

# Evaluation *in vivo* de la toxicité

L3 Pharmacie  
FMPO/UCAD/2024

# Objectifs

---

- 1 - Décrire le principe général de l'évaluation *in vivo* de la toxicité
- 2 - Décrire la méthodologie de l'évaluation de la toxicité aiguë
- 3 - Décrire la méthodologie de l'évaluation de la toxicité par administrations répétées
- 4 - Citer les étapes de la reproduction évalués par les tests de toxicité
- 6 - Citer les avantages et limites des tests *in vivo*

# Plan

---

## I. Généralités

## II. Tests in vivo

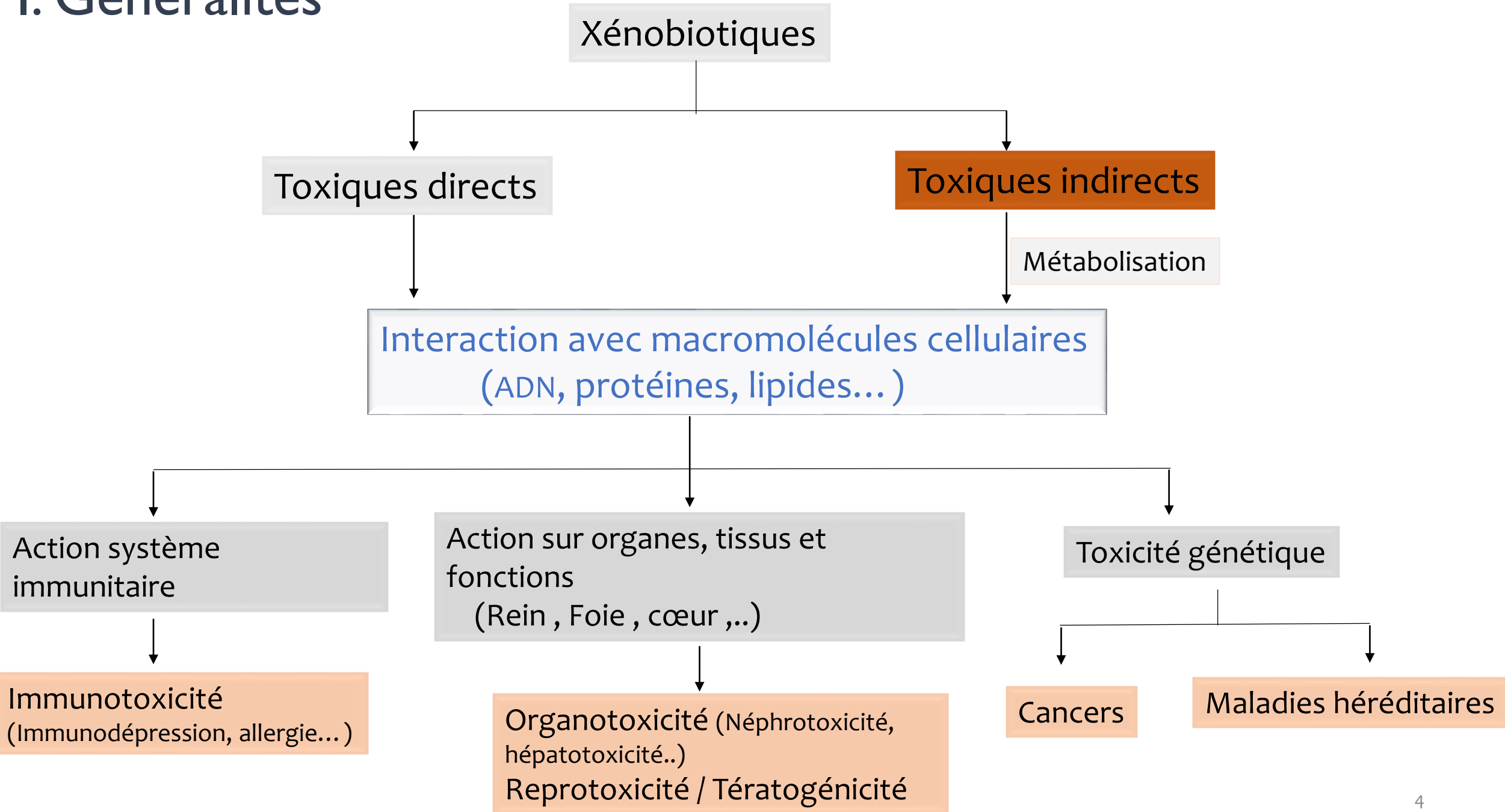
1. Evaluation de la toxicité aigue

2. Evaluation de la toxicité par administrations réitérées / chronique

3. Facteurs influençants l'évaluation de la toxicité *in vivo*

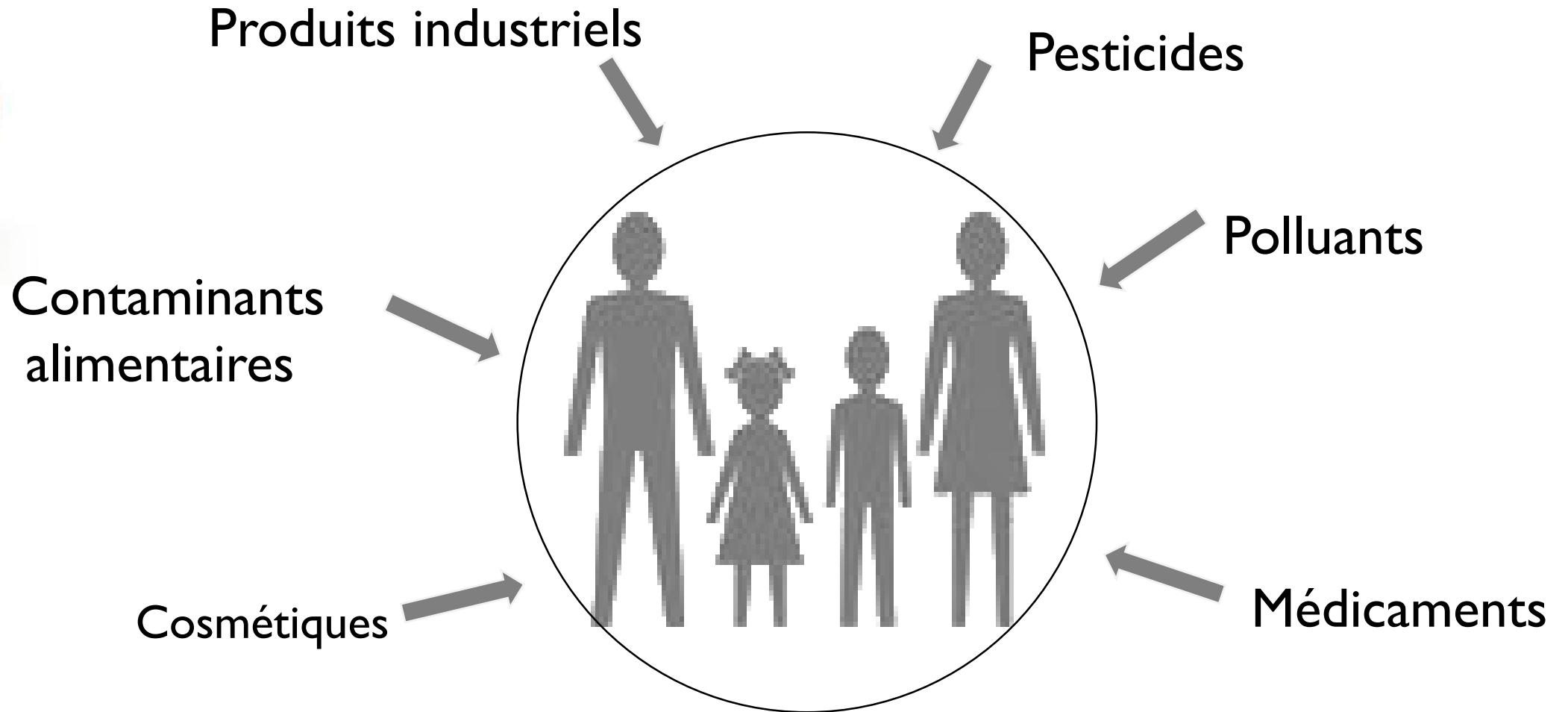
## III. Transposition / extrapolation

# I. Généralités



# I. Généralités

---



# I. Généralités

---

## 1. Définitions

- **Toxicologie expérimentale** :  $\sum$  tests  $\rightarrow$  évaluation toxicité

But : identifier **danger** et **risque** pour la population liés à une exposition aux xénobiotiques.

- **Danger** : propriété inhérente à la substance, indépendante de la dose ou de la concentration (donc de l'exposition)
- **Risque** : probabilité de survenue du danger après exposition.

