

CONTRIBUTION À L'ESTIMATION TOXICOLOGIQUE DES SUBSTANCES CHIMIQUES INDUSTRIELLES

B. BARHAD et SULAMITH PALLADE

*Sectia Igiena Muncii, Institutul de Igiena si Sanatate Publica R.P.R.,
Bucaresti, Romina*

La toxicologie industrielle naquit comme discipline à la suite des nécessités pratiques de défense contre l'action nocive sur l'organisme des différentes substances chimiques. Quoique s'occupant largement à l'heure actuelle d'une série de problèmes théoriques de grande importance, une des charges fondamentales qui subsiste encore est constituée par le sujet de ce symposium, c'est-à-dire l'estimation des limites tolérables pour les substances toxiques utilisées en industrie. Nous considérons, comme étant particulièrement utile dans l'étape actuelle des recherches, d'accorder une attention spéciale à la succession des méthodes utilisées et à l'établissement des critères obligatoires pour atteindre ce but. Nous essayerons de synthétiser notre expérience accumulée au cours de plusieurs années et de tirer les conclusions les plus générales en ce qui concerne la possibilité d'estimer les limites tolérables. Nous nous référerons surtout aux substances nouvellement introduites dans l'industrie ou à celles moins connues et moins étudiées au point de vue toxicologique en Roumanie.

Les tests de mortalité permettent d'estimer tout d'abord l'étendue de la zone de toxicité de la substance étudiée. Dans ce but nous employons dans notre laboratoire des concentrations ou des doses progressives pour établir la DL_{100} , la DL_{50} et la dose mortelle minimale. C'est ainsi que les substances volatiles, telles que le buthylate de vinyle¹, la chlorure de chloracétyle², les diverses essences roumaines³, etc., on a utilisé la méthode l'intoxication statique sur la souris blanche de Krawkow; le temps d'exposition a été maintenu en général à 2 h, en faisant varier seulement les concentrations. Pour les substances non volatiles, tel que le superphosphate⁴, pour lesquelles présente d'importance seulement la dose administrée, on a utilisé pour l'intoxication la voie intragastrique au moyen d'une sonde, tandis que pour le nitrobenzène on a eu recours à la voie parentérale⁵.

La DL_{50} est estimée en intégrant les résultats obtenus à l'aide d'une progression de doses d'après la formule proposée par Behrens. En ce qui concerne les substances volatiles, nous avons constaté qu'il est nécessaire de calculer, à part la CL_{50} (concentration léthale, 50 pour cent) pour les 2 h d'exposition à la substance toxique, une CL_{50} pour toute la durée de l'observation. L'expérience acquise par la recherche de la toxicité du chlorure de chloracétyle a montré que, pour ce temps d'exposition, la $CL_{50} = 11,1$ mg/l., tandis que pour tout le temps d'observation (24 h) la CL_{50} est seulement de

5,2 mg/l. Il s'ensuit que la poursuite de la mortalité pendant une certaine période après l'exposition peut réduire la valeur de la DL_{50} et fournir ainsi des indications plus précises sur la toxicité de la substance et pour l'estimation des limites tolérables. Cette conclusion est particulièrement valable pour les substances à action irréversible.

Pour les substances réversibles à action narcotique, telles que le buthylate de vinyle, et, à des degrés variés, les essences roumaines, nous avons établi aussi les concentrations minimales narcotiques, tandis que pour les substances à mode d'action différent, on essayé à établir les doses déterminées par l'apparition des premiers symptômes cliniques. Ainsi, par exemple, le nitrobenzène à la dose de 0,3 g/kg produit un état d'agitation, mais les autres symptômes de l'intoxication apparaissent seulement à une dose plus forte⁶.

Ce procédé permet d'obtenir avec des moyens réduits et dans un court temps des résultats qui peuvent conduire, à la rigueur, à une estimation provisoire sur la possibilité d'utilisation d'une nouvelle substance dans l'industrie. Cela est d'autant plus nécessaire, que le processus d'introduction des nouvelles substances devient particulièrement rapide dans les pays à grand développement de l'industrie chimique. Bien entendu, ces résultats doivent être corroborés d'une manière obligatoire avec des éléments toxiques déjà connus pour d'autres substances ayant des propriétés chimiques semblables.

Pour établir des limites tolérables, il est nécessaire de parcourir une nouvelle étape dans la recherche. Afin de connaître la toxicité intime des substances nous sommes obligés à nous adresser à des méthodes particulièrement variées en rapport avec les propriétés physiques, chimiques et le mode d'action de la substance sur l'organisme. Mais d'aucune façon on ne peut établir des règles en ce qui concerne la priorité d'une méthode sur une autre.

