

De modèles toxicologiques simples à la prédiction d'effets toxiques dans le temps

Francisco Sanchez-Bayo¹

(Traduction Christian Pacteau)

Accepted: 4 December 2008 / Published online: 17 December 2008
Springer Science+Business Media, LLC 2008

Résumé. La capacité de prédire les effets des toxiques dans les organismes avec une précision raisonnable dépend en grande partie du modèle cinétique toxique utilisé pour décrire ses effets. Les effets toxiques des produits chimiques organiques et des métaux lourds ont été décrits de manière correcte en utilisant un modèle hyperbolique qui considère la concentration du toxique et le temps d'exposition seulement. De tels modèles relient le temps médian d'effet (TE_{50}) à un produit chimique pour estimer les effets à n'importe quelle durée d'exposition, mais ils ne peuvent pas prédire les effets pour des concentrations autres que celles testées expérimentalement. Un modèle complémentaire log-log peut calculer toutes les valeurs pour un toxique, permettant ainsi au modèle hyperbolique de prédire les effets à quelque niveau que ce soit pour quelques combinaisons que ce soit de concentration et de temps d'exposition. Les valeurs de paramètres utilisés dans les deux modèles sont obtenues lors de bio-essais expérimentaux ou le temps d'effets du toxique est enregistré régulièrement en plus des données de la toxicité aiguë ou chronique. Ces données faciliteront l'évaluation du risque des produits chimiques (1) en prédisant les effets pour n'importe quelle combinaison de durée et de concentration, et (2) en réduisant au minimum les travaux expérimentaux nécessaires pour obtenir des données de toxicité globale.

Mots clés. Modélisation. Évaluation du risque. Exposition. Relations durée - dose. Insecticides.

Introduction

La prédiction des effets toxiques des produits chimiques sur les organismes est le premier but de l'écotoxicologie (Truhaut 1977). L'approche traditionnelle basée sur les relations doses-réponses considère typiquement les effets toxiques à des durées d'expositions fixes, de sorte que l'estimation des doses ou de concentrations requises pour produire n'importe quel niveau d'effets (percentile) peut seulement être donnée pour ces durées. Parce que la toxicité est un processus qui prend place dans le temps (Mackay et al. 1992), cette approche traditionnelle est, cependant, incapable de permettre une extrapolation à partir des critères d'évaluation mesurés (e.g. 96-h CL_{50}) pour des effets qui peuvent se produire pour d'autres durées d'exposition (e.g. 60h CL_{50}), ainsi les limites de notre capacité de prédictions sont énormes. Il n'est pas surprenant que les bases de données toxicologiques actuelles soient de simples collections de valeurs de critères d'évaluation obtenus pour des durées fixes, sans relation avec la durée (*réelle*) d'exposition, de telles valeurs ne peuvent être utilisées pour faire des prédictions pour deux larges gammes de durée d'exposition dans l'environnement, et ainsi sont-elles peu pertinentes pour l'évaluation des risques. Afin de surmonter ce handicap, un nombre croissant de chercheurs ont utilisé une variante du protocole de test toxicologique traditionnel, laquelle inclut des mesures des effets à plusieurs durées d'exposition, et pas seulement juste pour 24, ou 48, ou 96 heures. Cette approche par le temps-d'apparition-d'un-événement (TTE, Time-To-Event) est très puissante, comme elle fournit les informations sur les doses acquises aussi bien que sur les durées d'exposition nécessaires pour qu'un composé toxique produise quelque niveau d'effets que cela soit sur les organismes testés (Newman et McCloskey 1996). En conséquence, les extrapolations et les prédictions des effets toxiques pour quelques combinaisons de concentration et de durées sont maintenant possibles.

L'inclusion des durées d'exposition en toxicologie n'est pas nouvelle (voir par exemple Bliss 1937 ; Sprague 1969), mais leur utilisation dans les tests standards en toxicologie ont été négligées jusqu'à récemment. Un des fils conducteurs de cette nouvelle approche a été de tenir

¹ F. Sanchez-Bayo

Department of Environmental Sciences, Centre for Ecotoxicology, University of Technology-Sydney, C/-P.O. Box 29, Lidcombe, NSW 1825, Australia
e-mail: sanchezbayo@mac.com

compte du fait que l'exposition à la plupart des polluants se produit souvent de manière épisodique par impulsion plutôt que de manière continue (Pascoe et Shazili 1986 ; McCahon et Pascoe 1990). En effet, pour analyser et comparer les impacts des produits toxiques appliqués par impulsion ou de manière continue la durée d'exposition requise pour enregistrer les effets doit être prise en considération. Beaucoup de modélisations ont été tirées de ces investigations sur l'exposition aux contaminants (Hickie et al. 1995 ; Chaiksuksant et al. 1997 ; Hoang et al. 2007), et une revue de leur application pour l'évaluation des risques en milieu aquatique peut-être trouvée in Reinert et al. (2002). Tandis que des modèles de toxicocinétiques comme PULSETOX (Hickie et al. 1995) et DEBtox (Kooijman 2000) sont basés sur des hypothèses de mécanismes qui considèrent les taux de consommation et de transfert de produits chimiques entre les compartiments (MacCarty et Mackay 1993 ; Bedaux et Kooijman 1994), d'autres méthodes sont empiriques et consistent typiquement en droites de régression ajustées pour transformer les données expérimentales. Dans les deux cas, les taux, les constantes et les coefficients utilisés dans les modèles sont spécifiques pour le composé toxique et les organismes concernés, et doivent être obtenus à partir d'ensemble de données expérimentales.

Dans la même ligne de recherche, nous avons démontré dans un précédent travail (Sanchez-Bayo et Goka 2007) que les effets toxiques dans le temps peuvent être décrits par un modèle hyperbolique qui utilise l'expression en mathématiques de Michaelis-Menten. Le modèle pourrait être appliqué aussi bien aux effets de toxicité aiguë qu'aux effets de toxicité à long terme (chronique) pour les contaminants organiques ou les métaux lourds, et utilisé également pour les paramètres létaux et non-létaux pour une gamme d'organismes aquatiques, des algues au zooplancton, des crustacés aux poissons. Par essence le modèle hyperbolique est une version simplifiée du 4-modèle-sigmoïde-paramètre communément utilisé en toxicologie (Brisbin 1990 ; Forbes et al. 2001). Le grand avantage du modèle hyperbolique est sa dépendance de deux variables seulement : la concentration en produits toxiques et la durée d'exposition, deux variables qui sont reconnues par les chercheurs. Le modèle d'équation requiert, cependant, d'entrer la durée (Temps) pour laquelle 50 % des Effets se produisent (TE_{50}) (Temps d'Effet) et ce paramètre doit être calculé pour chaque concentration de produits chimiques dans les bio-essais TTE utilisant l'une des procédures standards disponibles (e.g. modèles probit, logit ou Weibull). Enfin, le modèle hyperbolique relie aussi bien des ensembles spécifiques de données expérimentales que le font d'autres modèles. Bien que ceci ne soit pas une faiblesse caractéristique du modèle, le modèle hyperbolique ne permet pas d'estimer des effets dans le temps pour des concentrations autres que celles testées. Comment pouvons-nous ensuite extrapoler pour des effets à des concentrations inconnues ?

Le présent document vise à fournir un modèle pour calculer les ET_{50} s de concentrations inconnues pour des composés toxiques, lesquels peuvent ensuite être utilisés dans un modèle hyperbolique pour estimer les effets toxiques dans les organismes quel que soit le temps

d'exposition pour n'importe quel niveau de préoccupation. Alternativement, les TE_{50} s calculés peuvent aussi bien être utilisées avec d'autres modèles, car ils représentent des valeurs médianes des effets pour des concentrations données.

Ces résultats trouvent une application pratique dans l'évaluation des risques, parce qu'ils permettent la prédiction directe d'effets de toxiques pour quelques combinaisons de dose, de concentration et de durée (Suter et al. 1987), même si ils résultent d'expositions par impulsion, subaiguë ou continue, à des produits chimiques.

Matériel et méthodes

Données expérimentales

Les données d'intérêt sont les médianes des Temps effectifs d'Effet TE_{50} s pour des produits chimiques toxiques variés et les organismes. De telles données sont reportées comme telles ou doivent être calculées à partir de données expérimentales ordonnées publiées dans des documents de recherche, comme indiqué ci-dessous. Sont aussi incluses des données non publiées de notre propre expérimentation.