# I. Généralités

---

## Evaluation de la toxicité

```
graph TD; A[Evaluation de la toxicité] --> B[Objet]; A --> C[But]; B --> D["- Détermination doses toxiques<br/>- Etablissement relation dose-réponse<br/>- Détermination paramètres toxicologiques"]; C --> E["- Etiquetage produits chimiques<br/>- Autorisation de mise sur le marché (AMM)<br/>- Etablissement valeurs toxicologiques de référence (VTR)"]
```

### Objet

- Détermination doses toxiques
- Etablissement relation dose-réponse
- Détermination paramètres toxicologiques

### But

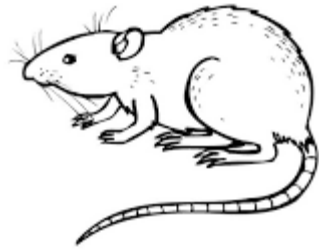
- Etiquetage produits chimiques
- Autorisation de mise sur le marché (AMM)
- Etablissement valeurs toxicologiques de référence (VTR)

# I. Généralités

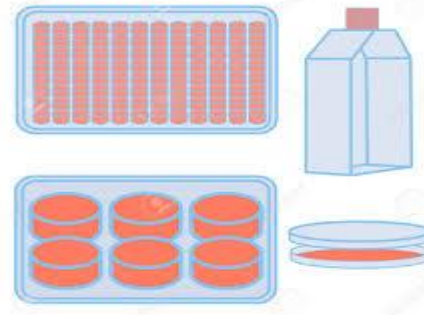
## Méthodes évaluation toxicité



Etudes  
épidémiologiques



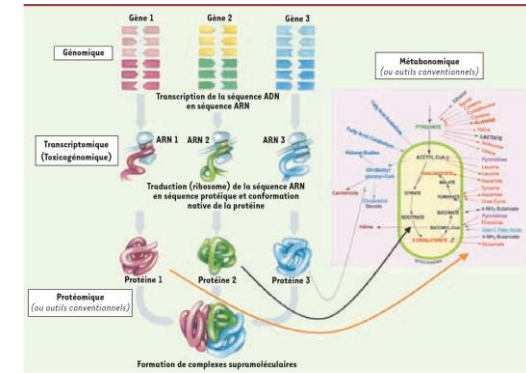
Etudes  
*in vivo*



Etudes  
*in vitro*



Etudes  
*in silico*



Etudes  
*in « omic »*

# I. Généralités

---

Bonnes pratiques de laboratoire ==> lignes directrices (LD)

- Organisation de coopération et de développement économique (OCDE)
- International Council for Harmonisation (ICH)
- Food and Drug Administration (FDA)

