OECD/OCDE 414

Adoptée:
25 juin 2018

LIGNE DIRECTRICE DE L'OCDE POUR LES ESSAIS DE PRODUITS CHIMIQUES- PROPOSITION DE MISE À JOUR DE LA LD 414

Étude de la toxicité pour le développement prénatal

INTRODUCTION

1. Les Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques sont régulièrement mises à jour pour tenir compte des progrès scientifiques. La version originale de la présente ligne directrice 414 a été publiée en 1981 et révisée en 2001 sur la base du rapport d'un groupe d'experts de l'OCDE sur les essais de toxicité pour la reproduction et le développement (1). La ligne directrice 414 a été mise à jour de nouveau en 2018 afin d'ajouter des paramètres supplémentaires et d'augmenter la possibilité de détecter les perturbateurs endocriniens.

2. Les paramètres supplémentaires sélectionnés s'agissant des perturbateurs endocriniens (DAG chez les fœtus et hormones thyroïdiennes chez les mères) ont été inclus dans la ligne directrice 414 à la suite d'une étude de faisabilité tenant compte des préoccupations scientifiques et techniques relatives à l'inclusion de paramètres supplémentaires dans la méthode d'essai (32). La mise à jour 2018 doit intégrer les exigences spécifiques aux rats dans la ligne directrice 414 ; celle-ci s'applique donc aux rats et non aux lapins.

REMARQUES PRÉLIMINAIRES

3. La présente Ligne directrice relative à la toxicité pour le développement est destinée à livrer des informations générales concernant les effets de l'exposition prénatale d'une femelle gravide sur elle-même et sur l'organisme en développement qu'elle porte en elle ; ces informations peuvent être déduites, par exemple, de l'évaluation des effets sur la mère, des décès, des anomalies structurelles ou de l'altération de la croissance du fœtus. Les déficits fonctionnels, qui représentent cependant un aspect important du développement, ne sont pas étudiés dans cette Ligne directrice. Leur recherche peut s'effectuer dans le cadre d'une autre étude ou en complément à celle-ci, à l'aide de la Ligne directrice se rapportant à la neurotoxicité pour le développement. Pour des informations sur les tests de dépistage des déficiences fonctionnelles et des autres effets sur le développement postnatal, on consultera les Lignes directrices 416, 421/422, 426 et 443 (36-40).

© OCDE (2018)

L'OCDE autorise l'utilisation de ce contenu aux conditions décrites sur le site: http://www.oecd.org/fr/conditionsdutilisation.

Selon la Décision du Conseil de déléguer son autorité pour les amendements à l'Annexe I de la Décision du Conseil sur l'Acceptation Mutuelle des Données dans l'Évaluation des Produits Chimiques [C(2018)49], cette Ligne directrice a été approuvée par la Réunion Conjointe du Comité des Produits Chimiques et le Groupe de Travail sur les Produits Chimiques, les Pesticides et la Biotechnologie, par procédure écrite le 25 juin 2018.

4. Il est possible que la présente Ligne directrice nécessite certaines adaptations dans des cas particuliers, compte tenu, par exemple, des propriétés physico-chimiques ou toxicologiques spécifiques du produit chimique d'essai. Ces adaptations sont acceptables lorsque des données scientifiques convaincantes donnent à penser qu'elles rendront l'essai plus informatif. Le cas échéant, ces données scientifiques devront être soigneusement consignées dans le rapport d'essai. Lors de la réalisation de l'étude, il est recommandé de suivre les principes et considérations énoncés dans le Document d'orientation n° 19 de l'OCDE sur l'euthanasie (33).

5. Les termes utilisés sont définis à l'annexe.

PRINCIPE DE L'ESSAI

6. Normalement, le produit chimique d'essai est administré aux femelles gravides, au moins depuis la nidation jusqu'à la veille de l'euthanasie, laquelle devrait être programmée à une date aussi proche que possible du jour auquel la mise bas devrait avoir lieu, sans être trop tardive pour éviter la perte de données en cas de mise bas prématurée, en général pendant 21-23 jours selon la souche de rongeurs. La Ligne directrice ne porte pas uniquement sur la période de l'organogenèse (comprise, par exemple entre le 5ème et le 15ème jour chez les rongeurs et entre le 6ème et le 18ème jour chez le lapin), mais étudie aussi les effets survenus tout au long de la gravidité, depuis le stade préimplantatoire, selon les besoins, jusqu'à la veille de la césarienne. Les femelles sont sacrifiées peu avant la césarienne, puis on examine le contenu des utérus ainsi que les modifications des tissus mous et squelettiques des fœtus.

PRÉPARATION DE L'ESSAI

Choix de l'espèce animale

7. Il est recommandé de pratiquer l'essai sur l'espèce la plus appropriée et d'employer les espèces et les souches de laboratoire qu'on utilise habituellement dans les essais de toxicité prénatale pour le développement. Les animaux préférés sont le rat, parmi les rongeurs, ou le lapin. Il y a lieu de justifier l'emploi d'une autre espèce, le cas échéant.