Les produits chimiques toxiques considérés ici sont les métaux tels le cuivre, le zinc, le cadmium ($CdCl_2$) et des produits non métalliques, essentiellement un élément, le sélénium. Parmi les toxiques organiques, des ensembles complets de données toxiques avec les durées dans la littérature consultée ont été seulement trouvés pour les insecticides néonicotinoïdes imidaclopride et thiaclopride. Toutes les concentrations se réfèrent à des concentrations externes en milieu aqueux. La mortalité fut l'effet reporté dans tous les cas, aussi les TE_{50} s reportés ici sont en fait des TL_{50} s (TL =Temps Létaux), bien que le précédent acronyme sera utilisé dans le modèle qui est destiné à une application générale.

Les données d'une seule impulsion (exposition unique) pour *Daphnia magna* Straus au cuivre, zinc et sélénium ont été reprises de Hoang et al. (2007) qui indique les équations de régression (in Fig.1) ce qui permet le calcul des TE_{50} s pour une gamme de concentrations des éléments respectifs. Leurs équations furent dérivées d'une série d'expositions qui représentent 202 combinaisons différentes à des métaux, de concentrations en métaux, de durée d'impulsion de l'exposition et du nombre d'impulsions. Les durées d'exposition pour des impulsions uniques - les seules considérées ici - varient de 24 heures pour le sélénium à 150 heures (plus de six jours) pour le cuivre et est de 500h (21 jours) pour le zinc. La mortalité a été mesurée durant toutes ces périodes mais les expositions terminées entre les jours 1 et 6, en raison d'effets aigus ou latents, (Brent et Herricks 1998) durant la période post-exposition ont toutes les deux été incluses ici. Le lecteur est invité à se référer à ce document pour une explication complète de la mise en œuvre et des conditions expérimentales utilisées par les auteurs.

Les données de toxicité chronique pour *D. magna* exposée au $CdCl_2$ pour 21 jours ont été tirées de

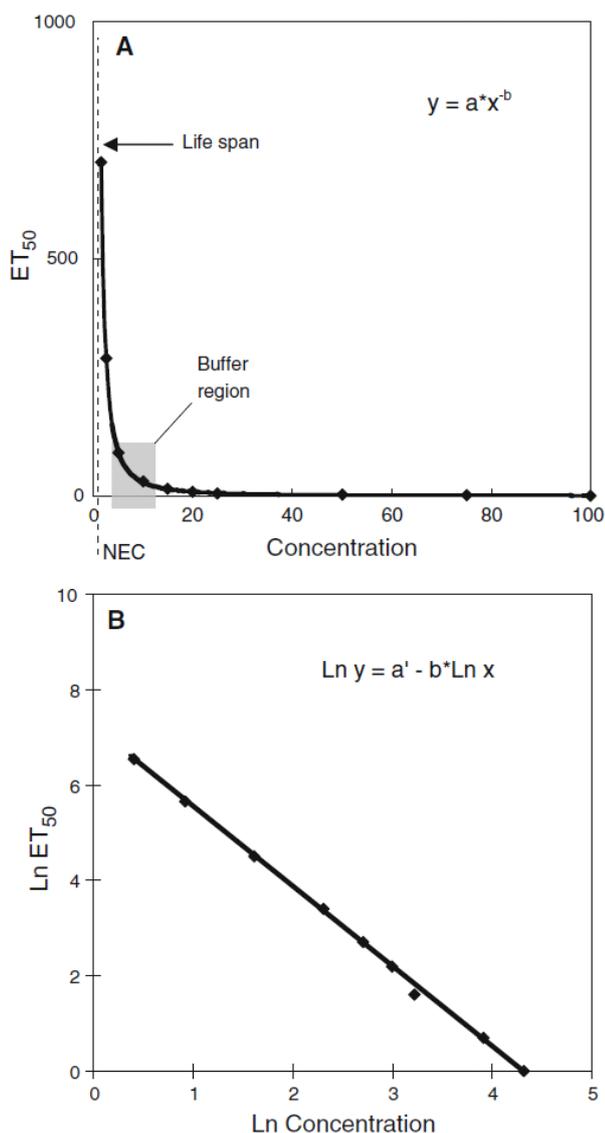


Fig. 1 a Les relations entre la concentration du toxique dans le milieu et les durées pour 50 % d'effets (TE₅₀) sur les organismes exposés suivent une courbe hyperbolique asymptotique sur l'axe des y ; en réalité, l'asymptote est déterminée par la concentration sans effet (NEC), bien que la limite supérieure de la courbe est déterminée par la durée de vie de l'organisme. **b** la même relation devient une droite si on utilise les logarithmes des deux variables. Voir le texte pour une explication de la région « tampon ».

Kooijman (1981). Les médias aqueux dans ce cas étaient rafraîchis à des intervalles réguliers pour assurer une concentration constante de la substance toxique dans le milieu, comme il est recommandé dans les tests de toxicité chronique. Les résultats montrent des effets cumulatifs du toxique au fil du temps, lequel suit une cinétique de premier ordre. La mortalité des cladocères à chacune des cinq concentrations testées fut enregistrée à plusieurs intervalles durant la période expérimentale entière, et les TE₅₀s furent calculés sur la base des données ordonnées publiées, elles furent aussi reportées dans notre document précédent (Sanchez-Bayo 2007).

Pour les poissons, les données d'exposition des guppys (*Poecilia reticulata* Peters) pour une exposition par impulsion à du zinc dilué furent tirées de Widianarko et al. (2001). Les données de survie furent enregistrées à

12h d'intervalle durant toute la durée de l'expérimentation (144 h). Dans ce cas le remplacement de 10 % de la solution de zinc avec de l'eau propre était fait toutes les 12h, ainsi on introduisait une dilution progressive, facteur qui affecte la survie : les auteurs signalèrent une stabilisation de la mortalité après 60 heures pour les plus basses concentrations testées (4,94 mg/l).

Une exposition à court terme (quatre jours) des Ostracodes vivant en eau fraîche *Cipridopsis vidua* O.F. Muller, à l'imidaclopride fut réalisée dans nos laboratoires. Les données ont été regroupées à partir de trois bio-essais différents, lesquels incluent quatre réplifications pour chacune des concentrations testées en accord avec les lignes directrices standard pour les cladocères (OCDE 1993). Les conditions de ces bio-essais sont décrites dans Sanchez-Bayo et Goka (2006), et l'ensemble des données et les calculs de ET₅₀s reportés dans Sanchez-Bayo et Goka (2007), les mêmes conditions expérimentales furent utilisées avec des tests de toxicité sur des cultures de *D. magna* exposées à un gradient de concentrations d'imidaclopride, mais dans ce cas les post-expositions de 4 à 10 jours furent utilisées.

Finalement, les données pour sept espèces d'arthropodes aquatiques exposés au thiaclopride furent tirées de Beketov et Liess (2008), où le lecteur peut trouver une description détaillée de leurs conditions expérimentales. Les auteurs ont rapporté la survie de trois espèces de crustacés (le cladocères *D. magna*, l'Isopode *Asellus aquaticus* L. et l'Amphipode *Gammarus pulex* L.) et les larves de quatre espèces d'insectes (la libellule *Sympetrum striolatum* Charpentier, le le Trichoptères *Notidobia ciliaris* L., la Simulie *Simulium latigonium* Rustov et le moustique *Culex pipiens molestus* Froskal). Les durées d'exposition varièrent entre 17 et 30 jours pour les crustacés, et entre 11 et 15 jours pour toutes les larves d'insectes, elles présentent ainsi des toxicités aiguës aussi bien en post-exposition qu'après une impulsion (exposition unique). Comme les valeurs des données originales ne pouvaient être obtenues dans ce cas, la survie de chaque espèce fut estimée à partir d'un graphique ; cette procédure introduit une erreur dans les calculs des ET₅₀s, lesquelles doivent ainsi être considérés comme des valeurs approximatives, mais fournissent encore un bon ensemble de données pour le but de ce travail.

