

# DOSE LÉTHALE 50 DE L'ÉTHANOL INFLUENCE DE LA TEMPÉRATURE, DE LA VOIE D'INTRODUCTION ET DES RÉGIMES

par H. Malamah THOMAS et J. TRÉMOLIÈRES.

(Laboratoire de Nutrition Humaine, Hôpital Bichat, Paris-18<sup>e</sup>)

Les effets de l'éthanol sur l'organisme pluricellulaire sont bien connus dans les conditions dites physiologiques, c'est-à-dire à des doses inférieures à 2 g/kg sur l'animal bien nourri et non accoutumé. Tous les travaux du siècle dernier (1) et la plupart des travaux fondamentaux plus récents (2, 3, 4, 5, 6, 7, 8) ont été faits avec des doses physiologiques. Thomas, en 1898, montre que la réserve alcaline et le  $\text{CO}_2$  plasmatique diminuent de moitié par élévation des corps cétoniques lorsque l'alcool est administré à des doses élevées. Dans les mêmes conditions, Himwich (9) observe une chute du pH plasmatique de 7,41 à 7,22.

Deux revues générales récentes ont été consacrées aux conditions et mécanismes de la toxicité de l'alcool par Kalant (10) et Trémolières et Lowy (11). La conclusion de ces revues est que la toxicité chronique de l'éthanol à l'échelon cellulaire semble liée à une activation de la RNase, des nucléotides servant de substrat au système de la xanthine-oxydase-catalase oxydant l'alcool. Ce système a été mis en évidence pour la première fois, *in vivo*, par Trémolières et Carré (12). L'activation de la RNase va de pair avec un abaissement du taux de l'ARN dans le pancréas pouvant, dans certaines conditions, amener à une nécrose, Trémolières, Carré, Scheggia Potet et Martin (13). Elle va de pair avec un catabolisme azoté et une production d'extra-chalear. Le processus déclenchant l'activation de la RNase (Griffaton) n'est pas connu. L'élévation du rapport NADH/NAD (Griffaton) (Dalziel et Dickinson) (Slater et coll.) (Smith et Newman), la diminution de l'activité des inhibiteurs de la RNase, la fragilisation des lysosomes, le changement du milieu ionique sont des mécanismes possibles mais qui restent hypothétiques. On connaît donc assez bien les séries de processus biochimiques qui sont à la base des lésions tissulaires produites par l'alcool. Les modifications structurelles et les lésions biochimiques produites par l'éthanol au niveau des mitochondries et des organites cellulaires ont été bien élaborées par les travaux de Kiessling (14).

On connaît mieux encore les processus biochimiques et physiologiques liés à la métabolisation de l'alcool dans les conditions physiologiques depuis les travaux de Gerhan (2), Nicloux (6), Widmark (8), Dontcheff (15). Oxydé par l'alcool déshydrogénase (ADH) enzyme comportant du zinc et NAD avec un poids moléculaire de 73 000 chez le cheval et chez l'homme, localisé essentiellement dans le foie (Theorell et Bonnichsen, *Acta Chem. Scand.*, 5 : 1105, 1951), l'éthanol fournit 7 calories par gramme (16) (17) (18) (19), utilisable pour le métabolisme basal, c'est-à-dire épargnant les autres nutriments jusqu'à une quantité correspondant en moyenne à la moitié des dépenses basales, Dontcheff (15). Cette oxydation sans action dynamique spécifique est un peu accélérée par les régimes pauvres en graisse et ralentie par le jeûne et par les régimes riches en graisse. Miller et Stirling (20) trouvent qu'un régime de 1 000 Kcal, donné aux sujets normaux une heure après administration de l'éthanol, augmente de façon significative la vitesse maximum de l'oxydation de l'alcool. Le froid, Le Breton (21), l'exercice musculaire, Barnes et coll. (22) n'augmentent pas la vitesse d'oxydation de l'alcool.

Deux revues générales récentes ont mis au point les données actuelles sur la biochimie de l'oxydation de l'éthanol (Trémolières, Lowy et Griffaton) et la physiologie de l'oxydation de l'alcool (Trémolières et Carré).