Conditions d'encagement et d'alimentation

8. L'animalerie doit être à 22°C (±3°C) pour les rongeurs et à 18°C (±3°C) pour les lapins, avec un taux d'humidité relative d'au moins 30 pour cent et de préférence inférieur à 70 pour cent, sauf pendant le nettoyage de la salle, l'idéal qu'on tâchera d'atteindre se situant entre 50 et 60 pour cent. On appliquera un éclairage artificiel, avec un cycle de 12 heures de clarté et 12 heures d'obscurité. Un régime alimentaire classique pour animaux de laboratoire, avec eau potable à satiété, conviendra.

9. Des teneurs élevées en phytoestrogènes dans l'aliment de laboratoire sont connus pour augmenter le poids de l'utérus chez les rongeurs. Pour référence, des teneurs alimentaires en phytoestrogènes ne devraient pas excéder les 350 µg d'équivalent de génistéine par gramme de nourriture. L'accouplement devrait se dérouler dans des cages propices à cette fin. Bien qu'il soit préférable de placer les rongeurs s'étant accouplés dans des cages individuelles, l'encagement par petits groupes est aussi acceptable. Les femelles s'étant accouplées devraient recevoir de quoi fait leur nid à la fin de la grossesse. Dans le cas des lapins, les animaux devraient être placés dans des cages individuelles.

© OECD 2018

Préparation des animaux

10. Il faudrait utiliser des animaux sains, acclimatés aux conditions du laboratoire pendant au moins 5 jours et n'ayant pas subi d'autres essais. On indiquera l'espèce, la souche, la source, le sexe, le poids et/ou l'âge des animaux d'expérience. Les animaux de tous les groupes d'essai devraient, dans toute la mesure du possible, être du même âge et du même poids. On emploiera de jeunes femelles adultes et nullipares pour chaque dose. On accouplera les femelles avec des mâles de la même espèce et de la même souche, sans accoupler les membres d'une même fratrie. Dans le cas des rongeurs, le jour 0 de la gravidité est celui où l'on observe un bouchon vaginal et/ou la présence de sperme ; s'agissant des lapins, le jour 0 est ordinairement celui du coït ou de l'insémination artificielle. On installera les cages de façon à réduire au minimum d'éventuels effets résultant de leur disposition. Chaque animal recevra un numéro d'identification propre. Les femelles accouplées devraient être réparties au hasard entre les groupes traités et témoins, et si elles sont accouplées par lots, les animaux d'un même lot doivent être répartis uniformément entre les groupes. Il en va de même pour les femelles inséminées par le même mâle.

PROCÉDURE

Nombre et sexe des animaux

11. Chaque groupe traité et témoin doit contenir un nombre suffisant de femelles pour qu'on puisse autopsier environ 20 femelles présentant un point d'implantation. Les groupes comptant moins de 16 femelles présentant un point d'implantation risquent d'être inadéquats. La mortalité maternelle n'invalide pas nécessairement l'étude, tant qu'elle demeure approximativement inférieure à 10 pour cent.

Préparation des doses

12. Si on emploie un véhicule ou un autre additif pour faciliter l'administration des doses, il faut être attentif aux effets sur l'absorption, la répartition, le métabolisme et la rétention ou l'excrétion du produit chimique d'essai ; sur les propriétés chimiques du produit chimique d'essai, lesquels sont susceptibles de modifier sa toxicité ; ainsi que sur la consommation de nourriture ou d'eau et sur l'état nutritionnel des animaux. Le véhicule ne devrait pas être toxique pour le développement ni influencer la reproduction.

Dosage

12. Normalement, le produit chimique d'essai est administré quotidiennement depuis la nidation (par exemple 5 jours après l'accouplement) jusqu'à la veille du jour où la césarienne est prévue. Si les études préliminaires, le cas échéant, ne font pas état d'un risque élevé de pertes préimplantatoires, le traitement peut être étendu à la totalité de la période de gravidité, depuis l'accouplement jusqu'à la veille de l'euthanasie. Personne n'ignore que le stress ou des erreurs de manipulation pendant la gravidité peuvent engendrer des pertes prénatales. Afin de prévenir les pertes fœtales dues à des facteurs indépendants du traitement, on évitera de manipuler inutilement les animaux gravides ou de les soumettre à des facteurs de stress externes comme le bruit.