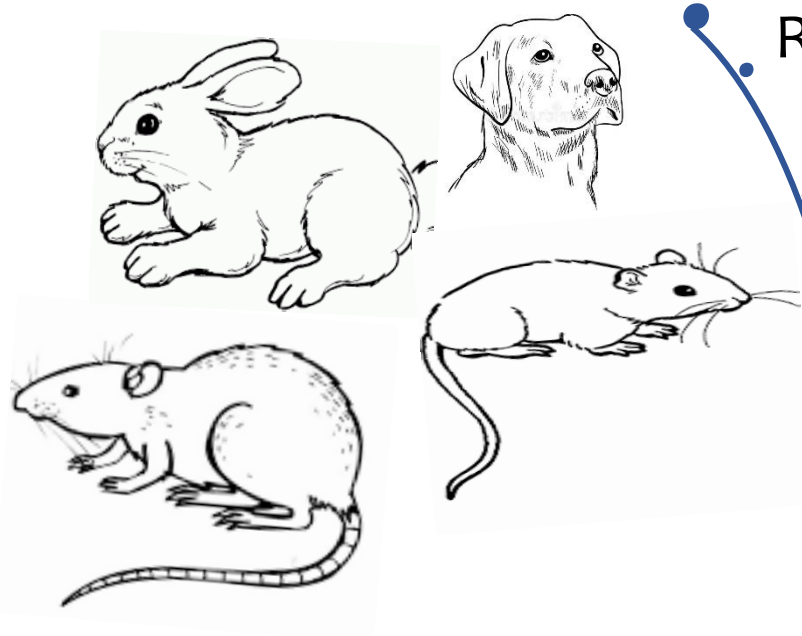


Qualité et validité études

## II. Tests *in vivo*

---

### ➤ **Modèle animal**



• Rongeurs +++ : rats, souris...

• Non rongeurs : lapin, chien, singe porc...

• Animaux sains adultes +++

• Femelles nullipares et non gravides

• Nnés, jeunes, âgés (études de sensibilité)

• Animaux génétiquement modifiés

## II. Tests *in vivo*

---

### ➤ Conditions élevage



Local avec système ventilation et traitement air

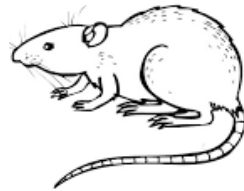
💡 Eclairage artificiel : 12 h lumière / obscurité

🌡️ Température : 22°C ( $\pm$  3C).

☁️ Humidité relative : 50 à 60%



Accès limité



Nombre limité /cage

## II. Tests *in vivo*

---

### ➤ Déroulement

#### Préparation

- Rédaction protocole
- Choix animal
- Choix groupe témoin / animal sain, véhicule
- Planification étude

#### Réalisation

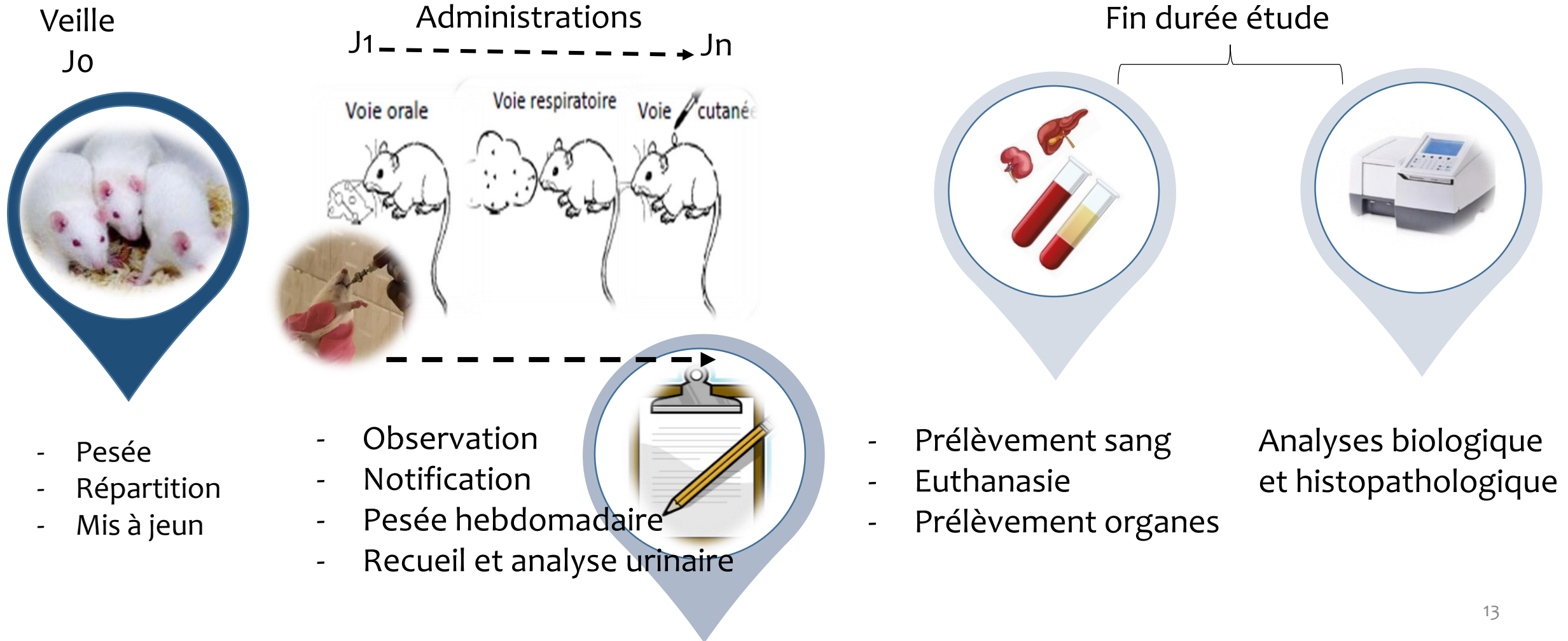
- Utilisation de registres
- Mention de toute activité
- Mention de matériel et méthode

