

18 septembre 2025



Tamoxifène

Vers des administrations respectueuses du bien-être animal et plus de reproductibilité scientifique

Fanny Pilot-Storck

Professeur en physiologie et pharmacologie

DVM, Spécialiste en sciences et médecine
des animaux de laboratoire



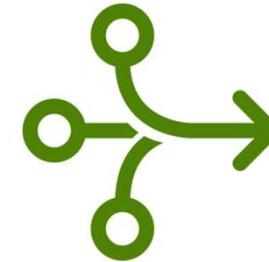
▪ Partage d'expérience

□ Observations sur 15 ans d'autopsie

- Toutes les souris ayant reçu une injection intrapéritonéale de tamoxifène présentaient des lésions du péritoine, même après plusieurs mois

□ Convergence

- Concordance avec des observations des Dr Kévin Dhondt, Sophie Reibel-Foisset, **Catherine Vogt**



□ Soutien du projet par le FC3R

- Design expérimental
- Financement des analyses



▪ Objectif

- Vérifier et quantifier les observations initiales
 - ▣ L'injection intrapéritonéale de tamoxifène provoque-t-elle une inflammation péritonéale ? Systématique ? Généralisée ?

- Tester l'innocuité d'autres voies d'administration
 - ▣ Choix de 3 voies décrites dans la littérature comme efficaces
 - ▣ Voie sous-cutanée, transdermique et orale

3R et reproductibilité scientifique



- Plan

- I. Introduction

- II. Matériel et méthodes

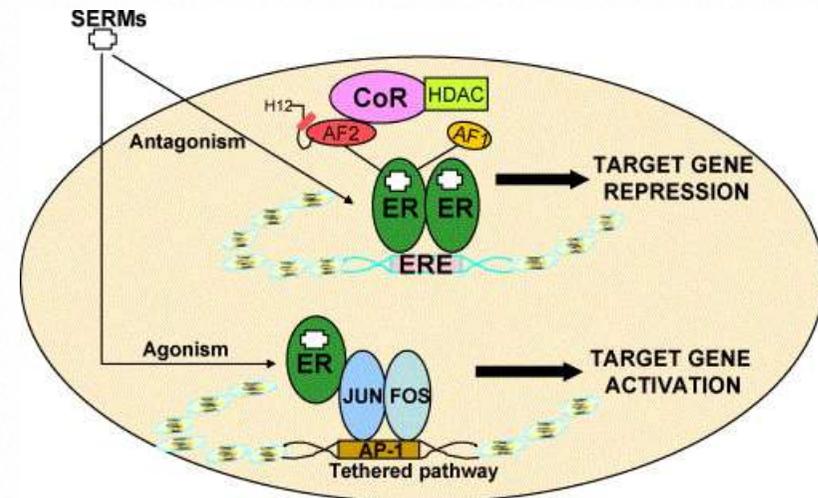
- III. Résultats

- IV. Perspectives

Introduction

■ Tamoxifène

- “Selective Estrogen Receptor Modulator”
 - ▣ **Agoniste** des récepteurs aux œstrogènes
 - Utérus, os, foie, muscle, encéphale
 - ▣ **Antagoniste** des récepteurs aux œstrogènes
 - Tissu mammaire



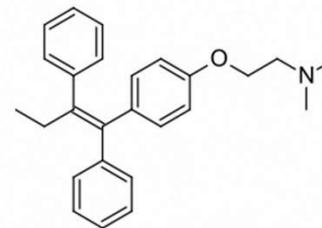
Introduction

■ Tamoxifène

□ Un anticancéreux majeur

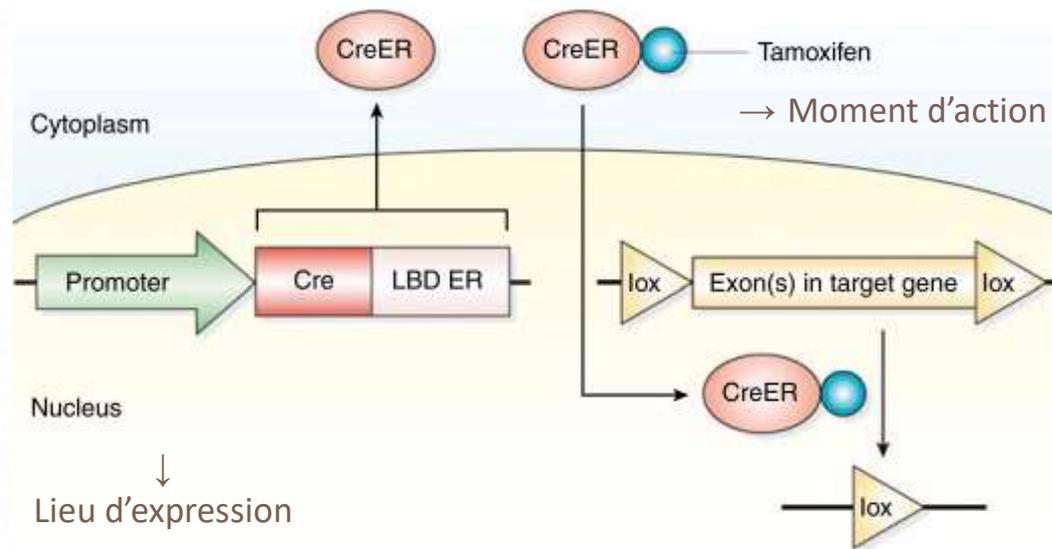
- Cancer du sein ER+
- Voie orale quotidienne pendant 5 ou 10 ans
- Réduction forte du taux de récurrence
- Effets secondaires hormonaux : bouffées de chaleur, thrombose veineuse, cancer endométrial

- Molécule lipophile, non soluble en milieu aqueux
- Biodisponibilité par voie orale #100 %



■ Tamoxifène

- **Utilisation en génétique de la souris**
 - ▣ Induction d'une recombinaison génétique
 - ▣ Cre recombinase modifiée pour se lier au tamoxifène (Cre-ERT2)



Introduction

■ Tamoxifène

□ Des effets pléiotropes !

- Muscles

- Foie – Tissu adipeux – Pancréas

- Système nerveux

- Métabolisme

- Comportement

- Infections virales / bactériennes

- Inhibition TGFB

- Inhibition de l'apoptose

- Réduction stress oxydant

- ...



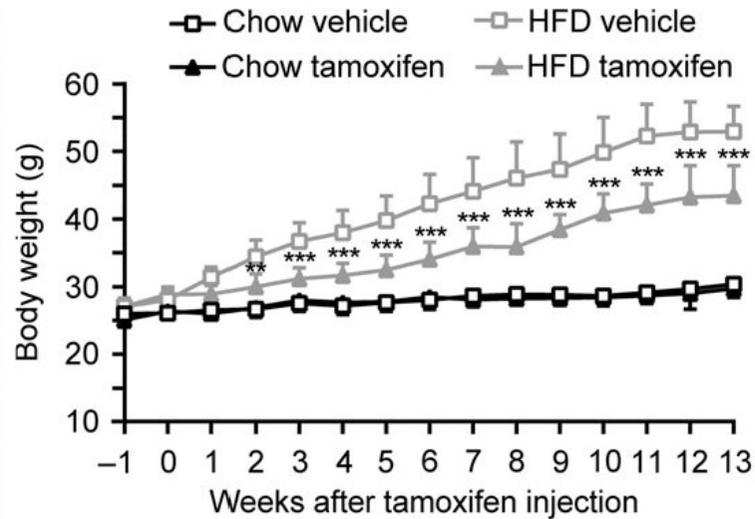
Les animaux contrôles doivent recevoir du tamoxifène dans les mêmes conditions que les animaux mutants inductibles

