



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد الصديق بن يحيى - جيجل

Université Mohammed Seddik Benyahia-Jijel



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire

كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم البيولوجيا الجزيئية والخلوية

Approches Prédictives de la Toxicité

Polycopié de cours

Master I Toxicologie Fondamentale et Appliquée

Code du cours selon le canevas de formation

UEM1

Préparé par Dr BENHAMADA Ouahiba

Grade de l'auteur

MCA

2025/2026

Ref.....

TBLES DES MATIERES

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

Introduction	1
Chapitre I : Méthodes d'évaluation de la toxicité.....	2
1. Tests d'études de la toxicité aigüe.....	2
1.1. Etude expérimentale <i>in vivo</i>	2
1.1.1. Détermination de la DL ₅₀ , CL ₅₀ et IC ₅₀	2
1.1.2. Test de Draize.....	13
1.1.3. Test de toxicité aiguë par inhalation.....	17
1.2. Etude expérimentale <i>in vitro</i>	18
1.2.1. Eyetex : mesure de l'irritation oculaire.....	18
1.2.2. Tests alternatifs au test de Draize Epiderme humain reconstitué.....	18
1.2.3. Tests alternatifs au test de Draize Test de fixation du rouge.....	18
1.2.4. Tests alternatifs au test de Draize : Les études humaines	19
2. Test d'étude de la toxicité à court terme : subaiguë ou subchronique	19
2.1. Des altérations légères.....	19
2.2. Des lésions graves.....	19
3. Test d'étude de la toxicité à long terme ou chronique.....	19
3.1. Tests et étude de génotoxicité.....	20
3.1.1. Les mutations germinales.....	20
3.1.2. Les mutations somatiques	20
3.2. Tests et études de cancérogenèse.....	21
3.3. Tests et études des effets sur la reproduction.....	23
3.3.1. Effets sur la fertilité.....	23
3.3.2. Toxicité pour le développement.....	23
Chapitre II : Tests de cytotoxicité.....	23
1. Test de Bleu de Trypan.....	23
2. Test de Rouge Neutre.....	24
3. Test de MTT.....	24
4. Test ATP.....	24
5. Test de Lactate Deshydrogénase	25
Chapitre III : Techniques d'évaluations pharmacologiques.....	25
1. Test d'innocuité ou recherche d'une toxicité anormale.....	25
2. Recherche des pyrogènes.....	26
2.1. Test <i>in vivo</i>	27
2.2. Test <i>in vitro</i>	27
Chapitre VI : Toxicologie des organes et procédures d'évaluation	27
VI.1. Toxicologie de l'appareil respiratoire.....	27
1. Toxiques respiratoires.....	27

2. Effets toxiques.....	27
2.1. Toxicité aiguë.....	27
2.1.1. Syndromes irritatifs.....	27
2.1.2. Œdème pulmonaire aigu.....	28
2.1.3. Fièvres transitoires ou fièvre d'inhalation ou fièvre des métaux.....	28
2.1.4. Syndrome de Détresse Respiratoire Aigu:SDRA.....	28
2.2. Effets toxiques chroniques.....	28
2.2.1. Asthme.....	28
2.2.2. Fibrose et emphysème.....	28
2.2.3. Cancer du poumon.....	29
3. Procédure d'évaluation.....	29
3.1. Animaux.....	29
3.2. La dose.....	29
3.3. Examen.....	29
3.3.1. Examens généraux.....	29
3.3.2. Fonctions respiratoires.....	29
3.3.3. Changements morphologiques et biochimiques.....	29
3.4. Evaluation.....	30
3.4.1. Test <i>in vivo</i>	30
3.4.2. Test <i>in vitro</i>	30
VI.2. Toxicologie de foie (hépatotoxicité).....	30
1. Effets toxiques.....	32
1.1. Atteintes aiguës.....	32
1.1.1. Surcharge graisseuse : surtout stéatose.....	32
1.1.2. Nécrose hépatique = cytolysé hépatique = hépatite.....	32
1.1.3. Cholestase.....	32
1.2. Atteintes chroniques.....	34
1.2.1. Fibrose.....	34
1.2.2. Cirrhose.....	34
1.2.3. Tumeur.....	35
2. Procédures d'évaluation.....	36
2.1 Animaux.....	36
2.2. Voie d'administration.....	36
2.3. Examens.....	36
2.3.1. Examens macroscopiques.....	36
2.3.2. Examens microscopiques.....	36
2.3.3. Tests biochimiques.....	36
2.4. Evaluation.....	37
2.4.1. Nature de la toxicité.....	37
2.4.2. Evaluation quantitative.....	37
VI.3. Toxicologie de rein.....	37
1. Les néphrotoxiques.....	37
2. Effets toxiques des néphrotoxiques.....	37
2.1. Insuffisance rénale légère.....	37
2.2. Insuffisance rénale aiguë.....	38
2.3. Insuffisance rénale chronique.....	38

3. Procédures d'évaluation.....	38
3.1. Examens sanguins.....	38
3.1.1. Créatinémie.....	38
3.1.2. Azotémie.....	38
3.1.3. Natrémie.....	39
3.1.4. Chlorémie.....	39
3.1.5. Kaliémie.....	39
3.1.6. Calcémie.....	39
3.1.7. Phosphorémie.....	39
3.1.8. Numération formule sanguine.....	39
3.2. Examens urinaires.....	39
3.2.1. Protéinurie ou albuminurie	39
3.2.2. Urée urinaire	40
3.2.3. Sodium urinaire.....	40
3.2.4. Etude cytologique et bactériologique des urines (ECBU).....	40
3.2.5. Clairance de la créatinine.....	40
3.2.6. Glycosurie.....	40
3.2.7. Capacité d'acidification.....	40
3.2.8. Enzymes.....	40
3.3. Examens morphologiques.....	40
3.3.1. Examens macroscopiques.....	40
3.3.2. Microscopie optique.....	40
3.3.3. Microscopie électronique.....	41
3.4. Etudes <i>in vitro</i>	41
3.4.1. Coupes épaisses.....	41
3.4.2. Tubules rénaux perfusés.....	41
VI.4. Toxicologie de la peau.....	41
1. Les effets toxiques.....	41
1.1. Irritation primaire.....	41
1.2. Réaction de sensibilisation.....	42
1.3. Photo toxicité et photo allergie.....	42
1.4. Urticaire.....	43
2. Procédure d'évaluation.....	44
2.1. Irritation primaire	55
2.2. Réaction de sensibilisation.....	55
2.3. Photo toxicité et photo allergie.....	45
2.3.1. Photo toxicité.....	45
2.3.2. Photo allergie.....	45
2.4. Urticaire de contact.....	45
2.5. Cancer cutané.....	45
2.6. Autres tests.....	45
3. Tests <i>in vitro</i>	45
VI.5. Toxicologie de l'œil.....	45
1. Anatomie de l'œil	45
2. Substances toxiques et site d'action.....	47
2.1. Action sur la cornée.....	47

2.2. Action sur l'iris, humeur aqueuse et zonule ciliaire.....	47
2.3. Action sur le cristallin.....	47
2.4. Action sur la rétine.....	48
2.5. Action sur le nerf optique.....	48
3. Procédure d'évaluation.....	48
3.1. Animaux utilisés.....	48
3.2. Protocole	49
3.3. Examens de laboratoire.....	49
3.3.1. Ophtalmoscopie.....	49
3.3.2. Périmètre visuel.....	49
3.3.3. Autres procédures.....	49
3.4. Examens histologiques et biochimiques.....	49
4. Evaluation.....	49
VI.6. Toxicologie du système nerveux.....	50
1. Neurotoxicité et neurotoxiques	50
2. Effets toxiques des neurotoxiques.....	51
2.1. Neuronopathie	51
2.2. Axonopathie.....	52
2.2.1. Axonopathie proximale.....	52
2.2.2. Axonopathie distale.....	52
2.2.3. Interférence avec la conduction nerveuse.....	52
2.2.4. Interférence avec la transmission synaptique.....	52
2.3. Cellules gliales et myéline.....	52
2.3.1. Cellules productrices de myéline.....	52
2.3.2. Gaine de myéline.....	52
2.4. Vaisseaux sanguins et œdème	52
2.4.1. Œdèmes extracellulaires.....	53
2.4.2. Œdèmes cellulaires.....	53
3. Procédure d'évaluation.....	53
3.1. Examens neurologiques.....	53
3.2. Examens morphologiques.....	53
3.3. Examens électrophysiologiques.....	54
3.3.1. Nerfs périphériques	54
3.3.2. Electromyographie.....	54
3.3.3. Electro-encéphalographie.....	54
3.4. Examens biochimiques.....	54
VI.7. Toxicologie du système reproducteur.....	55
1. Principaux toxiques et effets toxiques.....	55
1.1. Sur le système reproducteur male.....	55
1.2. Sur le système reproducteur femelle.....	55
2. Procédure d'évaluation.....	55
2.1. Animaux utilisés.....	55
2.2. Examens.....	55
2.3. Evaluation.....	55
VI.8. Toxicologie du système cardiovasculaire.....	56

1. Principaux toxiques du cœur	56
2. Effets toxique cardiaques.....	56
2.1. Myocardiopathie.....	56
2.2. Interférence avec la synthèse des acides nucléiques.....	56
2.3. Arythmies.....	56
2.4. Dépression myocardique.....	57
3. Effets toxiques sur les vaisseaux sanguins.....	57
3.1. Perméabilité capillaire accrue.....	57
3.2. Vasoconstriction	57
3.3. Changements dégénératifs.....	57
3.4. Fibrose.....	57
3.5. Réactions d'hypersensibilité.....	58
3.6. Tumeurs.....	58
4. Procédures d'évaluation.....	58
4.1. Animaux normaux.....	58
4.2. Cœur isolé.....	58
Conclusion	59
Références bibliographies.....	59

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Détermination de la dose létale 50 (DL ₅₀) par la méthode de TREVAN.....	5
Figure 2. Détermination de la DL ₅₀ par la méthode de BLISS	6
Figure 3. Détermination de la DL ₅₀ par la méthode de Litchfield-Wilcoxon.....	7
Figure 4. Protocole du test d'Ames.....	21
Figure 5. Observation microscopique des cellules traitées par le bleu de Trypan.....	24
Figure 6. Réalisation du test de rouge neutre	24
Figure 7. Mise en évidence de la cytotoxicité par le test de Lactate déshydrogénase.....	25
Figure 8. Stéatose hépatique.....	32
Figure 9. Foie subit une nécrose.....	33
Figure 10. Nécrose hépatique sous microscope.....	33
Figure 11. Aspect d'une cholestase.....	33
Figure 12. Observation microscopique d'un tissu hépatique présentant une cholestase.....	34
Figure 13. Aspect d'une cirrhose hépatique.....	35
Figure 14. Cancer du foie.....	35
Figure 15. Irritation et corrosion de la peau	42
Figure 16. Exemples d'urticaire	43
Figure 17. Structure de l'œil.....	46
Figure 18. Unité de base du système nerveux.....	51

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Les unités de probits.....	6
Tableau 2. Exemple de la détermination de la DL_{50} pour le sulfate de zinc par la méthode de Kärber	9
Tableau 3. Comparaison des méthodes d'évaluation de la DL_{50}	10
Tableau 4. Exemple de DL_{50} de quelques toxiques chez le rat par voie orale.....	11
Tableau 5. Classification des substances toxique, échelle de Hodge et Sterner	11
Tableau 6. Influence de facteurs sur la DL_{50} , et concentration létale 50 de trois produits.....	13
Tableau 7. Échelle de notation (érythème + œdème).....	14
Tableau 8. Classification des produits irritants selon l'indice d'irritation primaire.....	15
Tableau 9. Échelle numérique d'évaluation de l'irritation oculaire.....	15
Tableau 10. Classification des produits irritants selon l'indice d'irritation oculaire maximum...	17
Tableau 11. Principaux tests et études de cancérogenèse.....	22
Tableau 12 : paramètres évalués du test d'innocuité.....	26
Tableau 13. Effet des toxiques sur les organites subcellulaires des hépatocytes.....	31

Introduction

Les approches prédictives de la toxicité constituent un domaine moderne de la toxicologie visant à évaluer le potentiel toxique d'une substance avant son utilisation chez l'être humain ou l'animal, en s'appuyant sur des méthodes alternatives aux essais classiques *in vivo*. Elles s'inscrivent dans une évolution majeure de la toxicologie contemporaine, motivée à la fois par des exigences scientifiques, réglementaires et éthiques, notamment la réduction de l'expérimentation animale et l'amélioration de la pertinence des données de sécurité.

Ces approches reposent sur l'intégration de plusieurs disciplines complémentaires. Les méthodes *in silico* utilisent des modèles informatiques, des bases de données toxicologiques et des outils de type QSAR (*Quantitative Structure-Activity Relationship*) pour prédire la toxicité à partir de la structure chimique et des propriétés physico-chimiques des substances. Les méthodes *in vitro*, quant à elles, s'appuient sur des cultures cellulaires, des tissus reconstitués ou des organoïdes permettant d'étudier les effets biologiques directs d'un composé sur des systèmes biologiques contrôlés. À ces outils s'ajoutent les approches mécanistiques telles que les Adverse Outcome Pathways (AOP), qui décrivent les événements biologiques conduisant d'une interaction moléculaire initiale jusqu'à un effet toxique observable au niveau de l'organisme ou de la population.

L'objectif principal de ces approches est de prédire de manière fiable les dangers potentiels des substances chimiques, pharmaceutiques ou environnementales, tout en réduisant les délais, les coûts et les contraintes éthiques associés aux tests traditionnels. Elles permettent également une meilleure compréhension des mécanismes d'action toxique, favorisant ainsi une évaluation plus fine du risque. Dans le contexte réglementaire actuel, ces méthodes occupent une place croissante et sont encouragées par des organismes internationaux tels que l'Organisation for Economic Co-operation and Development, notamment dans le cadre de stratégies intégrées d'évaluation de la sécurité chimique.

Ainsi, les approches prédictives de la toxicité représentent aujourd'hui un pilier essentiel de la toxicologie moderne, combinant innovation technologique, biologie mécanistique et modélisation pour améliorer la prévention des risques tout en limitant le recours aux essais expérimentaux traditionnels.

Chapitre I : Méthodes d'évaluation de la toxicité

1. Tests d'études de la toxicité aiguë

La toxicité aiguë désigne les effets nocifs (aigu) résultant de l'exposition à une seule forte dose d'un produit ou de multiples doses sur une période ne dépassant pas 24 heures, se manifeste dans les 72 heures suivant la pénétration d'un toxique, c'est la conséquence d'un blocage immédiat des fonctions des organes vitaux. En général, l'intoxication évolue rapidement vers la guérison, ou peut aboutir à la mort.

Les études toxicologiques peuvent être réalisées *in vivo* sur l'organisme vivant entier ou sur les organes isolés, ou *in vitro* sur des cellules en culture ou des organites cellulaires (mitochondries, noyau...).

Plusieurs paramètres permettant l'évaluation de la toxicité aiguë :

1.1. Etude expérimentale *in vivo*

La plupart des études sur la toxicité aiguë (où la manifestation finale typique est la mort) sont programmées pour déterminer la DL_{50} du toxique.

1.1.1. Détermination de la DL_{50} , CL_{50} et IC_{50}

La DL_{50} (Dose Létale 50) est la quantité d'une substance chimique ou d'un médicament qui provoque la mort de 50 % d'un groupe d'animaux d'expérimentation exposés dans des conditions définies. Elle s'exprime généralement en milligrammes de substance par kilogramme de masse corporelle (mg/kg). La DL_{50} constitue un indicateur classique de la toxicité aiguë, c'est-à-dire des effets nocifs apparaissant après une exposition unique ou de courte durée à une substance.

La valeur de la DL_{50} est inversement proportionnelle à la toxicité aiguë : plus la DL_{50} est faible, plus la substance est toxique, car une faible quantité suffit à entraîner la mort de la moitié des animaux testés. À l'inverse, une DL_{50} élevée indique qu'une quantité plus importante est nécessaire pour produire cet effet létal, traduisant une toxicité aiguë plus faible.

Par exemple, une substance présentant une DL_{50} de 5 mg/kg est considérée comme beaucoup plus toxique qu'une substance dont la DL_{50} est de 5000 mg/kg. Les substances caractérisées par une très faible DL_{50} sont parfois qualifiées de toxiques violents ou hautement toxiques.

Il convient toutefois de souligner que la DL_{50} est aujourd'hui considérée comme un indicateur relativement grossier de la toxicité. Les lignes directrices modernes de l'Organisation de coopération et de développement économiques (OCDE, 2025) privilégient des méthodes alternatives permettant de classer le danger toxicologique tout en réduisant le nombre

d'animaux utilisés. Le test classique de détermination précise de la DL_{50} (ligne directrice OCDE 401) a été supprimé en 2001 pour des raisons scientifiques et éthiques.

a. Choix de l'espèce animale

Historiquement, la détermination de la DL_{50} était réalisée principalement chez le rat, espèce considérée comme un modèle biologique de référence en toxicologie en raison de sa sensibilité aux substances chimiques, de sa facilité d'élevage et de la quantité importante de données toxicologiques disponibles. D'autres espèces de laboratoire peuvent également être utilisées, notamment la souris, le cobaye, le lapin ou le hamster, selon la nature de la substance étudiée et les objectifs de l'essai.

Dans les protocoles classiques, les mâles étaient souvent préférés afin de limiter les variations physiologiques liées au cycle hormonal des femelles. Toutefois, les études ont montré que les femelles peuvent parfois présenter une sensibilité légèrement plus élevée à certaines substances toxiques. Les lignes directrices modernes recommandent d'ailleurs l'utilisation de l'un ou l'autre sexe, voire des deux, en fonction des caractéristiques du produit testé.

b. Choix des doses

Avant de réaliser une étude de toxicité ou de déterminer une dose admissible, il est nécessaire d'identifier plusieurs paramètres toxicologiques de référence permettant de caractériser la relation entre la dose administrée et les effets biologiques observés. Parmi les plus importants figurent le NOEL (ou NOAEL), le LOEL (ou LOAEL) et, dans certains protocoles expérimentaux, la dose minimale mortelle (DMM):

La valeur NOEL (NAOEL) : (No Observed (Adverse) Effect Level) qui correspond à la dose à laquelle aucun effet nocif n'est observé, ou encore la plus forte dose n'entraînant aucun effet toxique.

La valeur LOEL (LOAEL): (Low Observed Effect Level) qui correspond à la dose efficace la plus faible, où la plus faible dose provoquant un effet. On utilise les valeurs NOEL ou LOEL obtenues expérimentalement pour définir une dose admissible chez l'animal.

