

PH 2419



recherches  
et  
essais biologiques

I.C. - DREB - R  
710404

LABORATOIRES ROBERT & CARRIERE

E S S A I   T E R A T O G E N E

::::::::::::

D U   P R O D U I T   6 1 - 9 1   R & C

::::::::::::

**RAPPORT D'EXPERIMENTATION**

- 1ère partie -

G E N E R A L I T E S

=====

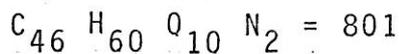
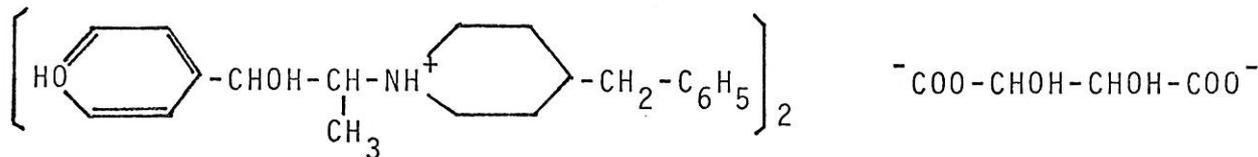
A la demande des Laboratoires ROBERT & CARRIERE, nous avons procédé à l'essai tératogène d'une spécialité provisoirement dénommée 61-91 R & C, chez les espèces animales suivantes :

- SOURIS
- RAT
- LAPIN.

La spécialité 61 - 91 R & C se présente sous forme de comprimés répondant à la sormule suivante :

. Principe actif 61-91 R & C....	0,010 g
. Talc.....	██████████
. Amidon de maïs.....	██████████
. Lactose.....	██████████
. Aérosil.....	██████████
pour un comprimé de...	0,120 g

Le principe actif 61-91 R & C est le tartrate de 1-(1'méthyl 2' hydroxy 2'-p.hydroxyphényl) éthyl 4- benzyl pipéridine, de formule :



Les Laboratoires ROBERT & CARRIERE nous ont fait parvenir l'expertise analytique de la préparation, ainsi que les données pharmacologiques et toxicologiques suivantes :

#### DONNEES PHARMACOLOGIQUES

Le produit 61 - 91 RC posséderait une activité vaso-dilatatrice périphérique, grâce à son effet alpha-adréno-lytique. Cette activité pharmacologique se manifeste à des doses de l'ordre de 1 à 10 mg/kg, par voie orale, chez le chien.

#### DONNEES TOXICOLOGIQUES

##### a - Toxicité aiguë chez la souris

- . par voie intra-veineuse : 44 mg/kg
- . par voie intra-péritonéale : 160 mg/kg
- . par voie orale : 320 mg/kg en solution aqueuse et plus de 1 g/kg en suspension dans l'huile.

##### b - Toxicité aiguë chez le rat

Chez cette espèce, la DL 50 par voie orale est supérieure à 1 g/kg.

c - La posologie humaine préconisée par les Laboratoires ROBERT & CARRIERE est de 3 comprimés de 10 mg par jour, cette dose pouvant aller jusqu'à 6 comprimés, soit une prise quotidienne de l'ordre de 1 mg/kg/jour chez l'homme.

C'est en fonction de l'ensemble de ces données que nous avons déterminé les doses à administrer aux 3 espèces animales utilisées pour l'essai tératogène.

Compte tenu de l'innocuité reconnue des excipients servant à la forme pharmaceutique, nous avons effectué l'essai sur le seul produit actif : 61 - 91 RC.

A cette fin, les Laboratoires ROBERT & CARRIERE nous ont fait parvenir 50 g du produit actif, enfermé dans un flacon portant la référence 61 - 91 RC, lot N° [REDACTED].

===oo§§oo===

- 2e partie -

PROT O C O L E     E X P E R I M E N T A L  
=: : = : : = : : = : : = : : = : : = : : = : : = : : = : : = : : = : : = : :

I - PROTOCOLE EXPERIMENTAL CHEZ LA SOURIS

L'essai a été pratiqué chez des souris femelles primipares, de souche OF1, élevées en conditions SPF au Centre de Recherches et d'Elevage des Oncins.

