



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

---

**RÉSUMÉ DES CONSIDÉRATIONS DU GROUPE D'EXPERTS  
DE L'OCDE SUR L'ÉCOTOXICOLOGIE**

Les Lignes directrices pour les essais expérimentaux d'écotoxicologie ont été préparées sous forme de projet par le groupe d'experts de l'OCDE sur l'écotoxicologie (voir la liste des participants en annexe). Les projets ont été présentés en décembre 1979 par le pays pilote (les Pays-Bas) dans un rapport qui contient des considérations détaillées sur les approches du groupe, les objectifs et les principes généraux des essais d'écotoxicologie, ainsi qu'une compilation des méthodes expérimentales existantes. Le texte ci-dessous est un résumé de ces considérations et constitue une information de base pour les utilisateurs des Lignes directrices de l'OCDE pour les essais.

**GÉNÉRALITÉS**

Quelques-uns des principes directeurs utilisés pour la mesure des relations concentration-effet en écotoxicologie peuvent être résumés comme suit :

Une atteinte de la partie vivante d'un écosystème peut affecter à la fois la fonction et la structure de ce système. La fonction inclut les relations complexes à travers lesquelles se maintient l'écosystème. Ceci est possible, cependant, seulement dans la mesure où la base matérielle, c.-à-d. la structure même de ce système, est présente. Dans le fonctionnement des écosystèmes, les relations trophiques mettant en jeu des transferts d'énergie et de substances nutritives dans les cycles naturels, sont primordiales.

A cet égard, du point de vue écologique, la distinction fonctionnelle qui est faite entre organismes producteurs primaires, organismes producteurs secondaires, organismes consommateurs et organismes impliqués dans la décomposition est utile pour visualiser les éléments vivants importants de ces cycles naturels. Les modifications de l'environnement se traduisent, en général, par des changements soit des nombres relatifs soit de la biomasse des éléments de ce système, soit des deux. Les effets biodépressifs (mortalité, diminution de la croissance et de

la reproduction) mais encore les effets biostimulants (effet eutrophique, immigration, etc...) peuvent être dangereux pour l'écosystème et sont donc indésirables.

Le produit chimique étudié est transporté jusqu'au récepteur (le système vivant) par l'eau, l'air ou le sol. A cet égard, la distinction fréquemment faite (et pratique) entre la pollution de l'eau, de l'air et du sol n'a pas de signification écotoxicologique, la nature du moyen de transport étant de faible importance. Cependant, dans la pratique, cette distinction est de la plus haute importance pour évaluer les effets potentiels des produits chimiques puisque pour déterminer ces effets dans chaque milieu, on utilise des méthodes différentes. A ces moyens de transport, on peut ajouter, en tant qu'entité séparée, les « trames alimentaires » (comprenant comme forme simplifiée, la « chaîne alimentaire ») à cause de phénomènes spécifiques tels que la biomagnification et la formation de métabolites de toxicité plus ou moins grande.

Un point de vue global a, dans une certaine mesure, simplifié notre problème, en impliquant que, fondamentalement, on pourrait se limiter à l'étude des relations concentration-effet entre les substances potentiellement dangereuses et des systèmes biologiques représentatifs de certains types fonctionnels de l'environnement. Le tableau 1 donne un résumé de l'importance relative pour l'écosystème des différents secteurs de l'environnement. L'air, l'eau et le sol ne sont pas des entités bien définies ; dans le tableau, les croix ne donnent que des indications approximatives.

**Tableau 1 : Importance relative des compartiments de l'environnement, air, eau et sol en relation avec quelques-unes de leurs propriétés**

	densité en systèmes vivants (habitat)	milieu de transport pour la pollution		dangers pour les populations présentes dus aux produits chimiques	puissard pour la pollution	uniformité globale de composition	dilution
		distance de transport	volume transporté				
air	+	+++	++	+	+	+++	+++
eau	++	++	+++	+++	+++	++	++
sol	+++	+	+	++	+++	+	+

+ léger ; ++ moyen ; +++ important.

