

Toxicologie. Chapitre 5 : Evaluation de la toxicité

Introduction

L'étude de la toxicité concerne des domaines très variés. En effet, des médicaments aux armes chimiques en passant par les végétaux, les animaux, les produits industriels et bien d'autres. Toute substance destinée à être mise sur marché que ce soit un médicament ou autre produit chimique doit subir des essais de trois types de toxicité pour bien évaluer sa nocivité.

5.2. Les différentes formes de toxicité

La toxicité d'une substance est sa capacité à produire des effets nocifs à un organisme vivant selon la **dose**, la **fréquence** et la **durée** d'exposition, **temps** d'apparition des signes cliniques. On distingue cliniquement trois formes essentielles de toxicité illustrées dans le tableau 1 :

- la toxicité aiguë,
- la toxicité subaiguë
- la toxicité subchronique
- la toxicité à long terme(ou chronique),

Tableau 1 : Les différentes formes de toxicité

Forme	Fréquence	Durée
Aiguë	Unique	< 24 Heures
Subaiguë	Répétée	1<Mois
Subchronique	Répétée	De 1 à 3 mois
Chronique	Répétée	> 3 mois

5.2.1. Définition de la toxicité aiguë

C'est une exposition de courte durée et d'absorption rapide du toxique par voie cutanée, pulmonaire ou buccale d'une dose unique ou multiples ne dépassant pas 24 heures, en général les manifestations d'intoxications se développent rapidement, la mort ou la guérison surviennent sans retard. L'évaluation de toxicité aiguë d'une substance peut être réalisée par plusieurs types d'études :

- Études expérimentales in vivo, qui utilisent des animaux
- Études in vitro, effectuées sur des cultures cellulaires ou tissulaires
- Études épidémiologiques, qui comparent plusieurs groupes d'individus
- Études théoriques par modélisation (ex : structure/activité).

Toxicologie. **Chapitre 5 : Evaluation de la toxicité**

5.2.2. Définition de la toxicité subaiguë

Elle correspond à l'administration répétée d'un produit, sur une période n'excédant pas 3 mois. Elle permet d'identifier l'organe ou le système sur lequel le toxique agit préférentiellement.

5.2.3. Définition de la toxicité chronique

Une longue période de temps à des faibles concentrations d'un produit chimique, Les effets sont en fonction de la dose totale absorbée, ce qui permet de fixer des doses seuils (ou valeurs limites d'exposition).

5.3. Evaluation de la toxicité aiguë systémique

Elle représente la manifestation la plus spectaculaire de la nocivité d'un poison. Ce fait, conduit à considérer comme vénéneuse toute substance qui tue violemment, se traduit par la mort rapide de l'individu ou des populations contaminées.

5.3.1. Détermination de la dose minimale mortelle (DMM)

C'est la dose minimale de substance capable de tuer un animal par administration intraveineuse lente, la mort est appréciée par arrêt cardiaque. Cette dose permet à l'expérimentateur de choisir les doses à utiliser pour la **DL50**.

5.3.2. Détermination de la dose létale 50(DL50) ou de la concentration létale 50(CL50)

La dose létale 50 ou DL50 est un indicateur quantitatif de la toxicité d'une substance. Cet indicateur mesure la dose de substance causant la mort de 50 % d'une population animale donnée dans des conditions d'expérimentation précises. Elle s'exprime en milligrammes de matière active par kilogramme de poids de l'animal.

Remarque : Plus ce chiffre est petit, plus la substance est toxique. S'il s'agit d'une substance inhalée, on parle de concentration létale 50(CL50) pour exprimer la concentration du toxique dans l'air inspiré et causant la mort de **50 %** des animaux.