13. On utilise au moins trois doses différentes et un blanc en parallèle. Des animaux sains sont répartis au hasard entre les groupes traités et témoins. Les niveaux de dose doivent être espacés de façon à produire une gradation des effets toxiques. Si elle n'est pas limitée par les propriétés physiques, chimiques ou biologiques du produit chimique

© OECD 2018

d'essai, la dose la plus élevée devrait avoir une certaine toxicité pour le développement et/ou la mère (signes cliniques ou diminution du poids corporel), sans provoquer de décès ni de souffrances aiguës. Au moins une dose intermédiaire devrait donner lieu à la plus faible manifestation observable de toxicité. La dose la plus faible ne devrait produire aucun signe de toxicité pour la mère ou pour le développement. Il faudrait sélectionner une séquence de doses décroissantes en vue de mettre en évidence une relation dose-effet, le cas échéant, et la concentration maximale sans effet nocif observé (CSENO), ou des doses proches de la limite de détection pour déterminer un niveau de référence. Les intervalles optimaux au sein d'une séquence de doses décroissantes sont souvent d'un facteur deux ou quatre et l'adjonction d'un quatrième groupe d'essai est souvent préférable à l'application d'intervalles très espacés (par exemple supérieurs à un facteur dix). Bien que l'étude vise l'établissement d'une CSENO maternelle, des études ne remplissant pas cet objectif pourraient aussi être acceptées (2).

13. Les doses devraient être choisies au vu de toutes les données existantes sur la toxicité et d'autres informations sur le métabolisme et la toxicocinétique du produit chimique d'essai ou de substances connexes. Ces informations seront aussi utiles pour justifier l'échelle des doses.

14. On incorporera un groupe témoin en parallèle, qui devrait être soumis au même régime d'administration de doses que les groupes traités. Ce groupe ne devrait être traité par aucune substance ou par le véhicule, le cas échéant. Tous les groupes devraient recevoir le même volume de produit chimique d'essai ou de véhicule. Les animaux inclus dans le ou les groupes témoins doivent être manipulés exactement comme les animaux des groupes d'essai. Les groupes témoins auxquels on administre le véhicule devraient recevoir la plus grande quantité utilisée de ce dernier (celle que reçoit le groupe traité à la dose la plus faible).

Essai limite

15. Si un essai conduit à une dose d'au moins 1000 mg/kg de poids corporel/jour, administrée par voie orale, selon la méthode décrite dans cette étude, ne révèle aucune toxicité à l'observation et ne devrait induire aucun effet, d'après les données existantes (concernant, par exemple, des composés présentant une structure et/ou une action métabolique analogues), il n'est pas indispensable de mener une étude complète sur trois doses différentes. Suivant l'importance de l'exposition humaine escomptée, une dose plus forte peut être indiquée pour l'essai limite. Pour d'autres modes d'administration, tels que l'inhalation ou l'application cutanée, les propriétés physico-chimiques du produit chimique d'essai peuvent souvent limiter le niveau maximal d'exposition qu'on peut atteindre (par exemple, l'application cutanée ne devrait faire apparaître aucune toxicité locale grave).

Administration des doses

16. Le produit chimique d'essai ou le véhicule sont habituellement administrés oralement par intubation. Si l'expérimentateur opte pour un autre mode d'administration, il devra le justifier par un raisonnement et apporter des modifications, si c'était nécessaire (3)(4)(5). Le produit chimique d'essai devrait être administré à peu près au même moment de la journée.

17. Normalement, on calcule la dose destinée à chaque animal d'après la pesée la plus récente de ce dernier. Il convient toutefois d'être prudent lorsqu'on adapte la dose au cours du dernier tiers de la gravidité. On s'appuiera sur les données existantes pour

© OECD 2018

sélectionner la dose de façon à prévenir un excès de toxicité pour la mère. Néanmoins, si on constate une toxicité excessive chez les mères traitées, il faudra les euthanasier. Si plusieurs femelles gravides manifestent des signes de toxicité excessive, on envisagera de sacrifier le groupe traité à cette dose. Si l'on recourt au gavage, il faudrait de préférence administrer le produit chimique d'essai aux animaux en une seule fois à l'aide d'une sonde gastrique ou d'une canule appropriée. Le volume maximal de liquide administrable en une seule fois dépend de la taille de l'animal. Ce volume ne devrait pas dépasser 1 ml/100 g de poids corporel, sauf dans le cas des solutions aqueuses où l'on peut aller jusqu'à 2 ml/100 g de poids corporel. Lorsqu'on utilise de l'huile de maïs comme véhicule, le volume ne devrait pas excéder 0.4 ml/100 g de poids corporel. On réduira au minimum la variabilité du volume d'essai en adaptant les concentrations de façon à obtenir un volume constant à toutes les doses.

Observation des mères

18. Les observations cliniques sont effectuées et notées au moins une fois par jour, de préférence à la ou aux mêmes heures, en tenant compte de la période durant laquelle on prévoit que les effets de l'administration de la dose atteindront leur intensité maximale. On consignera l'état des animaux, notamment, les décès, les animaux moribonds, les changements comportementaux pertinents et tous les signes de toxicité apparents.

Poids corporel et consommation de nourriture

Les animaux sont pesés le jour 0, ou pas plus tard que le jour 3 si des animaux déjà accouplés sont fournis par un éleveur extérieur, le premier jour de l'administration de la dose, puis au moins tous les trois jours durant la période d'administration et le jour de l'euthanasie. Les mesures du poids corporel des femelles gravides et non gravides ne devraient pas être combinées.