Introduction

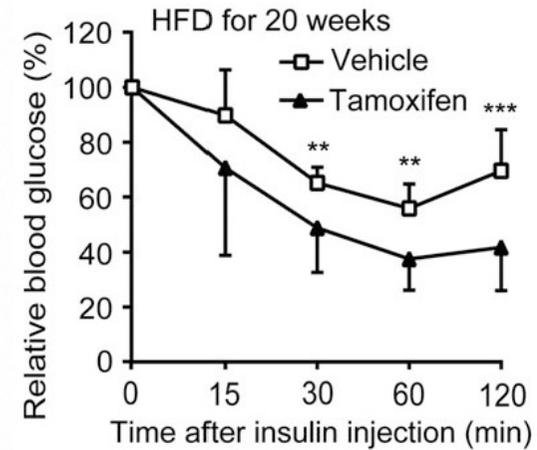
■ Tamoxifène

- Des effets possibles à long terme

Injection IP, 5 j
Puis 13 semaines *High Fat Diet*



Test de sensibilité à l'insuline
après 20 semaines HFD



Introduction

■ Tamoxifène

□ Modalités d'administration chez la souris

■ Dans l'aliment

Croquettes à 250 ou 500 mg/kg, 2 semaines

✓ Facilité

✗ Coût élevé, cinétique en plateau, atteinte du bien-être (goût amer, # 10% perte de poids)



■ Administrations répétées ponctuelles (3-5 fois sur une semaine)

- Intrapéritonéale
- Sous-cutanée
- Transdermique
- Orale

} Efficacité validée (publications)

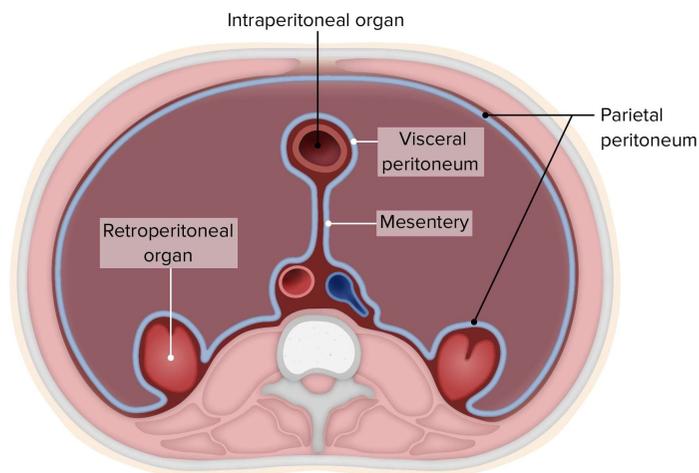
Introduction

▪ Voies d'administration

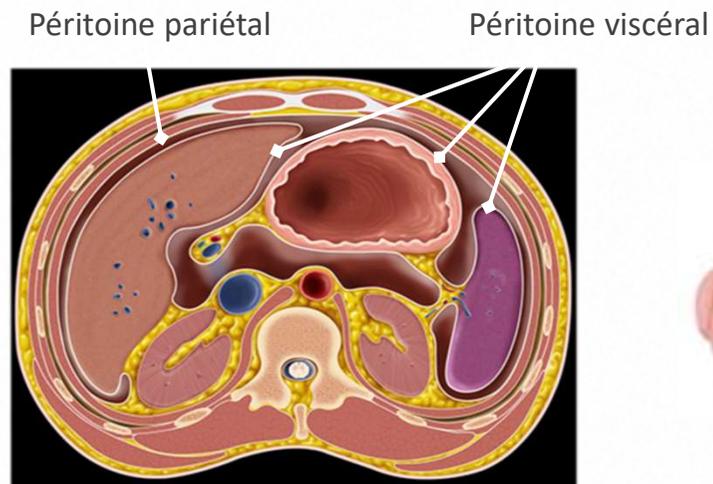
□ Injection intrapéritonéale

▣ Objectif : injection dans la cavité péritonéale

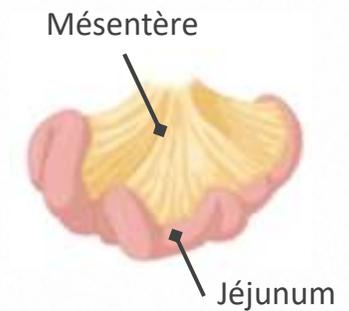
- Péritoine pariétal
- Péritoine viscéral, dont le mésentère



<https://www.lecturio.com/>



<https://stanford.edu>



■ Voies d'administration

□ Injection intrapéritonéale

- Très facile, massivement utilisée en expérimentation animale
- Non utilisée en médecine humaine et vétérinaire
 - Risque de lésions d'organes & voie non contrôlée
→ *Voie non translationnelle*

□ Voie la moins fiable

- Injection dans un organe fréquente, malgré l'expérience
- Risque de lésions (perforation, hémorragie)
- Risque d'échec de l'expérience
 - Conclusion erronée
 - Non reproductibilité scientifique
 - Peut amener à répéter une injection



Research Animal Training

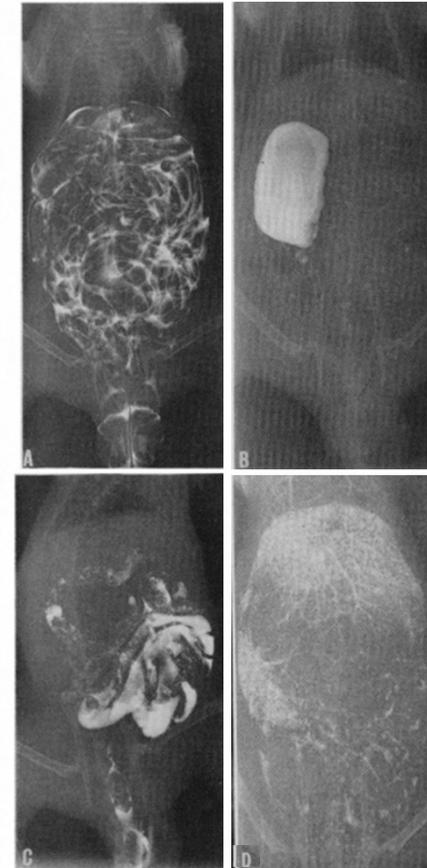
Introduction

■ Voies d'administration

- **Injection intrapéritonéale – Faible fiabilité**
 - *Injection in a 'black box'*
 - Taux d'erreur estimé le plus souvent **entre 10 et 20%**
 - Largement inhérent à la technique
 - Optimisation : quadrant postérieur droit, technique à 2 personnes
 - **Revue très complète :**
Laferrière & Pang, JAALAS (2020) 59(3):254-263
 - Risque d'erreur d'interprétation
 - Gaines Das & North, *Laboratory Animals* (2007) 41:312-320

Merci à Virginie Dangles-Marie et Delphine Bouard pour le partage d'informations

- A - Injection réussie
- B - Injection rétropéritonéale
- C - Injection intestine grêle
- D - Injection intravasculaire



JP Steward *et al.*, *Applied microbiology* (1968), 16(9):1418-19

Introduction

■ Voies d'administration

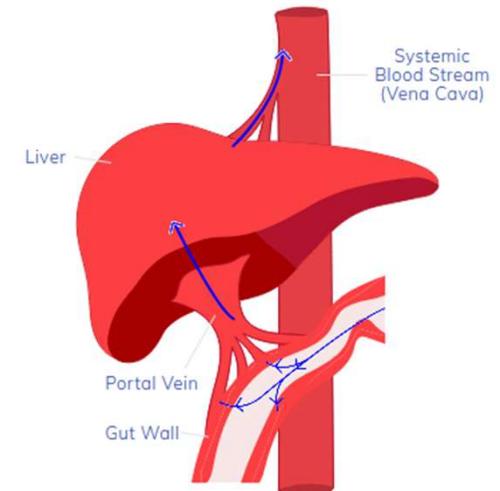
□ Injection intrapéritonéale

□ Cinétique

- **Variable** selon les composés injectés
- **Variable** en fonction du site (péritoine viscéral vs pariétal)
- Premier passage hépatique, comme par voie orale
 - Al Shoyaib *et al.*, *Pharm Res* (2020) 37(1):12

