Questions/Réponses du webinaire

Tamoxifène : vers des administrations respectueuses du bien-être animal et plus de reproductibilité scientifique

18 septembre 2025

Catherine Vogt et Fanny Pilot-Storck

Cette classification reprend l'ordre d'importance (pouce levé) attribué par les participants lors du webinaire.

1. En définitive, existe-t-il des situations dans lesquelles l'injection IP n'est pas remplaçable en expérimentation animale ? si non, cette voie ne devrait-elle pas être tout simplement abandonnée ?

CV : Perso j'adhère à la proposition d'abandon de l'IP.
N'étant pas usitée en médecine humaine comme vétérinaire, comme Fanny l'a rappelé, on peut faire autrement dans tous les cas.

FS : Je pense que l'IP peut rester légitime dans les cas où l'on a testé d'autres voies et que seule celle-ci permet d'atteindre le but recherché (pour des aspects pharmacocinétiques par exemple). Mais il est impératif dans ce cas que la solution injectée n'induise pas de réaction péritonéale (sauf bien sûr si la péritonite induite est l'objet de l'étude) et il me semble indispensable d'être capable de monitorer si l'injection a été réussie ou non. En effet, le taux d'échec de l'IP est de 10 à 20% en moyenne : l'interprétation de résultats parmi lesquels on est incapable de savoir qui a reçu la dose correcte ou non est très problématique sur le plan scientifique et on risque de conclure à tort qu'un traitement marche ou non selon la distribution des échecs dans les différents groupes !

Un exemple où l'IP me semble acceptable est celui des tests de tolérance au glucose et de sensibilité à l'insuline, où glucose et insuline (non irritants) sont dilués dans du sérum physiologique injectable et où l'on sait dès le premier point de mesure si la hausse/baisse de la glycémie est compatible avec une injection réussie. On peut alors exclure de l'analyse les animaux qui n'ont pas reçu une injection correcte, l'interprétation scientifique est juste.

Noter que la répétition des injections rend toute interprétation encore plus périlleuse sans ce monitorage : après 4 injections, certains animaux auront reçu 4 doses, d'autres 3, 2, 1 ou 0… Aucune analyse rigoureuse n'est possible dans ce cas et les résultats ne seront pas reproductibles.

Enfin, pour des études à visée directement translationnelle, c'est certain que l'IP ne fait pas de sens et devrait être remplacée par la voie envisagée chez l'humain.

2. Vous n'avez pas utilisé des animaux Cre-ERT2 pour vérifier l'induction ?
Non l'objectif était l'innocuité de la voie d'administration et le taux d'induction varie selon le gène ciblé.
De plus nous avons privilégié des animaux surnuméraires pour favoriser l'application des 3R.

3. L'efficacité de la recombinaison a-t-elle déjà été évaluée après application de Tamoxifène par voie transdermique ? Si oui y a-t-il des différences avec les voies d'administration plus "classiques" ?
Notre projet n'incluait pas d'étude d'efficacité ; par contre, nous avons sélectionné des voies rapportées dans la littérature et qui fonctionnent donc pour induire une recombinaison.
Pour la voie transdermique, nous nous sommes appuyées sur les travaux de l'équipe de Laurent Le Cam, directeur de recherche à l'Institut de Cancérologie de Montpellier. Une publication de leur équipe utilisant cette voie : https://doi.org/10.1038/s41467-021-27307-3
L'efficacité de recombinaison peut bien sûr varier selon la Cre-ERT2 utilisée, le locus visé et les organes-cibles donc chaque protocole de recombinaison est à valider dans ses conditions par une étude pilote préalable (incluse dans une DAP).

4. Ne faut-il pas utiliser du 4-OH-tamoxifene, plutôt que le simple tamoxifène, en sous-cutanée ou transdermique ?

Le 4OH-tamoxifène est le principal métabolite actif du tamoxifène, après métabolisation par le foie. En culture cellulaire, on doit utiliser du 4OH- tamoxifène car la métabolisation du tamoxifène ne peut se faire in vitro. In vivo, les voies utilisées sont toutes systémiques, la métabolisation sera bien réalisée. Inversement, le 4OH-tamoxifène est plus hydrosoluble, il n'est pas certain qu'il puisse traverser la peau. Enfin, le 4OH-tamoxifène n'est pas disponible en grade pharmaceutique (médicament), contrairement au tamoxifène. Donc en résumé : pas d'intérêt a priori à l'utiliser et potentiellement pas de distribution dans l'organisme. Et c'est bien le tamoxifène et non le 4OH-tamoxifène qui est utilisé par l'équipe de L. Le Cam par voie transdermique.

