

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche

Département de Biologie Physico-Chimique, Faculté des sciences de la nature et de la
vie
Université A. Mira de Bejaia

Cours

Toxicologie réglementaire

Licence – Toxicologie

Dr. CHERAFT-BAHLOUL Nassima

Laboratoire de Biochimie Appliquée

Année: 2023/2024

Programme de la matière

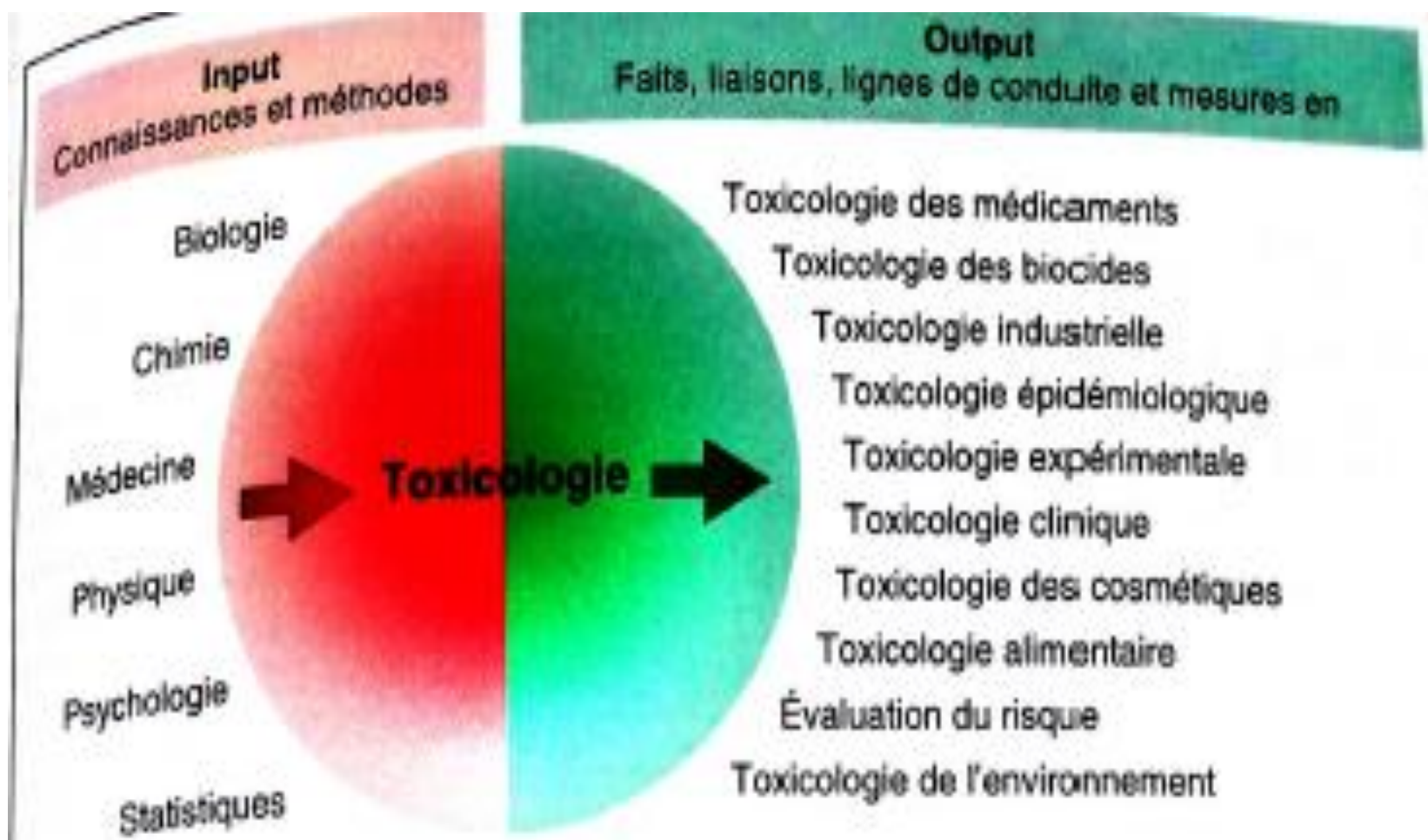
Toxicologie réglementaire

- L'éthique en expérimentation animale ;
- La législation et bien-être animal ;
- Le bien-être animal et les essais de toxicologie ;
- Prise en charge de la souffrance et critères décisionnels ;
- Application des points limites dans un centre de toxicologie expérimentale ;
- Modalités d'usage des produits toxiques ;
- Moyens de destruction des produits et des déchets toxiques.

I.3 Le bien-être animal et les essais de toxicologie une adéquation délicate

Une adéquation délicate

Les essais de toxicologie



A. Le caractère interdisciplinaire de la toxicologie

Poisons naturels	Origine	Dose létale minimale ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
Toxine botulique	Clostridium	0,00003
Toxine du tétanos	Clostridium	0,0001
Ricin	Plante de Ricin	0,02
Térodotoxine	Tétronon	10
Alatoxine B1	Moisissures	10
Strychnine	Strychnus vomiquier	500
Nicotine	Tabac	1000

A. Dose létale chez les hommes

Données toxicologiques

Exposition

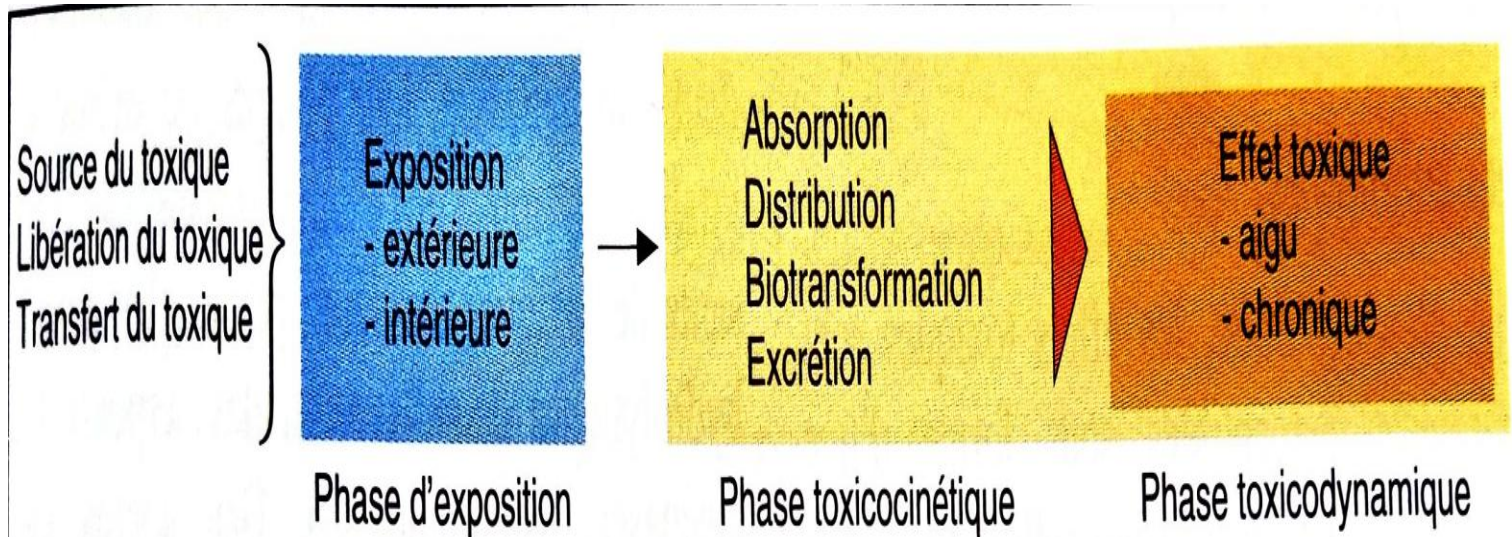
Intoxication

Intoxication Extérieure
: eau sol air

libération

Intoxication intérieure
Temps de résidence de toxique dans
l'organisme

Introduction du
(peau, app
digestif, ou App
respiratoire)



