

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Abderrahmane Mira Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département BPC



Pharmaco-Toxicologie Analytique

Chapitre 3 : Test de Toxicité chez l'animale

Dr MOULAOUÏ KENZA

M1 Pharmaco-Toxicologie
Année universitaire 2023 2024

Évaluation de la toxicité

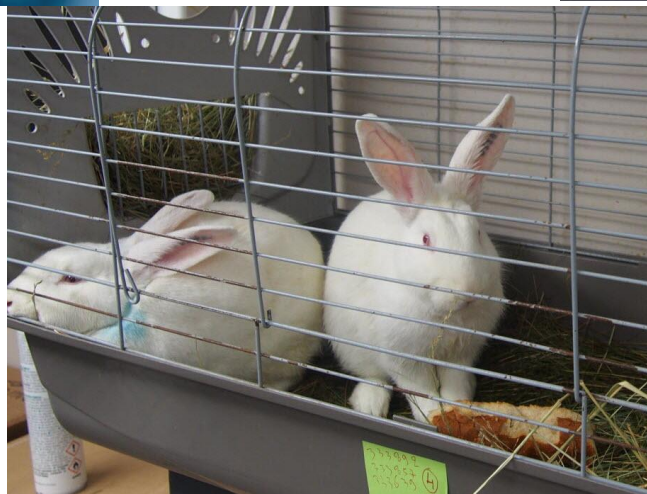
Les études de toxicologie visent à établir quels sont les organes cibles et les doses toxiques du candidat médicament pour un organisme vivant.

Les études de toxicité permettent l'identification d'effets indésirables et l'identification des organes cibles possibles.

Grâce à cela, on connaît le type de surveillance à effectuer pendant les essais cliniques. Les autres objectifs sont d'évaluer les relations possibles entre les effets et l'exposition du produit, d'évaluer la réversibilité des effets indésirables observés et d'analyser l'influence du sexe, de la dose, du temps ou d'autres facteurs sur les effets indésirables.



Ces études doivent être menées sur deux espèces différentes, un rongeur et un non-rongeur, avec des groupes mâles et des groupes femelles. Le chien est l'espèce la plus utilisée pour les non-rongeurs mais en fonction de la substance étudiée, le singe peut aussi être utilisé.



1. Toxicité aiguë : D.L. 50

L'étude de la mortalité après une administration unique d'un produit permet de déterminer la dose létale 50, ou **DL 50**, qui est la dose qui tue 50% des animaux traités dans un temps déterminé, (08 à 14) jours.

L'étude est faite sur des lots d'animaux, souris, rats... que l'on traite avec différentes doses du produit étudié, administré dans des conditions bien déterminées.



On note

La mortalité

Toutes les modifications comportementales ou autres qui apparaissent.

La DL 50 d'un même produit dépend de l'espèce et de la voie d'administration; la toxicité est plus grande par voie parentérale que par voie buccale.



Intérêt de calcul de la DL50

La détermination de la DL50 permet de classer les produits chimiques d'après leurs toxicité selon l'échelle de **Hodge et Sterner** représentée sur le tableau I

Tableau I : Classe de toxicité : Echelle de Hodge et Sterner 1943

Classe de toxicité	Terme utilisé	Paramètre toxicologique (DL ₅₀)
1	Extrêmement toxique	$DL_{50} \leq 1 \text{ mg /Kg}$
2	Hautement toxique	$1 \text{ mg/Kg} \leq DL_{50} \leq 50 \text{ mg/Kg}$
3	Modérément toxique	$50 \text{ mg/Kg} \leq DL_{50} \leq 500 \text{ mg/Kg}$
4	Légèrement toxique	$500 \text{ mg/Kg} \leq DL_{50} \leq 5000 \text{ mg/Kg}$
5	Presque toxique	$5000 \text{ mg/Kg} \leq DL_{50} \leq 15000 \text{ mg/Kg}$
6	Relativement inoffensif	$DL_{50} \geq 15000 \text{ mg/Kg}$

2. Toxicité Subaiguë :

Des études de toxicité subaiguë sont réalisées pour évaluer les effets secondaires potentiels d'un nouveau médicament après une période de traitement de 28 jours. Les études de toxicité subaiguë sont menées en tant qu'études pour sélectionner les niveaux de dosage à utiliser dans les études de toxicité subchronique et chronique ultérieures.