D'après ce tableau, on peut observer, par exemple, que leur importance relative varie selon que l'on considère ces secteurs de l'environnement comme un habitat, un moyen de transport ou un puits pour les produits chimiques.

Pour évaluer les effets sur l'environnement, on devrait, théoriquement, prendre en considération l'écosystème en entier ; cependant, pour des raisons pratiques et scientifiques, nous sommes limités à l'analyse des effets sur les sous-systèmes (sauf dans les cas où des études rétrospectives sont possibles).

Une des principales difficultés en écotoxicologie est de décider, quand un changement a été observé, si celui-ci est significatif ou non du point de vue écologique ; ceci peut entraîner des difficultés d'extrapolation. Ce problème est rendu plus difficile à cause de la capacité des systèmes biologiques à réparer les dommages qui leur sont causés et à s'adapter à des conditions défavorables. Du point de vue écologique, les effets irréversibles sont toujours considérés comme des effets de pollution indésirables, mais les effets réversibles peuvent cependant être aussi nuisibles, bien qu'ils puissent être tolérés dans certaines circonstances.

On peut affirmer que toute atteinte de la fonction et de la structure d'un système biologique, en particulier au niveau des communautés, doit être considérée comme un effet de pollution indésirable. De ce point de vue, les effets persistants et/ou irréversibles, sont primordiaux en écotoxicologie. On doit se rappeler que certains effets irréversibles, dangereux pour des organismes individuels, peuvent être moins importants au niveau de la communauté. L'importance écologique d'un effet peut varier largement selon les espèces, en particulier à cause des différences dans le taux de reproduction ou dans la durée du cycle de vie.

Les effets importants comprennent, par exemple, les événements biologiques principaux que sont la germination et la naissance, la maturation, la reproduction et la mort, et qui déterminent finalement la biomasse. D'autres effets tels qu'une altération de la respiration, une augmentation des fonctions oxydases mixtes, des changements de pigmentation, des modifications du comportement, etc..., peuvent être considérés comme des effets secondaires capables d'influencer indirectement des paramètres importants du point de vue écologique.

### « DOSE » EN ÉCOTOXICOLOGIE

Dans les tests toxicologiques on essaie généralement de déterminer les relations dose-effet. Ceci peut être réalisé sur les animaux terrestres en administrant la substance à tester oralement ou par injection. En écotoxicologie aquatique cela est pratiquement impossible, en particulier pour les petits animaux, puisque la substance à tester doit être administrée dans l'eau. Des relations concentration-effet sont donc déterminées en écotoxicologie.

Les relations dose-effet pourraient cependant être étudiées en écotoxicologie aquatique en effectuant des dosages chimiques analytiques de la quantité de produit à tester présente dans les organismes étudiés. Cependant, ceci n'est pas une pratique courante.

En extrapolant les résultats des essais écotoxicologiques, on doit tenir compte du fait que dans l'environnement, le composé à tester peut avoir subi des modifications. Dans la suite de ce texte le mot « dose » sera utilisé pour indiquer des quantités administrées directement à l'organisme d'essai, ou présentes dans celui-ci, alors que les quantités présentes dans le milieu d'essai ou dans l'environnement seront nommées « concentrations dans l'environnement ».

La concentration réelle dans l'environnement dépend, en premier lieu, de la quantité ajoutée, mais elle est largement influencée par les propriétés physico-chimiques du produit chimique et par le milieu de transport particulier mis en jeu (air, eau, sol, chaîne alimentaire) et dans lequel le système biologique se trouve exposé.

Les propriétés physico-chimiques, telles que la volatilité et la solubilité, déterminent la distribution entre les différents secteurs de l'environnement. De plus, le produit chimique peut être modifié par des facteurs de l'environnement, avant même d'atteindre le système vivant qu'il affectera. Des facteurs tels que, la stabilité physico-chimique (résistance à l'oxydation, hydrolyse, radiation, etc...), l'adsorption et la biodégradabilité détermineront la fraction de la concentration initiale dans l'environnement qui aura une action finale dans le voisinage immédiat de ce système vivant.