La valeur DMM : la dose minimale de substance capable de tuer un animal par administration intraveineuse lente. La mort est définie par arrêt cardiaque. La DMM aide l'expérimentateur à choisir les doses à tester pour déterminer la DL_{50} ;

Enfin pour déterminer correctement une DL_{50} , il est indispensable de sélectionner une dose qui tuera environ la moitié des animaux, une dose qui en tuera plus de la moitié (mais de préférence moins de 90%), et une dose qui en tuera moins de la moitié (mais de préférence plus de 10%). Donc quatre doses ou plus sont sélectionnées pour qu'au moins trois d'entre elles soient dans

la gamme. Les doses inférieures permettent alors de situer la marge de tolérance du produit chez l'animal. Le tableau ci-dessous donne la relation entre les différentes doses :

Remarque

La dose est quantifiée par mg/kg, pour les produits faiblement toxiques, la détermination de la DL_{50} n'est pas obligatoire, il suffit d'utiliser des doses rapprochées.

c. Mode opératoire

Le mode d'administration le plus utilisé pour déterminer la DL_{50} est celui par gavage à l'aide d'une sonde gastrique ou toute autre canule, généralement la substance d'essai est administrée en une seule dose, mais s'il n'est pas possible, cette dose peut être fractionnée sur une période de dépassant pas 24 heures. Des voies cutanées et respiratoires peuvent être utilisées en cas des substances causant la toxicologie professionnelle. On utilise également la voie parentérale.

L'observation des résultats (nombre de décès) est réalisée après 24-48 heures d'expérimentation (toxicité immédiate), ou après 72 heures (toxicité retardée). Pour les animaux demeurés vivants pendant 14 jours, des sacrifices font l'objet d'une autopsie.

La CL_{50} désigne les concentrations du produit chimique dans l'air qui causent la mort de 50 % des animaux de laboratoire au cours de la période d'observation. D'autres durées d'exposition (vs les quatre heures habituelles) peuvent s'appliquer en fonction des lois particulières en vigueur.

La IC_{50} ou CI_{50} désigne la concentration inhibitrice médiane, c'est une mesure de l'efficacité d'un composé donné pour inhiber une fonction biologique ou biochimique spécifique. Souvent, le composé en question est un éventuel médicament. Cette mesure quantitative indique quelle quantité d'un médicament ou d'une autre substance (inhibiteur) est nécessaire pour inhiber à moitié un processus biologique donné (ou un élément d'un processus, par exemple une enzyme, un paramètre cellulaire, un récepteur cellulaire ou un microorganisme).

Le TL_{50} (temps létal 50) pour une concentration déterminée du toxique dans l'air.

Exemple : Utilisation de 5 lots, chaque lot est composé de 20 rats, les doses sont 0.1, 1, 10, 100 et 1000mg/kg.

d. Méthode de détermination de la DL_{50}

Plusieurs méthodes sont utilisées pour déterminer la DL_{50} :

Méthode de TREVAN

Méthode de BLISS

Méthode de Lietchfield et Wilcoxon

Méthode de Miller et Tainter

Méthode de Kraber et Berhens

Autres méthodes

d1. Méthode de TREVAN (1927)

Le principe repose sur l'administration des doses croissantes de la substance testée chez tous les animaux du lot tout en notant le pourcentage de mortalité, la représentation graphique des variations du pourcentage de mortalité en fonction de la dose donne une courbe sigmoïde (Figure 1). Il suffit de faire l'extrapolation pour déterminer la valeur de DL_{50} .

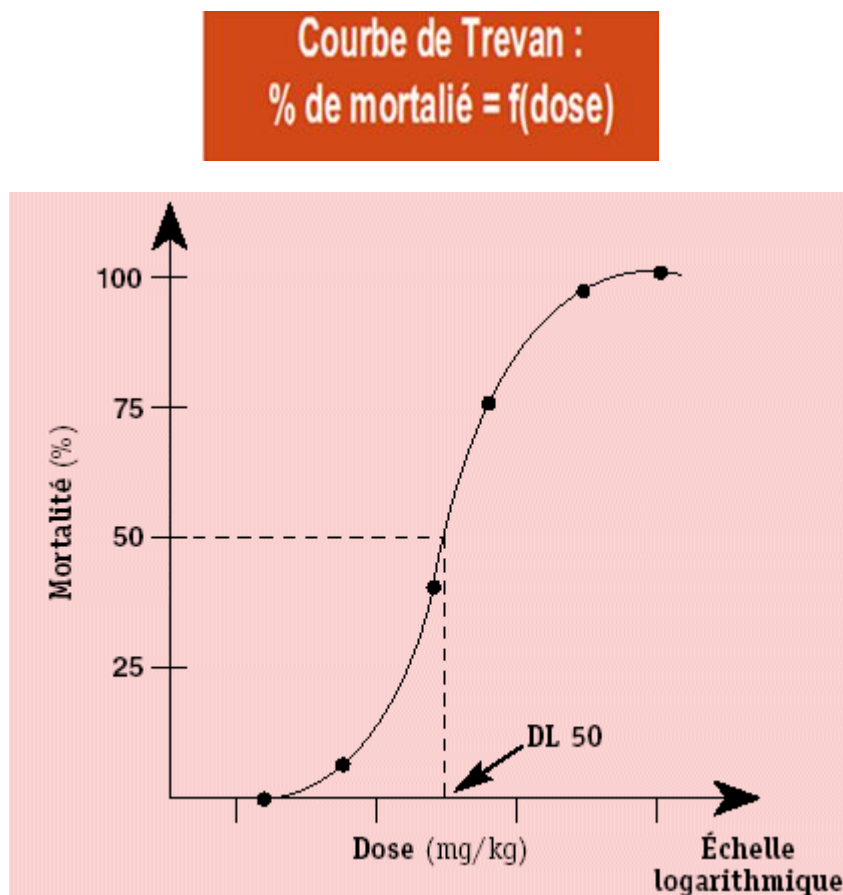


Figure 1. Détermination de la dose létale 50 (DL_{50}) par la méthode de TREVAN (Bensakhria, 2018)

Inconvénients de la méthode de TREVAN : elle présente deux inconvénients :

Une grande partie de la méthode de la courbe n'est pas exploitable (DL_{05} et DL_{95}).

Le nombre des animaux utilisé est très élevé, selon TREVAN un nombre de 30 animaux constitue un minimum.

d2. Méthode de BLISS

Dans ce cas on remplace la dose par log dose et le % de mortalité en probit. On obtient une droite (Figure 2). La méthode utilise deux lots au lieu de 5 à 6 lots.

Les unités probits : ce sont des écart-type réguliers au tour de la moyenne. La moyenne est fixée à zéro. Pour éviter les valeurs négatives, les unités de probits sont obtenues en ajoutant 5, de sorte que le système s'établit ainsi (Tableau 1).

Tableau 1. Les unités de probits (Bliss, 1938)

Écart	Probit	% de mortalité
-3	2	0,1
-2	3	2,3
-1	4	15,9
0	5	50
1	6	84,1
2	7	97,7
3	8	99,9

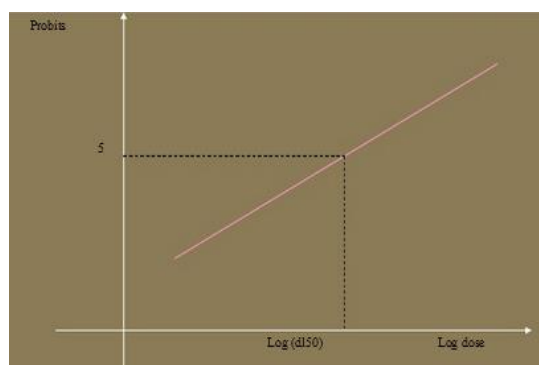


Figure 2. Détermination de la DL_{50} par la méthode de BLISS (Bliss, 1938)

Avantages et inconvénients de la méthode de BLISS

Avantages

Contrairement à certaines méthodes plus simples qui ne prennent en compte qu'une partie des résultats, l'analyse probit exploite l'ensemble des données obtenues pour toutes les doses testées. Cette caractéristique réduit l'influence des variations aléatoires observées dans un seul groupe expérimental et augmente la robustesse des estimations.

L'analyse probit est applicable à de nombreuses situations biologiques impliquant une réponse binaire (mort/survie, présence/absence d'effet, réussite/échec). Elle est utilisée en toxicologie réglementaire, en pharmacologie expérimentale, en lutte contre les insectes nuisibles et dans les études écotoxicologiques.

Avec les logiciels statistiques modernes (R, SAS, SPSS, Prism, etc.), les calculs autrefois très complexes peuvent être réalisés rapidement et avec une grande précision, ce qui a considérablement facilité l'utilisation de la méthode.

Inconvénients

Une mauvaise répartition des doses expérimentales, un nombre insuffisant d'animaux ou une mortalité très faible ou très élevée peuvent affecter la qualité de la régression probit. Dans ces situations, la précision de l'estimation diminue considérablement.

Dans son application classique, la méthode nécessite le tracé d'une droite de régression probit-log dose. Lorsque les points expérimentaux sont dispersés, le positionnement de cette droite peut entraîner des erreurs parfois importantes. Ces erreurs influencent directement la détermination de la DL_{50} et de ses limites de confiance.

Les mortalités de 0 % ou de 100 % ne peuvent pas être directement transformées en probits. Des corrections statistiques doivent être appliquées, ce qui peut introduire une source supplémentaire d'incertitude.

d3. Méthode de Litchfield et Wilcoxon (1943)

La méthode de Litchfield et Wilcoxon est une méthode statistique semi-graphique utilisée pour déterminer les paramètres de toxicité aiguë, notamment la DL_{50} (Dose Létale 50), ainsi que ses limites de confiance (Figure 3).

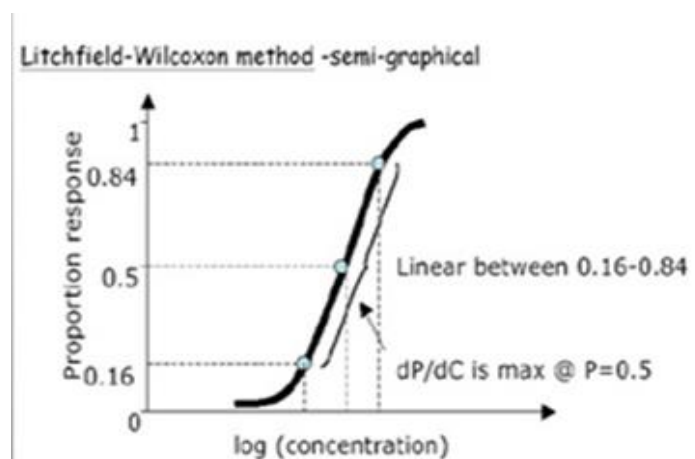


Figure 3. Détermination de la DL_{50} par la méthode de Litchfield-Wilcoxon ((Litchfield et Wilcoxon, 1949 ; Tallarida et Murray, 1987)

Elle constitue une simplification pratique de l'analyse probit de Bliss et a été largement employée en toxicologie expérimentale et en pharmacologie avant l'avènement des logiciels statistiques modernes.

Le principe repose sur la représentation graphique de probit en fonction de log concentration, c'est une méthode semi-graphique, elle détermine la DL_{16} , DL_{50} et DL_{84} .

Le calcul de la pente du graphique (S) permet de définir l'intervalle de confiance, ensuite on détermine le facteur de correction FDL_{50} (Litchfield et Wilcoxon, 1949).

$$S = \frac{dl_{84} + dl_{50}}{dl_{50} - dl_{16}}$$

La pente

$$f_{dl_{50}} = S^{\frac{2,77}{\sqrt{N'}}$$

Facteur de correction

$$dl_{50} \in]u / f_{dl_{50}}, u \times f_{dl_{50}}[$$

Limite de confiance de DL_{50}

N' est le nombre d'animaux utilisé pour obtenir les points situés entre DL_{16} et DL_{84} .

μ : DL_{50} de référence.

d4. Méthode de Miller et Tainter (1944)

C'est une méthode graphique, la représentation graphique est réalisée sur papier logarithme probit : % mortalité (probit) = $f(\log \text{ dose})$ avec correction des valeurs 100% et 0% qui posent un problème statistique :

Dans la distribution normale :

- 0 % correspond à un probit tendant vers $-\infty$
- 100 % correspond à un probit tendant vers $+\infty$

Correction classique

Lorsque chaque groupe contient n animaux :

Pour une mortalité de 0 % : $P = 0,25 \times 100/n$

Pour une mortalité de 100 % : $P = n - 0,25 \times 100/n$

Cette correction, proposée dans les méthodes probit classiques, permet d'obtenir des valeurs finies pouvant être transformées en probits.

Exemple

Pour un groupe de 10 animaux :

- 0 % devient : $0,25 \times 100/10 = 2,5\%$
- 100 % devient : $9,75 \times 100/10 = 97,5\%$

Les valeurs corrigées peuvent ensuite être converties en probits.

n c'est le nombre des animaux des lots qui ont donné les pourcentages de mortalité 0 et 100%. Pour la CL_{50} et IC_{50} , on les détermine de la même manière en ajoutant la substance à tester (dans l'eau, le sol ou l'air). Pour l'eau, on prend l'eau douce et un poison de l'eau douce puis on ajoute des concentrations croissantes de substance puis on note le temps de décès pour chaque concentration. Pour les végétaux, on utilise les bio indicateurs comme les algues.

d5. Méthode de Kraber et Behrens

La méthode de Behrens-Kärber, parfois appelée simplement méthode de Kärber, est une méthode arithmétique utilisée pour estimer la DL_{50} (Dose Létale 50) à partir des résultats de mortalité observés lors d'expériences de toxicité aiguë. Développée initialement par Gustav Behrens puis améliorée par Georg Kärber au début du XXe siècle, elle a longtemps été utilisée en pharmacologie, en toxicologie et dans les essais biologiques en raison de sa simplicité de calcul.

Contrairement aux méthodes de Bliss ou de Litchfield-Wilcoxon, elle ne repose pas sur une transformation en probits ni sur une représentation graphique. Elle utilise directement les taux de mortalité observés aux différentes doses administrées.

$$DL_{50} = \text{la faible dose mortelle} - \Sigma AB/N \text{ (Kärber, 1931)}$$

A : la différence entre deux doses successives

B : moyenne de mort entre deux doses successives

N : nombre moyen d'animaux par lot

Le tableau 2 illustre un exemple de la détermination de DL_{50} par la méthode Kärber.

Tableau 2. Exemple de la détermination de la DL_{50} pour le sulfate de zinc par la méthode de Kärber sur cinq animaux (souris âgées de 10 à 20 semaines) dans chaque groupe (Kärber, 1931)

Groupe	Dose (mg/ml)	Nombre de mortalité
1	Véhicule	0
2	600	0
3	700	1
4	800	3
5	900	3
6	1000	4
7	1100	5

Groupe	Différence entre deux doses successives (A)	Moyenne de mortalité entre deux doses successives (B)	AB
3	100	0.5	50
4	100	2	200
5	100	3	300
6	100	3.5	350
7	100	4.5	450

Donc : $DL_{50} = \text{la faible dose mortelle} - \frac{\sum AB/N}{50} = 700 - \frac{1350}{50} = 700 - 270 = 430 \text{ mg/kg}$

d6. Autres méthodes

Méthode de Lorcke (1983)

Cette méthode offre la possibilité d'obtenir avec 13 animaux expérimentaux des informations adéquates sur la toxicité aiguë et sur la DL_{50} . Elle se réalise en deux phases :

Phase I : trois groupes de trois souris, chaque groupe reçoit une dose, l'observation dans les 24 heures pour noter les mortalités et les modifications du comportement.

Phase II : trois à quatre groupes d'une souris, l'administration des doses s'effectue en se basant sur les résultats de la première phase.

La moyenne géométrique entre la dose minimale qui tue les souris et la dose maximale qui ne tue pas les souris, représente la DL_{50} .

L'avantage de cette méthode est qu'elle sacrifie peu d'animaux.

L'inconvénient : l'exactitude, la reproductibilité, la fiabilité sont remises en question.

Le Tableau 3 donne une comparaison des méthodes d'évaluation, le Tableau 4 donne un exemple des DL_{50} de quelques toxiques chez le rat.

Tableau 3. Comparaison des méthodes d'évaluation de la DL_{50} ((Kärber, 1931)

Méthode	Type	Précision
Kärber-Behrens	Arithmétique	Faible à moyenne
Bliss	Statistique (probit)	Bonne
Litchfield-Wilcoxon	Semi-graphique	Bonne
Régression probit moderne	Informatique/statistique	Très élevée

Tableau 4. Exemple de DL₅₀ de quelques toxiques chez le rat par voie orale (National Center for Biotechnology Information, European Chemicals Agency ; Brunton et *al.* 2018 ; Goodman & Gilman's, 2018)

Substance	DL ₅₀
Vitamine C	11900mg/kg
Bisphénol A	3250 mg/kg
Sel de table	3000mg/kg
THC	1270mg/kg
Caféine	192 mg/kg
Digitaline	5-10mg/kg
Strychnine	1mg/kg
Cyanure	0,563mg/kg
Dioxine	0,02 mg/kg
Toxine botulique	1ng/kg

e. Intérêt de la DL₅₀

•Classification des substances selon leurs toxicités (Tableau 5).

Tableau 5. Classification des substances toxique, échelle de Hodge et Sterner (Hodge et Sterner, 1949 ; Casarett et Doull's, 2019)

DL ₅₀ orale (rat)	Degré de toxicité	Description	Exemples typiques
> 5000 mg/kg	Pratiquement non toxique	Effet toxique très faible, ingestion massive nécessaire	Eau, sucres, sels alimentaires
500 – 5000 mg/kg	Légèrement toxique	Toxicité faible, effets seulement à fortes doses	Éthanol, caféine (modérée)
50 – 500 mg/kg	Modérément toxique	Peut provoquer des effets systémiques importants	Nicotine, certains pesticides
5 – 50 mg/kg	Très toxique	Risque élevé de toxicité aiguë	Strychnine, digitaliques
< 5 mg/kg	Extrêmement toxique	Peut être mortel à très faible dose	Cyanure, toxine botulinique

- Utilisée pour déterminer l'effet toxique spécifique du produit, l'organe cible comme elle fournis des données pour déterminer les doses à utilisées dans les études à long terme.
- Programmation des essais thérapeutiques chez l'homme.
- Evaluation du danger en cas de surdosage.
- Contrôle de qualité.

f. Limites de la DL₅₀

Bien qu'elle soit largement utilisée en toxicologie, elle présente plusieurs limites :

Considérations éthiques : elle est critiquée sur le plan éthique vu la souffrance et le nombre de mortalité important qu'elle engendre aux animaux de laboratoire., de plus, elle ne concerne que la mortalité et ne donne aucune information sur les mécanismes et la nature des lésions.