Analyse des données

Le temps médian effectif pour entraîner 50 % de mortalité des organismes fut calculé pour chacune des concentrations essayées dans les bio-essais, en utilisant une régression log-normale pour les données de survie ci-dessus en fonction du temps d'exposition. Pour la survie de *Daphnia* exposée au cuivre, zinc et sélénium, Hoang et al. (2007) fournissent en Fig. 1 de leur travail les équations nécessaires pour calculer les valeurs de TE₅₀.

La description de la relation entre la concentration du toxique et leurs TE₅₀s correspondant, montrent qu'une part de ces valeurs à une échelle normale révèlent une courbe hyperbolique qui est asymptotique sur l'axe des y (Fig 1a). En effet, à une concentration de zéro le temps

requis pour causer 50 % d'effets sur un groupe d'organismes est théoriquement infini. En réalité, l'asymptote est la concentration sans effet (NEC) (No Effect Concentration) (en français CSE) comme Kooijman et al. (1996) l'ont défini. Il est aussi évident que la durée de vie des organismes détermine des limites supérieures de la courbe. Ce type de courbe est mieux décrit par une fonction du type

$$Y = a \times x^{-b} \quad (1)$$

Pour chacun des calculs les coefficients a et b peuvent être obtenus par une régression linéaire dans une transformation naturelle logarithmique des données des deux variables x et y (Fig.1b) ; dans d'autres cas la variable dépendante (y) est le TE_{50} et la variable indépendante (x) la concentration des produits chimiques externes C .

$$\ln TE_{50s} = a' - b \cdot \ln C \text{ où } a' = \ln(a) \quad (2)$$

Une caractéristique de ce type de courbe est l'existence d'une région « tampon », proche de l'origine, in Fig.1a, où de petits changements dans la concentration ne sont pas transformés en d'amples variations pour les temps d'effet correspondants. Cependant, des départs, dans cette région étroite, se traduiront dans l'une ou l'autre des longues périodes par un effet lorsque les concentrations seront inférieures à la plage critique, ou très peu différentes lorsque les concentrations sont bien au-delà de cette gamme. Cette caractéristique ne peut pas être appréciée dans un graphe linéaire Fig.1b. L'équation (2) est similaire au modèle décrit par Zhao et Newman (2004), et ce point sera discuté ci-dessous.

Validation du modèle

Le modèle empirique ci-dessus fournit le calcul des valeurs de TE_{50} pour des données de concentration de toxique et vice et versa. Pour valider le modèle, un bon ajustement entre les TE_{50s} estimés et reportés devrait être obtenu. Mais parce que la plupart des données toxicologiques sont reportées comme CL_{50s} (Concentration Létale) plutôt que comme TE_{50} , et c'est le cas avec les données présentées ici, les valeurs estimées TE_{50} ne sont apparemment pas utilisables pour cette validation. Cependant, l'obstacle est surmonté en considérant que les CL_{50} représentent la concentration létale pour 50 % des organismes pour une durée particulière, alors qu'un TE_{50} est le temps réel pour la CL_{50} indiquée. Tout ce qu'il faut, c'est de les faire correspondre dans le temps. Dans ce but le modèle hyperbolique (Sanchez-Bayo et Goka 2007) fut utilisé pour extrapoler les valeurs de ET_{50} pour reporter des durées utilisées par les auteurs pour chaque organisme et toxiques considérés.

Cela étant fait, les deux séries de TE_{50s} estimés et reportés peuvent maintenant être comparées par une régression linéaire. Comme les TE_{50s} reportés varient dans une échelle logarithmique, la régression fut donnée dans des valeurs transformées en logarithme. La validation ne peut être réalisée qu'avec les insecticides

néonicotinoïdes, les valeurs de CL_{50s} pour les métaux n'ayant pas été renseignées par les auteurs respectifs.

Résultats

Les valeurs estimées de TE_{50} pour plusieurs concentrations d'éléments chimiques testées sur *D. magna* et *Poecillia reticulata* sont indiquées dans le tableau 1. Les paramètres du modèle ajusté sont indiqués dans le tableau 2. En général, la qualité d'ajustement du modèle est au-dessus de 80 %, et pour le sélénium $r^2=0,998$. Pour *Daphnia*, une représentation graphique du modèle (Fig2) montre que la ligne de régression pour le zinc et le cadmium sont presque parallèles ceci indiquant que le taux de consommation de ces deux toxiques par les organismes est très similaire : la seule différence est la toxicité inhérente à chacun, laquelle est plus haute pour le cadmium et plus basse pour le zinc. Le bas ajustement dans le cas des guppies ($r^2=0,796$), peut-être due à la dilution déjà mentionnée ci-dessus.

Tableau 1 Temps estimé pour 50 % de mortalité (TE_{50}) pour la mouche d'eau *D. magna* et le guppy (*P. reticulata*) après une exposition à un gradient de concentration d'un métal.

Species	Chemical	Concentration (µg/l)	ET ₅₀ (h)	
<i>Daphnia magna</i>	Copper ^a	28	782	
		32	156	
		48	77	
		56	48	
		64	30	
		59	3,912 ^d	
	Zinc ^a	125	768	
		250	47	
		500	32	
		750	23	
		Selenium ^a	158	78
			800	17
			1,200	12
			1,600	9
CdCl ₂ ^b	2,000	6		
	3.2	7,010 ^d		
	5.6	1,392		
	10	901		
	18	270		
	32	136		
	56	45		
	<i>Poecilia reticulata</i>	Zinc ^c	5,600	23,322
10,000			12,893	
18,000			6,775	
32,000			141	

^a Hoang et al. (2007)

^b Kooijman (1981)

^c Widianarko et al. (2001)

^d Estimated effect times longer than life span of *D. magna*

Tableau 2 Paramètres de l'équation de régression $\ln(TE_{50}) = a + b \cdot \ln(C)$ ajustés aux données montrées en Fig. 2 et Tableau 1

Species	Chemical	Intercept (a)	Slope (b)	r ²	n
<i>Daphnia magna</i>	CdCl ₂	3.6 × 10 ⁴	-1.657	0.982	6
	Copper	3.3 × 10 ⁷	-3.355	0.893	5
	Selenium	1.1 × 10 ⁴	-0.969	0.998	5
	Zinc	1.6 × 10 ⁷	-2.114	0.923	5
<i>Poecilia reticulata</i>	Zinc	8.6 × 10 ¹⁴	-2.742	0.797	4

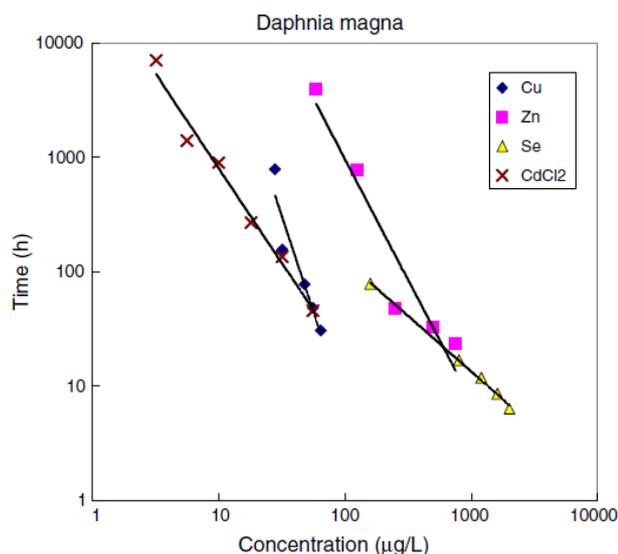


Fig. 2 Temps pour 50 % de mortalité de *Daphnia magna* exposée à différentes concentrations de métal. Sources des données : Cu, Zn and Se d'après Hoang et al. (2007); CdCl₂ d'après Kooijman (1981)

Les valeurs estimées pour les TE₅₀ pour les insecticides néonicotinoïdes thiaclopride et imidaclopride pour plusieurs espèces d'organismes aquatiques sont indiquées dans le tableau 3, et la relation entre ces valeurs et les concentrations correspondantes est montrée graphiquement Fig. 3. Un bon ajustement au modèle fut obtenu, avec les valeurs r² au-dessus de 0,96 dans toutes les cases (tableau 4).