A. Différentes phases lors d'une intoxication

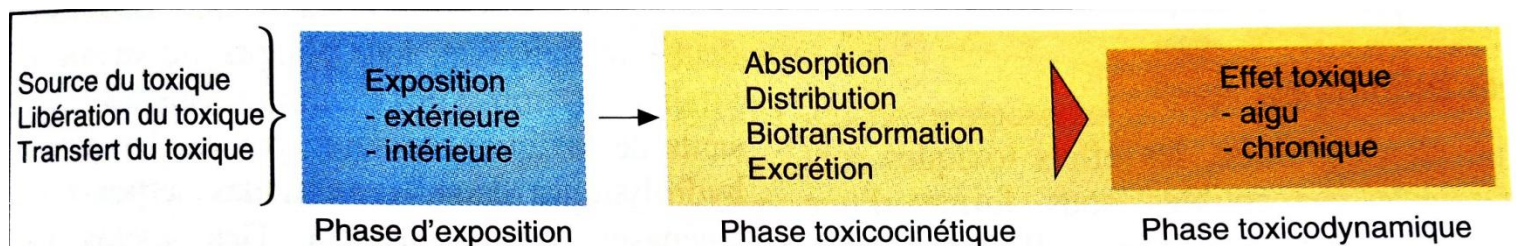
Type de mélange		Exemple
Mélange gazeux	(gaz/gaz)	Gaz d'éclairage
Brouillard	(liquide/gaz)	Sn (IV) dans l'air
Poussières	(solide/gaz)	Poussières d'amiante
Émulsions	(liquide/liquide)	Tensioactifs
Suspensions	(solide/liquide)	Hydroxydes de fer
Poudres	(solide/solide)	Suies

C. Mélanges et leurs éléments

Données toxicologiques

Toxicodynamique

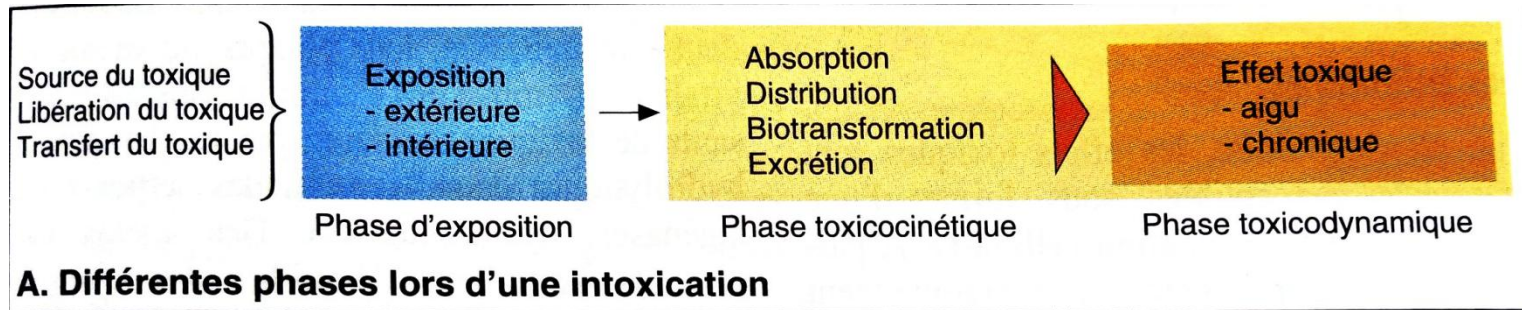
Toxicocénitique



A. Différentes phases lors d'une intoxication

Examen de la	Dose	Durée	Exemple	État final
Toxicité aiguë	une fois	24h – 14j	test DL ₅₀ test Draize	Mort
Toxicité subaiguë	plusieurs fois	< 1 m		États d'irritation Dommages aux organes
Toxicité subchronique	plusieurs fois	< 10 % ES*	no observed effect level (NOEL)	
Toxicité chronique	plusieurs fois	> 10 % ES*	test concernant le pouvoir cancérogène	Néoplasies

Données toxicologiques



Effet toxique :

la perturbation et le dysfonctionnement de l'équilibre des processus d'adaptations de l'organisme face à de nombreuses situations d'agression (biologique, chimique, physique).

Paramètres influençant l'effet toxique

➤ Effets toxiques sur certains tissus et systèmes biologiques

Tissus et système	Effets toxiques
œil	Irritation, Corrosion
Peau	Irritation, Corrosion, Dermatose
Système digestif	Irritation, Corrosion
Système cardiovasculaire	Anomalie du rythme cardiaque
Système nerveux central	Dépression (nausées vomissement étourdissement)
Système nerveux périphérique	Neuropathie (Perte de sensation, trouble de la coordination)
Système respiratoire	Irritation, corrosion, essoufflement
Système sanguin	Carboxyhémoglobinémie
Système urinaire	Urines foncées, Sang dans les urines