Le problème de la toxicité aiguë de l'alcool n'a pas été abordé que plus superficiellement. Les doses léthales 50 semblent assez largement variables. La DL 65 par gavage chez le chien est 9,5 g/kg, soit 48 ml/kg d'une solution à 25 % (Klingman et Haag) et de 7,5 g/kg, soit  $9,6 \pm 1,6$  ml d'alcool absolu/kg par voie intraveineuse. Les auteurs observent que 65 % des chiens survivent moins de 12 heures après l'administration de l'éthanol donné *per os*. La DL 50 par voie intra-veineuse est 4,18 g/kg chez le rat, et 2,37 g/kg chez le cobaye (Trémolières et Lowy). La dose léthale 100 de l'éthanol absolu chez l'homme est 300 g, Gervais (23). La DL 50 de méthanol est 4 g/kg par injection intra-péritonéale chez la souris, Hassan et coll. (24).

Les facteurs de cette variabilité n'ont pas été étudiés. L'étude des conditions dans lesquelles l'alcool met en jeu les processus menant à la mort et celle des facteurs susceptibles de les modifier est l'objet de notre travail.

Nous avons étudié les facteurs susceptibles de faire varier la DL 50 : espèces, souches, voies d'introduction, température, régime antérieur.

Nous avons pu, par ailleurs, mettre en évidence des phénomènes de protection par injection préalable de doses subtoxiques et montrer le rôle probable de la cortisone dans cette protection.

Enfin, nous avons dans un autre travail (25) étudié les concentrations d'alcool dans divers tissus après la DL 50 et les répercussions sur l'équilibre hydro-électrolytique de cette présence d'alcool.



## RÉSULTATS

## I. — Influence de la voie d'introduction

## A) DL 50 chez la souris par voie sous-cutanée.

Nous avons utilisé 325 souris blanches de race Swiss auxquelles nous avons injecté des doses croissantes d'alcool entre 5 g par kg de poids de souris et 30 g/kg. Les animaux ont été répartis en lots de 10. La quantité d'alcool à injecter a été calculée de façon à avoir 0,5 ml de solution par 20 g de poids de souris (sol. à 50 %). Nous avons cependant été obligés, pour des doses plus élevées, d'injecter 1,0 ml de solution par 20 g de poids de souris (solution à 25 %).

Tableau I

DL 50 de l'éthanol chez la souris  
(Lots de 10)

Dose g/kg	% Mortalité (moyenne)
5	0
7,5	40
8	40
10	49,7 ± 7,27
12,5	67
15	68
17,5	100
20	100
30	100

Les injections sous-cutanées sont faites à la face antérieure de la cuisse des souris. Nous constatons que pour ces 18 expériences faites, 13 d'entre elles donnent une mortalité moyenne de 50 % après l'injection d'une dose d'éthanol de 10 g/kg. Ce pourcentage reste au-dessous de 40 % pour 3 expériences et pour 2 expériences, il est au-dessus de 70 %. Le pourcentage exact donné par la dose de 10 g/kg pour 18 expériences (155 animaux) est : 49,7 ± 7,27.

Tableau II

DL 50 de l'éthanol chez la souris  
ÉTHANOL A 10 G/KG

% Mortalité	Nombre d'expériences	Nombre d'animaux total	Température moyenne °C
50	3	30	22,6
40	5	45	23,9
60	3	25	23
70	1	10	22
30	1	10	25
80	1	10	24,5
90	1	10	24
42	1	7	25
20	1	5	23
33	1	3	25
TOTAL	18	155	