5. Quelles sont les recommandations pour l'administration sur les souriceaux (en première semaine de vie ?)
Sur un souriceau la voie orale comme la voie transdermique seraient à privilégier.
La voie orale est à envisager par prise spontanée à la pipette. Je vous engage à vérifier la vacuité stomacale préalablement. L'estomac plein est identifiable côté gauche et apparait blanchâtre (lait) à travers la paroi abdominale.

6. Pour une administration en néo-natal, peut-on comparer une administration (sous-cutanée) chez les nouveau-nés et une administration chez la mère ?

CV : Dans cette hypothèse il faudrait tester la persistance de la molécule dans le lait...
FS : Je ne connais pas le taux de passage des métabolites du tamoxifène dans le lait chez la souris, par contre, aux doses utilisées pour une recombinaison, il est possible voire probable que le tamoxifène arrête la lactation (Shaaban, EUROP. J. OBSTET. GYNEC. REPROD. BIOL., 1975, 4/5, 167-169 et DOI: 10.1210/endo-128-1-532). En tout état de cause, le traitement des souriceaux semble plus sûr et une étude pilote incluse dans une DAP s'impose.

7. La quantité à injecter en SC est-elle la même qu'en IP ?

La posologie reste dans le même type de fourchette de dosage. Il faut bien sûr tester car il existe des variations selon les sites. L'efficacité est souvent dose dépendante.
FS : Nous avons utilisé le même volume en IP et en SC (5 ml/kg). La conclusion de notre étude est que ni la voie IP, ni la voie SC ne doivent être utilisées pour injecter de l'huile, avec ou sans tamoxifène.

8. S'il est nécessaire de réaliser des injections à plusieurs reprises : n'est-il pas recommandé d'injecter à des endroits différents plutôt que de revenir sur le même site d'injection ?

Notre étude démontre que les voies IP et SC ne doivent pas être utilisées pour l'injection d'huile avec ou sans tamoxifène.
Pour les autres cas de figure où l'injection serait possible par ces voies, la voie sous-cutanée doit être privilégiée à l'IP car elle est fiable et moins dangereuse. Si une injection IP s'avère cependant nécessaire, il est fortement déconseillé d'injecter ailleurs que dans le quadrant postérieur droit de l'animal. La fiabilité de l'injection est encore plus faible et l'injection plus dangereuse si l'on change de quadrant (injection très probable dans le cæcum si quadrant postérieur gauche, injection dans l'estomac, intestin grêle, etc. si quadrants crâniaux). Une revue très complète sur les limites de la voie IP : DOI: 10.30802/AALAS-JAALAS-19-000081
Pour la voie sous-cutanée, si le produit est bien résorbé, il y a tout intérêt à réinjecter dans la même zone si cela permet une injection dans de bonnes conditions pour le réalisateur (la région interscapulaire est la plus adaptée pour cela). Pour vous aider, vous pouvez utiliser les barquettes de type Scruffguard.
Et si le produit est mal résorbé ou irritant, il faut envisager une autre voie.
(Pour la voie sous-cutanée, vous avez peut-être en tête que chez le chat, on prend soin de multiplier les sites d'injection des vaccins au cours de la vie. C'est un cas très particulier, lié au fait que les chats peuvent développe un fibrosarcome après plusieurs injections (même de sérum physiologique) au même endroit au fil des ans.)

9. Vous reliez ces observations à une biodisponibilité du tamoxifène plus importante par voie IP ? les doses sont-elles les mêmes pour toutes les voies ?

CV : La voie orale permet une biodisponibilité de 100%... difficile de faire davantage.
FS : nous avons administré 100 mg/kg de tamoxifène pour toutes les voies (dose classique dans la littérature).
Même biodisponibilité par voie orale ou IP pour cette molécule.

