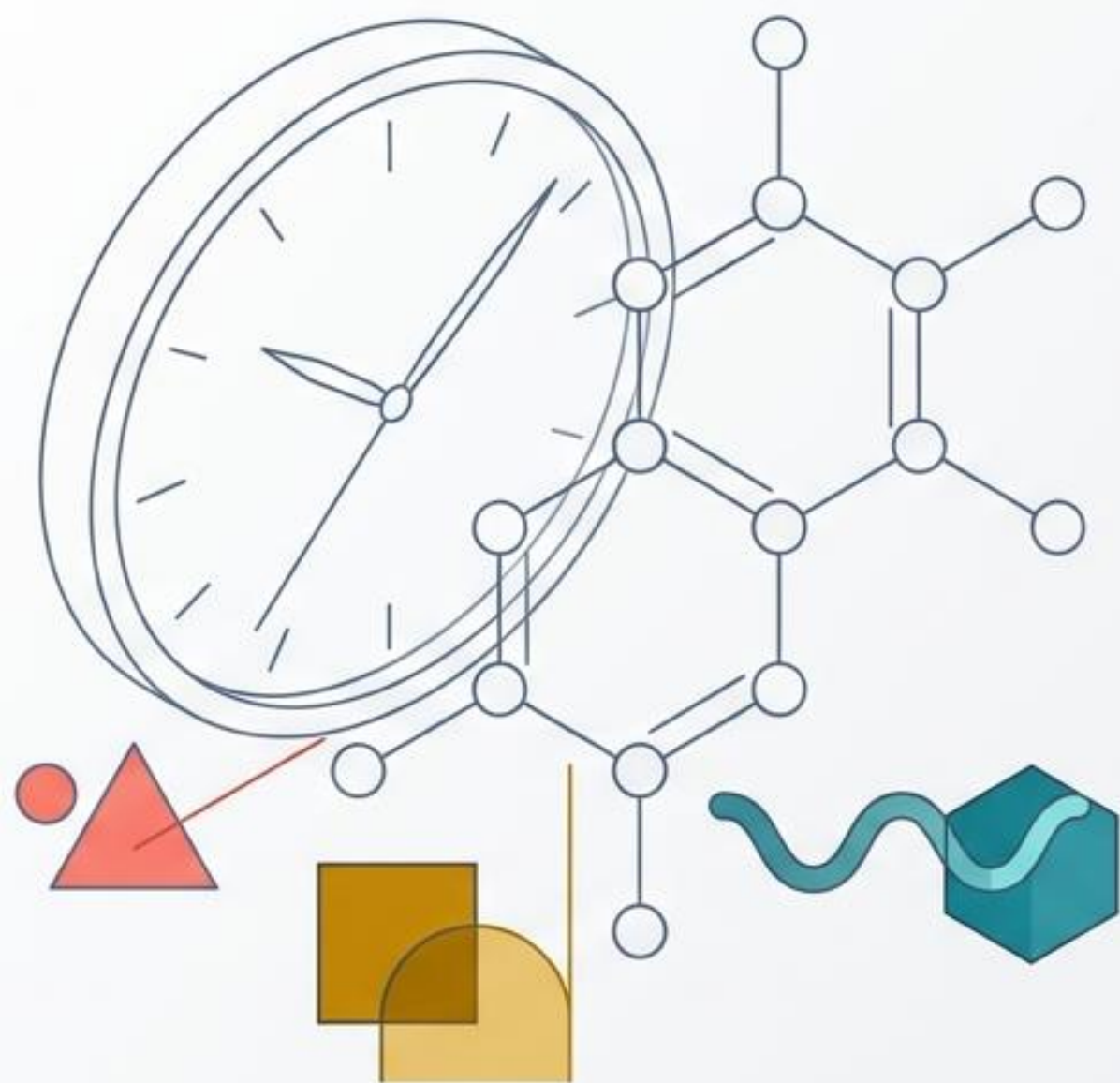




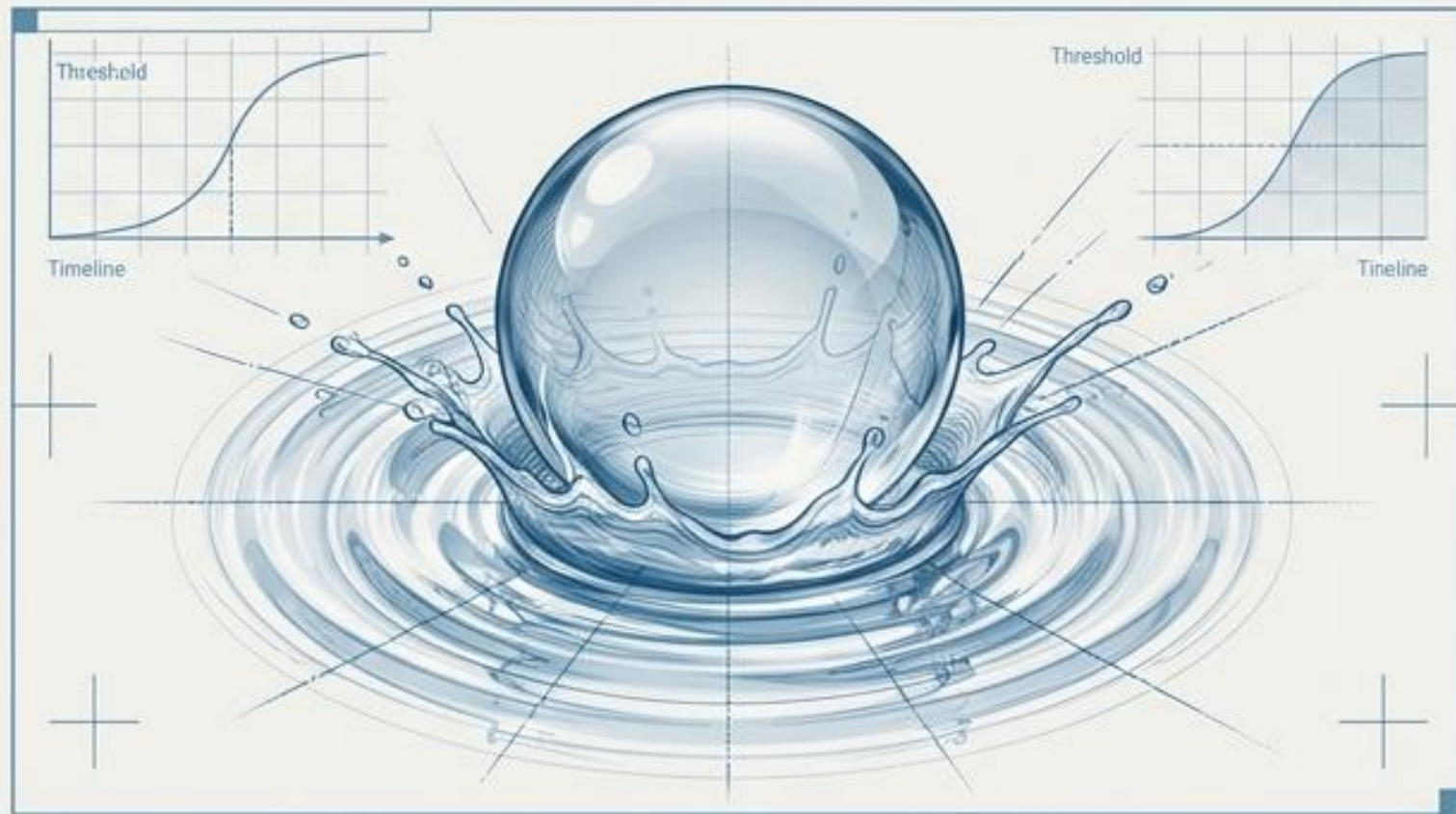
Toxicité Aiguë, Subaiguë et Chronique

Protocoles OCDE, Paramètres Dose-Réponse et Évolutions Réglementaires

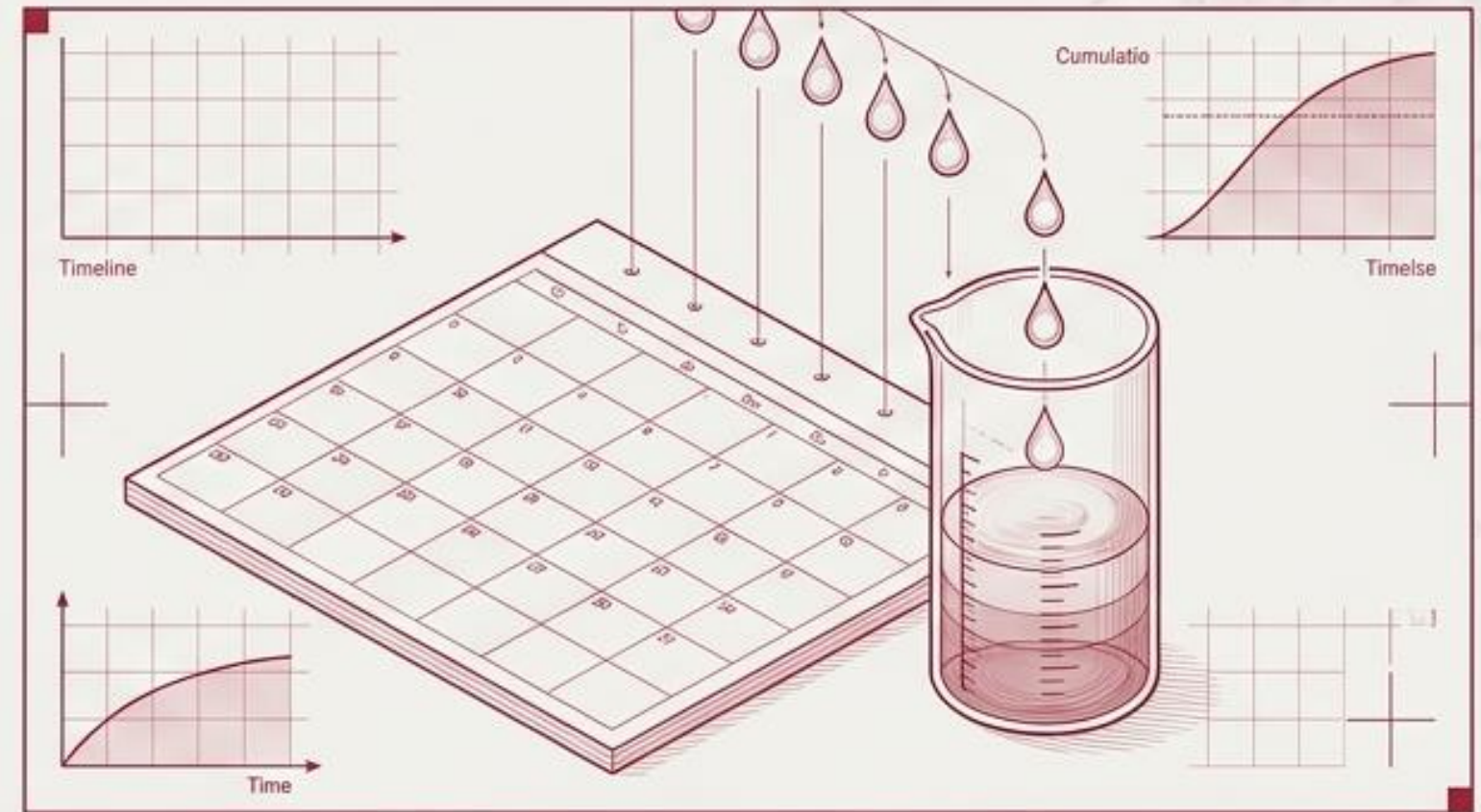
Master 2 — Toxicologie | Un guide visuel de la dimension temporelle de la toxicité

Le temps nous change tout

La caractérisation toxicologique ne dépend pas uniquement de la nature de la substance, mais de la **dynamique temporelle** de l'exposition.



Toxicité chronique
Saturation **immédiate** d'une fonction vitale (**Aigu**)

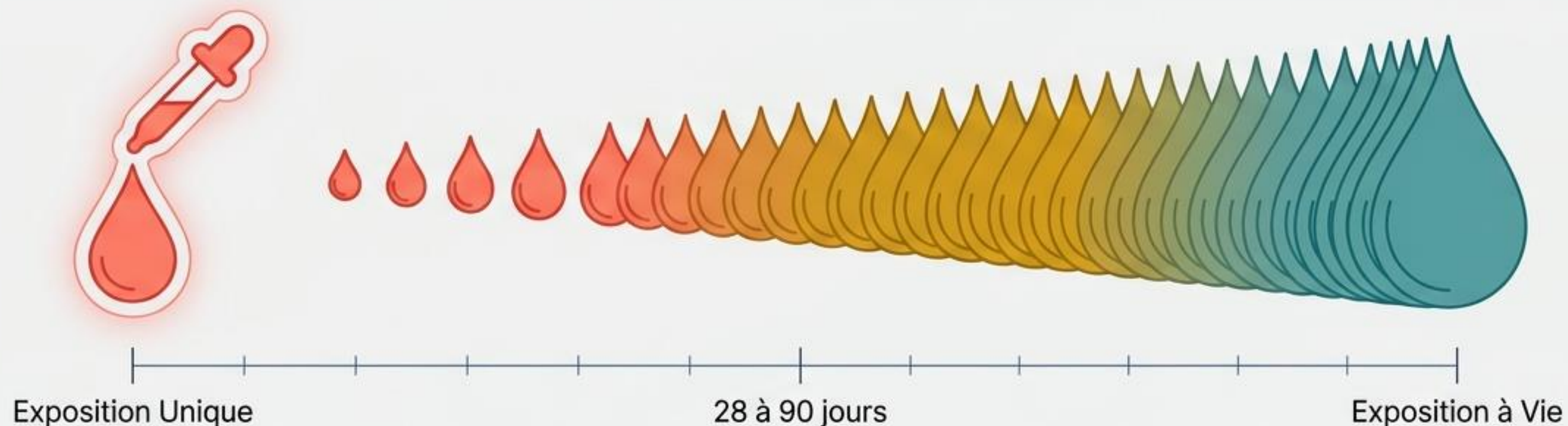


Accumulation tissulaire ou **épuisement progressif**
des capacités de compensation (**Chronique**)

Un même xénobiotique provoque des effets radicalement différents selon la fréquence et la durée.

La Dimension Temporelle de la Toxicité.

Un même xénobiotique provoque des effets radicalement différents selon la durée d'exposition. La toxicologie expérimentale n'est pas seulement descriptive ; elle est structurée par le temps.



BPL (Bonnes Pratiques de Laboratoire) :
Garantit la qualité et l'intégrité des études expérimentales.

MAD (Mutual Acceptance of Data) : Permet la reconnaissance mutuelle des données entre autorités réglementaires internationales.

Matrice de Comparaison Temporelle.

	Toxicité Aiguë	Subaiguë / Subchronique	Toxicité Chronique
Durée d'exposition	Dose unique ou répétée sur 24h max.	28 jours (Subaiguë) à 90 jours (Subchronique).	≥ 12 mois à 24 mois (durée de vie du rongeur).
Objectif principal	Danger immédiat, DL50, orienter l'étiquetage réglementaire.	Identifier les organes cibles, NOAEL/LOAEL, orienter l'étude chronique.	Effets cumulatifs, cancérogénicité, établir la VTR à long terme.
Mécanisme dominant	Saturation immédiate d'une fonction vitale.	Épuisement progressif des capacités de compensation.	Accumulation tissulaire ou mutations néoplasiques.

Protocoles standardisés (OCDE) : Définition et objectifs.