#### Rapport

- Analyse résultats / statistique
- Mention méthodes utilisées
- Interprétation et discussion résultats
- Perspectives

# II. Tests *in vivo*

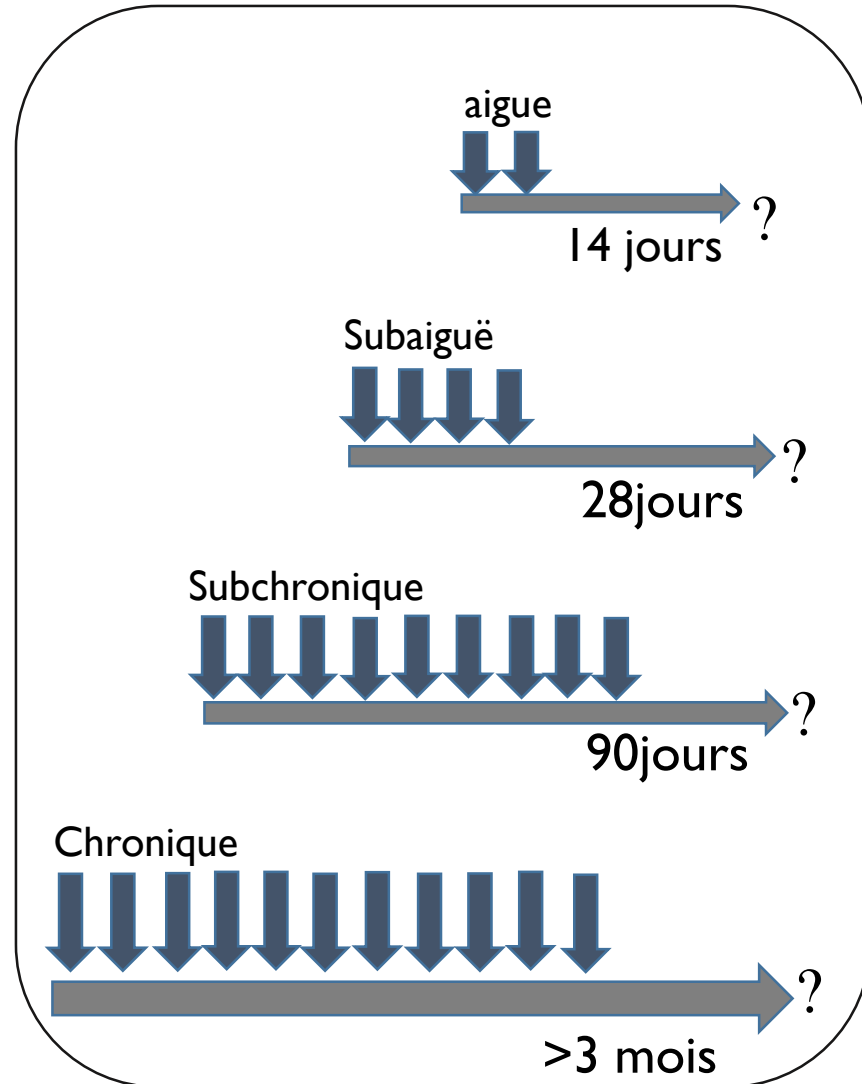
## ➤ Principe général



# II. Tests *in vivo*

---

## Formes de toxicité



## Paramètres étudiés

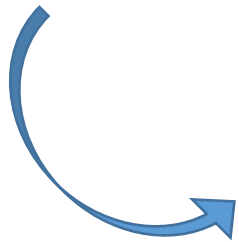
- Orale : **DL<sub>50</sub>**
- Inhalation : **CL<sub>50</sub>**
- Locale : irritation, corrosion, phototoxicité...

- Organe(s) cible(s)
- Effet critique
- **DSENO / DMENO**
- **Reprotoxicité**
- **Cancérogénicité**
- **Mutagénicité**
- ...

# II. Tests *in vivo*

## 1. Evaluation de la toxicité aigue

Etude **qualitative** et **quantitative** des effets indésirables se manifestant après administration d'une **dose unique** ou de **petite dose ne dépassant pas 24h**, d'une substance ou mélange de substances.



**DL<sub>50</sub>**

**CL<sub>50</sub>**

Intérêt

- Classification / Système général harmonisé (SGH)
- Evaluation effet surdosage
- Détermination doses / études à long terme
- Programmation essais thérapeutiques chez l'homme
- Calcul « index thérapeutique »

# II. Tests *in vivo*

---

## 1. Evaluation de la toxicité aigue

### ➤ Détermination de la DL<sub>50</sub>

- **1981**: OCDE fait de la DL<sub>50</sub> un test officiel (LD 401 pour les essais)
- **1987** : réduction à 20 au lieu de 30 du nombre minimum d'animaux/lot
- **2001**: approbation de 3 nouvelles méthodes alternatives
- **2002** : abrogation de la ligne directrice 401

## II. Tests *in vivo*

---

### 1. Evaluation de la toxicité aigue

#### ➤ Détermination de la DL<sub>50</sub>

- Mise à jeun
- Administration unique
- Observation et suivi / 14 jours



- Identité substance
- Choix : animal, voie administration, dose
- Rédaction protocole / matériel, méthode
- Méthodologie
- Résultat / DL<sub>50</sub>, CL<sub>50</sub>, ...
- Interprétation / classe de toxicité