Evolution d'un effet toxique

Tableau : Détérioration progressive de l'état de santé

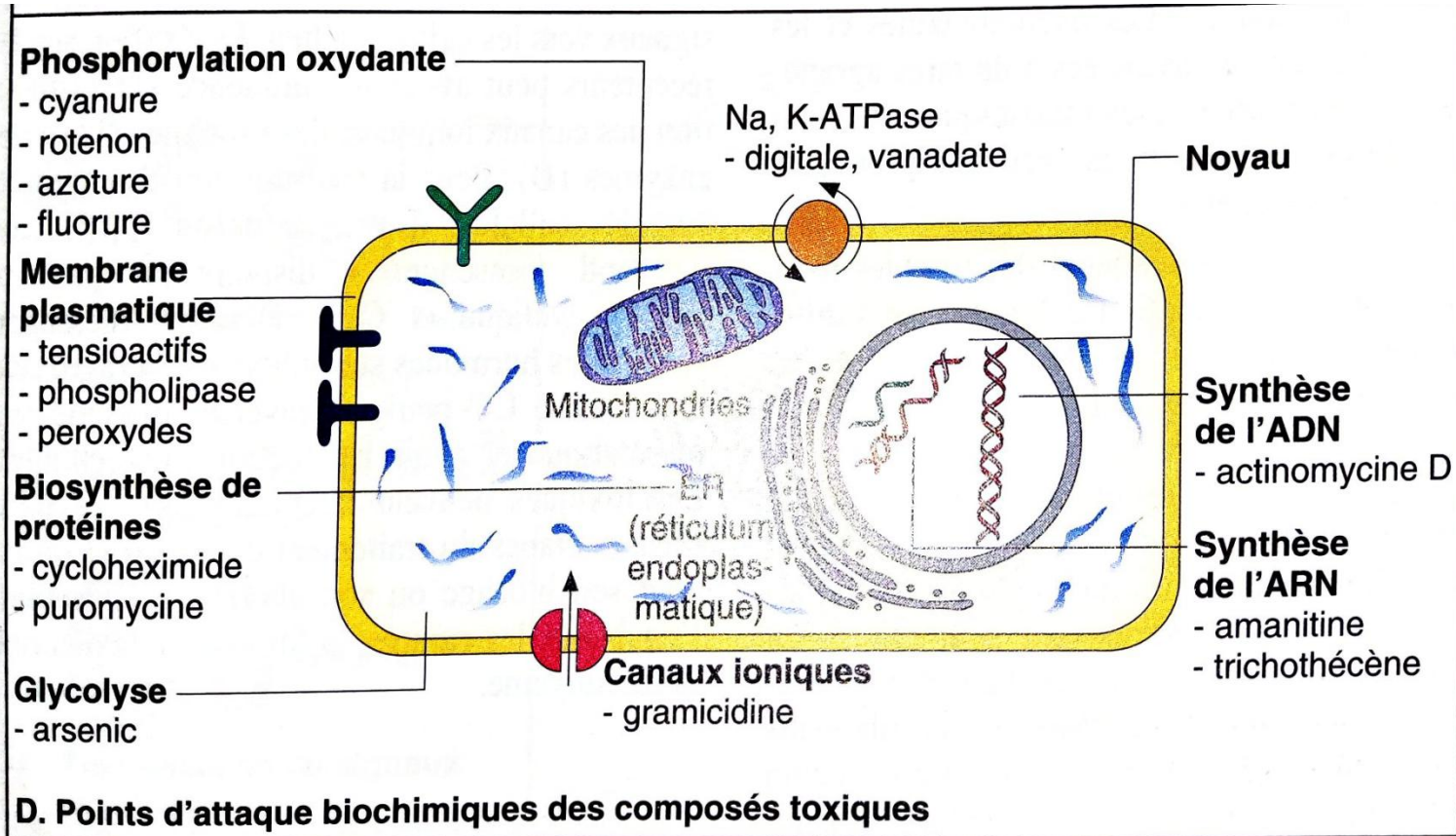
Etapes	Toxicité	Réversibilité	Description
A	+	++++	La réponse s'effectue à l'intérieur des limites du fonctionnement normal de l'organisme
B	++	+++	Les mécanismes d'ajustement normaux sont insuffisants et <u>l'organisme doit procéder à des corrections afin de compenser le déséquilibre biologique provoqué par l'agression</u> . Un épuisement progressif des capacités s'installe et la situation évolue vers une rupture de l'efficacité des mécanismes de défense.
C	+++	++	L'organisme <u>ne parvient pas à compenser le déséquilibre</u> , car ses mécanismes de défense ne peuvent pas suffire à la tâche. Une détérioration biologique peut alors s'installer progressivement.
D	++++	+	La détérioration se traduit par l'atteinte, souvent <u>irréversible, d'un ou de plusieurs processus biologiques</u> touchant un ou plusieurs organes. À ce stade, le retour à la normalité est possible, mais il est peu probable. La condition biologique peut s'aggraver jusqu'à un point de non-retour, qui délimite l'évolution vers une issue fatale, conséquence <u>de l'arrêt des fonctions vitales</u> .

4.6. Gravité de l'effet toxique

Tableau : Gravité d'un effet toxique

Degré de gravité	Effet	Exemple
Benin	Modifications biochimiques	Inhibition des cholinestases causés par l'exposition au malathion
Modéré	Augmentation du volume et du poids d'un organe	Hyperplasie du foie causée par l'exposition au chlorure de vinyle
Grave	Atteinte morphologique d'un organe	Neuropathie avec trouble de la motricité résultant de l'exposition à l'hexane
Fatal	Décès	Arrêt respiratoire causé par une intoxication grave aux cyanures

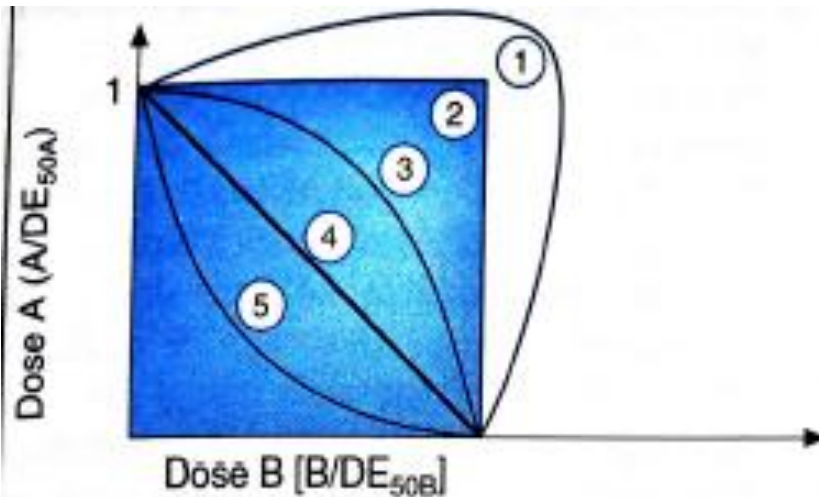
Cibles biochimiques



Les organes cibles

Toxicité envers les organes	Organe affecté	Exemple
Hépatotoxique	Foie	Tétrachlorure de carbone
Immunotoxique	Système immunitaire	Composés organostanniques
Cardiotoxique	Cœur	Glycosides des digitales
Myélotoxique	Moelle osseuse	Agents anticancéreux contenant du platine
Ototoxique	Oreille interne	Aminoglycosides
Néphrotoxique	Reins	Sels de cadmium
Neurotoxique	Système nerveux	Acrylamide
Pulmotoxique	Poumons	Paraquat