19. Le relevé de la consommation d'aliments devrait être effectué tous les trois jours et coïncider avec les jours de pesée des animaux.

Autopsie

20. On euthanasiera les femelles un jour avant la date supposée de la mise bas. Les femelles qui présentent des signes d'avortement ou de mise bas prématurée avant la date prévue pour l'euthanasie devraient être sacrifiées et faire l'objet d'un examen macroscopique complet.

21. Juste après le sacrifice ou le décès au cours de l'étude, les mères devraient subir un examen macroscopique destiné à mettre en évidence d'éventuelles anomalies structurelles. On pèsera la glande thyroïde de chaque mère et on procèdera à l'évaluation histopathologique de sa glande thyroïde pour observer les changements pathologiques. Pour demeurer objectif, il est préférable que l'expérimentateur ignore la dose administrée au groupe pendant qu'il observe les mères au cours de la césarienne et lorsqu'il analysera les fœtus. L'expérimentateur s'efforcera d'éviter les biais d'échantillonnage en randomisant la collecte d'échantillons dans les groupes traités (c'est-à-dire en évitant la collecte de tous les échantillons appartenant à tel groupe traité, puis tous ceux appartenant à tel autre, etc.).

© OECD 2018

Examen de la cavité utérine

22. Il y a lieu d'enlever l'utérus juste après le sacrifice ou dès que possible après un décès pour établir l'état de gravidité des femelles. On examinera aussi les utérus non gravides (par exemple, par coloration au sulfure d'ammonium chez les rongeurs et par la coloration de Salewski ou par une méthode équivalente appropriée chez les lapins) pour confirmer la non-gravidité (6).

23. On pèse les utérus gravides, col inclus, sauf ceux des femelles décédées au cours de l'essai.

24. On compte le nombre de corps jaunes chez les femelles gravides.

25. On examine la cavité utérine afin de relever le nombre de décès fœtaux ou embryonnaires et de fœtus viables. Il est nécessaire de décrire le degré de résorption (précoce, tardive) pour estimer le temps de survie relatif du produit de conception (voir définitions en annexe).

Examen des fœtus

26. Il faudrait déterminer le sexe et le poids corporel de chaque fœtus. La distance anogénitale (DAG) devrait être mesurée chez tous les fœtus de rongeurs vivants.

27. On recherche la présence d'altérations externes sur chaque fœtus (7).

28. On examine les fœtus pour voir s'ils présentent des altérations du squelette ou des tissus mous (par exemple des variations et des malformations ou des anomalies) (8) (9) (10) (11) (12) (13) (14) (15) (16) (17) (18) (19) (20) (21) (22) (23) (24) (25). La catégorisation des altérations fœtales est préférable, mais facultative. Si on procède à une catégorisation, il faut stipuler clairement les critères qui définissent chaque catégorie. On vérifiera avec une attention particulière si le développement du tractus génital n'a pas été altéré. Les organes génitaux externes (déterminés par l'examen macroscopique) devraient être comparés aux voies génitales internes (gonades) chez tous les fœtus (examinés pour voir s'ils présentent des malformations du squelette et des tissus mous). En outre, l'indication d'une migration testiculaire incomplète/cryptorchidie doit être notée chez les fœtus mâles.

29. Pour les rongeurs, on prépare environ la moitié de chaque portée en vue de l'examen des altérations squelettiques. Le restant sera préparé en vue de l'examen des altérations des tissus mous, lequel sera conduit au moyen de coupes sériées réalisées suivant des méthodes reconnues ou appropriées ou de techniques soignées de dissection macroscopique.

30. S'agissant des non-rongeurs, par exemple les lapins, il faut rechercher d'éventuelles altérations des tissus mous et du squelette sur tous les fœtus. On examine le corps de ces fœtus en les disséquant soigneusement pour repérer des altérations des tissus mous ; cette opération peut faire appel à une technique permettant d'effectuer un examen plus approfondi de la structure cardiaque interne (26). Les têtes de la moitié des fœtus examinés de cette manière devraient être prélevées et préparées en vue de l'évaluation des altérations des tissus mous (notamment les yeux, le cerveau, les conduits nasaux et la langue), selon les techniques classiques de coupes sériées (27) ou une méthode ayant la même sensibilité. On préparera le corps de ces fœtus et des fœtus restants intacts afin de les examiner pour établir s'ils présentent des altérations squelettiques, en utilisant les mêmes méthodes que pour les rongeurs.