Les animaux ont été accouplés en harem (5 femelles pour 1 mâle). Après observation du bouchon muqueux, permettant la détermination du 1er jour de la gestation, les femelles saillies ont été réparties comme suit :

- 1 lot témoin comprenant 20 à 30 femelles,
- 2 lots traités respectivement aux doses de 10 et 50 mg/kg, comprenant également chacun 20 à 30 femelles.

Le traitement a été effectué pendant toute la période de l'organogénèse, c'est-à-dire du 6e au 15e jour de la gestation.

La veille de la mise-bas présumée (21e jour), les animaux furent anesthésiés à l'éther et les foetus prélevés par césarienne.

La moitié des foetus fut placée dans du liquide de Bouin, pour mise en évidence ultérieure d'éventuelles malformations organiques au niveau de l'encéphale, des yeux, du palais, du coeur et des reins.

L'autre moitié des foetus fut grossièrement éviscérée, et placée dans de l'alcool à 90°, pour déshydratation.

D'autre part, les utérus des mères ont été prélevés et ont subi un traitement au sulfure de Na et ferrocyanure de potassium, pour mise en évidence de résorptions précoces objectivées par une tache noire au niveau du point d'implantation (réaction du  $Fe^{+++}$ ).

Les foetus placés dans le Bouin, après fixation pendant 2 semaines, furent maintenus à  $-30^{\circ}$ , et des coupes transversales et longitudinales furent effectuées sur chacun (6 à 8 coupes par foetus). Les coupes présentant un aspect anormal ont été vérifiées à la loupe binoculaire (X 30).

Les foetus mis dans l'alcool à  $90^{\circ}$ , après plusieurs jours de fixation, furent placés dans de la potasse à 1 % pendant 24 h avec agitation fréquente. Dès que le squelette apparaissait à travers le tissu de soutien, les animaux ont été placés dans une solution d'Alizarine, pour coloration du squelette.

Après ce traitement, les foetus furent stockés dans la glycérine, et observés à la loupe, pour rechercher d'éventuelles malformations squelettiques.

## II - PROTOCOLE EXPERIMENTAL CHEZ LE RAT

La souche de rats utilisée est la souche OFA, d'origine Sprague-Dawley, ces animaux étant élevés en conditions SPF au Centre de Recherche et d'Élevage des Oncins.

Comme pour les souris, les rattes ont été accouplées avec les mâles en harem (5 femelles pour 1 mâle), et le premier jour de la gestation a été déterminé par l'observation d'un frottis vaginal positif chez les femelles.

Les femelles saillies ont été ensuite réparties comme suit :

- 1 lot témoin, comprenant environ 20 femelles
- 2 lots traités respectivement à des doses de 10 et 50 mg/kg et comprenant également chacun 20 femelles.

Le traitement a été effectué du 6e au 15e jour de la gestation, période correspondant à l'organogénèse.

Le 21e jour, les foetus furent prélevés par césarienne, et placés après examen macroscopique dans du Bouin, et dans de l'alcool à 90°, par moitié.

Ils ont subi les mêmes traitements et colorations que dans le cas de la souris.

### III - PROTOCOLE EXPERIMENTAL CHEZ LE LAPIN

On a utilisé pour cet essai, des lapines de race Néo-Zélandaise.

Pour cette espèce, les femelles ont été accouplées individuellement avec le mâle, l'accouplement étant vérifié de visu et déterminant le premier jour de la gestation.

Les femelles saillies ont alors été traitées du 6e au 18e jour de la gestation, selon la répartition suivante :

- 1 lot témoin d'environ 15 animaux
- 2 lots traités respectivement aux doses de 5 et 25 mg/kg (15 animaux par lot environ).

Le 29e jour de la gestation, les foetus furent prélevés par césarienne, examinés macroscopiquement et pesés.

Sur la première moitié

Après autopsie, la peau des foetus a été enlevée, et ceux-ci ont été placés dans de l'alcool pour subir le même traitement que précédemment : coloration à l'alizarine et étude des malformations squelettiques.