## II. Tests *in vivo*

---

### 1. Evaluation de la toxicité aigue

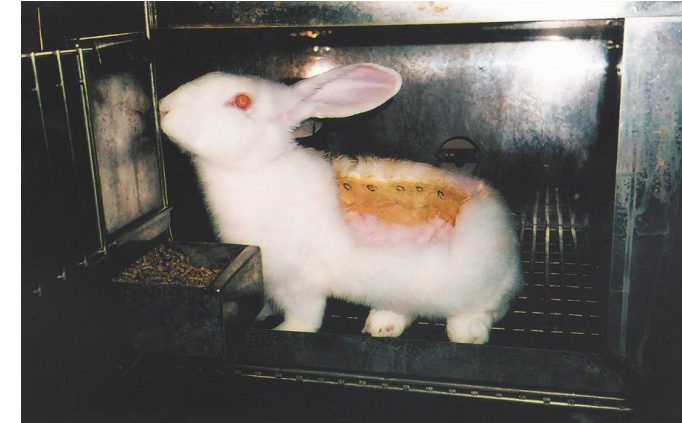
#### ➤ Détermination de la $DL_{50}$ / $CL_{50}$

**Réalisation** ==> administration

Voie respiratoire



Voie orale



Voie cutanée

Voie oculaire



## II. Tests *in vivo*

---

### 1. Evaluation de la toxicité aigue

#### ➤ Détermination de la DL<sub>50</sub> / CL<sub>50</sub>

#### Observations notées

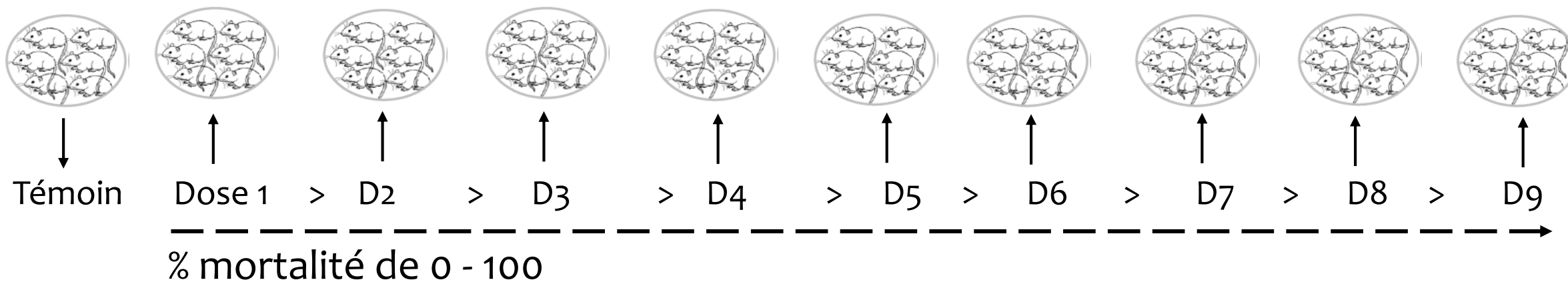
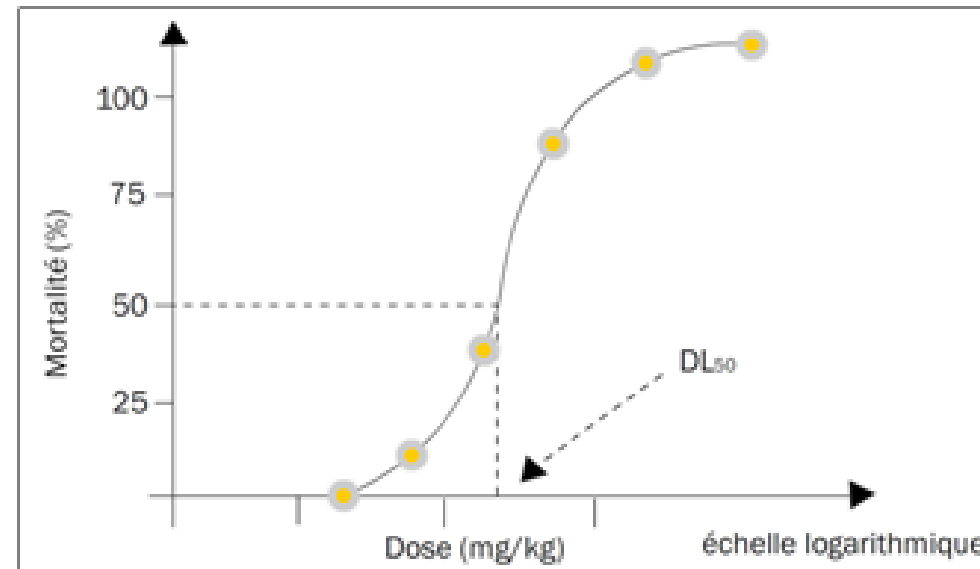
- Mortalité, signes de souffrance
- Modifications peau, fourrure, yeux et muqueuses,
- Activités réflexes et comportements bizarres
- Changement démarche ou posture, réactions à la manipulation,...