10. Est-ce que l'analyse de la peau suite à l'injection sous-cutané d'huile et de tamox ne suggère pas un massage post-injection pour éviter les "bulles d'huile" ?

CV : Le massage permettra sans doute le fractionnement des bulles qui seront moins visibles macroscopiquement, mais l'effet de l'huile sur les tissus restera identique à priori.
FS : Notre étude montre clairement que cette voie ne doit pas être utilisée pour une injection d'huile avec ou sans tamoxifène. Masser risquerait d'étaler encore plus la zone d'inflammation et ne pourrait en aucun cas supprimer cette réaction.

11. Les souris observées après injections avaient-elle été observées avant le début du protocole afin d'établir le comportement individuel ?

CV : Oui
FS : Je confirme.

12. Le temps de métabolisation dans le la circulation systémique du Tx serait d'environ 15 jours. Ainsi, si l'injection de femelles est réalisée 15 jours avant la fécondation, le Tx n'aurait plus d'effet direct sur l'embryon ou le fœtus. Quel est votre avis à ce sujet ?

Le tamoxifène donne lieu à une métabolisation très complexe, avec une persistance longue de certains métabolites. Comme évoqué diapo 9 (doi:10.1002/1873-3468.13240), certaines études relatent des effets parfois plusieurs mois après une série d'injections de tamoxifène. Il faut donc prévoir une étude pilote sur quelques animaux pour tester ce schéma dans votre projet (éventuellement en testant plusieurs doses et nombre d'administrations).

13. L'application du tamoxifène sur la peau est parfois utilisée pour favoriser une efficacité de la CreERT2 cutanée pour des modèles de tumeurs de la peau, en cherchant à limiter la diffusion systémique. Le protocole que vous proposez en transdermique a-t-il une diffusion systémique équivalente ? L'absence ou la réduction d'effet indésirable sur le scrotum des mâles n'est-il pas l'illustration d'une délivrance systémique diminuée par cette voie ?

L'absence d'œdème scrotal semble effectivement pointer vers une concentration sérique plus faible du tamoxifène par voie transdermique que par les autres voies (mais nous n'avons pas réalisé ce dosage). Cependant, encore une fois, cette voie est utilisée par certaines équipes, dont celle de L. Le Cam pour induire une recombinaison dans de nombreux organes cibles et avec différentes Cre-ERT2 et différents loci, après diffusion systémique. Dissout dans de l'éthanol absolu et déposé sur une peau tondue, le tamoxifène diffuse donc bien par voie systémique (il n'en est peut-être pas de même si vous utilisez un autre solvant).

14. Est-ce qu'il y a des études similaires pour l'administration de la DOX ?

Je ne connais que la voie orale pour la doxycycline, qui de fait n'est disponible sous forme médicamenteuse en médecine vétérinaire que pour la voie orale. En tout état de cause, cette voie fonctionne très bien, notamment après dissolution dans l'eau de boisson car c'est une molécule hydrosoluble. Il n'y a donc pas lieu a priori d'envisager une autre voie.

15. Pouvez-vous donner la référence de la publi Lacroix en transdermique ?

Volontiers : https://doi.org/10.1038/s41467-021-27307-3

16. Question plus d'ordre sécurité : Y a-t-il des précautions de sécurité particulières liées à l'utilisation du Tamoxifène pour l'utilisateur ?
Les déchets générés par les animaux sont-ils à traiter de manières particulières ?

Pour les 2 questions précédentes. Le tamoxifène étant un médicament humain, très largement utilisé depuis plusieurs décennies et sur plusieurs années pour chaque patiente, la source d'information la plus fiable à ce sujet est sans conteste dans les données du médicament, c'est-à-dire Le Vidal pour la France. Les effets indésirables du tamoxifène sont assez nombreux mais correspondent à un effet hormonal oestrogénique, lors d'une prise quotidienne sur de longues périodes. On peut retenir 4 éléments particuliers :
- Un traitement par du tamoxifène ne doit pas être entrepris pendant une grossesse et il est déconseillé pendant l'allaitement.
- Le tamoxifène peut induire dans des cas exceptionnels une réaction cutanée sévère.
- Aucune précaution particulière n'est requise pour la manipulation et l'élimination du médicament (circuit habituel de recyclage).
- Concernant un risque de cancer, la notice rapporte les éléments suivants : « Le risque d'apparition d'un cancer de l'endomètre et d'un sarcome utérin (principalement des tumeurs malignes müllériennes mixtes) est augmenté dans la population traitée par tamoxifène, comparativement à une population témoin non traitée, et justifie une surveillance gynécologique attentive (voir rubrique Mises en garde et précautions d'emploi, Précautions d'emploi, soit : avant l'initiation du traitement puis une fois par an pendant le traitement (qui est de 5 à 10 ans)). »

