

# LES LIMITES TOLÉRABLES DANS LES MILIEUX BIOLOGIQUES: ASPECTS ANALYTIQUES, BIOCHIMIQUES ET PHARMACOLOGIQUES

R. TRUHAUT

*Laboratoire de Toxicologie, Université de Paris, France*

La concentration des substances toxiques dans les atmosphères industrielles est évidemment le facteur à considérer en premier lieu pour apprécier les risques d'imprégnation nocive des sujets exposés et établir des mesures de prévention en conséquence. Mais la détermination de cette concentration, surtout lorsqu'elle reste au voisinage du maximum tolérable, ne saurait suffire à elle seule. Ce qui importe en effet pour le déterminisme des phénomènes toxiques, c'est évidemment, en dehors des variations de sensibilité individuelle, la concentration au niveau des récepteurs sensibles. Cette concentration dépend, certes, de celle réalisée dans le milieu d'exposition, mais aussi des conditions d'absorption pouvant varier, dans d'assez larges limites, en fonction de divers facteurs tenant soit au sujet, soit aux circonstances dont s'accompagne l'exposition toxique, et, en particulier, en dehors de facteurs physiques telle que la température extérieure ou des dimensions des particules dans le cas de solides dispersés sous forme d'aérosols, de la présence dans l'atmosphère considéré, à côté du toxique examiné, d'autres agents chimiques susceptibles d'entraîner des phénomènes de synergie.

Il ne faut par ailleurs pas oublier que, au cours des expositions professionnelles, sont à considérer d'autres voies de pénétration que la voie pulmonaire, et en particulier la voie digestive et surtout, au moins pour les nombreux toxiques industriels liposolubles, la voie cutanée. Il en résulte que, très souvent, même avec des concentrations très basses dans l'atmosphère des lieux d'exposition, s'observe, par suite, par exemple, de contacts avec la peau ou les muqueuses, une pénétration dans l'organisme de quantités largement suffisantes pour déclencher des effets nocifs.

En outre, se pose très souvent aux médecins du travail, la question de savoir si un sujet actuellement non exposé a pu accumuler à l'occasion d'expositions antérieures, une certaine quantité de toxique dont il faut évidemment tenir compte pour apprécier les risques d'une nouvelle exposition.

Pour toutes ces raisons, un grand intérêt s'attache à la détermination de la concentration du toxique dans l'organisme même. L'idéal serait évidemment d'effectuer cette détermination au niveau des récepteurs sensibles. Mais, pour la très grande majorité des toxiques industriels, cela n'est pas réalisable et le chimiste toxicologue doit par suite effectuer ses déterminations

sur une matière biologique plus aisément prélevable dans laquelle la concentration du toxique puisse constituer, dans une certaine mesure, un reflet de celle réalisée au niveau des récepteurs.

Le choix de la matière à analyser constitue donc le problème à examiner en premier lieu dans l'étude des limites tolérables de toxiques industriels dans les milieux biologiques avec, comme corollaire indispensable, la fixation des conditions de prélèvement. On peut y rattacher l'étude des agents mobilisants dont la mise en oeuvre permet, dans certains cas particuliers, de décrocher le toxique des régions de l'organisme où il peut avoir été mis en réserve, provoquant ainsi une augmentation significative de sa concentration aussi bien dans le sang que dans l'urine.

Un deuxième problème résulte du fait que, au moins pour les toxiques organiques, peuvent se produire des transformations au cours du passage dans l'organisme. Il convient alors de rechercher non seulement le toxique originel, mais aussi ses métabolites, d'autant que certains d'entre eux peuvent avoir une grande importance dans l'orientation de la toxicité<sup>275, 314</sup>. De plus, dans certains cas particuliers, le toxique ou ses métabolites peuvent provoquer l'apparition de produits faciles à identifier et constituant ainsi des "épiphénomènes" de l'intoxication dont la caractérisation et le dosage peuvent aider au dépistage de cette dernière.

Ayant choisi la matière biologique à analyser et connaissant le ou les composés à doser, il est essentiel de mettre en oeuvre des méthodes suffisamment sensibles, spécifiques et précises pour obtenir des résultats significatifs. Le choix des méthodes constitue, de ce fait, un problème fondamental.

Il reste enfin à interpréter les résultats obtenus avant leur transmission au médecin du travail. À ce sujet, se pose très souvent, au moins dans le cas des toxiques minéraux, la question des taux pouvant être rencontrés dans l'organisme à l'état normal, c'est-à-dire sans qu'intervienne une exposition au produit toxique.

Ces considérations introductives justifient le plan adopté pour notre exposé, destiné à compléter celui de notre collègue et ami le Professeur Teisinger, qui s'est réservé de traiter les aspects plus spécialement cliniques des problèmes en examinant, parmi les toxiques industriels, le plomb, l'arsenic, le mercure, le cadmium, l'oxyde de carbone, le sulfure de carbone, le trichloréthylène, le benzène, le toluène, l'aniline et le nitrobenzène.

Nous envisagerons donc successivement:

Le choix des matières biologiques à analyser;

L'intérêt de la mise en oeuvre de traitements préliminaires;

L'importance des transformations métaboliques;

Le choix des méthodes analytiques;

Les données biochimiques de base pour l'interprétation des résultats.

## **CHOIX DES MATIÈRES À ANALYSER ET CONDITIONS DE PRÉLÈVEMENT**

Les opérations analytiques du chimiste toxicologue peuvent porter, selon les toxiques industriels envisagés, sur l'urine, les fèces, le sang, la salive ou

l'air expiré et, dans certains cas spéciaux, sur les phanères, le tissu osseux et la moelle osseuse.

Nous envisagerons successivement chacune de ces matières biologiques.

De tous les organes d'élimination, le rein est, de loin, le plus important, et c'est par lui que sont excrétés la plupart des toxiques fixes, minéraux ou organiques. L'étude de l'*urine* dans le dépistage des imprégnations toxiques d'origine industrielle est donc du plus haut intérêt, surtout étant donnée la facilité de son prélèvement. De plus, étant donnée la moindre complexité de ce milieu par rapport aux autres matières biologiques, la recherche des poisons, aussi bien minéraux qu'organiques, y est relativement aisée. Mais, du fait même que l'excrétion urinaire représente un processus d'élimination, on peut prévoir que, dans le cas de nombreux poisons, dits cumulatifs en raison de leur longue rétention dans l'organisme, il soit difficile d'établir une correspondance entre la concentration du toxique dans l'urine et le degré d'imprégnation du sujet. Il en est typiquement ainsi dans le cas du mercure. Cependant, dans le cas du plomb, la détermination des concentrations urinaires est très en faveur<sup>35, 261</sup>. Cette détermination présente également un grand intérêt lorsqu'il s'agit d'apprécier l'élimination de produits de transformation métabolique, tels que les sulfoconjugués formés à partir des phénols résultant de l'oxydation nucléaire du benzène, l'acide trichloracétique et le trichloréthanol formés à partir du trichloréthylène<sup>1</sup>, et le *p*-aminophénol dérivant du nitrobenzène ou de l'aniline<sup>200</sup>. Ces métabolites constituent en effet des indicateurs d'exposition dont l'élimination est d'ailleurs en général retardée par rapport à celle des toxiques originels.

Soulignons ici que tout dosage effectué sur l'urine ne présente de signification réelle que s'il a été exécuté sur un échantillon moyen des urines de 24 h, recueillies dans un récipient propre, conservées en lieu frais et éventuellement additionnées (sauf contre indication particulière) de 1 ml de toluène par litre. L'emploi comme antiseptique de cyanure de mercure ou de sel de sodium de l'acide éthylmercurithiosalicylique (merthiolate de sodium) est évidemment absolument contre indiqué pour les prélèvements d'urine en vue du dosage du mercure.

Les *féces* sont intéressantes à analyser dans le cas des toxiques tels que les métaux lourds (plomb, cadmium, *etc.*) s'éliminant, par suite, au moins en partie, d'une excrétion biliaire consécutive à une fixation hépatique, par la voie intestinale. Mais, si l'on veut obtenir un bilan précis, il convient d'établir des conditions de prélèvements rigoureuses (par exemple, marquage par l'emploi de colorants appropriés des selles correspondant à une période déterminée).

Il est bien connu que certains toxiques peuvent s'éliminer dans la *salive*. Il en est ainsi de substances diffusibles tels que les bromures ou iodures alcalins et l'alcool éthylique, d'alcaloïdes tels que la caféine, les amphétamines, la cocaïne et la quinine, et aussi des métaux lourds tels que le plomb<sup>245</sup>, le mercure, le cadmium, le bismuth<sup>9, 10</sup>, et le thallium<sup>11, 12</sup>. Dans le cas de ces derniers, générateurs de lésions rénales, il semble que l'élimination salivaire, qui s'accompagne le plus souvent d'une part de stomatite, d'autre part d'un liséré gingival caractéristique (liséré gris terne de Burton dans le saturnisme, liséré mercuriel gris, liséré bismuthique gris bleu, bague jaune dentaire du cadmium, *etc.*) provenant sans doute de la

formation de sulfure métallique au niveau de la gencive mortifiée et du tartre dentaire, joue, au moins partiellement, un rôle de suppléance.

Cette élimination n'a guère de conséquences favorables sur le plan biologique, puisqu'une partie des poisons ainsi véhiculés est réabsorbée lors du passage dans le tube digestif. Du point analytique en revanche, la recherche des toxiques dans la salive conduit fréquemment à des résultats intéressants. Ainsi, c'est sur la salive des chevaux de course que l'on recherche les alcaloïdes ayant pu servir au "doping". Dans le domaine de l'hygiène industrielle, l'analyse de la salive peut éventuellement présenter de l'intérêt pour le dépistage de l'imprégnation alcoolique dont on sait qu'elle sensibilise à l'action de nombreux toxiques industriels (sulfure de carbone, solvants halogénés, dérivés nitrés et aminés aromatiques). M. Nicloux<sup>206</sup> avait déjà signalé, dans ses recherches sur l'alcoolisme expérimental, que la salive possédait une teneur en alcool voisine de celle du sang. Le fait a été confirmé entre autres par Friedemann<sup>102</sup>, Abels<sup>1</sup>, Mayer<sup>189</sup>, Vollebruck<sup>301</sup>, et Fabre<sup>84</sup>. Ce dernier a proposé, en 1937, de doser l'alcool dans la salive pour déterminer le degré d'imprégnation éthylique. Ses travaux, effectués en collaboration avec Kahane<sup>81</sup> et Leheuzey<sup>84, 174</sup>, ont montré que le taux d'alcool dans la salive était parallèle à celui présent dans le sang au même moment, avec parfois un très léger excès, n'excédant pas 50 mg/l., provoqué par la présence normale de substances réductrices volatiles dans la salive. Le prélèvement de cette dernière en vue d'un dosage d'alcool doit s'effectuer au moins 20 à 25 min après la dernière ingestion de boisson alcoolique pour éliminer l'influence de l'imbibition buccale; il sera recueilli au moyen d'un entonnoir dans un petit facon bouchant hermétiquement et contenant quelques centigrammes d'acide picrique à titre d'antiseptique.

Normalement la sécrétion salivaire est assez lente, surtout à jeun, et l'on peut avoir quelques difficultés à prélever, sans une trop longue attente, un volume notable, 5 à 10 ml par exemple. Aussi a-t-on proposé de provoquer la salivation par mastication d'une substance inerte: gomme mastic, paraffine ramollie, *etc.*, mais, dans ces conditions, il y a afflux de salive parotidienne qui est très fluide, et l'échantillon ne présente pas les garanties de concentration d'une excrétion normale. Il en est de même, à plus forte raison, pour la sécrétion provoquée par excitation médicamenteuse ou nerveuse réflexe. Pour ne pas introduire d'éléments étrangers, il faut également renoncer à stimuler la salivation au moyen de substances sapides: jus de citron, éther, *etc.* Le procédé le plus commode paraît être d'inviter le sujet à placer dans sa bouche un petit objet inerte, en verre, en os ou en matière plastique, qui facilite la salivation, dont le volume peut alors atteindre 8 à 15 ml en 10 min.

Nous avons cru bon d'inclure tous ces détails dans notre rapport, car il nous semble que, dans bien des cas d'intoxications industrielles, en particulier celles par les métaux lourds, l'analyse de la salive, dont le volume sécrété par 24 h est de l'ordre du litre, pourrait fournir d'utiles indications et que des recherches fructueuses restent à poursuivre dans cette voie. Il faut toutefois bien souligner que, dans les conditions du travail industriel, se produisent très souvent des dépôts de toxique d'origine externe au niveau de l'appareil dentaire—d'où la nécessité d'un brossage minutieux si l'on

veut que les dosages dans la salive conservent toute leur valeur.

Le *sang*, milieu intérieur de l'organisme assurant le transport des toxiques résorbés vers les organes récepteurs, est évidemment très important à considérer pour l'analyste. Il est en général prélevé le matin à jeun, de préférence par ponction veineuse, dans des flacons de verre pyrex à large ouverture, préalablement nettoyés avec du mélange sulfochromique et, après un abondant rinçage à l'eau distillée, soigneusement séchés. Ces récipients doivent être hermétiquement fermés au liège ou par un bouchon rodé, afin d'éviter une concentration par évaporation ou le départ de composés volatils (alcool, solvants, etc.).

La désinfection de la peau au moment du prélèvement ne doit pas être effectuée inconsidérément avec n'importe quel produit. C'est ainsi que, lors de prélèvement de sang en vue de la détermination de l'alcoolémie, l'emploi d'antiseptiques contenant de l'alcool, de l'éther ou, d'une façon plus large, des composés volatils oxydables (formol) est absolument contre-indiqué.

Pour empêcher la coagulation, on fait appel à diverses substances dont la quantité doit être en rapport avec le volume de sang prélevé et dont la nature varie avec le toxique à doser. C'est ainsi que si le fluorure de sodium (à la dose de 0,04 g pour 20 ml) convient pour la détermination de l'alcoolémie, de l'oxycarbonémie et de la benzénémie, il est contre-indiqué pour la détermination de la méthémoglobulinémie, à cause du risque de formation de méthémoglobine fluorée perturbant le dosage spectrophotométrique ultérieur, ainsi que pour celle de la plombémie, à moins d'utiliser un sel vérifié rigoureusement exempt de plomb, difficile à obtenir commercialement. Aussi, dans ces deux cas, préfère-t-on utiliser l'héparine (2 mg pour 20 ml) qui convient également très bien pour la détermination des taux sanguins de solvants chlorés (tétrachlorure de carbone, trichloréthylène). Pour la détermination de la benzénémie, nous conseillons<sup>280</sup> d'éviter l'emploi de seringues risquant de renfermer des traces de matières telles que la vaseline ou l'alcool, le plus souvent souillées de benzène, et de prélever directement le sang (prise d'essai : 20 à 30 ml) dans un tube à bouchon rodé renfermant 0,05 g de fluorure de sodium plus 2 gouttes de solution d'héparine à 5 pour cent et 1 ml d'*huile végétale reconnue exempte de benzène* (l'huile de vaseline est très souvent souillée) dont le rôle est de retenir le benzène en empêchant son évaporation. L'échantillon ainsi prélevé est conservé à la glacière.

Il peut être intéressant d'effectuer des dosages séparés sur les globules rouges et le plasma, car les toxiques peuvent s'y répartir de façon très inégale. Ce fait est bien connu dans le cas de toxiques non industriels tels que, par exemple, les barbituriques ou la quinine, qui s'accumulent préférentiellement dans les globules<sup>21,79</sup>. Il en est de même dans le cas de certains toxiques industriels et tout spécialement du plomb. Si les premières recherches effectuées dans cette direction sur cet élément ont conduit à des résultats divergents<sup>91</sup>, il est actuellement bien acquis, à la suite surtout des travaux de Bambach, Kehoe et Logan<sup>8</sup>, pleinement confirmés par Mortenson et Kellog<sup>197</sup> et par nous<sup>91</sup>, que le plomb est toujours pratiquement localisé presque exclusivement dans les hématies. Dans ces conditions, il est pour le moins surprenant de trouver encore des publications conseillant le dépistage du saturnisme par le dosage du plomb dans le sérum, puisque ce dernier ne renferme que des quantités très faibles de l'ion toxique dont il n'est

pratiquement pas possible d'apprécier, donc d'interpréter, les variations. Quoiqu'il en soit, la fixation globulaire du plomb conditionne certainement, au moins en partie, sa lenteur d'élimination. À cet égard, il n'est pas sans intérêt de rappeler que, sous l'influence du traitement par E.D.T.A.Ca, se produit, ainsi que l'ont observé Bessman et Layne<sup>19</sup> chez l'enfant saturnin et nous-même<sup>91</sup> chez le lapin, une élévation nette du plomb plasmatique traduisant la diffusibilité du plomb chélaté et permettant la décharge urinaire du toxique.

Un autre exemple particulièrement significatif de l'intérêt s'attachant à l'étude de la répartition érythro-plasmatique est celui des chromates, dont l'accumulation au niveau des hématies est même la base d'une méthode de marquage de ces dernières à l'aide de chromate radio-actif ( $\text{Na}_2^{51}\text{CrO}_4$ ) permettant de calculer leur durée de vie<sup>120,47</sup>. Il faut d'ailleurs bien souligner à cet égard que la nature des dérivés du chrome a une importance considérable, puisque, sous forme non plus de chromates mais de sels de chrome,  $\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_3$  ou  $\text{CrCl}_3$  par exemple, ils ne pénètrent pratiquement plus dans les hématies et restent fixés sur les protéines plasmatiques<sup>121</sup>.

Dans le cas des poisons gazeux ou volatils, le principal organe d'élimination est en général le poumon. Aussi les toxiques industriels de cette classe (hydrogène sulfuré, oxyde de carbone, acide cyanhydrique, chloroforme, benzène, éther, alcool éthylique, etc.) se retrouvent-ils dans l'air expiré\*. Des recherches poussées ont été effectuées dans le cas particulier de l'alcool éthylique pour essayer d'établir une correspondance entre la concentration dans l'air expiré et la concentration dans le sang. Elles ont montré que la diffusion de l'alcool du sang vers l'air alvéolaire, au niveau de l'épithélium pulmonaire, s'opérait conformément à la loi générale de diffusion des gaz (loi de Henry), et ont permis de conclure que 2 l. d'air alvéolaire correspondaient, quant à la teneur en alcool, à 1 ml de sang.

Comme l'air expiré est de l'air alvéolaire dilué d'air inhalé, il faut, pour l'application de cette donnée à la détermination de l'imprégnation alcoolique, calculer la proportion d'air alvéolaire. Pour cela, on se base sur le fait que la teneur moyenne de l'air alvéolaire en anhydride carbonique est de 5,5 pour cent, soit 190 mg pour 2 l. Il suffit donc de doser parallèlement l'anhydride carbonique et l'alcool éthylique dans l'air expiré et de calculer la quantité d'alcool éthylique correspondant à 190 mg d'anhydride carbonique, c'est-à-dire à 1 ml de sang<sup>23, 130, 145</sup>.

Des travaux également fort intéressants ont été effectués plus récemment sur les relations entre les concentrations de CO dans le sang et dans l'air expiré. Teisinger<sup>267</sup> cite à cet égard les observations de Roughton<sup>230b</sup> d'après lesquelles 1 ml/m<sup>3</sup> de CO dans l'air expiré correspond à 0,4 pour cent de carboxyhémoglobine et celles de Roubal et Krivicová (*Ceskoslov. hyg.* (1959)), d'après lesquelles le rapport entre le taux de carboxyhémoglobine dans le sang et celui de l'oxyde de carbone dans l'air expiré est linéaire dans la zone au-dessus de 30 ml/m<sup>3</sup> de CO dans l'air expiré. Ces deux auteurs

\* Même certains poisons minéraux s'éliminent partiellement dans l'air expiré. Il en est ainsi, par exemple, du sélénium<sup>49, 68, 137, 240</sup>, et du tellure<sup>115, 193, 222</sup>, qui sont transformés dans l'organisme respectivement en séléniure de méthyle  $\text{Se}(\text{CH}_3)_2$  et tellure de méthyle  $\text{Te}(\text{CH}_3)_2$ , composés volatils s'éliminant par voie pulmonaire et communiquant à l'haleine une odeur aliacée très désagréable et très persistante.

ont, sur ces bases, recommandé la détermination de CO dans l'air expiré comme test d'exposition.

Il reste certainement encore beaucoup à faire dans l'application de l'analyse de l'air expiré au dépistage des imprégnations professionnelles par toxiques gazeux ou volatils. Une des difficultés rencontrées réside dans la conservation des prélèvements. Déjà, Liljestrand<sup>179</sup> avait signalé, lors de l'emploi de ballons de prélèvements en verre en vue du dosage de l'alcool, des pertes provenant de la condensation sur les parois, lorsque comme c'est le cas à peu près général, la conservation n'est pas assurée de façon isotherme. Par ailleurs, l'emploi de ballons de caoutchouc, préconisé par certains auteurs, n'est pas recommandable; la paroi est en effet perméable à de nombreux toxiques volatils, et en particulier à l'alcool et au benzène. Aussi est-il le plus souvent nécessaire d'effectuer le prélèvement direct de l'air expiré avec action immédiate sur le réactif mis en oeuvre.

*Peau et Phanères*—Le rôle de la peau comme organe d'élimination n'est pas encore complètement connu, mais s'avère indéniable dans certains cas particuliers. C'est ainsi que divers auteurs ont signalé l'élimination d'arsenic par la peau considérée indépendamment de ses annexes. En particulier, Cristol, Fourcade et Benezech<sup>53</sup> ont trouvé 0,15 mg d'arsenic par g de fragments de peau provenant d'un malade atteint d'érythrodermie exfoliante consécutive à une intoxication arsenicale, cependant que Pierquin, Abbatucci et Tubiana<sup>218</sup>, utilisant l'arsenic radio-actif <sup>76</sup>As, ont montré, que le traceur se concentrait rapidement (en quelques heures) et électivement dans l'épiderme des malades atteints d'érythrodermie maligne pour atteindre plus tardivement (50ème heure) une teneur encore beaucoup plus élevée dans les squames. C'est ainsi également que Meillère<sup>192</sup> a décelé dans la peau des saturnins une teneur relativement élevée en plomb.

Mais la presque totalité des recherches a porté non sur la peau elle-même, mais sur ses *annexes*. Nous envisagerons tout d'abord à cet égard les travaux concernant l'élimination par les *glandes sudoripares*, glandes réparties sur toute la surface cutanée et dont le nombre serait, d'après Sappey, de l'ordre de deux millions. Il est certain que l'on retrouve dans la *sueur* divers poisons, notamment le fluor<sup>39</sup>, l'arsenic, le bismuth, le mercure et le plomb. C'est à l'élimination sudorale de ce dernier élément que Shields<sup>247</sup> attribue la fréquence moindre des cas de saturnisme à Melbourne pendant la saison chaude, par rapport à la saison froide. À ce sujet, il nous paraît intéressant de signaler les tests de la sueur, préconisés successivement par Alvin *et al.*<sup>4</sup> et par Hennequet *et al.*<sup>138</sup>, tests dans lesquels ces auteurs ayant pour but le diagnostic de la maladie fibro-kystique du pancréas, recueillent sur une gaze préalablement pesée la sueur locale consécutive à l'injection intradermique d'une substance parasymphatomimétique, l'oidure de triméthylfurfurylammonium (Furmethide) pour les premiers, le *p*-toluène sulfonate de triméthylfurfurylammonium (Fasostide) pour les seconds. Ce test inoffensif, à la portée de tout laboratoire puisque ne nécessitant aucun matériel particulier, donne des résultats tout à fait superposables à ceux des tests par stimulation thermique; il serait peut-être intéressant à appliquer en hygiène industrielle pour suivre l'élimination de certains toxiques par la sueur.