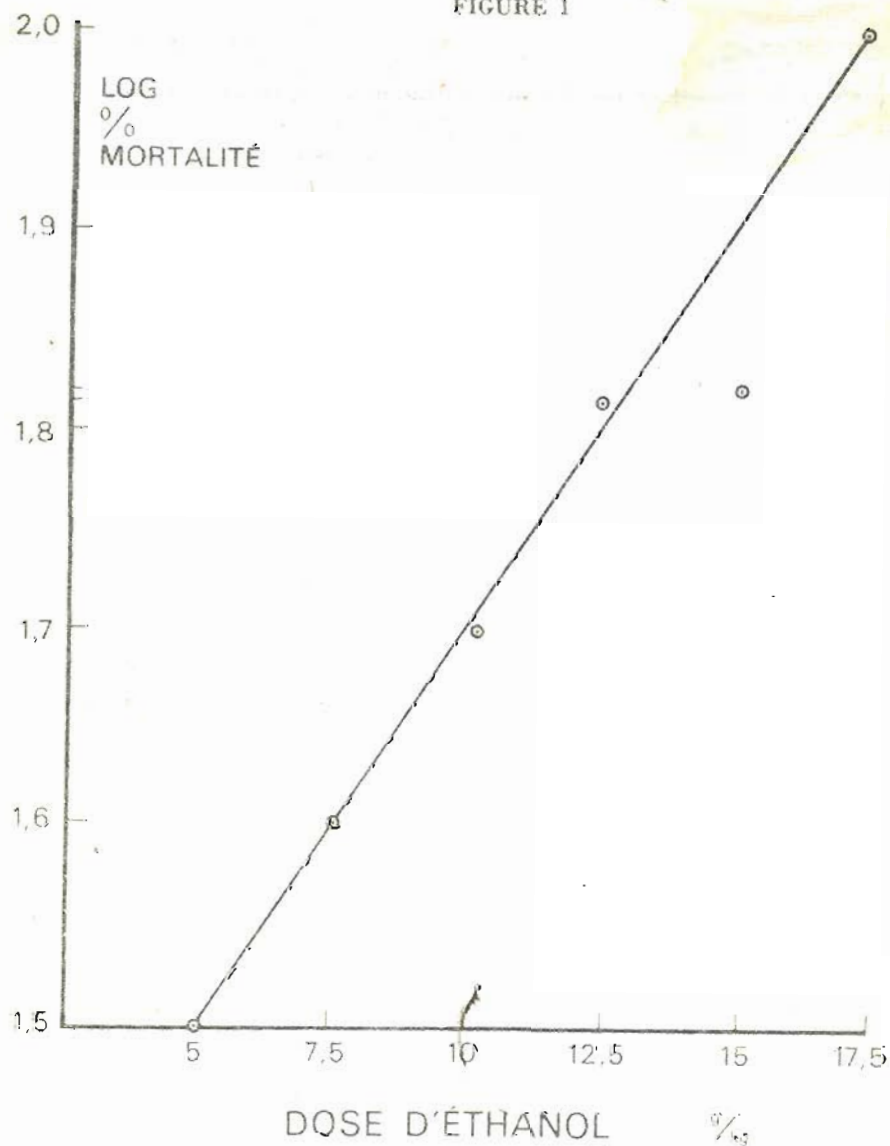
Il est cependant intéressant de noter que nous n'avons eu aucune mortalité pour la dose de 5 g/kg. Avec des doses allant jusqu'à 15 g/kg, la mortalité ne dépasse pas 80 %, tandis qu'à partir de 17,5 g/kg, celle-ci s'élève à 100 %. La mortalité en pourcentage est proportionnelle à la dose.

Les animaux sont nourris au ratigène, régime synthétique commercial, *ad libitum*. Ils ne sont pas soumis au jeûne avant les expériences.

Il y a eu quelques fluctuations de température dans l'animalerie, mais celle-ci est en général de 23 °C  $\pm$  1,5.

Les animaux sont groupés par poids, par sexe et, autant que possible, par âge. Ils sont pesés quotidiennement plusieurs jours avant l'expérience et cinq jours après. Nous avons établi le pourcentage de mortalité 24 heures après l'injection. Nous avons constaté une chute de poids chez les survivants 24 heures après cette injection, puis une remontée 48 heures après qui ne cesse pas de croître jusqu'au cinquième jour. Mais ces survivants n'atteignent jamais les mêmes poids que les témoins. Quelquefois un survivant meurt durant les quatre derniers jours. Généralement son poids diminue alors de façon notable jusqu'à la mort. Mais nous avons observé également qu'un petit nombre a augmenté de poids avant de mourir.

FIGURE 1



B). DL 50 d'éthanol chez le rat par voie sous-cutanée.