□ Modalités

- Péritoine : tissu très réactif
- **Description de péritonites induites par l'injection d'huiles**
 - Bien décrit pour l'huile minérale
 - Utilisé en immunologie pour induire une réponse inflammatoire
 - Effet délétère indésirable dans les autres cas
 - Observation rapportée pour les injections répétées de tamoxifène par Andersson *et al.*, *Transgenic Res* (2010), 19:715



Interactive Clinical Pharmacology

Introduction

■ Voies d'administration

□ Injection intrapéritonéale

□ Inflammation liée à l'injection de composés lipophiles

- Inflammation induite par huile de maïs, pharmaceutique ou non
- 4 injections toutes les 48h

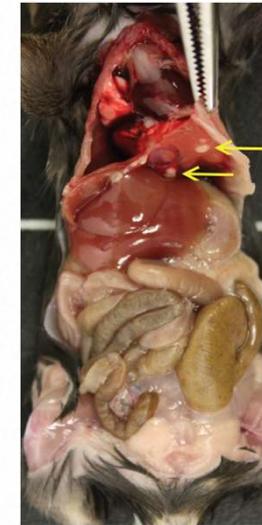
Journal of the American Association for Laboratory Animal Science
Copyright 2017
by the American Association for Laboratory Animal Science

Vol 56, No 6
November 2017
Pages 779-785

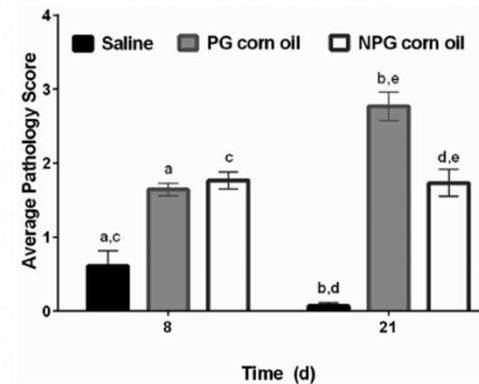
Effects of Repeated Intraperitoneal Injection of Pharmaceutical-grade and Nonpharmaceutical-grade Corn Oil in Female C57BL/6J Mice

Jennifer S Hubbard, Patty H Chen, and Kelli L Boyd*

- *Visual Assessment Score* nul dans les 3 groupes



Foyers inflammatoires



▪ Voies d'administration

□ Injection intrapéritonéale

- Inflammation liée à l'injection de composés lipophiles
 - Inflammation induite par différentes huiles
 - Injections 5 j de suite, analyse 3 semaines plus tard

MOLECULAR CANCER RESEARCH | CELL FATE DECISIONS

Intraperitoneal Oil Application Causes Local Inflammation with Depletion of Resident Peritoneal Macrophages

Elisenda Alsina-Sanchis¹, Ronja Mülfarth¹, Iris Moll¹, Carolin Mogler², Juan Rodriguez-Vita¹, and Andreas Fischer^{1,3,4}

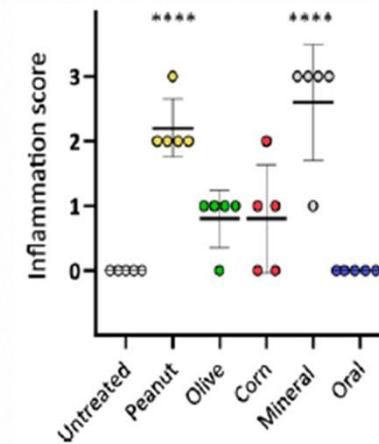
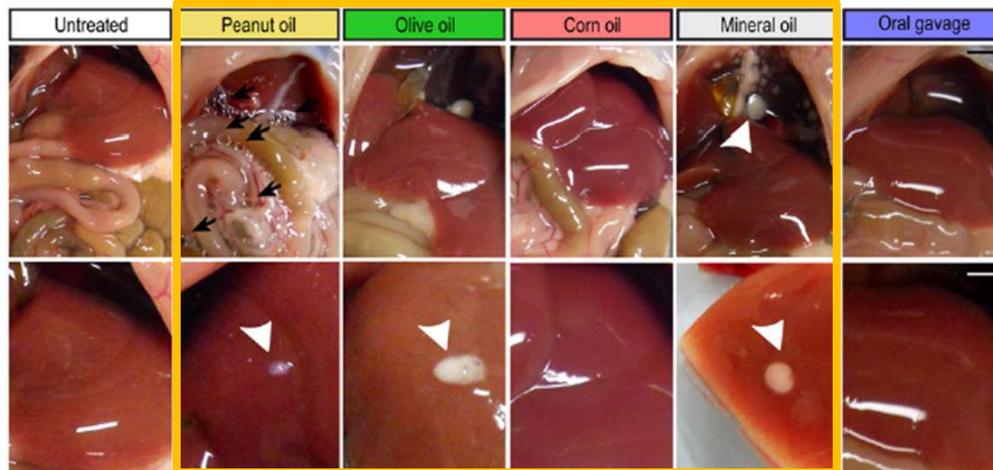
Mol Cancer Res (2021) 19:288-300

Introduction

▪ Voies d'administration

□ Injection intrapéritonéale

- Pas de signes d'inconfort
- Lésions macroscopiques et microscopiques d'inflammation péritonéale généralisée avec huiles en IP
- Changements dans les populations de cellules immunitaires péritonéales
- Huile minérale et d'arachide plus inflammatoires que huile d'olive et de maïs

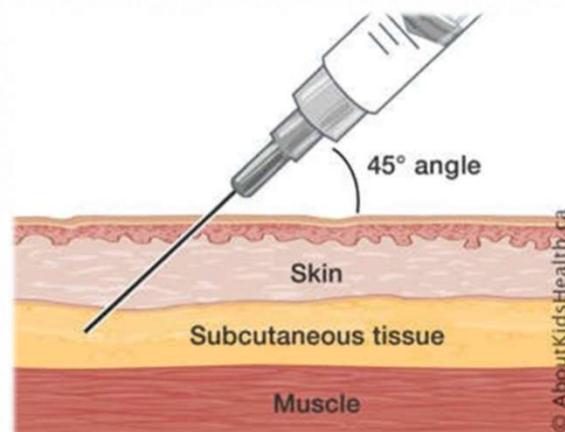


Alsina-Sanchis *et al.*, *Mol Cancer Res* (2021) 19:288-300

▪ Voies d'administration

□ Injection sous-cutanée

- Objectif : injection dans le tissu sous-cutané
 - Hypoderme, très lâche



Introduction

▪ Voies d'administration

□ Injection sous-cutanée

- Très facile, très utilisée en médecine vétérinaire
- Négligée en expérimentation animale
 - *Déficit d'apprentissage*
- Voie la moins douloureuse
- Voie très fiable
- Nécessité d'injecter des composés et solvants bien tolérés

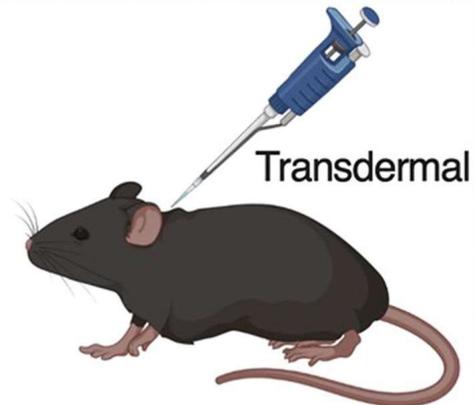


UBC animal Care Committee

▪ Voies d'administration

□ Administration transdermique

- Objectif : dépôt sur la peau, pour passage systémique à travers la peau
 - Spot-on
- Facile, très utilisée en médecine vétérinaire pour les anti-parasitaires externes
- Nécessite des composés non irritants, capables de traverser la peau