Contrairement à certains éléments chimiques, les lignes de régression obtenues pour ses toxiques organiques ne sont pas parallèles. Ceci peut être interprété comme une indication de sensibilités différentes parmi les organismes aux composés, car le mode d'action des deux insecticides est le même. Par exemple, *Daphnia* est beaucoup plus tolérante que *Cypridopsis* quand ils sont exposés à l'imidaclopride ; les Ostracodes apparaissent ne pas être seulement très sensibles mais ils ont aussi un plus bas gradient de réponses que *Daphnia* à cet insecticide. Parmi les arthropodes montrés en Fig. 3 l'Amphipode *G. pulex* est l'espèce la plus sensible et les nymphes de libellules sont les moins sensibles à l'insecticide thiaclopride.

Le tableau 5 montre les CL₅₀s reportées pour les deux néonicotinoïdes testés sur des espèces aquatiques. Les valeurs prédites correspondantes furent estimées en utilisant le modèle hyperbolique de Sanchez-Bayo et Goka (2007). Une droite de régression sur leurs logarithmes transformés indique une très bonne correspondance entre les deux ensembles de données (r²

= 0,97), laquelle peut être aussi lu graphiquement in Fig. 4. Ces résultats fournissent une grande confiance dans les modèles utilisés : les équations log - log des données empiriques décrivant la relation entre TE₅₀ et les concentrations de produits chimiques ainsi que le modèle hyperbolique utilisé pour prédire les CL₅₀s.

Tableau 3 Temps estimés pour 50 % de mortalité (TE₅₀) pour plusieurs espèces d'arthropodes aquatiques après une exposition à gradient de concentration de deux insecticides néonicotinoïdes

Species	Insecticide	Concentration (µg/l)	ET ₅₀ (days)
<i>Cypridopsis vidua</i>	Imidacloprid ^a	4	5.2
		16	3.0
		64	3.3
		250	2.3
		1,000	2.0
<i>Daphnia magna</i>	Imidacloprid ^b	4,000	0.9
		250	384.7 ^d
		750	69.7
		2,220	18.6
		6,700	15.0
<i>Gammarus pulex</i>	Thiacloprid ^c	20,000	18.4
		60,000	3.0
		99	63.6
		364	16.7
		988	6.5
<i>Simulium latigonium</i>	Thiacloprid ^c	3,100	3.2
		9,520	0.9
		2.1	23.4
		4.2	11.5
		6.7	12.1
<i>Sympetrum striolatum</i>	Thiacloprid ^c	10.9	1.5
		7.2	20.6
		8.0	17.2
		12.7	13.0
		113.3	3.2

^a Sánchez-Bayo and Goka (2007)

^b New data, this paper

^c Beketov and Liess (2008)

^d Estimated effect times longer than life span of *D. magna*

Discussion

Le temps requis pour un toxique pour causer 50 % d'effet sur des organismes peut être aisément déterminé pour quelle que concentration que ce soit d'un toxique en utilisant les données des bio-essais expérimentaux. Il a été démontré dans ce papier qu'une simple relation log - log (Eq. 2) s'applique à deux variables, le TE₅₀ et la concentration du produit chimique externe. Le coefficient spécifique de cette relation peut être aisément dérivé du temps-événement des bio-essais expérimentaux, une variante des tests de toxicité standard dans laquelle les niveaux d'effets sont enregistrés tout au long de la période de temps (Newman et McCloskey 1996). Cette relation directe a des avantages par rapport aux autres modèles proposés à ce

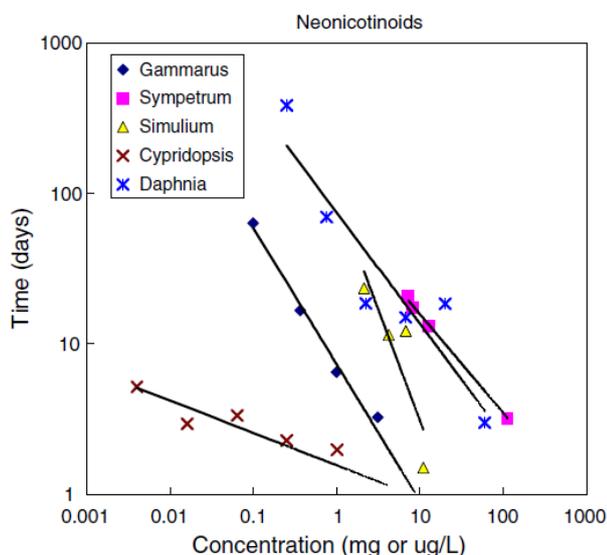


Fig. 3 Temps pour 50 % de mortalité pour plusieurs espèces d'arthropodes exposées à différentes concentrations d'un insecticide l'imidaclopride (*Cypridopsis vidua* et *Daphnia magna*) et au thiaclopride (les autres espèces). Les concentrations pour les espèces *Sympetrum* and *Simulium* sont en $\mu\text{g/l}$; et pour les autres espèces en mg/l . Sources des données : pour l'imidaclopride d'après Sanchez-Bayo et Goka (2006); pour le thiaclopride d'après Beketov et Liess (2008)

Tableau 4 Paramètres de l'équation de régression $\ln(\text{TE}_{50}) = a + b \cdot \ln(C)$ ajustés aux données montrées en Fig. 3

Species	Chemical	Intercept (a)	Slope (b)	r^2	n
<i>Cypridopsis vidua</i>	Imidacloprid	1.55	-0.215	0.872	6
<i>Daphnia magna</i>	Imidacloprid	74.44	-0.742	0.863	6
<i>Gammarus pulex</i>	Thiacloprid	7.25	-0.909	0.992	5
<i>Simulium latigonium</i>	Thiacloprid	91.29	-1.476	0.755	4
<i>Sympetrum striolatum</i>	Thiacloprid	70.50	-0.655	0.997	4

jour (tableau 6), laquelle requiert typiquement le calcul de taux et d'autres paramètres dérivés des données expérimentales. Afin de comprendre l'utilité de cette approche simple, ses applications et ses conséquences, comparons là avec d'autres modèles qui sont utilisés pour décrire les effets de toxique en fonction du temps.

Les premiers modèles qui ont examiné l'influence de la durée d'exposition sur les effets toxiques sur les organismes peuvent être attribués à Brown al. (1969) et Mancini (1983). Basiquement, ces auteurs ont cherché à déterminer un temps requis pour observer un niveau spécifique d'effets (i.e. en pourcentage de mortalité) après l'exposition d'organismes aquatiques à des concentrations de toxiques, connues. Pour une concentration donnée de chacun des composés seuls ou en mélange de composés, une relation linéaire entre le pourcentage de mortalité et logarithme népérien du temps nécessaire pour atteindre un tel effet fut déterminé. Les cinétiques sous-jacentes du modèle sont expliquées par Mancini en termes de taux de consommation et d'élimination (détoxification) dans un seul compartiment, lequel effectivement détermine la dose interne responsable de la mortalité observée (Connolly 1985). Ces taux sont calculés à partir des données des bio-essais

expérimentaux, ainsi on introduit des paramètres additionnels lesquels sont spécifiques pour les espèces et les produits chimiques testés, ce qui constitue une caractéristique commune à la majorité des modèles toxicologiques. Le modèle de bio-accumulation de Mancini pourrait être employé pour calculer la mortalité probable des poissons pour n'importe quelle durée et concentration de toxique, à condition que de telles concentrations soient restées constantes pendant toute la durée d'exposition ce qui n'est guère le cas dans les milieux naturels.

Afin d'estimer la mortalité due aux expositions fluctuantes, Breck (1988) introduisit le modèle du préjudice de la réparation fondée sur les hypothèses de la bio-accumulation ci-dessus. Dans le modèle de Breck, les dommages subis par un individu s'accumulent avec le temps d'exposition et la mort d'un individu se produit lorsque que le niveau de dommages atteint un seuil pour l'individu. L'expression mathématique de ce modèle utilise les niveaux de concentration des toxiques dans le milieu externe et le temps d'exposition pour calculer le pourcentage de mortalité (tableau 6), et indique aussi une manière d'estimer le temps médian pour atteindre la mort (t_{50} ou TE_{50}) lequel est très similaire à l'équation (2) proposée ici. Les coefficients pour de telles équations pourraient être obtenus à partir de données expérimentales, bien que leurs calculs ne soient pas aussi simples qu'il peut sembler. Hoang et al. (2007) ont récemment produit un modèle qui prédit la mortalité comme une fonction de la durée dans le cas d'une simple ou de multiples expositions par impulsion. Leur modèle est basé sur une cinétique de premier ordre et introduit un taux constant de mortalité qui est spécifique pour chaque composé, et le temps nécessaire pour prédire les niveaux d'effets (tableau 6).