Définition

Les protocoles standardisés de l'OCDE (Organisation de Coopération et de Développement Économiques) sont des **lignes directrices internationales** qui décrivent de manière précise et harmonisée comment réaliser des études toxicologiques.

Ils permettent d'obtenir des **résultats fiables, reproductibles et comparables** entre laboratoires, utilisés pour l'évaluation du risque et la réglementation.

Objectifs



Harmoniser les méthodes expérimentales.



Assurer la qualité, la fiabilité et la reproductibilité des données.



Faciliter la reconnaissance mutuelle des études entre autorités réglementaires.

Que précisent ces protocoles ?



Espèce animale et nombre d'animaux



Voie d'administration et doses à tester



Durée d'exposition



Paramètres à observer (cliniques, biologiques, histopathologiques...)



Méthodes d'analyse et présentation des résultats

Exemples de lignes directrices OCDE

OCDE 420

Toxicité aiguë orale (méthode à dose fixe)

OCDE 423

Toxicité aiguë orale (méthode des classes)

OCDE 407

Toxicité orale répétée 28 jours (subaiguë)

OCDE 408

Toxicité orale répétée 90 jours (subchronique)

OCDE 451

Toxicité chronique (cancérogénicité, 2 ans)

Importance



Méthodes reconnues internationalement.



Utilisées pour l'évaluation du risque et l'autorisation des substances (produits chimiques, médicaments, pesticides, cosmétiques...)



Principe des bonnes pratiques de laboratoire (BPL) et des 3R.

Toxicité aiguë : définition et paramètres observés

Évaluation des effets nocifs après une exposition unique ou très courte durée



Définition

La toxicité aiguë correspond aux effets nocifs qui apparaissent après l'administration d'une **dose unique**, ou de plusieurs doses sur une **courte période**, généralement en **moins de 24 heures**. Les animaux sont ensuite observés pendant **environ 14 jours** afin de détecter les signes toxiques précoces et la mortalité.

Objectif



Identifier le danger immédiat de la substance, estimer la toxicité aiguë et orienter l'étiquetage réglementaire.

Que surveille-t-on ?



- **Signes généraux :** comportement, respiration, peau, pelage, yeux, muqueuses



- **Signes neurologiques :** tremblements, convulsions, salivation, léthargie, coma



- Évolution du poids corporel



- Mortalité et délai de survenue

Examen final



Autopsie et recherche de lésions macroscopiques visibles chez les animaux morts ou sacrifiés en fin d'étude.

Protocoles et paramètre clé



OCDE 420, 423, 425



DL50 : dose létale 50



Plus la DL50 est faible, plus la toxicité aiguë est élevée.



Idée simple : la toxicité aiguë répond à la question “que se passe-t-il rapidement après une exposition courte ?”

La Révolution des 3R et les Protocoles OCDE.

Principe des 3R



Remplacer : privilégier des alternatives quand c'est possible.



Réduire : utiliser moins d'animaux.



Raffiner : diminuer la douleur et la souffrance.

OCDE 401 (retirée)



Ancienne méthode classique de DL50.

Utilisait un grand nombre d'animaux.

Mortalité et souffrance importantes.

Retirée au profit de méthodes plus éthiques.

OCDE 420 – Dose fixe

Doses prédéfinies (5, 50, 300, 2000 mg/kg). Recherche de signes de toxicité évidente. Permet de classer le danger sans mortalité excessive.

OCDE 423 – Classe toxique aiguë

Petits groupes de 3 animaux. Décision séquentielle selon la mortalité observée.

OCDE 425 – Up-and-Down

Méthode la plus économe. Un animal à la fois. La dose suivante dépend de la survie du précédent. Permet une estimation statistique de la DL50.

Autres voies

OCDE 402 : cutanée

OCDE 403 / 436 : inhalation



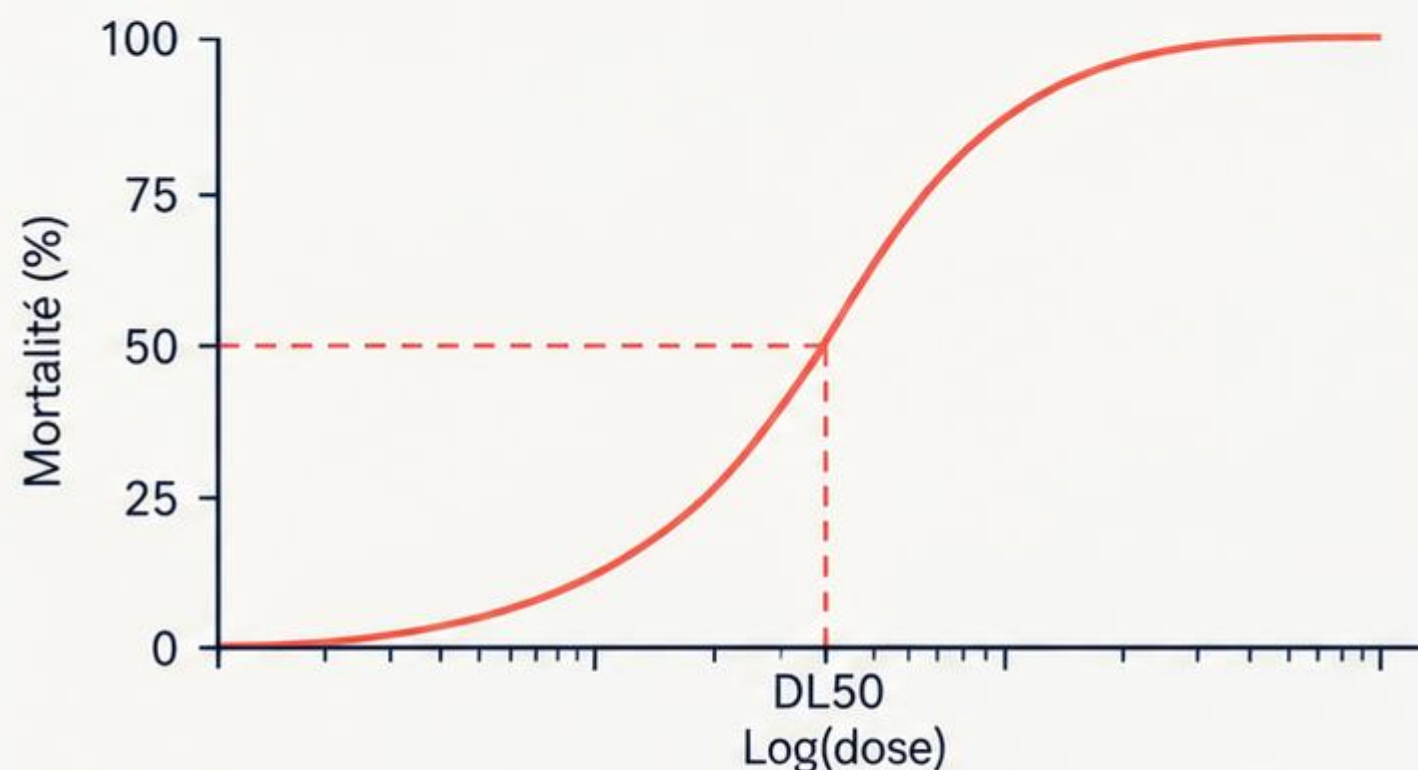
Idée clé : on n'a pas supprimé l'étude de toxicité aiguë ; on a amélioré la façon de la réaliser.

Matrice de Décision : Les 3 Protocoles Aigus

	TG 420 (Doses Fixes)	TG 423 (Classes)	TG 425 (Up-and-Down)
Principe	Repérage d'une toxicité évidente	Étapes séquentielles selon un organigramme	Ajustement de la dose selon la réponse précédente
Critère	Signes cliniques (sans mortalité)	Mortalité / État moribond	Survie ou mort
Animaux	 ≈ 5 par dose	Étapes de 3 animaux (Total  ≈ 6-12)	Dosés 1 à 1 (Total  ≈ 6-15)
Résultat	Classe de danger SGH	Plage de DL50 → Classe SGH	DL50 chiffrée + Classe SGH
Atout majeur	★ Évite la mortalité	★ Rapide, reproductible	★ Fournit une DL50 chiffrée

Comprendre la DL50 et l'étiquetage SGH.