La méthode précédente employée pour déterminer la DL 50 chez la souris est longue et laborieuse. Il faut une très grande quantité d'animaux et il faut attendre 24 heures pour les résultats d'une expérience avant d'essayer une deuxième dose.



Nous avons essayé cette méthode chez les rats Wistar. Les injections sont faites par voie sous-cutanée dans le dos de l'animal. Nous n'avons pas eu de résultats reproductibles. Le pourcentage de mortalité chez le rat après l'injection de l'éthanol par voie sous-cutanée suit la loi du tout ou rien.

Tableau III

## DL 50 de l'éthanol chez le rat

I.P. = voie intra-péritonéale

S. cut. = voie sous-cutanée

A 29 °C					
Dose g/kg	Nombre d'animaux injectés		Mort 24 h.	% Mortalité	Poids moyen (grammes)
3	36	I.P.	11	30	303
3	13	S. cut.	0	0	388
3,5	8	S. cut.	0	0	415
4	6	S. cut.	5	83	361
10	6	S. cut.	1	16	209
A 23 °C					
10	6	S. cut.	1	16	180
15	6	S. cut.	1	16	270
5	8	I.P.	0	0	233

## C) DL 50 chez la souris et chez le rat par voie intra-péritonéale

Nous avons appliqué la méthode de Robbins et Monro (26). La méthode a été mise à l'épreuve par Cochran et Davis (27) (28) (29). Hawkins (30) est le premier à appliquer cette méthode dans des expériences de toxicité en séquence. Les avantages de cette méthode sont a) l'économie maximum des produits et des animaux ; b) la possibilité d'avoir une estimation de la DL 50 dans n'importe quelle étape de l'expérience. Les désavantages sont : 1° l'attente des résultats sur un groupe d'animaux avant de faire le test suivant ; 2° le manque d'une méthode précise pour déterminer la marge d'erreurs.

La formule de Robbins et Monro repose sur l'étude des effets séquentiels de doses croissantes. Elle n'est applicable qu'à partir d'une estimation préalable de la DL 50.

$$X_{n+\frac{1}{2}} F = X_n - \frac{2 \pi s}{n} (p_n - 1/2)$$

où

$X_1$  est une estimation du logarithme de la DL 50 inconnue,

$s$  une estimation de l'écart-type ( $\sigma$ ),

$p$  la proportion de mortalité,

$X_n + 1$  le logarithme de la dose suivante qu'il faut essayer,

$n$  le nombre d'étapes (1, 2, 3, 4, 5, etc.).

Après 8 étapes, nous avons comme valeur de la DL 50 : 5,74 g/kg.

Nous avons vérifié la dose en injectant 8 rats avec de l'éthanol à 5,75 g/kg

Nous avons eu 4 morts sur 8 (50 %).

Tableau IV

DL 50 — Éthanol

Rats mâles Wistar. Voie intra-péritonéale, 23 °C  
Méthode Robbins-Monro

n		$X_n$			23 °C	$X_{n+\frac{1}{2}} F$		$\sigma$
Etape	Dose g/kg	Log. dose	Nombre d'animaux injectés	Mort	p Proportion	Log. dose	Dose suivante	Ecart type théorique
A <sub>1</sub>	10	1,0000	3	3	1,00	0,8745	7,49	0,1
A <sub>2</sub>	7,5	0,8751	3	3	1,00	0,7496	5,618	0,1
A <sub>3</sub>	5,62	0,7497	3	0	0,00	0,8124	6,49	0,05
A <sub>4</sub>	6,50	0,8129	3	3	1,00	—	—	—
1	6,00	—	3	2	0,66	0,7582	5,73	0,01
2	5,70	0,7559	3	1	0,33	0,7665	5,84	0,01
3	5,84	0,7665	3	2	0,66	0,7599	5,75	0,01
4	5,75	0,7599	3	2	0,66	0,75	5,74	—

Chez la souris, la dose létale 50 est de 6,79 g/kg. Pour la confirmation de la dose, nous avons injecté cette dose à des souris de même race,

mais d'une souche différente et nous avons eu 5 morts sur 8 (62,0 %). Toutes ces expériences sont faites à une température de 23 °C.