Dixon et Newman (1991) analysèrent le temps conduisant à la mort après une exposition à des métaux lourds, et Newman et Aplin (1992) expliquèrent les avantages de cette approche en écotoxicologie, laquelle fut ainsi appelée temps-pour-un-événement ou TTE (Time-To-Event) (Newman et McCloskey 1996). Des travaux ultérieurs réalisés par Newman et ses collègues sur ce sujet ont apporté une meilleure compréhension des processus toxiques dans le temps. Les relations parmi les trois variables d'intérêt (i.e. concentration du toxique, temps d'exposition et niveau d'effet en pourcentage) sont généralement analysées par des équations de régression ajustées aux données expérimentales. Typiquement, les logarithmes népériens de chaque variable sont utilisés, et par ailleurs les coefficients des équations nécessaires, et d'autres paramètres (e.g. la taille corporelle) qui se traduisent par de meilleures prédictions. En substance, leur modèle vise à prédire la proportion d'organismes pour n'importe quelle combinaison de concentration de toxiques et de durée d'exposition (Zhao et Newman 2004, 2006), bien que d'autres effets, telle que la récupération dans le temps, peuvent être analysés aussi. L'étendue des réponses peut-être générée pour indiquer les niveaux d'effets avec le temps ; de tels niveaux peuvent être vus graphiquement chaque fois que la concentration en produits chimiques est indiquée en fonction du temps d'exposition (Fig. 5a). Le modèle d'équation de survie de Zhao et Newman (tableau 6) est similaire à l'Equation (2)

et le second modèle d'équation de Breck, la principale différence étant que les deux derniers modèles estiment spécifiquement le temps médian de mort des organismes au lieu de la mortalité à n'importe quelle durée. Ainsi, notre approche est aussi très similaire à celle entreprise par ses auteurs, car nous avons tous l'intention de prédire les effets des différentes concentrations de substances toxiques en fonction du temps, mais le principal avantage de notre équation (2) est qu'elle n'a pas besoin de correction due à des coefficients d'erreur comme l'indiquait les autres auteurs (Newman, 1995).

Tableau 5 Comparaison des médianes reportées des concentrations létales (CL₅₀) dans leur intervalle de confiance de 95% (IC) pour plusieurs arthropodes aquatiques avec leurs valeurs prédites en utilisant le modèle hyperbolique.

Species	Compound	Time (days)	Reported LC ₅₀ (µg/l)	CI (µg/l)	Predicted LC ₅₀ (µg/l)
<i>Asellus aquaticus</i>	Thiacloprid ^a	1	>698.5	–	948
		4	299	142.5–627.2	332
		19	153.4	58.8–399.6	102
<i>Culex pipiens</i>	Thiacloprid ^a	1	7.4	NR	9.6
		4	7.1	NR	5.5
		7	5.8	4.5–7.3	4.4
<i>Cypridopsis vidua</i>	Imidacloprid ^b	1	3,951	NR	7,790
		2	391	193–792	310
		4	7.1	2.1–24	12
<i>Daphnia magna</i>	Thiacloprid ^a	1	7,200	NR	5,018
		4	4,400	3,580–5,400	4,553
		14	4,400	3,580–5,400	3,818
		30	4,100	3,430–4,900	3,606
	10	9,500	NR	14,861	
<i>Gammarus pulex</i>	Thiacloprid ^a	1	>9,520.0	–	8,845
		4	580	450–740	1,925
		17	190	170–210	392
<i>Notidobia ciliaris</i>	Thiacloprid ^a	1	7.7	NR	24
		4	7	6.5–7.7	10
		15	6.8	6.1–7.5	4.2
<i>Simulium latigonium</i>	Thiacloprid ^a	1	10.1	NR	21.3
		4	7.8	6.6–9.2	8.3
		11	5.5	3.7–8.2	4.2
<i>Sympetrum striolatum</i>	Thiacloprid ^a	1	>113.3	–	661
		4	47.6	NR	79.8
		11	31.2	23.8–40.8	17

NR = non reporté, car IC n'était pas fiable

^a Beketov and Liess (2008)

^b Sanchez-Bayo and Goka (2006)

En dépit des applications antérieures des anciens modèles pour estimer les risques sous des concentrations variées de chaque toxique seul ou de leur mélange dans l'environnement, beaucoup d'auteurs ont adopté une approche différente et ont cherché à concevoir des modèles mécanistes basés sur des principes toxicocinétiques similaires. L'un de ces modèles est PULSETOX (Hickie et. 1995), spécifiquement conçus pour traiter les expositions par impulsion. Ces auteurs ont souligné que les tests de létalité sont essentiellement des bio-essais toxicocinétiques où la réponse de l'organisme incorpore l'accumulation de résidus critiques dans le corps (Critical Body Résidus, ou CBR) en plus du temps de réponse. Comme dans le modèle de bioaccumulation de Mancini, les taux de consommation et d'élimination sont estimés premièrement à partir des données expérimentales, et ensuite sont utilisés comme intrants dans le modèle d'équation pour estimer l'inverse de la concentration létale médiane (1/CL₅₀) avec des durées croissantes d'exposition (tableau 6). Le modèle PULSETOX suppose qu'un seuil CBR doit être atteint pour que les effets toxiques apparaissent, et que le taux

de bio-accumulation pour un produit chimique donné soit une constante quelle que soit la durée. Un modèle plus générale, The Dynamic Energy Budget pour ou DEBtox est basé sur une hypothèse cinétique similaire (Bedeaux et Kooijman 1994) et fut développé par Kooijman et ses collègues (Kooijman et Bedeaux 1996 ; Péry et al. 2002), pour évaluer les critères d'évaluation telle que la CL₅₀, les effets sur la reproduction ou la croissance au cours du temps CE₅₀. La relation entre les doses effectives internes et les concentrations externes dans le milieu est dépendante des caractéristiques chimiques des composés,

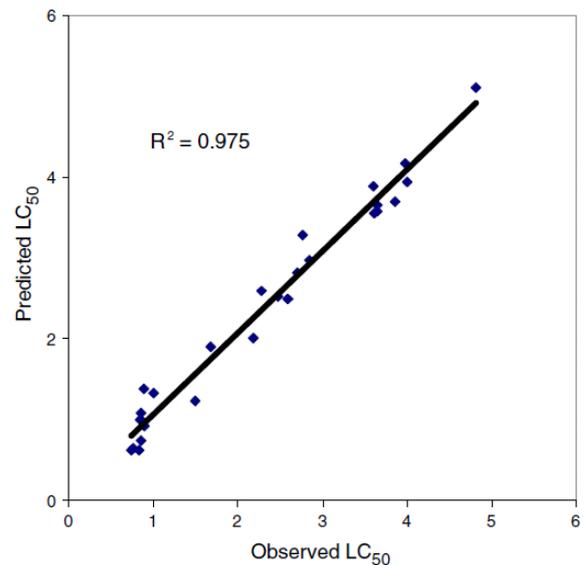


Fig. 4 Validation de la relation entre la concentration et le temps pour obtenir 50 % de mortalité décrite dans cette recherche. Les valeurs prédites de CL₅₀ furent obtenues à partir de leur temps de mortalité correspondant en utilisant le modèle hyperbolique (Sanchez-Bayo and Goka 2007)

lesquels dans leurs modèles ont représenté le facteur spécifique de bioconcentration de chaque composé (Tableau 6). Cependant, l'application de DEBtox dans l'évaluation des risques environnementaux requiert des développements supplémentaires, et Bonnomet et al. (2002) développèrent une fonction pour estimer les CL₅₀s avec un temps d'exposition utilisant la base fondamentale de DEBtox. Leur modèle généra une courbe asymptotique similaire à celle obtenue avec PULSETOX et notre modèle hyperbolique. De cette façon, la courbe produite par l'Equation (1) est similaire à celle de PULSETOX et à la courbe synthétique de Bonnomet, mais pas avec les mêmes types d'axes. Notre modèle est conçu pour estimer le TE₅₀ des concentrations connues, bien que tous les autres modèles dans le Tableau 6 estiment des concentrations effectives pour des temps d'exposition connue - bien évidemment, le terme opposé de l'équation peut être calculé aussi.