Comment lire la relation dose–mortalité et interpréter la classification de danger.



Comment lire la courbe ?

- 1 On repère 50 % de mortalité sur l'axe vertical.
- 2 On rejoint la courbe, puis on redescend vers l'axe des doses.
- 3 La dose obtenue correspond à la DL50.



Message clé

Plus la DL50 est faible, plus la substance est toxique en aigu.

Classification SGH selon la DL50 orale

Catégorie de danger	DL50 orale (mg/kg pc)
Cat 1	≤ 5
Cat 2	$> 5 \text{ à } \leq 50$
Cat 3	$> 50 \text{ à } \leq 300$
Cat 4	$> 300 \text{ à } \leq 2000$
Cat 5 (optionnelle)	$> 2000 \text{ à } \leq 5000$



Exemple : une DL50 de 250 mg/kg correspond à la catégorie 3.



Limites

La DL50 renseigne surtout sur la létalité aiguë. Elle ne décrit pas correctement les effets sublétaux, cumulatifs ou chroniques.

Le SGH : définition et rôle

Comprendre le Système Général Harmonisé de classification et d'étiquetage des produits chimiques



SGH = **Système Général Harmonisé de classification et d'étiquetage des produits chimiques.**

Il s'agit d'un système international utilisé pour classer les dangers des produits chimiques et harmoniser les étiquettes et les informations de sécurité.

À quoi sert-il ?

- 1 Harmoniser la communication du danger à l'échelle internationale.
- 2 Protéger les utilisateurs, les travailleurs et l'environnement.
- 3 Faciliter l'étiquetage, le transport et la réglementation des substances chimiques.

Que classe le SGH ?

Dangers physiques



Ex. : explosifs, gaz inflammables, liquides inflammables, substances comburantes, etc.

Dangers pour la santé



Ex. : toxicité aiguë, corrosif, atteintes spécifiques d'organes, mutagénicité, cancérogénicité, toxicité pour la reproduction, etc.

Dangers pour l'environnement



Ex. : toxicité pour le milieu aquatique (aiguë et chronique), etc.

Éléments de l'étiquette SGH

Pictogrammes de danger



Indiquent la nature du danger.

Mention d'avertissement « Danger » ou « Attention »

DANGER

ATTENTION

Indique le niveau de gravité du danger.

Mentions de danger (phrases H)



Décrivent la nature et la gravité des dangers du produit chimique.
Ex. : H301, H314, H350, etc.

Conseils de prudence (phrases P)



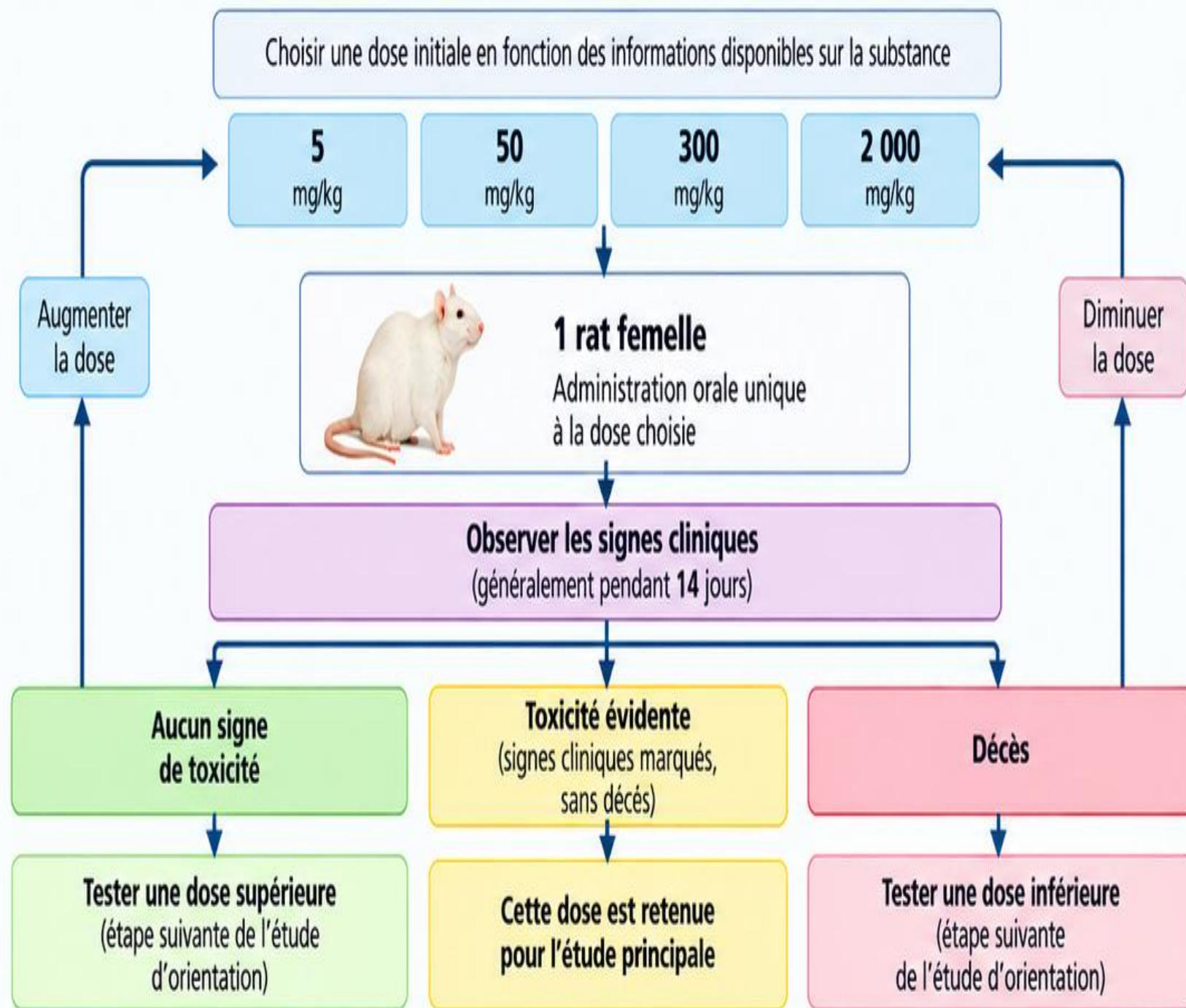
Indiquent les mesures à prendre pour prévenir ou réduire les risques.
Ex. : P261, P280, P305+P351+P338, etc.



Idée clé : le SGH ne mesure pas seulement la toxicité aiguë ; il standardise la manière de classer et d'étiqueter les dangers chimiques.