L'analyse de la sueur peut être intéressante d'un autre point de vue que celui de l'élimination. Dans le cas du parathion, par exemple, Parmeggiani<sup>212</sup>

a constaté que, chez des ouvriers, exposés à des concentrations dans l'atmosphère ne dépassant pas le maximum généralement admis, et porteurs de gants de caoutchouc pour protéger leurs téguments, on pouvait retrouver, dans la sueur accumulée entre le gant et la peau, des taux de toxique atteignant jusqu'à 30 mg/l. La sueur réalise ainsi une véritable concentration du toxique, d'où résulte la possibilité d'une pénétration cutanée pouvant être à l'origine d'effets nocifs.

D'autres annexes de la peau sont particulièrement intéressantes à considérer: ce sont les phanères, c'est-à-dire les *ongles* et les *cheveux* qui constituent des voies importantes d'élimination pour certains éléments toxiques, spécialement au cours des empoisonnements lents. Sans entrer dans les détails, nous citerons à cet égard les exemples de l'arsenic, du plomb et du thallium, qui, en raison de leurs affinités pour les composés soufrés, ont tendance à s'incorporer aux kératines constitutives des phanères.

Un grand nombre de travaux a été consacré à l'étude de l'élimination de l'arsenic par les phanères, notamment par les cheveux, en vue surtout du dépistage des intoxications à intérêt médico-légal. Après les premières publications de Brestowski<sup>28</sup>, Underhill<sup>291</sup>, Willcox<sup>312, 313</sup>, Leschke<sup>176</sup> et Fonzes-Diacon<sup>97</sup>, il faut surtout citer les recherches plus précises de Van Itallie<sup>292-294</sup>. L'illustre toxicologue hollandais a été le premier à montrer tout le parti que pouvait tirer l'analyste de l'étude de la localisation de l'arsenic en fonction de la longueur des cheveux pour déterminer rétrospectivement, dans la plupart des cas avec une approximation assez satisfaisante, l'époque et la durée d'absorption du poison. Depuis son travail de base, divers auteurs, entre autres Smith<sup>253</sup>, Thomas, Sebruyens et Cuvelier-Blyau<sup>269</sup>, Vitte et Robillard<sup>298</sup>, Vitte<sup>299</sup>, Griffon, Derobert et Clavelin<sup>122</sup>, Derobert et Le Breton<sup>60</sup> et Griffon<sup>124</sup>, ont étudié et confirmé, au moins dans l'ensemble, la validité de ses conceptions, tout en précisant l'importance de divers paramètres. Nous en reparlerons en examinant le problème des concentrations normales de l'arsenic dans l'organisme. Des recherches intéressantes, ont en outre été effectuées par Brustier, Bourbon et Vignes<sup>32</sup>. Ces auteurs ont, dans 4 cas de polynévrites arsenicales humaines, déterminé parallèlement les taux d'arsenic dans le sang et dans les cheveux. Étant donné le petit nombre de cas étudiés, ils n'ont pu encore tirer de leurs résultats des conclusions vraiment générales, mais ils pensent néanmoins avoir entrevu une relation étroite entre l'arséniémie et le taux d'arsenic dans les cheveux. D'après eux, l'arsenic ne passerait du sang dans ces derniers qu'à partir d'un certain taux d'arséniémie, constituant en quelque sorte un seuil, la rapidité de passage au delà de ce seuil étant une fonction croissante de la concentration sanguine en arsenic. Selon les auteurs, pour apprécier la date probable du début d'une exposition toxique, il y aurait lieu de tenir compte des valeurs comparées des taux d'arsenic dans le sang et les cheveux. Par exemple, une forte arséniémie (1 mg/kg) accompagnée d'un taux relativement peu élevé d'arsenic dans les cheveux serait le signe d'une absorption récente du poison, cependant qu'une arséniémie faible (0,4 mg/kg) associée à un taux élevé d'arsenic dans les cheveux (1 mg/kg) indiquerait une intoxication ancienne. L'étude dans le temps de la variation de ces taux permettrait en outre de dire si le sujet examiné est toujours en contact avec le toxique.



## LIMITES TOLÉRABLES DANS LES MILIEUX BIOLOGIQUES

Pour en terminer avec l'arsenic, nous rappellerons que la détermination de la teneur des ongles en cet élément peut également fournir d'utiles indications. Ne dépassant pas 400 µg pour 100 g chez les sujets normaux, elle peut atteindre jusqu'à 30 mg pour 100 g dans les intoxications subaiguës ou chroniques. L'arsenic se localise alors plus particulièrement dans les bandes blanches décrites par Mees qui constituent un signe classique de l'intoxication arsenicale chronique.

Le passage du plomb dans les phanères au cours de l'intoxication chronique par ce métal a été démontré, entre autres, par Meillère<sup>192</sup>, qui a trouvé, chez des saturnins morts en pleine période d'intoxication, des taux de 50 à 550 mg pour 100 g dans les poils des aisselles et du pubis et de 20 à 270 mg pour 100 g dans les cheveux (parallèlement 60 à 180 mg dans les dents, 1,8 à 9 mg dans le foie, 0,6 à 3,5 mg dans le rein, 0,2 à 4,4 mg dans la peau, 0,4 à 2,5 mg dans les côtes et les cartilages costaux). Cette élimination par les phanères est, de même que l'élimination salivaire, considérée en général comme une conséquence de l'altération du filtre rénal entravant l'élimination normale du toxique par l'urine.

D'autres métaux lourds s'éliminent également par les poils. Il en est ainsi du thallium, ainsi que nous avons pu le démontrer en étudiant spectrographiquement les localisations et l'élimination des sels thalleux au cours de l'intoxication à long terme chez le lapin et chez le rat<sup>273, 274, 287</sup>. En collaboration avec Blanquet et Capot<sup>281-283</sup>, nous avons confirmé cette localisation en injectant à des rats nouveaux-nés du thallium radioactif <sup>204</sup>Tl que nous avons retrouvé dans les poils au moment de leur pousse, cependant que, chez le lapin, nous avons pu, confirmant ainsi les constatations de Thyresson<sup>270</sup>, apporter la preuve autoradiographique de l'accumulation de cet élément à la base du poil, au niveau du follicule pileux, accumulation d'un grand intérêt pour la compréhension des effets alopeciantes qui constituent un des signes pathognomoniques de l'intoxication subaiguë ou chronique par le thallium.

Le cadmium également s'accumule dans les phanères ainsi que nous l'avons démontré en étudiant, avec Boudene<sup>276</sup>, l'intoxication chronique chez le lapin. Nous avons confirmé cette localisation chez les sujets exposés à l'inhalation de poussières d'hydrate de cadmium dans la fabrication des accumulateurs dits " alcalins ". Examinant les poils du pubis, nous y avons trouvé jusqu'à 2,86 mg/g de cadmium.

Des éléments autres que les métaux lourds peuvent se retrouver dans les phanères à des concentrations relativement importantes. Il en est ainsi par exemple du fluor, ainsi que l'ont montré les recherches de Fabre et Melle Bazille<sup>80</sup> concernant la localisation du fluor au cours des intoxications aiguës et surtout des intoxications chroniques chez le lapin. Il en est ainsi également du sélénium dont, d'après Sollmann<sup>256</sup>, on retrouve une importante proportion dans les poils au cours des intoxications chroniques. Ce fait n'est pas étonnant, si l'on rappelle la parenté du sélénium avec le soufre qu'il est susceptible de remplacer dans les acides aminés soufrés (cystine, méthionine).

Toutes ces constatations, prises comme exemples parmi d'autres, nous paraissent démontrer l'intérêt de l'examen des phanères, tout spécialement

des poils, dans le dépistage de certaines imprégnations toxiques d'origine industrielle. Il existe toutefois une cause d'erreur importante: dans les conditions du travail à l'usine, en effet, les toxiques présents dans l'atmosphère, surtout s'ils sont sous forme de poussières, tendent à imprégner les cheveux de façon très tenace, et il est très difficile d'éliminer ces dépôts d'origine exogène. Aussi, pour obtenir des résultats interprétables, est-il nécessaire de procéder à des opérations de nettoyage extrêmement rigoureuses. Nous recommandons de soumettre les échantillons, préalablement soigneusement brossés, à des lavages successifs par l'eau distillée, l'éther, l'alcool à 95°, l'acétone, l'eau distillée, l'acide chlorhydrique à 5 pour cent et encore l'eau distillée (les lavages à l'éther, l'alcool à 95° et l'acétone ont pour but d'éliminer les matières grasses dont la présence tendrait à diminuer l'efficacité des lavages à l'eau et à l'acide chlorhydrique dilué). On peut également prélever des poils protégés contre les pollutions externes, en particulier les poils du pubis.

Dans certains cas, il peut y avoir intérêt à effectuer des prélèvements tout à fait spéciaux. C'est ainsi que, pour le dépistage des intoxications chroniques par le fluor (fluoroses), l'analyse d'un prélèvement osseux, lorsqu'il est possible, fournit des données très significatives. Il est, en effet, connu depuis longtemps que le fluor s'accumule, avant tout, dans les os et les dents qui le fixent grâce à leur haute teneur en calcium<sup>272</sup>. À ce sujet il faut noter avec Cristiani<sup>52</sup> que, pendant la période dite larvée de l'intoxication fluorique, c'est-à-dire celle où les symptômes de l'intoxication ne se sont pas encore manifestés, le fluor a déjà commencé à s'accumuler dans le système osseux. Ce signe de l'intoxication précède tous les autres et, de plus, il est très précoce. Ce fait a une grande importance dans l'étude des fluoroses industrielles, car il permet de déceler l'intoxication à ses débuts. Parmi les autres toxiques susceptibles de s'accumuler dans les tissus osseux et dentaires, il faut citer tous les éléments donnant des phosphates insolubles, en particulier le baryum<sup>94</sup>, le strontium et la plomb.

Un autre prélèvement spécial à envisager éventuellement pour le dépistage des imprégnations toxiques est celui de la moelle osseuse. Ce tissu est, comme on sait, un récepteur fondamental pour un certain nombre de poisons, en particulier pour le benzène et le plomb. Il n'est pas interdit de penser que la recherche de ces toxiques dans un prélèvement par ponction sternale par exemple, puisse présenter de l'intérêt en hygiène industrielle.

Un dernier type de prélèvement peut éventuellement être envisagé. C'est celui des réserves adipeuses où, comme on sait, s'accumulent certains toxiques liposolubles et tout spécialement les dérivés organiques halogénés (D.D.T., méthoxychlore, lindane, chlordane, heptachlore, aldrine, dieldrine, toxaphène, etc.<sup>466, 135</sup>), utilisés dans la lutte contre les insectes vecteurs de maladies infectieuses parasites des plantes cultivées. Les *Clinical Memoranda on Economic Poisons* de l'U.S. Department of Health, Education and Welfare<sup>324</sup> indiquent à ce sujet que les graisses prélevées en toute région du corps conviennent pour l'analyse, mais recommandent plus spécialement les graisses du tissu sous-cutané de la partie antérieure de l'abdomen, dont le prélèvement par biopsie ne nécessite qu'une intervention chirurgicale mineure. La prise d'essai doit être de l'ordre de 2,50 g; elle doit être

déarrassée des débris de peau et des autres portions non lipidiques et pesée après avoir été séchée à l'aide de feuilles de papier. Pour l'envoi au laboratoire d'analyse, on place l'échantillon dans un petit récipient renfermant du tétrachlorure de carbone *pur* comme antiseptique. Lorsqu'il s'agit de doser du D.D.T., on peut faire appel au formol à 10 pour cent.

L'examen des réserves adipeuses peut, à notre avis, se révéler intéressant pour le dépistage des intoxications professionnelles autres que celles causées par les agents chimiques utilisés dans la lutte contre les ravageurs et les parasites des cultures. Nous pensons, en particulier, aux solvants halogénés et aux dérivés nitrés ou aminés aromatiques.

## INTÉRÊT DE LA MISE EN OEUVRE DE TRAITEMENTS PRÉLIMINAIRES

Pour dépister certaines imprégnations toxiques inapparentes chez des sujets soumis à des expositions de longue date, il peut être utile, au moins dans le cas des poisons cumulatifs, de faire appel à des agents dits mobilisants, susceptibles de capter le toxique stocké dans divers tissus (foie, os, *etc.*) en fournissant des combinaisons solubles, aisément diffusibles et, par suite, faciles à éliminer par l'urine. Il en résulte alors une décharge du toxique dans ce produit d'excrétion, permettant à l'analyste d'apporter au médecin du travail des résultats significatifs pour le diagnostic. Tel est le cas pour l'arsenic retenu très longtemps dans l'organisme à la faveur surtout de son affinité pour les groupements *thiols*, qui constitue d'ailleurs l'un des mécanismes fondamentaux de son action toxique. C'est en partant de cette donnée que Peters *et al.*<sup>216</sup> ont préconisé, comme antidote des arsenicaux, le dimercapto-2,3-propanol ou B.A.L., qui débloquent l'arsenic fixé sur les fonctions SH des protéines. Les complexes formés étant solubles dans les liquides aqueux, on pouvait prévoir, *a priori*, une décharge d'arsenic dans les urines. C'est ce qu'ont effectivement constaté Peters *et al.* et, à leur suite, divers auteurs, entre autres Mignolet *et al.*<sup>196</sup>, Heusghem *et al.*<sup>139</sup>, Eagle *et al.*<sup>69</sup>, Chance et Lewy<sup>38</sup>, Clément<sup>43</sup>, Moureau<sup>199</sup>, Hashimoto<sup>134</sup>. Nous-même, en collaboration avec Vitte<sup>278</sup>, avons eu l'occasion de faire des constatations analogues chez un sujet ayant été affecté, pendant plusieurs années, à la fabrication de l'arséniate de calcium, mais ayant quitté son travail depuis environ cinq années. Le test d'arséniurie provoquée par injection de B.A.L. nous a permis de dépister cette imprégnation arsenicale ancienne et d'expliquer certains troubles dont l'étiologie apparaissait obscure.

Il est certain que l'utilisation du B.A.L. doit également présenter de l'intérêt pour le dépistage des intoxications mercurielles (*cf.* à cet égard Hadengue *et al.*<sup>128</sup>).

On l'a également proposé comme agent mobilisant du plomb pour le diagnostic du saturnisme (Ryder *et al.*<sup>234</sup>, Telfer<sup>268</sup>, Vigliani et Zurlo<sup>296</sup>, Preda *et al.*<sup>220</sup>). D'après Preda *et al.*, dans les trois heures qui suivent une injection intramusculaire de 200 mg de B.A.L., se manifeste une plomburie d'autant plus élevée que le sujet a été exposé à un risque saturnin plus franc. Mais, lorsque l'imprégnation toxique professionnelle est discrète, le résultat

du test ne diffère pratiquement pas de celui trouvé chez des sujets témoins\*.

Le phosphate de sodium et les iodures alcalins utilisés par Gray et Belknap<sup>119</sup> et aussi, d'après Preda *et al.*<sup>220</sup>, le citrate de sodium, conduisent à des résultats encore plus irréguliers et, par suite, difficilement interprétables.

En revanche, les substances de la série dite des complexons nous paraissent beaucoup plus intéressantes à mettre en oeuvre. La substance plus utilisée est l'E.D.T.A.CaNa<sub>2</sub> retenue pour ne pas risquer, en provoquant la complexation et, par suite, l'élimination du calcium de l'organisme, de provoquer un état hypocalcique grave pouvant aller jusqu'à la tétanie. Quoique le versénate soit combiné au calcium, la chélation se fait cependant avec le plomb, en raison de la constante de stabilité plus élevée de la combinaison avec ce métal, Foreman<sup>100</sup>, E.D.T.A.PbNa<sub>2</sub>. Cette dernière, étant très soluble dans l'eau, est par suite très diffusible. De ce fait, l'administration du chélateur provoque, comme l'ont montré, entre autres, Belknap et Perry<sup>16</sup>, Rubin *et al.*<sup>231</sup>, Shields et Thoman<sup>248</sup>, Salvini<sup>235</sup>, Vigliani et Zurlo<sup>297</sup>, Bastenier *et al.*<sup>11</sup> et nous-même, en collaboration avec Albahary et Boudene<sup>2</sup>, une décharge de plomb dans l'urine. C'est là la base de ce que nous avons appelé l'épreuve de plomburie provoquée. Nous ne pouvons entrer dans les détails, mais nous pensons que, bien conduit, ce test peut permettre d'objectiver des intoxications saturnines récentes ou anciennes, mais latentes et méconnues, et d'éclairer ainsi par exemple l'étiologie d'une néphrite chronique cryptogénétique. Nous sommes toutefois d'accord avec Teisinger pour souligner que, vu l'insuffisance de nos informations sur la "clearance" de l'E.D.T.A. plombique chez l'homme, il est nécessaire d'interpréter les résultats avec une grande prudence.

L'administration orale du chélateur serait la méthode la plus simple. Mais, ainsi que l'ont montré Foreman et Trujillo<sup>98</sup>, seulement une faible fraction de la quantité de produit ingéré est résorbée, puisque moins de 10 pour cent et souvent même moins de 5 pour cent gagnent les tissus par voie sanguine. Dans ces conditions, l'efficacité du traitement ne peut être très grande et, de plus, elle est très irrégulière. Par ailleurs, le chélateur est susceptible d'agir sur le plomb présent dans le tube digestif pour le transformer en complexe diffusible et permettre ainsi sa résorption et l'excrétion urinaire qui en est la conséquence (Sidbury<sup>249,250</sup>). On risque ainsi de conclure à une imprégnation de l'organisme supérieure à ce qu'elle est en réalité. C'est pourquoi il est bien préférable de faire appel à l'administration par voie intraveineuse. La perfusion veineuse est trop délicate à mettre en oeuvre pour être pratiquement applicable. Aussi, personnellement, utilisons-nous l'injection intraveineuse directe d'E.D.T.A.Ca à la concentration de 2,5 pour cent de produit actif en solution isotonique. Nous injectons ainsi 0,50 g de chélateur avec les précautions habituelles à toute injection intraveineuse. C'est dans un temps compris entre la troisième et la

\* D'autres dérivés soufrés manifestent une action mobilisante vis-à-vis du plomb stocké dans l'organisme. Il en est ainsi par exemple de la pénicilline qui, comme l'ont souligné entre autres Mokranjac et Soldatovic (communication personnelle), provoque chez les saturnins une très nette augmentation des taux plomb de dans le sang et l'urine. Ajoutons qu cet antibiotique nous a permis d'observer des décharges urinaires d'autres éléments toxiques et en particulier du mercure et du bismuth. Nous travaillons également dans cette direction avec la pénicillamine, dérivé de la pénicilline douée également d'action complexante vis-à-vis de divers ions toxiques.

dixième heure (le plus souvent voisin de la sixième heure) après l'injection intraveineuse que le taux de plomburie atteint son maximum dans les cas que nous avons étudiés. Comme ce temps varie selon les sujets, il est préférable d'étudier systématiquement les urines des 10 h qui suivent l'injection. Selon nous, cette marge suffit amplement. Les plomburies les plus fortes s'observent en général chez les sujets qui, selon toute vraisemblance, sont les plus imprégnés. Mais, d'autres facteurs ne sont pas à négliger, notamment l'époque de l'imprégnation plombique. Si cette dernière est ancienne, les sujets paraissent mieux résister à l'épreuve de mobilisation et donner lieu à des éliminations moins élevées, moins rapides et plus étalées. C'est pourquoi l'allure de la courbe de plomburie est intéressante à considérer. En ce qui concerne l'interprétation des chiffres, nous estimons qu'une plomburie égale ou supérieure à 800  $\mu\text{g/l}$ . est un argument certain en faveur du diagnostic de saturnisme.

Teisinger et Srbova<sup>266</sup> ont proposé d'administrer E.D.T.A.Ca par aérosol. Ils estiment obtenir une mobilisation qui multiplie la plomburie par 2 à 6. Nous confirmons l'opinion de ces auteurs quant à l'efficacité (pour une dose de 1 g de produit actif en suspension à 20 pour cent nébulisée en 20 à 30 min), de cette forme d'administration qui permet de réaliser une bonne épreuve de plomburie provoquée en milieu industriel. Les résultats risquent toutefois d'être difficiles à interpréter chez des sujets exposés à l'inhalation de fumées ou de poussières plombifères, car on risque de confondre le plomb déposé sur les muqueuses respiratoires avec celui déjà stocké dans l'organisme. Cette réserve faite, on peut, à notre avis, fixer le seuil pathologique de l'hyperplomburie provoquée par ce procédé à 400  $\mu\text{g/l}$ . environ. Le transit paraît assez rapide pour qu'on puisse limiter le dosage aux urines des 10 h qui suivent la séance d'aérosol.

En dehors du plomb, d'autres ions toxiques paraissent pouvoir être mobilisés par l'E.D.T.A.Ca. Il en est ainsi, entre autres, du plutonium (Foreman *et al.*<sup>99, 100</sup>) de l'yttrium et de l'américium<sup>325</sup> et du manganèse (Rodier *et al.*<sup>226</sup>, Kosai et Boyle<sup>158</sup> et Maynard<sup>190</sup>). Mais, jusqu'ici, les résultats obtenus s'ils ont prêté à des applications thérapeutiques, n'ont pas, à notre connaissance, été utilisés pour le dépistage des intoxications par ces éléments.

Comme autres agents mobilisants de toxiques industriels susceptibles de s'accumuler dans l'organisme, il faut peut-être citer les sels d'aluminium, qui, d'après Charnot<sup>40, 41</sup>, seraient susceptibles de transformer le fluorure de calcium en fluorure d'aluminium soluble dans l'eau et, par suite, rapidement éliminable par l'urine. De fait, des cobayes, soumis à l'administration de sulfate d'aluminium, présentent une certaine résistance à l'intoxication chronique par le fluorure de calcium. Des observations analogues sur la détoxication des fluorures par les dérivés de l'aluminium ont été faites par Sharpless<sup>246</sup> et Kempf *et al.*<sup>154</sup> Il y aurait peut-être là la base de l'établissement d'un test de fluorurie provoquée et nous poursuivons actuellement des recherches dans ce sens.

Comme agents mobilisateurs utilisés pour l'établissement de tests d'exposition, il faut enfin mentionner l'alcool, que Rejsková et Rejssek<sup>224</sup> préconisent pour faire passer dans le sang le nitrobenzène accumulé dans les réserves adipeuses.

## IMPORTANCE DES TRANSFORMATIONS MÉTABOLIQUES

Lorsqu'une substance toxique pénètre dans l'organisme, elle peut être, avec une vitesse qui dépend de la solidité de sa fixation sur les récepteurs cellulaires, éliminée en nature par les divers émonctoires (rein, intestin, glandes salivaires, glandes sudoripares, phanères, *etc.*). Mais, le plus souvent, elle subit, au moins partiellement, des transformations métaboliques. L'étude de ces dernières est capitale, non seulement du point de vue biologique, en raison du fait que les mécanismes des actions toxiques, particulièrement celles à long terme, sont souvent conditionnés par les transformations subies au cours de leur passage dans l'organisme par les substances qui en sont responsables, mais encore, et c'est ce qui nous intéresse plus particulièrement dans ce rapport, du point de vue analytique. Les déterminations qualitatives et quantitatives dans les matières biologiques, en vue du dépistage des intoxications, doivent en effet porter non seulement sur les poisons sous la forme même où ils ont été absorbés, mais également sur celle des dérivés résultant de leur métabolisme.