Pour nos recherches nous avons utilisé dans cette étape des méthodes biochimiques, à l'aide desquelles on peut mettre en évidence les modifications premières apparaissant sous l'action des doses minimales des substances toxiques. De nos recherches sur le rôle de la méthémoglobinémie dans l'intoxication nitrobenzénique il ressort, en rapport avec des résultats obtenus par la majorité des auteurs, que la présence et les valeurs de la sulfhémoglobine indiquent d'une façon plus fidèle la gravité de l'intoxication et le pronostic de la maladie. Suivant cette voie on a pu observer que, dans le cas d'une intoxication par une petite dose de nitrobenzène (0,15 g/kg), en absence totale de toute manifestation clinique et avec une méthémoglobinémie variable et de petite dimension, la sulfhémoglobine est constamment présente pour une longue durée et en quantités appréciables.

Il ressort donc que la détermination de la sulfhémoglobine représente un indice important, précoce et persistant pour l'état d'intoxication par le nitrobenzène.

L'élimination du fluor par la voie urinaire au cours de l'intoxication par le superphosphate⁷ nous offre un autre exemple. Nos recherches ont montré que dans le cas d'une intoxication par des petites doses (2 g superphosphate/kg = 45,6 mg F/kg) et en l'absence totale des manifestations cliniques, on peut constater une élimination en quantités appréciables du fluor dans l'urine

ESTIMATION TOXICOLOGIQUE

(1-2000/24 h). L'utilisation des méthodes biochimiques nous a permis de trouver encore d'autres indicateurs de l'état d'intoxication par le superphosphate, comme par exemple l'activité de la phosphatase sanguine⁸, le taux du calcium sérique,⁹ la cholinestérase sanguin¹⁰, et de l'intoxication par le nitrobenzène, comme par exemple la catalase et la peroxydase sanguine^{11,12}.

Les méthodes morphologiques nous ont permis de déceler une série de modifications fines qui nous fournissent des indications précieuses sur l'action des substances chimiques sur les divers organes et systèmes. Dans l'intoxication par le chlorure de chloracétyle ont été mises en évidence des modifications histologiques qui plaident en faveur de l'opinion, s'appuyant sur les tests de toxicité, que l'action de cette substance peut être comparée, en ligne générale, à celle du chlore.

L'importance des méthodes hématologiques en toxicologie est bien connue, mais il faut que le choix des tests traduisant des modifications caractéristiques produites par la substance respective soit précédé par une étude hématologique complexe. Pour connaître les modifications hématologiques qui apparaissent au cours de l'intoxication par le nitrobenzène, on a effectué une étude complexe en recherchant, à l'aide de 16 tests différents, les réactions de la série rouge, de la série blanche, des thrombocytes et de la moelle hématogène¹³⁻¹⁵. On constate la présence de l'anémie fréquemment mentionnée dans la littérature, sans qu'elle soit toutefois de caractère obligatoire. La réticulocytose est par contre très marquée: elle apparaît dans tous les cas, même dans ceux où il n'y a pas d'anémie. On constate aussi une intense leucopénie qui peut être précédée par une phase de leucocytose. Les corps de Heinz, dont la présence est considérée d'habitude comme pathognomonique, apparaissent en grand nombre, mais pas toujours. On peut conclure que dans l'étude de l'intoxication nitrobenzénique il est obligatoire d'utiliser plusieurs tests hématologiques en même temps, pour pouvoir estimer les risques résultant de l'exposition à des doses déterminées.

Les méthodes physiologiques nous fournissent des indications sur les modifications fonctionnelles qui apparaissent à la suite de l'administration des plus petites doses de la substance toxique. Parmi celles-ci les méthodes qui s'adressent au système nerveux central, et particulièrement à l'écorce cérébrale (Lyublina, Katliarevski) nous offrent la possibilité d'établir avec certitude la dose limite tolérable en milieu industriel. En utilisant la méthode de Lyublina dans l'intoxication par le buthylate de vinyle on a établi que la concentration limite qui actionne sur le réflexe de flexion chez le lapin est de 1-1,6 mg/l., tandis que la CL_{50} pour la souris est de 53,75 mg/l., la CL_{50} pour 24 h d'observation de 49 mg/l. et la concentration narcotique 50 pour cent = 27,2 mg/l. L'étude de l'activité nerveuse supérieure par le méthode de Katliarevski a mis en évidence le fait que les concentrations limites des vapeurs de buthylate de vinyle qui provoquent des désordres de l'activité réflexe conditionnée sont même de l'ordre de 0,1-0,7 mg/l.

Selon notre opinion l'étude des doses limites tolérables impose obligatoirement de parcourir la première étape des recherches (DL_{100} , DL_{50} , etc.); en ce qui concerne les méthodes biochimiques, morphologiques et physiologiques nécessaires pour corriger et préciser les données obtenues au cours de cette première étape, elles doivent être utilisées en rapport avec les divers

facteurs énoncés et, par conséquent, doivent être laissées à la discrétion du chercheur.

La composition complexe que présentent beaucoup de substances dans le milieu industriel crée des multiples difficultés en ce qui concerne l'estimation des limites tolérables pour cette catégorie. Nous nous sommes vus obligés de considérer certaines substances comme nouvelles du point de vue de la recherche toxicologique, par exemple le superphosphate ou les essences roumaines. C'est-à-dire qu'il n'est pas justifié d'estimer la toxicité du superphosphate en s'orientant seulement d'après son contenu en fluor, parce que sa structure complexe lui confère une toxicité particulière. De même, la toxicité des essences est différente suivant leur origine géologique et leur structure chimique. On a pu établir dans notre laboratoire une relation étroite entre leur action toxique et leur contenu en hydrocarbures aromatiques¹⁶.