TG 420 – 1. Étude d'orientation

(1 animal à la fois)



Exemples de signes de toxicité évidente (non exhaustifs) :

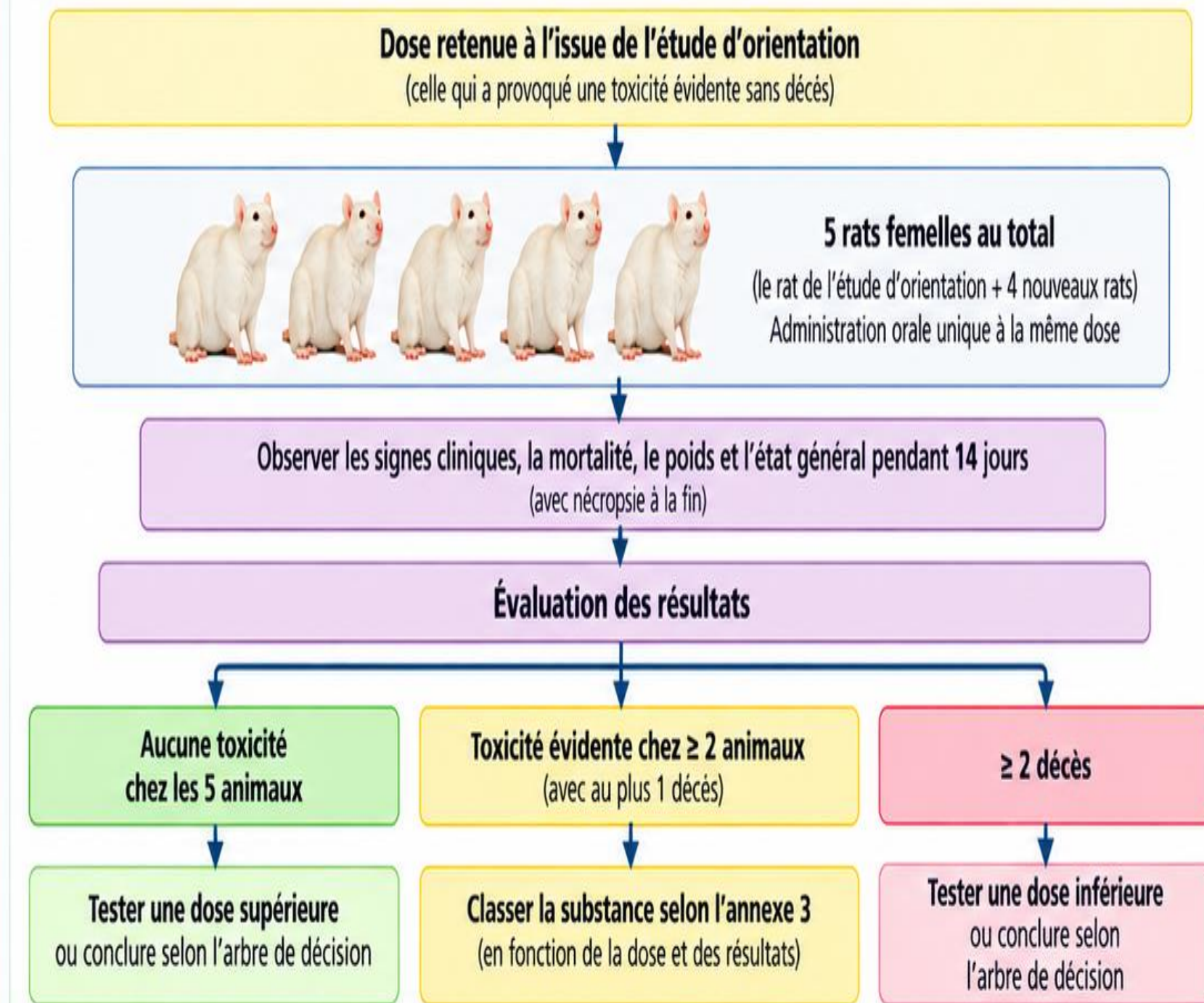
- troubles moteurs marqués (tremblements, ataxie)
- troubles respiratoires
- diminution importante de l'activité
- altération manifeste de l'état général

Conclusion

La substance est classée dans une catégorie de toxicité orale aiguë du SGH (catégories 1, 2, 3, 4 ou 5, ou non classée)

TG 420 – 2. Étude principale

(5 animaux au total)



Points clés :

- On ne teste pas les quatre doses en même temps.
- La procédure est séquentielle.
- L'étude d'orientation se fait animal par animal.
- L'étude principale utilise 5 animaux au total pour la dose retenue.
- L'objectif est d'identifier une dose provoquant une toxicité évidente sans rechercher la mort.
- Les décisions exactes sont définies par les arbres de décision de l'annexe 2 (étude d'orientation) et de l'annexe 3 (classification).

OCDE TG 420 – Comment classer une substance selon le SGH ?

Catégories de toxicité orale aiguë du SGH

Plages générales (d'après les valeurs estimées de DL₅₀/ETA)

Catégorie 1

≤ 5 mg/kg
Extrêmement toxique



Danger mortel

Catégorie 2

> 5 – 50 mg/kg
Très toxique



Danger mortel

Catégorie 3

> 50 – 300 mg/kg
Toxique



Danger mortel

Catégorie 4

> 300 – 2 000 mg/kg
Nocif



Nocif en cas d'ingestion

Catégorie 5

> 2 000 – 5 000 mg/kg
Danger plus faible



Peut être nocif en cas d'ingestion

TG 420 – Étude principale : arbre de décision simplifié (exemple à 300 mg/kg)

5 animaux au total
(dont l'animal de l'étude d'orientation)



Administer la substance à 5 rats femelles

Dose : 300 mg/kg (administration orale unique)

A

Au moins 2 décès
(2, 3, 4 ou 5 rats)



Catégorie SGH 3

> 50 – 300 mg/kg
Toxique

B

Au moins 1 animal avec toxicité évidente et/ou 1 décès
(mais pas ≥ 2 décès)



Catégorie SGH 4

> 300 – 2 000 mg/kg
Nocif

C

Aucun signe de toxicité
(0/5)

Poursuivre à une dose supérieure
2 000 mg/kg
(5 animaux au total)

Classer selon l'annexe 3 de la TG 420
en fonction des résultats à 2 000 mg/kg
(possibilité catégorie 5 ou non classée)



- Les plages de doses sont des estimations générales de toxicité (DL₅₀/ETA) utilisées pour le classement SGH.
- La TG 420 ne calcule pas directement la DL50.**

Exemples de signes de toxicité évidente

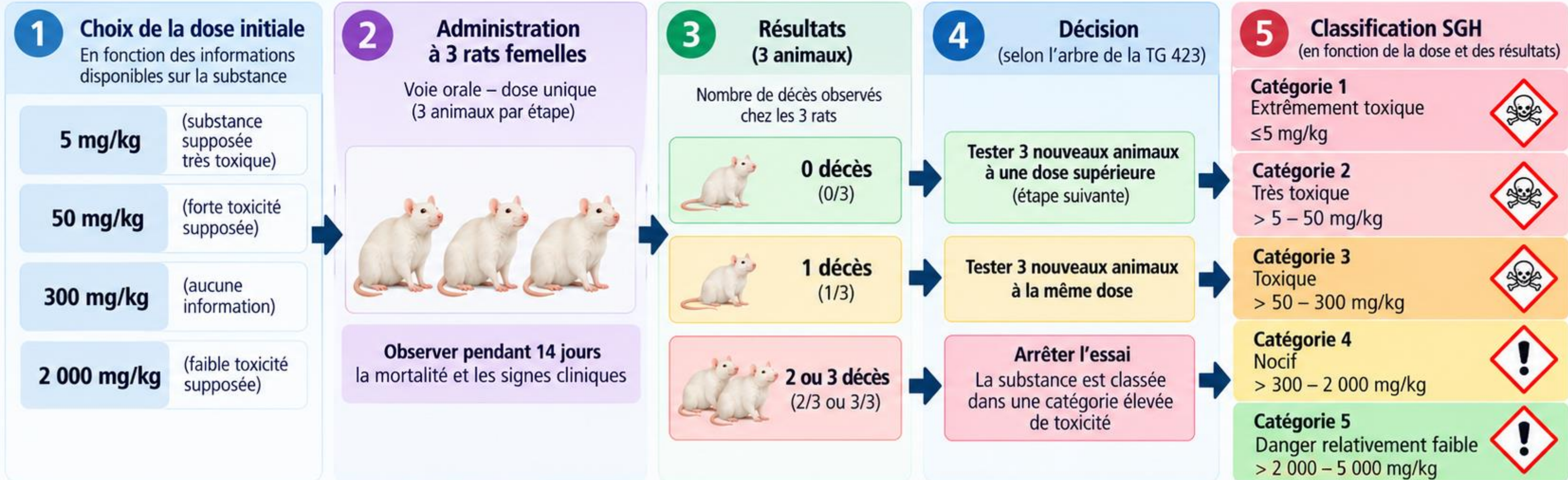
- troubles moteurs marqués (tremblements, ataxie)
- diminution importante de l'activité
- troubles respiratoires
- altération manifeste de l'état général



Les résultats complets sont interprétés avec les arbres décisionnels OCDE, annexe 3 de la TG 420.