Il s'agit là d'un surrisque réel mais néanmoins très faible, dû à la stimulation oestrogénique continue à long terme, et non d'un effet mutagène/carcinogène propre. De fait, il est rapporté dans la section préclinique : « Selon les espèces animales et les tests employés, le tamoxifène s'est montré irrégulièrement mutagène, carcinogène et tératogène (hépatocarcinome chez le rongeur). Le tamoxifène s'est montré génotoxique lors de tests in-vitro et de tests in-vivo menés chez des rongeurs. Toutefois, en clinique, la responsabilité du tamoxifène dans la survenue de cancers hépatiques n'est pas établie. »

Il ressort de tous ces points qu'il convient de manipuler le tamoxifène avec les EPI habituels et en particulier des gants et un masque pour éviter toute ingestion ou contact. Cependant, cette molécule n'est pas mutagène chez l'être humain et ses effets indésirables sont liés à une action hormonale, lors d'une prise quotidienne au long cours. La gestion des administrations de tamoxifène et des déchets associés est évidemment à discuter avec votre service d'hygiène et sécurité, votre équipe zootechnique et votre vétérinaire référent.

17. Avez-vous connaissance où l'IP de TAM en huile stimule le système immunitaire ? Nous observons un rejet rapide des tumeurs sous cutanées MC38 dans l'ensemble de nos souris (2 génotypes différents, Cre positive ou negative). Est-ce spécifique aux mâles ? Est-ce qu'une autre voie permettrait d'améliorer ?

Nous observons une réaction inflammatoire forte avec injection d'IP d'huile, avec ou sans tamoxifène. Avez-vous vu pu discriminer un effet de l'huile seule ou était-ce bien un effet du tamoxifène ? Si l'huile seule suffit, l'effet que vous observez est très certainement lié à cette inflammation non spécifique très étendue (la surface du péritoine est à peu près équivalente à la surface corporelle totale). Si c'est un effet spécifique du tamoxifène, savez-vous si ces tumeurs sont ER+ ? N'hésitez pas à faire une biblio exhaustive des effets du tamoxifène dans votre domaine, des effets ont été décrits dans de nombreux contextes.
Pour rappel, notre étude montre que seules les voies orale et transdermique sont acceptables pour l'administration de tamoxifène.

18. Quelle est la dose maximum possible pour l'administration par voie orale ?

En génétique de la souris, les doses classiquement utilisées sont extrêmement élevées par rapport aux doses thérapeutiques utilisées en médecine humaine (comprimés de 10 ou 20 mg). Nous avons utilisé la dose classique de 100 mg/kg (soit 2,5 mg pour une souris de 25g, un quart de la dose pour un être humain !). Généralement, quand on considère qu'un locus est difficile à recombiner, on multiplie les administrations plus que l'on augmente la dose mais je ne peux pas vous indiquer de dose maximale. Mais retenez que la dose utilisée ici est déjà extrêmement élevée.

19. Est-il possible d'avoir le protocole pour doser le tamoxifène ?

Il s'agit d'une analyse en spectrométrie de masse en tandem par un plateau technique spécialisé. Je vous invite à vous rapprocher d'un service hospitalier de pharmacologie, habitué à doser les substances actives chez les patients.

20. Pouvez-vous partagez le papier avec le lait concentré ?

Volontiers : https://doi.org/10.1038/s41684-024-01409-z

21. D'un point de vue éthique quelles limites seraient-elles à préconiser selon toi concernant l'administration par gavage > nombre / fréquence...

Pour l'administration de tamoxifène, les schémas les plus classiques sont de 3 à 5 administrations sur une semaine, quelques fois répétés sur la semaine suivante (mais avec quel niveau de preuve de cette nécessité ? Pas sûr que des études pilotes justifient toujours ce nombre). Ce nombre, si le geste est bien maitrisé, est tout à fait acceptable sur le plan éthique, sachant que la gêne est très courte et le risque de blessure faible. Et bien sûr, une prise spontanée est une alternative encore plus satisfaisante sur le plan éthique.