Un autre modèle toxicocinétique fut proposé par Yu et al. (1999) pour analyser la toxicité des halobenzènes pour les organismes aquatiques avec une durée d'exposition croissante. Utilisant les mêmes hypothèses sur l'accumulation de la consommation de ces composés organiques expliqués précédemment par Mortimer et Connell (1994), le modèle de réduction de l'espérance de vie estime la concentration interne létale (IL₅₀) comme une fonction du temps d'exposition, il la décrit par une

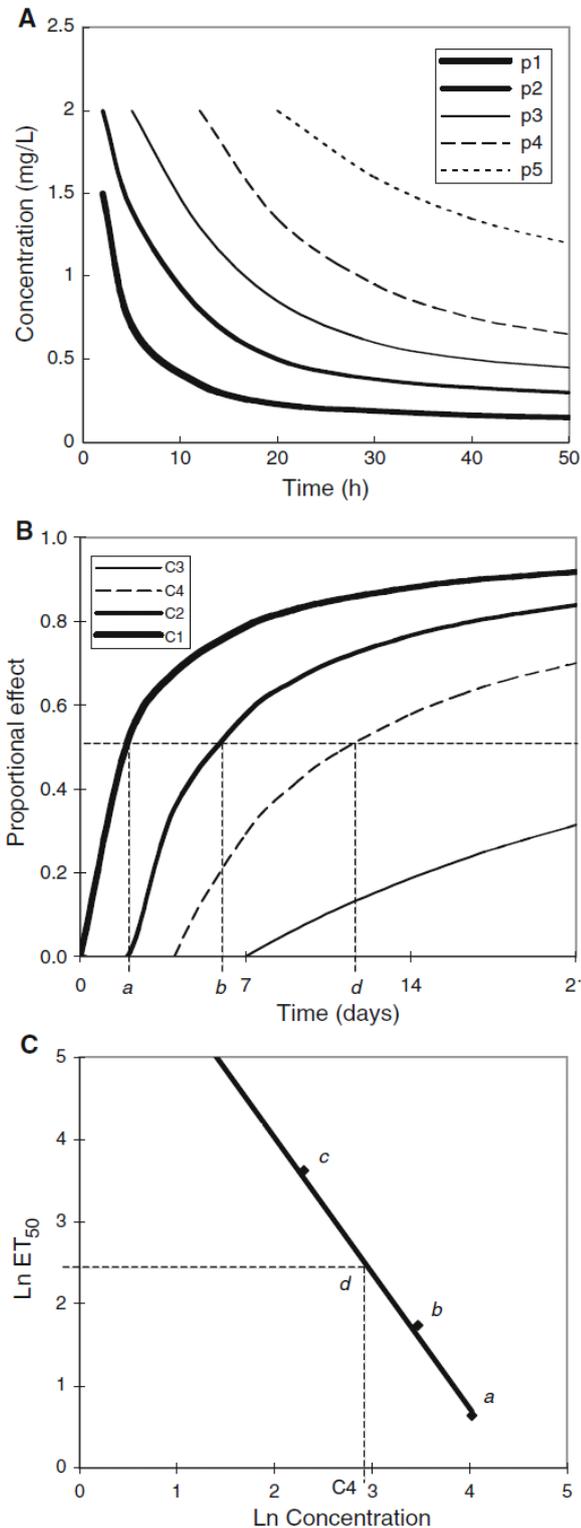


Fig. 5 **a** Une expérimentation de toxicité le temps-pour-un-événement fournit une génération d'une étendue de réponses indiquant les niveaux de survie (p_x en légende) pour différentes concentrations en fonction du temps d'exposition (d'après Zhao et Newman 2004). **b** Le modèle hyperbolique de (Sanchez-Bayo et Goka 2007) produit des courbes de réponses similaires et pour chaque concentration testée, C_1 , C_2 and C_3 , une courbe (ligne pleine) est générée à partir de son temps-entraînant-la-mort médian : a , b and c , respectivement dans l'exemple montré. **c** Pour n'importe quelles concentrations, l'équation de régression entre les concentrations déjà testées et leurs TE_{50} s déterminent d'autres valeurs médianes (d pour C_4), lesquels en retour peuvent être incorporés pour produire leur propre courbe de réponse (courbe en pointillés en b).

relation linéaire avec un logarithme népérien du temps médian et de la mort (tableau 6). La simplicité de ce modèle linéaire est évidente, mais l'espérance de vie normale des organismes, laquelle est utilisée comme un point de référence, peut-être variable sous différentes conditions environnementales, ainsi l'applicabilité du modèle dans l'évaluation des risques environnementaux peut soulever d'importants problèmes.

D'une manière ou d'une autre, tous les modèles cinétiques permettent la prédiction de critères de médianes toxicologiques standards (i.e. CL_{50} , DL_{50} , CE_{50}) avec le temps d'exposition, c'est un résultat utile mais insuffisant car dans l'évaluation du risque des produits chimiques, la prédiction de critères de toxicité autres que des valeurs médianes est aussi importante. Après tout, la valeur décroissante de la médiane des critères de toxicité avec le temps peut être élaborée en utilisant l'existant, les données conventionnelles de toxicité, comme Sanchez-Bayo (2006) l'a montré sur un grand nombre de polluants organiques testés sur les taxa de zooplancton et de crustacés.

Pour des prédictions de différents niveaux d'effets avec le temps, les approches de Breck, Newman et ses collègues indiquées ci-dessus sont préférées parce qu'elles utilisent directement (i.e. sans besoin de calculer des taux d'aucune sorte) les données expérimentales obtenues des bio-essais de toxicité (Fig. 5a). En utilisant la même approche, j'ai découvert que notre modèle hyperbolique (Sanchez-Bayo et Goka. 2007) réussissait bien la prédiction des effets toxiques pour une variété de composés et d'organismes (Fig. 5b). L'avantage du modèle hyperbolique et au-delà de tous les autres modèles indiqués ci-dessus est sa simplicité mathématique et le fait qu'il inclut une valeur de toxicité médiane (chaque CL_{50} ou TE_{50}) comme un intrant essentiel pour générer les courbes-réponses. Le modèle hyperbolique est plus utile quand il est appliqué pour analyser la toxicité au cours du temps, comme il peut prédire n'importe quel niveau d'effets pour des concentrations en produits chimiques donnés pour différentes durées auquel cas seule la valeur TE_{50} est requise. Cependant, parce que les données expérimentales peuvent générer seulement une poignée de données, chaque concentration n'est utilisée pour estimer qu'une seule valeur TE_{50} , le modèle hyperbolique ne peut prédire des valeurs d'effets (e.g. CL_x) pour des concentrations autres que celles testées. Pour être capable d'estimer ces dernières valeurs pour des concentrations inconnues, la relation entre le temps médian effectif et la concentration doit être connue, l'Equation (2) décrit cette relation. Ainsi, le modèle présenté dans ce travail est complémentaire du modèle hyperbolique. L'exemple suivant peut aider à comprendre ce point.

Imaginons trois concentrations de toxiques, nommons-les C_1 , C_2 et C_3 , qui furent utilisées dans un bio-essai TTE avec des organismes aquatiques particuliers, et pour lesquels la survie ou un autre effet toxique fut enregistré durant 21 jours d'exposition. Un graphique des effets en pourcentage de chaque concentration en fonction du temps est bien décrit par le modèle hyperbolique (Fig.5b), de sorte que la courbe de

réponse basée sur les calculs de TE_{50} s pour chaque concentration (a , b et c respectivement) représente les prédictions pour les séries de temps. Maintenant imaginons aussi que le toxique fut trouvé dans l'eau dans un certain d'environnement à différentes concentrations (C_4) de ceux testés, de sorte que le modèle hyperbolique pourrait permettre de prédire les effets de C_4 . En utilisant l'Equation (2), la régression sur les TE_{50} s en fonction de leur concentration respective (Fig 5c) nous permet d'estimer le TE_{50} pour C_4 (d dans la Fig 5c), une fois d connu, le modèle hyperbolique peut maintenant prédire n'importe quel niveau d'effet pour la concentration C_4 pour n'importe quelle durée (courbe pointillée dans Fig. 5b).