Sur la deuxième moitié

Après fixation dans du liquide de Bouin, les foetus ont subi des séries de coupes de Wilson transversales et longitudinales permettant de déceler d'éventuelles malformations organiques.

---

RESORPTIONS

---

Celles-ci sont dénombrées au moment de la césarienne, après coloration de l'utérus par la méthode de SALEWSKI (sulfure d'ammonium + ferrocyanure de potassium). Nous les classons en deux catégories :

Résorptions précoces :

Ne laissant qu'un hématome (allant d'un volume de quelques mm<sup>3</sup> à un simple état de traces). Ce type de résorptions implique une mort du foetus avant le 12<sup>e</sup> jour chez le rat et la souris, et avant le 18<sup>e</sup> jour chez le lapin.

Résorptions tardives :

Il s'agit de résorptions pour lesquelles on distingue un reste de placenta et de foetus.

---

EVALUATION DES MALFORMATIONS

Notre système d'évaluation des malformations rencontrées  
consiste à les diviser en 2 catégories :

- Anomalies mineures,
- Malformations majeures.

1 - Malformations majeures

=====

Elles concernent soit le squelette, soit les organes :

a - Malformations squelettiques \*

-----

- . Atrophie ou absence d'un membre ou absence d'une partie du membre (ectrodactylie ou brachydactylie)
- . Atrophie ou absence d'une mâchoire (brachygnathie ou agnathie)
- . Absence de vertèbres
- . Absence d'un nombre de côtes supérieur à 2
- . Présence de pieds bots
- . Spina-bifida
- . Bècs-de-lièvre
- . Fente palatine
- . Scoliose
- . Sternum ouvert.

b - Malformations organiques \*

-----

- . Acéphalie
- . Microcéphalie
- . Exencéphalie
- . Cyclopie

- . Hydrocéphalie
- . Microphthalmie
- . Anophtalmie
- . Hypoplasie pulmonaire
- . Atrophie cardiaque (ou hypertrophie)
- . Ectopie cardiaque
- . Agénésie rénale uni- ou bilatérale
- . Hydronéphrose
- . Ectopie rénale
- . Hernie diaphragmatique...

## 2 - Anomalies mineures

=====

Il s'agit de toutes les anomalies qui ne peuvent être rapportées à un effet tératogène au sens strict du terme :

- . Retards d'ossification (immaturité squelettique)
- . Légers hématomes
- . Torsions de la queue
- . Présence de côtes surnuméraires, en particulier chez le lapin où celle-ci est fréquente.
- . Légères scoliooses cervicales, dorsales ou lombaires
- . Anomalies concernant les sternèbres (absence, soudure...)
- . Luxation tibiotarsienne.

--=00§§00=--

\* Liste non exhaustive, correspondant aux anomalies retrouvées à des fréquences variables dans les souches utilisées.

- 3e partie -

R E S U L T A T S      O B T E N U S

=====  
=====

Les résultats et discussions, pour chaque espèce, figurent dans les pages ci-après, selon la répartition suivante :

- <u>SOURIS</u> .....	Pages 11 à 17
- <u>RAT</u> .....	Pages 18 à 24
- <u>LAPIN</u> .....	Pages 25 à 31

---

A - RESULTATS OBTENUS CHEZ LA SOURIS OF1

Les résultats de cet essai figurent dans les tableaux ci-après N° 1 à 5, sur lesquels sont consignés :

	<u>TABLEAU</u>	<u>PAGE</u>
- L'évolution pondérale des femelles gestantes des différents lots, témoin et traités.....	1	12
- Les anomalies relevées pour chaque femelle de chacun des lots.....	2 à 4	13 à 15
- Tableau récapitulatif permettant de comparer les résultats obtenus chez les lots témoin et traités, en ce qui concerne l'embryotoxicité et le pouvoir tératogène.....	6	16

(§) Certains résultats sont exprimés sous forme de moyenne (m) suivie du calcul de l'écart-type (s) :  $\sqrt{\frac{\sum(x - m)^2}{n - 1}}$

(§§) Dans ces tableaux ne figurent que les femelles fécondées ou mortes au cours de la gestation. Ne figurent pas les femelles ne présentant à la césarienne, ni fœtus, ni trace de résorption.