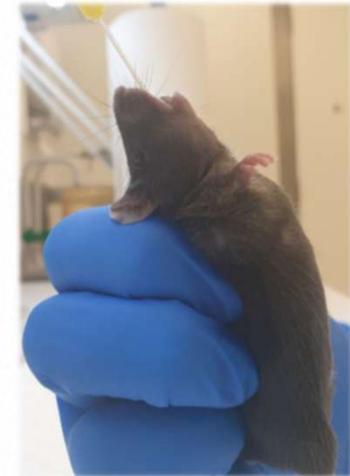


Introduction

■ Voies d'administration

□ Administration par voie orale

- ▣ Objectif : administration buccale/gastrique pour passage systémique après absorption intestinale
- ▣ Très utilisée en médecine vétérinaire et humaine
- ▣ En expérimentation animale
 - Dans l'eau de boisson ou l'aliment
 - Gavage (compétence fréquente chez tech et zotech)
 - Prise spontanée : *Micropipette-guided Drug Administration* (MDA)
- ▣ Nécessite des composés non irritants, biodisponibles
 - Tamoxifène : voie orale en médecine humaine
 - Huiles végétales : alimentaires



University of Queensland
Animal Ethics Committee



MDA : Webinaire
- 13 mars 2025 -

■ **Projet**

Tester l'innocuité de 4 voies d'administration répétée,
à l'efficacité prouvée

□ **Comparaison**

- Voies IP, SC et orale
 - Huile de maïs
 - Huile de maïs + tamoxifène
 - Sérum physiologique injectable
- Voie transdermique
 - Ethanol
 - Ethanol + tamoxifène

■ Plan

I. Introduction

II. Matériel et méthodes

III. Résultats

IV. Perspectives

Matériel et méthodes

▪ Matériel

- Huile de maïs (Sigma)
- Tamoxifène (Sigma, T5648), dilué à 20 mg/ml (huile) ou 10 mg/ml (éthanol)
- Ethanol absolu

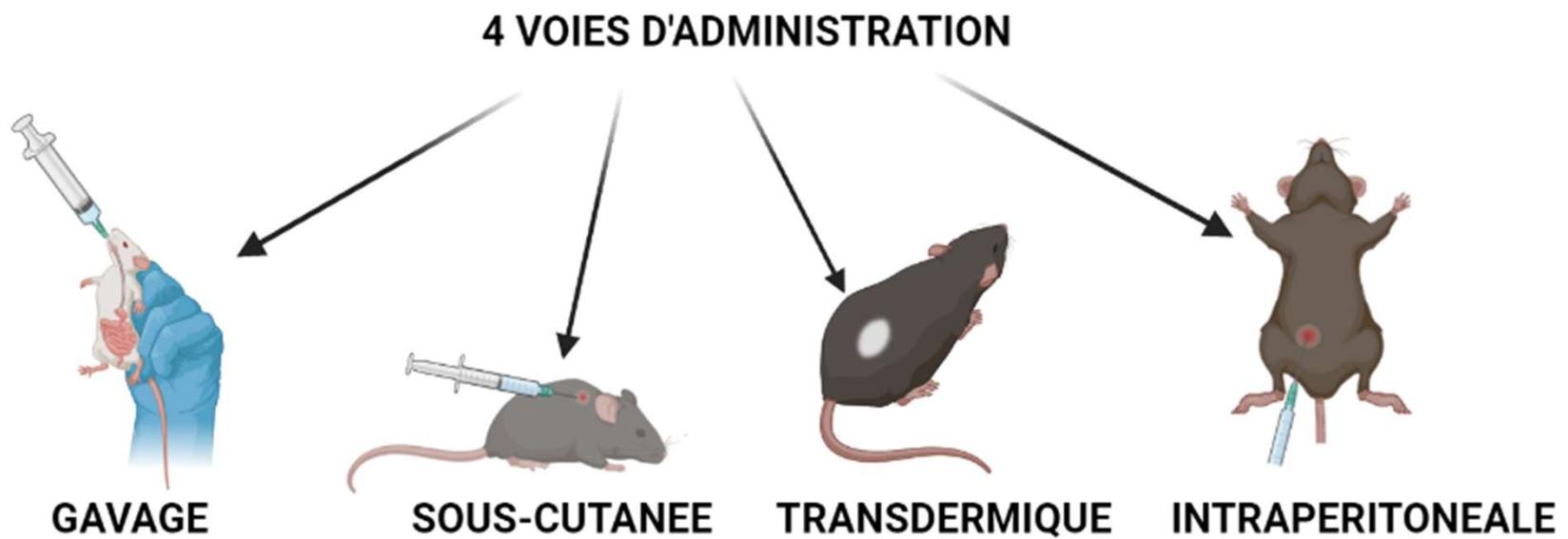
▪ Animaux

- Souris C57Bl/6N, mâles et femelles, 2 à 3 mois
- 4 à 5 par sous-groupe
- 3 administrations
 - Lundi-mercredi-vendredi
 - Voies IP, SC, orale : 5 ml/kg
 - Voie transdermique : 10 ml/kg
 - Tamoxifène : 100 mg/kg
- Pesée hebdomadaire, suivi quotidien, mise à mort 2 semaines plus tard & prélèvements