Tableau V

## DL 50 de l'éthanol

Souris femelles Swiss, intra-péritonéale, 23 °C  
Méthode de Robbins-Monro

Etape n	Dose g/kg	Log. $X_n$ dose	Nombre d'animaux injectés	Mort	p Proportion 23 °C	Log. dose $X_{n+1}$	Dose suivante	Ecart type théorique $\sigma$
1	5,75	0,7599	3	0	0,00	0,8226	6,64	0,01
2	6,64	0,8226	3	2	0,66	0,8126	6,49	0,01
3	6,49	0,8126	3	0	0,00	0,8168	6,56	0,01
4	6,56	0,8168	3	0	0,00	0,8199	6,66	0,01
5	6,66	0,8199	3	0	0,00	0,8152	7,85	0,3
6	7,85	0,8952	3	3	1,00	0,8326	6,80	0,01
7	6,80	0,8326	3	2	0,66	0,8298	6,75	0,01
8	6,75	0,8298	3	1	0,33	0,8324	6,79	—

## En conclusion :

1° La DL 50 par voie intra-péritonéale à 23 °C est de 6,7 g/kg pour la souris et 5,7 g/kg pour le rat.

2° La voie sous-cutanée ne paraît utilisable que pour la souris pour qui la DL 50 est alors de 10 g/kg. Pour le rat, les irrégularités de diffusion donnent des résultats mal reproductibles.

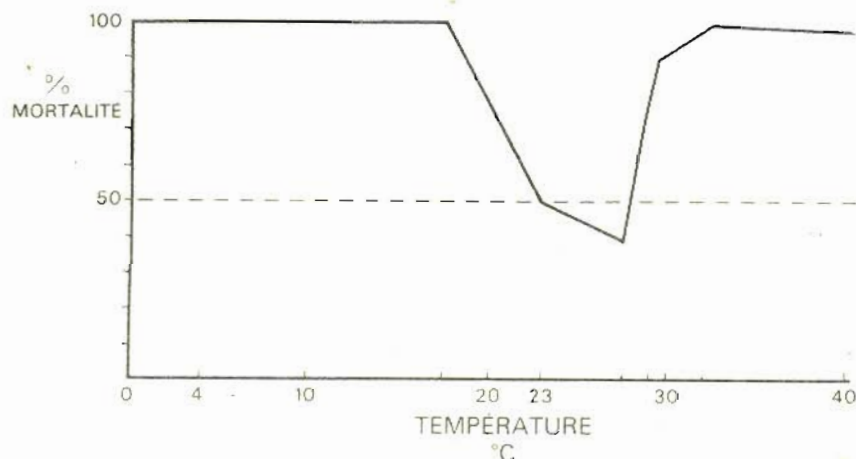
## II. — Effets de la température

Le coefficient de diffusion et la vitesse de combustion, facteurs déterminant la toxicité de l'éthanol, sont eux-mêmes modifiés par la température, Nicloux (31). La vitesse de diffusion de l'éthanol dans l'organisme varie selon la voie d'introduction (Le Breton, 32). Nous avons étudié l'influence de la température sur la DL 50 de l'éthanol chez la souris et chez le rat.



A) *Souris*

Nous avons fait des injections sur 119 souris femelles, de race Swiss, d'un poids moyen de 25 à 28 g, par voie sous-cutanée. Les doses d'éthanol variaient de 5 g/kg à 10 g/kg à la température de 29 °C. Les injections sont faites sur d'autres animaux à 4 °C, à 17 °C, à 27 °C et à 32 °C. Le pourcentage de mortalité est établi 24 heures après l'injection.



La mortalité selon la température extérieure, est présentée dans la figure 2. La mortalité après injection d'éthanol (10 g/kg) chez la souris est 100 % pour les températures inférieures à 17,5 °C, puis elle baisse progressivement. A 23 °C, elle est de 50 %, ensuite de 40 % à 26,5 °C. Puis elle se lève rapidement à 80 à 29 °C pour atteindre 100 % à partir de 32 °C. En somme la mortalité s'élève lorsqu'il existe une thermogénèse de réchauffement ou lorsque la thermolyse devient difficile.