Variabilité biologique : la DL₅₀ varie selon l'espèce, l'âge, le sexe, l'état de santé et les conditions expérimentales (Tableau 6). Les résultats obtenus chez l'animal ne sont pas toujours directement applicables à l'être humain (différence de réactivité biologique entre l'homme et l'animal).

Information limitée : elle ne renseigne que sur la létalité aiguë et ne fournit pas d'informations sur les effets sublétaux, chroniques, cancérogènes, tératogènes ou sur les mécanismes de toxicité.

Dépendance à la voie d'exposition : une même substance peut avoir des DL₅₀ très différentes selon qu'elle est administrée par voie orale, cutanée, inhalée ou injectable.

Valeur statistique simplifiée : la DL₅₀ représente un point médian de la courbe dose-réponse et ne décrit pas la distribution complète des réponses toxiques dans une population.

Remplacement progressif : de nombreuses réglementations encouragent aujourd'hui l'utilisation de méthodes alternatives (tests *in vitro*, modélisation informatique, approches toxicologiques modernes) afin de réduire l'expérimentation animale. Le FRAME 'Fonds pour Remplacement des Animaux en Expérimentation Médicale) estime que la DL₅₀ est un test inutile, cruel et scientifiquement invalide.

Tableau 6. Influence de facteurs sur la DL₅₀, et concentration létale 50 de trois produits
(Institut National de Recherche et de Sécurité,
<https://www.inrs.fr/publications/bdd/fichetox.html>)

Produit (utilisation)	Espèce animale	Dose létale 50 (g/kg) ¹		Concentration létale (ppm/4 h) ²
		Voie orale	Voie cutanée	
Acétone (solvant)	lapin	5,34	20,00	---
	rat	5,80	---	29 853,00
	souris	3,00	---	---
Acroléine (fabrication de polymères)	hamster	---	---	25,40
	lapin	---	0,20	---
	rat	0,046	---	8,30
	souris	0,028	---	---
Méthanol (solvant)	lapin	14,41	15,80	---
	rat	6,20	---	64,00
	souris	7,30	---	---

1. Quantité exprimée en gramme par kilogramme (g/kg).

2. Concentration dans l'air exprimée en partie par million (ppm) pour une période de quatre heures (4 h).

1.1.2. Test de Draize

C'est le test d'évaluation de la toxicité aiguë par voie locale, son but est de déterminer les produits irritants par leur application sur la peau (irritation cutanée) ou la muqueuse conjonctive de l'animal (irritation oculaire).

a. Irritation cutanée

L'irritation est un élément important en milieu professionnel. Elle correspond ici à l'effet qui peut survenir après une projection unique ou une exposition forte mais de courte durée. L'intensité possible de l'action irritante sur la peau est décrite, elle peut aller de la simple sensation de picotement à une brûlure grave (substances corrosives) avec cicatrice séquellaire. Epiderme de lapin intact et sacrifice maintenu par un bandage adhésif ; la lecture s'effectue après 24-72 heures. Des tables d'évaluation permettent de déterminer les scores, chaque score correspond à une intensité de la réaction (Tableau 7). Le Tableau 8 donne la classification des produits irritants selon l'indice d'irritation primaire

Les tests d'irritation cutanée mesurent le résultat d'un contact direct, bref et non répétitif, de la substance avec la peau ; les effets s'échelonnent d'une légère rougeur (érythème) à des modifications sévères : œdème (accumulation d'une quantité excessive d'eau dans les cellules,

les tissus ou les cavités séreuses), escarre ou nécrose (dégénérescence qui aboutit à la mort d'une cellule ou d'un tissu), hyperplasie, effet corrosif (destruction tissulaire irréversible sur toute la profondeur de la peau)

Ils sont généralement effectués sur le lapin, plus sensible que l'homme pour l'irritation cutanée. Il existe des tests *in vitro* qui permettent de prédire les effets corrosifs. Selon la gravité et la durée des effets observés, les substances peuvent être classées et étiquetées comme corrosives (R35 ou R34) ou irritantes (R38). Les tests par exposition cutanée répétée peuvent mettre en évidence des effets tels que dessèchement, desquamation ou gerçures de la peau liés aux propriétés dégraissantes des substances (R66).

Tableau 7. Échelle de notation (érythème + œdème) (Draize et *al.*, 1949)

Manifestation	Description	Score
ÉRYTHÈME	Pas d'érythème	0
	Léger érythème (à peine visible)	1
	Érythème bien visible	2
	Érythème important	3
	Érythème grave (rouge-pourpre) avec ou sans escarres	4
ŒDÈME	Pas d'œdème	0
	Très léger œdème	1
	Léger œdème perceptible	2
	Œdème moyen (épaisseur $\approx$ 1 mm)	3
	Œdème grave dépassant la zone d'application	4

Calcul de l'indice IP

- On additionne les scores d'érythème + œdème pour les 6 zones scarifiées et non scarifiées.
- On calcule la moyenne → **Indice d'Irritation Primaire (IP)**.

Tableau 8. Classification des produits irritants selon l'indice d'irritation primaire (Draize, 1959)

Catégorie	IP
Non irritant	$IP \leq 0,5$
Légèrement irritant	$0,5 < IP \leq 2$
Irritant	$2 < IP \leq 5$
Très irritant	$5 < IP \leq 8$

b. Irritation oculaire

L'index d'irritation correspond à la somme des scores obtenus pour la cornée, l'iris, les conjonctives palpébrales et bulbaires.

Pour l'œil les conséquences sont variables selon le produit (l'action des bases est plus grave que celle des acides) et les parties de l'organe atteintes : la conjonctivite (inflammation de la conjonctive) est souvent superficielle et réversible, les lésions de l'iris et de la cornée (kératite) peuvent se traduire par des perturbations définitives de la vue. Les tests d'irritation oculaire mesurent le résultat d'un contact direct de la substance avec l'œil ; la conjonctive et la cornée sont les premières touchées, l'érosion cornéenne pouvant aller jusqu'à l'opacification. Des effets inflammatoires de l'iris sont quelquefois observés. Les tests sont effectués sur la surface antérieure de l'œil du lapin. Selon la gravité des effets observés, les substances pourront être classées et étiquetées comme irritantes (R36) ou sévèrement irritantes (R41).

Échelle numérique d'évaluation de l'irritation oculaire ci-dessous (Tableau 9) permet l'identification et le calcul de différentes scores.

Tableau 9. Échelle numérique d'évaluation de l'irritation oculaire (Draize et *al.*, 1944)

Site d'évaluation	Paramètre	Description	Score
Conjonctive	Chémosis	Pas de gonflement	0
		Gonflement, y compris la membrane nictitante	1
		Gonflement avec éversion de la paupière	2
		Gonflement avec paupières à demi fermées	3

Site d'évaluation	Paramètre	Description	Score
		Gonflement avec paupières fermées à plus de moitié ou complètement	4
Conjonctive	Larmoiement	Absence de larmoiement	0
		Larmoiement léger (sans tenir compte des légères sécrétions normales de l'angle interne)	1
		Larmoiement avec humidification des paupières et des poils avoisinants	2
		Larmoiement avec humidification des paupières et des poils sur de larges surfaces autour de l'œil	3
Conjonctive	Rougisement de la conjonctive palpébrale	Vaisseaux normaux	0
		Vaisseaux nettement plus injectés que la normale	1
		Vaisseaux difficiles à distinguer individuellement ; couleur rouge vif diffuse	2
		Couleur rouge foncé diffuse	3
Iris	Altérations de l'iris	Iris normal	0
		Iris nettement plus plissé que la normale, congestion, gonflement ou réaction à la lumière ralentie (une ou plusieurs caractéristiques)	1
		Absence de réaction à la lumière, hémorragie ou destruction importante (une ou plusieurs caractéristiques)	2

A la lumière des scores présentés dans le Tableau 8, trois types d'indices d'irritation sont déterminés :

Indice d'irritation oculaire primaire (I.O.I) : correspond à la somme des points obtenus pour chacun des trois lapins (l'expérience est pratiquée sur un lot de trois lapins) à chaque temps d'observation (24 h et 72 h).

Indice d'irritation oculaire moyen (I.O.M) : correspond à la moyenne des I.O.I. la plus élevée (le temps d'observation correspondant étant précisé au procès-verbal).

Indice d'irritation oculaire maximum (I.O.Max.) : correspond à la valeur de I.O.M. la plus élevée (le temps d'observation correspondant étant précisé au procès-verbal).

L'irritation d'un produit sera fonction de l'indice d'irritation oculaire maximum (I.O.Max.) ; ainsi, 4 classes permettant de classer le produit en faiblement irritant, moyennement irritant, irritant ou très irritant, sont mises en évidence (Tableau 10).

Tableau 10. Classification des produits irritants selon l'indice d'irritation oculaire maximum (Draize et *al.*, 1944)

Catégorie	IP
Non irritant	$0 < IP \leq 0,5$
Faiblement irritant	$0,5 < IP \leq 15$
Moyennement irritant	$15 < IP \leq 30$
Irritant	$30 < IP \leq 50$
Très irritant	$IP > 50$

1.1.3. Test de toxicité aiguë par inhalation

Concerne les gaz, vapeurs, aérosol ou une forme mixte. L'animal entier ou le nez seul est placé dans une chambre. Exposition durant un temps déterminé (4h selon OCDE) à concentration prédéfinie.

L'action irritante sur les bronches est également mentionnée, les faibles irritations se traduisent par une simple gêne respiratoire accompagnée ou non de toux mais il faut se méfier d'actions plus graves conduisant par exemple à un œdème du poumon et/ou à des séquelles bronchiques graves comme l'emphysème ou le syndrome d'hypersensibilité non spécifique.

L'irritation respiratoire résulte d'une action de la substance sur les voies respiratoires. Il n'existe pas de test spécifique pour mesurer cette action. Toutefois elle peut être confirmée par des données histopathologiques lors d'essais appropriés de toxicité générale par inhalation après exposition unique ou répétée. L'irritation respiratoire peut se traduire par une modification de

la fréquence respiratoire mesurée grâce au test d'Alarie (détermination de la RD50 correspondant à la dose qui induit une baisse de 50% de la fréquence respiratoire).

L'observation chez l'animal d'une grave irritation des voies aériennes supérieures fournit des indications pour la classification et l'étiquetage des substances comme irritantes (R 37) qui se fondent toutefois plus souvent sur l'expérience chez l'homme.

Problème de transposition des résultats des études in vivo

- Différence dans le système ADME entre l'homme et l'animal
- Différence anatomique
- Les susceptibilités individuelles qui conduisent à des réponses différentes.
- Certains effets ne peuvent être mis en évidence chez l'animal par ex : céphalées, vertiges, nausées.

1.2. Etude expérimentale in vitro

L'étude *in vitro* est réalisée sur des cultures cellulaires, cette technique permet d'étudier le mécanisme de toxicité moléculaire, comme elle permet d'éviter de faire souffrir et de tuer les animaux, il s'agit des tests alternatifs aux tests de Draize.

1.2.1. Eytex : mesure de l'irritation oculaire

Ce test mesure de l'irritation oculaire par une protéine végétale extraite du pois sabre. Comme la cornée ce gel protéinique clair devient vitreux lorsqu'il est en contact avec une substance irritante.

Avantage : sur animal on doit estimer quelle partie de l'œil du lapin est très précis. Avec le test Eytex, le degré d'opacité (dégâts) peut être mesuré par un spectrophotomètre bien plus fiable que le test de Draize.

1.2.2. Tests alternatifs au test de Draize : Epiderme humain reconstitué

Consiste à utiliser des couches de peau humaine cultivées en laboratoire pour les tests d'irritation cutanée, commercialisées sous les noms de « Skin Squared » ou « Episkin ». L'évaluation de l'irritation cutanée s'effectue par la mise en évidence des rougeurs et des enflures, et observation microscopique des dégâts au niveau des membranes (extraction des enzymes) et détermination d'une inflammation (libération d'interleukine).

1.2.3. Tests alternatifs au test de Draize : Test de fixation du rouge

Les cellules normales absorbent et retiennent le rouge neutre, si la membrane cellulaire ou les lysosomes sont endommagés par une substance chimique irritante, la teinture s'échappe par les membranes perméables. Un spectrophotomètre mesure la quantité de teinture échappée.

1.2.4. Tests alternatifs au test de Draize : Les études humaines

En cosmétologie : utilisation de volontaire humains pour tester les nouvelles formulations, c'est le test le plus fiable grâce à un patch, on place les substances sur des petites zones en haut du dos (2 jours).

2. Test d'étude de la toxicité à court terme : subaiguë ou subchronique

La toxicité subaiguë/subchronique résulte d'une exposition répétée ou prolongée des animaux d'expérience pendant plusieurs semaines (en général 28 jours) jusqu'à 3 mois (90 jours), ce qui correspond à une période brève au regard de leur espérance de vie. Le rat est l'espèce utilisée de préférence.

Les effets observés peuvent inclure :

2.1. Des altérations légères

Modification du gain de poids corporel, de la consommation de nourriture ou d'eau, des paramètres de la biochimie clinique, de l'hématologie ou du poids des organes sans preuves de dysfonctionnement organique.

Des réactions adaptatives (augmentation du poids du foie par exemple).

2.2. Des lésions graves

- Létalité liée à la substance
- Modifications fonctionnelles majeures du système nerveux ou d'un autre organe.
- Modification importante des paramètres de la biochimie clinique ou de l'hématologie.
- Modifications morphologiques graves, observées au microscope après autopsie, dans des organes vitaux ayant une capacité régénératrice (foie, rein...) ou mortalité cellulaire importante dans des organes vitaux incapables de se régénérer (cœur, nerf...) ou dans les populations de cellules souches (moelle osseuse...).

3. Test d'étude de la toxicité à long terme ou chronique

La toxicité chronique résulte d'une exposition répétée pendant plusieurs mois ou années représentant une grande partie de la vie des animaux. Les études de toxicité chronique permettent de mettre en évidence des lésions cumulatives d'un organe spécifique (système cardio-vasculaire, foie, système immunitaire, reins, système nerveux, système respiratoire). Ces lésions apparaissent après un temps de latence, se développent lentement, sont de longue durée et souvent irréversibles.

Une étude de toxicité par dose répétée permet normalement de déterminer les doses NOAEL et LOAEL. Il est en général admis que la NOAEL décroît lorsque la durée d'exposition de l'étude augmente. Lorsque plusieurs NOAELs sont disponibles pour le même effet, c'est la valeur la plus basse qui est utilisée pour l'évaluation des risques.

3.1. Tests et étude de génotoxicité

Certains toxiques déclenchent un génotoxicité qui se manifeste par une mutation aboutissant à une modification des caractéristiques phénotypiques de l'organisme.

Les altérations peuvent impliquer un gène unique (mutation génique), un ensemble de gènes ou un chromosome entier (élément du noyau cellulaire portant les gènes).

Il existe deux sortes de lésions induites :

3.1.1. Les mutations germinales

Endommagent l'ADN du spermatozoïde ou de l'ovule. Ces mutations sont transmises aux générations futures et peuvent être létales pour l'embryon ou le fœtus ; elles sont mises en évidence sur les cellules germinales par des tests réalisés *in vivo* (léthalité dominante, mutation d'un locus spécifique, translocation héréditaire, anomalies chromosomiques, échanges de chromatides sœurs, synthèse non programmée de l'ADN, ou liaison covalente à l'ADN).

3.1.2. Les mutations somatiques

Lèsent l'ADN de toutes les autres cellules, ne sont pas héréditaires ; elles entraînent la mortalité cellulaire, la transmission de la mutation aux cellules du même tissu ou même la cancérogenèse.

Les tests sont nombreux, *in vitro* sur bactéries (test d'Ames) ou cellules en culture (mutagenèse ou cytogénétique) et *in vivo* sur la moelle osseuse (micronoyau, aberrations chromosomiques, échanges de chromatides sœurs), tests d'effet sur l'ADN (synthèse non programmée, liaison covalente, défauts), le sang périphérique (micronoyau, aberrations chromosomiques) ou essai de taches colorées sur le pelage de souris (spot-test).

a. Evaluation *in vitro*

Le test d'Ames (1975) est le test de génotoxicité le plus répandu. On y utilise des souches de bactéries (*Salmonella typhimurium*) qui ont perdu par mutation la faculté de synthétiser un acide aminé, l'histidine ; on cultive ces bactéries sur des milieux sans histidine, en présence de la substance à tester (native ou traitée avec des enzymes hépatiques). Si la substance n'est pas mutagène, le développement des bactéries n'a pas lieu ; dans le cas contraire, la substance provoque une mutation "réverse", qui redonne aux bactéries la faculté de synthétiser l'histidine et donc de se développer (Figure 4).

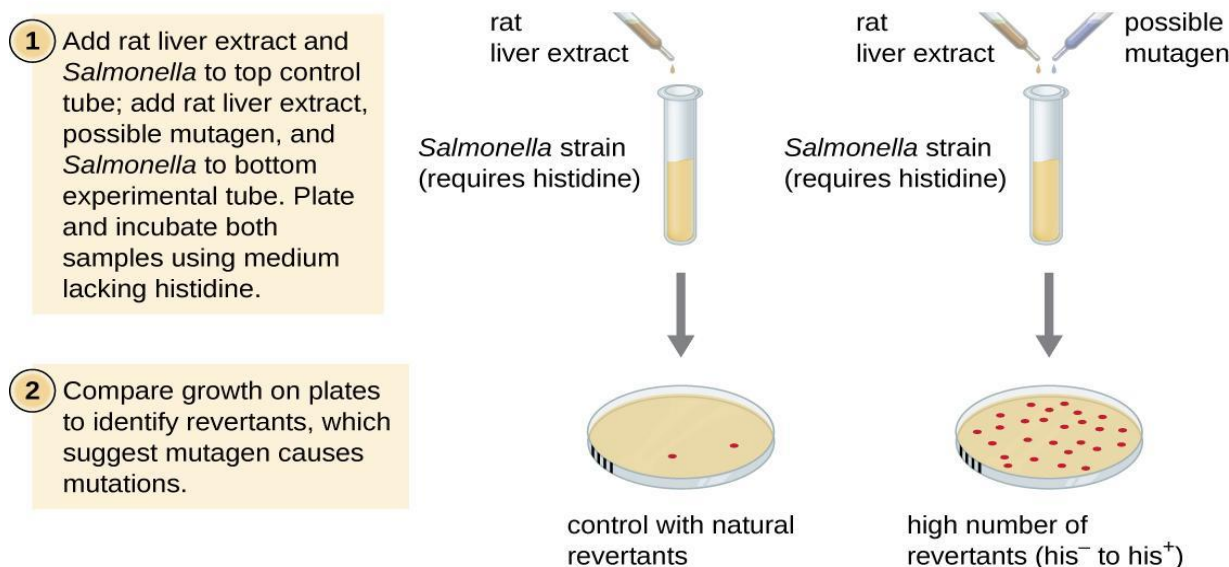


Figure 4. Protocole du test d'Ames (Ames et *al.*, 1975)

b. Evaluation *in vivo*

L'essai des taches colorées sur le pelage de souris (spot test) est un test de mutagénicité *in vivo* utilisé pour détecter les mutations somatiques induites par des substances chimiques. Il consiste à traiter des souris gestantes portant des embryons hétérozygotes pour un locus spécifique contrôlant la couleur de la fourrure. Si la substance testée provoque des mutations au cours du développement embryonnaire, des clones de cellules mutées apparaissent et se manifestent après la naissance sous forme de taches colorées distinctes sur le pelage des souriceaux. La présence et la fréquence de ces taches constituent ainsi un indicateur de l'activité mutagène de la substance étudiée.