Finalement, la dose à laquelle un organisme menacé peut être exposé dans un système est influencée de deux façons par les processus de bio-accumulation :

- les concentrations internes des produits chimiques dans les organismes aquatiques sont rarement les mêmes que les concentrations externes, et les substances qui sont facilement absorbées, mais qui ne sont que lentement éliminées ou libérées, peuvent atteindre des concentrations très élevées ;
- les produits chimiques peuvent également atteindre les organismes récepteurs par l'intermédiaire des chaînes et des trames alimentaires ; ceci constitue la voie principale typique pour les animaux terrestres. De la même manière, pour les produits chimiques rapidement absorbés mais seulement lentement éliminés, ceci peut conduire, pour des sites critiques sensibles, à des niveaux d'exposition accrus.

Bien que le phénomène de « biomagnification » par l'intermédiaire de la chaîne alimentaire résultant de la bio-accumulation séquentielle puisse être moins important que ce que l'on considérait habituellement, il s'agit d'un facteur qui doit être pris en considération pour déterminer la « Concentration Prédicible dans l'Environnement » (CPE), un paramètre important pour interpréter les données dérivées des essais de toxicité.

Ces considérations montrent clairement que pour planifier correctement les essais écotoxicologiques, il est souhaitable de disposer de certaines informations-clés sur les propriétés physico-chimiques et sur la persistance du produit chimique étudié, non seulement à cause des problèmes d'interprétation des relations concentration-effet, mais également pour de solides raisons opérationnelles. Par exemple, plusieurs systèmes d'essai différents seront nécessaires pour tester les composés volatils ou hydrophobes. De plus, avant d'effectuer des essais de toxicité (aquatique), il est important de vérifier la biodégradabilité, puisque celle-ci non seulement influence la concentration réelle, mais encore peut parfois conduire à des résultats erronés, par exemple l'appauvrissement en oxygène peut tuer les organismes, alors que le composé n'est pas ou peu toxique. Pour réaliser des évaluations écotoxicologiques, il est donc préférable de collecter de telles informations avant d'effectuer les essais, bien que parfois on préfère dévier de cet ordre logique.

## **TYPES D'ESSAI**

En écotoxicologie, la situation la plus difficile est celle où il s'agit de prédire l'impact de très faibles concentrations d'un produit chimique, présentes pendant de longues périodes, qui affectent des communautés d'organismes et qui sont capables d'entraîner des phénomènes sublétaux touchant plusieurs espèces. Dans des situations aussi difficiles, il serait théoriquement souhaitable d'effectuer des essais chroniques avec des systèmes à plusieurs espèces, mais il n'existe pas de systèmes d'essais normalisés de ce type. En admettant que ce soit possible, cela représenterait un travail énorme de doser tous les produits chimiques de l'environnement de cette façon. C'est à cause de tels facteurs limitants qu'il est généralement admis que l'on doit suivre une méthode en plusieurs étapes, en commençant par des essais simples pour tous les composés, mais en concluant par des essais plus complexes sur plusieurs espèces et sur le terrain pour les quelques composés qui présentent un grand intérêt pratique et qui ont été signalés comme potentiellement dangereux pour l'environnement.

On doit prendre en considération les types d'essai suivants :

- (a) essais à court terme sur une espèce unique ;
- (b) essais à long terme sur une espèce unique ;
- (c) essais sur des systèmes à plusieurs espèces ;
- (d) essais sur des systèmes à infra-organismes (par exemple cultures de cellules ou de tissus).