Dispositif expérimental

Sélection de l'espèce animale: Généralement, c'est le rat et la souris deux espèces de rongeurs qui sont sélectionnées pour déterminer la DL50 pour des raisons de coût (prix de revient acceptable, besoins nutritifs réduits) et de commodité (petite taille, courte durée de gestation).quelque fois, une espèce ,autre qu'un rongeur est utilisée lorsque les schémas métaboliques chez le rat et la souris sont différents de celui de l'homme. Voie d'administration: La substance est administrée par deux voies, une qui est celle de l'exposition humaine et l'autre qui assure une biodisponibilité totale.

Protocole expérimental

- Une gamme de six doses ou plus est sélectionnée pour la détermination de la DL50, les lots sont constitués de 10 animaux identiques sur les plans espèce, souche ou origine, sexe, âge,

Toxicologie. Chapitre 5 : Evaluation de la toxicité

et poids. Chaque lot d'animaux recevra une dose de la substance à tester mais la dose diffère d'un lot à un autre afin que le pourcentage de mortalité varie entre 0 et 100.

- On construit ensuite la courbe donnant le pourcentage de mortalité en fonction de la dose, On déduit la DL50 par des moyens statistiques.
- Durée d'observation : Après administration, les animaux sont mis en observation pendant 14 jours. S'il y a apparition des signes de toxicité, la durée d'observation est indéterminée. Examens à faire: L'heure de la mort doit être notée ainsi que les symptômes, des examens macroscopiques doivent être faits sur tous les animaux morts et au moins sur quelques survivants (ceux qui présentent des signes de morbidité). L'autopsie est en mesure de fournir des informations sur l'organe cible.

Intérêt de calcul de la DL50 :

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

Tableau 2 : 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	$DL_{50} \geq 15000 \text{ mg/Kg}$

5.3.3. Limites de la DL50

L'indice DL50 sert fréquemment pour exprimer la toxicité aiguë ainsi que pour classer et comparer les toxiques. Il a cependant une valeur très limitée, car il ne concerne que la mortalité et ne donne aucune information sur les mécanismes en jeu et la nature des lésions. Il s'agit d'une appréciation grossière et préliminaire, qui peut être très influencée par plusieurs facteurs tels l'espèce animale, le sexe, l'âge, le moment de la journée.

5.3.4. Problèmes de transposition

La transposition des résultats obtenus de l'expérimentation animale à l'homme, présente des obstacles et ceci pour différentes raisons, les différences dans le système ADME (Absorption-Distribution-Métabolisation-Excrétion) entre l'homme et l'animal ; Certains effets ne peuvent être mis évidence chez l'animal par ex : Céphalées, vertiges, nausées, Insomnies, fatigue, Troubles psychiques.

Toxicologie. **Chapitre 5 : Evaluation de la toxicité**

5.3.5. Relation de transposition

A partir de données obtenues chez l'animal, on détermine une concentration équivalente en toxicité humaine CETH exprimée en mg/l de plasma, l'opération extrapolation reste approximative car le sujet idéal pour des études relatives à l'homme est l'homme lui-même.

5.4. Evaluation de la toxicité aigüe par voie locale

5.4.1. 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

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

5.5. Les alternatives aux tests de toxicité sur animaux

5.5.1. 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%.

5.5.2. 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) susceptibles 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.

5.7. Les études humaines

Utilisation de volontaires humains pour tester les nouvelles formulations. C'est le test le plus fiable. On peut évaluer l'irritation chez l'humain grâce un patch. On place les substances sur des petites zones en haut du dos et on applique le patch pendant 2 jours.

5.8. Enquête épidémiologique L'enquête comporte la comparaison entre deux groupes d'individus (cohortes) aussi semblables que possible l'exception du facteur à étudier (exposition une substance

Toxicologie. **Chapitre 5 : Evaluation de la toxicité**

chimique) / approches statistiques pour pouvoir établir relation de cause effet. La consultation des organismes de santé peut être bénéfique.

5.9. Evaluation de la toxicité chronique

5.9.1. Etude expérimentale de la toxicité chronique

Les objectifs de cette étude sont :

- Préciser la nature de la toxicité,
- les mécanismes d'action des substances chimiques,
- les organes cibles,
- la réversibilité, la persistance,
- l'apparition retardée des effets.
- Déterminer la dose sans effets observés (**DSE**).