© OECD 2018

Prélèvement des échantillons de sang (rats)

31. Tous les échantillons de sang doivent être conservés dans des conditions adéquates. Les échantillons de sang devraient être prélevés comme suit :

- Sur toutes les mères sacrifiées en vue de l'évaluation obligatoire des hormones thyroïdiennes T4, T3 et de la thyréostimuline (TSH) dans un délai très court (c'est-à-dire deux heures) le matin du jour de l'autopsie. On s'efforcera d'éviter les biais d'échantillonnage en randomisant la collecte de sang dans les groupes traités. Les échantillons de sang prélevés sur des femelles non gravides ne devraient pas être mis en commun avec ceux prélevés sur des femelles gravides.
- De manière optionnelle on pourra mesurer d'autres hormones, le cas échéant.
- Pour le contrôle de la qualité, il est proposé que les données des témoins historiques soient collectées et que les coefficients de variation soient calculés en ce qui concerne les analytes, notamment en ce qui concerne les paramètres liés au fonctionnement du système endocrinien. Ces données peuvent être utilisées à des fins de comparaison lors de l'évaluation des études ultérieures.

RESULTATS ET RAPPORT

Résultats

32. Des données individuelles sont à fournir pour chaque animal. De plus, tous les résultats sont à synthétiser sous forme de tableaux reprenant, pour chaque groupe d'essai, le nombre d'animaux présents au début de l'essai, le nombre d'animaux décédés durant l'essai ou euthanasiés, l'heure du décès ou de l'euthanasie, le nombre de femelles gravides, le nombre d'animaux manifestant des signes de toxicité, la description des signes de toxicité observés (en précisant le moment où ils ont débuté, leur durée et leur gravité), les types de modifications histopathologiques (glande thyroïde), les types d'observations fœtales et toutes les données pertinentes sur la portée.

33. On évaluera les résultats numériques par une méthode statistique appropriée, en prenant la portée comme unité pour l'analyse des résultats. On appliquera une méthode statistique largement reconnue ou une nouvelle méthode statistique perfectionnée et on la sélectionnera au stade de la conception de l'étude. Les résultats concernant les animaux qui n'ont pas survécu jusqu'à la date programmée de l'euthanasie devraient aussi être rapportés. Ces résultats peuvent être inclus dans les moyennes des groupes, s'il y a lieu. La pertinence des résultats provenant de ces animaux et, partant, leur inclusion ou non dans une moyenne de groupe devraient être appréciées au cas par cas.

Évaluation des résultats

34. Les résultats de l'étude de la toxicité pour le développement prénatal devraient être évalués à la lumière des effets observés. L'évaluation comprendra les informations suivantes :

- les résultats des essais maternels et fœtaux, incluant une évaluation de la relation, ou de l'absence de relation, entre l'exposition des animaux au produit chimique d'essai et la fréquence et la gravité de tous les effets observés ;
- les critères appliqués pour catégoriser, le cas échéant, les altérations externes des fœtus, et les altérations de leurs tissus mous ou de leur squelette ;

© OECD 2018

- les données des témoins positifs afin d'améliorer l'interprétation des résultats de l'étude, s'il y a lieu ;
- les nombres (bruts) utilisés pour calculer tous les pourcentages ou indices ;
- l'analyse statistique pertinente des résultats de l'étude, y compris suffisamment d'informations sur la méthode d'analyse, pour qu'un réviseur ou un statisticien indépendant puisse réévaluer et reconstruire l'analyse.

35. Dans toutes les études qui ne révèlent aucun effet toxique, il faudrait envisager d'établir l'absorption et la biodisponibilité du produit chimique d'essai.

Rapport d'essai

37. Le rapport d'essai ou les dossiers d'étude devraient comprendre les informations spécifiques suivantes :

Produit chimique d'essai :

- source, numéro de lot et date limite d'utilisation, si c'est disponible ;
- stabilité du produit chimique d'essai, si elle est connue ;
- homogénéité du produit chimique d'essai, si elle est connue ;

Substance mono-constituant :

- apparence physique, hydrosolubilité et autres propriétés physico-chimiques pertinentes ;
- identification chimique : nom IUPAC ou CAS, numéro CAS, code SMILES ou InChI, formule structurale, pureté, identité chimique des impuretés, s'il y a lieu et si les conditions pratiques le permettent, etc.

Substance multi-constituants, UVCB et mélanges :

- caractérisés autant que possible par l'identité chimique des constituants (voir ci-dessus), la présence, la quantité et les propriétés physico-chimiques des constituants.

Véhicule (s'il y a lieu) :

- justification du choix du véhicule s'il ne s'agit pas d'eau.

Animaux d'essai :

- espèces et souches utilisées ;
- nombre et âge des animaux ;
- source, conditions d'encagement, régime alimentaire, etc. ;
- poids de chaque animal au début de l'essai.

Conditions de l'essai :

- justification de la sélection des doses appliquées ;

© OECD 2018

- détails concernant la préparation du produit chimique d'essai ou son incorporation aux aliments, la concentration obtenue, la stabilité et l'homogénéité de la préparation ;
- détails sur l'administration du produit chimique d'essai ;
- conversion de la concentration du produit chimique d'essai (ppm) dans la nourriture ou l'eau de boisson en dose administrée (mg/kg de poids corporel/jour), s'il y a lieu ;
- conditions ambiantes ;
- détails concernant la qualité de l'alimentation et de l'eau de boisson.