ESSAI TERATOGENE CHEZ LA SOURIS OF1 DU PRODUIT 61 - 91 RC

EVOLUTION PONDERALE DES FEMELLES GESTANTES

	Nbre de ♀		JOUR 1	JOUR 6	JOUR 11	JOUR 15	JOUR 19
<u>LOT</u> <u>TEMOIN</u>	24	m	25,8	27,5	30,6	37	48,8
		s	2	1,9	2,8	2,8	4,6
<u>LOT I</u> (10 mg/kg)	26	m	25,8	27,6	30,9	36	48
		s	1,4	1,4	2,8	3,3	5,6
<u>LOT II</u> (50 mg/kg)	22	m	25,5	27,3	30,1	36,2	48,1
		s	1,9	1,7	2,3	3,1	5,8

TABLEAU N° 2

ESSAI TERATOGENE CHEZ LA SOURIS

PRODUIT 61 - 91 RC

LOT TEMOIN

N°	Poids de la mère		Foetus prélevés		Poids moyen	Résorptions		OBSERVATIONS
	J 1	J 19	Vivants	Morts-nés		préc.	tard.	
1	26,1	46,7	9	0	1,12	1	0	R. A. S.
4	25,8	53,5	13	0	1,13	1	0	1 foetus avec léger ret. d'oss. des sternèbres. 1 foetus avec sternum en damier.
5	26,2	38,5	4	0	1,31	1	0	R. A. S.
6	27,4	31,6	8	0	1,44	0	0	R. A. S.
7	27,8	50,2	3	0	1,32	0	0	R. A. S.
9	25,4	55,7	14	0	1,21	0	0	R. A. S.
10	26	55,3	14	0	1,32	0	0	R. A. S.
11	28,8	52	12	0	1,09	0	0	1 foetus avec sternum en damier. 6 foetus avec léger ret. d'oss. du crâne.
12	25,2	47,4	9	0	1,23	1	0	R. A. S.
13	28,3	52,9	11	0	1,28	0	0	R. A. S.
14	24,2	55	14	0	1,17	0	0	R. A. S.
15	21,7	46,4	10	0	1,21	3	0	R. A. S.
16	25,3	48,3	12	0	1,08	0	0	R. A. S.
17	26	48,6	11	0	1,16	0	0	R. A. S.
18	29	54,4	13	0	1,22	2	0	R. A. S.
19	26,3	43,5	9	0	1,07	1	0	R. A. S.
20	27,2	47,8	8	0	1,30	1	0	R. A. S.
21	24,7	46	10	0	1,18	2	1	R. A. S.
22	27,9	52,5	13	0	1,21	0	0	R. A. S.
23	23	46	10	0	1,23	2	0	R. A. S.
24	25,4	46,8	10	0	1,15	2	0	1 foetus avec <u>1 exencéphalie</u> .
25	25	46,8	9	1	1,23	3	1	R. A. S.
26	25,6	45,2	14	0	1,02	0	0	R. A. S.
27	21	40,3	8	0	1,22	3	1	R. A. S.
			254	1		23	3	