Les études dans cette direction ont été, pendant longtemps, fort négligées, par suite surtout des difficultés d'isolement et d'identification des métabolites éventuels. Dans ces 20 dernières années, sont heureusement apparues des techniques fines, telles que la chromatographie sur papier et l'utilisation des éléments marqués (isotopes stables ou radioactifs), qui, combinées avec des méthodes de séparation perfectionnées (extraction à contre-courant, électrodialyse), la mise en oeuvre de préparations enzymatiques ( $\beta$ -glucuronidases, sulfatases), la spectrophotométrie d'absorption et, dans certains cas, l'examen cytochimique, ont déjà permis de faire progresser considérablement nos connaissances dans ce domaine.

Il ne saurait certes être question de faire un inventaire, même sommaire, des résultats acquis dans cette direction dans le cas des toxiques industriels. Aussi, nous bornerons-nous à présenter quelques exemples significatifs de transformations métaboliques subies par certains toxiques industriels, choisis parmi les plus importants, renvoyant pour une bibliographie plus complète aux mises au point déjà parues sur cette question fondamentale (*cf.* entre autres Williams<sup>341</sup> et Truhaut<sup>275</sup>).

Le cas du benzène est trop connu pour que nous insistions. Sa transformation en composés phénoliques, et tout spécialement en phénol, par oxydation nucléaire, est capitale du point de vue biologique<sup>87</sup>, puisqu'elle paraît bien rendre compte de la différence considérable d'agressivité vis-à-vis de la moelle osseuse entre cet hydrocarbure aromatique et ses homologues supérieurs, le toluène en particulier, qui subit une oxydation dans la chaîne latérale avec production d'acide benzoïque. Sur le plan analytique, elle constitue la base d'un test de dépistage du benzénisme, connu sous le nom de test au phénol, recommandé par Teisinger et Fiserova-Bergerova<sup>265</sup> en 1955. Sa valeur est discutée en détail dans le rapport de Teisinger à ce symposium. Cette production de phénol et aussi, en beaucoup moindres quantités, de pyrocatechol et d'hydroquinol (composés très oxydables dont la présence explique la coloration brune de l'urine souvent constatée chez les sujets exposés au benzène), se traduit, par suite de leur détoxication au niveau du foie par sulfoconjugaïson, associée à la glucuronoconjugaïson,

## LIMITES TOLÉRABLES DANS LES MILIEUX BIOLOGIQUES

par une formation de sulfoconjugués entraînant une augmentation du rapport

### S des sulfoconjugués\*

#### S total

dont la valeur normalement de 0,05 à 0,10, peut s'élever à 0,485. Malheureusement, en dehors du fait que la proportion de benzène déttoxiqué par sulfoconjugaison varie avec les sujets, d'autres causes, alimentaires, médicamenteuses, pathologiques (putréfactions intestinales, affections hépatiques et rénales, *etc.*) ou professionnelles (expositions au cyclohexane ou au cyclohexanol, selon Treon *et al.*<sup>271</sup> et à l'hexachlorocyclohexane technique, selon Teisinger et Fiserova-Bergerova<sup>265</sup>, peuvent provoquer l'augmentation de ce rapport. D'où la nécessité, pour pouvoir faire une interprétation correcte, d'en déterminer la valeur chez les sujets considérés avant l'exposition au benzène. Elkins<sup>76</sup> conseille à cet égard d'effectuer une détermination le lundi matin avant le début du travail hebdomadaire et ensuite au terme de la période d'exposition.

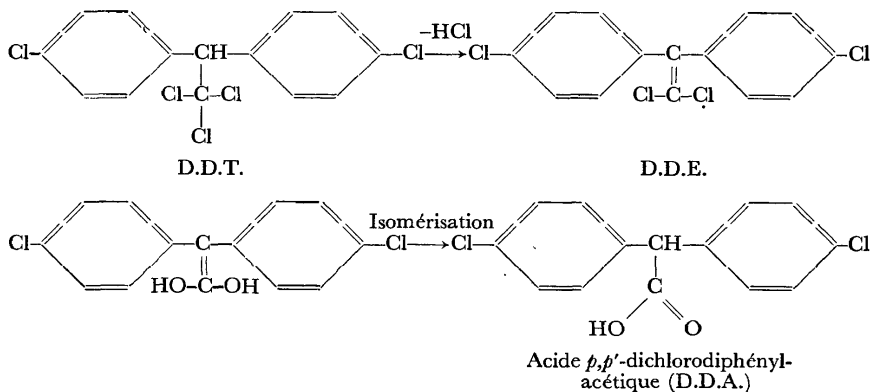
Dans le cas du toluène, Teisinger et Srbova<sup>264</sup> recommandent comme test d'exposition, déjà étudié par Elkins<sup>76</sup>, la détermination de la concentration d'acide benzoïque dans l'urine, tout on soulignant la difficulté d'interprétation résultant des variations relativement considérables des valeurs rencontrées à l'état normal, d'où l'intérêt de pratiquer un test collectif. Nous ne pouvons qu'appuyer cette conclusion, d'autant que la diffusion d'emploi, au moins dans certains pays, de l'acide benzoïque comme conservateur alimentaire<sup>279</sup> constitue une nouvelle cause d'augmentation de la quantité d'acide hippurique ou, pour une faible part, d'acide benzoylglucuronique. Pour la discussion plus détaillée de la valeur du test, nous renvoyons au rapport de Teisinger.

Dans le groupe des solvants chlorés, le cas du trichloréthylène a été examiné en détail dans son rapport par Teisinger, qui a souligné l'importance de sa transformation en trichloréthanol et en acide trichloracétique, métabolites constituant des indicateurs non toxiques d'exposition dont l'élimination s'effectue beaucoup plus lentement que celle du phénol ou de l'acide benzoïque, respectivement formés à partir du benzène ou du toluène. Nous n'y reviendrons pas et nous prendrons comme exemple le chlorphénothane (D.D.T.) ou dichlorodiphényltrichloroéthane, insecticide de réputation mondiale, auquel peuvent se trouver exposés les travailleurs industriels ou agricoles. Bien que renfermant deux restes de chlorobenzène dans sa molécule, il ne subit pas la conjugaison mercapturique, probablement parce que cette dernière ne peut se produire qu'en *para*. Chez les animaux (chien, lapin, poule, rat) auxquels il est administré, on peut caractériser dans l'urine de l'acide *p*-dichlorodiphénylacétique ou D.D.A. (White et Sweeney<sup>310</sup>, Ofner et Calvery<sup>208</sup>, Stohman et Smith<sup>260</sup>, Finnegan *et al.*<sup>95</sup>,

\* On considère également de façon fréquente le rapport S minéral/S organique, qui, d'après Elkins<sup>76</sup>, auquel on doit l'étude détaillée de la valeur du "test aux sulfates" préconisé par l'U.S. Bureau of Mines<sup>238</sup>, oscille normalement entre 80 et 95 pour cent et, en cas d'exposition au benzène, peut s'abaisser jusqu'en-dessous de 40 pour cent. Elkins discute, dans sa publication, la relation entre la valeur du rapport et le taux de benzène dans l'atmosphère des locaux de travail. Il estime que l'exposition à une concentration de 35 ml/m<sup>3</sup> provoque en moyenne un abaissement du rapport de 15 pour cent. Nous renvoyons au rapport de Teisinger pour la discussion de ces données.

Judah<sup>147</sup>. Winteringham *et al.*<sup>316</sup>), retrouvé par Neal *et al.*<sup>202</sup> dans l'urine d'un sujet humain qui s'était soumis volontairement à l'ingestion de D.D.T.

D'après White et Sweeney<sup>310</sup>, le mécanisme de cette transformation serait le suivant:



L'acide *p,p'*-dichlorodiphénylacétique n'est plus insecticide, mais, vis-à-vis de la souris, il serait, d'après Domenjoz<sup>65</sup>, aussi toxique que le D.D.T. tout en provoquant des symptômes différents.

Le D.D.A. a été également identifié, à côté de traces de D.D.E., dans la bile de rats soumis au D.D.T., par Jensen *et al.*<sup>143</sup> qui, examinant parallèlement les fèces, y ont caractérisé, à côté de D.D.E., des métabolites à caractère acide paraissant formés, pour la plus grande part, de formes complexes du D.D.A. Roth *et al.*<sup>230</sup> ont complété ces observations en montrant que, chez des rats soumis à l'administration du D.D.T. marqué au <sup>14</sup>C, 45 à 65 pour cent de l'insecticide pouvait être retrouvé dans le chyle, accompagné d'une certaine proportion de D.D.E.

Ajoutons que, chez les sujets humains exposés au D.D.T., 33 à 78 pour cent des taux de l'insecticide ou de ses dérivés retrouvés dans les réserves adipeuses paraissent être du D.D.E., d'après le comportement chromatographique<sup>186, 213</sup>. Rappelons que ce métabolite a pu être caractérisé également chez les insectes<sup>258, 317</sup>, où sa formation paraît bien constituer un des mécanismes de résistance au produit.

Quoiqu'il en soit, c'est surtout la caractérisation et le dosage du D.D.A. dans l'urine des sujets exposés au D.D.T. qui, en raison de l'élimination progressive et prolongée de ce métabolite et malgré la prédominance de l'excrétion fécale de l'insecticide et de ses métabolites, au moins chez le rat<sup>136</sup>, a retenu l'attention des hygiénistes comme test d'exposition. Grâce à l'établissement d'une technique fine<sup>6</sup>, à laquelle nous reviendrons en étudiant la validité des méthodes de recherche, on peut le considérer comme étant entré dans la pratique courante, au moins pour les laboratoires spécialisés. Pour fixer les idées, il nous paraît intéressant de rappeler sommairement les résultats d'ordre analytique obtenus par Hayes *et al.*<sup>135</sup> dans leur étude expérimentale des effets chez l'homme de l'absorption prolongée de petites doses de D.D.T. pendant des périodes allant jusqu'à 18 mois. Les auteurs ont opéré sur 51 volontaires, 17 soumis à un régime normal, 17 recevant

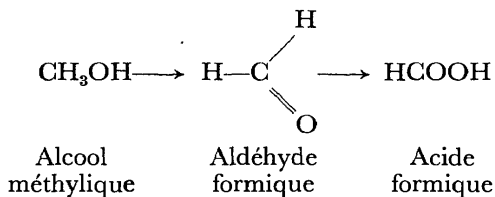


journallement 3,5 mg de D.D.T. et 17 recevant 35 mg, soit sensiblement 0,5 mg/kg. Hayes et ses collaborateurs notent que l'accumulation de l'insecticide dans les tissus adipeux, déjà signalée à maintes reprises soit chez l'animal<sup>165, 166, 237, 326</sup>, soit chez l'homme<sup>135, 157</sup>, et l'excrétion urinaire de son métabolite, le D.D.A., sont proportionnelles à la dose de D.D.T. absorbée, que l'état d'équilibre est atteint après un an environ et que la concentration en D.D.T. dans les tissus adipeux atteint en moyenne 340 mg/kg chez les sujets ayant absorbé de façon prolongée 35 mg de D.D.T. par jour. Ils soulignent par ailleurs que, pendant toute la durée de l'expérience, aucun sujet ne s'est plaint de malaises et n'a manifesté de troubles attribuables à l'ingestion de D.D.T. Considérant spécialement le problème de la pollution des aliments par l'insecticide, ils en tirent la conclusion que les doses normalement présentes dans les denrées consommées sont sans danger pour la santé humaine. De ce point de vue, sans méconnaître la grande valeur des résultats de nos collègues américains, nous ne sommes pas absolument convaincu que, dans le cas de la plus forte dose qu'ils ont expérimentée, des effets nocifs ne risqueraient pas d'apparaître à retardement après l'arrêt de l'absorption du pesticide et, à plus forte raison, si cette dernière est continuée. Il ne faut en effet pas oublier que la manifestation des effets de toxicité à long terme est, comme leur dénomination l'indique, fonction du temps d'observation et peut réserver bien des surprises. Rappelons à ce sujet que, lorsqu'on soumet au jeûne des animaux possédant une teneur relativement élevée de D.D.T. dans leurs réserves adipeuses, la mobilisation de ces dernières peut provoquer l'apparition de phénomènes toxiques. On le comprend si l'on rappelle à titre d'exemple, que le D.D.T. peut, d'après Woodward *et al.*<sup>319</sup>, inhiber le système de la cytochromoxydase du tissu cardiaque à des concentrations de 3 à 30 mg/kg et que, par ailleurs, l'absorption répétée très petites quantités (jusqu'à des concentrations aussi basses que 5 à 10 mg/kg dans le régime, soit une absorption journalière ne dépassant pas 0,1 à 0,2 mg/kg) de D.D.T. peut être à l'origine d'anomalies au niveau du tissu hépatique (apparition de liposphères en particulier) chez le rat<sup>105, 112</sup>, les mâles étant considérablement plus sensibles à cet égard que les femelles d'après Ortega *et al.*<sup>209</sup> Ces considérations nous paraissent importantes pour fixer les limites tolérables pour le D.D.T. et le D.D.A. dans les milieux biologiques, et en particulier l'urine et les réserves adipeuses. Elles s'appliquent d'ailleurs également aux autres insecticides organohalogénés pour lesquels toutefois les données sont beaucoup plus rares dans la littérature toxicologique. Nous pouvons toutefois mentionner la mise en évidence d'une accumulation dans les graisses du méthoxychlore (Kunze *et al.*<sup>162</sup> et des divers isomères de l'H.C.H.<sup>55</sup> Nous rappellerons également les recherches faites par Davidow *et al.*<sup>56</sup> et Radomski *et al.*<sup>221</sup> sur le métabolisme de l'heptachlore, qui est un heptachlorotétrahydromethanoindène, utilisé comme insecticide et présent par ailleurs dans le chlordane technique. Ce produit est, chez le chien et le rat, transformé en époxyde plus toxique qui va rapidement s'accumuler dans les réserves adipeuses. Les auteurs ont donné une méthode de dosage spectrophotométrique qui, si le métabolisme se révèle chez l'homme, identique à celui mis en évidence chez le chien et le rat, pourrait servir à la recherche de l'imprégnation par l'heptachlore chez les sujets humains exposés.

Dans le groupe des alcools, laissant de côté l'alcool éthylique dont l'étude intéresse plus spécialement la toxicologie médico-légale, nous dirons quelques mots de l'alcool méthylique et des glycols.

L'étude de la toxicologie de l'alcool méthylique ou méthanol présente un grand intérêt pour les médecins du travail. Du point de vue de la toxicité aiguë, il est moins nocif que l'alcool éthylique, mais, à doses d'intoxication chronique, il est beaucoup plus dangereux, provoquant en particulier, chez les vernisseurs par exemple, des lésions de névrite optique entraînant une diminution de l'acuité visuelle pouvant aller jusqu'à la cécité. Sa toxicité est certes conditionnée par la lenteur de son élimination. Mais il est probable qu'interviennent en outre les métabolites formés à partir de l'alcool méthylique ainsi accumulé dans l'organisme.

Les recherches effectuées par divers auteurs, en particulier par Pohl (1893), Hunt (1902), Rost et Braun (1926), Leo (1927), Keeser<sup>150</sup> seul ou en collaboration avec Vincke<sup>151</sup> ou Alberty<sup>152</sup>, Lindner et Brieskorn<sup>180</sup>, Bastrup<sup>12</sup>, Lund<sup>182</sup>, Fabre *et al.*<sup>89</sup>, tendent à faire admettre le schéma de dégradation suivant :



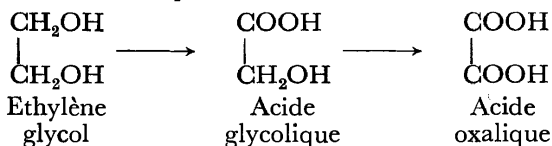
L'acide formique produit est ensuite oxydé plus ou moins vite suivant les espèces. L'intérêt qui s'attache à la connaissance d'un tel processus métabolique est peut-être plus grand encore sur le plan biologique que sur le plan analytique. Si, en effet, c'est à la lenteur d'élimination de l'alcool méthylique, si bien mise en évidence par Nicloux et Placet<sup>207</sup> soulignée également par Bruckner<sup>30</sup> et plus récemment par Bartlett<sup>10</sup> et Leaf et Zatman<sup>173</sup>, que doit être rapportée, pour une grande part, sa nocivité supérieure, à doses d'intoxication chronique, à celle de l'alcool éthylique, il est probable que les produits formés dans son métabolisme conditionnent la nature de certains des symptômes toxiques observés. Parmi ceux-ci, les plus pathognomoniques sont, sans nul doute, les lésions de la rétine et du nerf optique, entraînant une diminution de l'acuité visuelle pouvant aller jusqu'à la cécité.

De tels accidents, fréquemment observés chez l'homme au cours d'intoxications par le méthanol ont été reproduits dans l'expérimentation sur l'animal (*cf.* références citées par Fabre *et al.*<sup>89</sup>). Si certains, comme Egg<sup>74</sup>, McCord<sup>48b</sup>, Weese<sup>309</sup> et Simon<sup>251</sup>, les attribuent à l'action du toxique intact, la plupart des auteurs incriminent ses produits de transformation : formaldéhyde ou acide formique<sup>89</sup>. Roe<sup>228</sup> en particulier rappelle que l'acide formique complexe  $\text{Fe}^{3+}$  et pourrait, par suite, inactiver les enzymes ferrugineux (cytochromoxydase, par exemple) essentiels à la respiration cellulaire, à la carence desquels le tissu rétinien serait particulièrement sensible. À l'appui de cette théorie, rappelons que, d'après Goldschmidt<sup>117</sup>, chez les animaux intoxiqués par l'alcool méthylique, on note une diminution considérable de la consommation d'oxygène par ce tissu. Il persiste toutefois bien des

## LIMITES TOLÉRABLES DANS LES MILIEUX BIOLOGIQUES

obscurités et, en particulier, on s'explique assez mal, dans une telle hypothèse, la toxicité relativement peu élevées des formiates, à moins d'admettre que leur production à l'état naissant au sein même des tissus leur confère une nocivité particulière, ce qui ne cadre d'ailleurs pas avec le rôle de l'ion formique dans le métabolisme intermédiaire révélé par les recherches modernes. Le rôle du formaldéhyde, que nous avons pu récemment caractériser de façon certaine dans l'organisme de lapins intoxiqués par l'alcool méthylique<sup>288</sup>, nous semble plus important. Il exerce d'ailleurs *in vitro* une inhibition de la respiration cellulaire des tissus oculaires beaucoup plus marquée que celle exercée par l'alcool méthylique<sup>289</sup>. Étant données ces considérations d'ordre biologiques, le dosage, ou tout au moins la caractérisation, à côté de l'alcool méthylique, du formol et de l'acide formique, dans les humeurs des sujets exposés, présente un réel intérêt pour l'appréciation de l'imprégnation toxique. Il reste malheureusement encore beaucoup à faire dans ce domaine et en particulier à établir une technique applicable dans la pratique de l'hygiène industrielle. Nous poursuivons actuellement des recherches dans ce sens.

Nous étudierons maintenant deux représentants de la série des glycols : l'éthylène-glycol et le propylène-glycol (isomère 1,2 ou isopropane-diol), utilisés comme solvants des vernis cellulosiques et parfois de substances médicamenteuses. La toxicité beaucoup plus élevée du premier peut très bien s'expliquer par des différences de métabolisme. Il est en effet, partiellement transformé d'abord en acide glycolique, puis en acide oxalique auquel on rapporte généralement les effets nocifs sur l'appareil rénal, hématurie et albuminurie en particulier<sup>87</sup>:



Le second, au contraire, paraît donner naissance à un produit normal du métabolisme des glucides, acide lactique probablement, comme tend à le prouver la formation de glycogène consécutive à la perfusion à travers le foie de chat de sang additionné de propylène-glycol (Newman *et al.*<sup>203</sup>):



Ces données n'ont malheureusement pu encore être appliquées à l'établissement d'un test d'exposition. Une telle application rencontrera d'ailleurs de grandes difficultés, probablement insurmontables, liées à la production de petites quantités d'acide oxalique dans le métabolisme normal, production qui s'intensifie au cours de certains états pathologiques (diathèse oxalique).

Dans le groupe des dérivés nitrés aromatiques, Teisinger a étudié dans son rapport les transformations du nitrobenzène dans l'organisme et souligné, en regrettant l'absence d'un test précis basé sur cette donnée, la production de *p*-aminophénol comme métabolite principal\*. Nous n'y reviendrons pas,

\* Au moment de la correction des épreuves, nous avons eu connaissance des travaux de Piotrowski et Dutkiewicz d'après lesquels, chez l'homme, le nitrobenzène serait, au moins partiellement, éliminé sous forme de *p*-nitrophénol.



variant du rouge vineux au violet permanganate. On peut estimer la sensibilité de la réaction à 1 pour 20 millions pour l'acide picramique et à 1 pour 1 million pour l' amino-2-nitro-4-phénol. Précisons que, à la limite de sensibilité, la teinte est rose.

Dans le même groupe chimique, un grand intérêt s'attache pour les médecins du travail à l'étude des intoxications par le dinitro-2,4-*o*-crésol (D.N.O.C.) (dénommé méthyl-2-dinitro-4,6-phénol dans la bibliographie anglo-saxonne) en raison de sa diffusion d'emploi comme herbicide ou insecticide en agriculture, qui a été à l'origine d'accidents graves chez les ouvriers agricoles, surtout pendant la saison chaude. Smith *et al.*<sup>254</sup> ont démontré que ce produit était transformé en amino-2-nitro-4-*o*-crésol (amino-6-nitro-4-*o*-crésol, selon la nomenclature anglo-saxonne) s'éliminant dans l'urine sous forme de conjugué acétique sur la fonction amine. Il est certain, dans ces conditions, que l'application de la diazo-réaction de Derrien doit se révéler utile pour le dépistage des intoxications.

Dans le groupe des dérivés aminés aromatiques, Teisinger a étudié le métabolisme de l'aniline et formulé les mêmes regrets quant à l'absence d'un test d'exposition précis, basé sur la transformation partielle de l'amine aromatique en *p*-aminophénol. Comme dans le cas du nitrobenzène, nous pensons que la diazo-réaction pourrait être aisément mise en oeuvre et serait d'autant plus utile qu'elle permettrait de différencier l'exposition à l'aniline de celle à ses homologues, toluidines en particulier, dont le métabolisme paraît orienté différemment, bien que nos connaissances sur ce point soient encore très incomplètes. Hildebrandt<sup>140</sup> a indiqué en 1907 que la *p*-toluidine devait être partiellement oxydée en acide *p*-aminobenzoïque; antérieurement d'ailleurs, Jaffe et Gilbert<sup>144</sup> avaient déjà montré la transformation des *m*- et *p*-acétyltoluidines en acides acétylaminobenzoïques correspondants chez le lapin et le chien. La constatation récente, par Druckrey<sup>67</sup>, d'un effet activant de petites doses de *N*-diméthyl-*p*-toluidine sur la croissance du rat, fait également penser à une transformation du même ordre. Toutefois, d'après certains, l'*o*-toluidine serait transformée en *o*-amino-*p*-crésol méthémoglobinisant.