Matériel et méthodes

■ Méthode

- Comparaison de 4 voies efficaces pour induire une recombinaison



Matériel et méthodes

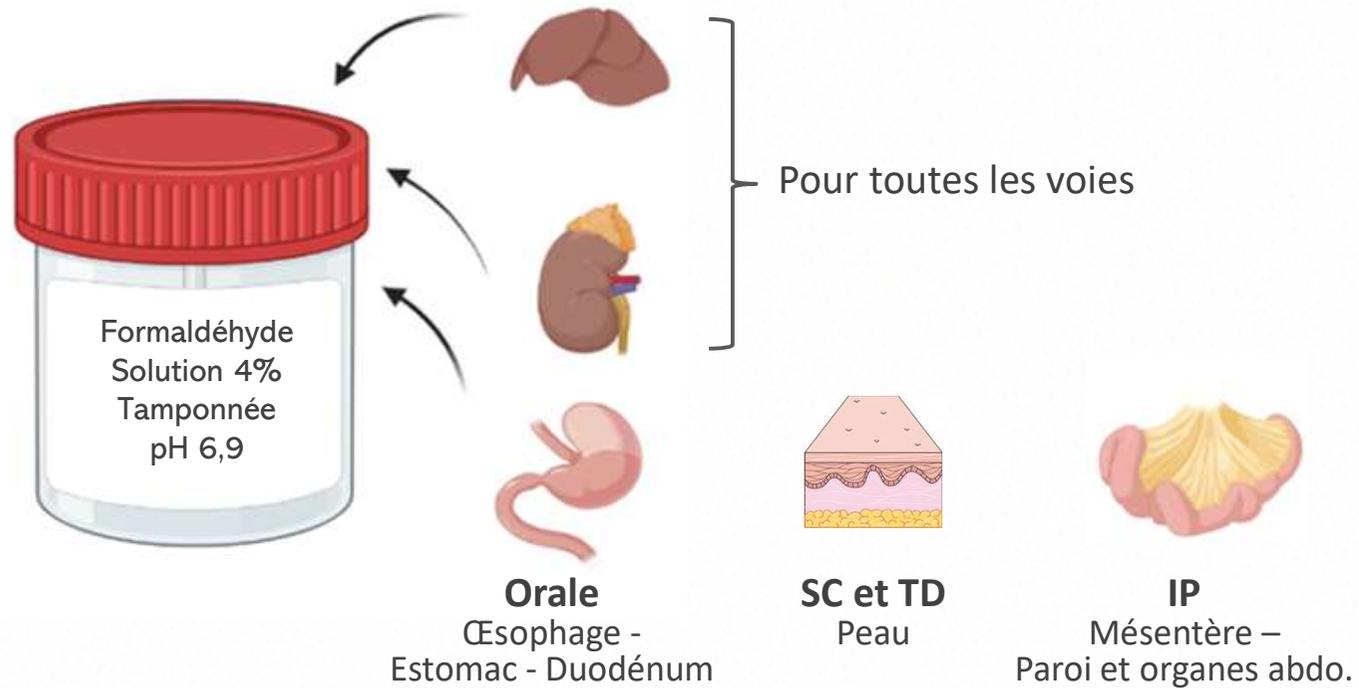
■ Méthode

- Réalisation de toutes les administrations par personnes expérimentées
 - ▣ Injections intrapéritonéale : quadrant postérieur droit
 - ▣ Injections sous-cutanée interscapulaire
 - ▣ Voie orale : gavage avec sonde droite rigide
 - ▣ Voie transdermique : dépôt sur le dos à la micropipette sur peau tondue la semaine précédente
 - **Merci à Laurent Le Cam et Matthieu Lacroix** de l'Institut de Recherche en Cancérologie de Montpellier pour le partage de leur protocole
 - Exemple : Lacroix *et al.*, *Nature Communications* (2021) 12:7037

Matériel et méthodes

■ Prélèvements

- Pesées d'organes
- Fixation en formol des tissus d'intérêt



■ Plan

I. Introduction

II. Matériel et méthodes

III. Résultats

IV. Perspectives

Résultats

■ Suivi des animaux

- Aucun incident lors des administrations
- Stabilité du poids et de l'état général, pour toutes les voies
- **Œdème scrotal** pour les mâles ayant reçu du tamoxifène
 - + pour voies IP, SC, orale
 - pour voie transdermique



▪ Evaluation de la douleur

- Tous les jours pendant la semaine d'administration
- Tous les 2 jours les 2 semaines suivantes
- Critères pertinents à définir selon la cause potentielle de douleur
 - ▣ Dr Matthew Leach, University of Newcastle, *Pain recognition in lab animals*, BCLAS, Namur 2025

- Observations en aveugle par rapport à la solution administrée
 - ▣ Observation à distance puis après ouverture de la cage :
 - Comportement et posture ✓
 - *Mouse grimace scale* ✓ *Pour tous les groupes*

 - ▣ Posture et locomotion spontanées hors de la cage

▪ Evaluation de la douleur

- Posture et locomotion spontanées hors de la cage
 - ▣ RAS pour les voies sous-cutanée, orale et transdermique
 - ▣ Voie IP, chaque jour d'observation, pour certains animaux :
 - **Dos voussé**



▪ Evaluation de la douleur

- Posture et locomotion spontanées hors de la cage
 - ▣ RAS pour les voies sous-cutanée, orale et transdermique
 - ▣ Voie IP, chaque jour d'observation, pour certains animaux :
 - **Récalcitrance à marcher**

Locomotion normale



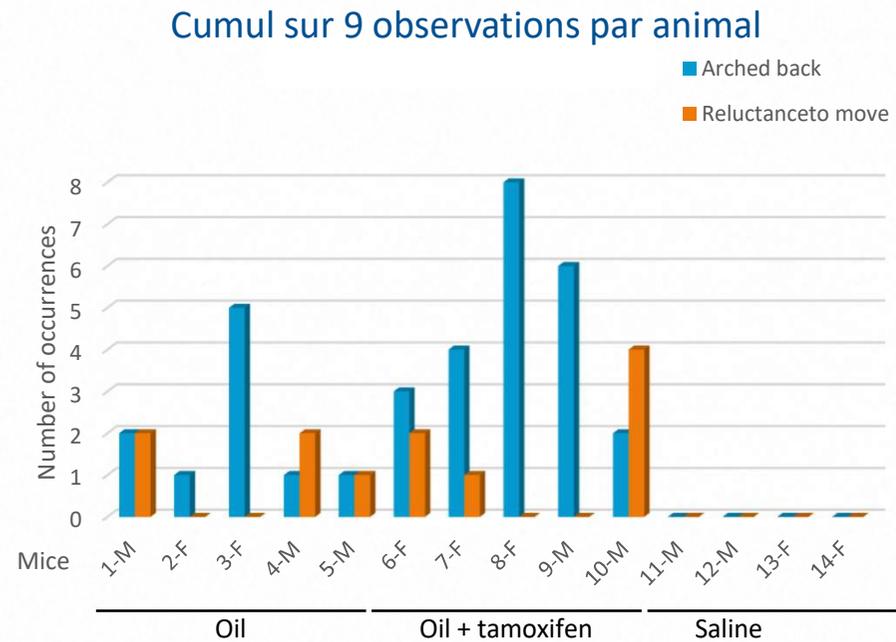
Récalcitrance à marcher



A

■ Evaluation de la douleur

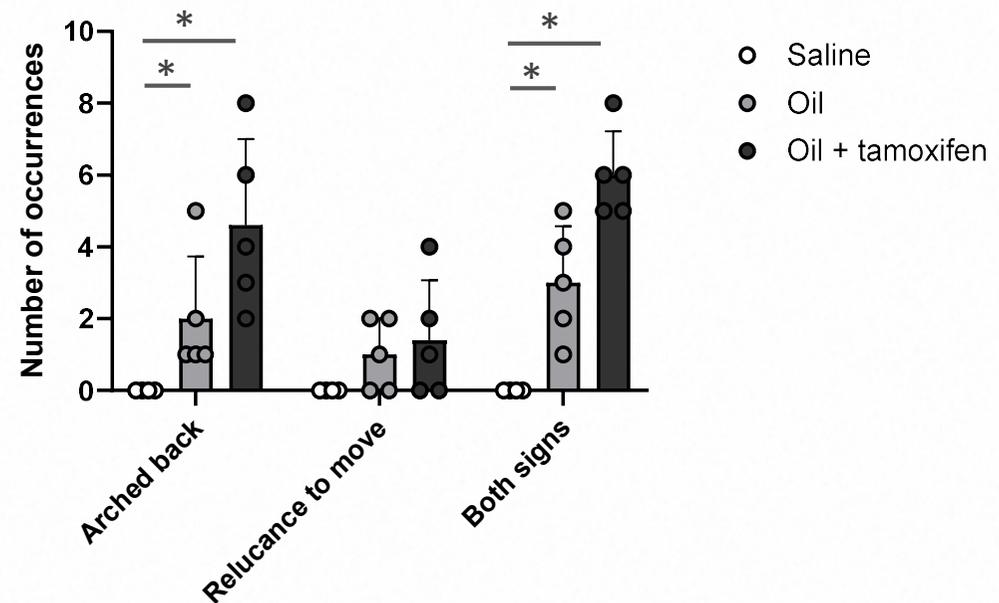
- Posture et locomotion spontanées hors de la cage
 - Voie IP, chaque jour d'observation, pour certains animaux :
 - **Dos voussé**
 - **Récalcitrance à marcher**



A

■ Evaluation de la douleur

- Posture et locomotion spontanées hors de la cage
 - ▣ Voie IP, chaque jour d'observation, pour certains animaux :
 - **Dos voussé**
 - **Récalcitrance à marcher**



▪ Evaluation de la douleur

□ Conclusion

- Seuls des animaux ayant reçu de l'huile +/- tamoxifène **par voie intrapéritonéale** ont présenté un dos voussé ou une recalcitrance à marcher
 - Ces signes cliniques étaient le plus souvent intermittents et indépendants selon les animaux et les jours

Identification de signes cliniques associés
à l'injection intrapéritonéale d'huile