Remarque : Les résultats positifs dans les essais de génotoxicité sont généralement considérés comme une alerte pour une éventuelle activité.

3.2. Tests et études de cancérogenèse

La cancérogenèse est un processus complexe multi-étapes de croissance et de différenciation anormale qui peut conduire au cancer. Il existe au moins deux étapes : l'initiation où la cellule normale subit des modifications irréversibles et la promotion pendant laquelle les cellules initiées sont stimulées dans leur progression vers le cancer. Le Tableau 11 présentent les principaux tests et études de cancérogenèse.

Une substance chimique peut être initiatrice (action directe sur l'ADN) ou promotrice (sans action directe sur l'ADN) ou les deux à la fois. Le résultat est une croissance tumorale (ou néoplasme) bénigne ou maligne.

L'étude du métabolisme de la substance peut mettre en évidence la formation d'un métabolite réactif capable d'interagir avec l'ADN. Cet effet est mis en évidence par une mesure des adduits

formés (substance ou partie de substance liée de façon covalente aux macromolécules biologiques).

Les espèces préférées pour les tests de cancérogenèse sont le rat et la souris, l'étude doit en général couvrir la majeure partie de la durée de vie normale des animaux d'expérience, soit 24 mois environ. Les résultats sont évalués au moyen d'une méthode statistique appropriée.

Tableau 11. Principaux tests et études de cancérogenèse (Kumar et *al.*, 2020)

Catégorie	Test / Étude	Objectif	Modèle / système	Durée
Études <i>in vivo</i> (long terme)	Bioessai de cancérogénicité	Détecter le potentiel cancérogène d'une substance	Rat et souris (2 espèces)	18–24 mois
	Étude chronique de cancérogenèse	Évaluer apparition de tumeurs après exposition prolongée	Rongeurs	Jusqu'à 2 ans
	Étude combinée toxicité chronique/cancérogenèse	Toxicité générale + potentiel cancérogène	Rat/souris	12–24 mois
Études de promotion tumorale	Modèle en deux étapes (initiation/promotion)	Étudier le développement tumoral progressif	Souris (souvent peau)	Variable
	Modèle DMBA/TPA	Étude de promotion tumorale cutanée	Souris	Semaines à mois
Tests de génotoxicité (<i>in vitro/in vivo</i>)	Test d'Ames	Détection des mutations géniques	<i>Salmonella typhimurium</i>	Court terme
	Test du micronoyau	Détection d'aberrations chromosomiques	Cellules mammifères / rongeurs	Court terme
	Test d'aberrations chromosomiques	Analyse des dommages chromosomiques	Cellules <i>in vitro</i>	Court terme
	Comet assay	Détection des cassures ADN	Cellules isolées	Court terme
Études mécanistiques	Transformation cellulaire	Étude de la transformation cancéreuse	Cellules <i>in vitro</i>	Variable

3.3. Tests et études des effets sur la reproduction

La toxicité pour la reproduction comprend l'altération des fonctions ou de la capacité de reproduction chez le mâle ou la femelle et l'induction d'effets néfastes non héréditaires sur la descendance. Elle peut être subdivisée en deux rubriques principales :

3.3.1. Effets sur la fertilité

Cette catégorie comprend les effets néfastes sur la libido, le comportement sexuel, les différents aspects de la spermatogenèse ou de l'oogenèse ou sur l'activité hormonale ou la réponse physiologique qui perturberaient la capacité de fécondation, la fécondation elle-même ou le développement de l'ovule fécondé jusqu'à et y compris l'implantation.

3.3.2. Toxicité pour le développement

Comprend les effets toxiques sur l'embryon (embryotoxicité) et le fœtus (fœtotoxicité) tels que l'avortement, la mort, la réduction du poids corporel, le retard de croissance et de développement, la toxicité pour les organes, les anomalies structurelles (effets tératogènes), les anomalies fonctionnelles, les anomalies péri- ou postnatales ainsi que l'altération du développement mental ou physique après la naissance.

Plusieurs tests sont utilisés pour évaluer le risque :

- a. **Index de gestation** : pourcentage de gestations aboutissant à la mise basse d'animaux en vie
- b. **Index de viabilité** : pourcentage de nouveau-nés qui survivent au moins 4 jours ;
- c. **Index de lactation** : pourcentage des animaux en vie à 4 jours qui sont encore en vie au moment du sevrage, à 21 jours.

Chapitre II : Tests de cytotoxicité

Plusieurs tests sont utilisés pour la mise en évidence de la mort cellulaire :

Test de Bleu de Trypan

Test de Rouge Neutre

Test MTT

Dosage d'ATP

Test Lactate Deshydrogénase

1. Test de Bleu de Trypan

Ce colorant d'exclusion pénètre dans toutes les cellules mais seules les cellules mortes le retiennent et se colorent en bleu, les cellules vivantes apparaissent brillantes (Figure 5).

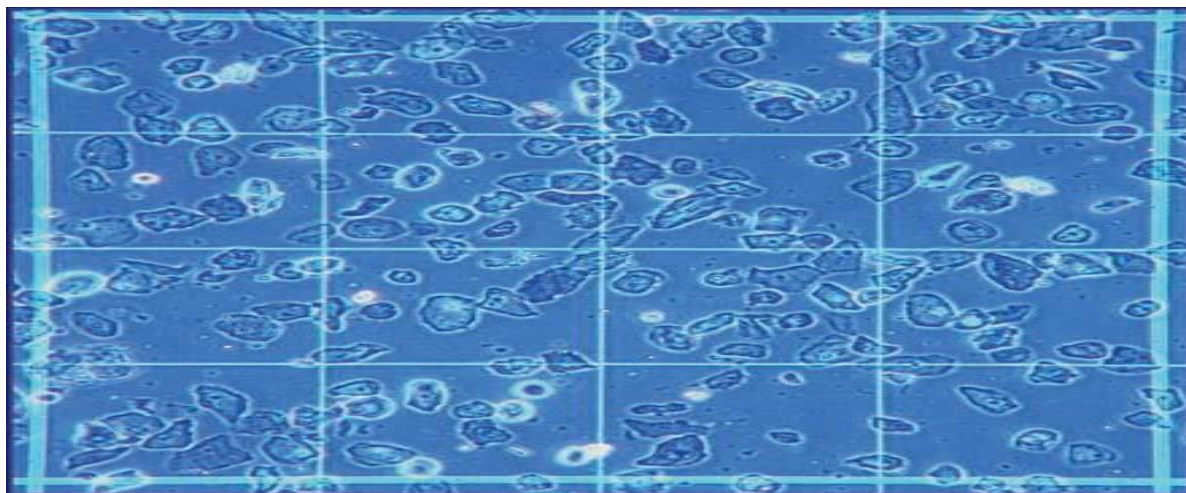


Figure 5. Observation microscopique des cellules traitées par le bleu de Trypan (Garnier, 2016)

2. Test de Rouge Neutre

Colorant vital rouge neutre s'accumule au niveau des lysosomes. Les cellules mortes ne retiennent pas le colorant et ne seront pas colorées (Figure 6).



Figure 6. Réalisation du test de rouge neutre (Borenfreund et Puerner, 1985).

3. Test de MTT

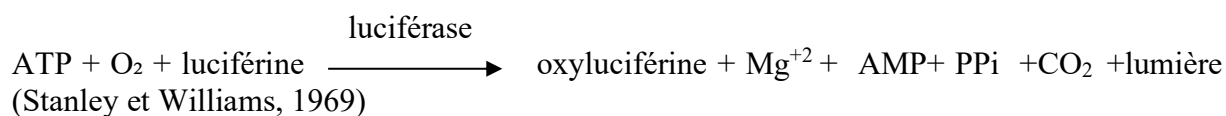
Test basé sur la mesure l'activité d'une enzyme mitochondriale, la succinate déshydrogénase. Dans les cellules vivantes, la succinate déshydrogénase transforme le succinate en fumarate. Cette réaction d'oxydation peut être couplée à une réduction du MTT (jaune) en formazan (bleu-violet) dont la couleur est appréciée par spectrophotométrie à 560 nm.

L'intensité de la couleur est proportionnelle à l'activité de la succinate déshydrogénase, elle-même proportionnelle à la viabilité cellulaire

4. Test ATP

Ce test est basé sur le dosage de la quantité d'ATP des cellules qui est proportionnelle au nombre des cellules vivantes. Les cellules traitées et lysées sont incubées en présence de

luciférase et luciférine. La mono-oxydation de cette dernière par la luciférase, en présence d'ATP et d'oxygène moléculaire produit un signal lumineux proportionnel à la quantité d'ATP présentes dans les lysats cellulaires selon l'équation ci-dessous :



5. Test de Lactate Deshydrogénase

La LDH est une enzyme cytosolique catalysant en présence de NADH, la réduction de l'acide pyruvique en acide lactique. Lors d'une atteinte membranaire, l'enzyme est relarguée dans le milieu extracellulaire (Figure 7).

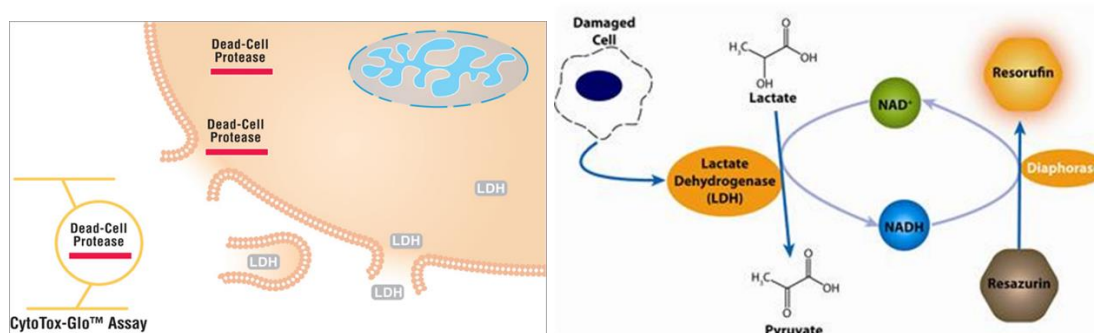


Figure 7. Mise en évidence de la cytotoxicité par le test de Lactate déshydrogénase (Kumar et al., 2018)

La comparaison de l'activité de cette enzyme dans le milieu extracellulaire par rapport à celle mesurée dans le compartiment intracellulaire, reflète le degré de cytolyse d'une culture cellulaire.

Chapitre III : Techniques d'évaluations pharmacologiques

1. Test d'innocuité ou recherche d'une toxicité anormale

Le test d'innocuité, également appelé test de toxicité anormale, est un essai biologique destiné à vérifier qu'un produit pharmaceutique, biologique ou vétérinaire ne provoque pas d'effets toxiques inattendus après son administration à des animaux de laboratoire. Son objectif est de détecter la présence éventuelle de contaminants, d'impuretés, de substances toxiques ou d'anomalies de fabrication qui pourraient entraîner des réactions nocives non prévues chez l'organisme receveur.

Ce test est très utilisé en industrie pharmacologique, cosmétologique et agroalimentaire.

Lors de ce test, le produit est administré à des animaux (généralement des souris et/ou des cobayes), qui sont ensuite observés pendant une période déterminée afin de détecter (Tableau 12):

- la mortalité ;
- les signes cliniques de toxicité ;
- les modifications du comportement ;
- les variations de poids ou de l'état général.

Protocol

- En une dose unique
- Une dose égale à la DMT
- Voie d'administration est celle réellement employée chez l'homme
- Observation des animaux durant toute la période du test
- Les paramètres évalués sont présentés dans le tableau suivant

Tableau 12 : paramètres évalués du test d'innocuité (Lu, 1992)

Organe à exploiter	Fonction explorée	Signes observés
Système nerveux	Comportement Mouvement Sécrétion	Changement d'attitude Tremblement, paralysies Salivation
Système respiratoire	Respiration	Polypnée, bradypnée, dyspnée
Cœur	Fréquence cardiaque	Tachycardie, bradycardie
Tube digestif	Transit intestinal	Vomissement, diarrhées, constipation, ulcère, couleur des selles
Rein	Diurèse	Volume d'urine/24 h Chimie des urines (pH, présence ou non du sang, des protéines...)
Peau	Pelage	Changement de couleur, alopécie

2. Recherche des pyrogènes

Les pyrogènes (soit « pyro » : température élevée et « gène » qui produit) désignent un groupe de substance, comprenant les toxines, engendrant une élévation de la température corporelle de l'homme et de l'animal (fièvre). La plupart des pyrogènes sont des LPS (membrane externe des bactéries Gram +).

Deux tests sont utilisés pour l'évaluation des pyrogène :

2.1. Test *in vivo*

- On administre par voie intraveineuse au niveau de la veine marginale de l'œil du lapin 5mg/kg de la substance à tester. La température rectale de l'animal est mesurée avant et après 30 mn de l'administration.
- On utilise trois lots, chaque lot renferme trois lapins
- On calcule la moyenne et l'écart type, si l'écart type dépasse 1,45°C le test est positif et la molécule est dite pyrogène (sachant que la température du lapin = 38°C).

2.2. Test *in vitro*

Il faut signaler ici le test de LAL (Lysat d'Amoebocytes du Limulus), deux gouttes du réactif LAL sont ajoutées à deux gouttes de la solution à tester, s'il y aura une précipitation, le test est positif.

Chapitre VI : Toxicologie des organes et procédures d'évaluation

VI.1. Toxicologie de l'appareil respiratoire

1. Toxiques respiratoires

Les toxiques peuvent être :

Inhalés (polluants gazeux ou particuliers de nature chimique ou biologique) ;

Présenter une toxicité pour le poumon et une toxicité systémique (exemple: CO) ;

Toxiques systémiques (médicaments, pesticides, toxines, additifs alimentaires) pouvant présenter une toxicité pulmonaire.

2. Effets toxiques

2.1. Toxicité aiguë

2.1.1. Syndromes irritatifs

Localisation : voies respiratoires supérieures (surtout bronches)

Symptômes respiratoires : toux, dyspnée, spasme bronchique, hypersécrétion de mucus, inflammation des muqueuses et éventuellement œdèmes.

Symptômes associés : irritation par brûlures d'autres muqueuses (conjonctive de l'œil) ou brûlures cutanées par exposition aux vapeurs ou projection de liquide.

Etiologie : gaz très hydrosolubles et/ou réactifs comme SO₂, HCl, NH₃, formaldéhyde, isocyanates. En milieu professionnel, la toxicité aiguë par les gaz apparaît au maximum dans les 4 heures, parfois dans les minutes qui suivent l'exposition.

Evolution possible aux syndromes irritatifs : le gaz peut diffuser jusqu'aux alvéoles. Une exposition forte peut entraîner un risque d'œdème pulmonaire aigu ou de forts syndromes irritatifs nécessitant une surveillance du sujet.

2.1.2. Œdème pulmonaire aigu

Généralement provoqué par les gaz toxiques comme l’ozone et les oxydes d’azote.

Localisation : alvéoles

Physiopathologie : Accumulation de liquide plasmatique dans l’interstitium pulmonaire et les alvéoles.

Mécanismes : Destruction de l’épithélium alvéolaire, fin et fragile, donnant des œdèmes lésionnels, lésion des cellules de la paroi alvéolaire (pneumocytes I, cellules endothéliales).

2.1.3. Fièvres transitoires ou fièvre d’inhalation ou fièvre des métaux

Causées par inhalation de fumées d’oxydes métalliques (Zn, Cu, Al...), se manifestent par irritation des voies aériennes supérieures, toux, gêne respiratoire syndrome pseudo grippal, avec une forte fièvre ($>40^{\circ}\text{C}$).

2.1.4. Syndrome de Détresse Respiratoire Aigu:SDRA

Survient dans les 24h suivant une inhalation aiguë d’un irritant persistance plusieurs mois, voire plusieurs années (disparition spontanée).

Les symptômes à type d’asthme : toux, dyspnée, syndrome obstructif, hyperréactivité bronchique.

2.2. Effets toxiques chroniques

2.2.1. Asthme

Localisation : voies aériennes supérieures (bronches)

Physiopathologie : obstruction bronchique (lié à un rétrécissement du diamètre des bronches), Hyperréactivité et inflammation bronchique, hypersécrétion de mucus.

Etiologie : allergènes protéiques (pollens, acariens, animaux), substances chimiques (isocyanates (polymère pour matière plastique), formaldéhyde), médicaments (acide acétylsalicylique).

2.2.2. Fibrose et emphysème

La fibrose pulmonaire est une maladie grave et débilitante, elle peut être causée par les formes cristallines de la silice comme dioxyde de silice et le quartz (silicose).

Ces toxiques provoquent la rupture de la membrane des lysosomes dans un macrophage, les enzymes lysosomaux libérés digèrent le macrophage, la silice est libérée et le processus recommence.

Une autre cause majeure de la fibrose pulmonaire est l’amiante (divers silicates hydratés de calcium, magnésium), ces formes sont la cause principale de carcinomes bronchiques et mésothéliomes.

Autres substances fibrogènes : charbon, l’aluminium, le béryllium.

L'emphysème est une maladie affaiblissante provoquée notamment par la fumée de cigarette, il s'agit d'une altération des fibres élastiques entourant et maintenant les alvéoles et les bronches pulmonaires.

2.2.3. Cancer du poumon

La fumée de cigarette contient de nombreux produits cancérigènes (en particulier hydrocarbures polycycliques aromatiques, monoxyde de carbone, benzène, nicotine, acroléine, certains pesticides, cadmium, et, dans une moindre mesure, plomb et autres métaux toxiques), de même, le cancer du poumon augmente considérablement chez les travailleurs de l'amiante et chez les sujets exposés au nickel, chromate et uranium.