Résultats :

- toxicité pour la mère en fonction de la dose, comportant entre autres :
- le nombre d'animaux au début de l'essai, de survivants, de femelles gravides, de femelles ayant avorté et de femelles ayant mis bas prématurément ;
- le jour des décès survenus en cours d'étude ; indiquer si des animaux ont survécu jusqu'au jour du sacrifice ;
- il faut rapporter les résultats concernant les animaux qui n'ont pas survécu jusqu' à la date programmée de l'euthanasie, sans les inclure dans les comparaisons statistiques entre les groupes ;
- le jour de l'observation de chaque signe clinique anormal et son évolution ultérieure ;
- le poids corporel, sa variation et le poids de l'utérus gravide, y compris, si on le souhaite, la variation du poids corporel corrigée en fonction du poids de l'utérus gravide ;
- la consommation de nourriture, et d'eau si elle a été mesurée ;
- Chez les mères de rats, les dosages des hormones thyroïdiennes T4, T3 et de la thyréostimuline (TSH), ainsi que d'autres d'hormones (s'ils ont été mesurés), les informations détaillées figurant sur le kit hormonal ou l'anticorps utilisé pour les hormones, les données des témoins historiques pour le laboratoire (valeurs moyennes et écarts-types), le long de la limite de détection/limite de quantification
- les résultats de l'autopsie, y compris le poids de l'utérus ;
- les valeurs de la CSENO se rapportant aux effets sur la mère et le développement.
- Effets sur le développement en fonction des doses, pour les portées attestées par des implantations, notamment :
    - nombre de corps jaunes ;
    - nombre d'implantations, nombre et pourcentage de fœtus vivants et morts et de résorptions ;
    - nombre et pourcentage de pertes pré- et postimplantatoires.

© OECD 2018

- Effets sur le développement en fonction des doses, pour les portées comportant des fœtus vivants, notamment :
  - nombre et pourcentage de descendants vivants ;
  - proportion de mâles et de femelles ;
  - poids corporel des fœtus, de préférence par sexe et pour les sexes ensemble ;
  - distance anogénitale de tous les fœtus de rongeurs (évaluée statistiquement par sexe et par rapport au poids) ;
  - malformations externes, des tissus mous et squelettiques et autres altérations pertinentes ;
  - critères de catégorisation, le cas échéant ;
  - nombre total et pourcentage de fœtus et de portées présentant une quelconque altération externe, des tissus mous ou squelettique ; types et fréquence des anomalies individuelles et d'autres altérations pertinentes (l'indication d'une migration testiculaire incomplète/cryptorchidie chez les fœtus mâles devrait également être consignée.).

Examen des résultats.

Conclusions.

Interprétation des résultats

36. Une étude de la toxicité pour le développement prénatal fournit des informations sur les effets de l'exposition répétée à un produit chimique d'essai administré par voie orale durant la gravidité. Les résultats de l'étude devraient être interprétés à la lumière de ceux des recherches subchroniques, sur la reproduction et toxicocinétiques, entre autres. Comme l'étude est centrée à la fois sur la toxicité générale et la toxicité pour le développement, ses résultats permettront de distinguer les effets sur le développement qui surviennent en l'absence d'une toxicité générale des effets qui n'apparaissent qu'à des doses qui sont également toxiques pour la mère (28). Le document d'orientation 43 de l'OCDE devra être consulté pour aider à l'interprétation des résultats liés à la reproduction et au développement (34). Le document d'orientation 106 de l'OCDE sur l'évaluation histologique des essais endocriniens et de reproduction chez les rongeurs (35) fournit des informations sur la préparation et l'évaluation des organes (endocriniens); ces informations peuvent être utiles dans le cadre de la présente ligne directrice 414.

Bibliographie

(1) Organisation for Economic Co-operation and Development (1995). Report of the OECD Ad Hoc Working Group on Reproduction and Developmental Toxicity. Copenhagen, Denmark, (13th-14th June 1995).

(2) Kavlock R.J. et al. (1996). A Simulation Study of the Influence of Study Design on the Estimation of Benchmark Doses for Developmental Toxicity. Risk Anal. 16, 399-410.

(3) Kimmel, C.A. and Francis, E.Z. (1990). Proceedings of the Workshop on the Acceptability and Interpretation of Dermal Developmental Toxicity Studies. Fundam. Appl. Toxicol. 14, 386 398.

© OECD 2018

(4) Wong, B.A., et al. (1997). Developing Specialized Inhalation Exposure Systems to Address Toxicological Problems. CIIT Activities 17, 1-8.

(5) US Environmental Protection Agency (1985). Subpart E - Specific Organ/Tissue Toxicity, 40 CFR 798.4350: Inhalation Developmental Toxicity Study.