TABLEAU N° 3

PRODUIT 61 - 91 RC		ESSAI TERATOGENE CHEZ LA SOURIS						LOT I (10 mg/kg)	
N°	Poids de la mère		Foetus prélevés		Poids moyen	Résorptions		OBSERVATIONS	
	J 1	J 19	Vivants	Morts-nés		préc.	tard.		
1	26,1	41,1	6	0	1,26	0	0	R. A. S.	
2	25,2	46,9	11	0	1,14	1	0	4 foetus avec sternèbres en damier.	
3	25,6	48,1	12	0	1,15	1	0	R. A. S.	
4	25,9	52,2	14	0	1,13	0	0	R. A. S.	
5	24,5	34,2	3	0	1,28	0	0	R. A. S.	
6	28	51,1	13	0	1,15	1	0	R. A. S.	
7	24,6	50,5	14	0	1,11	0	0	R. A. S.	
8	25,7	52,4	13	0	1,19	0	0	R. A. S.	
9	26,3	51,7	13	0	1,20	1	0	R. A. S.	
10	24,3	40,6	6	0	1,24	1	0	R. A. S.	
11	26,9	45,3	7	0	1,28	5	0	R. A. S.	
13	25,6	48,6	13	0	1,13	1	0	R. A. S.	
14	25,1	50,4	11	1	1,19	1	0	R. A. S. - Mort-né normal	
15	25,8	50,3	14	0	1,12	1	0	R. A. S.	
16	27,6	57,2	15	0	1,13	0	0	R. A. S.	
17	24,4	36,2	4	0	1,20	0	0	R. A. S.	
18	26,7	49,7	14	0	0,98	0	0	1 foetus avec <u>1 exencéphalie</u>	
19	25,6	45,1	11	0	1,02	2	0	1 foetus avec sternum en damier.	
20	28,8	57,6	14	2	1,12	0	0	2 morts-nés jumeaux normaux - R. A. S.	
21	26,1	50,9	13	0	1,11	1	0	R. A. S.	
22	26,2	42,3	9	0	1,06	3	0	R. A. S.	
23	24,3	46,4	13	0	1,13	0	0	R. A. S.	
24	25,9	48,2	13	0	1,12	1	0	R. A. S.	
25	27,5	52	10	0	1,17	2	0	R. A. S.	
26	26,1	51,1	14	0	1,08	0	0	R. A. S.	
27	22,1	46,6	12	0	1,13	0	0	R. A. S.	
			292	3			22	0	

TABLEAU N° 4

ESSAI TERATOGENE CHEZ LA SOURIS

PRODUIT 61 - 91 RC

LOT II (50 mg/kg)

N°	Poids de la mère		Foetus prélevés		Poids moyen	Résorptions		OBSERVATIONS
	J 1	J 19	Vivants	Morts-nés		préc.	tard.	
1	24,9	42,4	9	0	1,08	0	0	R. A. S.
2	26,1	52,2	14	0	1,11	0	0	R. A. S.
3	28,9	52,3	11	0	1,19	1	1	1 foetus avec sternum en damier.
4	25,3	56,6	15	0	1,23	0	0	R. A. S.
5	26,8	54,7	15	0	1,19	0	0	R. A. S.
6	25,4	38,7	4	0	1,33	0	0	R. A. S.
7	26,3	55,1	14	0	1,12	3	0	R. A. S.
9	25,9	45,5	10	0	1,17	1	0	R. A. S.
10	26,4	43,4	10	0	1,13	1	0	R. A. S.
11	26,7	51,5	12	0	1,20	0	0	R. A. S.
13	27,5	54,8	13	0	1,12	0	1	1 foetus avec <u>1 fente palatine.</u>
14	27,2	34,5	1	0	1,45	0	0	R. A. S.
15	23,4	45,8	10	0	1,24	3	0	R. A. S.
17	23,5	50,7	13	0	1,16	1	0	R. A. S.
19	21,5	47,6	13	0	1,13	1	0	R. A. S.
20	25	42,3	6	0	1,36	0	0	R. A. S.
21	27,8	54,1	14	0	1,10	0	0	1 foetus avec ret. d'oss. des sternèbres. 3 foetus avec sternum en damier.
22	22,4	46,4	12	0	1,08	1	0	R. A. S.
23	24,8	48,4	13	0	1,13	0	0	R. A. S.
24	22,4	43	9	0	1,27	3	0	R. A. S.
26	27,2	51,4	13	0	1,14	1	0	R. A. S.
27	24,9	47,7	13	0	1,03	1	0	R. A. S.
			244	0		17	2	

