

	Auteurs INRS	Auteurs extérieurs
Introduction	D.Baptiste (DS)	
Données statistiques	D.Lafon (EAM), JC Bastide (EVAD)	
Déroulement normal d'une grossesse		F.Puech (CHU Lille), M.Rinaldo (CHU Bordeaux), P. Gressens (INSERM U 676), R.Habert (INSERM U 566/Cea/ Univ Paris7), L.Devisme (CHU Lille)
Risques pendant une grossesse		M.J.Saurel-Cubizolles (INSERM U 149)
Risques chimiques	AM. Saillenfait (PS), M.Falcy (EAM) , D.Lafon, C.Beausoleil (Anses)	L.Multignier (INSERM 625)
Risques biologiques	C.Lebacle, V.Caron, M.C.Bayeux (EAM)	
Bruit	P.Campo (PS)	K.Maguin (Fac pharmacie Nancy)
Risques physiques	JP Meyer (HT)	
Travail de nuit		V.Bayon, D.Léger, (CHU Paris)
Stress		S. Maccari (CNRS Lille), MJ Saurel-Cubizolles (INSERM)
R.Ionisant	MC Gauron,, A.Povey Bellagamba (EAM)	
R.Non ionisant	Y.Ganem (EAM)	
Approche par professions	A.Radauceanu (EE)	
Réglementation	S.Basile, C.Soudry (EVAD)	
Suivi de la grossesse	D.Lafon (EAM)	
Expérience du Québec		M.Trottier, A.Croteau (INSPQ)



# Synthèse / Recommandations

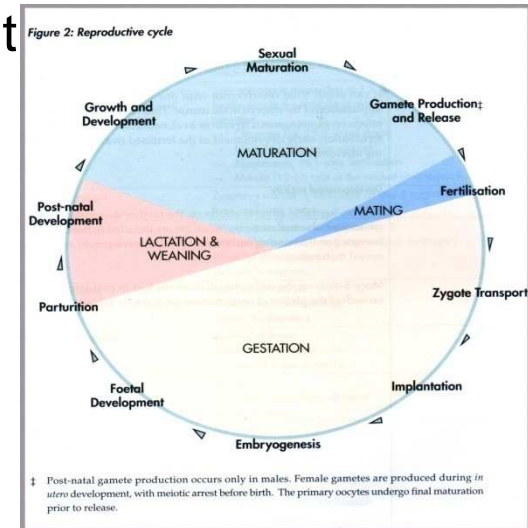
- Les auteurs précédents

G.Abadia	MSA
A.Brun	Université Paris sud
E.Causse	AP-HP
JF Certin	Cram
O.Claris	Pr Pédiatrie Lyon
N.Ducieux	AP-HP
M.Dumortier	ACMS
F.Faupin	ACMS
A.Florentin	AP-HP
B.Fontaine	Pole santé travail Lille
C.Hermouet	Sanofi
I.Lanfranconi	Cramif
P.Maladry	DGT / inspection médicale
ML.Mousel	Institut Pasteur
K.Petitprez	HAS
I.Sari-Minodier	CHU Marseille



# Méthodes OCDE (Organisation de Coopération pour le Développement Economique)

- OCDE 414 : Etude de la toxicité du développement prénatal
- OCDE 415 : Etude de reproduction sur une génération
- OCDE 416 : Etude de reproduction sur deux générations
- OCDE 421 : Essai de dépistage de la toxicité pour la reproduction et le développement
- OCDE 422 : Essai de dépistage de la toxicité pour la reproduction et le développement avec une étude à doses répétées
- OCDE 426 : étude de neurotoxicité du développement



# OCDE Ligne directrice 414 : Etude de la toxicité du développement prénatal

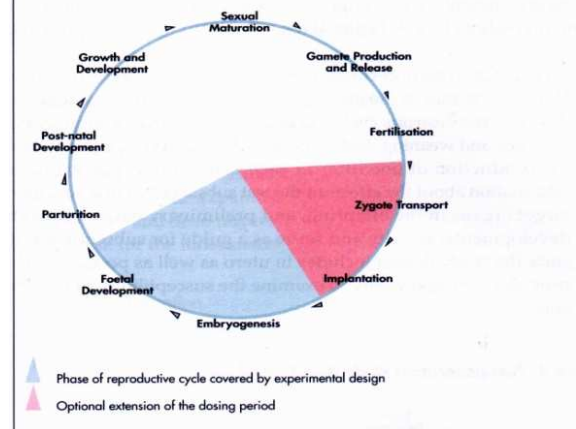
## But :

- L'objectif est de mesurer le potentiel tératogène et les altérations de la croissance du produit testé, c'est à dire les effets sur la mère, les pertes pré- et post-implantatoires, la mortalité foétale, les anomalies structurelles ou les altérations de croissance du fœtus.