Il est impossible d'entrer dans les détails de tous ces types d'essais, mais on peut faire les commentaires suivants :

Le premier essai est destiné à fournir des indications sur la nature des effets (sondage qualitatif) et à obtenir une première estimation des domaines de concentration à l'intérieur desquels ces effets se produisent. Ceci signifie qu'en écotoxicologie, on doit théoriquement prendre en considération les effets sur la fonction du système. Si on prend comme critère ultime de fonctionnement correct la biomasse relative des espèces constituant un système, on doit alors se préoccuper des paramètres tels que mortalité, reproduction, assimilation et croissance. Ce sont les seuls paramètres qui peuvent être mesurés de façon fiable et routinière en utilisant les essais disponibles et qui sont interprétables. En écotoxicologie, il peut être préférable d'utiliser

les termes « à court terme » et « à long terme » de préférence aux termes « aigu » et « chronique ».

On doit choisir avec un soin particulier les types d'essais écotoxicologiques afin de s'assurer que dans l'environnement expérimental, les concentrations restent constantes pendant de longues périodes d'essai ; elles doivent, de toute façon, être connues ou vérifiées périodiquement. Pour les organismes aquatiques, on distingue généralement :

- les essais statiques dans lesquels le produit chimique à tester est ajouté en une seule fois au système étudié ; il n'y a pas de débit et le milieu d'épreuve n'est pas changé au cours de l'expérience ;
- les essais semi-statiques dans lesquels le milieu et le composé étudiés sont périodiquement remplacés ;
- les essais dynamiques (en débit continu ou intermittent) dans lesquels le milieu et le composé étudiés sont fournis à l'organisme testé avec un débit et une concentration constants.

Dans une certaine mesure, ce dernier système d'essai simule mieux les conditions naturelles que ne le fait un essai statique ; de plus, on peut être davantage assuré que les concentrations auxquelles l'organisme a été exposé au cours de la période d'essai sont restées constantes.

En passant en revue les types d'essais écotoxicologiques disponibles à l'heure actuelle, il est évident que les essais avec les organismes aquatiques sont nombreux, alors que les essais avec des organismes terrestres sont rares. Puisque la plupart des polluants se retrouvent en fin de compte dans l'eau et, également, pour des raisons pratiques telles que la facilité d'expérimentation, on utilise les animaux aquatiques pour une première indication des effets des produits chimiques sur l'environnement. Cependant, dans une analyse plus détaillée, les organismes vivant dans des habitats terrestres ne doivent pas être négligés.

Au cours des essais écotoxicologiques, pour établir les effets des produits chimiques, on doit tenir compte à la fois de la structure et de la fonction de tout l'environnement vivant concerné. La « structure » est reliée, entre autres choses, aux biomasses relatives des espèces coexistantes, et la « fonction » à la dynamique du cycle géochimique et à la consommation d'énergie.

### SÉLECTION DES ESSAIS APPROPRIÉS

Il n'est pas possible de choisir un petit nombre d'espèces qui puissent être considérées comme représentatives d'un certain groupe taxonomique, si bien que tout choix fait sur cette base ne peut être qu'arbitraire. Un choix basé sur des types fonctionnels différents du point de vue écologique ou physiologique paraît plus approprié. En tenant compte de ceci, on doit insister sur le fait que tous les essais ne servent que de modèles et ont, par conséquent, des défauts. On ne peut pas espérer prédire tous les risques possibles pour l'environnement ; ceci implique qu'une conclusion donnée, on peut l'espérer, conduira à une évaluation correcte dans la majorité des cas.

En écotoxicologie, les réponses des populations et des communautés à une perturbation sont plus importantes que les réponses des individus. Cependant, étant donné que des études chroniques sur des systèmes à plusieurs espèces dans des conditions naturelles ne sont pas encore disponibles, une approche pratique par étapes, commençant par des essais en laboratoire sur des espèces uniques et établissant dans des limites de temps déterminées des relations concentration-effet, s'impose.

Une méthode par étapes pourrait comprendre trois phases : le niveau de base, le niveau de confirmation et le niveau définitif.