5.9.2. Protocoles opératoires

- Ils durent généralement de deux à trois mois (toxicité subaiguë et subchronique) jusqu'à une année (toxicité chronique).
- Ils sont effectués sur des animaux présentant des paramètres pharmacocinétiques aussi proches de ceux de l'homme (chien, rat).
- La voie d'administration est celle qui est prévue en clinique pour les médicaments ou la voie possible de pénétration dans l'organisme pour les autres substances chimiques. Plusieurs lots d'animaux (des deux sexes) sont mis en expérimentation, y compris un lot témoin (pas moins de 10 animaux / lot).
- Trois niveaux de doses sont utilisés: une dose forte (toxique), une dose faible (effet pharmacodynamique) et une dose intermédiaire, le lot témoin ne reçoit pas la substance à tester.
- Surveillance des animaux: consommation alimentaire, poids, hématologie, biochimie, analyse des urines, ophtalmologie, ECG (électrocardiogramme), comportement.
 - ✓ Etude pharmacocinétique (toxicocinétique) réalisés à différents stades de l'expérience
 - ✓ Examens anapathologiques à la fin de l'étude

5.9.3. Evaluation des données obtenues

Si la toxicité n'est pas trop sévère, une dose sans effet (**DSE**) peut être établie et une dose journalière admissible (**DJA**) peut être extrapolée; En appliquant le plus souvent un facteur de sécurité (facteur 100 recommandé par l'OMS) qui tient compte de la différence de sensibilité entre l'homme et l'animal et des autres facteurs de variabilité inter individuels.

Toxicologie. **Chapitre 5 : Evaluation de la toxicité**

5.10. Autres essais de toxicité par administration

Tests de cancérogénicité classique in vivo : Effectués chez le rat et la souris, long et couteux, l'interprétation reste toujours délicate malgré la multiplicité des tests mis en évidence.

Autres tests prédictifs :

- Etude de la cancérogénicité transplacentaire
- Etude des aberrations chromosomiques dans différentes lignes cellulaires
- Etude de l'activité mutagène (toute substance mutagène est 90 % cancérigène)
- Etude de la vitesse de synthèse de l'ADN in vitro après injection d'un corps chimique
- Etude de la capacité de transformation de lignes cellulaires in vitro

5.10.3. Essais de mutagenèse

Mutagènes: phénomènes résultant des interactions entre une substance chimique et le matériel génétique des organismes Une substance mutagène induit une mutation ou augmente sa fréquence, elle est potentiellement cancérigène. La mutation peut être :

- ✓ **Chromosomique:** altération morphologique des chromosomes
- ✓ **Génomique:** modification du nombre des chromosomes du génome

Cette étude est utilisée pour le dépistage des substances mutagènes et détecter les substances cancérogènes

5.10.4. Les études d'embryo-toxicité et des effets sur la reproduction Les études des fonctions de reproduction avec étude de la fertilité du mâle et de la femelle permettent de calculer différents index :

- Index de fertilité: % des accouplements résultant en grossesse
- Index de gestation: % de grossesses aboutissant à la mise bas
- Index de viabilité: % de Nouveau nés qui survivent au moins 4 jours
- Index de lactation: % d'animaux en vie au moment du sevrage 21 jours

5.10.5. Examens de toxicité fœtale L'étude des effets de l'embryo-toxicité sur le développement prénatal et postnatal; **L'embryo-toxicité se traduit par :**

Conclusion

La toxicologie expérimentale permet l'évaluation de la toxicité des molécules, la détermination de leurs modes d'actions (fonction, organe, cellules, molécules ADN, enzymes) et leurs toxicocinétiques à différents niveaux de l'organisme, ainsi un traitement approprié de l'intoxication (toxico clinique) sera mis en place.