Parmi les amines aromatiques, certaines, et en particulier la  $\beta$ -naphtylamine, la benzidine et l' amino-4-biphényle ou xénylamine, sont susceptibles de faire apparaître, dans certaines conditions, des tumeurs de la vessie. Cette localisation élective de la nocivité traduit l'action de produits d'élimination urinaire avec intervention de transformations métaboliques. Sans entrer dans les détails<sup>275, 276, 285</sup>, nous rappellerons que l'introduction d'un groupe hydroxyle en *ortho* par rapport à la fonction amine primaire, avec formation d'*o*-aminophénols (hydroxyamines), paraît bien constituer la condition indispensable à la manifestation des effets cancérogènes. C'est ainsi que, d'après Clayson<sup>42</sup> et Bonser, Clayson et Jull<sup>24</sup>, la sensibilité des différentes espèces à la cancérisation par la  $\beta$ -naphtylamine serait proportionnelle à leur aptitude à introduire dans le noyau naphthalénique une fonction phénol en  $\alpha$ , d'où la réceptivité du chien et la résistance des autres animaux capables de bloquer la fonction amine par acétylation. Chez l'homme, d'après les résultats de Twombly *et al.*<sup>290</sup> expérimentant avec la  $\beta$ -naphtylamine marquée au <sup>14</sup>C, on retrouve, parmi d'autres métabolites, l'ester sulfurique de l' amino-2-naphtol-1, cependant que, d'après Boyland<sup>25</sup>, peut

être également caractérisé le conjugué glucuronique du même composé. Boyland pense d'ailleurs que les conjugués sulfuriques et glucuroniques formés au niveau du foie représentent des formes de détoxication et que, pour la manifestation des effets cancérigènes, la molécule active, c'est-à-dire l'amino-2-naphtol-1, doit être libérée par action des sulfatases et  $\beta$ -glucuronidases urinaires. Sur ces bases biochimiques, il préconise comme traitement préventif du cancer de la vessie l'administration d'un inhibiteur de la  $\beta$ -glucuronidase, la glucosaccharolactone-1,4.

Toutes ces données sont devenues importantes pour l'analyse depuis l'apparition des techniques de chromatographie de partage sur papier qui permettent de retrouver, dans les humeurs ou les produits d'excrétion des sujets exposés, les métabolites nocifs.

Comme dernier exemple de l'importance des transformations métaboliques pour le dépistage des intoxications professionnelles, nous examinerons le cas du parathion, ou E 605, ester thiophosphorique de diéthyle et *p*-nitrophényle qui constitue l'un des principaux représentants du groupe des insecticides organophosphorés dont l'emploi est très répandu en agriculture. L'exposition à ce produit, susceptible de pénétrer dans l'organisme par les trois voies, digestive, pulmonaire et cutanée, peut se produire, soit au cours de sa fabrication ou de la préparation des spécialités pesticides dont il est le principe actif, soit au cours de ses utilisations comme antiparasitaire en agriculture sous forme de poudres mouillables ou de préparations liquides. On a très vite soupçonné qu'il devait subir des transformations métaboliques, car, ainsi que l'ont montré Diggle et Gage<sup>63</sup> et comme l'a confirmé, entre autres, Ketelaar<sup>155</sup>, le produit, au moins sous forme pure, ne possède qu'une activité anticholinestérasique très minime *in vitro*, alors que, *in vivo*, cette activité est extrêmement marquée. Divers auteurs, entre autres, Myers *et al.*<sup>201</sup>, Gage *et al.*<sup>104, 105</sup> et Metcalf *et al.*<sup>195</sup>, ont démontré que cette augmentation d'activité par passage dans l'organisme, résultait d'une oxydation enzymatique transformant le thiophosphate en phosphate correspondant (paraoxon ou E 600), suivant le schéma :



Cette transformation, dont Davison<sup>59</sup> a précisé les modalités biochimiques, est réalisée *in vitro* par des coupes ou des broyats de tissu hépatique de mammifères<sup>66, 104, 105, 201</sup> et aussi, d'après Kubistova<sup>161</sup>, par le tissu rénal. Elle représente d'ailleurs un mécanisme d'activation retrouvé avec d'autres représentants du groupe des esters phosphoriques anticholinestérasiques et, en particulier, avec l'homologue diméthylrique du parathion ou méthylparathion<sup>8</sup>. Le paraoxon ainsi formé est ensuite hydrolysé en phosphate de diéthyle, dont le sort n'a pas encore, à notre connaissance, été correctement précisé, et en *p*-nitrophénol<sup>106, 177</sup> qui s'élimine rapidement dans l'urine et dont le dosage dans ce produit d'excrétion a été préconisé, entre autres par Mountain *et al.*<sup>198</sup>, Waldman *et al.*<sup>303</sup> et surtout von Eicken<sup>300</sup>, comme test d'exposition. Ce test est d'autant plus intéressant sur le plan

pratique que les symptômes du début de l'intoxication par le parathion sont en général peu apparents et que, d'après Waldman *et al.*<sup>304</sup>, l'apparition du *p*-nitrophénol dans l'urine précède la diminution de l'activité cholinestérasiq ue dont nous parlerons plus loin. Notons, pour en terminer avec le métabolisme du parathion, que, dans l'urine de vaches soumises à un régime renfermant cet insecticide, Pankaskie *et al.*<sup>210</sup> ont pu caractériser du *p*-aminophénol sous forme de *p*-aminophénylglucuronide dont le taux correspondait à environ 10 pour cent du parathion ingéré.

### INTÉRÊT DE CERTAINES MODIFICATIONS BIOCHIMIQUES PROVOQUÉES PAR LES TOXIQUES

Nous prendrons comme exemples à cet égard les modifications que font subir certains toxiques à l'hémoglobine et la diminution d'activité de systèmes enzymatiques fondamentaux que peuvent provoquer certains poisons. Il ne s'agit plus alors de caractériser et de doser le toxique ou ses produits de métabolisme, mais d'utiliser sur le plan analytique leurs effets sur certains constituants ou systèmes normaux de l'organisme.

#### Actions des poisons industriels sur l'hémoglobine

De nombreux toxiques agissent sur l'hémoglobine. On peut les classer en deux grands groupes selon qu'ils fournissent avec elle des combinaisons dans lesquelles le pigment n'est pas dénaturé ou qu'ils provoquent au contraire des altérations de sa structure.

Le type des poisons du premier groupe est l'oxyde de carbone, qui, de même que l'oxygène, mais en manifestant une affinité environ 220 fois plus considérable, se combine avec l'hémoglobine selon une réaction régie par la loi d'action de masse, pour donner la carboxyhémoglobine.

Dans le deuxième groupe, il faut citer tout d'abord les poisons sous l'action desquels l'oxyhémoglobine à fer ferreux perd son oxygène et se transforme en un composé à fer ferrique, la méthémoglobine incapable de fixer l'oxygène et, par suite, d'assurer son transport vers les tissus. Comme exemples de toxiques méthémoglobinisants d'origine industrielle, il faut surtout citer les dérivés aromatiques nitrés (nitrobenzène, *m*-dinitrobenzène, trinitrotoluène, *etc.*) ou aminés (aniline).

D'autres toxiques, dits hématinisants, tels que le chlore ou l'oxychlorure de carbone, sont susceptibles de dédoubler l'oxyhémoglobine en globine et hématine, qui est une ferroporphyrine, donnant par réduction l'hème, qui constitue le groupe prosthétique de l'hémoglobine.

Enfin, certains poisons, dits porphyrinisants, sont susceptibles de provoquer une augmentation marquée des taux de porphyrines présents soit dans les hématies, soit sans l'urine. Pour la compréhension des données concernant ce groupe de toxiques, il nous paraît nécessaire de rappeler que, du point de vue chimique, les porphyrines représentent une vaste famille de corps ayant en commun le squelette fondamental de la porphine résultant de l'assemblage cyclique de 4 noyaux pyrroliques reliés par des ponts méthynes. Il existe de nombreuses variétés de porphyrines différant par la nature et la position des chaînes latérales fixées aux carbones périphériques de la porphine: les plus importantes en physiologie et en pathologie humaines sont:

la protoporphyrine III, présente dans l'hémoglobine et existant normale-

ment en petite quantité (30 à 40  $\mu\text{g}$  pour 100 ml) à l'état libre dans les globules rouges, qui est un acide tétraméthyl-1,3,5,8-divinyl-2,4-porphine dipropionique-6,7;

l'uroporphyrine III, apparaissant dans l'urine en quantité relativement considérable (jusqu'à plusieurs centaines de mg/l.) dans la porphyrie congénitale ou maladie de Gunther, qui est un acide porphine tétraacétique-1,3,5,8 et tétrapropionique-2,4,6,7;

l'uroporphyrine I, apparaissant dans l'urine associée à l'uroporphyrine III dans la porphyrie dite aiguë de l'adulte, qui est un acide porphine tétraacétique-1,3,5,7 et tétrapropionique-2,4,6,8;

les coproporphyrines I et III, existant associées dans l'urine normale à la dose de 50 à 120  $\mu\text{g}$  par 24 h et dans les fèces, à la dose de 250 à 500  $\mu\text{g}$  par 24 h, qui sont respectivement l'acide tétraméthyl-1,3,5,7-porphine-tétrapropionique-2,4,6,8 et l'acide tétraméthyl-1,3,5,8-tétrapropionique-2,4,6,7.

Parmi les toxiques industriels, le plomb constitue un exemple typique d'agent porphyrinisant. À dose d'intoxication chronique, il provoque, en effet, une augmentation marquée de la protoporphyrine III libre des globules rouges et de la coproporphyrine III de l'urine. On pensait autrefois que cette augmentation résultait de la dégradation de l'hémoglobine; elle traduit en réalité une perturbation de la biogénèse du pigment conduisant à une accumulation des deux porphyrines.

Du point de vue analytique, la formation de combinaisons ou de produits de dégradation de l'hémoglobine et l'accumulation de porphyrines sont importantes à prendre en considération. Comme l'hémoglobine, en effet, ces divers composés possèdent des propriétés physiques, et tout particulièrement des spectres d'absorption ou de fluorescence caractéristiques. Leur identification et leur dosage sont ainsi possibles et s'ajoutent à ceux des composés responsables des transformations subies par l'hémoglobine pour le dépistage des intoxications. À cet égard, le dosage de la carboxyhémoglobine et de la méthémoglobine dans le sang constitue, pour les toxiques qui en sont responsables, des tests d'exposition d'un grand intérêt dont le caractère classique nous dispense d'entrer dans les détails.

Il en est de même du dosage des coproporphyrines urinaires pour le dépistage du saturnisme\*. En effet, leur apparition constitue, en général, un symptôme précoce et persistant. Elle n'est malheureusement pas constante, et, par ailleurs, peut se manifester dans différentes circonstances indépendantes de l'exposition au plomb. Nombreux sont, en effet, les états pathologiques s'accompagnant de l'émission de coproporphyrines dans l'urine: maladies hépatiques (ictères, cirrhoses), intoxications professionnelles ou non (bromure de méthyle, aniline et dérivés, sulfamides, barbituriques, *etc.*), maladies du système nerveux (poliomyélite, certaines polyneuropathies), anémies hémolytiques. Desoille *et al.*<sup>62</sup> indiquent même qu'une hypercoproporphyrinurie modérée peut être engendrée par la seule ingestion de boissons alcoolisées ou par une simple poussée thermique. Dans ces

\* Les publications concernant la signification des coproporphyrines urinaires pour le dépistage du saturnisme sont trop nombreuses pour que nous les citions toutes. Voir en particulier<sup>48, 107, 146, 156, 164, 167, 187, 191, 232, 261, 302, 306-308, 322</sup>.



diverses circonstances, les taux de coproporphyrines rencontrés dans l'urine peuvent atteindre 200 à 300  $\mu\text{g}/\text{l}$ ., voire même davantage. Le point important est alors de savoir à partir de quel taux, la présence de coproporphyrine dans l'urine est significative pour le dépistage de l'imprégnation saturnine. Cette question sera discutée dans la dernière partie de ce rapport. Nous tenons en tout cas à bien souligner que le dosage des porphyrines urinaires ne doit pas être pratiqué, isolément, mais associé à d'autres tests d'exposition, et en particulier à la détermination de la plombémie et de la plomburie et surtout à la numération des hématies à granulations basophiles sur les frottis sanguins qui, exécutée selon une technique valable, constitue, d'après la quasi totalité des auteurs, le stigmate biologique le plus précoce et le plus constamment présent dès les premiers temps de l'imprégnation saturnine.

Quant à la détermination de la protoporphyrine libre des globules rouges, sa valeur mise en avant par certains est contestée par d'autres. C'est ainsi que, d'après Desoille *et al.*<sup>62</sup>, l'augmentation du taux des protoporphyrines globulaires manque souvent quand l'agression par le plomb demeure limitée et asymptomatique.

### **Variations d'activité de systèmes enzymatiques fondamentaux sous l'influence de poisons industriels**

Un exemple significatif de telles variations d'activité susceptibles de servir au dépistage des intoxications est fourni par l'inhibition des cholinestérases (cholinestérase vraie des hématies et du cerveau et pseudocholinestérase du plasma) que provoquent, directement ou après transformation dans l'organisme, les insecticides organophosphorés (T.E.P.P., H.E.T.P., parathion, méthylparathion, diazinon, E.P.N., chlorothion, malathion, amiton, thimet, déméton, méthyldéméton, dipterex, schradane, diméfox, mipafox, *etc.*), inhibition qui constitue un des mécanismes de l'action toxique de ces substances conduisant à une accumulation d'acétylcholine. Cette inhibition peut être mesurée avec une précision satisfaisante par toute une série de méthodes dont certaines applicables sur les lieux mêmes du travail industriel ou agricole<sup>168</sup>. Une série de recherches, parmi lesquelles il faut citer, entre autres, celles de Symerford *et al.*<sup>263</sup>, Kay *et al.*<sup>149</sup>, Barnes *et al.*<sup>9</sup>, Williams *et al.*<sup>315</sup>, Sassi *et al.*<sup>236</sup> et de Davies *et al.*<sup>57, 58</sup>, ont été effectuées pour essayer d'établir une relation entre la valeur de cette inhibition et les symptômes cliniques. La principale difficulté résulte du fait que l'activité cholinestérasique sanguine varie normalement dans de larges limites selon les sujets et, par ailleurs, peut être affectée par une mauvaise nutrition, une atteinte hépatique ou certains médicaments<sup>78</sup>. Il est donc nécessaire de mesurer l'activité cholinestérasique sanguine du sujet avant l'exposition et de suivre, au cours de cette dernière, son évolution. On peut également pallier les variations individuelles en pratiquant un test collectif.

D'après beaucoup d'auteurs, aucun symptôme d'intoxication générale n'apparaît avant que l'activité de la cholinestérase sanguine n'ait diminué dans des proportions très importantes. D'après Davies et Nichols<sup>58</sup> en particulier, il faut que cette activité soit, au moins chez l'animal, abaissée jusqu'à 20 pour cent de sa valeur initiale pour qu'apparaissent des symptômes cliniques graves. C'est ce que Davies et Nichols<sup>58</sup> appellent le taux

critique du point de vue clinique. Mais les mêmes auteurs rappellent les résultats de Callaway *et al.*<sup>34</sup> d'après lesquels, lorsqu'on réduit, à l'aide d'anticholinestérasiques, l'activité cholinestérasique du sang total de lapin à la moitié de sa valeur initiale, on constate une réduction significative de la DL<sub>50</sub>, ce qui montre qu'une réduction du taux de la cholinestérase sanguine est l'indice d'une plus grande sensibilité à l'égard de nouvelles doses d'anticholinestérasiques. Il ne faut d'ailleurs pas oublier que l'homme peut avoir une sensibilité différente de celle des animaux d'expérience aux variations d'activité cholinestérasique. À cet égard, Williams *et al.*<sup>315</sup> ont observé des signes d'intoxication pour une diminution de 30 à 40 pour cent des globules rouges et de 10 pour cent de cette du plasma, cependant que pour Kay *et al.*<sup>149</sup>, les premiers symptômes se manifesteraient pour des diminutions de 27 et de 16 pour cent. De leur côté, Sassi *et al.*<sup>236</sup> ont décrit chez les ouvriers d'une fabrique de parathion, des troubles légers s'accompagnant d'une réduction d'environ 30 pour cent de l'activité cholinestérasique du sérum. Peu de travaux ont été effectués sur les rapports entre la concentration de parathion dans l'air et la baisse de l'activité cholinestérasique du sang. Il faut citer à cet égard les recherches de Brown et Bush<sup>29</sup>, d'après lesquelles l'exposition répétée pendant plusieurs mois à des concentrations de parathion dans l'atmosphère de l'ordre de 0,8 mg/m<sup>3</sup> (soit 8 fois la concentration maximum tolérable admise par les hygiénistes gouvernementaux des États-Unis) entraîne une nette réduction de l'activité cholinestérasique (abaissement jusqu'à 40 et même 25 pour cent de l'activité initiale).

Des expériences fort intéressantes pour fixer les rapports entre les doses d'insecticides organophosphorés absorbées et les effets produits, ont été effectuées par Edson<sup>73</sup>. Soumettant des porcs et des rats à l'ingestion prolongée de régimes renfermant de petites quantités de schradane, de diméfox, de mipafox ou de parathion, il a vu que la première réaction décelable était la baisse d'activité cholinestérasique des érythrocytes. Il a noté que les doses journalières nécessaires à sa manifestation variaient selon l'espèce envisagée. Chez le rat, elles sont comprises entre le 1/200 et le 1/700 de la DL<sub>50</sub> des 4 composés étudiés.

Des tests d'ingestion ont été également effectués sur des volontaires humains. L'absorption quotidienne de 1 mg de schradane pendant 44 ours a entraîné une chute de l'activité cholinestérasique du sang total de 20 pour cent pendant toute la période de traitement. Avec une dose de 4,2 mg/jour, pendant 77 jours, la baisse a atteint 70 pour cent après 30 jours et s'est ensuite maintenue à ce taux pendant toute la durée de l'essai, sans que toutefois se soit manifesté aucun symptôme. Après cessation du traitement, l'activité cholinestérasique est remontée de 1 pour cent par jour, en moyenne.

D'autres expériences sur volontaires humains ont été effectuées avec le diméfox et le parathion. Dans le cas de ce dernier, elles ont montré que l'ingestion de 0,021 mg/kg/jour, pendant 10 semaines, ne provoquait aucune modification sensible de l'activité cholinestérasique, cependant qu'à la dose de 0,078 mg/kg/jour, se manifestait une baisse progressive de l'activité cholinestérasique atteignant environ 33 pour cent après six semaines. La

## LIMITES TOLÉRABLES DANS LES MILIEUX BIOLOGIQUES

dose de 0,058 mg/kg/jour paraît être aux alentours du seuil, car son absorption reste sans influence sur la valeur de l'activité cholinestérasique pendant 8 semaines, et c'est seulement dans les deux dernières semaines de l'expérience que se manifeste une légère diminution d'activité.

Toutes ces données nous paraissent importantes à considérer pour fixer aussi bien les limites tolérables du parathion dans les atmosphères industrielles que le taux critique d'activité cholinestérasique du sang.

On peut espérer que les modifications d'activité d'autres systèmes enzymatiques sous l'influence de poisons industriels pourront constituer la base de tests d'exposition analogues à celui de la cholinestérase pour les organophosphorés. À cet égard, nous rappellerons que Ellis *et al.*<sup>77</sup>, Brauer et Root<sup>27</sup> et Crevier *et al.*<sup>51</sup> ont mis en évidence une diminution de l'activité estérasique du sérum des sujets exposés aux solvants chlorés, en particulier le chloroforme et le tétrachlorure de carbone. Partant de ces résultats, Crevier *et al.*<sup>51</sup> ont étudié, chez le rat, l'influence sur les taux d'estérases sériques de l'ingestion de divers composés organohalogénés utilisés comme insecticides (aldrine, dieldrine, chlordane, heptachlore, D.D.T., hexachlorocyclohexane et lindane). Contrairement à leur attente, ils ont mis en évidence une augmentation de l'activité enzymatique. Bien qu'on ignore encore les mécanismes biochimiques et pathologiques conditionnant cette modification, il est souhaitable de pousser les recherches dans cette direction, car il y aurait certainement un grand intérêt à disposer, dans le cas des insecticides organohalogénés, d'un test d'exposition analogue à celui de la cholinestérase pour les insecticides organophosphorés.

## CHOIX DES MÉTHODES ANALYTIQUES

Sur ce point, on pourrait écrire un ouvrage entier. Aussi, nous bornerons-nous à quelques considérations générales. Le choix des méthodes est évidemment dominé en premier lieu par la nécessité de doser des quantités en général très minimes de composés présents, non pas dans les milieux simples comme en chimie analytique classique, mais dans des milieux biologiques dont certains, comme le sang par exemple, ont une composition très complexe. Il faut donc le plus souvent réaliser, dans un premier temps, une séparation plus ou moins sélective du ou des composés étudiés et, dans un deuxième temps, mettre en oeuvre pour le dosage, des techniques dont la sensibilité, la spécificité et la précision soient suffisantes. Ces techniques doivent, en outre, sauf dans des cas spéciaux, être faciles à mettre en oeuvre, de façon à pouvoir être appliquées de façon courante au diagnostic des intoxications professionnelles. Une très grande précision n'est pas indispensable, une approximation de  $\pm 20$  pour cent étant généralement suffisante. Cette notion générale étant bien posée, le choix des techniques dépend évidemment avant tout de la nature des composés à doser. À cet égard, on peut distinguer deux cas principaux, selon qu'il s'agit de substances volatiles ou de substances fixes, ces dernières pouvant être divisées en 2 classes, suivant qu'il s'agit de composés minéraux ou organiques. Nous examinerons successivement ces divers groupes en envisageant pour terminer les problèmes analytiques concernant les épiphénomènes des intoxications dont nous avons parlé.

## Toxiques industriels volatils

Il faut tout d'abord noter l'importance de caractères organoleptiques et tout spécialement de l'odeur que certains d'entre eux, tels que le phosphore d'hydrogène, l'acide cyanhydrique, le nitrobenzène, la pyridine, l'acétaldéhyde provenant de l'oxydation de l'alcool, les dérivés de méthylation du sélénium et du tellure, communiquent à l'haleine des sujets exposés.

Pour le dosage proprement dit, il faut isoler les composés soumis à l'étude en utilisant précisément leur volatilité. Dans ce but, on peut faire appel, dans le cas de l'alcool méthylique, de l'alcool éthylique et de la pyridine par exemple, à une simple distillation. Si le milieu biologique renferme des protéines comme c'est le cas du sang, il convient alors de les précipiter, par addition d'acide picrique par exemple. Naturellement, la quantité de distillat à obtenir doit être telle que tout le toxique puisse être récupéré. Pour favoriser la distillation, il peut être indiqué d'ajouter une quantité suffisante de sels minéraux (sulfate d'ammonium, chlorure de sodium, chlorure de calcium, *etc.*) pour provoquer, par relargage, une séparation du solvant et de la phase aqueuse. C'est une telle solution que nous avons personnellement adoptée dans le cas de la pyridine<sup>88</sup>.

Dans le cas des solvants halogénés et tout spécialement du chloroforme, l'efficacité de la distillation est améliorée en opérant en milieu alcoolique acidifié par l'acide tartrique pour éviter toute décomposition qui résulterait de l'alcalinisation du milieu.

Pour l'isolement de certains toxiques, l'entraînement à la vapeur d'eau, qui permet d'abaisser, parfois de façon considérable, la température de distillation, se révèle une méthode de choix. On peut alors effectuer des séparations intéressantes en opérant successivement en milieu acide (phénol, nitrobenzène) ou alcalin (aniline, nicotine).