B) *Rats*

Nous ne sommes pas arrivés à déterminer la DL 50 de l'éthanol après l'injection par voie sous-cutanée chez le rat, probablement du fait des irrégularités de diffusion. Nous avons employé la méthode de Robbins-Monro (26) pour chercher la DL 50 par voie intra-péritonéale. Les animaux sont mis à température contrôlée au moins 2 jours avant l'injection.

Nous avons trouvé une DL 50 de 4,82 g/kg à 29 °C, après 6 étapes. Pour chaque étape il y a un lot de 3 rats. A 23 °C, la DL 50 fut de 5,7 g/kg.

Tableau VI

Influence de la température sur la DL 50 de l'éthanol,  
sur le rat (29 °C)

Etape n	Dose g/kg	Log. dose $X_n$	Nom- bre d'ani- maux injec- tés	Mort	P Propor- tion 29 °C.	Log. dose $X_{n+1} \neq$	Dose sui- vante	Ecart type théo- rique $\sigma$
1	5,0	0,6990	3	2	0,66	0,6589	4,56	0,1
2	4,5	0,6532	3	0	0,00	0,6845	4,83	0,05
3	4,8	0,8812	3	2	0,66	0,6745	4,72	0,05
4	4,7	0,6721	3	0	0,00	0,6877	4,87	0,05
5	4,7	0,6721	3	0	0,00	0,6877	4,87	0,05
6	4,87	0,6877	3	2	0,66	0,6832	4,82	—

#### En conclusion

La température extérieure modifie la DL 50 de deux façons :

Lorsqu'elle s'abaisse à 4 °C, la thermogénèse de réchauffement intervient. La DL 50 s'abaisse sur la souris. Chez l'homme, la tolérance à un abaissement de la température centrale est accrue par de fortes dose d'alcool. Il y a probablement là deux phénomènes. A 4 °C la thermogénèse de réchauffement joue activement et maintient la température centrale en accroissant l'oxydation des graisses. Dans ces conditions, la toxicité de l'alcool est accrue. Si le froid extérieur est plus grand, submergeant les possibilités de la thermogénèse, l'alcool supprime des réactions nerveuses cause de la mort.

Lorsque la température extérieure dépasse la neutralité thermique, la toxicité de l'alcool s'accroît. Nous avons vérifié sur le rat que, à 29 °C, sous l'influence d'une DL 50 d'éthanol (i.p.), la température centrale s'élève et la mort survient avec hyperthermie.

#### III. — Influence du régime

Les régimes sont contrôlés deux semaines avant l'injection d'éthanol par voie sous-cutanée à 32 °C. Les deux régimes étudiés sont :

- a) un régime gras contenant 43 % de lipides,  
 b) un régime moins riche en lipides, mais cependant deux fois plus riche en lipides que le « ratigène » des lots précédents.

Tableau VII

## Composition des régimes (en g/100 g)

Régimes	Témoin	Gras
Farine + 1/20 de son .....	64,5	21
Caséine .....	28,5	33
Beurre .....	4	43
Mélange salin (1) .....	3	3
Mélange vitaminique B (2) .....	25 mg	25 mg
Vitamine A .....	715 U.I.	0
Vitamine D <sub>2</sub> .....	140 U.I.	0
°/° de protides .....	32	32
°/° de lipides .....	5	37,5
Valeur calorique .....	360	521

(1) Composition de 1 000 g de mélange salin : citrate trisodique 186,6 g ; citrate tripotassique 129 g ; phosphate bipotassique 286 g ; phosphate tricalcique 123 g ; carbonate de magnésium 33,3 g ; carbonate de calcium 218 g ; sulfate de magnésium 24 g.

(2) 25 mg du mélange de vitamine B comprennent : 1,5 mg de thiamine ; 1,5 mg de riboflavine ; 1 mg de pyridoxine ; 2,5 mg d'acide pantothénique ; 5 mg de vitamine PP ; amidon q.s.

Tableau VIII

## Mortalité (°/°) de la souris suivant la dose d'éthanol injecté par voie sous-cutanée à 29 ° C.

Dose g/kg	°/° Mortalité
5	10
7,5	34
8	40
8,5	54
9,0	62
10,0	85

Le tableau VIII montre la courbe de mortalité chez la souris après l'injection de doses d'éthanol allant de 5 g/kg à 10 g/kg. La mortalité de 50 % est obtenue avec une dose de 8,5 g/kg prise comme DL 50 à 29 °C.