■ Autopsie

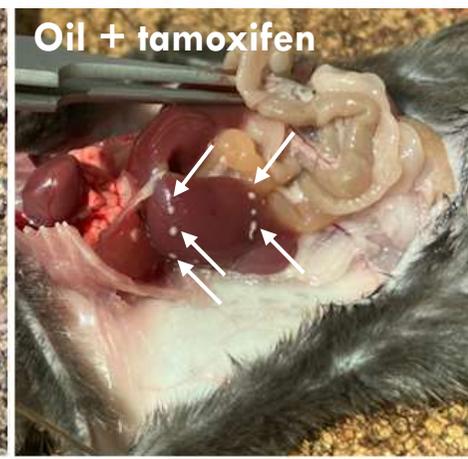
- Mâles et femelles ayant reçu une administration **par voie orale ou transdermique**
 - **Aucune observation particulière**

- Mâles et femelles ayant reçu une administration **par voie intrapéritonéale**
 - **Sérum physiologique : aucune observation particulière**
 - **Huile +/- tamoxifène : anomalies systématiques**

Résultats

Autopsie

- Injection intrapéritonéale d'huile +/- tamoxifène
 - Aspect huileux du péritoine
 - Dépôts blancs sur les organes



Autopsie

- Mâles et femelles ayant reçu une administration **par voie sous-cutanée**
 - Sérum physiologique : aucune observation particulière
 - **Huile +/- tamoxifène : anomalies systématiques**

Face interne de la peau



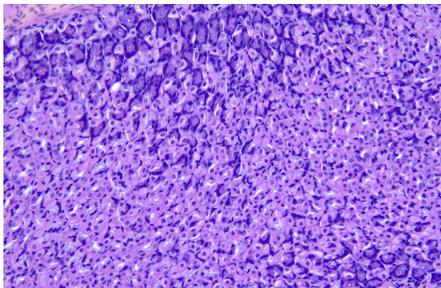
Résultats

■ Analyse anatomopathologique

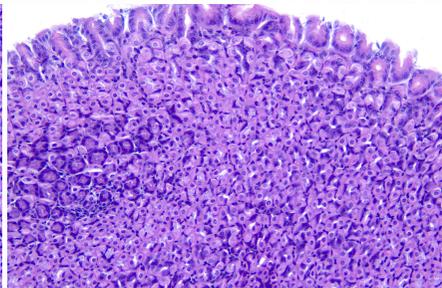
- Pour tous, analyse du foie, d'un rein et des tissus pertinents pour la voie
- Voie orale ou transdermique
 - **Aucune anomalie**

Voie orale - Muqueuse gastrique

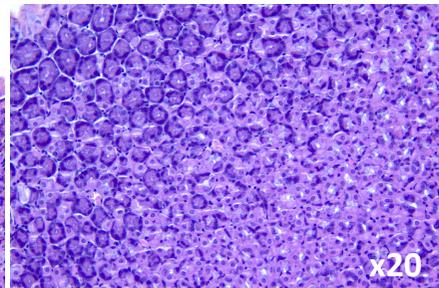
Saline



Oil

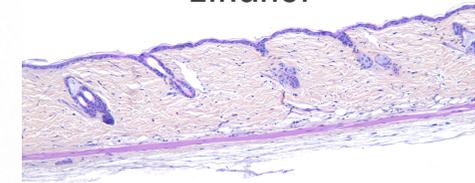


Oil + Tamoxifen

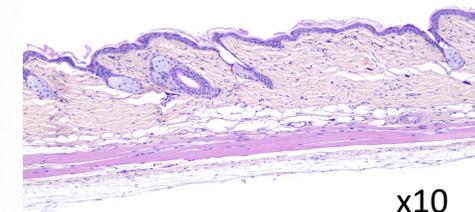


Voie transdermique
Peau

Ethanol



Ethanol + Tamoxifen



Résultats

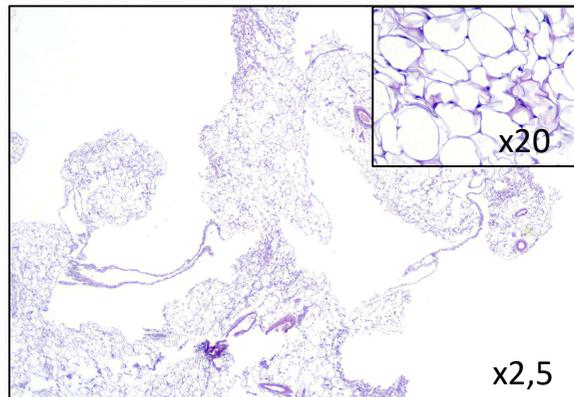
■ Analyse anatomopathologique

□ Voie intrapéritonéale

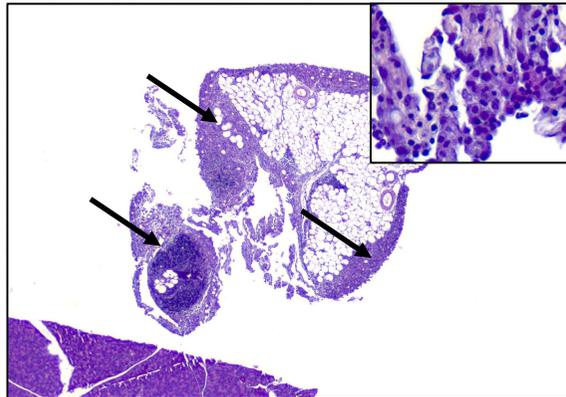
- Sérum physiologique : aucune lésion
- Huile +/- tamoxifène : lésions inflammatoires lipogranulomateuses sur l'ensemble du péritoine, chez tous les animaux

Mésentère

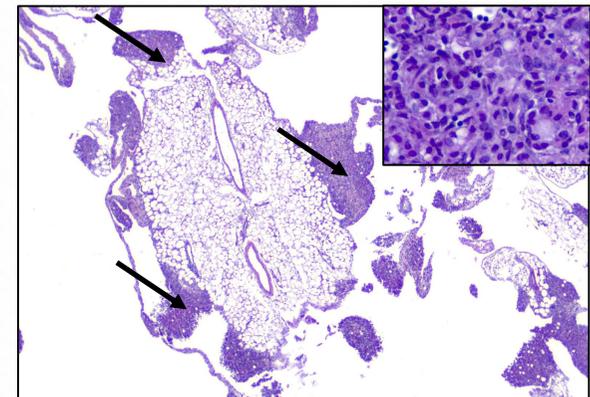
Saline



Oil



Oil + Tamoxifen



Résultats

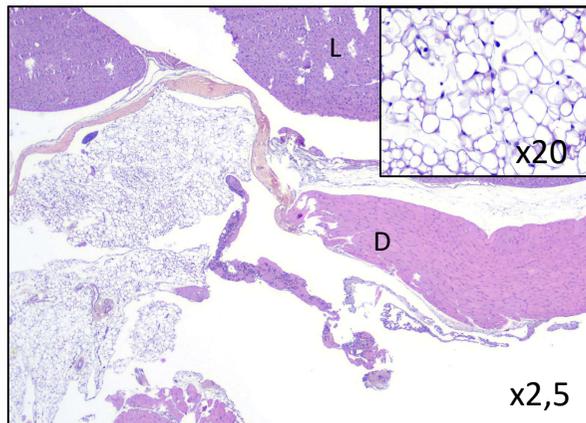
■ Analyse anatomopathologique

□ Voie intrapéritonéale

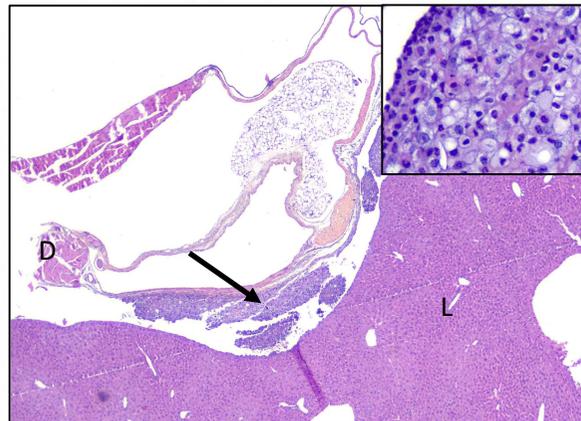
- Sérum physiologique : aucune lésion
- Huile +/- tamoxifène : lésions inflammatoires lipogranulomateuses sur l'ensemble du péritoine, chez tous les animaux