L'isolement des toxiques volatils liposolubles (hydrocarbures aromatiques, solvants halogénés, sulfure de carbone, *etc.*) contenus dans le sang pose un problème particulier, car, en raison de leur affinité pour les lipides, ils sont énergiquement retenus et, de ce fait, ne peuvent être isolés par distillation ou par entraînement à la vapeur d'eau. Il faut alors faire appel à l'entraînement par un courant d'air chaud, en opérant, comme l'ont préconisé Fabre et Fabre<sup>86</sup> pour le dosage du benzène dans le sang, à une température inférieure à la coagulation des protéines, c'est-à-dire vers 50–55°. Personnellement<sup>280</sup>, nous avons pu, en diluant le sang au 1/5<sup>ème</sup> avec de l'eau distillée, accélérer l'entraînement et augmenter son efficacité en opérant à une température supérieure pouvant même atteindre 90°. Grâce à la dilution en effet, les protéines sont coagulées sous forme d'un fin précipité et non pas, comme avec le sang non dilué, sous forme d'un pâton risquant de retenir le solvant volatil. Pour éviter la mousse qui se forme toujours dans un milieu riche en protéines, il est indiqué d'ajouter un agent anti-mousse tel que le laurate de calcium ou mieux certains silicones. Il faut se souvenir que certains toxiques risquent d'être oxydés par l'air et, dans ce cas, il est mieux de faire appel pour leur entraînement à un courant d'azote ou de gaz carbonique. Il en est ainsi par exemple de l'aldéhyde formique, par ailleurs très difficile à détecter dans les milieux biologiques en raison de sa fixation sur les groupements aminés des protéines.

Dans certains cas spéciaux, l'isolement du toxique par volatilisation

nécessite un traitement préalable. Il en est ainsi par exemple pour l'oxyde de carbone qui doit être libéré de sa combinaison avec l'hémoglobine par action d'un acide tel que l'acide phosphorique ou l'acide sulfurique dilué. On peut ensuite séparer le gaz libéré soit par extraction à la pompe à mercure, soit plus simplement par microdiffusion selon Conway.

### Toxiques fixes de nature minérale

Un certain nombre d'éléments minéraux communiquent aux molécules qui les renferment la propriété de donner naissance à des effets toxiques chez les êtres vivants en général et chez l'homme en particulier. Cette toxicité peut certes varier avec la nature des dérivés envisagés. C'est ainsi que l'hydrogène arsénié, qui est d'ailleurs non pas un toxique fixe mais un gaz, a, pour une même teneur en arsenic, une toxicité très supérieure à celle des autres dérivés de cet élément auxquels peuvent être exposés les travailleurs. C'est ainsi également que, parmi les sels de baryum, le sulfate est, en raison de son insolubilité dans l'eau et dans les acides dilués, dépourvu de toxicité, alors que les sels solubles sont toxiques. Mais, en dehors de tels exemples qui constituent des exceptions, on retrouve pour les dérivés d'un élément déterminé un certain nombre de symptômes caractéristiques de l'intoxication par l'élément considéré. Leur toxicité est, pour cette raison, souvent qualifiée d'atomique. C'est pourquoi dans la plupart des cas, le problème revient à doser l'élément sans se préoccuper de la nature des dérivés le renfermant qui sont à l'origine de l'imprégnation toxique. Mais les éléments toxiques contractent le plus souvent avec les substances organiques (protéides, lipides, glucides) présentes dans les milieux biologiques, des combinaisons complexes dans lesquelles les caractères analytiques pouvant servir à l'identification et au dosage sont masqués. À cette cause de dissimulation s'ajoute, au moins dans le cas du plomb, l'utilisation maintenant fort répandue comme agent thérapeutique, de l'E.D.T.A. calcique, qui, nous l'avons vu, conduit à l'élimination urinaire de E.D.T.A.Pb, combinaison dans laquelle le plomb est dissimulé. Il est donc nécessaire, en général, de détruire les matières organiques de façon à simplifier le milieu et à y amener les éléments à doser sous la forme ionisée qui seule se prête à leur recherches par les réactions analytiques classiques. De nombreuses méthodes ont été proposées pour réaliser cette destruction; il ne saurait être question de les énumérer même d'une façon sommaire. Mais il faut bien souligner que le choix d'une technique de destruction de la matière organique doit tenir compte du toxique à rechercher et ne pas être fait d'une façon inconsidérée. Pour certains toxiques, le mercure par exemple, il convient de se souvenir que la volatilité, aussi bien du métal lui-même que de ses halogénures tendant à se former dans les milieux biologiques riches en chlorures, expose à des pertes considérables. C'est pourquoi, pour la détermination des imprégnations mercurielles professionnelles, il convient soit d'utiliser des méthodes de destruction à froid, soit de faire appel, comme nous l'avons fait avec Fabre et Boudene<sup>93</sup>, à des méthodes à chaud, en opérant dans un ballon spécial surmonté d'un réfrigérant à reflux.

De même, il convient de se souvenir de la volatilité de l'arsenic et de son chlorure,  $AsCl_3$ , ainsi que de celle du zinc, du cadmium et, à un moindre degré, du thallium.

En sens inverse, peuvent se produire des pollutions de la matière biologique examinée par des éléments toxiques, risquant d'entraîner des erreurs par excès. Il ne faut ainsi pas oublier que certains réactifs commerciaux pouvant être utilisés pour la destruction des matières organiques, en particulier les acides nitrique et sulfurique, peuvent renfermer des proportions relativement importantes d'arsenic et de plomb, d'où la nécessité d'utiliser, pour les opérations analytiques concernant ces deux éléments, des réactifs rigoureusement purifiés. Pour la même raison, il convient d'employer une verrerie sélectionnée, et, dans le cas du plomb, de purifier très soigneusement tous les réactifs, y compris la dithizone elle-même et l'eau distillée. Dans le cas spécial du fluor, il faut également se souvenir que les bases alcalino-terreuses, utilisées comme agents fixateurs dans la minéralisation, renferment très souvent des proportions non négligeables de l'halogène, d'où la nécessité de faire un essai à blanc avec les réactifs.

Dans le cas spécial du fluor, il faut bien savoir que la mise en oeuvre pour la destruction des matières organiques de méthodes utilisant les acides oxydants est formellement contre-indiquée, car elle conduirait à la perte de l'élément sous forme d'acide fluorhydrique, de fluorure de silicium et d'acide hydrofluosilicique. C'est pourquoi il faut faire appel à une minéralisation par calcination vers  $550^{\circ}$ - $600^{\circ}$  en présence d'agents fixateurs tels que la chaux<sup>15, 109, 244</sup>, la baryte<sup>92</sup> ou le mélange  $MgO$  + acétate de magnésium<sup>90, 127</sup>. Ce dernier mélange serait contre-indiqué pour le dosage du brome, en raison de l'aptitude à l'hydrolyse du bromure de magnésium avec production d'acide bromhydrique volatil, d'où résulterait des pertes de brome. Cette donnée est intéressante à connaître pour le dépistage de l'imprégnation professionnelle par le bromure de méthyle.

Le cas du fluor n'est pas le seul exemple de toxiques industriels pour la recherche desquels l'emploi des acides oxydants pour la destruction des matières organiques est contre-indiqué. Il en est ainsi également des nitrites et des chlorates qui seraient décomposés dans ces conditions et pour lesquels la dialyse constitue une bonne technique de séparation. Citons enfin le cas du phosphore que les méthodes de destruction oxydative transforment en acide phosphorique, dont la caractérisation ne signifie rien du point de vue toxicologique en raison de sa présence normale dans les tissus vivants. Aussi fait-on appel, pour la séparation de P des milieux biologiques, à l'entraînement par la vapeur d'eau en milieu tartrique.

Lorsqu'il faut détruire la matière organique, il y a aussi lieu de tenir compte, en dehors de la nature du toxique, du matériel biologique à examiner. L'urine en particulier, en raison de sa composition considérablement moins complexe, est beaucoup plus facile à minéraliser que le sang. Il suffit par suite le plus souvent d'un traitement relativement sommaire par le mélange  $HCl + KClO_3$ , suivi d'une élimination de l'excès de chlore par l'anhydride sulfureux, pour pouvoir y effectuer la recherche des principaux éléments toxiques.

Après la destruction des matières organiques, il convient de réaliser une concentration de l'ion toxique en faisant appel à ce que nous avons appelé, avec Fabre et Boudene<sup>92</sup>, des méthodes d'enrichissement, de façon à séparer l'ion toxique à doser des ions l'accompagnant dans le résidu de minéralisation dont la présence serait susceptible de perturber gravement les caractérisa-

## LIMITES TOLÉRABLES DANS LES MILIEUX BIOLOGIQUES

tions, aussi bien par les procédés chimiques que par les méthodes physiques. Parmi les procédés d'enrichissement utilisés, on peut distinguer deux grandes catégories, suivant qu'ils font appel à des propriétés physiques ou chimiques de l'élément à doser.

Parmi les premiers, nous citerons :

(a) la séparation du fluor par électrodialyse, réalisée par Fabre<sup>83</sup> et Melle Bazille<sup>14</sup>;

(b) la séparation du fluor à l'état d'acide hydrofluosilicique par distillation en milieu sulfurique ou perchlorique en présence de silice<sup>90, 311</sup>;

(c) la séparation de l'arsenic sous forme de  $\text{AsCl}_3$  par distillation en milieu chlorhydrique<sup>142, 225, 237</sup>;

(d) la séparation du mercure, précipité au préalable dans le minéralisat par le sulfate stanneux en milieu sulfurique, par entraînement à la vapeur d'eau<sup>93</sup>;

(e) l'extraction sélective par des solvants (exemple des halogénures thalliques dissous par l'éther<sup>5, 252</sup>);

(f) le dépôt électrolytique, dont de nombreuses variantes ont été décrites dans le cas du mercure<sup>75, 259</sup> et surtout du plomb (dépôt anodique<sup>101, 123</sup> ou cathodique<sup>7</sup>, suivant la composition et le pH du milieu d'électrolyse);

(g) le dépôt électrochimique par utilisation de métaux convenablement choisis (exemples: séparation du mercure par dépôt sur cuivre et du thallium par dépôt sur zinc).

En ce qui concerne les procédés chimiques d'enrichissement, il est impossible d'en faire une classification, en raison de leur nombre très élevé; remarquons simplement que la plupart font appel, soit à des réactifs précipitants par formation de combinaisons insolubles simples: sulfures, carbonates, phosphates, sulfates, oxalates, iodures, soit à des réactifs chélatants, par formation de complexes<sup>148, 160, 257, 330</sup>, tels que dithizonates,  $\beta$ -naphthylthiocarbazonates, diéthylthiocarbamates, acétylacétonates, *etc.*

Pour le dosage proprement dit sont mis en oeuvre divers procédés physiques (polarographie, spectrographie, radioactivation, *etc.*) ou chimiques, variant avec l'élément à doser. L'étude de leur validité et des précautions, à prendre dépasse le cadre de ce rapport. Nous voudrions toutefois attirer l'attention sur le problème de plus en plus important que représente, avec le développement des utilisations pacifiques de l'énergie atomiques la détection des imprégnations professionnelles par radioéléments. À cet égard, à côté des méthodes indirectes, par examen des excréta (urines, fèces et, parfois, air expiré), méthodes dans lesquelles sont d'ailleurs mises en oeuvre, en dehors des mesures de radioactivité, les techniques générales de chimie analytique, les méthodes dites directes faisant appel à la spectrométrie  $\gamma$  et permettant l'exploration de l'organisme *in toto*.

### Composés fixes de nature organique

Le problème consiste ici à doser, sans perte ou avec le minimum de pertes, les toxiques eux-mêmes ou leurs métabolites dilués, comme les poisons minéraux, au moins dans le cas de milieux complexes tels que le sang, dans une masse relativement considérable de matières organiques qui gêne l'application des méthodes physiques ou chimiques pouvant servir à leur caractérisation. Le premier objectif des opérations analytiques doit donc

être d'isoler les composés étudiés ou, tout au moins, de simplifier au maximum le milieu dans lequel ils seront finalement dosés. On fait pour cela appel surtout à l'extraction par les solvants en milieu acide ou alcalin, après élimination des composés protéiques ou lipidiques gênants, soit par des moyens physiques (précipitation par l'alcool, l'acétone et les sels neutres) soit par des moyens chimiques (précipitation trichloracétique, par exemple), soit par des préparations fermentaires (protéolyse aseptique). Comme point particulier à souligner à propos de ce premier stade, il convient de rappeler la formation dans l'organisme à partir des toxiques ou de leurs métabolites de divers conjugués (sulfoconjugués et glucuroconjugués des phénols, glucuroconjugués des corps à fonction alcool, conjugués acétiques des corps à fonction amine primaire), qu'il est nécessaire d'hydrolyser par chauffage avec les acides dilués avant de procéder à l'extraction. Remarquons que, dans le cas de l'urine, cette dernière est considérablement plus facile que dans le cas du sang. On peut alors faire appel avec fruit à la méthode dite du relargage qui utilise la combinaison de l'action dissolvante de l'acétone ou de l'alcool et de l'action déféquant de sulfate d'ammonium, qui, saturant la phase aqueuse, détermine la séparation du solvant qui entraîne avec lui les composés organiques à doser. Cette méthode a été employée, entre autres, pour le dépistage des intoxications par les phénols nitrés.

Dans certains cas, on fait appel à des agents adsorbants. Un bel exemple à cet égard est l'utilisation d'une résine échangeuse d'ions, l'Amberlite I.R.A. 400 ou sa forme chlorée, pour fixer quantitativement, après agitation prolongée, le D.D.A. présent dans l'urine des sujets exposés au D.D.T., qu'il est ensuite possible de doser par une réaction colorée après désorption par l'éthanol acétique à l'ébullition, dilution à l'eau et extraction par le tétrachlorure de carbone. C'est là la base du test d'exposition de Cueto *et al.*<sup>6</sup>

Le deuxième stade de la recherche consiste en général à purifier les composés extraits en faisant appel à toute une série de techniques parmi lesquelles il faut surtout citer la chromatographie d'adsorption sur colonne et la chromatographie de partage sur papier.

Le dernier stade est le dosage proprement dit, pour lequel on fait appel soit à des propriétés physiques (absorption dans l'infrarouge et l'ultraviolet), soit à des propriétés chimiques. À ce sujet, il est évidemment souhaitable d'utiliser des réactions ayant le maximum de spécificité. Lorsqu'elles manquent, on peut parfois faire appel au dosage d'un élément caractéristique de la molécule. Pour citer un exemple emprunté au rapport du groupe d'Experts O.M.S. sur la toxicité des pesticides pour l'homme<sup>330</sup>, un grand intérêt s'attache à l'établissement d'une technique sensible et pratique permettant de mesurer le chlore organique contenu dans les urines. Un tel test faciliterait certainement l'étude des effets de l'exposition à des composés tels que l'aldrine, le chlordane, la dieldrine, le lindane, *etc.* L'élaboration d'une épreuve plus spécifique ne sera possible que lorsqu'auront été identifiés les métabolites effectivement excrétés par l'homme.

Dans certains cas, on fait appel à des effets biologiques. C'est ainsi que Carrillo et Vicenti<sup>36</sup> ont caractérisé la dieldrine dans le sang de sujets exposés en employant *Rhodnius prolixus*, insecte qui se nourrit de sang humain, comme matériel d'épreuve. On n'a observé dans ce cas qu'un parallélisme



très approximatif entre la symptomatologie et la concentration du toxique dans le sang. Le groupe d'Experts O.M.S. sur les insecticides a cependant estimé que cette technique méritait un examen plus approfondi, car elle supprimerait la difficulté d'extraire d'un milieu complexe des quantités infimes d'insecticides.

### Epiphénomènes de l'intoxication

Sans nous attarder à l'étude des techniques de caractérisation et de dosage de la carboxyhémoglobine et de la méthémoglobine, nous soulignerons cependant que, dans le cas de cette dernière, il est capital d'effectuer la détermination spectrophotométrique dès que possible après le prélèvement, car, très rapidement, la méthémoglobine subit des influences réductrices et se transforme en hémoglobine.

Le cas des coproporphyrines urinaires nous retiendra plus longuement, car elles offrent un exemple typique de l'importance que peut présenter l'étude de la technique de dosage en relation avec les maximums tolérables. Le principe du dosage consiste en effet à mesurer l'intensité de la fluorescence rouge fournie par les porphyrines sous l'action de la lumière ultra-violette. Or, il est bien connu que le phénomène de la fluorescence est très influencé par la présence de nombreuses impuretés, à tel point que nous avons personnellement maintes fois constaté des divergences relativement considérables entre les chiffres obtenus pour une même dose de coproporphyrine entre les solutions pures et les milieux impurs. Il est donc essentiel d'extraire les coproporphyrines de l'urine à un état de pureté suffisant pour que les chiffres du dosage aient un sens. *C'est pourquoi on se saurait trop se méfier des techniques simplifiées à l'excès.* Personnellement, nous recommandons, en dehors de la technique de Dobriner et Rhoads<sup>64</sup>, celle de Harlay et Malangeau<sup>131</sup>, reprise, avec des modifications de détail, entre autres par Gadjos et Gadjos-Torok<sup>103</sup>, qui s'en sont servis également pour le dosage de la protoporphyrine globulaire, après extraction par l'éther en milieu acétique, suivie d'une purification par passage à l'état de chlorhydrate. Un autre problème résulte du fait que, à côté des coproporphyrines, existent dans l'urine des chromogènes précurseurs (coproporphyrinogènes) se transformant en coproporphyrines par oxydation (Watson *et al.*<sup>305</sup>). Pour le dosage du bloc coproporphyrinogène + coproporphyrine préformée, Schwartz *et al.*<sup>242</sup> ont préconisé une technique comportant une extraction par l'acétate d'éthyle en milieu acétique, suivie d'une oxydation par une solution d'iode très diluée et d'une purification par passage à l'état de chlorhydrate. Quelles que soient les techniques adoptées, certains points de détail ont une grande importance. C'est ainsi que la précipitation des constituants urinaires risque d'entraîner par adsorption la totalité des porphyrines. Il faut donc, avant de filtrer, faire disparaître les précipités éventuels, soit par acidification (précipités phosphatés), soit par chauffage (dissolution des urates). En outre, pour éviter l'action destructive de la lumière sur les porphyrines, il convient de conserver l'échantillon d'urine à l'obscurité.

Étant donné que, dans diverses affections, peuvent apparaître dans l'urine, parfois à un taux élevé, des porphyrines d'ailleurs le plus souvent différentes des coproporphyrines, un autre problème analytique peut se poser: l'identification précise des porphyrines. Elle s'effectue par la mise en oeuvre de

diverses méthodes, en particulier, microcristallisation et détermination du point de fusion des esters méthyliques, mesure du spectre d'absorption et surtout depuis quelques années, chromatographie d'adsorption sur colonne et chromatographie de partage sur papier. De telles méthodes, qui ne peuvent être appliquées que par des spécialistes, sont difficilement utilisables de façon courante au laboratoire d'hygiène industrielle.

Nous ne reviendrons pas sur la détermination de l'activité cholinestérasique sanguine pour dépister les intoxications par les insecticides organophosphorés, nous contentant de souligner à nouveau l'intérêt des méthodes applicables dans les ateliers ou sur le terrain, celles de Limperos et Ranta<sup>163</sup>, de Edson<sup>70</sup> et de Edson et Fenwick<sup>72</sup>, par exemple. Dans le cas où l'on fait appel à des méthodes plus exactes, exigeant le transport de l'échantillon de sang au laboratoire, une remarque de Wirth<sup>318</sup> nous paraît intéressante à souligner. L'utilisation de sang défibriné (par agitation à l'aide d'un batonnet de bois) paraît au spécialiste allemand plus opportune que l'adjonction d'oxalate comme anticoagulant. Aussi longtemps que le sang n'est pas hémolysé, on peut, selon Wirth, faire la détermination encore après 2 ou 3 semaines, à condition d'avoir conservé le prélèvement au frigidaire.

## DONNÉES BIOCHIMIQUES DE BASE POUR L'INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS:

### LES MAXIMUMS DE CONCENTRATION TOLÉRABLES DANS LES MILIEUX BIOLOGIQUES

Du point de vue biochimique, on peut classer les poisons industriels en deux grands groupes, selon que, à l'état normal, c'est-à-dire en dehors des expositions, ils ne se rencontrent ni sous forme intacte, ni sous forme de produits de transformation métabolique dans les milieux de l'organisme, ou, au contraire, peuvent s'y trouver, au moins jusqu'à certaines concentrations.

Nous envisagerons successivement ces deux groupes, en examinant pour terminer le cas spécial des épiphénomènes d'intoxications.

#### **Éléments ou composés ne se trouvant pas normalement dans l'organisme**

Parmi les éléments minéraux toxiques, on ne peut plus guère citer, dans ce groupe, que le thallium et le cadmium\*. En revanche, le sulfure de carbone étudié par Teisinger dans son rapport, ainsi que la plupart des toxiques organiques et leurs métabolites s'y rattachent. Tels sont: le benzène, le toluène, le trichloréthylène, l'aniline et le nitrobenzène, étudiés par Teisinger dans son rapport, ainsi que le parathion, le D.D.T., le dinitro-2,4-*o*-crésol et les amines aromatiques cancérogènes que nous examinerons.

Le parathion et son principal métabolite, le *p*-nitrophénol, n'existent pas à l'état normal dans les milieux biologiques. Le problème revient alors à fixer les limites de concentrations au-delà desquelles se manifestent les symptômes toxiques. Quelques travaux ont été effectués sur ce point. Nous citerons ceux de Lieben *et al.*<sup>177</sup> et de von Eicken<sup>300</sup>, qui ont étudié, respectivement chez le singe et chez le chien, les taux d'excrétion urinaire

\* Cet élément, dont l'importance en hygiène industrielle n'est plus à signaler, a été traité par Teisinger dans son rapport. Nous n'y reviendrons pas; nous indiquerons cependant que, d'après Malinga<sup>186</sup>, il existerait normalement à l'état de traces dans l'organisme.

du *p*-nitrophénol en fonction des doses de parathion, administrées par voie cutanée ou par injection sous-cutanée dans les expériences chez le singe et *per os* dans celles chez le chien. von Eicken a même fait une expérience sur lui-même; après administration de 0,07 mg/kg de parathion, soit une dose légèrement supérieure à celle considérée par Edson<sup>70</sup> comme le maximum tolérable, il a retrouvé dans l'urine, après 22 h, 70,3 pour cent de la dose de parathion sous forme de *p*-nitrophénol, sans observer pour autant de phénomènes toxiques. Mais les principales recherches sur l'homme sont dues à Lieben *et al.*<sup>178</sup> qui ont suivi l'élimination urinaire du *p*-nitrophénol chez des sujets (pilotes aériens, adolescents affectés à la récolte de plants de tabac récemment traités, ouvriers agricoles chargés des applications dans les serres et les vergers, *etc.*) professionnellement exposés au parathion. Ils ont noté que les taux trouvés variaient considérablement d'un jour à l'autre et souligné la nécessité d'examiner plusieurs échantillons d'urine. D'après eux, le taux de 400 µg de *p*-nitrophénol par litre d'urine ne s'accompagne pas de symptômes d'intoxication. D'après von Eicken, on pourrait admettre comme limite de concentration tolérable un chiffre supérieur. Il reste, à notre avis, encore beaucoup à faire dans ce domaine et, en particulier, à étudier chez l'homme la relation entre la concentration urinaire de *p*-nitrophénol et la diminution d'activité des cholinestérases sanguines. Nous avons rappelé plus haut qu'une telle étude avait été faite chez le singe par Waldman<sup>304</sup> et avait montré que l'excrétion de *p*-nitrophénol précédait de 24 h aux environs la baisse d'activité cholinestérasique sanguine. Lorsque celle-ci s'installe, on peut noter une certaine proportionalité avec la concentration de *p*-nitrophénol dans l'urine.