D. Toxicité importante vis-à-vis des organes

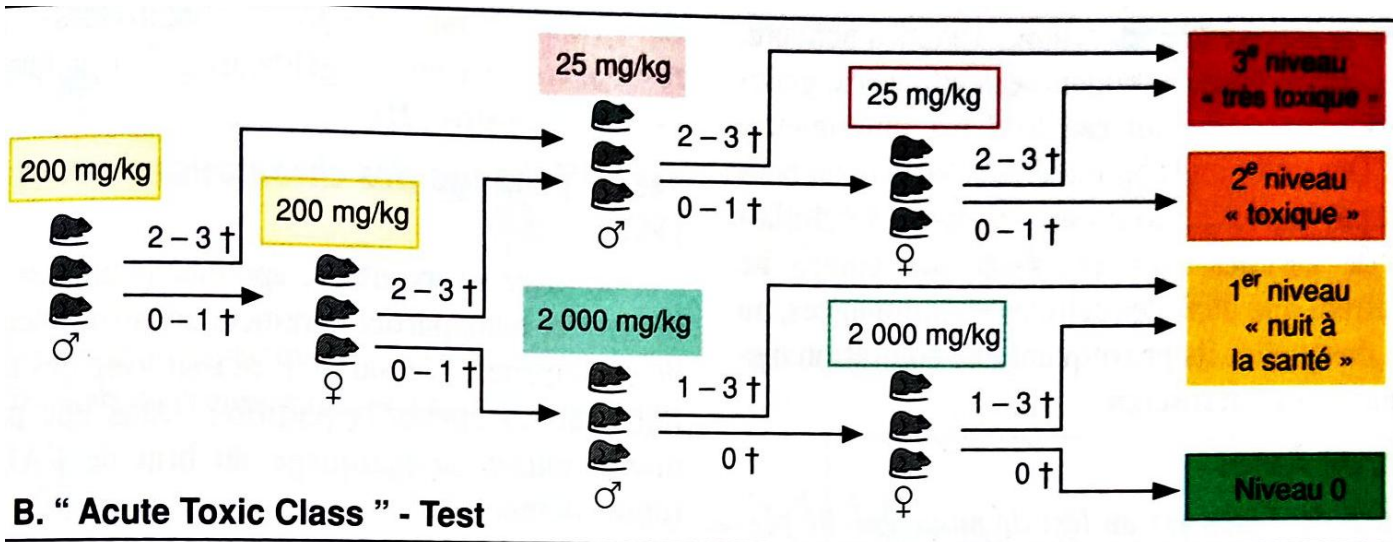


- ① Antagoniste
- ② Aucune interaction
- ③ Partiellement additive
- ④ Additive
- ⑤ Élevée à la puissance x ,
l'unité de matière est
exprimée en unités toxiques
(dose/DE₅₀)

