
Cours 3. Toxicité aiguë, subaiguë et chronique

1. Introduction

La toxicité d'un xénobiotique dépend non seulement de la nature de ses effets, mais aussi de la durée d'exposition. Selon qu'elle est unique ou répétée, on distingue la toxicité aiguë, subaiguë/subchronique et chronique.

Ces différentes formes de toxicité sont étudiées à l'aide de protocoles standardisés, notamment les lignes directrices de l'OCDE, afin d'harmoniser l'évaluation toxicologique.

L'OCDE : Organisation de Coopération et de Développement Économiques (OECD : Organisation for Economic Co-operation and Development). C'est une organisation internationale qui élabore des recommandations et des normes visant à harmoniser les pratiques scientifiques et réglementaires entre les pays. En toxicologie, l'OCDE établit des lignes directrices (Test Guidelines — TG) qui définissent des méthodes standardisées pour évaluer la toxicité des substances chimiques. Ces protocoles permettent d'obtenir des résultats fiables, reproductibles et comparables entre les laboratoires.

2. La toxicité aiguë

Ensemble des effets nocifs (y compris la mort) survenant après administration orale, cutanée ou par inhalation d'une dose unique d'une substance, ou de doses multiples administrées dans un délai de 24 heures, ainsi que les effets nocifs observés durant les 14 jours suivant l'administration. La toxicité aiguë renseigne sur le danger immédiat d'une substance et constitue historiquement la première étape de sa caractérisation toxicologique.

2.1 Manifestations cliniques recherchées

Au cours d'une étude de toxicité aiguë, les animaux font l'objet d'une observation clinique rapprochée (plusieurs fois le premier jour, puis quotidiennement pendant 14 jours), portant notamment sur :

- Signes cliniques généraux : modifications de la peau et du pelage, des yeux et des muqueuses, du système respiratoire, circulatoire, nerveux autonome et somatique, activité motrice, comportement.
- Signes neurologiques particuliers : tremblements, convulsions, salivation, diarrhée, léthargie, sommeil, coma — orientant vers un mécanisme d'action neurotoxique (par exemple inhibition de l'acétylcholinestérase pour les organophosphorés).
- Évolution pondérale : pesée individuelle avant administration puis à intervalles réguliers, une perte de poids significative étant un signe de toxicité systémique.
- Mortalité : nombre et délai de survenue des décès, permettant la construction de la relation dose-mortalité utilisée pour le calcul de la DL50 (voir section 8).
- Examen macroscopique post-mortem (autopsie) de tous les animaux, morts ou sacrifiés en fin d'étude, à la recherche de lésions macroscopiques des organes.

3. Protocoles OCDE de toxicité aiguë

Plusieurs lignes directrices de l'OCDE encadrent la détermination de la toxicité aiguë selon la voie d'exposition considérée. Il est important de noter que les méthodes historiques de détermination de la DL50 classique (ligne directrice OCDE 401) ont été supprimées du catalogue de l'OCDE depuis 2002 au profit de méthodes statistiquement équivalentes mais nécessitant significativement moins d'animaux, dans une logique d'application du principe des 3R présenté au chapitre 2.

Ligne directrice OCDE	Intitulé	Principe
OCDE 420	Méthode de la dose fixe (Fixed Dose Procedure)	Administration de doses fixes prédéfinies (5, 50, 300, 2000 mg/kg) par paliers successifs, jusqu'à observation d'une toxicité évidente sans mortalité excessive ; classement dans une catégorie de danger plutôt que calcul d'une DL50 précise
OCDE 423	Méthode par classe de toxicité aiguë (Acute Toxic Class Method)	Administration séquentielle de groupes de 3 animaux à des doses définies, la décision de poursuivre reposant sur la mortalité observée, avec un nombre d'animaux réduit par rapport à la méthode classique
OCDE 425	Méthode ascendante-descendante (Up-and-Down Procedure, UDP)	Administration séquentielle à un seul animal à la fois, la dose suivante étant ajustée à la hausse ou à la baisse selon la survie ou le décès de l'animal précédent ; permet une estimation statistique de la DL50 avec un nombre minimal d'animaux (procédure la plus économe actuellement recommandée)

3.1 Classification réglementaire selon la DL50 (règlement CLP / SGH)

Catégorie de danger (SGH)	DL50 orale (rat, mg/kg pc)
Catégorie 1	≤ 5
Catégorie 2	> 5 et ≤ 50
Catégorie 3	> 50 et ≤ 300
Catégorie 4	> 300 et ≤ 2000
Non classé (catégorie 5 optionnelle)	> 2000 et ≤ 5000

Cette classification, directement issue de la valeur de DL50 déterminée expérimentalement, conditionne l'étiquetage réglementaire de la substance (pictogramme de danger, mention d'avertissement, phrases de danger H) tout au long de sa chaîne de commercialisation.

