peut être déterminée par une méthode d'analyse de probabilité, par d'autres méthodes statistiques appropriées ou graphiquement. Des exemples de méthodes appropriées sont donnés dans le chapitre 4, bibliographie, références (7), (8) et (9). Quand les données le permettent, on détermine, par une méthode appropriée, les limites de confiance à 95 pour cent, et pour s'assurer de la validité des résultats, on effectue un test d'hétérogénéité statistique.

**« Oiseaux, Essai de Toxicité Liée au Régime
Alimentaire »**

Quand les données obtenues sont insuffisantes pour calculer la CL 50 par des méthodes de probabilité (parce que la plupart des résultats correspondent à une absence de décès ou à une mortalité totale) et quand on a employé un rapport géométrique d'espacement entre les concentrations de 2,0 ou moins, on doit, pour déterminer la CL 50, utiliser la concentration la plus élevée qui ne provoque pas de mortalité et la concentration la plus faible qui entraîne une mortalité de 100 pour cent, ainsi que toute donnée sur une mortalité partielle. Des exemples de cette méthode sont donnés dans les références (9), (10) et (11).

Quand la mortalité à 5000 ppm, le niveau de dose le plus élevé recommandé, est inférieure à 50 pour cent et que la CL 50 ne peut pas être calculée, on doit noter que celle-ci est supérieure à 5000 ppm et on doit donner également la concentration sans effet.

- Interprétation des résultats

Si l'on constate que la stabilité ou l'homogénéité de la substance d'essai dans la nourriture ne peut être maintenue, il faut interpréter les résultats avec prudence, et signaler que ceux-ci peuvent ne pas être reproductibles.

- Rapport

Le rapport doit comprendre les informations suivantes :

Substance d'essai : données d'identification chimique.

Animaux d'essai : nom scientifique de l'espèce, souche, âge des oiseaux au début de l'essai (en jours) ; si on utilise une espèce autre que celles recommandées, il faut en donner la justification.

Conditions d'essai :

- conditions d'encagement : type, dimensions et matériau des cages, température à l'intérieur des cages, humidité approximative du local d'essai, photopériode et intensité de la lumière

**« Oiseaux, Essai de Toxicité Liée au Régime
Alimentaire »**

- description du régime de base, comprenant l'origine, la composition, l'analyse des constituants fournie par le fabricant (protéines hydrates de carbone, lipides, calcium, phosphore, etc.), et les suppléments et véhicules éventuels
- régimes d'essai : méthode de préparation des régimes d'essai, nombre des concentrations utilisées, valeur nominale et, quand la mesure est faite, valeur mesurée de chacune des concentrations de la substance d'essai dans la nourriture, méthode analytique utilisée pour déterminer les concentrations réelles, fréquence de réalisation des mélanges et de renouvellement, véhicule (s'il y a lieu), condition de stockage, méthode d'application
- méthodes d'acclimatation et façon dont les oiseaux ont été répartis entre les différentes cages
- pour chaque concentration et groupe témoin, le nombre de cages et nombre d'oiseaux par cage
- fréquence, durée et méthodes d'observation
- le cas échéant, noms des substances toxiques utilisées comme substances de référence et méthodes de préparation des régimes d'essai

Résultats :

- nombre de décès à chaque niveau de dose et dans les groupes témoins
- poids corporel moyen des oiseaux par cage au début de l'essai, à la fin de la période d'exposition et à la fin de l'essai ; poids de chaque oiseau mort au cours de l'essai
- description de tous les signes d'intoxication (par exemple convulsions, léthargie) et autres anomalies de comportement (par exemple interactions inhabituelles avec d'autres oiseaux), comprenant le jour du début, la durée, la gravité (y compris la mort) et le nombre d'oiseaux atteints aux différentes concentrations et dans les groupes témoins, pour chaque jour de la période d'essai

**« Oiseaux, Essai de Toxicité Liée au Régime
Alimentaire »**

- estimation de la consommation de nourriture par cage, grâce à la méthode de la pesée en retour, pendant la période d'exposition et pendant la période suivant l'exposition
- résultats de l'essai d'orientation (s'il a été réalisé)
- valeur calculée de la CL 50, limites de confiance à 95 pour cent, pente de la courbe concentration-réponse, résultats d'un test de qualité de l'ajustement (par exemple méthode de X^2), concentration la plus élevée ne provoquant pas de mortalité et concentration la plus faible entraînant une mortalité de 100 pour cent. Les méthodes statistiques utilisées doivent être décrites ou leurs références données
- tout ce qui paraît anormal au cours de l'essai, toute déviation par rapport aux méthodes ci-dessus et toute autre information intéressante.

4. BIBLIOGRAPHIE

1. U.S. EPA : Registration of Pesticides in the United States - Proposed Guidelines, *Federal Register* 43, No. 132 (July 10, 1978).
2. Toxic Substances Control Act, Section 4 : Five-day Dietary Toxicity Test Standard for Mallard and Bobwhite, Office of Toxic Substances, U.S. EPA, Washington D.C.
3. Pesticides Safety Precautions Scheme, Working Document D5 : Evaluating the Acute Oral and Short-Term Cumulative Oral Toxicity of Pesticides to Birds, Tolworth Laboratory, Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, U.K. (1979).
4. Protocols for Sub-acute Toxicity Test (LC 50-8 days) in Quail and Mallards, Central Institute for Nutrition and Food Research, TNO, Pays-Bas.
5. E.F. Hill, R.G. Health, J.W. Spann and J.D. Williams, Lethal Dietary Toxicities of Environmental Pollutants to Birds, U.S. Fish and Wildlife Service, Special Scientific Report - Wildlife No 191, Washington, D.C. (1975).

**« Oiseaux, Essai de Toxicité Liée au Régime
Alimentaire »**

6. National Research Council : Coturnix. Standards and Guidelines for the Breeding, Care, and Management of Laboratory Animals, U.S. National Academy of Sciences, Washington, D.C. (1969).
7. D.J. Finney, *Probit Analysis*, 3rd ed., Cambridge University Press, London (1971).
8. J.J. Litchfield and F. Wilcoxon, *J. Pharmacol. Exper. Ther.* 96, 99-113 (1949).
9. C.E. Stephan, in *Aquatic Toxicity and Hazard Evaluation* (edited by F.L. Mayer and J.L. Hamelink), ASTM STP 634, pp. 65-84, American Society for Testing and Materials (1977).
10. W.R. Thompson, *Bacteriological Review* 11, 115-145 (1974).
11. C.S. Weil, *Biometrics* 8, 249-263 (1952).