3. Procédure d'évaluation

3.1. Animaux

Les animaux les plus utilisés sont les rats, les chiens et les singes, quelquefois les souris, les hamsters, les cobayes, les lapins, les porcs et les ânes.

3.2. La dose

La quantité retenue par l'animal dépend de la concentration (c) dans l'air et de la durée d'exposition (t) : $c \times t$.

Pour les études de la toxicité aiguë : trois doses à utiliser : une est prévue pour causer 50% des animaux, une pour causer la mort plus de 50% mais inférieure à 90%, et la troisième pour causer entre 10 et 50%.

Pour les études à longue durée au moins trois concentrations, la plus forte provoque quelques effets toxiques et les plus faibles aucun effet toxique.

3.3. Examen

3.3.1. Examens généraux

Pour l'évaluation de la toxicité pulmonaire, les examens généraux comprennent l'observation de l'état clinique des animaux, le suivi du poids corporel, de la consommation alimentaire et de la consommation d'eau. Lors de l'autopsie, le poids des organes, notamment celui des poumons, est mesuré afin de détecter d'éventuelles modifications liées à l'exposition au toxique. Ces paramètres permettent d'apprécier l'état général de l'organisme et de mettre en évidence des effets toxiques pouvant affecter directement ou indirectement la fonction pulmonaire.

3.3.2. Fonctions respiratoires

La fréquence respiratoire : l'ozone et le dioxyde d'azote augmentent la fréquence, tandis que le dioxyde de soufre et le formol la diminuent.

La mécanique respiratoire : difficultés respiratoires, augmentation de la sécrétion de la muqueuse respiratoire, œdème de la muqueuse respiratoire.

L'efficacité respiratoire : peut être estimée en mesurant le taux d'O₂ et de CO₂ dans le sang ou le taux de fixation sanguine de CO.

3.3.3. Changements morphologiques et biochimiques

Irritations locales, lésions cellulaires, œdèmes, fibrose, néoplasmes, inflammation hyperplasie et emphysème, ainsi que la mise en évidence de certains constituants non cellulaires comme les enzymes et le collagène.

3.4. Evaluation

3.4.1. Test *in vivo*

Dans les études de toxicité pulmonaire aiguë, la CL₅₀ (Concentration Létale 50) est un paramètre essentiel permettant d'évaluer la toxicité d'une substance administrée par inhalation. Elle correspond à la concentration du produit dans l'air capable d'entraîner la mort de 50 % des animaux exposés pendant une durée déterminée. La détermination de la CL₅₀ permet de comparer la toxicité aiguë de différentes substances et de les classer selon leur niveau de danger. Plus la valeur de la CL₅₀ est faible, plus la substance est considérée comme toxique. Cette mesure constitue un indicateur important dans l'évaluation du risque associé aux produits chimiques susceptibles d'être inhalés.

3.4.2. Test *in vitro*

Le test de poumon perfusé : les poumons isolés de lapin ou de rat sont perfusés à pression constante avec du sang hépariné et ventilé par une pression positive dans la trachée ou par une dépression extérieure. Un flux sanguin constant peut être maintenu pendant plusieurs heures. Le système est particulièrement utile pour déterminer les fonctions non respiratoires du poumon.

Explants trachées et cultures de tissu pulmonaire : les effets des gaz toxiques et des vapeurs peuvent être caractérisés sur des trachées isolées d'animaux (rats) exposés aux toxiques : incubés dans un milieu de culture cellulaire, la trachée continuera à sécréter des mucoglycoprotéines le taux de cette sécrétion augmente au cas d'exposition à l'ozone 0,8 ppm.

Cellules isolées : culture cellulaire de divers types de cellules du système respiratoire comme les cellules épithéliales et les cellules endothéliales pour l'étude des fibrose et silicose chronique.

VI.2. Toxicologie de foie (hépatotoxicité)

Le foie est le plus grand organe interne et le principal centre de métabolisme de l'organisme. Il intervient dans la transformation des nutriments, des médicaments et des substances toxiques,

ainsi que dans leur élimination. En raison de ce rôle, il est particulièrement exposé aux effets nocifs de nombreux composés chimiques.

La toxicologie hépatique est complexe car les atteintes du foie sont variées et peuvent résulter de différents mécanismes. Les substances toxiques peuvent endommager plusieurs organites des cellules hépatiques, notamment les mitochondries, le réticulum endoplasmique et les lysosomes, ou provoquer un stress oxydatif (Tableau 13).

Ces altérations cellulaires peuvent conduire à différents effets toxiques tels que la nécrose hépatocytaire, l'apoptose (mort cellulaire programmée), l'accumulation anormale de lipides dans les cellules (stéatose), la cholestase ou encore l'apparition de réactions inflammatoires. Lorsque l'exposition toxique est prolongée, les lésions peuvent évoluer vers une fibrose puis une cirrhose, compromettant progressivement les fonctions hépatiques.

Ainsi, le foie est à la fois un organe de protection contre les substances toxiques et une cible privilégiée de leur action, ce qui explique l'importance de son étude en toxicologie.

Tableau 13. Effet des toxiques sur les organites subcellulaires des hépatocytes (Le Daré et *al.*, 2021)

Organite	Fonction	Effet	Exemples de toxiques
Membrane plasmique	Absorption, sécrétion	Fuite d'enzymes intracellulaires	Phalloïdine
Noyau	Contrôle de fonctionnement cellulaire	Mutation, néoplasme	Aflatoxine, béryllium, diméthyl-nitrosamine
Mitochondrie	Respiration cellulaire	Gonflement	Tétrachlorure de carbone, diméthyl-nitrosamine, éthionine, phosphore
Lysosomes	Autophagie, stockage	Accumulation	Béryllium, tétrachlorure de carbone, éthionine, phosphore
Peroxisomes	Oxydation	Prolifération	Clofibrate, trichloroéthylène, régime alimentaire riche en graisses
Réticulum endoplasmique	Synthèse des protéines, métabolisme des toxiques	Dé granulation, prolifération	
Canalicules biliaires	Sécrétion biliaire	Dilatation	

1. Effets toxiques

1.1. Atteintes aiguës

1.1.1. Surcharge graisseuse : surtout stéatose

À l'intérieur des hépatocytes s'effectue par l'accumulation de lipides (Figure 8).

-foie normal : 5% de lipides

-forme sévère : jusqu'à 50% de graisses → foie gras, soyeux, pâle sous forme de vacuoles de lipides dans hépatocytes.

L'accumulation des lipides dans le foie bloque la libération des triglycérides dans le plasma.

L'accumulation des lipides hépatiques peut être la conséquence de plusieurs mécanismes :

- Inhibition de la synthèse de la moitié protéique des lipoprotéines (tétrachlorure de carbone ou de l'éthionine)
- Conjugaison diminuée des triglycérides avec les lipoprotéines (tétrachlorure de carbone)
- Perte de potassium par les hépatocytes, interférence avec le transport des lipoprotéines (éthionine)
- Diminution de l'oxydation des lipides par les mitochondries (éthanol)
- Inhibition de la synthèse des phospholipides (déficience en choline ou en acide orotique)

Il existe 2 types de stéatoses :

Micro vésiculaire : petites et nombreuses, Ex : éthanol

Macro vésiculaire : volumineuse, noyau déporté, Ex: hydrocarbures halogénés, éthanol, paracétamol...



Figure 8. Stéatose hépatique (<https://www.gastroenterologue-lyon.fr/steatose-hepatique/>)

1.1.2. Nécrose hépatique = cytolyse hépatique = hépatite

Implique la mort des hépatocytes suite à la rupture de la membrane plasmique (Figure 9, 10), elle peut être locale (centrolobulaire, médiane ou périphérique) ou généraliste.

Ex : tétrachlorure de carbone, chloroforme, tétrabromure de carbone, phosphore

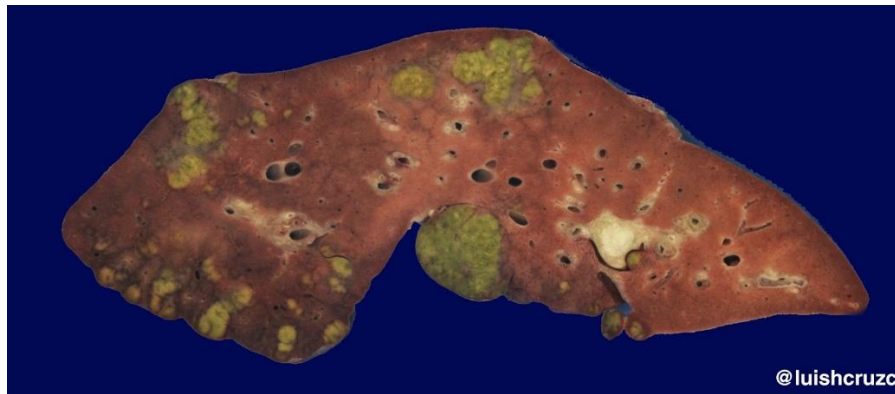


Figure 9. Foie subit une nécrose (<https://patologiacc.blogspot.com/2015/06/necrosis-hepatica-submasiva-submassive.html>)

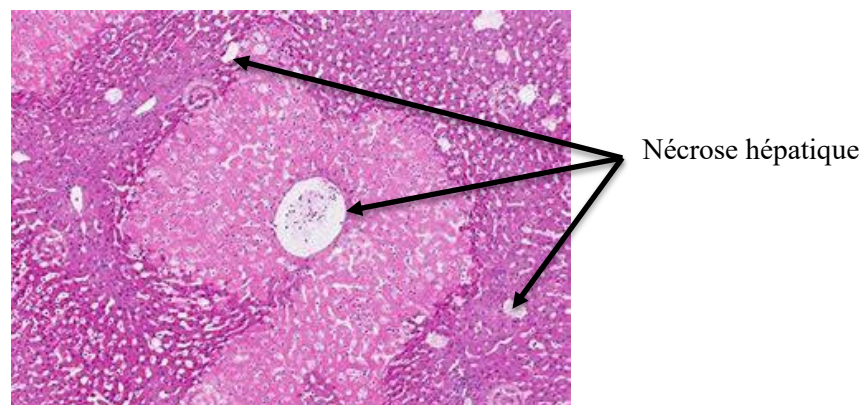


Figure 10. Nécrose hépatique sous microscope (<https://fr.dreamstime.com/photos-libres-droits-n%C3%A9crose-h%C3%A9patique-mort-cellulaire-foie-image29351938>)

1.1.3. Cholestase

C'est une lésion hépatique généralement aiguë, moins fréquente que la stéatose et la nécrose, le plus souvent se traduit par arrêt de l'écoulement biliaire (Figure 11). L'examen microscopique d'une cholestase est présenté dans la Figure 12. La chlorpromazine, les contraceptifs oraux, les stéroïdes anabolisants, et la phalloïdine sont les exemples les plus impliqués dans la formation des cholestases.

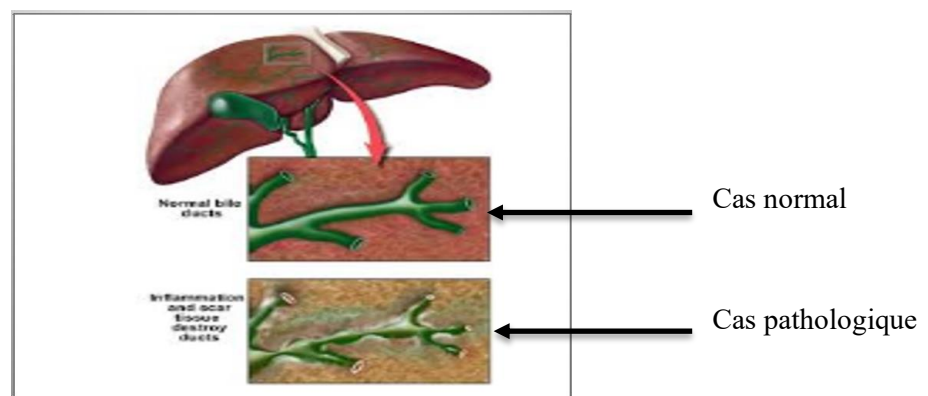


Figure 11. Aspect d'une cholestase (Lindor et *al.*, 2019)

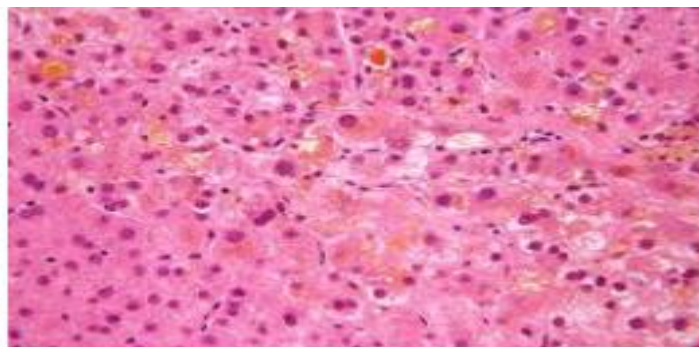


Figure 12. Observation microscopique d'un tissu hépatique présentant une cholestase

(<https://www.pinterest.com/pin/631348441486497982/>)

1.2. Atteintes chroniques

Les atteintes aiguës peuvent évoluer en atteintes chroniques :

1.2.1. Fibrose

La fibrose hépatique est une lésion chronique du foie caractérisée par une accumulation excessive de tissu fibreux riche en collagène. Elle survient généralement à la suite de lésions répétées des hépatocytes provoquées par des agents toxiques, des infections ou des maladies chroniques du foie.

Lors de la destruction des hépatocytes, des foyers de nécrose apparaissent. Au cours du processus de réparation, les cellules étoilées hépatiques sont activées et se transforment en cellules productrices de collagène. Il en résulte une fibrose cicatricielle, caractérisée par le remplacement progressif du tissu hépatique normal par du tissu conjonctif fibreux. Cette accumulation de collagène perturbe l'architecture du foie, altère la circulation sanguine intra-hépatique et diminue progressivement les fonctions hépatiques. En l'absence de traitement, la fibrose peut évoluer vers une cirrhose, stade avancé et souvent irréversible de l'atteinte hépatique.

1.2.2. Cirrhose

C'est une fibrose qui s'étend sur plusieurs lobules en provoquant le développement de cicatrices et par conséquent la transformation de l'architecture du foie, elle résulte d'infiltrations de collagène dans la masse hépatique en provoquant des amas sous forme de nodules (Figure 13). Proviennent dans la plupart des cas à partir des nécroses, Ces problèmes entraînent une obstruction de la circulation sanguine dans le foie et préviennent le déroulement normal des fonctions de métabolisme et de régulation de l'organe.



Figure 13. Aspect d'une cirrhose hépatique (<https://effetsante.com/cirrhose-hepatique-remedes-maison/>)

Les toxiques les plus intervenant sont : chez les animaux CCl_4 , chez les humains les boissons alcoolisées.

Les infections virales causées par les virus de l'hépatite chronique (types B, C et D) peuvent être aussi la cause des cirrhoses.

Selon la complication la cirrhose peut être :

Cirrhose lobulaire : à ce stade, nombreux hépatocytes meurent, le foie peut se régénérer dont de nodules de génération se forment.

Cirrhose de Laennec : formation des nécroses au niveau des nodules de régénération, ce qui provoque la formation d'un foie atrophique avec des granulations roussâtres, c'est un stade mortel.

1.2.3. Tumeur

Le cancer de foie dépend de l'origine de la lésion (Figure 14)



Figure 14. Cancer du foie (<https://fr.slideshare.net/happppppy/hepatomegalies>)

L'hépatocarcinome : le plus dominant, dont 5 à 15% des cirrhoses dégénèrent en hépatocarcinome il s'agit d'une atteinte des hépatocytes

Les toxiques en cause : aflatoxine, androgènes, anabolisants

Angiosarcome : cancer des cellules endothéliales qui vascularisent le foie, 2 grands toxiques sont impliqués : chlorure de vinyle et Ag.

Adénome hépato-cellulaire : 90% du au contraceptif oraux.

2. Procédures d'évaluation

2.1 Animaux

Les animaux les plus fréquemment utilisés sont les rats et les souris, les chiens sont quelquefois utilisés à cause de leur sensibilité plus grande à de nombreux toxiques.

2.2. Voie d'administration

Le produit chimique à tester devrait être administré par la même voie que l'exposition humaine.

2.3. Examens

2.3.1. Examens macroscopiques

La couleur et l'aspect peuvent indiquer la nature de la toxicité (stéatose ou cirrhose), un foie atrophique granulations roussâtres par exemple indique la cirrhose de Laennec.

Formation des graisses en cas de stéatose.

2.3.2. Examens microscopiques

Pour la mise en évidence de nombreuses anomalies histologiques : changement de la teneur lipidique, nécroses, cirrhoses, nodules et néoplasmes.

La microscopie électronique peut détecter les modifications de diverses structures subcellulaires, et donc déterminer le mode d'action des toxiques.

2.3.3. Tests biochimiques

a. Recherches d'enzymes sériques

Nécrose aigue : transaminase, ornithine carbamoyl transférase, sorbitol déshydrogénase, lactate déshydrogénase, fructose monophosphate aldolase, arginase

Cholestase : phosphatase alcaline, leucine peptidase

b. Recherche d'autres paramètres

Stéatose : constituants lipidiques

Cholestase : augmentation du taux de bilirubine sérique

Insuffisance hépatique : diminution du taux d'albumine sérique, taux de prothrombine.

2.3.4. Tests *in vitro*

a. Foie perfusé

Le foie de rat est isolé, est sert à étudier les effets de certains toxiques comme CCL₄ sur le transport et le métabolisme des triglycérides, ou mécanisme de transport de cadmium vers la bile.

b. Hépatocytes isolés

Les hépatocytes isolés de rat et de l'homme, en suspension ou en culture sont utiles pour déterminer la nature de divers effets toxiques :

Atteintes membranaires : observation par microscope électronique, ou test biochimiques tels que la fuite des enzymes cytoplasmiques, la capacité des cellules à capter les cofacteurs (NADPH par ex), les colorants (bleu trypan) et les substrats (succinate).

2.4. Evaluation**2.4.1. Nature de la toxicité**

- Mise en évidence des différentes lésions hépatiques, particulièrement les nécroses.
- Le taux de mortalité varie selon l'origine de l'hépatite, il est moins de 1% en cas d'une hépatite médicamenteuse, et de 10 à 50 en cas d'une hépatite virale.
- Variations du poids de foie qui augmente sous l'action de certains toxiques (phénobarbital par ex).

2.4.2. Evaluation quantitative

- Analyse statistique des données biochimiques.
- Etude des relations dose-réponse.

VI.3. Toxicologie de rein

L'insuffisance rénale peut se définir, simplement, par une altération de la fonction émonctoire du rein empêchant l'équilibre interne de l'organisme, soit par diminution du débit sanguin rénal, soit par atteinte du tissu rénal avec troubles de la filtration, soit encore par anomalie à l'excrétion de l'urine formée.