4. La toxicité subaiguë et subchronique

Entre la toxicité aiguë (exposition unique) et la toxicité chronique (exposition sur la durée de vie), les études à doses répétées de durée intermédiaire occupent une place charnière dans la caractérisation toxicologique d'une substance, en permettant l'identification des organes cibles d'une exposition répétée et la détermination de valeurs de référence (NOAEL/LOAEL) utilisées pour orienter le choix des doses des études chroniques ultérieures.

Toxicité subaiguë

Effets nocifs résultant de l'administration répétée d'une substance pendant une durée de l'ordre de 28 jours (environ un mois), généralement selon un rythme quotidien. Cette durée permet de révéler des effets cumulatifs non détectables après une exposition unique, tout en restant compatible avec un usage de criblage relativement rapide.

Toxicité subchronique

Effets nocifs résultant de l'administration répétée d'une substance pendant une durée de l'ordre de 90 jours (environ trois mois), soit approximativement 10 % de la durée de vie du rat. Cette durée est considérée comme suffisante pour révéler la plupart des effets cumulatifs pertinents pour l'espèce humaine en exposition professionnelle ou environnementale prolongée, sans nécessiter la durée et le coût d'une étude chronique complète.

4.1 Objectifs spécifiques des études à doses répétées

- Identifier le ou les organes cibles de la toxicité de la substance étudiée (foie, rein, système nerveux, système immunitaire, système endocrinien, etc.).
- Caractériser la relation dose-réponse pour ces effets et déterminer le NOAEL et le LOAEL correspondants.
- Évaluer la réversibilité des effets observés, généralement à l'aide d'un groupe dit de « réversibilité », maintenu en observation sans traitement pendant une période après l'arrêt de l'exposition.
- Orienter le choix des doses et des paramètres à surveiller de façon privilégiée lors d'une éventuelle étude de toxicité chronique ultérieure.

5. Protocoles OCDE de toxicité à doses répétées

Ligne directrice OCDE	Intitulé	Caractéristiques principales
OCDE 407	Étude de toxicité orale à doses répétées pendant 28 jours chez le rongeur	Généralement 4 groupes de doses (témoin + 3 doses croissantes), 5 animaux par sexe et par groupe au minimum, administration quotidienne, suivi clinique, biochimique et histopathologique complet

Ligne directrice OCDE	Intitulé	Caractéristiques principales
OCDE 408	Étude de toxicité orale à doses répétées pendant 90 jours chez le rongeur	Protocole similaire mais sur 90 jours, permettant une caractérisation plus fine des effets cumulatifs ; référence pour l'établissement du NOAEL subchronique utilisé dans de nombreux dossiers réglementaires

5.1 Groupes expérimentaux et conception de l'étude

Une étude de toxicité à doses répétées standard comprend généralement un groupe témoin (recevant uniquement le véhicule d'administration) et au minimum trois groupes traités à des doses croissantes, choisies de façon à encadrer la relation dose-réponse : la dose la plus faible doit idéalement correspondre à un NOAEL attendu, la dose la plus forte doit provoquer une toxicité observable sans mortalité excessive (dose maximale tolérée, DMT), et une dose intermédiaire permet de préciser la forme de la courbe dose-réponse. Le nombre d'animaux par groupe et par sexe (généralement 5 à 10 pour les rongeurs) est déterminé statistiquement pour garantir une puissance suffisante de détection des effets tout en respectant le principe de réduction du nombre d'animaux (3R).

6. La toxicité chronique

Effets nocifs résultant d'une exposition répétée à une substance sur une durée prolongée, généralement supérieure ou égale à 12 mois chez le rongeur (pouvant atteindre 24 mois, soit la quasi-totalité de la durée de vie de l'animal, notamment dans le cadre des études de cancérogénicité). Cette durée permet de détecter des effets à latence longue, cumulatifs, dégénératifs ou néoplasiques, qui échapperaient à des protocoles de durée plus courte.

6.1 Spécificités de la toxicité chronique par rapport à la toxicité subchronique

- Prise en compte du vieillissement de l'animal, qui peut lui-même s'accompagner de pathologies spontanées (tumeurs spontanées, néphropathie chronique progressive chez le rat), nécessitant une interprétation histopathologique rigoureuse distinguant les lésions liées au traitement des lésions liées à l'âge.
- Possibilité de détecter des effets cumulatifs à seuil très bas, non observables sur une durée plus courte, du fait de l'accumulation progressive de la substance ou de ses métabolites dans certains tissus (bioaccumulation).
- Pertinence toute particulière pour les substances suspectées d'effets cancérogènes, dont la période de latence chez l'homme peut atteindre plusieurs décennies, et pour lesquelles seule une exposition prolongée permet de révéler le potentiel tumorigène.