C. Interaction de deux composés A et B dans un diagramme isobole

les essais de toxicologie

Test *in VIVO*





Test négatif

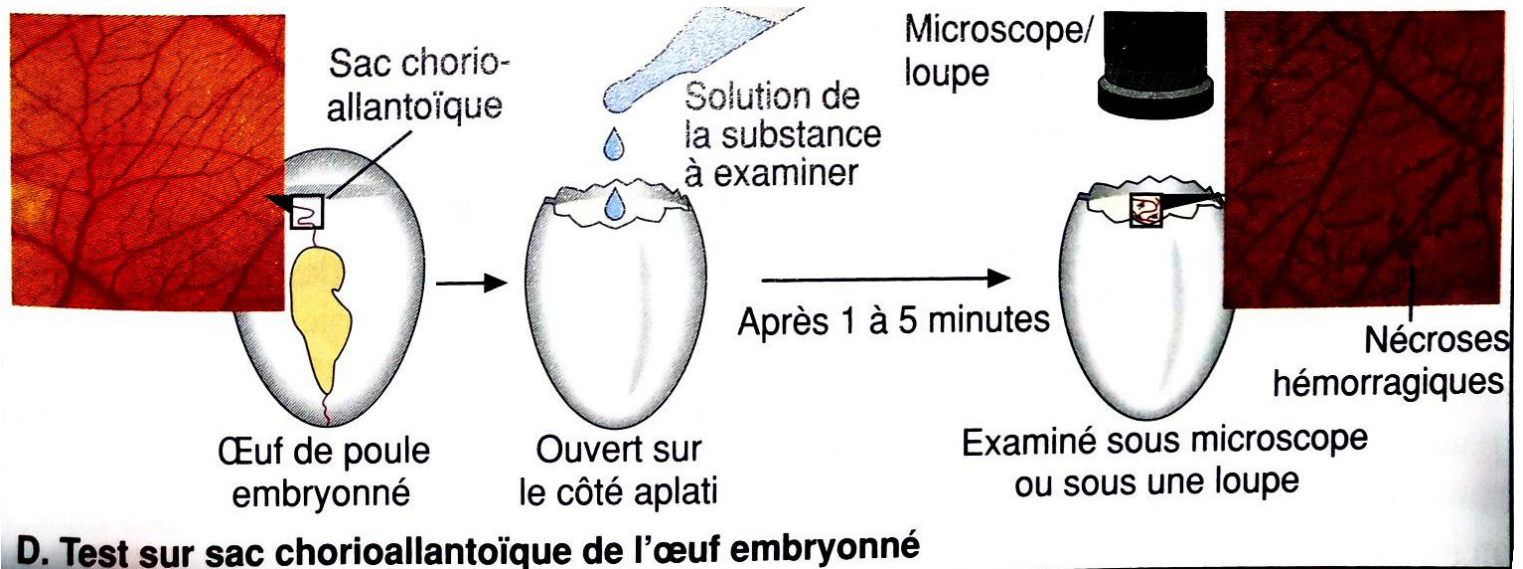
Aucun effet irritant discernable



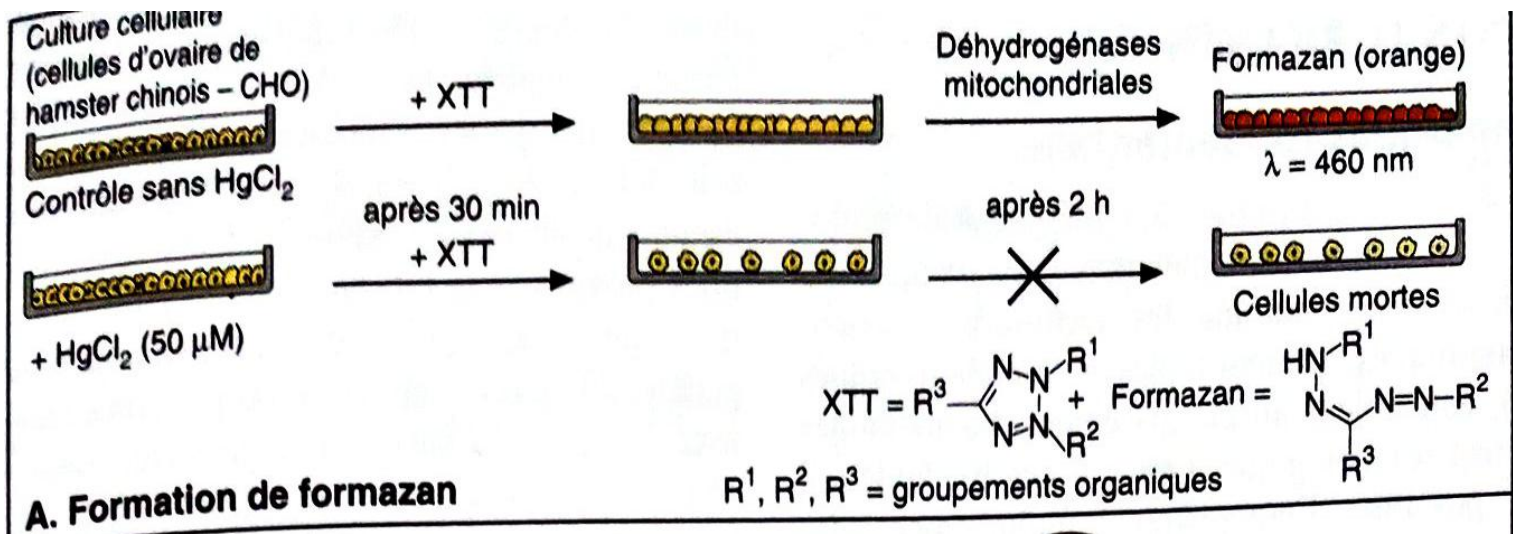
Test positif

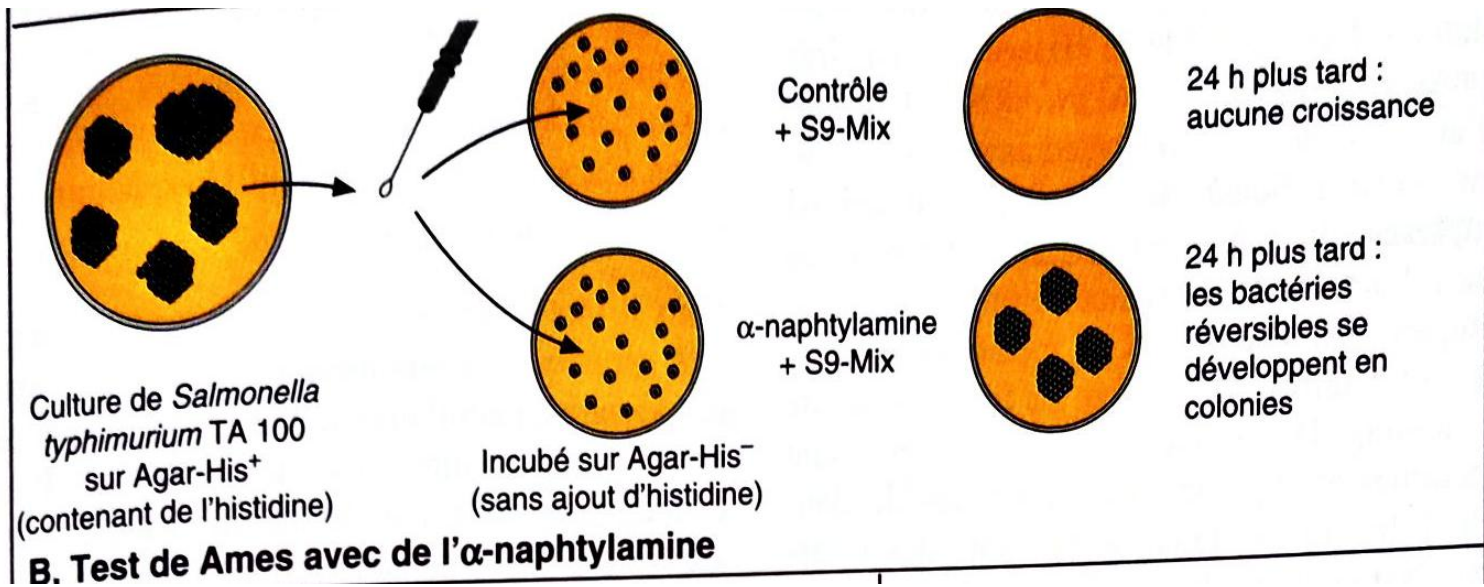
Conjonctivite

C. Test de Draize appliqué aux yeux de lapin



Test *in VITRO*



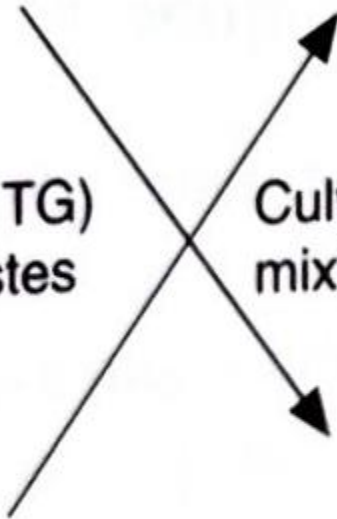
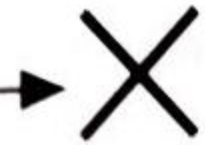




HG-PRT⁻
 (survie en
 présence de TG)
 V79 fibroblastes
 de hamster

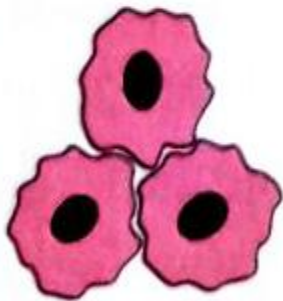


Contrôle
 + TG



Culture
 mixte

Le métabolite-TG est
 transmis par des gap
 junctions sur la mutante
 HG-PRT à travers la
 signalisation intracellulaire :
 les deux cellules meurent



HG-PRT⁺
 (survie sans
 présence de TG)



+ DDT

Le DDT et d'autres
 substances bloquent
 la signalisation cellulaire :
 les cellules résistantes
 survivent