(6) Salewski, E. (1964). Faerbermethode zum Makroskopischen Nachweis von Implantations Stellen am Uterus der Ratte. Naunyn Schmeidebergs Arch. Pharmakol. Exp. Pathol. 247, 367.

(7) Edwards, J.A. (1968). The External Development of the Rabbit and Rat Embryo. In: Adv. Teratol. D.H.M. Woolam (ed.), Vol. 3. Academic Press, NY.

(8) Inouye, M. (1976). Differential Staining of Cartilage and Bone in Fetal Mouse Skeleton by Alcian Blue and Alizarin Red S. Congen. Anom. 16, 171 173.

(9) Igarashi, E. et al. (1992). Frequency of Spontaneous Axial Skeletal Variations Detected By the Double Staining Technique for Ossified and Cartilaginous Skeleton in Rat Foetuses. Congen. Anom. 32, 381 391.

(10) Kimmel, C.A. et al. (1993). Skeletal Development Following Heat Exposure in the Rat. Teratology 47, 229 242.

(11) Marr, M.C. et al. (1988). Comparison of Single and Double Staining for Evaluation of Skeletal Development: The Effects of Ethylene Glycol (EG) in CD Rats. Teratology 37, 476.

(12) Barrow, M.V. and Taylor, W.J. (1969). A Rapid Method for Detecting Malformations in Rat Foetuses. J. Morphol. 127, 291 306.

(13) Fritz, H. (1974). Prenatal Ossification in Rabbits as Indicative of Foetal Maturity. Teratology 11, 313 320.

(14) Gibson, J.P. et al. (1966). Use of the Rabbit in Teratogenicity Studies. Toxicol. Appl. Pharmacol. 9, 398 408.

(15) Kimmel, C.A. and Wilson, J.G. (1973). Skeletal Deviation in Rats: Malformations or Variations? Teratology 8, 309 316.

(16) Marr, M.C. et al. (1992). Developmental Stages of the CD (Sprague Dawley) Rat Skeleton after Maternal Exposure to Ethylene Glycol. Teratology 46, 169 181.

(17) Monie, I.W. et al. (1965). Dissection Procedures for Rat Foetuses Permitting Alizarin Red Staining of Skeleton and Histological Study of Viscera. Supplement to Teratology Workshop Manual, pp. 163 173.

(18) Spark, C. and Dawson, A.B. (1928). The Order and Time of Appearance of Centers of Ossification in the Fore and Hind Limbs of the Albino Rat, With Special Reference to the Possible Influence of the Sex Factor. Am. J. Anat. 41, 411 445.

(19) Staples, R.E. and Schnell, V.L. (1964). Refinements in Rapid Clearing Technique in the KOH-Alizarin Red S Method for Fetal Bone. Stain Technol. 39, 61 63.

(20) Strong, R.M. (1928). The Order, Time and Rate of Ossification of the Albino Rat (Mus norvegicus albinus) Skeleton. Am. J. Anat. 36, 313 355.

(21) Stuckhardt, J.L. and Poppe, S.M. (1984). Fresh Visceral Examination of Rat and Rabbit Foetuses Used in Teratogenicity Testing. Teratogen. Carcinogen. Mutagen. 4, 181 188.

© OECD 2018

(22) Walker, D.G. and Wirtschafter, Z.T. (1957). The Genesis of the Rat Skeleton. Thomas, Springfield, IL.

(23) Wilson, J.G. (1965) Embryological Considerations in Teratology. In: Teratology: Principles and Techniques, J.G. Wilson and J. Warkany (eds.), University of Chicago, Chicago, IL, pp 251 277.

(24) Wilson, J.G. and Fraser, F.C. (eds.) (1977). Handbook of Teratology, Vol. 4. Plenum, NY.

(25) Varnagy, L. (1980). Use of Recent Fetal Bone Staining Techniques in the Evaluation of Pesticide Teratogenicity. Acta Vet. Acad. Sci. Hung. 28, 233-239.

(26) Staples, R.E. (1974). Detection of Visceral Alterations in Mammalian Foetuses. Teratology 9, 37-38.

(27) Van Julsingha, E.B. and C.G. Bennett (1977). A Dissecting Procedure for the Detection of Anomalies in the Rabbit Foetal Head. In: Methods in Prenatal Toxicology (eds. D. Neubert, H.J. Merker and T.E. Kwasigroch). University of Chicago, Chicago, IL, pp. 126 144.

(28) US Environmental Protection Agency (1991). Guidelines for Developmental Toxicity Risk Assessment. Fed. Register 56, 63798 63826.

(29) Wise, D.L. et al. (1997). Terminology of Developmental Abnormalities in Common Laboratory Mammals (Version 1). Teratology 55, 249-292.

(30) OECD (1998). Report of the First Meeting of the OECD Endocrine Disrupter Testing and Assessment (EDTA) Task Force, 10th-11th March 1998, Available upon request at Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris

(31) OECD (2015). Feasibility Study for Minor Enhancements of TG 421/422 with ED Relevant Endpoints.Environment, Health and Safety Publications, Series on Testing and Assessment (No. 217), Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.