## Animaux :

- Au moins deux espèces (rongeurs et non rongeurs)  
→ le rat et le lapin
- Il est conseillé d'utiliser assez d'animaux pour obtenir 20 portées pour les rongeurs et 12 portées pour les non-rongeurs.

Figure 3: Prenatal/developmental toxicity study (OECD TG 414)



# Procédure

- Le traitement doit être appliqué pendant la période d'organogenèse : de l'implantation jusqu'à la veille de la parturition.
- La mère est sacrifiée environ 1 jour avant la parturition. Les foetus sont extraits par césarienne pour éviter une sélection naturelle de la mère (élimination des nouveaux nés mal formés ou morts nés).
- 3 groupes de traitement et 1 groupe témoin

# Observations

## 1) pendant l'étude :

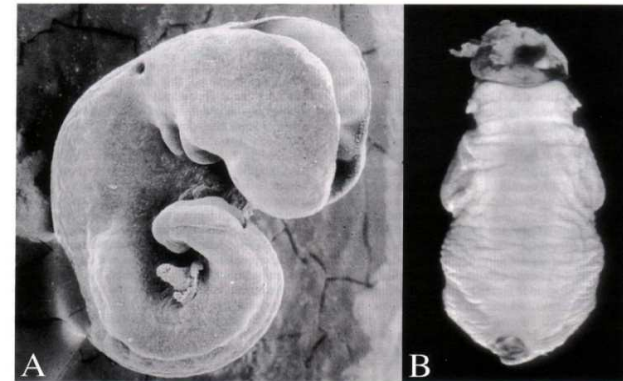
- ✓ poids
- ✓ signes de toxicité, mortalité
- ✓ consommation de nourriture

## 2) examen terminal de la mère :

- ✓ autopsie
- ✓ évaluation macroscopique de tous les organes
- ✓ examen de l'utérus : poids de l'*uterus*, nombre de corps jaunes, sites d'implantations, résorptions
- ✓ examen du placenta

## 3) examen terminal des fœtus :

- ✓ nombre de fœtus vivants et morts
- ✓ sexe des fœtus
- ✓ poids des fœtus
- ✓ malformations, anomalies du squelette et des tissus



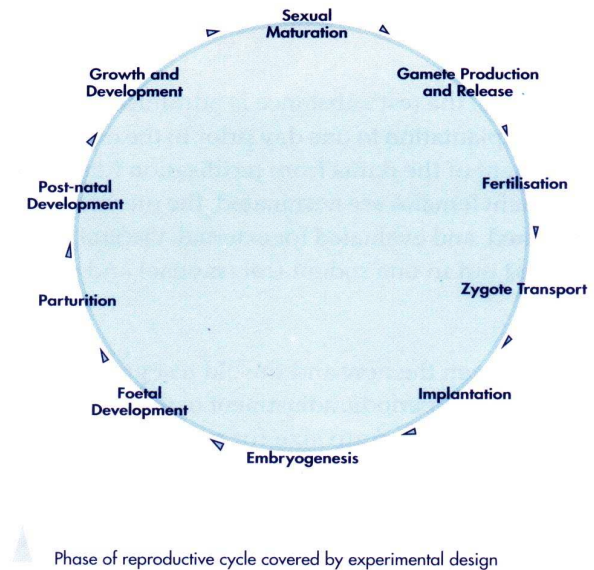
**Figure 11** Exposed neural tissue in both cranial and caudal regions and growth retardation of the branchial arches produced by *in vitro* treatment of a rat embryo with retinoic acid (A). Exencephaly, spina bifida, and acaudia produced by *in vivo* treatment of mice with retinoic acid (B) (reproduced by permission of Wiley-Liss from *Teratology* 1991, 43, 140. Copyright © 1991 Wiley-Liss, Inc.).

# OCDE Fiche 416 : Etude de toxicité de la reproduction (deux générations)

## But :

- L'objectif est d'évaluer les effets sur l'intégrité et le fonctionnement des appareils reproducteurs mâles et femelles sur deux générations.

Figure 4: Two-generation study (OECD TG 416)



## Animaux :

- Au moins une espèce → le rat
- Il est conseillé d'utiliser assez d'animaux pour obtenir 20 portées.

# Procédure

- Le traitement doit être appliqué en phase de gamétogenèse, avant l'accouplement : 3 semaines pour la femelle et 10 semaines pour le male.
- Les animaux sont identifiés et accouplés selon un rapport 1 : 1 ou 1 : 2.
- Le traitement se poursuit pendant l'accouplement, puis jusqu'au sevrage des nouveaux nés pour la femelle.
- Les nouveaux nés sont eux aussi traités puis accouplés entre eux (male et femelle de portées différentes). La procédure est identique à la précédente (1<sup>ère</sup> génération).