# II. Tests *in vivo*

## 1. Evaluation de la toxicité aigue

### ➤ Détermination de la DL<sub>50</sub> / CL<sub>50</sub>

Réalisation ==> Méthode ancienne



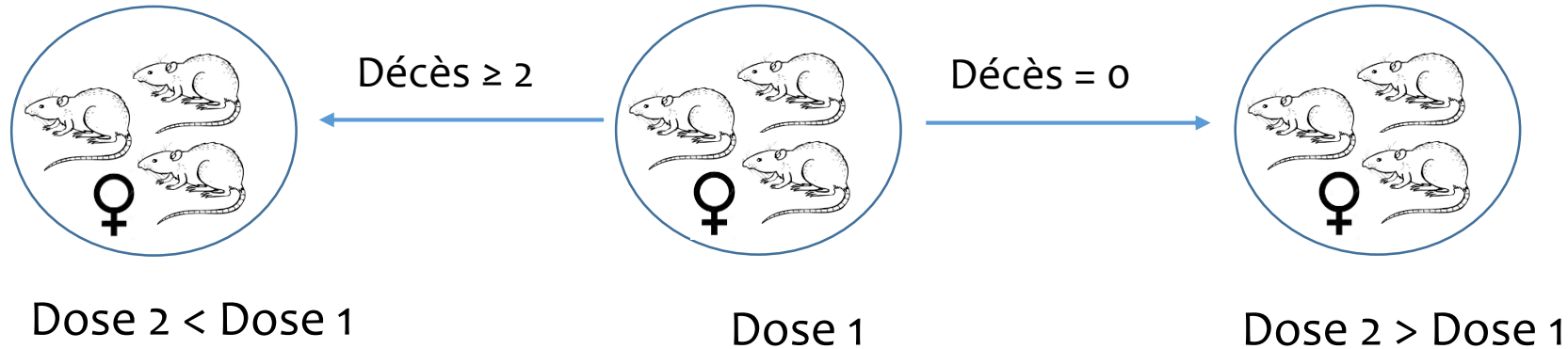
# II. Tests *in vivo*

---

## 1. Evaluation de la toxicité aigue

### ➤ Détermination de la $DL_{50}$ / $CL_{50}$

**Réalisation** ==> **Méthodes actuelles**



$DL_{50}$  = dose la plus élevée qui n'entraîne ni décès ni signes de souffrance  
Dose maximale que l'on peut tester = 5000 mg/kg

# II. Tests *in vivo*

---

## 1. Evaluation de la toxicité aigue

### ➤ **Limites DL<sub>50</sub> / CL<sub>50</sub>**

- Ne détermine que la mortalité / souffrance
- Pas d'informations sur mécanismes et nature des lésions
- influencée par plusieurs facteurs (espèce animale, voie administration,...)
- Appréciation grossière et préliminaire,

## II. Tests *in vivo*

---

### 1. Evaluation de la toxicité aigue

#### ➤ Limites $DL_{50}$ / $CL_{50}$

**Ex :** Dichlorvos (insecticide)

$DL_{50}$  orale (rat) : 56 mg/kg

$DL_{50}$  orale (lapin) : 10 mg/kg

$CL_{50}$  inhalation (rat) : 1,7 ppm

$DL_{50}$  orale (souris) : 61 mg/kg

$DL_{50}$  cutanée (rat) : 75 mg/kg

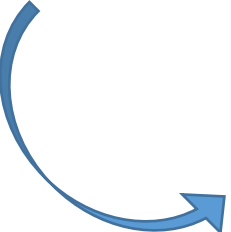
$DL_{50}$  orale (chien) : 100 mg/kg

# II. Tests *in vivo*

---

## 2. Evaluation de la toxicité par administration répétées

Etude **qualitative** et **quantitative** d'effets indésirables se manifestant après administrations répétées à petites doses d'une substance ou mélange de substances.

- 
- Dose Sans Effet Nocif Observable (**DSENO = NOAEL**)
  - Dose Minimum Effet Nocif Observable (**DMENO = LOAEL**)
  - Valeur Limite d'Exposition Professionnelle (**VLEP**)
  - Valeur Moyenne d'Exposition (**VME**)

# II. Tests *in vivo*

---

## 2. Evaluation de la toxicité par administration répétées



### Objectifs

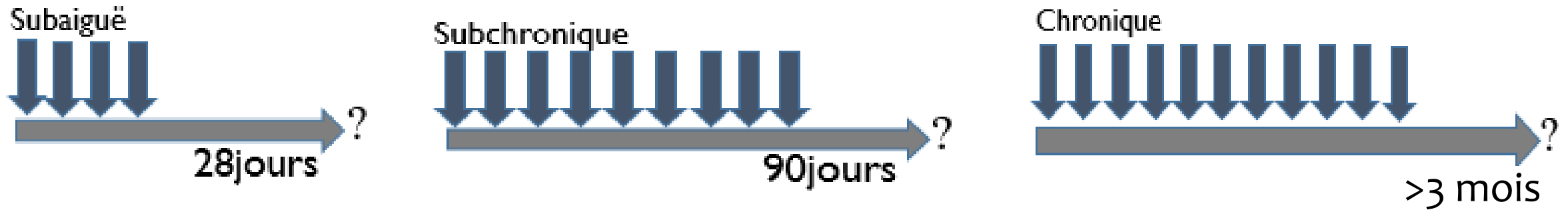
- Déterminer altérations :  
biologiques, fonctionnelles et structurales des organes cibles
- Déterminer réversibilité ou non des effets
- Evaluer tolérance physiologique et métabolique à faibles doses
- Confirmer la relation dose-effet pour les études longues
- Evaluer la toxicité cumulative