*En conclusion*

La DL 50 est abaissée dans ces conditions sur les souris en régime semi-synthétique plus riche en lipides.

## CONCLUSIONS

1° La DL 50 de l'éthanol varie considérablement suivant deux facteurs principaux : la voie d'introduction et la température extérieure (tableau IX).

Tableau IX

La DL 50 de l'éthanol selon la température et la voie d'introduction

	Température	DL 50 g/kg	Voie d'injection	Méthode
SOURIS	23 °C	10	s. cutanée	directe
SOURIS	29 °C	8.5	s. cutanée	directe
SOURIS	23 °C	6.78	i. p.	Robbins-Monro
RAT	23 °C	5.7	i. p.	Robbins-Monro
RAT	29 °C	4.82	i. p.	Robbins-Monro
RAT	23 °C	indéterminable	s. cutanée	directe
RAT	29 °C	indéterminable	s. cutanée	directe

2° Lorsque la température extérieure est trop basse ou lors que la température extérieure dépasse la neutralité thermique, la toxicité de l'éthanol s'accroît. En somme, la mortalité s'élève lorsqu'il existe une thermogénèse de réchauffement ou lorsque la thermolyse devient difficile.

3° Dans nos expériences, les régimes riches en graisses élevèrent la toxicité de l'éthanol par comparaison avec des régimes commerciaux.

## BIBLIOGRAPHIE

- (1) ABDERHALDEN (E.). — Litteratur über den Alkohol. *Bibliographie der gesamten Wissenschaft*, Berlin und Wien, 1904, Urban et Schwarzenberg.
- (2) GREHANT (N.). — Recherches expérimentales sur l'alcoolisme aigu. *J. Anat. Physiol.*, 36<sup>e</sup> année, 143-159, 1900.
- (3) HIMWICH (H.E.) et alia. — Effects of alcohol on metabolism. *Proc. Amer. Physiol. Soc.*, in *Amer. J. Physiol.*, 101 : 57, 1932.
- (4) LE BRETON (E.) et SCHAEFFER (G.). — Utilisation totale de la chaleur de combustion de l'alcool éthylique par l'homéotherme à la neutralité thermique. *C.R. Acad. Sci.*, 197 : 1066, 1933.
- (5) MELLANBY (E.). — Alcohol and Alcoholic intoxication. *Brit. J. Inebriety*, 17 : 157, 1920.
- (6) NICLOUX (M.). — Dosage de l'alcool éthylique dans des solutions où cet alcool est dilué dans des proportions comprises entre 1/500 et 1/300<sup>e</sup>. *C. R. Soc. Biol.*, 10<sup>e</sup> série, III, 841, 1896.
- (7) THOMAS (I.). — Ueber die Wirkung einiger narkotischer Stoffe auf die Blutgase, die Blutalkalescenz und die roten Blutkörperchen. *Arch. f. exp. Path. u. Pharmacol.*, 41 : 1-18, 1898.
- (8) WIDMARK (E.M.P.). — Eine Mikromethode zur Bestimmung von Athylalkohol im Blut. *B. Z.*, 131 : 473, 1922.
- (9) id. HIMWICH (H.E.). — (référence 3).
- (10) KALANT (H.). — Some recent physiological and biochemical investigations on alcohol and alcoholism. *A Review Quart. J. Stud. Alc.*, 23 : 52, 1962.
- (11) TREMOLIERES (J.) et LOWY (R.). — Données actuelles sur la toxicité de l'alcool. *Act. Pharmacol.*, 17 : 191, 1964.
- (12) TREMOLIERES (J.) et CARRE (L.). — Mise en évidence de système peroxydasique oxydant l'alcool chez l'alcoolique. *C. R. Acad. Sci.*, 251 : 2785, 1960.
- (13) TREMOLIERES (J.), CARRÉ (L.), SCHEGGIA (E.), POTET (F.) et MARTIN (E.). — Pancréatites nécrosantes et hémorragiques par administration d'éthanol à des doses toxiques et répétées au rat. *C. R. Soc. Biol.*, 157 : 1189, 1963.
- (14) KIESSLING (K.H.). — Biochemical changes in rat tissues after prolonged alcohol consumption. *Quart. J. Stud. Alc.*, 22 : 535, 1961.
- (15) DONTCHEFF (L.). — Mise en évidence, au moyen de l'éthanol, de deux grandes catégories d'oxydations respiratoires. *Thèse Doctorat Sciences*, Strasbourg, 1953.
- (16) DAVIDSON (S.) and PASSMORE (R.). — Human Nutrition and Dietetics. *E. et S. Livingstone Ltd. Edin. and London*, pp. 114, 492, 528, 1963.
- (17) LE BRETON (E.) et TREMOLIERES (J.). — L'utilisation de l'alcool par l'homme : aspect énergétique, physiologique et nutritionnel. *Path. Biol.*, 1 : 82, 1957.
- (18) TREMOLIERES (J.) et CARRÉ (L.). — Physiologie de l'utilisation de l'alcool dans l'organisme. *Rev. Alc.*, 5 : 199, 1959.
- (19) TREMOLIERES (J.). — Données actuelles sur l'utilisation physiologique de l'alcool. *Rev. Med.*, 9 : 251, 1962.