Ainsi que nous l'avons vu antérieurement, le D.D.T. a été très étudié. Du fait de sa liposolubilité associée à une grande stabilité chimique, on le retrouve, comme nous l'avons déjà dit, dans les réserves adipeuses. Mais c'est sur la présence dans l'urine de son métabolite, le D.D.A., qu'ont surtout porté les recherches ayant pour but le dépistage des imprégnations toxiques. Dans leur publication sur le dosage du D.D.A. dans l'urine, Cueto *et al.*<sup>6</sup> citent les chiffres obtenus chez deux volontaires ingérant respectivement 3,5 mg et 35 mg de D.D.T. par jour. Ils atteignent 0,69 mg et 6,64 mg/l.

Le dinitro-2,4-*o*-crésol (D.N.O.C.),<sup>1</sup> utilisé en général sous forme de sel de sodium comme herbicide ou défoliant en agriculture, a été très étudié du point de vue qui nous préoccupe. Jusqu'ici les chercheurs se sont bornés à doser dans le sang et l'urine des sujets exposés, le plus souvent des travailleurs agricoles, le phénol nitré lui-même et non son métabolite, l'amino-2-nitro-4-*o*-crésol qui, à notre avis, présente pourtant un grand intérêt pour le dépistage. Les méthodes les plus utilisées pour le dosage du D.N.O.C. dans le sang ou l'urine sont des techniques photométriques dues à Parker<sup>211</sup> et à Harvey<sup>133</sup>. Edson<sup>71</sup> a mis au point, pour leur application sur les lieux d'utilisation de l'herbicide, un procédé de routine. D'après lui, les symptômes de toxicité font défaut pour une concentration sanguine inférieure à 25-30 mg/l. de sang total; ils sont légers pour 30 à 40 mg/l. et graves pour 45 à 55 mg/l., cependant que l'état du sujet devient critique quand la concentration dépasse 65 à 70 mg/l. Edson précise que, par suite de la fixation du D.N.O.C. sur les protéines circulantes, le taux dans le sérum, parfois

utilisé comme matériel d'analyse, est environ deux fois plus élevé que celui dans le sang total. Il ajoute, que le dosage dans l'urine ne constitue pas un bon test d'exposition, par suite, sans doute de la lenteur de l'élimination qui, normalement, entraîne une baisse journalière de l'ordre de  $1 \mu\text{g/ml}$  de sang total à partir de la cessation d'exposition. Les tests valables pour le D.N.O.C. le sont également pour le dinosébe, autre herbicide de la même série chimique qui est le dinitro-2,4-butyl-6-phénol.

Comme autres recherches concernant le D.N.O.C., il faut citer celles de Harvey<sup>133</sup> qui, administrant *per os* à des volontaires des doses journalières de 75 mg, ont trouvé, après 4 ou 5 jours, des taux sanguins de 15 à 20 mg/l. En continuant l'administration, cet auteur a observé une augmentation de la concentration sanguine associée à des symptômes d'intoxication; dans un cas, cette concentration a atteint 48 mg/l. Précisons que Batchelor *et al.*<sup>13</sup>, examinant des travailleurs agricoles chargés d'effectuer des pulvérisations de produit comme éclaircissant sur des pommiers, n'ont trouvé comme concentration sanguine maximum que 4,3 mg/l.

Dans le cas des amines cancérigènes ( $\beta$ -naphtylamine, benzidine, amino-4-biphényle), notre propos sera bref. Étant donnés les effets de sommation qui paraissent bien caractériser les substances cancérigènes étudiées jusqu'ici<sup>277,284</sup> et qui conduisent à admettre que toute dose, si minime soit-elle, doit être prise en considération, il nous paraît prudent de n'admettre aucune tolérance de concentration, aussi bien pour les amines elles-mêmes que pour les *o*-aminophénols qui en dérivent. La seule limitation de cette exigence est la sensibilité des techniques de caractérisation et de dosage. Nous possédons heureusement, dans le cas de ces substances, grâce surtout à la chromatographie sur papier, des moyens de caractérisation extrêmement sensibles permettant de vérifier que les mesures de protection, aussi bien de l'appareil respiratoire que des téguments et des muqueuses appliquées sur les lieux d'exposition, ont bien l'efficacité voulue.

Soulignons sans insister que la sévérité qui nous paraît devoir être la règle pour les amines cancérigènes doit s'exercer également pour les hydrocarbures cancérigènes, et tout spécialement pour le benzo-3,4-pyrène, auxquels peuvent être exposés les ouvriers manipulant, entre autres, des goudrons, des huiles lourdes de pétrole, des paraffines mal purifiées et des huiles de schiste. Il faut ici souligner qu'une technique de recherche des hydrocarbures polycycliques cancérigènes, dans les milieux biologiques, applicable de façon courante, reste encore à établir\*.

### **Éléments ou composés existant normalement dans l'organisme**

Teisinger ayant traité, dans son rapport, l'arsenic, le mercure, le plomb et l'oxyde de carbone, nous nous limiterons, en accord avec lui, à examiner les dérivés du manganèse et du fluor, choisis en raison de leur importance comme agents d'intoxications industrielles.

Certains dérivés du manganèse, et en particulier le bioxyde ou pyrolusite

\* En 1959, les chercheurs soviétiques Dikun et Goulouva ont mis au point une technique sensible de recherche du benzo-3,4-pyrène basée sur l'effet Shpolski (spectres de fluorescence à structure fine à basse température) et leur permettant de caractériser et de doser avec une approximation suffisante des fractions de mg de l'hydrocarbure.

## LIMITES TOLÉRABLES DANS LES MILIEUX BIOLOGIQUES

MnO<sub>2</sub>, ont une grande importance en hygiène du travail, car ils peuvent occasionner, chez les ouvriers qui y sont exposés, une intoxication chronique (manganisme) extrêmement grave, en ce sens que les symptômes nerveux d'origine centrale qui la caractérisent évoluent d'une façon inexorable et aboutissent la plupart du temps à des taux d'invalidité extrêmement élevés. C'est assez dire l'importance du dépistage des imprégnations par les dérivés manganiques d'autant que, en face d'un sujet dont on ignore les antécédents, se pose la différenciation de l'intoxication d'avec des affections nerveuses telles que la maladie de Parkinson, la pseudo-paralysie bulbaire et aussi d'avec certaines intoxications, comme celles par le chlorure de méthyle ou le sulfure de carbone, se manifestant parfois par un symptôme parkinsonien.

Le matériel biologique auquel on peut penser en premier lieu pour y doser le manganèse est le sang. À cet égard, il faut savoir que ce liquide renferme, à l'état normal, des traces de l'élément. Cette question a fait l'objet de nombreux et importants travaux. La première publication signalant la présence de manganèse dans le sang est due à Wurzer<sup>321</sup>, dont les constatations positives, d'abord niées par Glénard<sup>113</sup>, furent confirmées par divers auteurs, entre autres, Millon<sup>196b</sup>, Petrequin *et al.*<sup>217</sup>, Riche<sup>223</sup> et Polacci<sup>219</sup>. Bertrand et Medigreceanu<sup>18</sup> ont pu, grâce à une technique minutieusement étudiée, montrer que les concentrations antérieurement trouvées étaient beaucoup trop fortes et qu'en réalité les taux restaient toujours inférieurs à 0,03 mg/kg de sang total, ce qui a été confirmé par Lemos<sup>175</sup>. Le chiffre moyen de 0,15 mg/kg, donné par Kehoe *et al.*<sup>153</sup> est, à notre avis, beaucoup trop élevé. En conclusion de toutes ces recherches, il est en tous cas établi avec certitude que les concentrations en manganèse du sang restent toujours extrêmement faibles à l'état normal. Or, Lemos a démontré que, chez le lapin intoxiqué chroniquement par inhalation, 5 h par jour pendant 2 mois, de bioxyde de manganèse en poudre fine, on voyait la concentration dans les globules rouges s'élever de traces à l'état normal jusqu'à 1,80 mg/kg, cependant que Rodier *et al.*<sup>227</sup>, dans une expérience analogue, sur le même animal, ont obtenu un chiffre de 1,30 mg/l. Il est très probable que des effets analogues doivent se reproduire chez des sujets humains exposés au bioxyde de manganèse, et on peut, par conséquent, espérer que le dosage de l'élément dans le sang, pour lequel nous possédons des techniques sensibles, précises et spécifiques, puisse constituer un excellent test d'exposition. Mais jusqu'ici, à notre connaissance, aucune étude sérieuse n'a été effectuée dans cette direction.

Une autre matière biologique à prendre en considération est l'urine, dans laquelle, d'après Hamilton et Hardy<sup>129</sup> et Schuler *et al.*<sup>239</sup> on peut, bien que l'élimination fécale soit prépondérante, en raison de l'excrétion biliaire du manganèse<sup>18</sup>, retrouver l'élément à la suite des expositions industrielles. On peut même espérer établir un test de manganurie provoquée en faisant appel à l'E.D.T.A. calcique. En effet, avec ce composé, qui est un détoxifiant du manganèse, Rodier *et al.*<sup>227</sup> ont observé une action favorisante sur l'élimination du métal. Dans une expérimentation, la quantité totale excrétée par l'urine est, chez un lapin témoin (intoxiqué, mais non traité à l'E.D.T.A. calcique) de 6,732 mg, avec une moyenne de 0,374 mg/jour, alors que chez un lapin traité par l'E.D.T.A. calcique, cette quantité atteint 21,295 mg, avec une moyenne de 1,18 mg/jour.

## Le fluor normal de l'organisme humain

De même que le manganèse, et d'ailleurs comme l'arsenic, le cuivre, le plomb et beaucoup d'autres éléments, le fluor est normalement présent dans la matière vivante et tout spécialement dans l'organisme humain. Ce fait ne saurait surprendre, puisque la dissémination de cet halogène dans les roches, le sol et les eaux peut faire prévoir *a priori* son passage dans les végétaux, puis dans les animaux et ensuite, grâce à la chaîne alimentaire, dans les humeurs et les tissus humains. Cette notion est fondamentale pour le dépistage des intoxications par les dérivés fluorés qui sont, comme on sait, relativement fréquentes dans l'industrie. Il s'agit en effet alors de bien différencier le fluor normal ou physiologique de celui provenant des expositions nocives et de connaître le niveau maximum de concentration pouvant être considéré comme normal. Nous commencerons donc par étudier les variations normales des concentrations de fluor dans les humeurs ou excréta pouvant être prélevés en vue de l'analyse et nous examinerons ensuite les données publiées dans la littérature concernant l'augmentation de ces taux sous l'influence des expositions professionnelles.

La présence de fluor dans les tissus calcifiés, os et dents, est connue depuis longtemps<sup>272</sup>. Nous rappellerons seulement que les taux rencontrés dans ces tissus, variables entre autres avec l'alimentation (surtout en raison de la fluoruration des eaux dans certains pays), avec certaines pratiques hygiéniques (emploi de dentifrices fluorés) et avec l'âge, sont, rapportés aux cendres, en général compris, au moins dans le cas des sujets adultes, entre 0,50 et 1,50g/kg pour les os, et entre 0,19 et 0,30g/kg pour les dents<sup>229</sup>. Les teneurs dans le sang ont été déterminées par de nombreux auteurs, et en particulier par Zdarek<sup>323</sup>, Stuber et Lang<sup>269</sup>, Gautier et Clausmann<sup>111</sup>, Goldemberg et Schraiber<sup>116</sup>, Gorlitzer<sup>118</sup>, Kraft et May<sup>159</sup>, Wulle<sup>320</sup>, Hartmann *et al.*<sup>132</sup>, Largent et Cholak<sup>171</sup>. Les premiers auteurs avaient trouvé des taux atteignant jusqu'à 8,5 mg/l. Mais il faut tenir compte ici de l'insuffisance de spécificité des techniques alors employées. Lorsqu'on utilise les techniques modernes, on peut admettre, à notre avis fondé sur de nombreuses déterminations personnelles, que les taux normaux dans le sang total oscillent entre 350 et 1450 µg/l. et sont le plus souvent au voisinage de 800 µg/l., les concentrations étant plus élevées dans le plasma et le sérum que dans les globules.

Dans le cas de l'urine, si les chiffres publiés par Machle<sup>183, 184</sup> sont, à la lumière de nos constatations personnelles, trop élevées (la concentration de fluor urinaire pourrait, selon ces auteurs, atteindre, à l'état normal, 2,8 mg/l.; en revanche, ceux indiqués entre autres par Goldemberg et Schraiber<sup>116</sup> (0,3 à 1 mg/l.), par Brun *et al.*<sup>31</sup> (0,3 à 1,6 mg/l.; 0,18 à 1,85 mg/jour) et par McClure<sup>44</sup> (0,3 à 0,5 mg/jour) nous paraissent acceptables. À notre avis, les taux de fluor urinaire sont, à l'état normal, voisins de 0,8 mg/l.

Les fèces ont été examinées entre autres par Gautier et Clausmann<sup>111</sup>, par Goldemberg et Schraiber<sup>116</sup>, par Machle *et al.*<sup>185</sup> et par Smith *et al.*<sup>255</sup>. Les chiffres de Machle *et al.* (0,04 mg/jour) sont à notre avis trop bas et nous préférons ceux de Goldemberg et Schraiber, soit 0,4 à 0,5 mg/kg. À propos de l'élimination fécale du fluor nous soulignerons qu'elle n'est pas surprenante, puisque, ainsi que l'avait signalé il y a bien longtemps Nickles<sup>205</sup> et comme l'ont confirmé, entre autres, Gautier et Clausmann<sup>111</sup> et Gaud *et al.*<sup>108</sup>, le fluor tend à s'éliminer par la bile.

Les cheveux ont été également examinés. Nickles<sup>205</sup> y avait reconnu la présence du fluor qui y atteindrait, d'après Gautier et Clausmann<sup>110</sup>, des taux de 5,3 à 15 mg/kg à l'état frais. Personnellement, nous avons eu, à plusieurs reprises, l'occasion de doser le fluor dans les cheveux de sujets en dehors de toute exposition et avons trouvé des taux compris entre 6 et 9 mg/kg.

Comme autres matières biologiques examinées, nous citerons enfin la salive et le liquide céphalo-rachidien où Goldemberg et Schraiber<sup>116</sup> ont trouvé pour la première 0,1 à 0,2 mg/l. et pour le second 0,8 à 1 mg/l.

### Variations des concentrations en fluor des milieux biologiques au cours des expositions professionnelles

La matière biologique la plus adéquate à analyser en vue du dépistage des imprégnations toxiques est évidemment l'urine. Les données concernant l'élimination rénale du fluor à la suite de l'absorption de doses supérieures à celles ingérées normalement avec l'alimentation sont à l'heure actuelle en nombre suffisant. À cet égard, il faut citer en particulier les recherches de Machle *et al.*<sup>184</sup>, Lawrenz *et al.*<sup>172</sup> et McClure *et al.*<sup>45</sup> D'après ces derniers des doses de l'ordre de 4 à 6 mg de fluor par jour, sont pratiquement excrétées en totalité soit par les fèces, soit surtout par l'urine. D'après les autres au contraire, il se produit une rétention relativement importante du fluor (40 à 50 pour cent du fluor ingéré). Tous sont d'accord en tous cas pour admettre une certaine proportionnalité entre les taux de fluor excrété dans l'urine et les doses ingérées. Comme par ailleurs le passage dans l'urine s'effectue rapidement après l'ingestion, il était naturel d'essayer d'appliquer le dosage du fluor dans ce liquids au dépistage des intoxications professionnelles, comme l'ont fait entre autres, Brun *et al.*<sup>31</sup>, Machle *et al.*<sup>185</sup> et Largent seul<sup>168</sup> ou en collaboration avec Ferneau<sup>169</sup>. Effectivement, le séjour prolongé des travailleurs dans des atmosphères renfermant des dérivés fluorés gazeux (acide fluorhydrique, fluorure de silicium, *etc.*) ou solides (cryolithe, phosphates riches en fluor, *etc.*) provoque, à doses suffisantes, une augmentation des concentrations urinaires de fluor. C'est ainsi que Brun *et al.*<sup>31</sup>, examinant l'urine d'ouvriers des usines de cryolithe, ont trouvé des taux de fluor allant de 2,4 à 43,4 mg/l. C'est ainsi également que Collings *et al.*<sup>46</sup>, soumettant des volontaires pendant 8 h à l'inhalation de dérivés fluorés gazeux ou à l'état de poussières à une concentration exprimée en fluor d'environ 3,3 mg/m<sup>3</sup>, ont vu la concentration urinaire s'élever rapidement de 0,8 à 1,4 mg/l. jusqu'à 8,9 mg/l. Il est intéressant de noter que, une fois l'exposition nocive supprimée, le taux de fluor s'abaisse pratiquement jusqu'à la valeur normale. Continuant ces recherches, les mêmes auteurs, en collaboration avec Bianconi<sup>20</sup>, ont soumis, pendant 6 h, deux volontaires, l'un ayant déjà été professionnellement exposé aux dérivés fluorés pendant 8 années et un témoin, à des atmosphères renfermant des fluorures à la concentration exprimée en fluor de 4,8 mg/m<sup>3</sup>. Ils ont vu chez les deux sujets, la concentration urinaire par litre du fluor, s'élever rapidement de 2 mg environ à 4 mg chez le premier, et de 1 mg environ à 5 mg chez le second, avec retour à des concentrations presque normales dans les 24 h suivant la cessation de l'exposition. Des constatations analogues ont été faites chez d'autres volontaires ou chez des ouvriers exposés professionnellement aux

dérivés fluorés. La valeur de ce test d'exposition a été confirmé par Largent<sup>170</sup> qui, comme Machle *et al.*<sup>185</sup>, Lawrenz *et al.*<sup>172</sup> et aussi Smith *et al.*<sup>255</sup>, et contrairement à McClure *et al.*<sup>45</sup>, a souligné la rétention dans l'organisme d'une certaine proportion du fluor, même pour des doses aussi faibles que 3 mg/jour, et, par ailleurs, a bien montré le parallélisme entre la concentration urinaire du fluor et les doses absorbées.

Un dernier point à souligner, avec Brun *et al.*<sup>31</sup>, avec Blackmore<sup>22</sup> et avec Largent, est que, chez les sujets dont l'exposition est très ancienne, l'élimination d'un taux accru de fluor se continue parfois pendant des années, par suite sans doute de la mobilisation progressive du toxique accumulé au niveau du squelette. Sur ce point des recherches restent à faire.

L'accumulation du fluor au niveau des tissus calcifiés pourrait d'ailleurs, ainsi que nous l'avons déjà souligné, aider éventuellement au dépistage précoce, ainsi que l'ont indiqué, entre autres, Cristiani<sup>52</sup>, à la lumière de ses résultats sur les bovidés atteints de fluorose, et Dankwortt<sup>54</sup>. Malheureusement, une méthode diagnostique exigeant l'extirpation d'un fragment d'os n'est ni commode, ni pratique. Elle est cependant parfois appliquée. C'est alors un procédé idéal, puisque les tissus calcifiés sont les meilleurs collecteurs dans l'organisme, ainsi que l'ont bien souligné, entre autres, Roholm<sup>229</sup> chez l'homme, et Hodge *et al.*<sup>141</sup>, Peirce<sup>214</sup> et Glock *et al.*<sup>114</sup> chez l'animal.

Bien que, dans le cas des fluoroses d'origine tellurique, les dosages effectués par Gaud *et al.*<sup>108</sup>, Charriot<sup>39</sup> au cours de leurs recherches sur le " Darmous " des régions d'Afrique du Nord, aient révélé une augmentation considérable des taux de fluor, non seulement dans les os, les dents et l'urine, mais encore dans le sang, les fèces et les cheveux, ces matières biologiques ne sont que très rarement prélevées en vue du dépistage, le test urinaire restant le plus utilisé.

### Epiphénomènes des intoxications

Nous examinerons seulement le cas des porphyrines comme indice d'imprégnation saturnine, en examinant l'important problème des taux physiologiques dans les milieux biologiques. Pour ne pas alourdir notre exposé, nous nous dispenserons de citer les références des nombreuses recherches effectuées dans cette direction, renvoyant les lecteurs intéressés à l'important ouvrage de Benard *et al.*<sup>17</sup>

Dans les conditions physiologiques, les porphyrines libres ne figurent qu'en quantités très faibles dans les humeurs et les tissus. Il existe dans les globules rouges une petite quantité de protoporphyrine libre du type III dont il est bien démontré qu'elle ne présente pas un artefact résultant de la dégradation de l'hémoglobine. Cette quantité est d'environ 30 à 40 µg/100 ml de globules rouges; elle est accompagnée de traces de coproporphyrine III. Le sérum normal ne contient pas de porphyrines. Environ 10 à 100 µg de protoporphyrine se trouvent également dans 100 ml de bile. Cette élimination par la bile explique la présence de protoporphyrine dans les matières fécales, à côté de coproporphyrine mélangée à des traces de *deutero-* et de *méso-*porphyrines (élimination journalière globale des porphyrines fécales: 250 à 500 µg).



Il n'existe pas de protoporphyrine dans les urines. On rencontre dans les urines normales un mélange de coproporphyrine I et de coproporphyrine III à raison de 50 à 120  $\mu\text{g}/24 \text{ h}$ . On admet classiquement qu'il n'existe pas d'uroporphyrine décelable dans l'organisme à l'état physiologique. Des traces ont cependant été trouvées dans les urines par Nicholas et Rimington<sup>204</sup>, Schwartz *et al.*<sup>241</sup>, Schwartz et Watson<sup>243</sup> et Lockwood<sup>181</sup>.

Au cours du saturnisme, la coproporphyrinurie peut dépasser plusieurs  $\text{mg}/24 \text{ h}$  et alors, très nettement teinter les urines. De même, le taux de protoporphyrine libre des globules rouges peut s'élever jusqu'à 1  $\text{mg}/100 \text{ ml}$ . Mais, dans nombre de cas, surtout au début des imprégnations saturnines, qu'il s'agit précisément de dépister précocement, les taux de coproporphyrine urinaire et de protoporphyrine sanguine sont beaucoup moins élevés. Or, nous l'avons dit, diverses circonstances couramment rencontrées chez l'homme, notamment les insuffisances hépatiques et l'éthylisme, peuvent provoquer l'apparition dans l'urine de taux de coproporphyrines de l'ordre de 200 à 300  $\mu\text{g}/24 \text{ h}$ . Il y a là un risque de confusion. C'est pourquoi nous proposons de considérer comme seuil du taux de coproporphyrine urinaire à prendre en considération chez un sujet bien portant mais exposé au plomb, le taux de 300  $\mu\text{g}/24 \text{ h}$ , en le complétant éventuellement par le dosage de la protoporphyrine globulaire.

Au terme de cet exposé, qui, malgré sa longueur dont nous nous excusons, reste pourtant très incomplet, nous espérons néanmoins avoir montré quelle voie féconde représente, pour le dépistage des intoxications professionnelles, la recherche de tests d'exposition. Des résultats utiles ou prometteurs ont certes déjà été obtenus dans cette direction, mais il faut bien reconnaître qu'il reste encore énormément à faire.

J'ai souvent pensé aux paroles d'Ernest Renan : " La vérité est roturière, elle est peu sensible aux grands airs, elle ne se livre qu'aux mains noircies et aux fronts ridés." Elles me paraissent s'appliquer admirablement au domaine qui nous intéresse, car beaucoup de mains restent à noircir et de fronts à rider pour que progresse l'hygiène industrielle, cette branche de la toxicologie particulièrement exaltante puisqu'elle a pour but la protection de la santé de ceux qui travaillent.