# II. Tests *in vivo*

---

## 2. Evaluation de la toxicité par administration répétées

➤ **Toxicité générale** : 3 types de toxicité étudiée / fonction durée d'étude



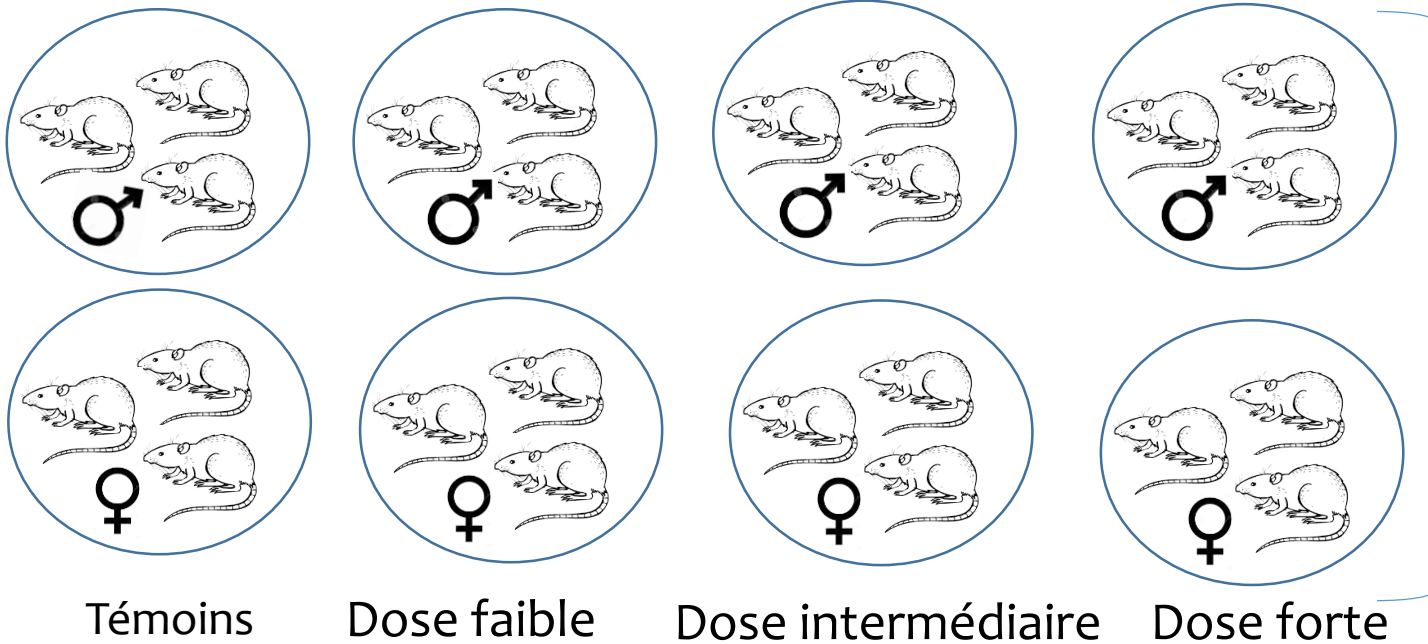
➤ **Toxicité spécifique / particulière**

- Reprotoxicité
- Cancérogénicité
- Mutagénicité
- Immunotoxicité

# II. Tests *in vivo*

## 2. Evaluation de la toxicité par administration répétées

### ➤ Réalisation



- Deux espèces
- Administration 7/7
- Voie / celle prévu chez l'homme
- Observation : 28 jrs, 90 jrs ,  $\geq$  6 mois...

# II. Tests *in vivo*

---

## 2. Evaluation de la toxicité par administration répétées

### ➤ Réalisation

#### - Suivi

- Signes de toxicité
- Paramètres physiologiques (masse corporelle, température...)
- Consommation aliment et eau...
- Evolution masse corporelle

- **Analyses biologiques** : biochimie et hématologie

- **Examen macroscopique et microscopique organes**

# II. Tests *in vivo*

---

## 2. Evaluation de la toxicité par administration répétées

### ➤ Réalisation

- ✓ Cancérogénicité,
- ✓ Reprotoxicité
- ✓ Mutagénicité-génotoxicité,...



Observations supplémentaires et  
spécifiques

# II. Tests *in vivo*

---

## 2. Evaluation de la toxicité par administration répétées

### Mutagénicité

Mise en évidence  
atteinte matériel  
génétique

Test de micronoyaux  
chez la souris

### Cancérogénicité

Mise en évidence  
tumeurs / cancers

Durée étude  $\geq 24$   
mois

### Reprotoxicité

Mise en évidence  
effets sur fonction  
de reproduction

- Fertilité
- Tératogénicité / foetotoxicité
- Développement post natal

# II. Tests *in vivo*

## 2. Evaluation de la toxicité par administration répétées



Prise de thalidomide



Phocomélie

### Thalidomide tragedy (1962)

- Thalidomide was first marketed in 1957 in West Germany.
- The German drug company developed and sold the drug. Primarily prescribed as a sedative or hypnotic, thalidomide also claimed to cure "anxiety, insomnia, gastritis, and tension".
- Afterwards, it was used against nausea and to ease morning sickness in pregnant women.
- Soon, Thalidomide became an over the counter drug in Germany.
- Shortly after the drug was sold in Germany, between 5,000 and 7,000 infants were born with Phocomelia (malformation of the limbs).
- Only 40% of these children survived.
- Throughout the world, about 10,000 cases were reported. Only 50% of the 10,000 survived.
- Their effects included deformed eyes and hearts, deformed alimentary and urinary tracts blindness and deafness.