L'application du modèle hyperbolique et de son Equation complémentaire (2) dans l'évaluation des risques des produits chimiques est utile dans les situations où les impulsions uniques d'exposition sont la norme. En effet, la toxicité aiguë à court terme et les effets latents qui peuvent apparaître durant la période post-exposition peuvent être prédits en utilisant le modèle hyperbolique, tandis que l'estimation du paramètre TE_{50} requis peut-être donnée en utilisant l'équation (2) pour n'importe quelle concentration de produits chimiques d'intérêt. Pour les scénarii pour lesquels les impulsions d'expositions répétées apparaissent durant une courte période, ne laissant pas de temps de récupération, d'autres modèles tels que ceux proposés par Breck (1988) et Hoang et al. (2007) peuvent être plus appropriés. En tout cas, la relation entre la concentration en toxiques dans le milieu et le temps pour 50 % d'effets sur les organismes est utile et peut être appliquée indifféremment pour extrapoler des valeurs entre ces deux variables. Alternativement, les TE_{50} s sont utilisés avec n'importe quel autre modèle de temps indiqué ci-dessus.

Les données utilisées dans cette recherche pour valider ce modèle se réfèrent à un éventail disparate de substances chimiques individuelles avec les différents modes d'action, et pourtant dans tous les cas les prédictions du modèle se conforment très bien aux critères de toxicité trouvés dans la littérature consultée (Tableau 5 ; Fig 4). Bien que cette relation a été montrée

ici pour des composés simples, il n'y a pas d'objection de principe à son application à des toxiques en mélange.

Si l'Equation (2) peut être applicable pour des expositions continues, à des expositions chroniques pour des concentrations en toxiques relativement constantes, elle est encore incertaine, bien que j'aie montré ci-dessus que les données d'expositions chroniques de *D.magna* (tableau 1) s'ajustent bien à ce modèle. Les dynamiques de consommation, de bioaccumulation et de métabolisation des chimiques par les organismes concernés peuvent être prises en compte dans de tels cas, aussi bien qu'une possible adaptation à des niveaux constants des stress chimiques (Grant 1998), car tous ces facteurs pourraient changer substantiellement le temps actuel nécessaire pour la mortalité ou d'autres effets toxiques et non apparents. Après tout, les effets chroniques des toxiques sont mieux exprimés par les critères sublétaux tels que les indicateurs de reproduction (Daniels et Allan 1981 ; Walthall et Stark 1997) et les changements dans les bio-marqueurs physiologiques et métaboliques (Peakall 1992).

Conclusion

La relation entre une concentration en produits chimiques toxiques dans le milieu et la durée pour produire des effets pour 50 % des organismes exposés a été décrite par une équation log - log paramétrique utilisant les données pour les métaux lourds et les toxiques organiques. Cette relation simple permet la prédiction de la médiane du Temps d'Effet (TE_{50}) pour n'importe quelle concentration d'un produit chimique dans le milieu, et inversement pour estimer la concentration du toxique nécessaire pour causer 50 % d'effets à n'importe quelle durée d'exposition. Quel que soit le paramètre recherché cette relation est très utile pour l'évaluation du risque, car elle permet d'extrapoler des valeurs qui peuvent être utilisées avec n'importe quel modèle de toxicité disponible pour prédire les effets toxiques dans la plupart des situations environnementales. Spécifiquement, les TE_{50} estimés peuvent être utilisés comme intrants dans le modèle hyperbolique pour prédire les effets aigus et latents de toxiques sous des expositions par impulsions simples.

Tableau 6 Sommaires des modèles qui fournissent une estimation des effets toxiques sur les organismes en fonction du temps d'exposition (t) à des concentrations de produits chimiques (C)

Model	Expression(s)	Parameters	Authors
Bioaccumulation	$C_{N(t)}/k_u = C_w/k_r[1 - \exp(-k_r t)]$	$C_{N(t)}$ = internal concentration after t exposure C_w = external concentration (media) k_u = toxic uptake rate k_r = detoxification rate	Mancini (1983)
Damage–repair	$P = a + b \ln(C) + d \ln(t)$ $\ln(t_{50}) = (P_{50} - a)/d - y \ln(C)$	P = probit (% mortality) P_{50} = probit (50% mortality) t_{50} = median time to death a, b, d and y = coefficients	Breck (1988)
PULSETOX	$1/LC_{50} = 1/CBR \cdot k_1/k_2(1 - e^{-k_2 t})$	CBR = critical body residue k_1 = uptake rate k_2 = clearance rate	Hickie et al. (1995)
DEBtox	$dc_i/dt(t) = k_e[C_e(t) - c_i(t)]$ $c_i(t) = C_i(t)/BCF$	C_i = internal concentration (tissue) C_e = external concentration (media) c_i = scaled concentration k_e = elimination rate BCF = bioconcentration factor	Kooijman and Bedaux (1996)
Life expectancy reduction	$ILC_{50} = a \ln(LT_{50}/NLT_{50})$	ILC_{50} = internal LC_{50} LT_{50} = exposure time for 50% lethality NLT_{50} = average normal life expectancy of organism a = coefficient (slope)	Yu et al. (1999)
Lethality in time	$C_{org}(t, C) = k \cdot BCF \cdot C \cdot t$ if $t \leq 1/k$ $BCF \cdot C$ if $t \geq 1/k$	C_{org} = internal concentration (organism) k = rate constant BCF = bioconcentration factor	Bonnomet et al. (2002)
Survival model	$\ln T = a - b \ln C + \sigma L$	T = time to death σL = error term a, b = regression coefficients	Zhao and Newman (2004)
Single or multiple pulses	$\ln(M_m) = -K_m t_r + \ln(M_{m0})$	M_m = mortality at exposure time t K_m = mortality rate constant t_r = recovery time M_{m0} = mortality when $t_r = 0$	Hoang et al. (2007)
Hyperbolic	$P = P_{max} C / (ET_{50} + C)$ $*\ln(ET_{50}) = a + b \ln(C)$	P = % effect P_{max} = maximum effect (i.e. 100%) ET_{50} = median time to effect a, b = regression coefficients	Sánchez-Bayo and Goka (2007) and this paper