## Bibliographie

- <sup>1</sup> C. Abels. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **39**, 504 (1936)
- <sup>2</sup> C. Albahary, R. Truhaut et C. Boudene. *Arch. maladies profess. méd. travail et sécurité sociale*, **19**, 121 (1958); *cf. égalt.: Compt. rend., 18<sup>e</sup> Congrès international de médecine du travail, New York, Juillet (1960)*
- <sup>3</sup> W. N. Aldridge et J. M. Barnes. *Nature*, **169**, 345 (1952); *cf. égalt.: J. E. Casida. J. Agr. Food Chem.*, **4**, 772 (1956)
- <sup>4</sup> A. M. Mauer et C. D. West. *J. Disease of Children*, **92**, 160 (1956)
- <sup>5</sup> J. R. A. Andersen et M. Lederer. *Anal. Chim. Acta*, **4**, 513 (1950)
- <sup>6</sup> C. Cueto, A. G. Barnes et A. M. Mattson. *J. Agr. Food Chem.*, **4**, 943 (1956)
- <sup>7</sup> K. Bambach et J. Cholak. *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.*, **13**, 504 (1941)
- <sup>8</sup> K. Bambach, R. A. Kehoe et M. A. Logan. *J. Pharmacol. Exptl. Therap.*, **76**, 326 (1942)
- <sup>9</sup> J. M. Barnes et D. R. Davies. *Brit. Med. J.*, **2**, 816 (1951)
- <sup>10</sup> G. R. Bartlett. *Am. J. Physiol.*, **163**, 614 (1950)
- <sup>11</sup> H. Bastenier, P. Deslypere et Mme de Graef-Millet. *Proc. XII Intern. Congr. Occupational Health, Helsinki*, p. 243 (1957)
- <sup>12</sup> J. T. Bastrup. *Acta Pharmacol. Toxicol.*, **3**, 312 (1947)

- <sup>13</sup> G. S. Batchelor, K. C. Walker et J. M. Elliott. *A.M.A. Arch. Ind. Health*, **13**, 593 (1956)
- <sup>14</sup> S. Bazille. "Contribution à l'étude toxicologique du fluor", *Thèse de Doctorat en Pharmacie*, Paris (1955)
- <sup>15</sup> S. Belfanti, A. Contardi et A. Ercoli. *Biochem. J.*, **29**, 842 (1935)
- <sup>16</sup> E. L. Belknap et M. C. Perry. *Arch. Ind. Hyg. Occupational Med.*, **10**, 530 (1954)
- <sup>17</sup> H. Benard, A. Gadjos et M. Gadjos-Torok. *Porphyrynes Étude Clinique et Biologique*, Baillière et fils, Paris (1958)
- <sup>18</sup> G. Bertrand et F. Medigreceanu. *Compt. rend.*, **144**, 941 (1912); cf. égalt.: *Bull. soc. chim. France*, **4**, 665, 857 (1912)
- <sup>19</sup> S. P. Bessman et E. C. Layne. *J. Disease of Children*, **89**, 292 (1955)
- <sup>20</sup> W. O. Bianconi. *Arch. Ind. Hyg. Occupational Med.*, **6**, 368 (1952)
- <sup>21</sup> L. Binet et R. Fabre. *J. pharm. chim.*, **11**, 55 (1930)
- <sup>22</sup> F. Blackmore. *Proc. Nutrition Soc. (Engl. and Scot.)*, **1**, 211 (1944)
- <sup>23</sup> E. Bogen. *J. Am. Med. Assoc.* **89**, 1708 (1927); cf. égalt.: *Am. J. Med. Sci.*, **176**, 153 (1938)
- <sup>24</sup> G. M. Bonser, D. B. Clayson et J. W. Jull. *Lancet*, p. 286 (1951); cf. égalt.: G. M. Bonser, J. W. Jull et L. N. Pyrah. Résumés des communications, *Congr. intern. biochim.*, 2e Congr., Paris, p. 461, Juillet (1952) et aussi, *Brit. J. Cancer*, **6**, 413 (1952); **7**, 456 (1953), et *Brit. J. Urol.*, **26**, 49 (1954)
- <sup>25</sup> E. Boyland. Abstracts of papers, *Congr. intern. contre le cancer*, 7<sup>e</sup> Congr., London, p. 72-73, Juillet (1958)
- <sup>26</sup> H. Brabant. *Arch. biol. Liège*, **52**, 117 (1941)
- <sup>27</sup> R. W. Brauer et M. A. Root. *Federation Proc.* **88**, 109 (1946), et aussi *Am. J. Physiol.*, **149**, 611 (1947)
- <sup>28</sup> A. Brestowski. *Lancet*, **2**, 1674, 1746 (1903)
- <sup>29</sup> H. V. Brown et A. F. Bush. *Arch. Ind. Hyg. Occupational Med.*, **1**, 633 (1950)
- <sup>30</sup> H. Bruckner. *Zentr. Gewerbehyg. Unfallverhüt.*, **11**, 17 (1924)
- <sup>31</sup> G. C. Brun, H. Buchwald et K. Roholm. *Acta Med. Scand.*, **106**, 261 (1941)
- <sup>32</sup> V. Brustier, P. Bourbon et R. Vignes. *Ann. pharm. franç.*, **7**, 729 (1949)
- <sup>33</sup> T. C. Butler. *J. Pharmacol. Exptl. Therap.*, **98**, 126 (1950); cf. égalt.: B. Soucek et B. B. Vlachova. *Pracovní lékařství*, **6**, 330 (1954), et aussi R. Truhaut. *Ann. pharm. franç.*, **11**, 46 (1953)
- <sup>34</sup> S. Callaway, D. Crichton, J. D. Blackburn et J. P. Rutland. Résultats non publiés (1954). Cités dans une fiche technique WHO/Insecticides: 29/Add.1/18, Novembre (1954)
- <sup>35</sup> A. Cantarow et M. Trumper. *Lead Poisoning*, Williams et Wilkins, Baltimore (1944)
- <sup>36</sup> S. J. Carrillo et B. H. Vicenti. *Bol. ofic. sanit. panam.*, **39**, 296 (1955)
- <sup>37</sup> R. H. Carter, P. E. Hubanks, H. D. Mann, J. H. Zeller et O. G. Hankins. *J. Am. Sci.*, **7**, 505 (1948)
- <sup>38</sup> C. A. Chance et G. A. Lewy. *Quart. J. Exptl. Physiol.*, **34**, 79 (1947)
- <sup>39</sup> A. Charnot. *Bull. Inst. Hyg. Maroc*, Fasc. II-III, 45 (1937)
- <sup>40</sup> A. Charnot. *Rev. pathol. gén. physiol. clin.*, **No. 675**, 340 (1956)
- <sup>41</sup> A. Charnot et A. Flament. *La terre marocaine*, 495 (1950)
- <sup>42</sup> D. B. Clayson. Résumés des communications, *Congr. intern. biochim.*, 2<sup>e</sup> Congr., Paris, p. 465, Juillet (1952); cf. égalt.: *Brit. J. Cancer*, **7**, 460 (1953)
- <sup>43</sup> J. Clément. "Traitement des polynévrites arsenicales par le B.A.L.", *Thèse de Doctorat en Médecine*, Paris (1948)
- <sup>44</sup> E. J. McClure et C. A. Kinser. *U.S. Public Health Repts.*, **59**, 1575 (1944)
- <sup>45</sup> E. J. McClure, H. H. Mitchell, S. S. Hamilton et C. A. Kinser. *J. Ind. Hyg. Toxicol.*, **27**, 159 (1945)
- <sup>46</sup> G. H. Collings, R. B. L. Fleming et R. May. *Arch. Ind. Hyg. Occupational Med.*, **4**, 585 (1951)
- <sup>46b</sup> D. D. McCollister, W. H. Beamer, G. J. Atchison et H. C. Spencer. *J. Pharm. Exptl. Therap.*, **102**, 112 (1951)
- <sup>47</sup> M. Cooper et C. A. Owen. *J. Lab. Clin. Med.*, **47**, 65 (1956)
- <sup>48</sup> C. P. McCord. *Ind. Med.*, **20**, 185 (1951)
- <sup>48b</sup> C. P. McCord. *Ind. Eng. Chem.*, **23**, 931 (1931)
- <sup>49</sup> K. P. McCormell. *J. Biol. Chem.*, **145**, 55 (1942)
- <sup>50</sup> J. McCrae. *J. S. African Chem. Inst.*, **6**, 18 (1923)
- <sup>51</sup> M. Crevier, W. L. Ball et K. Nay. *Arch. Ind. Hyg. Occupational Med.*, **9**, 306 (1954)
- <sup>52</sup> H. Cristiani. *Compt. rend. soc. biol.*, **103**, 292 (1950)

## LIMITES TOLÉRABLES DANS LES MILIEUX BIOLOGIQUES

- <sup>53</sup> P. Cristol, J. Fourcade et C. Benezech. *Bull. soc. chim. France*, **5**, 610 (1939)
- <sup>54</sup> P. W. Dankwortt. *Z. physiol. Chem. Hoppe-Seyler's*, **268**, 187 (1941)
- <sup>55</sup> B. Davidow et J. P. Frawley. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **79**, 780 (1951)
- <sup>56</sup> B. Davidow et J. L. Radomski. *J. Pharmacol. Exptl. Therap.*, **107**, 260 (1952)
- <sup>57</sup> D. R. Davies. *Proc. Roy. Soc. Med.*, **45**, 570 (1952)
- <sup>58</sup> D. R. Davies et J. D. Nichols. Cités dans une fiche technique WHO/Insecticides: 29/Add.1/18, Novembre (1954)
- <sup>59</sup> A. M. Davison. *Biochem. J.*, **61**, 203 (1955)
- <sup>60</sup> L. Derobert et R. Le Breton. *Ann. méd. légale criminol. et police sci.*, **31**, 172 (1951)
- <sup>61</sup> E. Derrien. Rapports inédits au Ministère français de l'Armement (1914-1918)
- <sup>62</sup> H. Desoille, C. Albahary, A. Gadjos et M. Gadjos-Torok. *Arch. maladies profess. méd. travail et sécurité sociale*, **16**, 185 (1955)
- <sup>63</sup> W. M. Diggle et J. C. Gage. *Biochem. J.*, **49**, 491 (1951)
- <sup>64</sup> K. Dobriner et C. P. Rhoads. *J. Clin. Invest.*, **17**, 105 (1938)
- <sup>65</sup> R. Domenjoz. *Helv. Chim. Acta*, **29**, 317 (1946)
- <sup>66</sup> W. W. Douglas et P. B. C. Matthews. *J. Physiol. London*, **116**, 202 (1952)
- <sup>67</sup> H. Druckrey. Communication personnelle
- <sup>68</sup> H. C. Dudley. *J. Am. Med. Assoc.*, **110**, 1840 (1938), et *U.S. Public Health Repts.*, **53**, 92, 281 (1931)
- <sup>69</sup> H. Eagle, H. J. Maguison et R. Fleischman. *J. Clin. Invest.*, **25**, 455 (1946); cf. égal.: J. Wexler, H. Eagle, H. Tatimo, H. J. Maguison et E. B. Watson. *J. Clin. Invest.*, **25**, 467 (1946), et aussi J. A. Luetscher, H. Eagle et W. T. Lonscope. *J. Clin. Invest.*, **25**, 534 (1946)
- <sup>70</sup> E. F. Edson. *Lancet*, **1**, 981 (1954)
- <sup>71</sup> E. F. Edson. *Brit. Med. J.*, **1**, 841 (1955)
- <sup>72</sup> E. F. Edson et M. L. Fenwick. *Brit. Med. J.*, **1**, 1218 (1955)
- <sup>73</sup> E. F. Edson. "Résultats ayant fait l'objet d'une communication devant l'Association belge de Phytopharmacie en février 1956"; cf. égal.: *Compt. rend., 4<sup>e</sup> Congr. international de phytopharmacie, Hambourg* (1957), p. 1625, A. C. O. Druck GMBH, Braunschweig (1960)
- <sup>74</sup> C. Egg. *Schweiz. med. Wochschr.*, **8**, 5 (1927)
- <sup>75</sup> H. B. Elkins. *The Chemistry of Industrial Toxicology*, Wiley, New York, p. 332 (1950)
- <sup>76</sup> H. B. Elkins. *Arch. Ind. Hyg. Occupational Med.*, **9**, 212 (1954)
- <sup>77</sup> S. Ellis, S. Sanders et O. Bodansky. *J. Pharmacol. Exptl. Therap.*, **91**, 255 (1947)
- <sup>78</sup> M. R. Everett. *J. Pharmacol. Exptl. Therap.*, **65**, 389 (1939)
- <sup>79</sup> R. Fabre et P. Fredet. *J. pharm. chim.*, **2**, 321 (1925); cf. égal.: *Compt. rend. soc. biol.*, **102**, 1068 (1929)
- <sup>80</sup> R. Fabre et G. Bazille. *J. pharm. chim.*, **18**, 465 (1933)
- <sup>81</sup> R. Fabre et E. Kahane. *Ann. méd. légale criminol. police sci.*, **17**, 1019 (1937); cf. égal.: *J. pharm. chim.*, **27**, 426 (1938)
- <sup>82</sup> R. Fabre et A. Okac. *J. pharm. chim.*, **26**, 433 (1937)
- <sup>83</sup> R. Fabre. *J. pharm. chim.*, **27**, 467 (1938)
- <sup>84</sup> R. Fabre et P. Leheuzey. *Bull. soc. chim. biol.*, **26**, 49 (1944)
- <sup>85</sup> R. Fabre. *Métabolisme du Benzène et du Toluène dans l'Organisme*, Hermann, Paris (1948); cf. égal.: *Ann. pharm. franç.*, **12**, 631 (1954)
- <sup>86</sup> R. Fabre et A. Fabre. *Arch. maladies profess. méd. travail et sécurité sociale*, **9**, 97 (1948) cf. égal.: R. Fabre. *Ann. pharm. franç.*, **2**, 108 (1944)
- <sup>87</sup> R. Fabre et R. Truhaut. *Ann. méd. légale criminol. police sci.*, **29**, 233 (1949)
- <sup>88</sup> R. Fabre, R. Truhaut et M. Herbert. *Ann. pharm. franç.*, **8**, 773 (1950)
- <sup>89</sup> R. Fabre, R. Truhaut et A. Singermann. *Ann. pharm. franç.*, **12**, 409 (1954)
- <sup>90</sup> R. Fabre, R. Truhaut et A. Rouquette. *Compt. rend.*, **240**, 226 (1955)
- <sup>91</sup> R. Fabre, R. Truhaut, C. Boudene et C. Albahary. *Proc. XII Intern. Congr. Occupational Health, Helsinki*, p. 173 (1957)
- <sup>92</sup> R. Fabre, R. Truhaut et C. Boudene. *J. med. Bordeaux*, **134**, 764 (1957)
- <sup>93</sup> R. Fabre, R. Truhaut et C. Boudene. *Compt. rend.*, **246**, 2086 (1958)
- <sup>94</sup> R. Fabre, R. Truhaut et F. Berrod. *Ann. pharm. franç.*, sous presse
- <sup>95</sup> J. K. Finnegan, H. B. Haag et P. S. Larsson. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **72**, 357 (1949)
- <sup>96</sup> P. Fleury et H. Thouvelin. *Ann. biol. clin.*, **14**, 743 (1956)
- <sup>97</sup> Fonzes-Diacon. *Ann. méd. légale criminol. et police sci.*, **15**, 793 (1935); cf. égal.: *Bull. soc. chim. France*, **2** (5), 1104 (1935)

- <sup>98</sup> H. Foreman et T. T. Trujillo. *J. Lab. Clin. Med.*, **43**, 566 (1954)
- <sup>99</sup> H. Foreman, P. A. Fuqua et W. D. Norwood. *Arch. Ind. Hyg. Occupational Med.*, **10**, 226 (1954)
- <sup>100</sup> H. Foreman. *Ind. Med. and Surg.*, **24**, 287 (1955)
- <sup>101</sup> A. G. Francis, C. O. Harvey et J. L. Buchan. *Analyst*, **54**, 725 (1929)
- <sup>102</sup> T. E. Friedemann. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **37**, 686 (1938)
- <sup>103</sup> A. Gadjos et M. Gadjos-Torok. *Pathol. et biol.*, *Semaine hôp.* (1957) No. 3 d'Avril; cf. *égalt.: Ann. biol. clin.*, **16**, 162 (1958)
- <sup>104</sup> J. C. Gage et J. Payton. Résumés des communications, *Congr. intern. biochim.*, 2<sup>e</sup> Congr., Paris, p. 433, Juillet (1952)
- <sup>105</sup> J. C. Gage. *Biochem. J.*, **54**, 426 (1955)
- <sup>106</sup> J. F. Gardocki et L. W. Hazleton. *J. Am. Pharm. Assoc.*, **40**, 491 (1951)
- <sup>107</sup> A. E. Garrod. *J. Physiol. London*, **13**, 598 (1892)
- <sup>108</sup> M. Gaud, A. Charnot et M. Langlais. *Bull. Inst. Hyg. Maroc*, **No. 1**, 1 (1934)
- <sup>109</sup> A. Gautier et P. Clausmann. *Compt. rend.*, **154**, 1469, 1670, 1753 (1912)
- <sup>110</sup> A. Gautier et P. Clausmann. *Compt. rend.*, **156**, 1347 (1913)
- <sup>111</sup> A. Gautier et P. Clausmann. *Compt. rend.*, **157**, 94 (1913); et aussi: *Bull. soc. chim. France*, **13**, 159 (1913)
- <sup>112</sup> J. M. Glassman et R. F. Buchan. *Occupational Med.*, **5**, 536, 560 (1948)
- <sup>113</sup> D. M. Glénard. *Gaz. méd. Lyon*, **6**, 263 (1854)
- <sup>114</sup> G. E. Glock, F. Lowater et M. M. Murray. *Biochem. J.*, **35**, 1235 (1941)
- <sup>115</sup> C. H. Gmelin. "Versuche über die Wirkungen des Baryts, Strontians, u.s.w. auf den thierischen Organismus", Tübingen, p. 43 (1824). Cité par F. Challenger. *Chem. Reus.*, **36**, 315 (1945)
- <sup>116</sup> L. Goldemberg et J. Schraiber. *Compt. rend. soc. biol.*, **120**, 816 (1935)
- <sup>117</sup> M. Goldschmidt. *Ber. Versamml. deut. Ophthalmol. Ges.*, **43**, 129 (1922)
- <sup>118</sup> V. Gorlitzer. Cité par Goldemberg et Schraiber <sup>116</sup>
- <sup>119</sup> I. Gray et E. L. Belknap. *J. Am. Med. Assoc.*, **104**, 201 (1935)
- <sup>120</sup> S. Gray et K. Sterling. *Science*, **112**, 179 (1950); cf. *égalt.: J. Clin. Invest.*, **29**, 1604 (1950)
- <sup>121</sup> S. Gray et H. Franck. *J. Lab. Clin. Invest.*, **32**, 1000 (1953)
- <sup>122</sup> H. Griffon, L. Derobert et P. Clavelin. *Ann. méd. légale criminol. et police sci.*, **27**, 165 (1947)
- <sup>123</sup> H. Griffon et R. Le Breton. *Ann. méd. légale criminol. et police sci.*, **30**, 335 (1950)
- <sup>124</sup> H. Griffon. *Ann. pharm. franç.*, **13**, 258 (1955)
- <sup>125</sup> M. Guerbet. "Recherche toxicologique du dinitrophénol et de l'acide picrique", Brochure du Ministère français de l'Armement et des Fabrications de guerre (1914-1918)
- <sup>126</sup> M. Guerbet et A. Mayer. *Ann. physiol. physicochim. biol.*, **8**, 117 (1932); cf. *égalt.: Chem. Abs.*, **26**, 56 (1932)
- <sup>127</sup> J. Guilhaon, R. Truhaut et J. Bernuchon. *Compt. rend.*, **247**, 360 (1958)
- <sup>128</sup> A. Hadengue, Y. Barre, J. Manson, R. Le Breton et J. Charlier. *Arch. maladies profess. méd. travail et sécurité sociale*, **18**, 561 (1957)
- <sup>129</sup> A. Hamilton et H. Hardy. *Industrial Poisoning* (2<sup>e</sup> éd.), p. 170, Paul Bhoeber, New York (1949)
- <sup>130</sup> R. N. Harger, E. B. Lamb et H. R. Hulpieu. *J. Am. Med. Assoc.*, **110**, 779 (1938)
- <sup>131</sup> V. Harlay et P. Malangeau. *J. pharm. chim.*, **30**, 105 (1939)
- <sup>132</sup> H. Hartmann, E. Chytrek et R. Ammon. *Z. physiol. Chem. Hoppe-Seyler's*, **265**, 52 (1940)
- <sup>133</sup> D. G. Harvey. *Lancet*, **1**, 796 (1952)
- <sup>134</sup> T. Hashimoto. *Folia Pharmacol. Japon.*, **49**, 316 (1953)
- <sup>135</sup> W. J. Hayes, W. F. Durham et C. Cueto. *J. Am. Med. Assoc.*, **162**, 890 (1956)
- <sup>136</sup> W. J. Hayes. Cité par R. W. Fay, *Chem. Specialities Mfrs. Assoc., Proc. 43rd Ann. Meeting*, Décembre (1956)
- <sup>137</sup> M. Heinrich et F. E. Kelsey. *J. Pharmacol. Exptl. Therap.*, **11**, 28 (1955)
- <sup>138</sup> A. Hennequet, P. Debris et J. Mane. *Ann. Pédiat., Semaine hôp.*, **9**, 163 (1958)
- <sup>139</sup> C. Heusghem, F. Mignolet, M. Vivario et Z. M. Bacq. *Acta Média Leg. et Soc.*, **No. 1**, 1 (1948)
- <sup>140</sup> H. Hildebrandt. *Beitr. chem. Physiol. Pathol.*, **9**, 472 (1907)
- <sup>141</sup> H. C. Hodge, E. M. Luce Clausen et E. F. Brown. *J. Nutrition*, **17**, 333 (1939)
- <sup>142</sup> D. M. Hubbard. *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.*, **13**, 915 (1941)
- <sup>143</sup> J. A. Jensen, C. Cueto, W. E. Dale, C. F. Rothe, G. W. Pearce et A. M. Mattson. *Agr. Food Chem.*, **12**, 919 (1957)