1. Les néphrotoxiques

Les principaux néphrotoxiques sont les métaux lourds, certains hydrocarbures et plusieurs classes des médicaments à savoir :

Analgésiques, antibiotiques (aminosides, b lactamines, céphalosporines, fluoroquinones, sulfamides, rifampicine et vancomycine), anticancéreux, antimycotiques, antiparasitaires, antirhumatismaux, antiviraux, immunosuppresseurs, médicaments du système digestif, médicaments de l'hémostase, médicaments du système endocrinien, médicaments du système nerveux.

2. Effets toxiques des néphrotoxiques**2.1. Insuffisance rénale légère**

L'insuffisance rénale est qualifiée de légère lorsque la clairance de la créatinine est comprise entre 60 et 89 ml/min/1,73 m².

2.2. Insuffisance rénale aiguë

L'insuffisance rénale aiguë (IRA) se définit comme une baisse importante et subite du débit de filtration glomérulaire, valeur qui permet d'évaluer le fonctionnement des reins.

Le débit de filtration est calculé à partir de la créatininémie, taux sanguin de créatinine, une protéine éliminée normalement par le rein. On parle d'insuffisance rénale aiguë lorsque ce débit diminue brutalement.

L'insuffisance rénale aiguë survient de manière brutale sur une durée de quelques heures à quelques jours.

Le rein ne peut plus éliminer les déchets métaboliques et n'arrive plus à maintenir un bon équilibre hydroélectrolytique, résultant de la bonne régulation de l'eau et des électrolytes. Une augmentation de plus de 50% de la créatininémie par rapport à la valeur normale est un signe biologique témoignant d'une insuffisance rénale aiguë.

2.3. Insuffisance rénale chronique

L'insuffisance rénale chronique (IRC) est la diminution progressive et non réversible des capacités des reins. Peu à peu, ceux-ci deviennent incapables d'éliminer les déchets et les excès d'eau présents dans le corps. L'insuffisance rénale chronique est évaluée en fonction de la mesure du débit de filtration glomérulaire qui reflète les capacités des reins.

On parle d'insuffisance rénale chronique lorsque ce débit calculé en fonction de plusieurs paramètres dont l'âge, et le sexe notamment, mais surtout de la créatininémie (taux de créatinine dans le sang, une protéine présente dans le sang et éliminée dans les urines) est inférieur à 60 millilitres par minute depuis plus de 3 mois.

Généralement, l'insuffisance rénale chronique est due à une pathologie rénale d'évolution chronique (néphropathie), un diabète ou une hypertension.

3. Procédures d'évaluation

Généralement, Les animaux utilisés pour étudier la néphrotoxicité sont les rats, les chiens et les lapins sont utilisés pour étudier la néphrotoxicité.

3.1. Examens sanguins

L'insuffisance rénale chronique peut être découverte par hasard, lors d'un dosage de créatinine effectué par exemple au cours d'un bilan systématique ou lors de la surveillance d'une maladie chronique comme le diabète ou l'hypertension artérielle.

3.1.1. Créatinémie

Lors d'une insuffisance rénale, la créatinine, normalement éliminée par les reins, s'accumule dans le sang en raison d'une moins bonne élimination, provoquant une augmentation de son taux sanguin. La créatinémie, dosage de la créatinine dans le sang, représente le moyen le plus

simple permettant d'évoquer ou d'évaluer le degré d'une insuffisance rénale (Taux de créatinine dans le sang, la créatinémie, est supérieure à 120 micromol/L (femme) ou 130 micromol/L (homme)).

3.1.2. Azotémie

L'azotémie ou dosage sanguin de l'urée dans le sang ne représente pas un bon indicateur du fonctionnement de la fonction rénale.

3.1.3. Natrémie

La natrémie ou dosage sanguin du sodium est normale ou diminué. Conformément aux indications marquées sur la feuille d'analyses médicales, les résultats doivent se situer entre 135 et 145 mEq/L pour le sodium, chez l'homme, la femme et l'enfant.

3.1.4. Chlorémie

La chlorémie ou dosage sanguin du chlore est normale ou diminuée. Conformément aux indications marquées sur la feuille d'analyses médicales, les résultats doivent se situer entre 95 et 105 mmol/L pour le chlore, chez l'homme, la femme et l'enfant.

3.1.5. Kaliémie

La kaliémie (dosage sanguin du potassium) peut être augmentée. Conformément aux indications marquées sur la feuille d'analyses médicales, les résultats doivent se situer entre 3,5 et 5 mmol/l, chez l'homme, la femme et l'enfant.

3.1.6. Calcémie

La calcémie (dosage sanguin du calcium) peut être diminuée. Conformément aux indications marquées sur la feuille d'analyses médicales, les résultats doivent se situer entre 90 à 100 mg/L pour le calcium, chez l'homme, la femme et l'enfant.

3.1.7. Phosphorémie

La phosphorémie (dosage sanguin du phosphore) peut être augmentée au cours du début de l'évolution de l'insuffisance rénale.

3.1.8. Numération formule sanguine

La numération formule sanguine permet de mettre en évidence la présence d'une anémie qui peut s'observer au cours d'une insuffisance rénale.

3.2. Examens urinaires

3.2.1. Protéinurie ou albuminurie

La présence de protéines dans les urines, protéinurie ou albuminurie, est une anomalie qui peut être un signe d'insuffisance rénale chronique. Les résultats de la protéinurie physiologique doivent être compris entre 50 et 100 mg/24 heures dont 20 à 55% d'albumine (environ 10 à 50 mg/24 h).

3.2.2. Urée urinaire

Le dosage de l'urée dans les urines des 24 heures permet de déterminer l'apport alimentaire en protéines.

3.2.3. Sodium urinaire

Le sodium urinaire permet d'évaluer la quantité de sel consommée.

3.2.4. Etude cytologique et bactériologique des urines (ECBU)

La présence de globules blancs en nombre élevé évoque une infection urinaire qui pourra nécessiter la prise d'antibiotiques. L'ECBU peut également mettre en évidence la présence de sang dans les urines, l'hématurie, nécessitant d'en rechercher l'origine.

3.2.5. Clairance de la créatinine

Le débit de filtration glomérulaire correspond à la mesure de la quantité de plasma sanguin filtré par minute par les reins permet d'évaluer le dysfonctionnement des reins. Le calcul du débit de la fonction glomérulaire, le DFG prend en compte le poids, l'âge et le sexe de la personne. La mesure de la clairance de la créatinine s'effectue à partir du dosage de la créatinine dans le sang et dans les urines de 24 heures.

3.2.6. Glycosurie

Le glucose présent dans le filtrat glomérulaire est totalement réabsorbé dans les tubules, la glycosurie, en absence d'hyperglycémie indique une déficience tubulaire.

3.2.7. Capacité d'acidification

Elle peut être évaluée par le pH de l'urine, la titration des acides et la teneur en ions NH_4^+ , cette capacité est réduite en cas de dysfonctionnement tubulaire distal.

3.2.8. Enzymes

La recherche d'enzyme urinaire est surtout utile dans le cas de néphrotoxicité aiguë. La présence d'enzymes comme la maltase ou la tréhalase peut indiquer la destruction des tubules proximaux. Le taux de lysozyme augmente dans l'urine en cas d'intoxication par le mercure et chrome.

3.3. Examens morphologiques

3.3.1. Examens macroscopiques

Le poids du rein absolu ou rapporté au poids du corps, est déterminé en routine à la fin des études de toxicité à court ou à long terme. Des modifications pondérales suggèrent souvent des lésions rénales.

3.3.2. Microscopie optique

Les examens histopathologiques peuvent révéler le site, l'étendue et l'apparence morphologiques des lésions.

3.3.3. Microscopie électronique

Cette technique utile pour évaluer les changements ultra structuraux.

Ex : l'exposition prolongée au méthylmercure augmente le volume des mitochondries et des lysosomes.

3.4. Etudes *in vitro*

3.4.1. Coupes épaisses

Les coupes épaisses de reins sont un bon modèle de l'étude de la fonction tubulaire.

Le toxique à tester doit être ajouté dans le milieu dans lequel les coupes sont incubées ou doit être administré à l'animal avant le prélèvement de rein.

3.4.2. Tubules rénaux perfusés

Diverses zones des tubules rénaux du lapin et d'autres espèces animales (souris, rat, hamster, serpent, poisson, grenouille, salamandre et homme) sont isolées et leurs capacités de transport étudiées.

VI.4. Toxicologie de la peau

1. Les effets toxiques

La plupart des toxiques de la peau agissent sur la peau elle-même, mais quelques-uns affectent des structures annexes comme les cheveux, les glandes sébacées ou les glandes sudoripares.

1.1. Irritation primaire

L'irritation est la réaction de la peau aux produits tels que les solvants, les bases fortes, les acides et les détergents. Cette réaction varie en gravité depuis de l'hyperhémie, de l'œdème et de la vésiculation jusqu'à corrosion.

L'irritation et la corrosion

L'irritation est une réaction réversible de la peau ou des muqueuses à des produits. Cette réaction peut varier en gravité selon les tissus affectés (Figure 15).

La corrosion consiste en des dommages irréversibles causés à des tissus par suite du contact avec un produit. On qualifie de corrosifs les produits qui peuvent causer la destruction des tissus vivants (Figure 8).

Le contact de l'acide fluorhydrique avec la peau peut causer une ulcération profonde, un blanchiment et une nécrose.

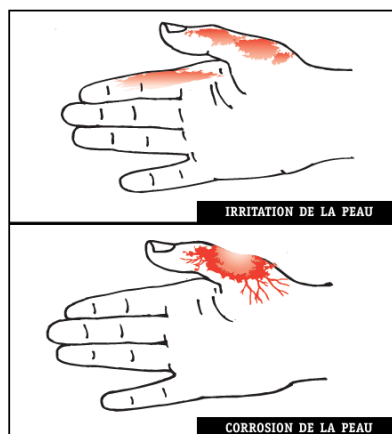


Figure 15. Irritation et corrosion de la peau (Lapointe, 2004)

1.2. Réaction de sensibilisation

La peau peut montrer peu ou pas de réaction à son premier contact avec un produit chimique, une réaction plus sévère se produira quelquefois, suite à une exposition ultérieure au produit. La période d'induction varie de quelques jours à plusieurs années.

L'exposition ultérieure produira des réactions après 12 à 24h suivantes (hypersensibilité retardée).

Le toxique absorbé par la peau se lie à la surface de certaines cellules' ensuite réagit avec les lymphocytes T4, au cours d'une autre réexposition au même toxique, les T4 sensibilisées secrètent des substances actives en déclenchant des phénomènes de congestions et d'œdèmes.

Exemples des produits en cause : néomycine (antibiotique), benzocaïne (anti histamine), merthiolate (antiseptique), éthylène diamine (stabilisant), contact avec certains végétaux, dérivés métalliques (Ni), des colorants, des cosmétiques et des produits industriels.

1.3. Photo toxicité et photo allergie

Le mécanisme de la photosensibilisation est soit toxique (phototoxicité) soit allergique (photoallergie). La photo toxicité correspond à une réaction inflammatoire aiguë ou retardée proche du coup de soleil. La photoallergie est une réaction immunologique d'hypersensibilité retardée à médiation cellulaire comme l'eczéma de contact allergique, mais nécessitant l'énergie photonique pour produire un photoantigène.

En plus des UV, les principales substances photosensibilisantes d'origine professionnelle sont

- les plantes, surtout la famille des Umbellifères (céleri...), Rutaceae (citrons),
- les goudrons et dérivés
- les médicaments : surtout les antibiotiques, les psychotropes, les antimétabolites.
- les écrans solaires conseillés chez le personnel travaillant en plein air
- les produits à usage vétérinaire

- les pesticides
- les produits antibactériens.

1.4. Urticaire

L'urticaire est une maladie de la peau qui se manifeste par des plaques rouges, souvent associées à des démangeaisons (Figure 16). En général, les crises sont brèves et isolées. Néanmoins, l'urticaire peut aussi s'établir de façon chronique. La réaction est provoquée par l'activation d'une cellule immunitaire : le mastocyte, et libération d'histamine et de bradykinine.

L'éruption touche généralement la surface de la peau, mais elle peut parfois s'étendre en profondeur ou gagner les *muqueuses*. On parle alors d'*œdème de Quincke* ou d'angio-œdème. Cette forme d'urticaire siège principalement sur le visage (paupières et lèvres). Elle peut se révéler dangereuse si elle atteint la gorge.

Exemples des substances en cause : Diméthylsulfoxyde (DMSO), acide nicotinique, ester tétra hydro furfurylique.



Figure 16. Exemples d'urticaire (Soria et Francès, 2014)

On distingue trois types d'urticaire :

L'urticaire aiguë : il n'y a qu'une seule poussée, qui dure quelques heures à quelques jours.

L'urticaire récidivante : les poussées d'urticaire changent fréquemment de localisation et ont

tendance à récidiver.

L'urticaire chronique : est définie par des poussées répétées, quasi-quotidiennes, sur une durée d'au moins six semaines. Ces manifestations peuvent être associées à des douleurs abdominales et articulaires, et à un peu de fièvre.

1.5. Cancer de peau

Le rayonnement UV est une cause importante de cancer de la peau, d'autres produits sont aussi en cause : les goudrons, les dérivés de la créosote, les huiles de schiste et les huiles de coupe.

1.6. Effets sur les autres structures épidermiques

Cheveux : Perte des cheveux sous l'action du traitement par divers agents antimétaboliques (chimiothérapie), anticoagulants, antithyroïdiens, forte consommation de la vitamine C.

Action sur les glandes sébacées par inhibition de la sécrétion des graisses (oestrogènes) ou activation (androgènes).

Glandes sudoripares : Obstruction des canaux sudoripares sous l'action de l'application de phénol et de chloroforme, nécrose des glandes sudoripares sous l'action des dépresseurs du SNV.

2. Procédure d'évaluation

L'animal de choix est le lapin albinos, mais le cobaye albinos, la souris blanche et d'autres espèces peuvent être utilisées.

2.1. Irritation primaire : application de la substance étudiée sur le dos rasé de l'animal, et observation des résultats (érythème et œdème) après 24h, 48h et 72h de l'expérience. La méthode est réalisée sur 3 lapins de souche néozélandaise, elle est inspirée du test de Draize standardisé dans les années 1944. Le calcul des scores obtenu est réalisé selon le tableau ci-dessous :

La somme et la moyenne des scores après 24 et 72h d'exposition permettent de déterminer le degré d'irritation primaire : index 2 indique que le produit est faiblement irritant, 4 moyennement irritant et 6 ou plus fortement irritant. Les détails de détermination des scores et calcul des indices d'irritation primaires sont indiqués respectivement dans les Tableaux 6 et 7.

2.2. Réaction de sensibilisation

La procédure s'effectue selon le test de Draize (1959)

10 injections intradermiques sont effectuées sur le flanc d'un cobaye et une dose d'épreuve sur l'autre flanc après un délai de 10 à 14 jours. Une réaction plus forte après la dose d'épreuve, en comparaison avec celle observée après la dose de sensibilisation est l'indice d'une sensibilisation.

2.3. Photo toxicité et photo allergie

2.3.1. Photo toxicité

Cette réaction est testée sur la souris, le lapin ou le cobaye

La substance à tester est administrée soit topiquement soit par voie systémique

La réaction de la peau à une lumière non érythrogène (longueur d'onde supérieur à 320nm).

Un érythème significatif par rapport aux témoins est une indication de photo toxicité.

2.3.2. Photo allergie

Les cobayes Albinos sont fréquemment utilisés,

Applications répétées de petites quantités de produit à tester sur une zone rasée de la peau, et exposition de cette zone à un rayonnement UV,

Après 3 semaines, les cobayes sont exposés au produit chimique et aux rayons UV pour induire la réaction de photo allergie.

2.4. Urticaire de contact

S'effectue par l'application de produit par « patch test » sur des malades supposés sensibles à ce produit, après 0,1 ml de sérum du patient est transféré par injection intradermique dans l'avant-bras d'un volontaire et testé après 24 h après l'injection.

2.5. Cancer cutané

La souris est l'animal de référence, les produits à tester sont appliqués topiquement sur une surface de peau rasée une fois chaque semaine pendant une période déterminée.

2.6. Autres tests

Chute des cheveux

Formation d'acné

3. Tests *in vitro*

Généralement utilisés pour réduire l'utilisation des animaux. Le test le plus utilisé est la détermination de l'absorption de rouge neutre par les kératinocytes humains isolée, les produits qui endommagent ces cellules réduisent l'absorption du colorant.

VI.5. Toxicologie de l'œil

1. Anatomie de l'œil

L'œil est l'organe de la vision. Il capte la lumière, la transforme en signaux nerveux et les transmet au cerveau par l'intermédiaire du nerf optique. Il est constitué de plusieurs structures anatomiques ayant chacune un rôle spécifique (Figure 17).

- **Cornée** : membrane transparente située à l'avant de l'œil. Elle assure une grande partie de la réfraction de la lumière et protège les structures internes.

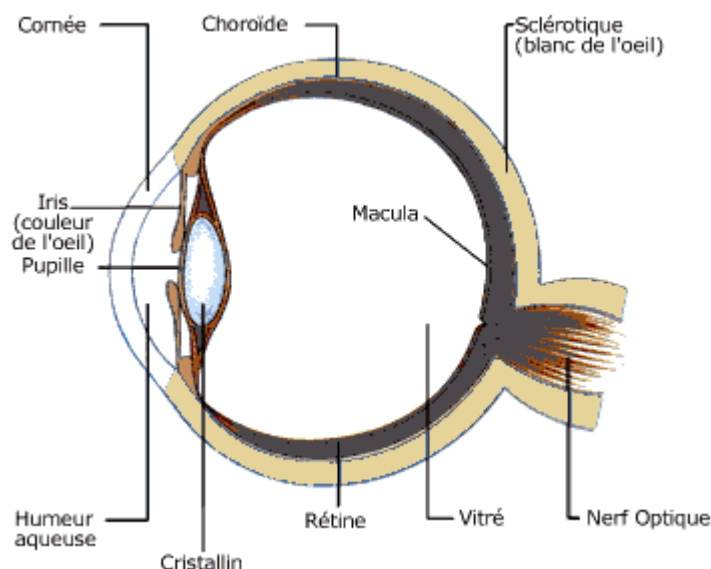


Figure 17. Structure de l'œil (Kenhub, 2025)

- **Iris** : partie colorée de l'œil. Il contrôle la quantité de lumière pénétrant dans l'œil en modifiant le diamètre de la pupille.
- **Pupille** : ouverture centrale de l'iris permettant le passage de la lumière.
- **Cristallin** : lentille biconvexe transparente située derrière l'iris. Il ajuste la mise au point des images sur la rétine grâce au mécanisme d'accommodation.
- **Humeur aqueuse** : liquide transparent remplissant la chambre antérieure de l'œil. Elle nourrit la cornée et le cristallin et contribue au maintien de la pression intraoculaire.
- **Corps vitré (humeur vitrée)** : substance gélatineuse occupant la majeure partie du globe oculaire et contribuant au maintien de sa forme.
- **Rétine** : membrane neurosensorielle tapissant la face interne de l'œil. Elle contient les photorécepteurs (cônes et bâtonnets) responsables de la transformation de la lumière en influx nerveux.
- **Macula** : région centrale de la rétine spécialisée dans la vision fine et la perception des détails.