C. Test HG-PRT

Extrait
d'amibocytes



Sans
endo-
toxine



Négatif

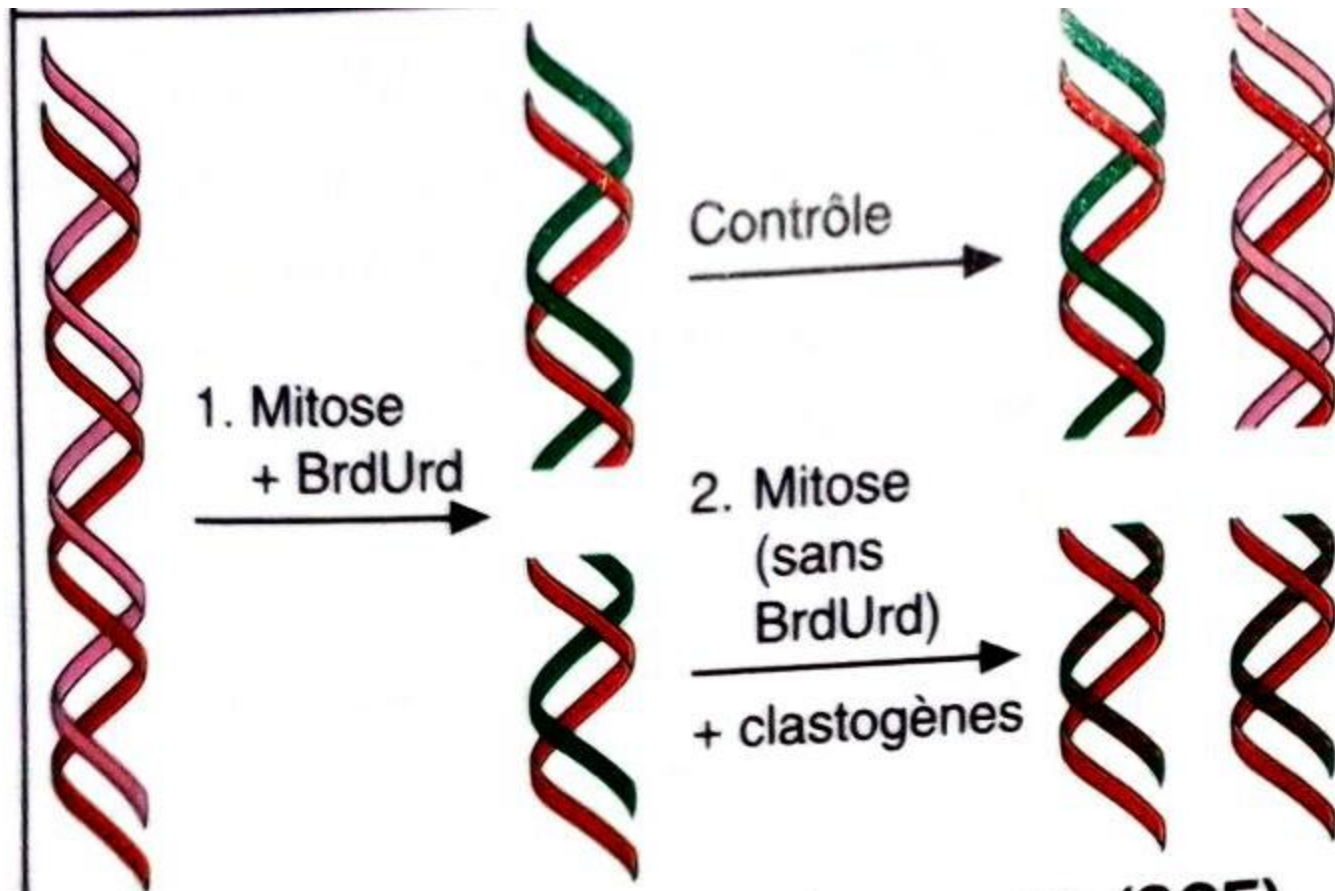


Avec
endo-
toxine

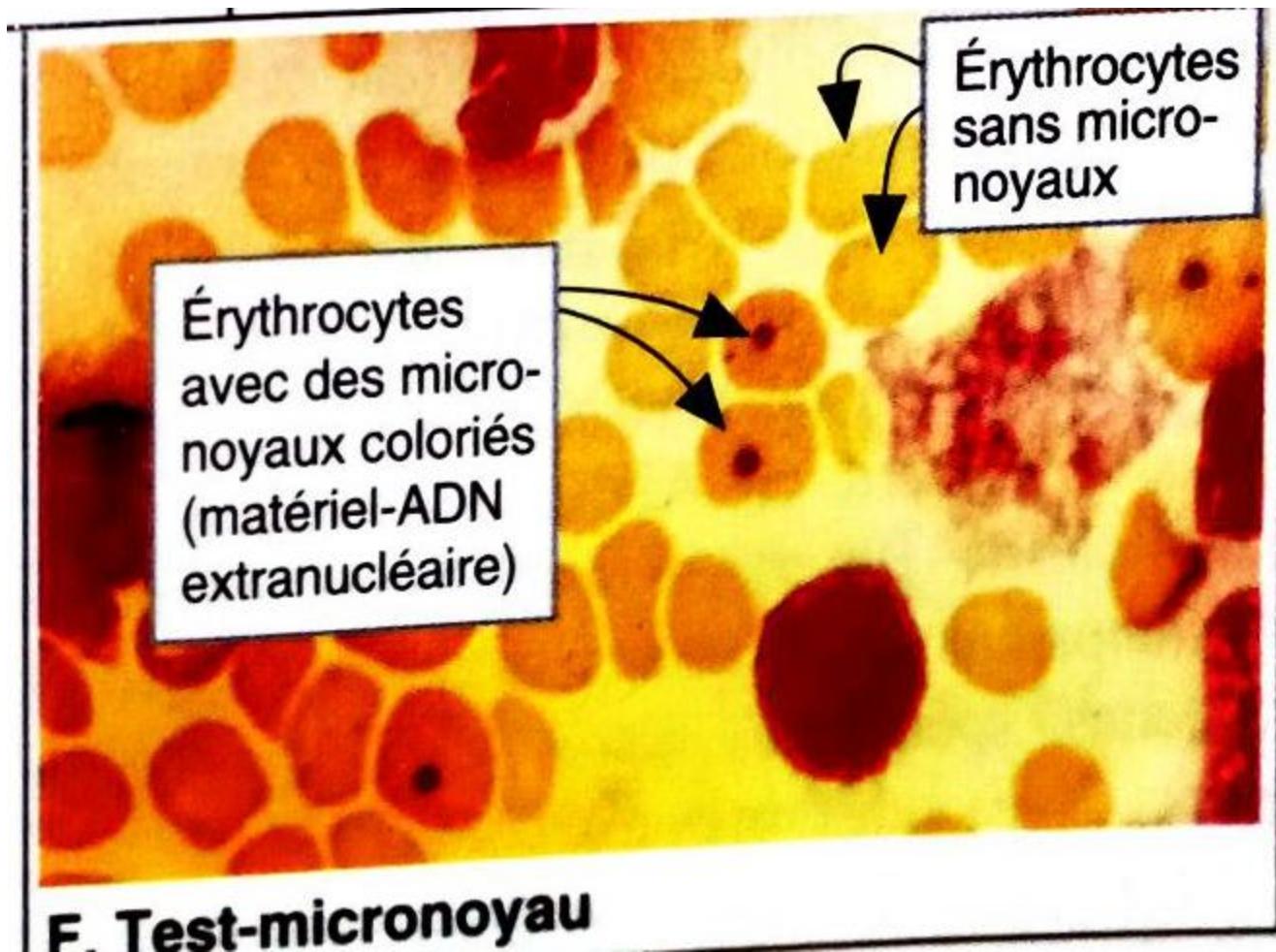


Positif
Gélifica-
tion

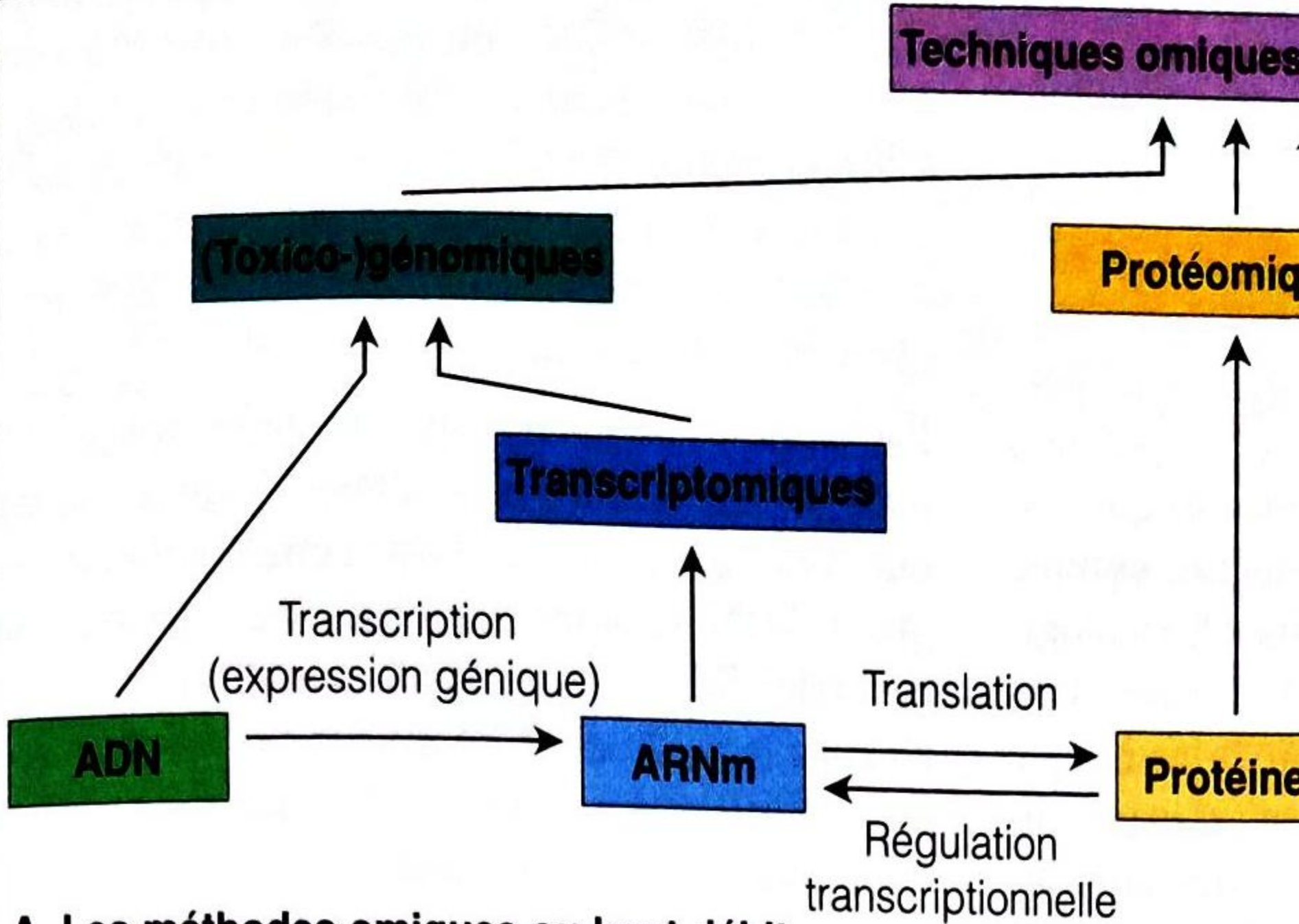
D. Test-Limulus



E. Échange des chromatides sœurs (SCE)



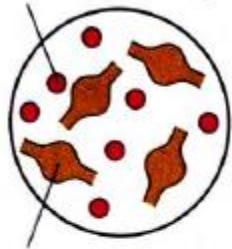
Méthodes modernes



A. Les méthodes omiques ou haut débit

Techniques Génomique

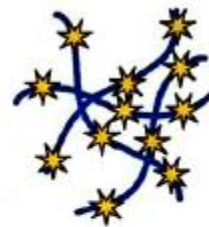