# Observations

## 1) pendant l'étude

- signes de toxicité, mortalité
- comportement pendant la gestation
- poids
- consommation de nourriture (avant et pendant l'accouplement, pendant la gestation et la lactation)
- durée de gestation
- parturition

## 2) après la naissance

- mortalité à la naissance
- nombre et sexe des nouveaux nés
- poids à la naissance
- développement physique, malformations ou anomalies
- fonctions sensorielles et réflexes
- survie jusqu'à 1 semaine

# Observations (suite)

## 3) examen terminal

- examen macroscopique des adultes et des nouveaux nés
- examens histologiques des organes de la reproduction des adultes (testicules, épидидymes, prostate, ovaires, utérus, vagin, hypophyse)
- isolement des autres organes pour examen histologique éventuel

# OCDE Fiche 421 : Essai de dépistage de la toxicité pour la reproduction et le développement

## But :

- L'objectif est d'obtenir une première série d'informations sur les effets possibles d'une substance sur le fonctionnement de la reproduction chez le male et la femelle.
- Cette directive ne vient pas en remplacement des fiches 414, 415 et 416 ; elle ne fournit pas toute l'évidence nécessaire à l'étayage d'une conclusion définitive quant à une absence d'effet.

## Animaux :

- Au moins une espèce → le rat

# Procédure

- Les animaux sont accouplés selon un rapport 1 : 1. Ils sont observés avant et pendant l'accouplement et la femelle est observée pendant la gestation et la lactation.
- Le mâle est sacrifié après l'accouplement et la femelle après la lactation.
- Les nouveaux nés qui survivent, sont sacrifiés le 4<sup>ème</sup> jour post-partum.

# Observations

## 1) pendant l'étude

- symptômes, mortalité
- poids
- consommation de nourriture
- durée de gestation
- parturition
- mortalité à la naissance
- nombre et sexe des nouveaux nés
- poids à la naissance
- développement physique, malformations ou anomalies
- fonctions sensorielles et réflexes
- survie jusqu'à 1 semaine

## 2) après sacrifice

- autopsie
- évaluations histologiques de tous les organes (testicules, ovaires, utérus)
- Implantations
- malformations

# repetés et de dépistage de la toxicité pour la reproduction et

## But : le développement

- L'objectif est d'obtenir des informations initiales sur les effets possibles affectant les capacités reproductrices (fonction gonadique, accouplement, conception, développement de l'embryon, parturition) et sur d'éventuels effets neurologiques (observations cliniques minutieuses).
- Cette directive ne fournit pas une information exhaustive sur tous les aspects de la reproduction et du développement.

# Observations

## 1) pendant l'étude :

- signes de toxicité, mortalité
- comportement pendant la gestation
- poids
- consommation de nourriture (avant et pendant l'accouplement, pendant la gestation et la lactation)
- durée de gestation
- parturition

## 2) après la naissance :

- mortalité à la naissance
- nombre et sexe des petits
- poids à la naissance

# OCDE Fiche 415 : Etude de toxicité de la reproduction (une génération)

## But :

- L'objectif est de tester les effets toxiques sur les performances de reproduction des mâles et des femelles (gonades, cycle, accouplement, gestation, parturition et lactation).

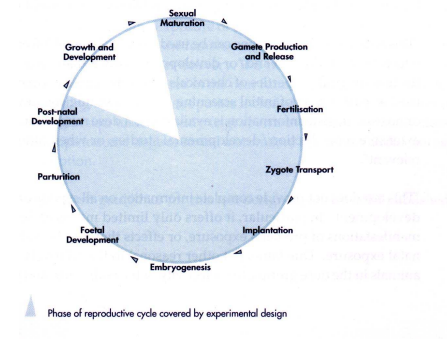
## Animaux :

- Au moins une espèce → le rat
- Il est conseillé d'utiliser assez d'animaux pour obtenir 20 portées.

## Procédure :

- Le traitement doit être appliqué en phase de gamétogenèse, avant l'accouplement : 3 semaines pour la femelle et 10 semaines pour le male.
- Les animaux sont identifiés et accouplés selon un rapport 1 : 1 ou 1 : 2.
- Le traitement se poursuit pendant l'accouplement, puis jusqu'au sevrage des nouveaux nés pour la femelle.
- Les mâles sont sacrifiés après l'accouplement et les femelles après le sevrage.

Figure 5: One-generation reproduction toxicity study (OECD TG 415)





## OCDE Fiche 426 : Etude de toxicité sur développement neurologique

### **But :**

Les études de neurotoxicité sur le développement ont pour objectif de produire des résultats relatifs aux effets fonctionnels et morphologiques potentiels exercés sur le système nerveux en développement de la progéniture après exposition *in utero* et aux premiers stades de la vie, notamment des caractérisations par des courbes de réponse à la dose.