22. Pour la voie transdermique ou MDA (Micropipette-guided drug administration) sans induction de phénotype dommageable pourraient ne pas être soumises à autorisation : "sous le seuil" donc pas de DAP ?

Non, une DAP est nécessaire. Pour la voie transdermique, il y a une gêne d'environ 1 min à chaque contact avec l'éthanol (les animaux n'aiment pas ce contact froid) ; il y a donc une gêne légère. Et la MDA nécessite un apprentissage des souris sur plusieurs jours, avec un gavage au départ. Il faut donc considérer un stress ou une gêne légère pour les deux.
D'autre part, il faut tenir compte des effets potentiellement dommageables de la recombinaison que l'on induit.

23. Commentaire : Nous administrons le tamoxifène par gavage en routine. Pour des questions de bien-être animal, nous avons essayé la prise spontanée en diluant le tamoxifène dans du lait concentré sucré. Nous avons rencontré 2 problèmes : la difficulté de dissolution du tamoxifène dans le lait concentré sucré et le refus d'avaler le lait concentré + tamoxifène (qui doit avoir un mauvais goût). Nous avions précédemment fait une habituation avec du lait concentré seul.

Merci pour ce retour d'expérience. La préparation de l'émulsion dans l'article de Vanhecke et al. est de fait assez complexe. Et l'habituation des animaux à la MDA est apparemment différente selon les souches. Le partage d'expérience avec les équipes qui y arriveront sera précieux !
Une autre piste pourrait être le lait d'amande, gras et très apprécié des souris (expérience personnelle de CV). Nous n'avons cependant pas testé l'administration de tamoxifène dans ce contexte.

24. Selon le tissu ciblé les injections autres que IP peuvent être moins efficaces pour l'expression de la CRE malheureusement

Rien n'est impossible en biologie mais en l'occurrence, la biodisponibilité et la cinétique doivent être quasiment identiques entre voie orale (par gavage ou MDA) et voie IP pour le tamoxifène. Si vous avez documenté une efficacité différente entre ces 2 voies, nous sommes preneuses de l'information et il faut que vous le publiiez (**Short Note du FC3R** par exemple). (Pour rappel, la voie orale par des croquettes donne lieu à une cinétique très différente, ce n'est pas équivalent à une administration par gavage ou MDA.)

25. Vous ne pouvez donc pas dire si une voie est meilleure qu'une autre pour induire la Cre ? Ce qui est tout de même le but final de l'administration de TAM

FS : Notre étude s'est basée sur des voies validées par des publications. Etudier l'innocuité de ces voies a été une étude en soi. Pour l'efficacité, c'est à chacun de tester le schéma d'administration efficace selon sa combinaison de Cre-ERT2, de locus à recombiner et d'organe-cible (nombre d'administration, voie orale vs transdermique, etc). Un schéma d'étude pilote (à inclure dans une DAP) pourrait par exemple être de tester votre protocole habituel en parallèle de la voie orale et/ou transdermique, avec 3 ou 5 administrations, avec 4 animaux par groupe. Attention à bien réaliser les traitements de manière randomisée et l'analyse en aveugle.

26. Des études anatomo-pathologiques ont-elles été réalisées sur les organes cervicaux après des gavages répétés ?

CV : Non. Une publication fait état d'une apoptose des cellules stomacales, non retrouvée dans notre étude.

FS : L'analyse anatomopathologique a été faite sur l'œsophage (portion thoracique), l'estomac et le duodénum proximal. Aucune lésion n'a été retrouvée sur ces différents organes, quel que soit le sous-groupe. Concernant la région cervicale, aucun animal n'a manifesté de gêne et encore moins de douleur à partir de la semaine de gavages. Aucun animal n'a vu son poids décliner. Enfin, à l'autopsie, la région cervicale ne présentait aucune anomalie.

Noter que les gavages, comme toutes les autres administrations, ont été réalisés par une personne très compétente sur ce geste et qu'aucun incident n'a eu lieu lors de ces gavages.