Ces études sont conçues pour évaluer la progression et la régression des lésions induites par les médicaments, mais sont souvent insuffisamment chronométrées pour décrire les effets secondaires qui se produisent lors d'une utilisation clinique à long terme ou de tests de toxicité chronique et de cancérogénicité.

3. Toxicité chronique

Elle consiste à étudier les conséquences néfastes de l'administration répétée du produit étudié. Le produit est administré quotidiennement, une ou deux fois par jour, pendant une durée plus ou moins longue, trois à six mois, en général, en fonction de la durée d'administration prévue chez l'Homme.

L'expérimentation porte sur deux ou trois espèces animales différentes adultes, souris, rats, lapins, recevant chacune généralement trois doses différentes (faible, moyenne, forte) du produit.



Lorsque le médicament est destiné à un usage pédiatrique, une expérimentation complémentaire sur animaux jeunes, âgés par exemple de quelques jours, peut être utile pour déceler une éventuelle toxicité particulière chez l'enfant.

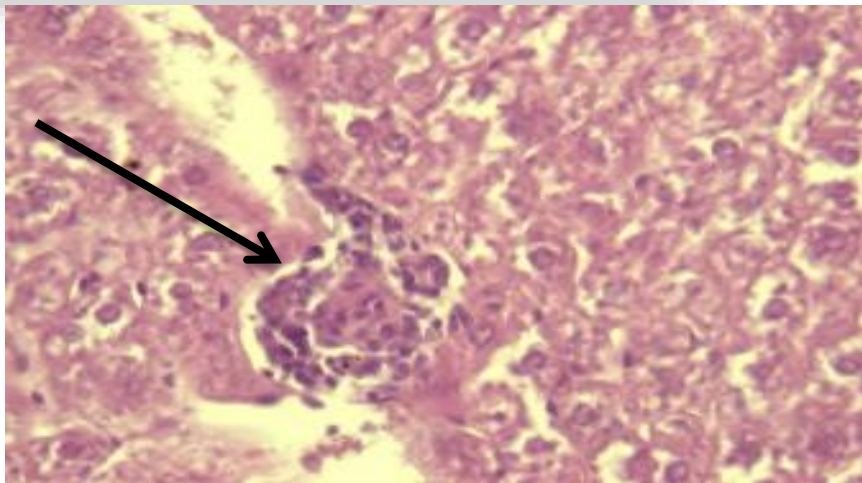


Les signes de toxicité recherchés :

Sur le plan clinique : aspect, poids, prise de nourriture, de boisson, etc.



Sur le plan biologique : paramètres hématologiques, biochimiques, anatomo-pathologiques.



Il s'agit d'une étude extrêmement coûteuse qui n'est entreprise que lorsque l'on pense que le produit a des chances de devenir un "médicament".

De plus en plus, les tests *in vitro* apportent des renseignements sur la toxicité potentielle des substances, mais ils ne sont pas suffisants pour éviter l'expérimentation sur l'animal entier avant l'administration à l'Homme.

4. Toxicité et reproduction

Toute molécule susceptible de devenir un médicament peut être suspectée de modifier la reproduction, la fertilité et la descendance.

A. Reproduction et Fertilité

Après administration du produit testé au mâle et/ou à la femelle, les modifications de la reproduction peuvent être décelées en étudiant le déroulement et la fréquence des accouplements et la modification de la fertilité en comptant la fréquence des gestations.

B. Effet sur la descendance

Une substance peut avoir des effets toxiques sur la descendance quelque soit le moment de la gestation où elle est administrée à la mère mais plus particulièrement durant la phase d'embryogenèse. On utilise pour caractériser la toxicité d'un médicament ou d'une substance les termes de tératogène, embryotoxique et foetotoxique.

Une substance est **tératogène** lorsque, prise par la mère pendant la gestation, elle provoque des malformations visibles dans la descendance, comme l'a fait le thalidomide dans l'espèce humaine.

Le **thalidomide** est un médicament utilisé durant les années 1950 et 1960 comme sédatif et anti-nauséeux, notamment chez les femmes enceintes. Il a été découvert qu'il est à l'origine de graves malformations congénitales.