- **Choroïde** : couche vascularisée située entre la rétine et la sclérotique. Elle assure l'apport en oxygène et en nutriments aux tissus oculaires.
- **Sclérotique** : enveloppe externe blanche et résistante de l'œil qui protège le globe oculaire et maintient sa forme.
- **Nerf optique** : faisceau de fibres nerveuses transmettant les informations visuelles de la rétine vers le cerveau.

2. Substances toxiques et site d'action

2.1. Action sur la cornée

La cornée, la plus externe de l'œil, est une structure fragile facilement altérable par les produits suivants :

Acides et bases : généralement les acides sont les plus irritants

Détergents : les formes ioniques sont plus toxiques que celles non ioniques

Solvants organiques : comme acétone, hexane et toluène, les solvants organiques dissolvent les lipides et endommagent les cellules épithéliales de la cornée.

Smog : mélange de fumé industriel et brouillard, actuellement le smog s'applique aux produits de réactions photochimiques, présents dans le gaz d'échappement des automobiles.

Autres produits chimiques : quinacrine, chloroquine, chloropromazine.

Les effets toxiques peuvent varier selon le type toxique de lésions minimales vers l'opacité et même la perforation de la cornée.

2.2. Action sur l'iris, humeur aqueuse et zonule ciliaire

Proche de la cornée, l'iris est sensible aux traumatismes physiques et chimiques.

Les effets de l'irritation chimique se traduisent par fuite des protéines sériques et de la fibrine des vaisseaux sanguins, des lésions sévères provoquent la libération de granules de mélanine à partir de l'épithélium postérieur de l'iris.

L'humeur aqueuse est sécrétée par l'épithélium de la zonule ciliaire, toute inflammation de l'iris peut bloquer le débit du fluide de l'humeur.

2.3. Action sur le cristallin

a. Les produits toxiques en cause

2,4-dinitrophénol, les corticostéroïdes, le triparanol et le thallium, de même une surconsommation de galactose.

b. L'effet toxique

La toxicité de ces produits se manifeste par la :

Formation de la cataracte, cette dernière peut être la cause de l'inhibition de la synthèse des protéines dans le cristallin.

Interférence de la pompe à Na^+ en augmentant les teneurs en Na^+ et en eau dans le cristallin (le cas de triparanol) .

Transparence et réfringence du cristallin (cas de diméthylsulfoxyde).

2.4. Action sur la rétine

a. Produits toxiques en cause

Certains composés polycycliques.

b. L'effet toxique

Inhibition du métabolisme protéique dans l'épithélium pigmentaire.

Formation des inclusions cytoplasmiques induisant une dégénérescence des cellules en bâtonnets.

Hémorragie par rupture des vaisseaux sanguins ou par perturbation des mécanismes de coagulation.

2.5. Action sur le nerf optique

La rétine contient des cellules nerveuses dont les axones forment le nerf optique.

a. Produits toxiques en cause

Disulfure de carbone, disulfirame, l'étahmbutol et le thallium, quinine, chloroquine, arsenic, monoxyde de carbone, méthyl mercure mais le plus important est le méthanol.

b. Effet toxique

Affection des corps cellulaires ou l'axone, les lésions de l'un provoquent la dégénérescence de l'autre.

Affection de la vision centrale (le cas de disulfure de carbone, disulfirame, l'étahmbutol et le thallium).

Affection des structures responsables de la vision périphérique (le cas de quinine, chloroquine, arsenic, monoxyde de carbone).

Rétrécissement du champ visuel (le cas de méthyl mercure).

Neuropathies périphériques et optiques (le cas de disulfure de carbone, disulfirame, thallium et certains solvants organiques comme l'hexane).

Remarque : les effets toxiques peuvent être constatés après application topique des toxiques, sans négliger la possibilité d'être systémiques.

3. Procédure d'évaluation

3.1. Animaux utilisés

Les espèces de choix sont le lapin albinos et quelques fois les singes,

D'autres animaux peuvent être utilisés (rat, lapin, chat, chien, singe, porc) spécifiquement pour étudier les effets sur le cristallin, la rétine et le nerf optique.

3.2. Protocole

Instillation de la substance étudiée (0.1 ml ou 100 mg) dans le cul de sac conjonctival de l'un des deux yeux du lapin, et observation des résultats (érythème et œdème) après 24h, 48h et 72h de l'expérience. La méthode est réalisée sur 3 lapins de souche néozélandaise, elle est inspirée du test de Draize standardisé dans les années 1944. Le calcul des scores obtenu est réalisé pour la mise en évidence de :

Réaction de la conjonctive : rougeur, chémosis et sécrétion.

Réaction de la cornée : degrés et ampleur de l'opacité.

Réaction de l'iris : congestion, gonflement et conjonctivite injectée.

On distingue 3 types de scores :

I.O.I : Indice d'irritation oculaire primaire individuelle qui correspond à la somme des notes obtenues pour chacun des 3 lapins à chaque temps d'observation.

I.O.M : Indice d'irritation oculaire moyen qui est la moyenne de l'I.O.I

I.O.Max : Indice d'irritation oculaire maximum qui est la valeur de I.O.M la plus élevée (entre 24h et 72h).

Le test permet de classer les substances en 4 catégories (Les détails de détermination des scores et calculs d'irritation oculaire sont présentés respectivement dans les Tableau 8 et 9)

3.3. Examens de laboratoire

3.3.1. Ophtalmoscopie

Cet examen sert à évaluer les effets des toxiques sur les différentes régions de la rétine, il met en évidence l'œdème, la congestion ou la pâleur, l'atrophie optique, la pigmentation ou l'état des vaisseaux sanguins.

De même, cet examen peut servir aux modifications de l'humeur vitré, du cristallin, de l'humeur aqueuse, de l'iris et de la cornée.

3.3.2. Périmètre visuel

Les effets sur le champ visuels peuvent être facilement déterminés chez l'homme mais pas chez l'animal.

3.3.3. Autres procédures

L'acuité visuelle et la vision des couleurs sont des indicateurs sensibles et utiles des perturbations du système visuel.

3.4. Examens histologiques et biochimiques

Utilisation de microscope optique pour préciser le site d'action des toxiques.

Utilisation de microscope électronique pour montrer les changements ultra structuraux comme gonflement mitochondrial et désorganisation du réticulum endoplasmique dans la partie antérieure des photorécepteurs.

Les tests biochimiques consistent à révéler l'inhibition de nombreuses réactions enzymatiques particulièrement celles impliquées dans le métabolisme protéique de l'épithélium pigmentaire.

4. Evaluation

Les tests d'irritation oculaire sont largement utilisés pour évaluer le pouvoir irritant des produits toxiques sur l'œil.

VI.6. Toxicologie du système nerveux

Le système nerveux est l'ensemble des organes (cerveau, moelle épinière et nerfs) qui assurent la réception, la transmission et le traitement des informations dans l'organisme. Il permet de coordonner les fonctions du corps et de répondre aux stimulations internes et externes.

Le système nerveux est composé de deux grandes parties : le système nerveux central (SNC) et le système nerveux périphérique (SNP). Le SNC comprend l'encéphale (cerveau, cervelet et tronc cérébral) ainsi que la moelle épinière, et il constitue le centre de commande et d'intégration des informations. Le SNP est formé de l'ensemble des nerfs et des ganglions nerveux qui relient le SNC aux différentes parties du corps. Il se divise en système nerveux somatique, qui contrôle les mouvements volontaires et la sensibilité consciente, et en système nerveux autonome (ou végétatif), qui régule les fonctions involontaires comme la respiration, la digestion et le rythme cardiaque.

Le neurone est la cellule de base du système nerveux, spécialisée dans la réception, le traitement et la transmission de l'influx nerveux. C'est une cellule excitable qui permet la communication entre le cerveau, la moelle épinière et les différentes parties du corps. Un neurone est constitué d'un corps cellulaire (qui contient le noyau), de dendrites qui reçoivent les informations, et d'un axone qui conduit le message nerveux vers d'autres neurones ou vers des cellules effectrices comme les muscles. Grâce aux synapses, les neurones assurent la transmission rapide et précise des informations dans l'organisme (Figure 18).

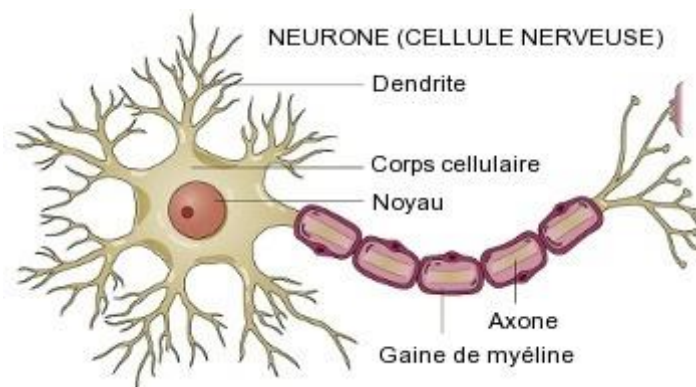


Figure 18. Unité de base du système nerveux (Wikimedia
<https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Neuron.jpg>)

1. Neurotoxicité et neurotoxiques

La neurotoxicité est l'action d'un poison (ou substance neurotoxique) sur le système nerveux. Il peut s'agir d'éléments chimiques comme les métaux lourds, de composés chimiques ou de substances biologiques comme les neurotoxines.

Une substance neurotoxique agit habituellement en perturbant ou en paralysant l'influx nerveux, en agissant notamment sur les émetteurs ou les récepteurs synaptiques. Le résultat est, en quelques minutes, voire en quelques secondes, des troubles de la vue et des autres sens, une perte du contrôle moteur (paralysie générale), éventuellement suivie d'une paralysie des muscles de la respiration, conduisant à la mort. Le cœur, lui, n'est pas sujet à une paralysie en cas de neurotoxicité étant donné sa capacité à se contracter spontanément en absence d'innervation. Cependant, l'absence de régulation du rythme cardiaque par le système nerveux autonome peut entraîner une bradycardie ou une tachycardie.

Exemples des neurotoxiques : plomb, méthyl mercure, aluminium, arsenic, polychlorobiphényles, de nombreux solvants organiques comme le toluène, ces substances sont actives à très faibles doses sur le fœtus ou l'embryon avec des effets irréversibles. Certaines formes de manganèse, des fluorures et perchlorates sont suspectés de causer des troubles de la mémoire, du comportement ou des retards intellectuels.

2. Effets toxiques des neurotoxiques

2.1. Neuronopathie

Les neurones, dont la principale source d'énergie est le glucose, sont sensibles à l'anoxie et à l'hyperglycémie. Les barbituriques induisent l'anoxie, le méthylmercure provoque une perte localisée des ribosomes, disparition du corps de Nissl et surtout modification nucléaire et finalement de la désintégration des neurones.

2.2. Axonopathie

L'axone peut être atteint par les toxiques directement ou indirectement par les lésions des corps cellulaires. Les lésions peuvent se produire dans les zones proximales ou distales des axones.

2.2.1. Axonopathie proximale

Certains neurotoxiques provoquent une perturbation du transport axonique, l'accumulation de neurofilaments dans la zone proximale cause le gonflement de celle-ci, la zone proximale élargie génère une prolifération locale d'astrocytes fibreux le long de la racine ventrale.

2.2.2. Axonopathie distale

Les axones contiennent trois types de structures neurofibrillaires : les neurotubules, les neurofilaments et les microfilaments, certaines contiennent aussi des mitochondries. Ces structures sont particulièrement sensibles à divers neurotoxiques. Par exemple, le thallium provoque un gonflement des mitochondries et leur dégénérescence.

2.2.3. Interférence avec la conduction nerveuse

De nombreux neurotoxiques agissent sur les membranes nerveuses qui maintiennent normalement un potentiel de repos négatif. Les potentiels de repos et d'action résultent de concentrations différentes en ions Na^+ et K^+ de part et d'autre de la membrane et ces concentrations sont maintenues par les pompes à sodium potassium. Les neurotoxines agissent donc par blocage de la pompe à sodium.

2.2.4. Interférence avec la transmission synaptique

C'est le cas principalement de la toxine botulique qui provoque une paralysie musculaire en empêchant la libération d'acétylcholine aux terminaisons nerveuses mortes.

2.3. Cellules gliales et myéline

2.3.1. Cellules productrices de myéline

Certains neurotoxiques comme le plomb la toxine diphtérique affectent affectent la synthèse de la myéline.

2.3.2. Gaine de myéline

Certains neurotoxiques comme le plomb, agissent directement sur la myéline par destruction des structures membranaires, inhibition des enzymes de phosphorylation oxydative, chélation des métaux.

2.4. Vaisseaux sanguins et œdème

La perméabilité du système vasculaire dans le SNC et le SNP peut être accrue par une augmentation de la pression sanguine ce qui provoque des œdèmes.

2.4.1. Œdèmes extracellulaires

Les œdèmes extracellulaires résultent d'une accumulation de liquide dans les espaces situés entre les cellules nerveuses. Ils sont généralement associés à une altération de la barrière hémato-encéphalique ou à une augmentation de la perméabilité des capillaires sanguins. Des métaux lourds tels que le plomb et le mercure sont connus pour provoquer ce type d'œdème. Ces substances endommagent les cellules endothéliales des capillaires cérébraux, favorisant ainsi le passage de plasma vers le tissu nerveux. L'accumulation de liquide qui en résulte peut entraîner une compression des neurones, une perturbation de la transmission nerveuse et divers troubles neurologiques.

2.4.2. Œdèmes cellulaires

Les œdèmes cellulaires sont caractérisés par une accumulation de liquide à l'intérieur même des cellules. Ils surviennent généralement à la suite d'une altération du métabolisme énergétique cellulaire, entraînant un dysfonctionnement des pompes ioniques membranaires responsables du maintien de l'équilibre hydrique. Des substances telles que le cyanure, le monoxyde de carbone, le diméthylsulfoxyde (DMSO) et le 6-aminonicotinamide peuvent provoquer ce type de lésion. En inhibant la production d'ATP ou en perturbant le métabolisme cellulaire, ces toxiques favorisent l'entrée d'eau dans les cellules, entraînant leur gonflement. Dans le système nerveux périphérique, un exemple caractéristique est l'œdème des cellules de Schwann, qui entourent et protègent les fibres nerveuses. Cette atteinte peut altérer la conduction de l'influx nerveux et conduire à des troubles neurologiques parfois sévères.

3. Procédure d'évaluation

3.1. Examens neurologiques

Ont comme rôles la détermination de la localisation de site de la neurotoxicité, ces tests comprennent :

Les nerfs crâniens I et XII, comme par exemple les nerfs optiques.

Examens des fonctions motrices comprennent l'étude des muscles pour des signes de faiblesse, d'atrophie et de fasciculation.

Examens des réflexes incluent les réflexes du tendon, dont le fonctionnement met en jeu les récepteurs intrafusaux, les racines dorsales, les cellules de la corne antérieure et leurs axones.

Les anomalies de la démarche.

3.2. Examens morphologiques

Les examens morphologiques ont pour rôle de préciser le site d'action anatomique des substances neurotoxiques. Ils reposent sur l'analyse macroscopique et microscopique des tissus nerveux afin de mettre en évidence les lésions structurales provoquées par les toxiques. Ces

examens permettent d'observer des altérations telles que la dégénérescence neuronale, la démyélinisation, les œdèmes, les hémorragies, la perte de cellules nerveuses ou les modifications des cellules gliales. Ils constituent un complément indispensable aux examens fonctionnels pour comprendre les mécanismes de la neurotoxicité et évaluer l'étendue des dommages causés au système nerveux.

3.3. Examens électrophysiologiques

Les examens électrophysiologiques permettent d'évaluer les conséquences fonctionnelles des substances toxiques sur le système nerveux en analysant l'activité électrique des nerfs, des muscles et du cerveau.

3.3.1. Nerfs périphériques

L'examen des nerfs périphériques consiste principalement à mesurer la vitesse de conduction nerveuse, notamment au niveau des nerfs moteurs. Cette technique permet d'évaluer la capacité des fibres nerveuses à transmettre l'influx nerveux. Une diminution de la vitesse de conduction peut révéler une atteinte de la gaine de myéline ou des fibres nerveuses elles-mêmes. Cet examen est particulièrement utile pour détecter les neuropathies périphériques induites par des agents toxiques.

3.3.2. Electromyographie

L'électromyographie est une technique qui mesure l'activité électrique des muscles au repos et lors de la contraction. L'enregistrement est réalisé à l'aide d'une électrode fine insérée directement dans le muscle. Cet examen permet d'évaluer le fonctionnement des muscles et des nerfs qui les commandent. Les anomalies observées peuvent traduire une atteinte musculaire directe ou un dysfonctionnement du système nerveux périphérique causé par une substance neurotoxique.

3.3.3. Electro-encéphalographie

L'électroencéphalographie (EEG) est une méthode d'enregistrement de l'activité électrique du cerveau. Les signaux sont recueillis grâce à des électrodes placées sur le cuir chevelu ou, dans certains protocoles expérimentaux, implantées dans des régions spécifiques du cerveau. L'EEG permet de détecter les modifications de l'activité cérébrale induites par les substances toxiques, telles que les perturbations de l'éveil, les troubles de la vigilance, les convulsions ou les altérations des fonctions cérébrales. Cette technique constitue un outil précieux pour l'évaluation de la neurotoxicité centrale.

3.4. Examens biochimiques

Le système nerveux dépend presque entièrement du glucose comme source d'énergie, les examens biochimiques comportent donc les paramètres du système enzymatique qui

métabolisent le glucose, de même la composition chimique des différentes structures subcellulaires et de la gaine de myéline.

VI.7. Toxicologie du système reproducteur

1. Principaux toxiques et effets toxiques

1.1. Sur le système reproducteur male : plusieurs molécules ont des effets indésirables sur la spermatogenèse : colorants alimentaires, pesticides, métaux lourds (plomb et cadmium), solvants organiques.