LIMITES TOLÉRABLES DANS LES MILIEUX BIOLOGIQUES

- 144 M. Jaffe et P. Gilbert. *Z. physiol. Chem. Hoppe-Seyler's*, **17**, 295 (1888)
- 145 W. W. Jetter, M. Moore et G. C. Forestier. *Am. J. Clin. Pathol.*, Suppl. V, 75 (1941)
- 146 W. S. Johnson et N. E. Whitman. *Arch. Ind. Hyg. Occupational Med.*, **2**, 170 (1950)
- 147 J. D. Judah. *Brit. J. Pharmacol.*, **4**, 120 (1949)
- 148 J. P. McKaveney et H. Freiser. *Anal. Chem.*, **29**, 290 (1957)
- 149 K. Kay, L. Monkman, J. P. Windish, T. Doherty, J. Pare et C. Racicot. *Arch. Ind. Hyg. Occupational Med.*, **6**, 252 (1952)
- 150 E. Keeser. *Deut. med. Wochschr.*, **57**, 398 (1931)
- 151 E. Keeser et E. Vincke. *Klin. Wochschr.*, **19**, 583 (1940)
- 152 E. Keeser et J. Alberty. *Klin. Wochschr.*, **26**, 212 (1948)
- 153 R. A. Kehoe, J. Cholak et R. V. Story. *J. Nutrition*, **19**, 579 (1940); **20**, 85 (1940)
- 154 C. A. Kempf, D. A. Greenwood et V. E. Nelson. *J. Lab. Clin. Med.*, **22**, 1133 (1937)
- 155 J. A. A. Ketelaar. *Compt. rend. congr. intern. Phytopharm. 3<sup>e</sup> Congr., Paris*, p. 830 (1952)
- 156 J. E. Kench, R. E. Lane et H. Varley. *Brit. J. Ind. Med.*, **9**, 153 (1952)
- 157 O. R. Klimmer. Communication personnelle
- 158 M. F. Kosai et A. J. Boyle. *Ind. Med. and Surg.*, **25**, 1 (1956)
- 159 K. Kraft et R. May. *Z. physiol. Chem. Hoppe-Seyler's*, **246**, 233 (1937)
- 160 A. Krishen et H. Freiser. *Anal. Chem.*, **29**, 288 (1957)
- 161 J. Kubistova. *Experientia*, **12**, 233 (1956)
- 162 F. M. Kunze, E. P. Lang et C. S. Prickett. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **75**, 415 (1950)
- 163 G. Limperos et K. E. Ranta. *Science*, **117**, 453 (1953)
- 164 F. Lancis et R. Penalver. *Proc. XII intern. congr. Occupational Health, Helsinki*, p. 280 (1957)
- 165 E. P. Lang, A. A. Nelson, O. G. Fitzhugh et F. M. Kunze. *J. Pharmacol. Exptl. Therap.*, **98**, 268 (1950)
- 166 E. P. Laug, F. M. Kunze et C. S. Prickett. *Arch. Ind. Hyg. Occupational Med.*, **3**, 245 (1951)
- 167 De Langen et J. A. G. Ten Berg. *Acta Med. Scand.*, **130**, 37 (1948)
- 168 E. J. Largent. *J. Ind. Hyg.*, **26**, 113 (1944)
- 169 E. J. Largent et I. F. Ferneau. *J. Ind. Hyg.*, **29**, 53 (1947)
- 170 E. J. Largent. *Proc. 1st Natl. Air Pollution Symposium, Pasadena*, p. 129 (1949)
- 171 E. J. Largent et J. Cholak. Données non publiées. Citées par E. C. Albritton. *Standard Values in Blood* (2<sup>e</sup> éd.) Saunders, Philadelphie et Londres, p. 119 (1953)
- 172 M. Lawrenz, H. H. Mitchell et W. A. Ruth. *J. Nutrition*, **18**, 127 (1939); **19**, 531 (1940)
- 173 G. Leaf et L. J. Zatman. *Brit. J. Ind. Med.*, **9**, 19 (1952)
- 174 P. Leheuzey. *Thèse Doctorat en Pharmacie*, Paris (1943) et *Ann. pharm. franç.*, **1**, 49 (1943)
- 175 A. C. Lemos. "Contribution à l'étude toxicologique expérimentale du manganèse"; *Thèse de Doctorat en Pharmacie*, Paris (1938), Rodstein, Paris (1938)
- 176 E. Leschke. *Clinical Toxicology; The Gloucester Series*, Churchill, Londres (1934)
- 177 J. Lieben, R. K. Waldman et L. Krause. *Arch. Ind. Hyg. Occupational Med.*, **6**, 491 (1952); **7**, 93 (1953)
- 178 J. Lieben, R. K. Waldman et L. Krause. *Arch. Ind. Hyg. Occupational Med.*, **7**, 93 (1953)
- 179 G. Liljestrand. *Skand. Arch. Physiol.*, **60**, 273 (1930)
- 180 A. E. Lindner et C. H. Brieskorn. *Pharmazie*, **2**, 542 (1947)
- 181 W. H. Lockwood. *Australian J. Exptl. Biol. Med. Sci.*, **31**, 457 (1953)
- 182 A. Lund. *Acta Pharmacol. Toxicol.*, **4**, 108 (1948)
- 183 W. Machle. *Dental Cosmos*, Juin (1936)
- 184 W. Machle, E. W. Scott et J. Treon. *Am. J. Hyg.*, **29**, 139 (1939)
- 185 W. Machle, E. W. Scott et E. J. Largent. *J. Ind. Hyg. Toxicol.*, **24**, 199 (1942)
- 186 D. P. Malinga. *Compt. rend. acad. sci. U.R.S.S.*, **31**, 145 (1941)
- 187 C. C. Maloof. *Arch. Ind. Hyg. Occupational Med.*, **1**, 296 (1950)
- 188 A. M. Mattson, J. T. Spillane, C. Baker et G. W. Pearce. *Anal. Chem.*, **25**, 1065 (1953)
- 189 R. M. Mayer. *Deut. Z. ges. gerichtl. Med.*, **26**, 250 (1936)
- 190 S. L. Maynard. *J. Clin. Invest.*, **35**, 831 (1956)
- 191 S. F. Meek, T. Mooney et G. C. Harrold. *Ind. Med.*, **17**, 469 (1948)
- 192 G. Meillère. *Compt. rend. soc. biol.*, **55**, 518 (1903)
- 193 R. H. De Meio. *J. Ind. Hyg. Toxicol.*, **29**, 393 (1947)
- 194 R. H. De Meio et F. C. Henriques. *J. Biol. Chem.*, **169**, 611 (1947)
- 195 P. L. Metcalf et R. B. March. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, **46**, 63 (1953)
- 196 F. Mignolet, C. Heusghem et Z. M. Bacq. *Rev. méd. Liège*, **2**, No. 12 (1947)
- 196<sup>b</sup> Millon. Cité par D. M. Glénard. *J. pharm. chim.*, **26**, 184 (1854)
- 197 R. A. Mortenson et K. E. Kellog. *J. Cellular Comp. Physiol.*, **23**, 11 (1944)

- 198 J. T. Mountain, H. Zlotov et G. T. O'Connor. *Ind. Health Month.*, **11**, 88 (1951)
- 199 P. Moureau. *Rev. méd. Liège*, **5**, 36 (1950)
- 200 F. Muller. *Deut. med. Wochschr.*, **13**, 27 (1887); cf. égalt.: L. M. Meyer, *Experientia*, **6**, 241 (1950)
- 201 D. K. Myers, B. Mendel, H. R. Gersmann et J. A. Ketelaar. *Nature*, **170**, 805 (1952)
- 202 P. A. Neal, T. R. Sweeney, S. S. Spicer et W. F. von Oettingen. *U.S. Public Health Repts.*, **61**, 403 (1946)
- 203 H. W. Newman, N. Van Winkle, N. K. Kennedy et M. C. Morton. *J. Pharmacol. Exptl. Therap.*, **68**, 194 (1940)
- 204 R. E. H. Nicholas et C. Rimington. *Scand. J. Clin. & Lab. Invest.*, **1**, 12 (1949)
- 205 J. Nickles. *Compt. rend.*, **43**, 885 (1956)
- 206 M. Nicloux. "Recherches expérimentales sur l'élimination de l'alcool dans l'organisme —détermination d'un alcoolisme congénital", Doin, Paris (1900)
- 207 M. Nicloux et A. Placet. *J. physiol. et pathol. gén.*, **14**, 916 (1912)
- 208 R. B. Ofner et H. O. Calvery. *J. Pharmacol. Exptl. Therap.*, **85**, 363 (1945)
- 209 P. Ortega, W. J. Hayes, W. F. Durham et A. M. Mattson. "D.D.T. in the diet of the rat", *Public Health Monograph, No. 43* (1956)
- 210 J. E. Pankaskie, F. C. Fontaine et P. A. Dahm. *Proc. 119th Meeting, Am. Chem. Soc.*, **9 A** (1951); et égalt.: *J. Econ. Entomol.*, **52** (1952)
- 211 V. H. Parker. *Analyst*, **74**, 646 (1949)
- 212 L. Parmeggiani. Communication personnelle
- 213 G. W. Pearce, A. M. Mattson et W. J. Hayes. *Science*, **116**, 254 (1952)
- 214 A. W. Peirce. *Nutrition Abstr. & Revs.*, **9**, 253 (1939-1940)
- 215 R. G. Perkins. "A study of the nutrition intoxications in France", *U.S. Public Health Repts.*, **34**, 2355 (1919)
- 216 R. A. Peters, L. A. Stocken et H. W. Thompson. *Nature*, **156**, 616 (1945)
- 217 Petrequin et Burin Dubuisson. Cités dans un éditorial du *J. pharm. chim.*, **21**, 469 (1852)
- 218 B. Pierquin, J. Abbatucci et M. Tubiana. *Bull. assoc. franç. étude cancer*, **41**, 414 (1954)
- 219 Pollacci. *Riv. Sci.*, **2**, 75 (1870)
- 220 N. Preda, G. T. Dinischiotu, L. Pilot et C. Ionescu. *Arch. maladies profess. méd. travail et sécurité sociale*, **18**, 145 (1957)
- 221 J. L. Radomski et B. Davidow. *J. Pharmacol. Exptl. Therap.*, **107**, 266 (1952)
- 222 W. Reisert. *Am. J. Pharm.*, **56**, 177 (1884)
- 223 A. Riche. *J. pharm. chim.*, **27**, 538 (1878)
- 224 M. Rejsková et K. Rejsek. *Acta med. leg. et soc.*, **1**, No. 2 (1949)
- 225 C. J. Rodden. *J. Research Natl. Bur. Standards*, **24**, 7 (1940)
- 226 J. Rodier, R. Mallet et L. Rodi. *Arch. maladies profess. méd. travail. et sécurité sociale*, **15**, 210 (1954)
- 227 J. Rodier, R. Mallet et L. Lodi. *Bull. Inst. Hyg. Maroc*, **14**, 143 (1954)
- 228 O. Roe. *Acta Med. Scand.*, **131**, 558 (1943) et *Suppl.*, **126**, 182 (1946)
- 229 K. Roholm. *Handbuch Exptl. Pharmacol.*, **7**, 1 (1938); cf. égalt.: *Fluorine Intoxication*, Lewig, Londres (1937)
- 230 C. F. Roth, A. M. Mattson, R. M. Nuestein et W. J. Hayes. *A.M.A. Arch. Ind. Health*, **16**, 82 (1957)
- 230b F. J. W. Roughton. *Am. J. Physiol.*, **143**, 609 (1945)
- 231 B. Rubin, S. Cignac, S. P. Bessman et E. L. Belknap. *Science*, **117**, 659 (1953)
- 232 J. Ruttnik. *Acta Physiol. et Pharmacol. Neerl.*, **5**, 236 (1956)
- 233 J. Rydberg. *Arkiv. Kemi*, **8**, 113 (1955); **9**, 95 (1955)
- 234 H. W. Ryder, J. Cholak et R. A. Kehoe. *Science*, **104**, 63 (1947)
- 235 E. Salvini. *Folia Med. Naples*, **38**, 111, 168 (1955)
- 236 C. Sassi, N. Zurlo, E. Bartalini et L. Metrico. *Med. lavoro*, **46**, 251 (1955)
- 237 J. A. Scherrer. *J. Research Natl. Bur. Standards*, **16**, Research paper 871, (1936)
- 238 H. H. Schrenk, W. P. Yant et R. R. Sayers. *J. Am. Med. Assoc.*, **107**, 849 (1936)
- 239 P. Schuler, H. Oya Nguren, V. Haturana, A. Valenzuela, E. Cruz, V. Plaza, E. Schmidt et R. Haddad. *Ind. Med.*, **26**, 167 (1957)
- 240 J. Schultz et H. B. Lewis. *J. Biol. Chem.*, **133**, 199 (1940)
- 241 S. Schwartz et al. Cités par R. Schmidt et al.<sup>243</sup>
- 242 S. Schwartz, C. Zieve et C. J. Watson. *J. Lab. Clin. Med.*, **37**, 843 (1951)
- 243 R. Schmidt, S. Schwartz et C. J. Watson. *Acta Haematol.*, **10**, 150 (1953)
- 244 E. W. Scott et A. L. Henne. *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.*, **7**, 299 (1935)

## LIMITES TOLÉRABLES DANS LES MILIEUX BIOLOGIQUE

- 245 C. Seghini. *Med. lavoro*, **32**, 197 (1941)
- 246 G. R. Sharpless. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **34**, 562 (1936)
- 247 D. O. Shields. *Australian Ann. Med.*, **4**, 178 (1955)
- 248 D. O. Shields et D. L. G. Thoman. *A.M.A. Arch. Ind. Health*, **13**, 489 (1956)
- 249 J. B. Sidbury, J. C. Bynum et L. L. Fetz. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **82**, 226 (1953)
- 250 J. B. Sidbury. *Am. J. Med.*, **18**, 932 (1955)
- 251 J. Simon. *Bull. soc. ital. biol. Sper.*, **8**, 1376 (1935)
- 252 A. Sluyters. *Ned. Tijdschr. Geneesk.*, **7**, 3678 (1929)
- 253 S. Smith. *Forensic Medicine* (8<sup>e</sup> éd.), Churchill, Londres, p. 467 (1945)
- 254 J. Smith, R. Smithies et R. T. Williams. *Biochem. J.*, **54**, 225 (1953)
- 255 F. A. Smith, D. E. Gardner et H. C. Hodges. *A.M.A. Arch. Ind. Health*, **11**, 2 (1955)
- 256 T. Sollmann. *Manual of Pharmacology* (8<sup>e</sup> éd.), Saunders, Philadelphie et Londres, p. 1231 (1957)
- 257 J. F. Steinbach et H. Freiser. *Anal. Chem.*, **25**, 881 (1953); **26**, 375 (1954)
- 258 J. Sternburg, C. W. Kearns et W. N. Bruce. *J. Econ. Entomol.*, **43**, 214 (1950)
- 259 A. Stock et N. Neuenchwander-Lemmer. *Ber. deut. chem. Ges.*, **71**, 550 (1938)
- 260 E. F. Stohman et M. I. Smith. *J. Pharmacol. Exptl. Therap.*, **84**, 375 (1945)
- 261 B. J. Stokvis. *Z. klin. Med.*, **28**, 1 (1895)
- 262 B. Stuber et K. Lang. *Z. klin. Med.*, **108**, 423 (1908); *Biochem. Z.*, **212**, 96 (1929)
- 263 W. T. Symmerford, W. J. Hayes, J. M. Johnston, K. Walker et J. Spillane. *Arch. Ind. Hyg. Occupational Med.*, **7**, 383 (1953)
- 264 J. Teisinger et J. Srbova. *Arch. maladies profess. méd. travail et sécurité sociale*, **16**, 216 (1955)
- 265 J. Teisinger et V. Fiserova-Bergerova. *Arch. maladies profess. méd. travail. et sécurité sociale*, **16**, 221 (1955)
- 266 J. Teisinger et J. Srbova. *Arch. Gewerbepathol. Gewerbehyg.*, **14**, 579 (1955)
- 267 J. Teisinger. "Tests biologiques d'exposition", Rapport présenté à ce symposium
- 268 J. G. Telfer. *J. Am. Med. Assoc.*, **135**, 835 (1947)
- 269 F. Thomas, M. Sebruyns et B. B. J. Cuvelier-Blyau. *Ann. méd. légale criminol. et police sci.*, **26**, 67, 115 (1946)
- 270 N. Thyresson. *Acta Dermato.-Venereol.*, **31**, 2 (1951)
- 271 J. F. Treon, W. E. Crutchfield et K. V. Kitzmiller. *J. Ind. Hyg. Toxicol.*, **25**, 323 (1943)
- 272 R. Truhaut. "Les fluoroses—leur importance en hygiène industrielle et en hygiène alimentaire—les méthodes analytiques applicables à leur étude", Sedes, Paris (1948)
- 273 R. Truhaut. "Les effets biologiques du thallium—étude analytique, biochimique, pharmacodynamique et toxicologique", *Thèse de Doctorat ès-sciences naturelles*, Paris (1952), Dermont, Paris (1952)
- 274 R. Truhaut. "Localisation et rythme d'élimination du thallium au cours des intoxications expérimentales", Communication faite au 2<sup>e</sup> Congr. intern. biochim., Paris, Juillet (1952); cf. aux *Compt. rend.* de ce Congrès, p. 441
- 275 R. Truhaut. *Ann. pharm. franç.*, **11**, 46 (1953)
- 276 R. Truhaut et C. Boudene. *Arhiv. hig. rada*, **5**, 19 (1954)
- 277 R. Truhaut. *Arch. maladies profess. méd. travail. et sécurité sociale*, **15**, 431 (1954)
- 278 R. Truhaut et G. Vitte. "Sur l'action mobilisante du dimercapto-2,3-propanol (B.A.L.) vis-à-vis de l'arsenic fixé dans l'organisme", Communication faite devant la Société de Pharmacie de Bordeaux à la séance du 6 Mai (1955)
- 279 R. Truhaut. *Bull. soc. sci. hyg. aliment.*, **43**, 79 (1955)
- 280 R. Truhaut. *Arch. maladies profess. méd. travail. et sécurité sociale*, **17**, 221 (1956)
- 281 R. Truhaut, P. Blanquet et L. Capot. *Compt. rend.*, **245**, 116 (1957)
- 282 R. Truhaut, P. Blanquet et L. Capot. *Compt. rend.*, **245**, 234 (1957)
- 283 R. Truhaut, P. Blanquet et L. Capot. *J. Méd. Bordeaux.*, **134**, 725 (1957)
- 284 R. Truhaut. *Bull. assoc. franç. contre cancer*, **44**, 500 (1957)
- 285 R. Truhaut et R. Prost. "Recherches sur le métabolisme de la benzidine", Abstracts of papers, 7<sup>e</sup> Congr. intern. cancer, Londres, p. 183, Juillet (1958)
- 286 R. Truhaut. "Recherches sur la toxicologie du thallium", Ouvrage édité par l'Institut National de Sécurité pour la Prévention des Accidents du Travail et des Maladies Professionnelles, Paris (1958)
- 287 R. Truhaut. *Ann. méd. légale et criminol. police sci. et toxicol.*, **38**, 189 (1958)
- 288 R. Truhaut. Résultats non publiés
- 289 R. Truhaut et P. Tronche. Résultats non publiés
- 290 G. H. Twombly, C. Zomzely et H. Meislich. *Acta Unio Intern. contra cancerum*, **13**, 23 (1957)

R. TRUHAUT

- <sup>281</sup> F. P. Underhill. *J. Biol. Chem.*, **19**, 513 (1914)
- <sup>282</sup> L. Van Itallie. *Pharm. Weekblad*, **69**, 1134 (1937)
- <sup>283</sup> L. Van Itallie. *J. pharm. chim.*, **25**, 97 (1937)
- <sup>284</sup> L. Van Itallie. *J. pharm. chim.*, **26**, 289 (1937)
- <sup>285</sup> A. Vannotti. *Arch. Gewerbepathol. Gewerbehyg.*, **8**, 240 (1937)
- <sup>286</sup> E. C. Vigliani et N. Zurlo. *Brit. J. Ind. Med.*, **8**, 218 (1951)
- <sup>287</sup> E. C. Vigliani et N. Zurlo. "Hommage au Doyen René Fabre", Sedes, Paris, p. 445 (1956)
- <sup>288</sup> G. Vitte et A. Robillard. *Bull. soc. pharm. Bordeaux*, **84**, 90 (1946)
- <sup>289</sup> G. Vitte. *Ann. méd. légale criminol. et police sci.*, **28**, 164 (1948)
- <sup>290</sup> S. von Eicken. *Angew. Chem.*, **66**, 551 (1954)
- <sup>291</sup> H. Vollebrück. *Arch. Pathol. Pharmacol.*, **137**, 731 (1937)
- <sup>292</sup> R. K. Waldman et R. M. Seidemann. *Arch. Ind. Hyg. Occupational Med.*, **1**, 290 (1950)
- <sup>293</sup> R. K. Waldman et L. A. Krause. *Occupational Health*, **12**, 37 (1952)
- <sup>294</sup> R. K. Waldman, J. Lieben et L. Krause. *Arch. Ind. Hyg. Occupational Med.*, **9**, 37 (1954)
- <sup>295</sup> C. J. Watson, R. Prineta de Melic, S. Schwartz, V. Hawkinson et I. Bossenmaier. *J. Lab. Clin. Invest.*, **37**, 831 (1951)
- <sup>296</sup> C. J. Watson. *J. Lab. Clin. Invest.*, **15**, 327 (1936)
- <sup>297</sup> C. J. Watson et E. A. Larson. *Physiol. Revs.*, **27**, 3 (1947)
- <sup>298</sup> O. A. Weber et F. Valie. *Arhiv. hig. rada*, **4**, 511 (1953)
- <sup>299</sup> H. Weese. *Arch. exp. Pathol. Pharmacol., Naunyn-Schmiedeberg's*, **135**, 118 (1928)
- <sup>300</sup> W. C. White et T. R. Sweeney. *U.S. Public Health Repts.*, **60**, 66 (1945)
- <sup>301</sup> H. H. Willard et C. B. Wynter. *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.*, **5**, 7 (1933); cf. égalit: W. H. MacIntyre et J. W. Hammond. *J. Assoc. Agr. Chemists*, **22**, 231 (1939)
- <sup>302</sup> W. Willcox. *Trans. Med.-Leg. Soc.*, **16**, 185 (1927)
- <sup>303</sup> W. Willcox. *Lancet*, **213**, 970 (1927)
- <sup>304</sup> R. T. Williams. *Detoxication Mechanisms*, Chapman et Hall, Londres (1947)
- <sup>305</sup> J. W. Williams et J. T. Griffiths. *J. Florida Med. Assoc.*, **37**, 707 (1951)
- <sup>306</sup> F. P. W. Winteringham, A. Harrison, C. R. Jones, J. I. McGir et W. H. Templeton. *J. Sci. Food Agr.*, **No. 7**, 214 (1950)
- <sup>307</sup> F. P. W. Winteringham, P. M. Loveday et A. Harrison. *Nature*, **167**, 106 (1951)
- <sup>308</sup> W. Wirth. Rapport présenté à la Journée de Médecine du Travail de Bad Homburg, Octobre (1953)
- <sup>309</sup> G. Woodward, B. Davidow et A. A. Nelson. *Federation Proc.*, **7**, 267 (1948)
- <sup>310</sup> H. Wulle. *Z. physiol. Chem. Hoppe-Seyler's*, **260**, 169 (1939)
- <sup>311</sup> Wurzer. Cité par le Dr Hannon. *Gaz. med. Strasbourg*, **9**, 178 (1849)
- <sup>312</sup> J. Wyllie. *A.M.A. Arch. Ind. Health*, **12**, 396 (1955)
- <sup>313</sup> E. Zdarek. *Z. physiol. Chem. Hoppe-Seyler's*, **69**, 127 (1910)
- <sup>314</sup> Clinical memoranda on economic poisons: Biochem. Édité par U.S. Public Health Service Communicable Disease Center, Atlanta, Georgia, Avril (1956)
- <sup>315</sup> Rapport d'une conférence tenue au Massachusetts General Hospital, *Arch. Ind. Hyg. Occupational Med.*, **7**, 137 (1953)
- <sup>316</sup> "Insecticide storage in adipose tissue", *J. Am. Med. Assoc.*, **145**, 735 (1951)
- <sup>317</sup> *Étude sur l'action pharmacologique du dinitro-2,4-phénol, et des phénols nitrés*, Doin, Paris (1932), voir particulièrement M. Guerbet, p. 92-114, et M. Guerbet et A. Mayer, p. 117-121
- <sup>318</sup> Tableaux des Maladies Professionnelles annexés au décret No. 46-2959, Imprimerie Nationale, Paris, Décembre (1946)
- <sup>319</sup> Report of Sub-Committee on determination of fluorine in food. *Analyst*, **69**, 243 (1944)
- <sup>320</sup> O.M.S. Série des rapports techniques No. 114, Genève, Décembre (1956)