OCDE TG 423 – Toxicité orale aiguë : méthode des classes de toxicité aiguë

Procédure séquentielle basée sur la mortalité – Classification selon le SGH



Points clés

- Pas d'étude d'orientation : on commence directement par 3 animaux.
- Procédure séquentielle : on ne teste pas toutes les doses.
- Décisions définies par l'arbre de décision de l'annexe 2 de la TG 423.
- Objectif principal : déterminer la classe de toxicité (mortalité).
- 3 rats femelles par étape.
- Observation de la mortalité et des signes cliniques pendant 14 jours.



Signes cliniques à observer (exemples)

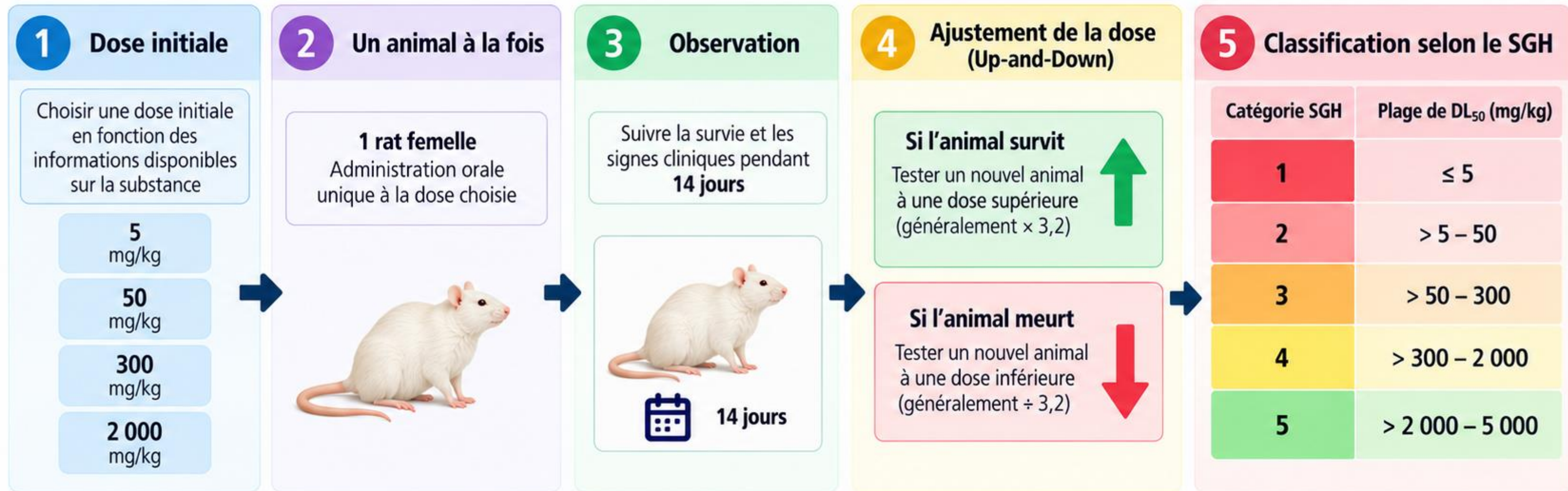
- troubles moteurs (tremblements, ataxie)
- diminution de l'activité
- troubles respiratoires
- convulsions
- altération de l'état général
- salivation, piloérection
- diarrhée
- autres signes de toxicité



Plages de doses des catégories SGH (toxicité orale aiguë)

Catégorie	Plage de doses (mg/kg)	Niveau de danger
1	≤ 5	Extrêmement toxique
2	> 5 – 50	Très toxique
3	> 50 – 300	Toxique
4	> 300 – 2 000	Nocif
5	> 2 000 – 5 000	Danger relativement faible

OCDE TG 425 – Toxicité orale aiguë : méthode de l'ajustement des doses (Up-and-Down)



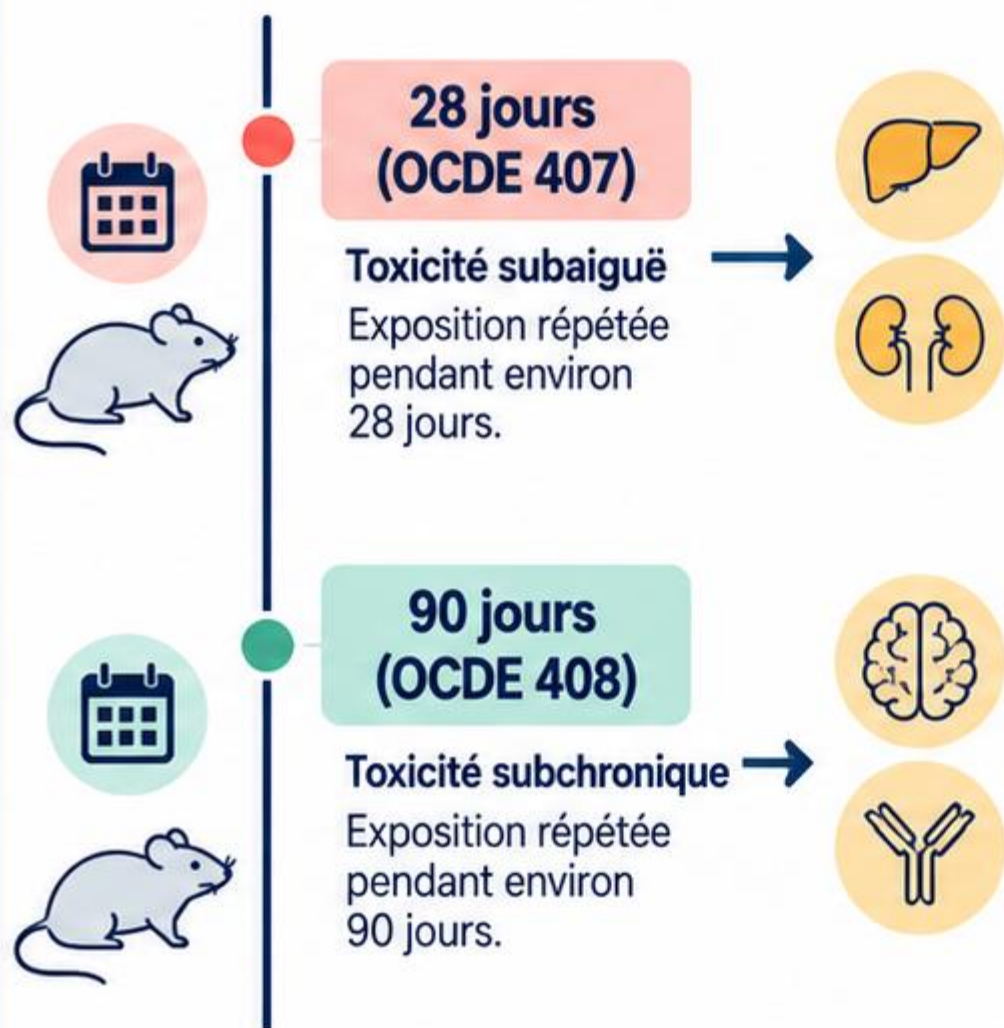
Conclusion

La substance est classée dans une catégorie de toxicité orale aiguë du SGH (catégories 1, 2, 3, 4 ou 5). La DL_{50} est estimée à partir de la séquence de doses testées.

Toxicité subaiguë et subchronique : définition et objectifs.