7. Protocoles OCDE de toxicité chronique et de cancérogénicité

Ligne directrice OCDE	Intitulé	Caractéristiques principales
OCDE 452	Étude de toxicité chronique (généralement 12 mois)	Administration quotidienne sur au moins 12 mois, suivi clinique, biochimique, hématologique et histopathologique complet de l'ensemble des organes
OCDE 451	Étude de cancérogénicité (généralement 24 mois)	Administration quotidienne sur la quasi-totalité de la durée de vie de l'animal, effectifs plus importants par groupe (au moins 50 animaux par sexe et par dose) pour garantir une puissance statistique suffisante de détection des tumeurs, examen histopathologique exhaustif de tous les organes et tissus
OCDE 453	Étude combinée de toxicité chronique et de cancérogénicité	Combine en un seul protocole les deux études précédentes (452 et 451), optimisant le nombre total d'animaux utilisés tout en couvrant l'ensemble des paramètres de toxicité chronique et de cancérogénicité

8. Paramètres biologiques, biochimiques et histopathologiques du suivi expérimental

Les études à doses répétées (subaiguës, subchroniques, chroniques) mobilisent une batterie standardisée de paramètres, dont la nature et la fréquence de mesure sont précisément définies par les lignes directrices OCDE correspondantes, afin de garantir la comparabilité des résultats entre laboratoires et entre substances.

8.1 Paramètres cliniques et généraux

- Observations cliniques quotidiennes (comportement, signes de toxicité, mortalité).
- Poids corporel (hebdomadaire) et consommation alimentaire et hydrique, permettant de calculer la dose réellement ingérée et de détecter une anorexie liée au traitement.
- Examen ophtalmologique, généralement réalisé avant traitement et en fin d'étude.

8.2 Paramètres hématologiques

- Numération formule sanguine complète (globules rouges, globules blancs et leur répartition, plaquettes).
- Paramètres de coagulation (temps de prothrombine, temps de céphaline activée).

8.3 Paramètres biochimiques sanguins

- Marqueurs hépatiques : transaminases (ALAT, ASAT), phosphatases alcalines, gamma-glutamyltransférase, bilirubine totale.

- Marqueurs rénaux : urée, créatinine, protéines totales, albumine.
- Paramètres métaboliques : glycémie, lipides totaux, cholestérol, triglycérides.
- Ionogramme : sodium, potassium, chlore, calcium, phosphore.

8.4 Analyse d'urine

- Volume, densité, pH, présence de protéines, glucose, corps cétoniques, sang, examen du sédiment urinaire.

8.5 Examen anatomopathologique

- Autopsie complète de tous les animaux (morts en cours d'étude ou sacrifiés en fin d'étude) avec examen macroscopique de l'ensemble des organes.
- Pesée des organes principaux (foie, reins, rate, cœur, cerveau, gonades, surrénales, thyroïde), le rapport poids d'organe/poids corporel constituant un indicateur sensible de toxicité organe-spécifique.
- Examen histopathologique microscopique, réalisé de façon systématique pour le groupe témoin et le groupe de dose la plus forte, puis étendu aux groupes de doses intermédiaires en cas de lésion observée, afin d'établir la relation dose-réponse histopathologique et de confirmer le NOAEL/LOAEL identifié sur la base des autres paramètres.

12. Limites des protocoles classiques et évolutions

12.1 Limites méthodologiques

- Coût et durée très importants des études chroniques et de cancérogénicité, limitant le nombre de substances pouvant être testées de façon exhaustive au regard du nombre considérable de substances chimiques en usage.
- Questions éthiques croissantes liées au nombre d'animaux utilisés, en particulier pour les études de cancérogénicité (plusieurs centaines d'animaux par substance).
- Incertitude persistante liée à l'extrapolation inter-espèces (métabolisme, sensibilité) et à l'extrapolation des fortes doses expérimentales vers les faibles doses d'exposition environnementale réelle.
- Difficulté à détecter certains effets subtils (perturbation endocrinienne à faible dose, effets sur le développement neurologique) avec les protocoles standardisés historiques, initialement conçus pour d'autres types d'effets.

12.2 Évolutions actuelles

- Développement de protocoles combinés (OCDE 422, 453) réduisant le nombre total d'animaux utilisés en intégrant plusieurs types d'évaluation dans une même étude.
- Intégration croissante des méthodes alternatives présentées (in vitro, in silico) en amont des études in vivo, dans une logique IATA, pour prioriser les substances nécessitant réellement un test chronique complet.
- Utilisation croissante de biomarqueurs précoces et sensibles (protéomique, transcriptomique) permettant potentiellement de raccourcir la durée des études tout en conservant leur pertinence

prédictive — piste de recherche active mais non encore pleinement validée sur le plan réglementaire.

- Réflexion en cours au niveau international (OCDE, agences réglementaires) sur la modernisation des lignes directrices de cancérogénicité, notamment via l'intégration d'approches mécanistiques (AOP) permettant de mieux distinguer les mécanismes génotoxiques des mécanismes non génotoxiques, aux implications réglementaires différentes.