L'activité tératogène d'un produit est mise en évidence par l'apparition d'anomalies morphologiques ou fonctionnelles dans la descendance de femelles traitées pendant la gestation. L'expérimentation de chaque produit étudié se fait sur deux ou **trois espèces animales**, en administrations répétées pendant en général toute la durée de la gestation et à plusieurs doses. Elle comporte l'examen des animaux à la naissance et éventuellement à plus long terme.

Embryotoxique désigne les effets toxiques provoqués durant la période d'embryogenèse (deux premiers mois de la grossesse dans l'espèce humaine)

Foetotoxique désigne les altérations induites durant la deuxième phase de la grossesse (à partir du début du troisième mois).

Si l'on observe des anomalies importantes ou fréquentes, le produit est contre-indiqué chez la femme enceinte.

Si les anomalies ne sont pas plus fréquentes que celles qui surviennent spontanément, le risque tératogène est faible. L'absence d'effet tératogène d'un produit chez deux espèces animales, rat et lapin, est une donnée essentielle qui ne garantit pas cependant son innocuité chez la femme enceinte et le laboratoire pharmaceutique peut, en dépit de cette absence d'effet tératogène d'un médicament chez l'animal, déconseiller son utilisation chez la femme enceinte.

C. Effet périnatal

Les accidents de périnatalité sont des troubles qui surviennent chez le nouveau-né dans la majorité des cas à la suite de la prise d'un médicament par la mère peu avant l'accouchement et de sa diffusion à travers le placenta (il peut s'agir par exemple de somnolence du nouveau-né après la prise d'un sédatif par la mère). Plus rarement on peut observer chez le nouveau-né un syndrome de sevrage consécutif à l'arrêt de l'apport par la mère à travers le placenta d'un médicament ou d'une drogue.



5. Risque mutagène

Le risque mutagène d'un médicament consiste en l'altération du génome, c'est-à-dire de l'acide désoxyribonucléique ou DNA. Une mutation consiste en un changement dans une séquence des nucléotides d'une partie du génome. La mutation peut être silencieuse, c'est-à-dire sans conséquence ou accompagnée de conséquences.

La recherche de mutations est effectuée dans le cadre de la toxicologie génétique. On utilise en général des tests *in vitro* sur des souches mutantes, par exemple *Salmonella typhimurium* (Test de Ames), et on mesure le nombre de mutations.

6. Cancérogénèse

Cette étape permet de détecter un éventuel pouvoir cancérigène du produit. Ces études peuvent être menées en parallèle des études de première administration à l'Homme sauf en cas de signes d'appel (ex : tests de mutagénèse positifs).

Administration au long cours du produit (2 ans ou plus), chez 2 espèces (généralement rat et souris) avec 3 niveaux de doses.

La voie d'administration sera identique à celle utilisée en clinique. Il est nécessaire d'apporter la preuve de l'exposition au produit par des mesures répétées de concentration plasmatique.

7. Evaluation de la toxicité cutanée

Test de Draize

Identification des produits irritants (test d'irritation) : application sur la peau d'un lapin ou après introduction dans le sac conjonctival de son œil des réactions caractéristiques sont recherchées : rougeur, urticaire, et formation de vésicules, nécrose, conjonctivite, production de larmes.

L'évaluation permet de classer les substances en 5 groupes selon le pouvoir irritant:

- Non irritant
- Faiblement irritant
- Modérément irritant
- Fortement irritant
- Extrêmement irritant

Les alternatives aux tests de toxicité sur animaux *in vivo* :

Les études *in vitro*

Essais de Cytotoxicité *in vitro*

Les tests de culture de cellules humaines : sont plus précis que les DL50 chez les animaux capables de prévoir la toxicité chez les humains avec une précision de 90%.

Les avantages des cultures de cellules humaines pour prévoir la toxicité

Elles sont humaines et permettent d'éviter les différences des espèces. Elles peuvent être prélevées à partir d'un tissu (peau, foie) susceptible d'être affectées par une substance particulière, elles permettent au chercheur d'étudier comment une substance endommage les cellules et donc de savoir pourquoi elle est toxique, elles permettent également d'éviter de faire souffrir et de tuer des animaux.