Expositions répétées à doses multiples pour révéler les effets cumulatifs, identifier les organes cibles et établir la relation dose-réponse.

Durées et protocoles type



Définition

La **toxicité subaiguë** correspond à une exposition répétée pendant environ 28 jours.

La **toxicité subchronique** correspond à une exposition répétée pendant environ 90 jours.

Ces études évaluent les effets progressifs ou cumulatifs qui n'apparaissent pas forcément après une exposition aiguë.

Ce que l'on cherche



Organes cibles : identifier les tissus ou systèmes les plus sensibles (foie, rein, système nerveux, immunitaire, endocrinien...).



Relation dose-réponse : comparer plusieurs niveaux de dose pour voir si l'effet augmente avec l'exposition.



NOAEL / LOAEL : déterminer la dose sans effet indésirable observé et la plus faible dose provoquant un effet indésirable.



Réversibilité : évaluer si certains effets diminuent ou persistent après l'arrêt du traitement.

Paramètres suivis



Observations cliniques, comportement, mortalité.



Poids corporel et consommation alimentaire/hydrique.



Hématologie et biochimie (ALAT/ASAT, urée, créatinine, glycémie...).



Autopsie, poids des organes et histopathologie.



Schéma d'étude : au moins 3 doses croissantes + 1 groupe témoin.



Idée clé : la subaiguë explore les premiers effets répétés (28 jours), tandis que la subchronique approfondit l'identification des organes cibles et des seuils d'effet (90 jours).

OCDE TG 407 — Toxicité orale à doses répétées (28 jours)

Étude chez le rongeur — exposition orale quotidienne pendant 28 jours

1 Design de l'étude

3 groupes de dose
+ 1 témoin

Rats de préférence

Au moins 5 femelles
+ 5 mâles par groupe



2 Administration



1 dose par jour
pendant 28 jours



Voie orale



Gavage /
alimentation /
eau de boisson

3 Suivi



Observations
cliniques quotidiennes



Poids corporel



Consommation
alimentaire / eau



Observations
fonctionnelles
(comportement, signes
neurologiques, etc.)

4 Examens de fin d'étude



Hématologie
(hémogramme)



Biochimie clinique
(fonctions hépatique,
rénale, etc.)



Autopsie
(examen macroscopique)



Poids d'organes
(absolus et relatifs)



Histopathologie
(examen microscopique
des organes d'intérêt)

5 Objectif



Identifier
les organes cibles



Mettre en évidence
une **relation**
dose-réponse



Déterminer
le NOAEL

À retenir



Étude subaiguë



28 jours



Doses répétées



Permet d'évaluer
la toxicité systémique

OCDE TG 408 — Toxicité orale à doses répétées (90 jours)

Étude chez le rongeur — exposition orale quotidienne pendant 90 jours

1 Design de l'étude

3 groupes de dose
+ 1 témoin

Rats de préférence

Au moins 10 femelles
+ 10 mâles par groupe



2 Administration



1 dose par jour
pendant **90 jours**



Voie orale



Gavage /
alimentation /
eau de boisson

3 Suivi



Observations
cliniques quotidiennes



Poids corporel



Consommation
alimentaire / eau



Ophtalmologie /
analyses urinaires

4 Examens de fin d'étude



Hématologie
(hémogramme)



Biochimie clinique
(fonctions hépatique,
rénale, etc.)



Autopsie
(examen macroscopique)



Poids d'organes
(absolus et relatifs)



Histopathologie
(examen microscopique
des organes d'intérêt)

5 Objectif



Identifier
les organes cibles



Déterminer
le **NOAEL**



Évaluer
la toxicité
subchronique

À retenir



Étude subchronique



90 jours



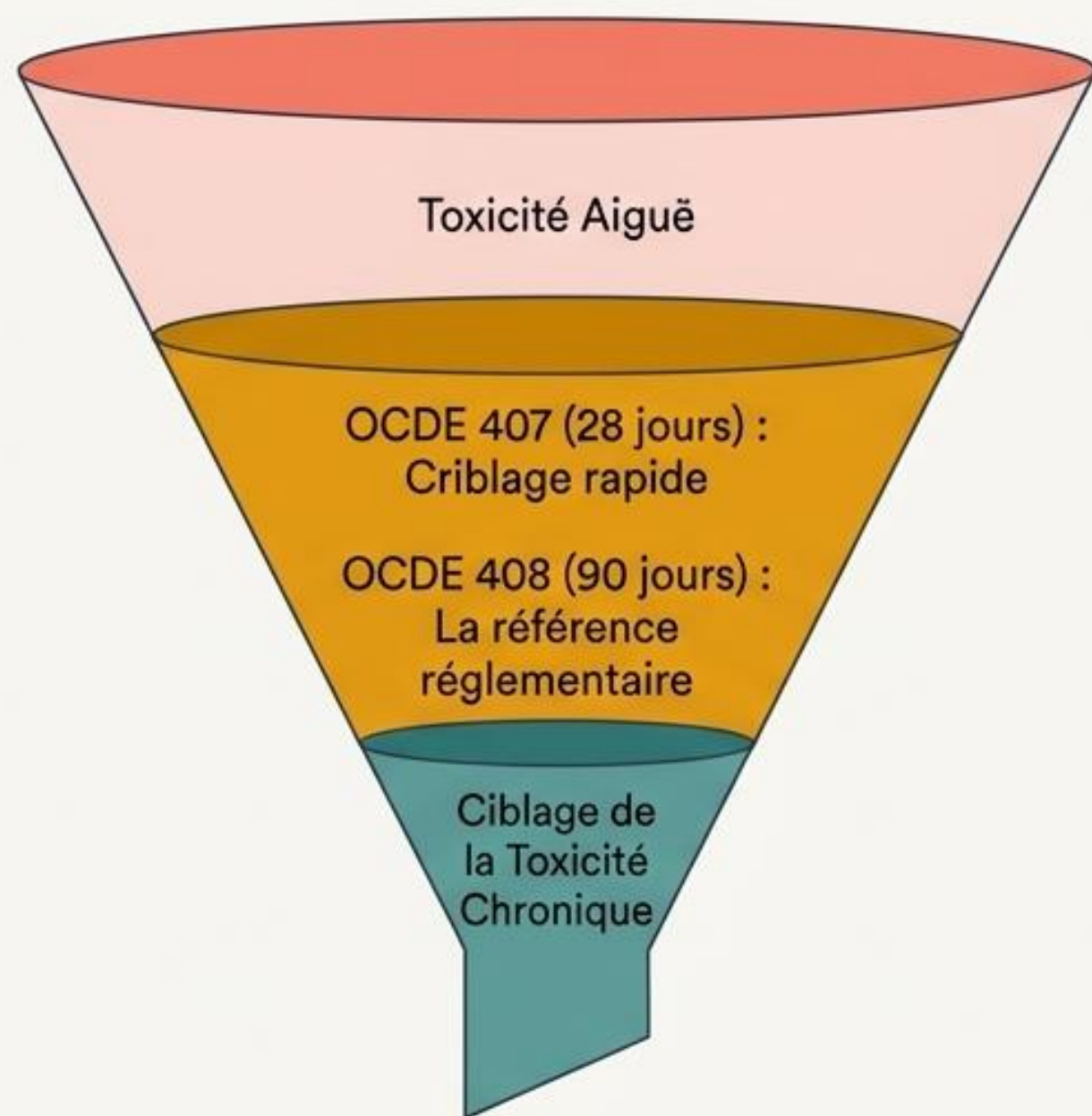
Doses répétées



Évalue la toxicité
systémique

Toxicité Subaiguë & Subchronique : L'Étape Charnière.

90 jours représentent environ 10% de la durée de vie du rat. Suffisant pour révéler la majorité des effets cumulatifs.