- (20) MILLER (D.S.) and STIRLING (T.L.). — The effect of a meal on the rate of ethanol metabolism in man. *Proc. Nutr. Soc. London. In Press*, 1966. 25: (2), X C
- (21) LE BRETON (E.). — Influence du froid sur la vitesse de combustion de l'alcool éthylique chez l'homéotherme. *C. R. Soc. Biol.*, 166 : 82, 1934.
- (22) BARNES (E.W.), COOKE (N.J.), KING (A.J.) and PASSMORE (R.). — Observations on the metabolism of alcohol in man. *Brit. J. Nutr.*, 19 : 485, 1965.
- (23) GERVAIS (P.). — Les intoxications alcooliques aiguës. Alcools éthylique, méthylique et éthylène-glycol. *La Presse Médicale*, 74 : 1253, 1966.
- (24) HASSAN (A.), ELGHAMRY (M.I.) and ABDEL-HAMID (F.M.). — Inhibition of methanol metabolism in mice with acetylsalicylic acid. *Experientia*, 22 : 85, 1966.
- (25) THOMAS (H.M.), TRÉMOLIÈRES (J.), GRIFFATON (G.) et LOWY R.). — Modifications hydro-électrolytiques produites dans les tissus de la souris par l'éthanol à dose toxique. *Food Cosm. Toxicol.* (sous presse). 6 : 33, 7768
- (26) ROBBINS (H.) and MONRO (S.). — A stochastic approximation method. *Ann. Math. Statist.*, 22 : 400, 1951.
- (27) COCHRAN (W.) and DAVIS (M.). — Stochastic approximation to the Median effective dose in Bioassay. *Stochastic Models in Medicine and Biology. Edited by J. Gurland*, Univ. of Wisconsin. Press, 1964.
- (28) COCHRAN (W.) and DAVIS (M.). — The Robbins-Monro method for estimating the Median Lethal dose. *J. Roy. Stat. Soc. Series B.*, 27 : 28, 1965.
- (29) COCHRAN (W.) and DAVIS (M.). — Sequential experiments for estimating the Median Lethal dose. In « Le Plan d'expériences », 181-194. Paris, Editions du C.N.R.S., 1963b.
- (30) HAWKINS (D.F.). — Observations on the application of the Robbins-Monro process to sequential toxicity assays. *Brit. J. Pharmacol.*, 22 : 392, 1964.
- (31) NICLOUX (M.). — Recherches sur l'alcool éthylique. I. Microdosage. II. Combustion dans l'organisme : a) d'homéotherme de petite taille ; b) de poecilotherme à différentes températures. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 13 : 857, 1931.
- (32) LE BRETON (E.). — Vitesse de diffusion de l'alcool éthylique dans l'organisme selon la voie d'introduction : dose administrée et concentration réalisée au niveau des tissus. *C. R. Soc. Biol.*, 117 : 704 et 709, 1934.