Espace foie-diaphragme

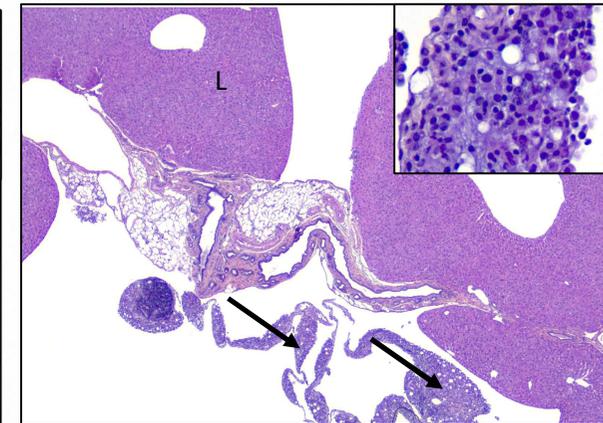
Saline



Oil



Oil + Tamoxifen



Résultats

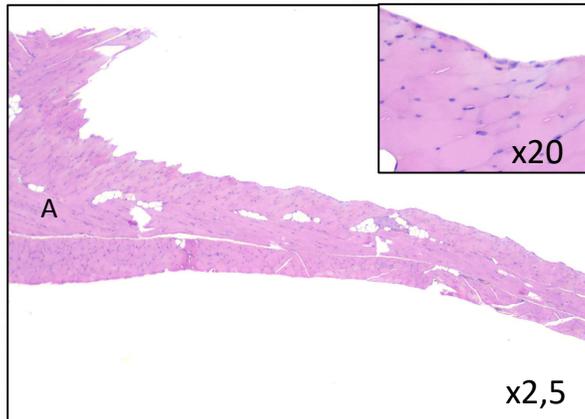
■ Analyse anatomopathologique

□ Voie intrapéritonéale

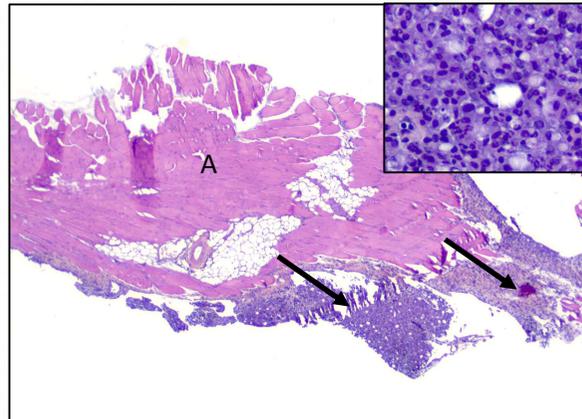
- Sérum physiologique : aucune lésion
- Huile +/- tamoxifène : lésions inflammatoires lipogranulomateuses sur l'ensemble du péritoine, chez tous les animaux

Paroi abdominale

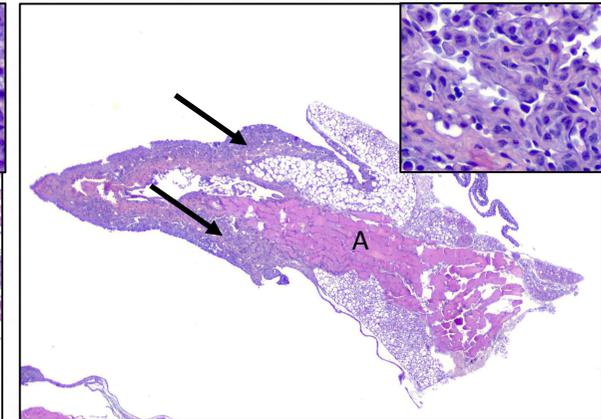
Saline



Oil



Oil + Tamoxifen



Résultats

■ Analyse anatomopathologique

□ Voie sous-cutanée

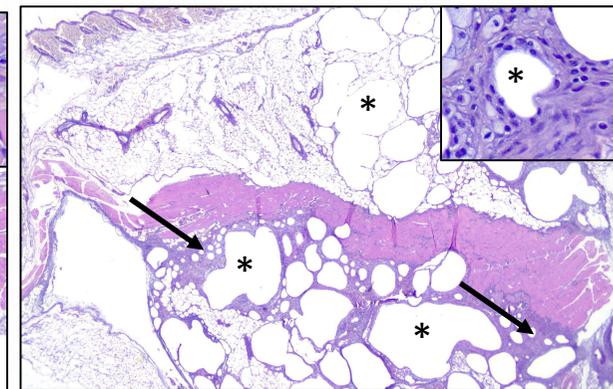
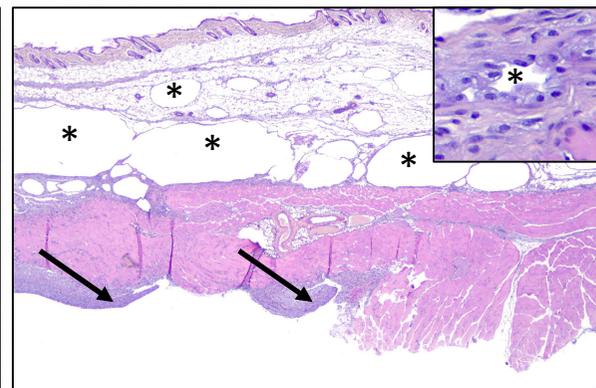
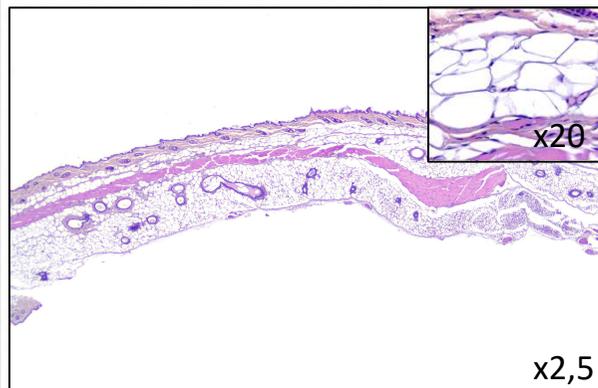
- Sérum physiologique : aucune lésion
- Huile +/- tamoxifène : lésions inflammatoires lipogranulomateuses à proximité des gouttelettes lipidiques, chez tous les animaux

Peau

Saline

Oil

Oil + Tamoxifen



*Gouttelettes lipidiques

Résultats

■ Analyse anatomopathologique

□ Scores – Echelle de 0 à 5

• Injection sous-cutanée - Inflammation

	Saline			Oil				Oil + Tamoxifen				
Skin and subcutaneous tissue	0	0	0	2	2	3	2	2	2	2	2	3

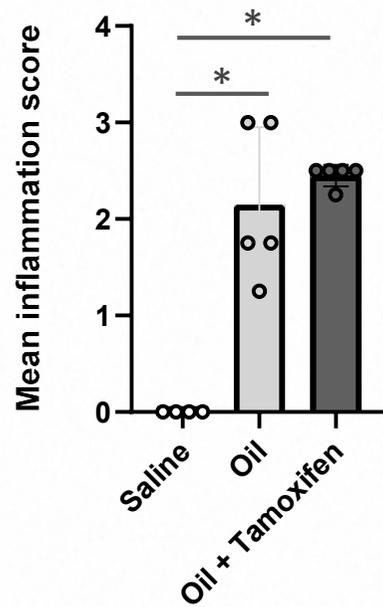
• Injection intrapéritonéale – Inflammation lipogranulomateuse