Exposition à une substance étrangère



Animal/cellules/tissus

Isolation de l'ARN

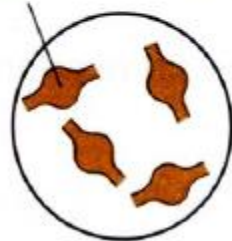
+ incubation avec un produit de marquage de l'ARN (★)
(colorant de fluorescence)



Séquences d'ARN marquées

1

Exposition sans substance étrangère (contrôle)

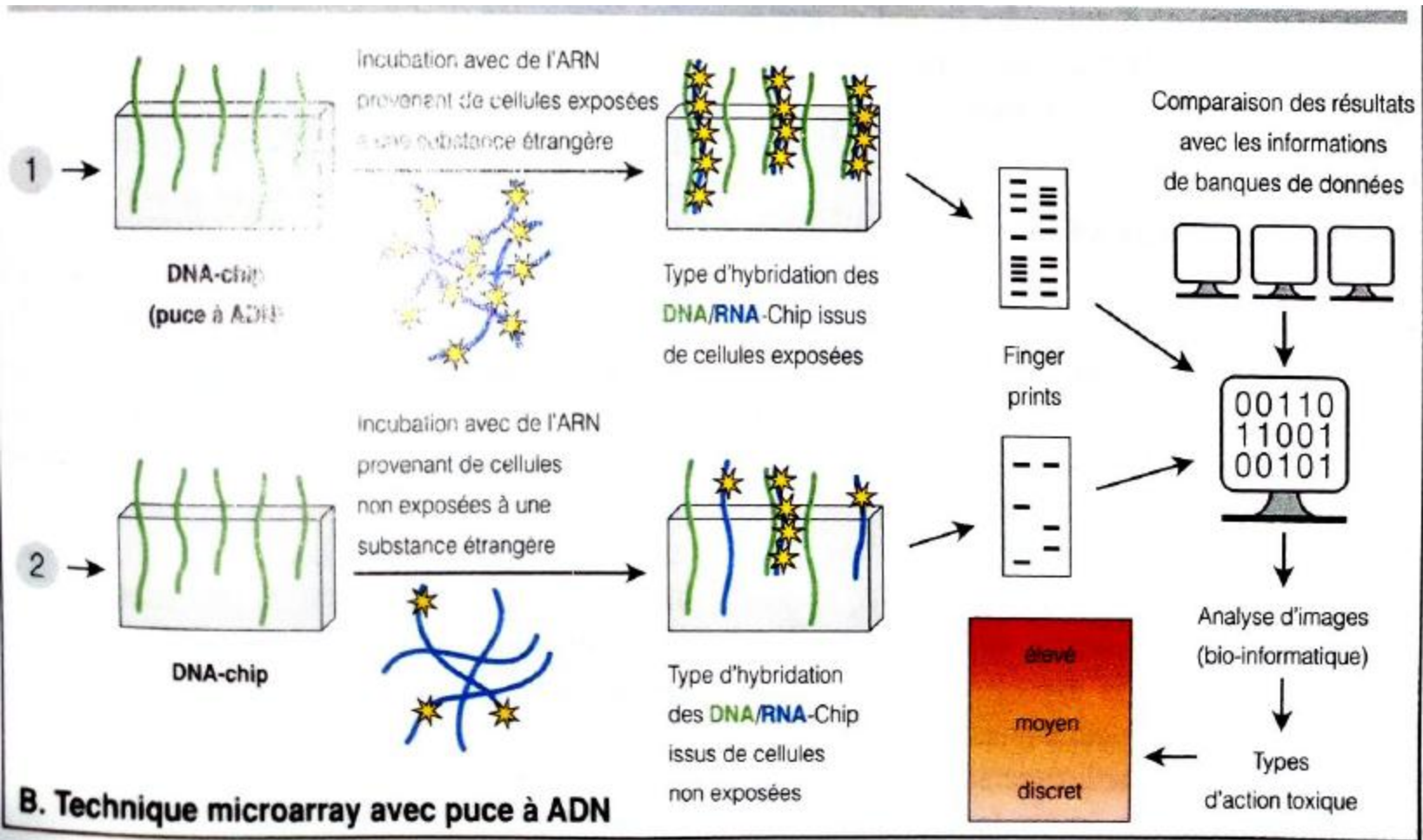


Isolation de l'ARN

+ incubation avec un produit de marquage de l'ARN (★)
(colorant de fluorescence)