La succession des méthodes exposées jusqu'ici est utilisée d'habitude pour les intoxications aiguës qui présentent l'avantage de nous offrir des résultats rapidement et avec une assez grande exactitude. Mais, tenant compte de la fréquence beaucoup plus grande des intoxications chroniques dans l'industrie chimique, il faut poursuivre des expériences à longue durée pour établir les quantités minimales du toxique qui sont inoffensives même en agissant pendant une période plus longue sur l'organisme. L'investigation de l'action chronique d'une substance doit se baser sur les résultats obtenus à l'aide des méthodes spécifiques utilisées au cours de l'intoxication aiguë.

Des conclusions fermes sur l'estimation des limites tolérables ne pourraient être tirées uniquement des recherches expérimentales. Une étape finale obligatoire est représentée par la vérification des résultats dans les conditions complexes du milieu industriel allant de pair avec une étude clinique et statistique de la morbidité professionnelle. C'est la méthode qu'utilise actuellement notre laboratoire pour l'étude des nitro-amino-dérivés des hydrocarbures aromatiques afin de vérifier les données expérimentales et, finalement, d'établir les limites tolérables par ordonnance législative.

Bibliographie

- ¹ S. Herzog. "Aprecieri igienico-toxicologice privind o nouă substanță chimică întrebuințată în industria de materiale plastice", *Igiena microbiol. și epidemol. (Bucharest)*, **4**, 32 (1954)
- ² S. Herzog. "Cercetări experimentale asupra toxicității clorurei de cloracetil", *Igiena (Bucharest)*, **2**, 135 (1959)
- ³ S. Herzog. "Toxicitatea benzinelor românești", sous presse
- ⁴ Sulamith Pallade, Micaela London, Ana Roventa et I. Grumberg. "Cercetări experimentale asupra toxicității superfosfatului", *Igiena (Bucharest)*, **1**, 80 (1956)
- ⁵ I. Goldstein et Carmen Popovici. "Modificări ale pigmentului sanguin în intoxicația acută experimentală cu nitrobenzen", *Igiena (Bucharest)*, **1**, 10 (1957)
- ⁶ Sulamith Pallade, I. Goldstein, Carmen Popovici et Maria Pafnote. "Actiunea clorpromazinei în intoxicația acută cu nitrobenzen", *Materiale documentare de igiena muncii și patologie profesională (Bucharest)*, p. 111 (1960)
- ⁷ Sulamith Pallade et Ana Roventa. "Eliminarea fluorului în urină în intoxicația acută cu superfosfat", *Igiena (Bucharest)*, **3**, 241 (1959)
- ⁸ B. Nestorescu, Sulamith Pallade et Ana Roventa. "Modificarea activității fosfatazei sanguine în intoxicația experimentală cu superfosfat", *Igiena (Bucharest)*, **1**, 23 (1958)
- ⁹ Sulamith Pallade et Carmen Popovici. "Variațiile calciului și fosforului sanguin în intoxicația experimentală cu superfosfat", *Igiena (Bucharest)*, **2**, 32 (1956)

ESTIMATION TOXICOLOGIQUE

- ¹⁰ Micaela London. "L'action du superphosphate sur la cholinestérase sanguine", *Arch. maladies profess. med. travail et sécurité sociale*, **21**, 1-2, 24 (1960)
- ¹¹ I. Goldstein et Carmen Popovici. "Acțiunea nitrobenzenului asupra activității catalazei sanguine în intoxicația experimentală acută", *Igiena (Bucharest)*, **3**, 215 (1959)
- ¹² I. Goldstein et Carmen Popovici. "Modifications de la catalase et de la peroxidase dans l'intoxication expérimentale au nitrobenzène", *Med. lavoro*, **51**, 1, 42 (1960)
- ¹³ Micaela London, P. Serban et Carmen Popovici. "La valeur des modifications hématologiques pour l'évaluation de la toxicité du nitrobenzène", *Arch. maladies profess. med. travail et sécurité sociale*, **21**, 4-5, 205 (1960)
- ¹⁴ Micaela London et P. Serban. "Aspecte hematologice în intoxicația acută experimentală cu nitrobenzen. II. Modificările globulelor albe și ale trombocitelor", sous presse
- ¹⁵ P. Serban et Micaela London. "Aspecte hematologice în intoxicația acută experimentală cu nitrobenzen. III. Modificările măduvei hematogene și relațiile cu singele periferic", sous presse
- ¹⁶ I. Goldstein et Carmen Popovici. "L'action du 2,3-Dimercaptopropanol (B.A.L.) dans l'intoxication expérimentale au nitrobenzène", *J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol. (Prague)*, **2**, 237 (1958)