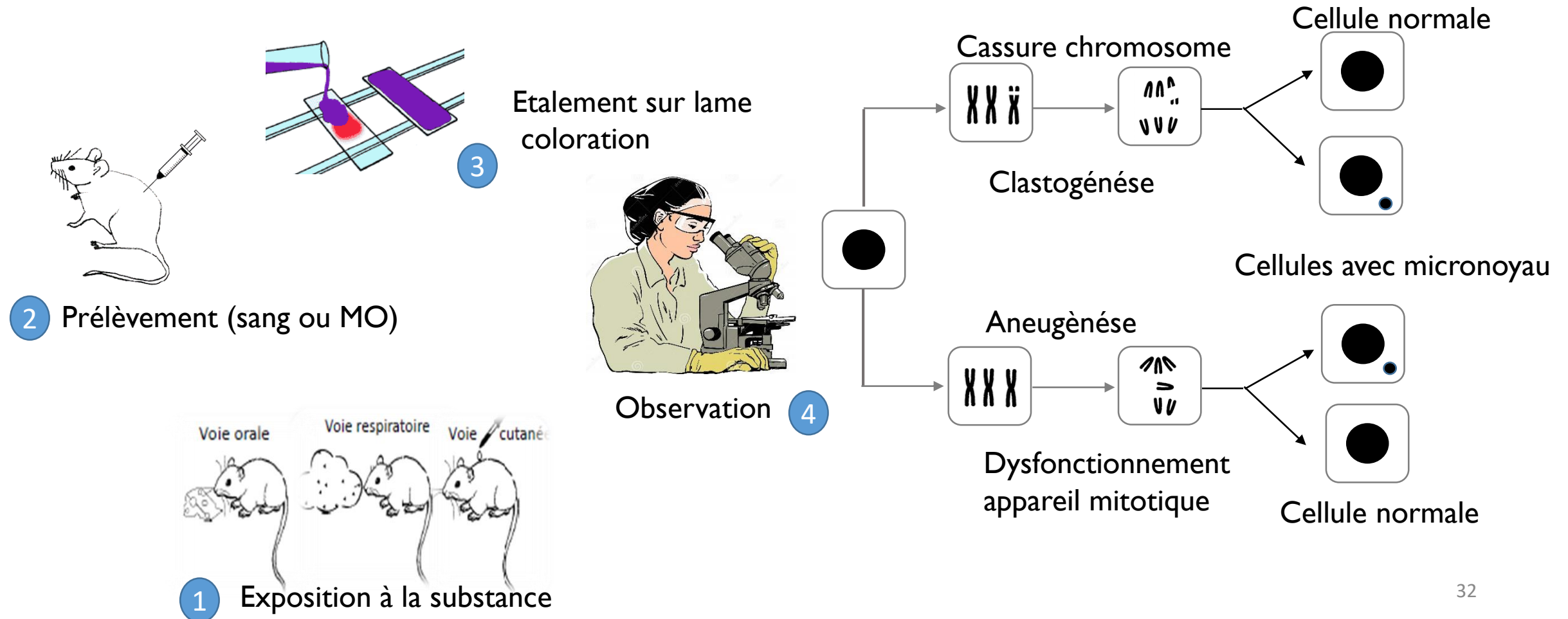


Test reprotoxicité / Tératogénicité : rongeur et non rongeur

# II. Tests *in vivo*

## 2. Evaluation de la toxicité par administration répétées

### Test de micronoyaux chez la souris



## II. Tests *in vivo*

---

### 3. Facteurs influençant la toxicité

#### ➤ Physiques et environnementaux

- Température ==> modification métabolisme
- Humidité ==> thermorégulation , prise aliment, résistance aux maladie
- Aération ==> taux ammoniac, chaleur et gaz carbonique
- Eclairage :
- Bruit ==> prise aliments, reproduction, immunité ...

## II. Tests *in vivo*

---

### 3. Facteurs influençant la toxicité

#### ➤ Liés aux animaux

- Age
- Espèce
- Sexe
- Etat général
- Polymorphisme génétique

## II. Tests *in vivo*

---

### 3. Facteurs influençant la toxicité

#### ➤ Liés aux soins

- Alimentation
- Acclimatation
- Manipulation

# III. Extrapolation chez l'homme

---

## 1. Transposition

- Détermination concentration équivalente en toxicité humaine,
- Exprimée en mg / L de plasma à partir des données obtenues chez l'animal.

### ❖ Difficultés :

- ADME
- Appréciation certains effets : céphalées, vertiges, nausées, insomnie, fatigue...

# III. Extrapolation chez l'homme

---

## 2. Extrapolation

### ➤ Facteur de sécurité (FS)

✓ Détermination valeurs toxicologiques de références (VTR) :

- Dose Journalière Admissible

- Valeurs Limite d'Exposition Professionnelle,

- Valeur Moyenne d'Exposition

✓ **VTR (à seuil) = Dose critique (DSNEO, DMENO) / FS**

mg/kg/J ou µg/kg/J / voie orale),

mg/m<sup>3</sup> ou µg/m<sup>3</sup> / inhalation

# III. Extrapolation chez l'homme

---

## 2. Extrapolation

### ➤ Facteur de sécurité (FS) / 10

- Variabilité inter-espèce et intra individuelle
- Usage d'une DMENO plutôt que d'un DSENO
- Transposition d'une exposition subchronique à chronique
- Insuffisance des données (en qualité et en quantité)
- Sévérité de l'effet
- Inadéquation voie d'exposition

# III. Extrapolation chez l'homme

---

## 2. Extrapolation

➤ **DJA = valeur estimant la quantité d'un produit à laquelle un individu peut théoriquement être exposé (par ingestion), tous les jours, sans constat d'effet nuisible, pendant toute sa vie.**

$$\text{DJA} = \text{DSENO} / \text{FS}$$

Exemple: Substance A

DSENO (chez le rat) = 0,5 mg/Kg

variabilité interespèces : 10 ; intra individuelle : 10

DJA (Chez l'homme) =  $0,5/100 = 0,005\text{mg/Kg pc/j}$

# III. Extrapolation chez l'homme

---

## 3. Limites

- Variabilité inter espèces : différences anatomophysiologiques et biochimiques
- Insuffisance prédiction effets cliniques : ADME, régime alimentaire...
- Difficultés de mise en évidence de certains effets chez l'animal
- Cout élevé
- Réalisation longue

**Tests in vivo très critiqués sur le plan éthique : souffrance et nombre de mortalité importante chez animaux de laboratoire.**

**Ethique en  
expérimentation  
animale: ?**