### **Animaux :**

Rat. D'autres espèces peuvent être utilisées

## Remarques (malformations / variations)

- **Malformations** : altérations irréversibles qui affectent la survie de l'organisme, le développement ou une fonction particulière.
- **Variations** : altérations de la constitution structurelle de l'organisme mais qui n'affectent pas sa survie.

### Exemples de variations

- 13<sup>ème</sup> vertèbre
- Petite rate
- Anneau hémorragique autour de l'iris
- Opacités oculaires...

# Stratégie d'utilisation des tests

## Plusieurs stratégies ont été publiées

- EPA (Environmental Protection Agency) : Guidelines for reproductive toxicity risk assessment, (<http://www.epa.gov/ORD/WebPubs/repro/>).
- Union européenne : Guidance on information requirements and chemical safety assessment. Chapter R.7.a : Endpoint specific guidance (<http://echa.europa.eu>)
- OCDE : Guidance document on reproductive toxicity testing and assessment (<http://www.oecd.org>).

# Stratégie de l'Union européenne (Reach)

L'objectif est d'évaluer la toxicité de la reproduction d'un produit.

Tous les stades de la reproduction doivent être couverts :

- o fonction et capacité de reproduction de l'homme et de la femme,
- o induction d'effets non héréditaires chez la descendance (mort, retards de croissance, effets structuraux ou fonctionnels).

Les objectifs généraux de Reach sont de montrer si :

- Si une exposition humaine a pu être associée avec une toxicité de la reproduction
- Si, sur la base d'information autre qu'humaine, il peut être prédit que la substance causera une toxicité sur la

# Démarche

Fonction du tonnage

Tests OCDE 421 ou 422, 414 (une espèce, une deuxième espèce peut être envisagée), 416 fonction du tonnage

Tests peuvent être adaptés en fonction de la démarche détaillée dans la « Stepwise integrated Testing Strategy » (R766).

Les données qui peuvent influencer le choix de ces tests sont : des relations structures activités communes semblables à d'autres composés chimiques, les résultats d'autres études de toxicité, la présence d'effets mutagène ou carcinogène, des données obtenues à partir d'exposition humaine, des effets de perturbation endocrinienne ou des données sur l'exposition humaine.

# Perturbation endocrinienne

Le système endocrinien joue un rôle critique pour le contrôle de tous les aspects du cycle de la reproduction ; il peut être aussi un mécanisme de la toxicité de la reproduction.

- Les tests vis-à-vis de la perturbation endocrinienne ne sont pour l'instant pas demandés dans les dossiers standards de Reach et ils ne sont pas utilisés dans la méthode de l'ITS.
- Les tests actuels ne permettent pas de tester tous les mécanismes

Quelles sont les obligations en termes de tests vis-à-vis de la reproduction : Reach et avant ?

Tonnage	Nombre de substances envisagé	Tests repro Reach	Tests repro Ancienne réglementation
<b>&gt; 1 tpa</b>	25 000 (dont majorité des 250 substances nouvelles annuelles)	0	Évaluation de la reprotoxicité sur des critères particuliers
<b>&gt; 10 tpa</b>	5 000	<p>Toxicité pour la reproduction :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• étude de dépistage (OECD 421 ou OECD 422) si aucun indice dans les données disponibles (structure, (Q)SAR, tests <i>in vitro</i>)</li> <li>• étude de toxicité sur le développement (OECD 414) ou étude sur 2 générations (OECD 416) seulement si inquiétude sérieuse</li> </ul>	Si les risques de la substance le justifient



Tonnage	Nombre de substances envisagé	Tests repro Reach	Tests repro Ancienne réglementation
<b>&gt; 100 tpa</b>	2 500	<p>Toxicité pour la reproduction :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>•étude de toxicité sur le développement (OECD 414) (+ 2ème espèce au cas par cas)</li> <li>•étude sur 2 générations (OECD 416) seulement si inquiétude sérieuse (+ 2ème espèce au cas par cas)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- étude de tératogénicité : 1 espèce</li> <li>- étude de fertilité : 1 espèce, 1 génération</li> </ul>
<b>&gt; 1000 tpa</b>	2 500	<p>Toxicité sur la reproduction :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- étude de toxicité sur le développement (OECD 414)</li> <li>- étude sur 2 générations (OECD 416)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- étude de fertilité (étude sur 2 générations) : seulement si un effet sur la fertilité a été constaté précédemment</li> <li>- étude de toxicité liée au développement concernant les effets péri-et postnataux</li> <li>- étude de tératogénèse (autre espèce)</li> </ul>