Au niveau de base, il faut utiliser des essais simples indiquant les effets possibles sur un petit nombre de types d'organismes fonctionnellement importants. On considère que la fonction écologique est plus importante que toute « représentativité » suggérée d'une espèce particulière pour des secteurs bien définis de l'environnement.

Les essais suivants ont été proposés pour faire partie du niveau de base : « algues, essai d'inhibition de croissance », « daphnies, essai d'immobilisation immédiate et essai de reproduction de 14 jours », « poissons, essais de toxicité aiguë ».

Pour des raisons de sécurité professionnelle et de manipulation du produit étudié, et avant même d'effectuer les essais du niveau de base, il est nécessaire de disposer de consignes de manipulation et d'un résumé de l'évaluation de l'effet des produits chimiques nouveaux pour les humains.

Le groupe d'experts souhaite insister sur le fait qu'à cause de la nature même de la « science » qu'est l'écotoxicologie, la prescription impérative d'utiliser une seule espèce expérimentale de référence pour les essais sur l'environnement est irrationnelle. Agir de cette façon impliquerait une précision qui ne correspond pas à la réalité et serait, de plus, contraire

à la philosophie avec laquelle les systèmes modèles utilisés dans les essais écotoxicologiques ont été conçus.

Une autre raison d'utiliser plus d'une espèce d'épreuve est que la variation, entre plusieurs espèces, de la sensibilité à un type particulier de produit chimique toxique ne coïncide pas nécessairement avec la variation de sensibilité à d'autres types de produits chimiques.

Il n'est pas non plus pratique de prescrire l'utilisation d'une seule espèce d'épreuve dans tous les pays du monde car cette espèce peut ne pas être disponible partout. Le groupe d'experts considère qu'une connaissance et une expérience approfondies des conditions optimales de reproduction des espèces particulières de la zone considérée, et de l'expérimentation avec ces espèces, sont plus importantes qu'une normalisation internationale rigoureuse.

Au niveau de confirmation, on doit utiliser des essais qui fournissent des informations plus complètes si le niveau de base auparavant établi montre qu'il existe un doute quant à l'acceptabilité d'un produit chimique. Ce doute n'est pas nécessairement basé sur les résultats des seuls essais écotoxicologiques. En général, ces essais peuvent être de nature plus compliquée, reliés à des secteurs spécifiques ou auxiliaires de l'environnement. On doit également prendre en considération l'exposition chronique et les voies spécifiques de contamination en s'appuyant sur les propriétés chimiques et le degré de contamination de l'environnement prévisible.

Dans quelques cas spéciaux on peut avoir besoin d'un essai au niveau définitif : par exemple, quand des concentrations notables du produit chimique dans l'environnement sont susceptibles d'être mises en jeu et/ou quand il existe une indication d'un danger possible pour l'environnement. Il peut être nécessaire de déterminer les effets dans des systèmes expérimentaux s'approchant davantage des conditions naturelles, spécialement en ce qui concerne les relations interspécifiques et le fonctionnement des systèmes à plusieurs espèces. A l'heure actuelle, des essais appropriés sur plusieurs espèces ne sont pas facilement disponibles.

## **ASPECTS QUANTITATIFS DES ESSAIS**

Dans les essais écotoxicologiques, il est souhaitable d'obtenir quelques indications sur la gamme des effets auxquels on peut s'attendre. Puisque les produits chimiques peuvent provoquer des effets différents sur des organismes différents à des concentrations distinctes, une simple indication de l'ordre de grandeur peut être suffisante. Il est plus important d'effectuer des essais avec plusieurs espèces d'organismes, appartenant éventuellement à des groupes taxonomiques différents, afin d'obtenir des indications sur la variabilité naturelle, que de réaliser un essai très précis sur une seule espèce d'organisme.