(32) OECD (2018). Feasibility Study for Minor Enhancements of TG 414 with ED Relevant Endpoints. Environment, Health and Safety Publications, Series on Testing and Assessment (No. 285), Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.

(33) OECD (2000). Guidance Document on the Recognition, Assessment, and Use of Clinical Signs as Humane Endpoints for Experimental Animals Used in Safety Evaluations, Environment, Health and Safety Publications, Series on Testing and Assessment, (No. 19), Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.

(34) OECD (2008). Guidance Document on Mammalian Reproductive Toxicity Testing and Assessment. Environment, Health and Safety Publications, Series on Testing and Assessment (No. 43.), Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.

(35) OECD. (2009).Guidance Document for Histologic Evaluation of Endocrine and Reproductive Tests in Rodents. Environment, Health and Safety Publications, Series on Testing and Assessment (No. 106) Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.

(36) OECD (2001), Test No. 416: Two-Generation Reproduction Toxicity, OECD Publishing, Paris. http://dx.doi.org/10.1787/9789264070868-en

(37) OECD (2016), Test No. 421: Reproduction/Developmental Toxicity Screening Test, OECD Publishing, Paris. http://dx.doi.org/10.1787/9789264264380-en

(38) OECD (2016), Test No. 422: Combined Repeated Dose Toxicity Study with the Reproduction/Developmental Toxicity Screening Test, OECD Publishing, Paris. http://dx.doi.org/10.1787/9789264264403-en

© OECD 2018

(39) OECD (2007), Test No. 426: Developmental Neurotoxicity Study, OECD Publishing, Paris. http://dx.doi.org/10.1787/9789264067394-en

(40) OECD (2012), Test No. 443: Extended One-Generation Reproductive Toxicity Study, OECD Publishing, Paris. http://dx.doi.org/10.1787/9789264185371-en

© OECD 2018

ANNEXE - DÉFINITIONS

Toxicologie du développement : l'étude des effets nocifs sur un organisme en développement qui peuvent résulter d'une exposition antérieure à la conception, contemporaine au développement prénatal ou postnatale, jusqu'à la maturation sexuelle. La toxicité pour le développement se manifeste principalement par 1) la mort de l'organisme, 2) une anomalie structurelle, 3) une altération de croissance, 4) un déficit fonctionnel. Autrefois, la toxicologie du développement était souvent désignée par « tératologie ».

Effet nocif : toute altération due au traitement s'écartant de la normalité prise comme référence, qui diminue la capacité d'un organisme à survivre, se reproduire ou s'adapter à l'environnement. La toxicologie du développement, prise dans son sens le plus large, inclut tous les effets qui interfèrent avec le développement normal du produit de conception, avant et après la naissance.

Altération de croissance : une altération qui touche les organes ou le poids corporel ou la taille de la progéniture.

Altérations (anomalies) : altérations structurelles du développement qui comprennent les malformations et les variations (29) :

Malformation/Anomalie majeure : changement structurel considéré comme préjudiciable à l'animal (peut aussi être létal), généralement peu fréquent.

Variation/Anomalie mineure : changement structurel considéré comme peu ou pas nocif pour l'animal ; peut être passager et apparaître relativement souvent dans la population témoin.

Produit de conception : l'ensemble des produits de la fécondation d'un œuf, à n'importe quel stade du développement entre la fécondation et la naissance, comprenant les membranes extra-embryonnaires et l'embryon ou le fœtus.

Implantation (nidation) : la fixation du blastocyste à la muqueuse épithéliale de l'utérus, durant laquelle ce dernier pénètre dans l'épithélium utérin et se creuse un nid dans l'endomètre.

Embryon : le premier stade de développement d'un organisme, plus précisément la phase de développement d'un œuf fécondé qui commence après l'apparition du grand axe et s'achève quand toutes les structures principales sont présentes.

Embryotoxicité : propriété nocive pour la structure, le développement, la croissance et/ou la viabilité d'un embryon.

Fœtus : produit de conception, durant la période post-embryonnaire.

Fœtotoxicité : propriété nocive pour la structure, le développement, la croissance et/ou la viabilité d'un fœtus.

Avortement : expulsion prématurée hors de l'utérus des produits de conception : l'embryon ou un fœtus non viable.

Résorption : phénomène par lequel un produit de conception qui meurt après l'implantation se résorbe ou a été résorbé :

Résorption précoce : trace d'implantation non accompagnée d'un embryon ou d'un fœtus reconnaissable.

© OECD 2018

Résorption tardive : attestée par un embryon ou un fœtus mort qui présente des changements dégénératifs externes.

CSENO : concentration maximale sans effet nocif observé.

Activité thyroïdienne : capacité d'un produit chimique d'interférer avec la production, le transport et le métabolisme des hormones thyroïdiennes par divers mécanismes.

© OECD 2018