Objectifs Clés

1. Identifier les organes cibles spécifiques.
2. Déterminer le NOAEL et le LOAEL (relation dose-réponse).
3. Évaluer la réversibilité via un groupe d'observation post-traitement.
4. Définir la Dose Maximale Tolérée (DMT) pour l'étude chronique ultérieure.

Toxicité chronique : définition et objectifs

Une exposition répétée prolongée permet d'étudier les effets cumulatifs, différés et parfois néoplasiques à long terme.

1. Définition



La toxicité chronique correspond à une exposition répétée sur une longue durée, généralement **≥ 12 mois** chez le rongeur.



Certaines études, notamment de cancérogénicité, peuvent aller jusqu'à **environ 24 mois**.



Elle vise à mettre en évidence des effets qui n'apparaissent pas forcément lors des études aiguës ou subchroniques.

2. Ce que l'on recherche



Effets **cumulatifs** et **différés**



Organes cibles à long terme



Bioaccumulation et **altérations progressives**



Lésions dégénératives



Apparition éventuelle de **tumeurs / cancérogénicité**

3. Protocoles OCDE



OCDE 452 : toxicité chronique



OCDE 451 : cancérogénicité



OCDE 453 : toxicité chronique + cancérogénicité



Études **longues**, **effectifs** plus importants et interprétation **histopathologique** rigoureuse.

4. Paramètres suivis



Signes cliniques



Poids corporel



Consommation alimentaire/hydrique



Hématologie / biochimie



Poids des organes



Histopathologie



Incidence tumorale



Point important :

l'interprétation doit tenir compte du **vieillessement** spontané de l'animal.



Idée clé : la toxicité chronique explore les effets à long terme et complète les études aiguës, subaiguës et subchroniques.

Toxicité chronique et cancérogénicité : explication détaillée

Comprendre la différence entre les études OCDE 452, 451 et 453 en toxicologie expérimentale



OCDE 452 — Toxicité chronique

Évaluation des effets toxiques à long terme



Durée : généralement ≥ 12 mois chez le rongeur.



Objectif : étudier les effets toxiques à long terme, cumulatifs, différés ou dégénératifs.



Ce que l'on recherche : organes cibles, bioaccumulation, altérations progressives, perte de fonction.



Effectifs : plus modestes que pour une étude de cancérogénicité, mais suivi prolongé et rigoureux.



Exemple d'effets : atteintes hépatiques, rénales, neurologiques, métaboliques.



OCDE 451 — Cancérogénicité

Détection du potentiel tumorigène d'une substance



Durée : environ 24 mois, souvent proche de la durée de vie du rongeur.



Objectif : détecter si une substance augmente l'incidence tumorale.



Ce que l'on recherche : tumeurs bénignes ou malignes, relation dose-effet, site tumoral.



Effectifs : importants, car une forte puissance statistique est nécessaire.



Point clé : une lésion tumorale doit être interprétée en tenant compte de la fréquence spontanée liée à l'âge.



Différence essentielle

Les études OCDE 452 et 451 répondent à des objectifs différents mais complémentaires, et l'OCDE 453 combine les deux approches.



OCDE 452 :

effets toxiques chroniques
non nécessairement tumoraux



OCDE 451 :

potentiel cancérogène /
effet tumorigène



OCDE 453 :

étude combinée
toxicité chronique + cancérogénicité



Comment interpréter correctement ?

Une interprétation rigoureuse est essentielle pour distinguer un effet lié au traitement d'une lésion spontanée liée au vieillissement et pour conclure sur le potentiel cancérogène.



1 Distinguer l'effet du traitement des lésions spontanées liées au vieillissement.



2 Interpréter avec l'histopathologie et le contexte dose-réponse.



3 Comparer la fréquence, la sévérité et la distribution des lésions entre groupes.



4 Un effet statistiquement significatif n'est pas toujours biologiquement pertinent.

Exemples de confusions possibles :

- néphropathie chronique progressive,
- lésions hépatiques liées à l'âge,
- tumeurs spontanées chez l'animal âgé.



Idee clé : la toxicité chronique étudie les effets à long terme ; la cancérogénicité cherche spécifiquement à savoir si la substance favorise le développement de tumeurs.

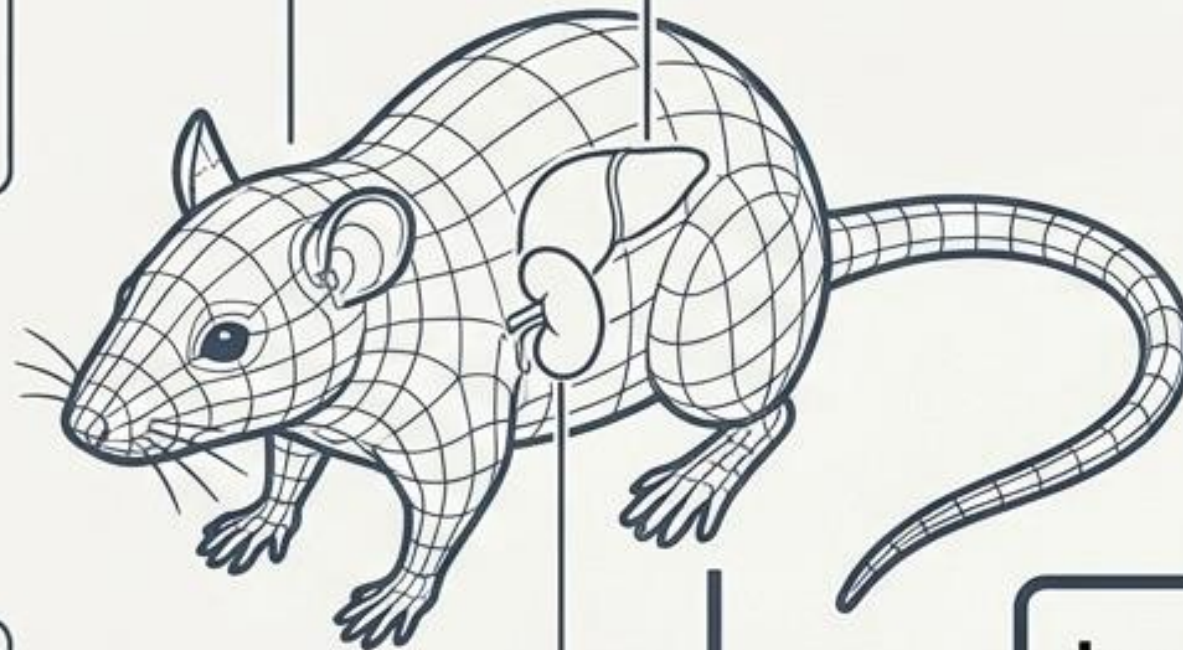
La Batterie de Mesures OCDE (Subchronique & Chronique).

Sang & Systémique

Hématologie (NFS, plaquettes, coagulation) & Paramètres Cliniques (Poids, ophtalmologie).

Foie & Métabolisme

Biochimie Sanguine.
Transaminases (ALAT, ASAT),
phosphatases alcalines,
bilirubine, glycémie, lipides.



Reins

Marqueurs rénaux (urée, créatinine) & Analyse d'urine (volume, densité, protéines, sédiment).

Le standard d'or : Histopathologie

Pesée systématique des organes (rapport poids/corps). Autopsie complète et examen microscopique systématique (témoins vs dose forte).

Les Limites du Modèle Classique In Vivo.



Coûts & Délais

Plusieurs millions d'euros et des années d'étude pour un test chronique exhaustif. Cela limite drastiquement le nombre de substances évaluables.



Pression Éthique

Utilisation de centaines d'animaux par substance testée, en contradiction croissante avec la directive éthique des 3R.



Incertitude Inter-espèces

Extrapolation complexe du métabolisme et de la sensibilité, en particulier le passage des fortes doses expérimentales vers les faibles doses environnementales.



Angles Morts

Les protocoles historiques peinent à détecter les effets subtils à très faible dose (ex : perturbation endocrinienne, neurodéveloppement).