2



Techniques protéomiques



Souris de grande taille avec gène actif pour la formation d'un facteur de croissance
Souris de petite taille sans gène (retiré) de formation d'un facteur de croissance

A. Souris transgénique (souris knock-out)

Gène rapporteur, de tissus spécifiques par ex., uniquement dans les cardiomyocytes



Chats clonés à partir d'un matériel génétique identique, mais présentant des poils de couleurs différentes

B. Clones de chat



Dolly et son premier nouveau-né Bonnie

Le 5 juillet 1996, à Edimbourg, naissait la brebis Dolly, le premier clone de mouton. On lui donna le nom de la chanteuse de musique country Dolly Parton. Elle vécut seulement 6,5 années (l'espérance de vie moyenne d'un mouton est de 17 ans).

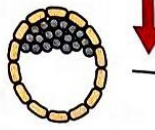
C. Clone de mouton

B. Clones de chat

17 ans).

C. Clone de mouton

Gène rapporteur, de tissus spécifiques par ex.,
uniquement dans les cardiomyocytes



Blastocyste
avec masse
cellulaire
à l'intérieur



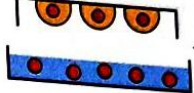
Cellules souches
embryonnaires



Embryoid
bodies
(2 jours)

Incubation

Contrôles

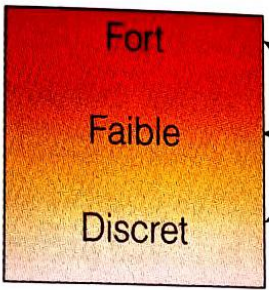


Cardiomyocytes

Substances tests



Cardiomyocytes



Tératogénicité

Lecteur
de fluorescence

Mesure de la structure
du gène rapporteur,
uniquement dans les cardiomyocytes,
par ex. après 14 jours

D. Test de fluorescence de cellules souches embryonnaires (FEST)

Temps (jours)

Temps (jours)

1
2
7
7-14
↓

● Aggrégats embryonnaires
de cellules souches

○ Masse de cellules intérieures
Endoderme

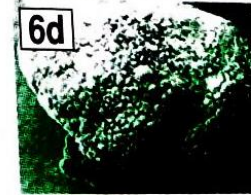
○ Cellules indifférenciées
et ectoderme

Mésoderme

Cardiomyocytes

Neurogenèse

1 mm



E. Formation d'embryoid bodies

**Application des points limites
dans un centre de toxicologie
expérimentale ;**

Tableau I. Cadre réglementaire de la recherche animale

Directive européenne 2010/63/UE		
Décret 2013-118 et 5 arrêtés de publication		
Personnel compétent	Établissement	Projet
<ul style="list-style-type: none"> - Formation spécifique selon la fonction exercée (formation approuvée par la CNEA et agréée par le ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation) : concepteur (formation initiale Bac+5 ou équivalente exigée), applicateur, soigneur - Formation continue : 3 jours par période glissante de 6 ans (formations validées par le responsable du suivi des compétences de l'établissement et contrôlées lors des inspections de la DD(CS)PP) - Tutorat : validation par une personne expérimentée des gestes techniques. La validation se fait au plus tard un an après la prise de fonction. - Formations spécifiques : chirurgie ou autres formations approuvées par la CNEA et agréées par le ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation 	<p>(fournisseur : EF ou utilisateur : EU) Agrément pour 6 ans délivré par arrêté préfectoral après visite des locaux par la DD(CS)PP relevant du ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation (via un dossier CERFA)</p> <ul style="list-style-type: none"> - Vétérinaire responsable - Structure bien-être des animaux - Responsable des médicaments - Responsable du suivi des compétences du personnel - Normes d'hébergement 	<p>(comprenant des procédures au-delà du seuil de douleur engendrée par l'introduction d'une aiguille effectuée conformément aux bonnes pratiques vétérinaires)</p> <ul style="list-style-type: none"> - Autorisé pour un maximum de 5 ans par le ministère de l'Enseignement supérieur, de la Recherche et de l'Innovation après avis favorable du comité d'éthique dont relève l'établissement (demande d'autorisation via la plate-forme APAFIS) - Appréciation rétrospective pour les procédures sévères et les procédures sur primates non-humains
<ul style="list-style-type: none"> - Livret de compétences avec les attestations des formations 	<ul style="list-style-type: none"> - Comptes-rendus des réunions de la cellule bien-être animal - Registres entrées/sorties des animaux - Registre entrées/sorties du personnel expérimentateur - Registre des médicaments - Registre des conditions d'environnement (température, hygrométrie...) - Contrôles quotidiens des animaux 	<ul style="list-style-type: none"> - Notification d'autorisation de projet - Définition et affichage des points limites
<p>Inspections</p> <p>Visite d'inspection par un inspecteur vétérinaire de la DD(CS)PP (ministère de l'Agriculture et de l'Alimentation) programmée ou inopinée : inspection d'au moins 1/3 des EU par an, et inspection annuelle pour les EU hébergeant des primates non-humains et carnivores domestiques</p> <p>Vérification des documents réglementaires</p> <p>Vérification des conditions d'hébergement et de fonctionnement, les normes de soin, formation du personnel (réglementaire et continue, livret de compétence) et autorisation des projets</p>		

Classification des expériences sur animaux

Classification des modèles animaux par domaine et par degré de gravité

- 1 Modèles impliquant des restrictions au niveau de la détention et de l'alimentation
- 2 Modèles comprenant des interventions de nature biologique sur le système reproducteur à des fins expérimentales
- 3 Modèles comprenant des prélèvements d'échantillons et des interventions chirurgicales
- 4 Modèles avec application de forces physiques
- 5 **Modèles pharmacologiques et toxicologiques**
- 6 Modèles microbiologiques et parasitologiques
- 7 Modèles immunologiques
- 8 Modèles de l'analgésie et de l'inflammation
- 9 Modèles cardio-vasculaires
- 10 Modèles endocrinologiques et métaboliques
- 11 Modèles de maladies mentales ainsi que de troubles neurologiques et comportementaux
- 12 Modèles impliquant des tumeurs