*indiquent les références du modèle

References

- Bedaux JJM, Kooijman SALM (1994) Statistical analysis of bioassays based on hazard modelling. *Environ Ecol Stat* 1:303–314. doi:10.1007/BF00469427
- Beketov MA, Liess M (2008) Acute and delayed effects of the neonicotinoid insecticide thiacloprid on seven freshwater arthropods. *Environ Toxicol Chem* 27:461–470. doi:10.1897/07-322R.1
- Bliss CI (1937) The calculation of the time–mortality curve. *Ann Appl Biol* 24:815–852
- Bonnomet V, Duboudin C, Magaud H, Thybaud E, Vindimian E, Beauzamy B (2002) Modelling explicitly and mechanistically median lethal concentration as a function of time for risk assessment. *Environ Toxicol Chem* 21:2252–2259. doi:10.1897/1551-5028(2002)021\2252:MEAMML[2.0.CO;2
- Breck JE (1988) Relationships among models for acute toxic effects: applications to fluctuating concentrations. *Environ Toxicol Chem* 7:775–778. doi:10.1897/1552-8618(1988)7\775:RAMFAT[2.0.CO;2
- Brent RN, Herricks EE (1998) Postexposure effects of brief cadmium, zinc and phenol exposures on freshwater organisms. *Environ Toxicol Chem* 17:2091–2099. doi:10.1897/1551-5028(1998)017\2091:PEOBCZ[2.3.CO;2
- Brisbin IL Jr (1990) Applications of a modified Richards sigmoid model to assess the uptake and effects of environmental contaminants upon birds. In: Kendall RJ, Larcher TE (eds) *Wildlife toxicology and population modeling*. Lewis Publishers, Boca Raton, pp 161–170
- Brown VM, Jordan DHM, Tiller BA (1969) The acute toxicity to rainbow trout of fluctuating concentrations and mixtures of ammonia, phenol and zinc. *J Fish Biol* 1:1–9. doi:10.1111/j.1095-8649.1969.tb03837.x
- Chaisuksant Y, Yu Q, Connell D (1997) Internal lethal concentrations of halobenzenes with fish (*Gambusia affinis*). *Ecotoxicol Environ Saf* 37:66–75. doi:10.1006/eesa.1997.1524
- Connolly JP (1985) Predicting single-species toxicity in natural water systems. *Environ Toxicol Chem* 4:573–582. doi:10.1897/1552-8618(1985)4\573:PSTINW[2.0.CO;2
- Daniels RE, Allan JD (1981) Life table evaluation of chronic exposure to a pesticide. *Can J Fish Aquat Sci* 38:485–494. doi:10.1139/f81-070
- Dixon PM, Newman MC (1991) Analyzing toxicity data using statistical models for time-to-death: an introduction. In: Newman MC, McIntosh AW (eds) *Metal ecotoxicology. Concepts and applications*. Lewis Publishers, Chelsea, pp 207–242
- Forbes VE, Calow P, Sibly RM (2001) Are current species extrapolation models a good basis for ecological risk assessment? *Environ Toxicol Chem* 20:442–447. doi:10.1897/1551-5028(2001)020\0442:ACSEMA[2.0.CO;2
- Grant A (1998) Population consequences of chronic toxicity: incorporating density dependence into the analysis of life table response experiments. *Ecol Model* 105:325–335. doi:10.1016/S0304-3800(97)00176-2
- Hickie BE, McCarty LS, Dixon DG (1995) A residue-based toxicokinetic model for pulse–exposure toxicity in aquatic systems. *Environ Toxicol Chem* 14:2187–2197. doi:10.1897/1552-8618(1995)14\2187:ARTMFP[2.0.CO;2
- Hoang TC, Tomasso JR, Klaine SJ (2007) An integrated model describing the toxic responses of *Daphnia magna* to pulsed exposures of three metals. *Environ Toxicol Chem* 26:132–138. doi:10.1897/06-081R.1
- Kooijman SALM (1981) Parametric analyses of mortality rates in bioassays. *Water Res* 15:107–119. doi:10.1016/0043-1354(81)90190-1
- Kooijman SALM (2000) *Dynamic energy and mass budgets in biological systems*. Cambridge University Press, Cambridge
- Kooijman SALM, Bedaux JJM (1996) *The analysis of aquatic toxicity data*. VU University Press, Amsterdam
- Kooijman SALM, Bedaux JJM, Slob W (1996) No-effect concentrations as a basis for ecological risk assessment. *Risk Anal* 16:445–447. doi:10.1111/j.1539-6924.1996.tb01091.x
- Mackay D, Puig H, McCarty LS (1992) An equation describing the time course and variability in uptake and toxicity of narcotic chemicals to fish. *Environ Toxicol Chem* 11:941–951. doi:10.1897/1552-8618(1992)11\941:AEDTTC[2.0.CO;2
- Mancini JL (1983) A method for calculating effects on aquatic organisms of time varying concentrations. *Water Res* 17:1355–1362. doi:10.1016/0043-1354(83)90264-6
- McCahon CP, Pascoe D (1990) Episodic pollution: causes, toxicological effects and ecological significance. *Funct Ecol* 4:375–383. doi:10.2307/2389599
- McCarty LS, Mackay D (1993) Enhancing ecotoxicological modeling and assessment. *Body residues and modes of toxic action. Environ Sci Technol* 27:1719–1728. doi:10.1021/es00046a001
- Mortimer MR, Connell DW (1994) Critical internal and aqueous lethal concentrations of chlorobenzenes with the crab *Portunus pelagicus* (L.). *Ecotoxicol Environ Saf* 28:298–312. doi:10.1006/eesa.1994.1054
- Newman MC (1995) *Quantitative methods in aquatic ecotoxicology*. CRC Publishing, Boca Raton
- Newman MC, Aplin MS (1992) Enhancing toxicity data interpretation and prediction of ecological risk with survival time modeling: an illustration using sodium chloride toxicity to mosquitofish (*Gambusia holbrooki*). *Aquat Toxicol* 23:85–96. doi:10.1016/0166-445X(92)90001-4
- Newman MC, McCloskey JT (1996) Time-to-event analyses of ecotoxicity data. *Ecotoxicology* 5:187–196. doi:10.1007/BF00116339
- Organization for Economic Cooperation and Development (1993) *OECD guidelines for testing of chemicals. Procedure 202—Daphnia sp., Acute immobilisation test and reproduction test*. Paris, France
- Pascoe D, Shazili NAM (1986) Episodic pollution—a comparison of brief and continuous exposure of rainbow trout to cadmium. *Ecotoxicol Environ Saf* 12:189–198. doi:10.1016/0147-6513(86)90010-2
- Peakall D (1992) *Animal biomarkers as pollution indicators*. Chapman & Hall, Cornwall
- Pe'ry ARR, Flammarion P, Vollat B, Bedaux JJM, Kooijman SALM, Garric J (2002) Using a biology-based model (DEBtox) to analyse bioassays in ecotoxicology: opportunities and recommendations. *Environ Toxicol Chem* 21:459–465. doi:10.1897/1551-5028(2002)021\0459:UABBMD[2.0.CO;2
- Reinert KH, Giddings JM, Judd L (2002) Effects analysis of timevarying or repeated exposures in aquatic ecological risk assessment of agrochemicals. *Environ Toxicol Chem* 21:1977–1992. doi:10.1897/1551-028(2002)021\1977:EAOTVO[2.0.CO;2
- Sánchez-Bayo F (2006) Comparative acute toxicity of organic pollutants and reference values for crustaceans. I. Branchiopoda, From simple toxicological models 353 Copepoda and Ostracoda. *Environ Pollut* 139:385–420. doi:10.1016/j.envpol.2005.06.016
- Sánchez-Bayo F, Goka K (2006) Influence of light in acute toxicity bioassays of imidacloprid and zinc pyriithione to zooplankton crustaceans. *Aquat Toxicol* 78:262–271. doi:10.1016/j.aquatox.2006.03.009
- Sánchez-Bayo F, Goka K (2007) Simplified models to analyse time and dose-dependent responses of populations to toxicants. *Ecotoxicology* 16:511–523. doi:10.1007/s10646-007-0158-9
- Sprague JB (1969) Measurement of pollutant toxicity to fish. I. Bioassay methods for acute toxicity. *Water Res* 3:793–821. doi:10.1016/0043-1354(69)90050-5
- Suter-II GW, Rosen AE, Linder E, Parkhurst DF (1987) Endpoints for responses of fish to chronic exposures. *Environ Toxicol Chem* 6:793–809. doi:10.1897/1552-8618(1987)6\793:EFROFT[2.0.CO;2
- Truhaut R (1977) *Ecotoxicology: objectives, principles and perspectives*. *Ecotoxicol Environ Saf* 1:151–173. doi:10.1016/0147-6513(77)90033-1

- Walthall WK, Stark JD (1997) A comparison of acute mortality and population growth rate as endpoints of toxicological effect. *Ecotoxicol Environ Saf* 37:45–52. doi:[10.1006/eesa.1997.1521](https://doi.org/10.1006/eesa.1997.1521)
- Widianarko B, Kuntoro FXS, Van Gestel CAM, Van Straalen NV (2001) Toxicokinetics and toxicity of zinc under time-varying exposure in the guppy (*Poecilia reticulata*). *Environ Toxicol Chem* 20:763–768. doi:[10.1897/1551-5028\(2001\)020\0763:TATOZU\[2.0.CO;2](https://doi.org/10.1897/1551-5028(2001)020\0763:TATOZU[2.0.CO;2)
- Yu Q, Chaisuksant Y, Connell D (1999) A model for non-specific toxicity with aquatic organisms over relatively long periods of exposure time. *Chemosphere* 38:909–919. doi:[10.1016/S0045-6535\(98\)00220-3](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(98)00220-3)
- Zhao Y, Newman MC (2004) Shortcomings of the laboratory-derived median lethal concentration for predicting mortality in field populations: exposure duration and latent mortality. *Environ Toxicol Chem* 26:2147–2153. doi:[10.1897/03-557](https://doi.org/10.1897/03-557)
- Zhao Y, Newman MC (2006) Effects of exposure duration and recovery time during pulsed exposures. *Environ Toxicol Chem* 25:1298–1304. doi:[10.1897/05-341R.1](https://doi.org/10.1897/05-341R.1) 354 F. Sa´nchez-Bayo