En général, dans les essais écotoxicologiques, on ne peut pas atteindre une très grande précision à cause des variations qui existent naturellement au sein des populations d'organismes. La normalisation des conditions d'essai est en général possible, mais de nombreuses méthodes prétendues normalisées sont hautement arbitraires dans le choix des paramètres qui doivent être normalisés, et ont donc peu d'intérêt d'un point de vue écotoxicologique. Un des paramètres qui paraît être justiciable d'une normalisation est celui qui concerne le degré de variation de l'organisme utilisé ; pour diminuer ce problème on peut utiliser des populations consanguines.

A cause de la variabilité existant à l'intérieur d'une population, les résultats obtenus peuvent être exprimés en termes de probabilité (avec un certain intervalle de confiance) à laquelle le phénomène en question peut se produire.

Cette sorte d'incertitude est inévitable puisqu'elle résulte de la variabilité intrinsèque d'une espèce mais elle peut être traitée statistiquement, et ne doit pas être confondue avec l'incertitude due à une mauvaise expérimentation. Les règles des « Bonnes Pratiques de Laboratoire » (BPL) s'appliquent également aux essais écotoxicologiques.

Dans les essais sur plusieurs espèces, on n'atteindra jamais une haute précision à cause de la nature multifactorielle de la variabilité de tels systèmes et des différentes exigences des espèces d'organismes qui les constituent. On peut, au mieux, atteindre un compromis entre une normalisation expérimentalement possible et une représentation approchée des conditions naturelles. A l'heure actuelle, on admet que ces essais, bien que possibles, exigent une mise au point considérable avant qu'ils puissent être utilisés avec efficacité. Une telle mise au point est bien sûr désirable.

**GROUPE D'ÉCOTOXICOLOGIE DE L'OCDE**  
**LISTE DES PARTICIPANTS**

I. Carruthers*	(Australie)	E.B. van Julsingha	(Pays-Bas)
R. de Borger*	(Belgique)	W.H. Könemann	(Pays-Bas)
L. de Temmerman*	(Belgique)	A.C. ter Thijen*	(Pays-Bas)
J. Klaverkamp	(Canada)	K.I. Johannessen	(Norvège)
E. Scherer	(Canada)	H. Bosshardt	(Suisse)
D.B. Peakall	(Canada)	H. Goldman	(Suisse)
O. Karlog	(Danemark)	V.M. Brown	(Royaume-uni)
V. Miettinen	(Finlande)	P.I. Stanley	(Royaume-uni)
R. Cabridenc	(France)	J. Akerman	(États-Unis)
W. Becker*	(Allemagne)	L. Theoharris*	(États-Unis)
F. Führ*	(Allemagne)	R. Tucker*	(États-Unis)
D. Kayser*	(Allemagne)	C. Walker	(États-Unis)
W. Niemitz	(Allemagne)	R.J. Amavis	(CCE)
B. Schele	(Allemagne)	H. Gysin	(OCDE)
G. Sciecke	(Allemagne)		
D. Calamari	(Italie)	<b>Experts invités</b>	
H. Hikino*	(Japon)	L. Carter	(I.C.I)
H. Katsaura*	(Japon)	J.R. Duthie	(Proctor et Gamble Co.)
M. Kitano*	(Japon)	B. Hamburger	(Bayer A.G.)
J. Myamoto*	(Japon)	H.R. Hitz	(Ciba Geigy A.G.)
S. Myamoto*	(Japon)		
S. Yamamoto*	(Japon)		
D.M.M. Adema	(Pays-Bas)		
J.H. Canton*	(Pays-Bas)		
H.J. Hueck	(Pays-Bas)		
Président du Groupe d'Écotoxicologie			

**Secrétariat**

E.H. Hueck van der Plas (Pays-Bas)

Secrétaire du Groupe d'Écotoxicologie assisté de :

V.L. van der Linden-Mallee (Secrétariat TNO)

T.F. de Boer (Secrétariat TNO)

P.B. Davis (Secrétariat TNO)

A.O. Hanstveit (Secrétariat TNO)

\* N'a assisté qu'à une partie des réunions.