	Saline				Oil				Oil + Tamoxifen						
Mesentery	0	0	0	0	1	4	2	3	3	3	3	3	3	3	3
Liver-diaphragm space	0	0	0	0	1	2	2	2	3	3	3	2	2	2	2
Abdominal wall	0	0	0	0	1	2	1	0	3	1	1	1	2	3	3
Peripancreatic adipose tissue	0	0	0	0	2	4	2	2	3	3	3	3	3	3	2

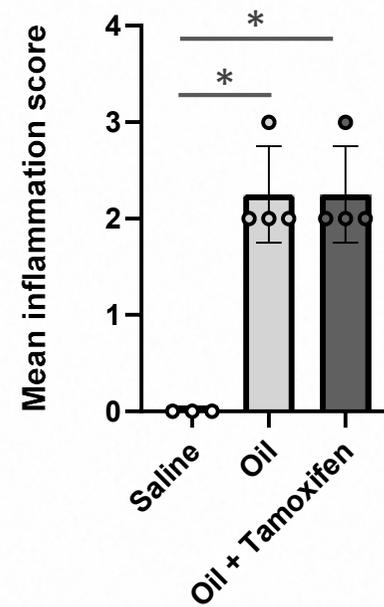
■ Analyse anatomopathologique

□ Scores – Echelle de 0 à 5

Inflammation péritonéale



Inflammation sous-cutanée



▪ Lésions macro- et microscopiques

□ Conclusion

- **Tous les animaux** ayant reçu de l'huile +/- tamoxifène **par voie intrapéritonéale** ont présenté des anomalies à l'ouverture de la cavité abdominale, correspondant à une **inflammation lipogranulomateuse généralisée du péritoine**.
- **Tous les animaux** ayant reçu de l'huile +/- tamoxifène **par voie sous-cutanée** ont présenté des bulles d'huile sous la peau, associées à une inflammation lipogranulomateuse des tissus adjacents.

- Lésions macro- et microscopiques

- Conclusion

Inflammation systématique associée
à l'injection intrapéritonéale ou sous-cutanée d'huile

Aucune lésion associée
à l'administration par voie orale ou transdermique

Résultats

■ Extraction du tamoxifène

□ Voies orale et transdermique

- Possibilité d'utiliser le tamoxifène à partir de **comprimés**
- Intérêts : grade pharmaceutique et coût réduit



7,51€ / 30 cp, soit 12,5 €/g
Ex. produit chimique : 470€/g

□ Protocole standardisé

- Broyage d'1 comprimé de 20 mg, mise en solution dans 1 ml d'huile ou éthanol absolu, vortex, agitation, centrifugation, reprise du surnageant
- Analyse en spectrométrie de masse en tandem

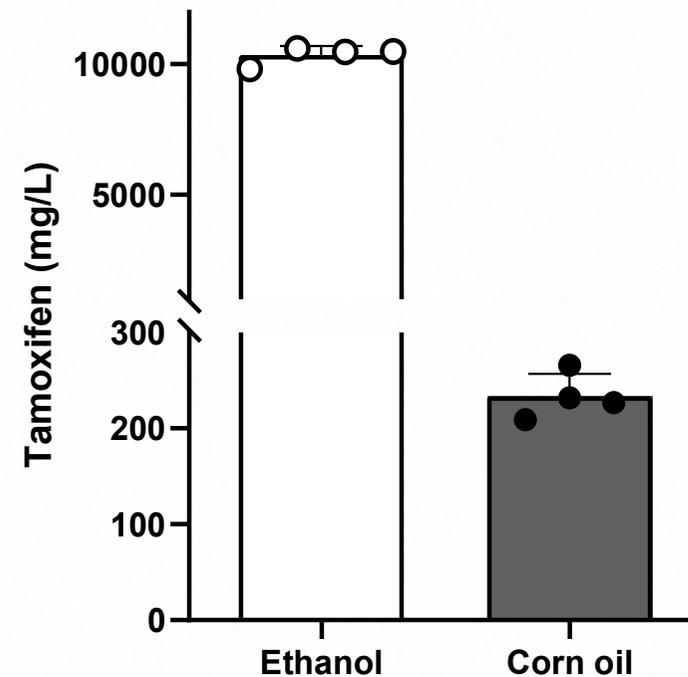
Résultats

■ Extraction du tamoxifène

- Extraction à partir de 20 mg, dans 1 ml
 - Si extraction totale : 20 000 mg/L
 - Taux d'extraction
 - Ethanol absolu : 50%
 - Huile : 1%

→ Taux d'extraction compatible avec un usage pour la voie transdermique

! Interdiction d'administrer de l'éthanol par voie orale !



▪ Take home messages

Voie intrapéritonéale (*peu fiable*)

L'injection d'huile +/- tamoxifène par voie intrapéritonéale

- induit une inflammation péritonéale généralisée et systématique,
- associée à des signes de douleur (dos voussé et récalcitrance à la marche), quantifiable à l'échelle d'un groupe et sur plusieurs jours

Voie sous-cutanée

L'injection d'huile +/- tamoxifène par voie sous-cutanée

induit une inflammation des tissus adjacents

Conclusion

▪ Take home messages

L'usage des voies intrapéritonéale et sous-cutanée pour l'administration d'huile avec ou sans tamoxifène est à risque du point de vue

- du bien-être des animaux

Douleur liée à l'inflammation

- de la reproductibilité scientifique

Risque d'interférence scientifique liée à l'inflammation



Conclusion

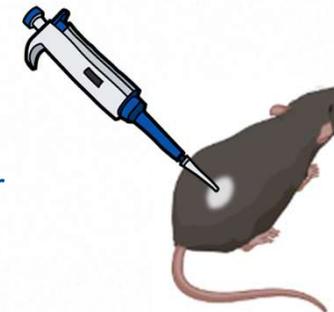
▪ Take home messages

Voies orale et transdermique

L'administration par voie orale d'huile +/- tamoxifène ou d'éthanol +/- tamoxifène par voie transdermique ne s'accompagne d'aucune lésion macro- ou microscopique, ni d'aucune gêne ou douleur objectivable, en dehors de l'instant d'administration (< 1 min)



Tout changement de protocole nécessite de valider l'effet attendu sur un petit nombre d'animaux



Perspectives

▪ Les voies orale et transdermique sont à privilégier pour l'administration de tamoxifène

- La voie transdermique est compatible avec l'utilisation de comprimés de tamoxifène
- La voie orale pourrait être raffinée par une prise spontanée
 - *Micropipette-guided drug administration* (MDA)
 - **D. Vanhecke et al., *Lab Animal*, 2024, 53:205-214**
 - MDA avec émulsion de lait concentré sucré et de tamoxifène dissout dans de l'huile
 - 3 j d'entraînement puis ajout du tamoxifène



<https://www.rodentmda.ch/>

▪ Merci !

A toute l'équipe BNMS - Génétique médicale comparée de l'EnvA



Sarah Vacherot &
Armelle Vanlerberghe



Laurent
Guillaud



Soumaya
Jadoui



- Marine Le Dudal & Morgane Pertuis
BioPôle - Unité d'anatomie pathologique, EnvA
- Catherine Vogt
École de chirurgie de Lyon, UCBL

- Fanny Magisson & Florent Raffin
IRBA, Service de santé des armées
- Laurent Decosterd & Thomas Mercier
Service de Pharmacologie clinique,
Université de Lausanne
- C2EA ComEth EnvA-UPEC-Anses

MERCI POUR VOTRE ATTENTION

Questions ?



fanny.storck@vetagro-sup.fr