1.2. Sur le système reproducteur femelle : les ovocytes peuvent être endommagés par les médicaments anticancéreux, polluants comme hydrocarbures aromatiques polycycliques.

L'halopéridol empêche l'implantation, la nicotine affecte le développement et la croissance de l'embryon.

2. Procédure d'évaluation

2.1. Animaux utilisés

Le rat est l'animal de choix, un minimum de 20 femelles et 10 males sont répartis en trois doses et un groupe témoin.

L'administration du produit testé aux male se fait pendant la période de spermatogenèse (62-82 jours), et aux femelles pendant le développement de l'ovule (196 jours), et se poursuit pendant la gestation et la lactation.

2.2. Examens

Le poids du corps, l'alimentation, l'aspect général, le cycle œstral et le comportement sexuel des animaux adultes sont notés.

Pour une moitié des femelle, la gestation est laissée se dérouler jusqu'à son terme, pour l'autre moitié, on examine le nombre de jeunes de la portée, de mort-nés, le sex-ratio, et les anomalies congénitales.

La viabilité et le poids de jeunes sont mesurés à la naissance, au 4^{ème} jours, le 12^{ème} ou le 14^{ème} jours.

L'audition, la vue et le comportement sont examinés pour déceler des défauts congénitaux non apparues au premier examen.

Des males et des femelles sélectionnés au hasard sont soumis à une autopsie et à des examens histopatologiques des organes génitaux.

2.3. Evaluation

L'évaluation de la toxicité sur la reproduction repose sur l'analyse de plusieurs paramètres permettant d'apprécier l'impact d'une substance sur les performances reproductrices et le

développement de la descendance. L'indice de fertilité renseigne sur la capacité des animaux à se reproduire avec succès, tandis que l'indice de gestation évalue le maintien de la grossesse jusqu'à son terme. Après la naissance, l'indice de viabilité permet de mesurer la survie des nouveau-nés durant les premiers jours de vie, alors que l'indice de lactation reflète leur survie et leur développement pendant la période d'allaitement. Toute diminution significative de ces indices peut révéler un effet toxique de la substance étudiée sur la fertilité, la gestation, la survie néonatale ou les capacités maternelles. Ces paramètres constituent ainsi des indicateurs essentiels pour l'évaluation du risque toxique sur la reproduction et le développement.

VI.8. Toxicologie du système cardiovasculaire

Le système cardiovasculaire est composé de deux parties : le cœur et les vaisseaux sanguins. Le cœur est composé de fibre myocardique. Contrairement aux fibres musculaires, certaines fibres myocardiques sont innervées.

1. Principaux toxiques du cœur

Ethanol, cobalt, médicaments antitumoraux, médicaments cardiotoniques, médicaments hypertenseurs vasodilatateurs, composés organiques liposolubles, régime riche en cholestérol.

2. Effets toxique cardiaques

2.1. Myocardopathie

Particulièrement causée par le cobalt, ce dernier déprime l'apport d'oxygène et interfère avec le métabolisme énergétique cardiaque dans le cycle de Krebs. Les médicaments hypertenseurs vasodilatateurs sont capables d'induire une nécrose du myocarde.

2.2. Interférence avec la synthèse des acides nucléiques

C'est l'exemple dans ce cas-là des antitumoraux, dont le mode d'action est la liaison avec l'ADN mitochondrial et nucléaire, puis interférence avec la synthèse d'ARN et des protéines. Les antitumoraux sont la cause en plus de dégénérescence et d'atrophie du muscle cardiaque, d'œdème interstitiel et de fibrose.

2.3. Arythmies

Les arythmies cardiaques correspondent à des troubles du rythme du cœur, caractérisés par une accélération, un ralentissement ou une irrégularité des battements cardiaques. Elles peuvent être induites par l'exposition à certaines substances toxiques, notamment les hydrocarbures fluorés et les antidépresseurs tricycliques.

Les hydrocarbures fluorés, utilisés dans certains solvants ou gaz industriels, peuvent sensibiliser le muscle cardiaque aux catécholamines (comme l'adrénaline), ce qui augmente le risque de

perturbations électriques du cœur. Cette sensibilisation peut favoriser l'apparition de troubles du rythme, surtout en cas de stress ou d'effort.

De leur côté, les antidépresseurs tricycliques peuvent interférer avec les canaux ioniques cardiaques, en particulier ceux du sodium, ce qui perturbe la conduction de l'influx électrique dans le myocarde. À doses élevées ou en cas de surdosage, ces médicaments peuvent entraîner des arythmies graves, voire potentiellement mortelles.

Ainsi, ces deux types de substances agissent par des mécanismes différents mais convergents, aboutissant à une altération de l'activité électrique du cœur et à la survenue d'arythmies.

2.4. Dépression myocardique

De nombreux composés organiques liposolubles peuvent diminuer la contractilité cardiaque en perturbant le fonctionnement des cellules myocardiques, ce qui réduit le débit cardiaque et peut entraîner une baisse de la pression artérielle. De même, certains antibiotiques comme la néomycine et la streptomycine provoquent une hypotension en déprimant directement la contraction du muscle cardiaque. Ils altèrent ainsi les mécanismes responsables de la contraction, ce qui diminue le volume d'éjection du cœur et entraîne une chute de la tension artérielle.

3. Effets toxiques sur les vaisseaux sanguins

3.1. Perméabilité capillaire accrue

Le plomb, le mercure et plusieurs autres toxiques endommagent les cellules endothéliales des capillaires cérébraux, cet effet entraîne des lésions dans la barrière hémato-encéphalique.

3.2. Vasoconstriction

La consommation d'alcaloïdes de l'ergot (contaminants fongiques de certains aliments) peut provoquer la gangrène par suite de vasoconstriction.

3.3. Changements dégénératifs

L'athérosclérose est une modification dégénérative complexe qui affecte principalement les gros vaisseaux, certains toxiques comme le CO et CS₂ lèsent l'endothélium, augmentent la perméabilité capillaire et sont à l'origine de changements dégénératifs.

3.4. Fibrose

Le cadmium et le plomb sont des métaux lourds toxiques qui peuvent avoir des effets importants sur le système cardiovasculaire et rénal. Ils ciblent notamment les vaisseaux sanguins rénaux, où ils provoquent des lésions progressives des tissus.

L'atteinte des vaisseaux rénaux perturbe la régulation de la pression artérielle, notamment via l'activation du système rénine-angiotensine-aldostérone (SRAA). Cette activation provoque

une rétention de sodium et d'eau ainsi qu'une vasoconstriction, ce qui conduit indirectement à une hypertension artérielle.

3.5. Réactions d'hypersensibilité

Les sels d'or, la pénicilline et les sulfonamides peuvent provoquer des atteintes des capillaires sanguins en déclenchant une réaction inflammatoire d'origine immunitaire. Ces substances agissent parfois comme des haptènes, stimulant une réponse immunitaire anormale.

On observe alors une infiltration de cellules immunitaires, notamment des éosinophiles et des cellules mononucléaires, ce qui traduit l'implication du système immunitaire. Cette réaction entraîne une inflammation des petits vaisseaux, pouvant altérer leur structure et leur fonctionnement.

3.6. Tumeurs

Le dioxyde de thorium est un produit radioactif reconnu pour ses effets cancérogènes. Son accumulation dans l'organisme expose les tissus à des radiations ionisantes pouvant endommager l'ADN et provoquer des mutations cellulaires.

Ces altérations peuvent toucher les cellules des vaisseaux sanguins et favoriser l'apparition de tumeurs vasculaires, notamment les hémangio-endothéliomes.

4. Procédures d'évaluation

La toxicité cardiovasculaire peut être étudiée chez l'animal normal, des cœurs et des vaisseaux sanguins isolés (en cas de pathologies particulières).

4.1. Animaux normaux

Mesure de la pression sanguine, du rythme cardiaque et d'électrocardiogramme, après autopsie, l'organe est souvent pesé, des examens morphologiques, microscopiques et biochimiques sont réalisés.

4.2. Cœur isolé

L'expérience du cœur isolé consiste à maintenir un cœur extrait (souvent de mammifère ou d'amphibien) en survie artificielle grâce à une perfusion de solution nutritive oxygénée. Ce modèle expérimental permet d'étudier directement les effets de différentes substances toxiques sur l'activité cardiaque, sans influence du système nerveux ou hormonal. Il est utilisé pour analyser les modifications de la fréquence cardiaque, de l'amplitude des contractions ainsi que du débit coronarien. Ainsi, cette technique est très utile en toxicologie pour évaluer l'action directe de toxiques ou de médicaments sur la fonction cardiaque.

Conclusion

En conclusion, les approches prédictives de la toxicité représentent une évolution majeure de la toxicologie moderne, en proposant des outils et des méthodologies permettant d'anticiper les effets nocifs des substances chimiques, pharmaceutiques ou environnementales. Grâce à l'intégration des méthodes *in silico*, *in vitro* et des approches mécanistiques, elles offrent une compréhension plus fine des mécanismes biologiques à l'origine de la toxicité, tout en améliorant la rapidité et l'efficacité de l'évaluation des risques.

Ces approches répondent également à des enjeux scientifiques, éthiques et réglementaires importants, notamment la réduction de l'expérimentation animale et le développement de méthodes alternatives validées par les instances internationales. Elles s'inscrivent ainsi dans une démarche de toxicologie prédictive et intégrative, orientée vers la sécurité des substances et la protection de la santé humaine et de l'environnement.

Enfin, malgré leurs avancées significatives, ces méthodes continuent d'évoluer et nécessitent une amélioration constante de leur validation, de leur standardisation et de leur intégration dans les cadres réglementaires. Elles constituent néanmoins un pilier essentiel de la toxicologie du futur, combinant innovation technologique et approche mécanistique pour une évaluation plus fiable et plus éthique des risques.

Références bibliographiques

Ames, B. N., McCann, J., & Yamasaki, E. (1975). Methods for detecting carcinogens and mutagens with the Salmonella/mammalian microsome mutagenicity test. *Mutation Research*, 31(6), 347–364.

Andujar, P., & Nemery, B. (2009). Pathologies respiratoires aiguës et subaiguës d'origine toxique. *Revue des Maladies Respiratoires*, 26(8), 867–885. [https://doi.org/10.1016/S0761-8425\(09\)73682-4](https://doi.org/10.1016/S0761-8425(09)73682-4)

Bensakhria, A. (2018). Toxicité aiguë. In *Toxicologie générale* (pp. 21–28). Liverpool John Moores University.

Bliss, C. I. (1938). The determination of the dosage-mortality curve from small numbers. *Quarterly Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 11(2), 192–216.

Borenfreund, E., & Puerner, J. A. (1985). Toxicity determined *in vitro* by morphological alterations and neutral red absorption. *Toxicology Letters*, 24(2–3). [https://doi.org/10.1016/0378-4274\(85\)90046-3](https://doi.org/10.1016/0378-4274(85)90046-3)

Bourrain, J. L., & Amblard, P. (1997). Les photoallergies. *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*, 37(5), 661–667. [https://doi.org/10.1016/S0335-7457\(97\)80064-0](https://doi.org/10.1016/S0335-7457(97)80064-0)

Brunton, L. L., Hilal-Dandan, R., & Knollmann, B. C. (Eds.). (2018). *Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics* (13th ed.). McGraw-Hill Education.

Casarett & Doull's. (2019). *Toxicology: The basic science of poisons*. McGraw-Hill Education.

Dumas, G., & Canet, E. (2016). Effets cardiovasculaires graves des chimiothérapies, thérapies ciblées et immunosuppresseurs. *Réanimation*, 25, S123–S136. <https://doi.org/10.1007/s13546-015-1161-4>

Draize, J. H., Woodard, G., & Calvery, H. O. (1944). *Methods for the study of irritation and toxicity of substances applied topically to the skin and mucous membranes*. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 82(3), 377–390. [https://doi.org/10.1016/S0022-3565\(25\)08751-8](https://doi.org/10.1016/S0022-3565(25)08751-8)

Draize, J. H. (1959). *Dermal toxicity*. In Association of Food and Drug Officials of the United States (Ed.), *Appraisal of the safety of chemicals in foods, drugs and cosmetics* (pp. 46–59). Texas State Department of Health.

Garnier, R. (2016). Toxicité du bleu de trypan. *Archives des Maladies Professionnelles et de l'Environnement*, 77(6). <https://doi.org/10.1016/j.admp.2016.09.005>

Gray's Anatomy for Students. (2020). *Gray's Anatomy for Students* (4th ed.). Elsevier

Hodge, H. C., & Sterner, J. H. (1949). Tabulation of toxicity classes. *American Industrial Hygiene Association Quarterly*.

ITeH STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai) ISO/TR 21582. (2021)
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9633fb65-a7d3-4fc0-9568c528be4a6b32/iso-tr-21582-202>

Izzedine, H. (2018). Néphrotoxicité médicamenteuse. *Néphrologie & Thérapeutique*, 14(3), 127–134. <https://doi.org/10.1016/j.nephro.2017.06.006>

Kärber, G. (1931). Beitrag zur kollektiven Behandlung pharmakologischer Reihenversuche. *Archiv für Experimentelle Pathologie und Pharmakologie*, 162, 480–483

Kenhub (2025). Anatomie de l'œil : structures internes. <https://www.kenhub.com/fr/library/anatomie/anatomie-de-l-oeil>

Kumar, V., Abbas, A. K., & Aster, J. C. (2020). *Robbins & Cotran pathologic basis of disease* (10th ed.). Elsevier.

Kumar, P., Nagarajan, A., & Uchil, P. D. (2018). Analysis of cell viability by LDH assay. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2018(6). <https://doi.org/10.1101/pdb.prot095497>

Lapointe, J. (2004). *Notions de toxicologie* (2e éd.). Bibliothèque nationale du Québec.

- Le Daré, B., Ferron, P. J., & Gicquel, T. (2021).** Il était une fois l'hépatotoxicité. *Médecine/Sciences*, 37(3), 235–241. <https://doi.org/10.1051/medsci/2021009>
- Lindor, K. D., Bowlus, C. L., Boyer, J., et al. (2019).** *Primary biliary cholangitis: 2018 Practice Guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases*. *Hepatology*, 69(1), 394–419. <https://doi.org/10.1002/hep.30145>
- Lu, F. C. (1992).** *Basic toxicology: Fundamentals, target organs, and risk assessment* (pp. 303–304). Hemisphere Publishing / Masson.
- Marguery, M. C. (1998).** Réaction photoallergique. *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*, 38(4), 394–400. [https://doi.org/10.1016/S0335-7457\(98\)80061-0](https://doi.org/10.1016/S0335-7457(98)80061-0)
- Pradeau, D. (1992).** *Analyse pratique du médicament*. Éditions médicales internationales.
- Praud, R. (2022).** Photoprotection et phototoxicité. *Revue Francophone d'Orthoptie*, 15(1), 36–40. <https://doi.org/10.1016/j.rfo.2020.10.001>
- Randhawa, M. (2009).** LD50 calculation methods. *Journal of Ayub Medical College Abbottabad*, 21(3), 184–185.
- Russell, W. L. (1978).** *The mouse specific-locus test and the estimation of genetic hazard of environmental agents*. *Mutation Research*, 54(2), 161–200.
- Sandle, T. (2013).** Pyrogenicity and endotoxin. In *Sterility, sterilisation and sterility assurance* (pp. 21–33). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1533/9781908818638.21>
- Soria, A., & Francès, C. (2014).** Urticaires : diagnostic et prise en charge. *La Revue de Médecine Interne*, 35(9), 586–594. <https://doi.org/10.1016/j.revmed.2014.01.008>
- Stanley, P. E., & Williams, S. G. (1969).** Use of the firefly luciferase assay for the measurement of ATP. *Journal of Biological Chemistry*.
- Tallarida, R. J., & Murray, R. B. (1987).** Litchfield and Wilcoxon I: Confidence limits of ED50. In *Manual of pharmacologic calculations*. Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4612-4974-0_47
- Teixeira, L., & Bolon, B. (2018).** Special senses. In *Fundamentals of toxicologic pathology* (3rd ed., pp. 673–747). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809841-7.00022-8>
- Teixeira, L., & Dubielzig, R. R. (2013).** Eye. In *Haschek and Rousseaux's handbook of toxicologic pathology*. Elsevier. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-415759-0.00053-4>
- Upmann, M., & Bonaparte, C. (1999).** Rapid methods for food hygiene inspection. In *Encyclopedia of food microbiology* (pp. 1887–1895). <https://doi.org/10.1006/rwfm.1999.1320>
- Wilhelmus, K. R. (2001).** The Draize eye test. *Survey of Ophthalmology*, 45(6), 493–515. [https://doi.org/10.1016/S0039-6257\(01\)00211-9](https://doi.org/10.1016/S0039-6257(01)00211-9)

Zimmer-Rapuch, S., Amet, S., Janus, N., Deray, G., & Launay-Vacher, V. (2013). Néphrotoxicité des médicaments. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2013(455), 75–82. [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(13\)72182-8](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(13)72182-8)

Sites internet

Institut national de recherche et de sécurité (INRS). (n.d.). *Fiches toxicologiques*. <https://www.inrs.fr/publications/bdd/fichetox.html>

Vidal. (n.d.). *Insuffisance rénale chronique*. <https://www.vidal.fr/maladies/reins-voies-urinaires/insuffisance-renal-chronique.html>

CNESST. (n.d.). *Notions de toxicologie (PDF)*. <https://www.cnesst.gouv.qc.ca/sites/default/files/publications/notions-de-toxicologie.pdf>

Wikipedia. (n.d.). *Dose létale médiane*. https://fr.wikipedia.org/wiki/Dose_l%C3%A9tale_m%C3%A9diane

Wikimedia. <https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Neuron.jpg>

123dok. (n.d.). *Méthode d'évaluation de cytotoxicité*. <https://123dok.net/article/m%C3%A9thode-%C3%A9valuation-cytotoxicit%C3%A9>

Gastro-entérologue Lyon. (n.d.). *Stéatose hépatique*. <https://www.gastroenterologue-lyon.fr/steatose-hepatique/>

Effets Santé. (n.d.). *Cirrhose hépatique : remèdes maison*. <https://effetsante.com/cirrhose-hepatique-remedes-maison/>

Slideshare. (n.d.). *Hépatomégalies*. <https://fr.slideshare.net/happpppy/hepatomegalies>

Blogspot. (n.d.). *Nécrose hépatique submassive*. <https://patologiacc.blogspot.com/2015/06/necrosis-hepatica-submasiva-submassive.html>

Dreamstime. (n.d.). *Nécrose hépatique (image)*. <https://fr.dreamstime.com/photos-libres-droits-n%C3%A9crose-h%C3%A9patique-mort-cellulaire-foie-image29351938>

Pinterest. (n.d.). <https://www.pinterest.com/pin/631348441486497982/>