TABLEAU N° 5

ESSAI TERATOGENE CHEZ LA SOURIS DU PRODUIT 61 - 91 RC				
(PAR VOIE ORALE)				
		<u>LOT</u> <u>TEMOIN</u>	<u>LOT I</u> (10 mg/kg)	<u>LOT II</u> (50 mg/kg)
Nombre de femelles accouplées		27	27	27
Nombre de femelles fécondées		24	26	22
Nombre de femelles mortes		0	0	0
Nombre de femelles n'ayant présenté que des résorptions		0	0	0
Nombre de foetus morts-nés		1	3	0
Foetus vivants prélevés pour examen	Nombre total	254	292	244
	Moyenne Ecart-type	10,6 2,5	11,2 3,4	11,1 3,6
Moyenne Poids moyen des foetus Ecart-type		1,19 0,11	1,13 0,09	1,16 0,11
Nombre de malformations majeures macroscopiques		1	1	0
Etude des organes (coupes de Wilson)	Nombre de foetus examinés	121	145	110
	Nombre d'anomalies majeures	1	1	1
Etude du squelette (Alizarine)	Nombre de foetus étudiés	133	147	134
	Nombre d'anomalies majeures	0	0	0
Stade d'ossification		normal	normal	normal
Anomalies mineures		9 3,5 %	5 1,7 %	5 2 %
Nombre total d'anomalies majeures trouvées et pourcentage		1 0,4 %	1 0,3 %	1 0,4 %
Nombre de femelles ayant présenté une ou plusieurs anomalies majeures		1	1	1

Discussion des résultats obtenus chez la souris

1 - Embryotoxicité

L'analyse des résultats, en ce qui concerne l'évolution pondérale des mères, l'importance des portées viables obtenues et le poids moyen des foetus, montre que chez la souris, aux doses de 10 et 50 mg/kg, le produit 61 - 91 RC ne présente pas d'embryotoxicité.

2 - Effet tératogène

Chez le lot témoin et chez les animaux traités, l'examen de respectivement : 254, 292 et 244 foetus, à 50 % par la technique de Wilson, et à 50 % après coloration du squelette à l'alizarine, a permis de déceler une seule malformation majeure dans chacun des lots.

De ce fait, le produit 61 - 91 RC ne semble pas devoir augmenter le taux des malformations.

==oo§§oo==

B - RESULTATS OBTENUS CHEZ LE RAT OFA

Les résultats de cet essai figurent dans les tableaux ci-après N° 6 à 10, sur lesquels sont consignés :

	<u>TABLEAU</u>	<u>PAGE</u>
- L'évolution pondérale des femelles gestantes des différents lots, témoin et traités.....	6	19
- Les anomalies relevées pour chaque femelle de chacun des lots.....	7 à 9	20 à 22
- Tableau récapitulatif permettant de comparer les résultats obtenus chez les lots témoin et traités, en ce qui concerne l'embryotoxicité et le pouvoir tératogène.....	10	23

(§) Certains résultats sont exprimés sous forme de moyenne (m) suivie du calcul de l'écart-type (s) :  $\sqrt{\frac{\sum(x - m)^2}{n - 1}}$

(§§) Dans ces tableaux ne figurent que les femelles fécondées ou mortes au cours de la gestation. Ne figurent pas les femelles ne présentant à la césarienne, ni foetus, ni trace de résorption.

TABLEAU N° 6

ESSAI TERATOGENE CHEZ LE RAT OFA DU PRODUIT 61-91 RC

EVOLUTION PONDERALE DES FEMELLES GESTANTES  
=====

	Nbre de ♀		JOUR 1	JOUR 6	JOUR 11	JOUR 16	JOUR 21
<u>LOT</u> <u>TEMOIN</u>	23	m	246	264	279	300	363
		s	11	11	10	14	28
<u>LOT I</u>	20	m	242	258	274	296	363
		s	9	9	10	13	26
<u>LOT II</u>	24	m	241	258	271	296	357
		s	11	11	12	16	34

TABLEAU N° 7

ESSAI TERATOGENE CHEZ LE RAT								LOT TEMOIN	
PRODUIT 61 - 91 RC									
N°	Poids de la mère		Foetus prélevés		Poids moyen	Résorptions		OBSERVATIONS	
	J 1	J 21	Vivants	Morts-nés		préc.	tard.		
2	247	317	14	0	3,55	0	0	2 foetus avec ret. d'oss. des sternèbres.	
3	255	370	10	0	3,71	1	1	R. A. S.	
4	248	392	14	0	3,79	1	1	3 foetus avec ret. d'oss. des sternèbres.	
5	252	379	12	0	3,84	0	0	1 foetus avec ret. d'oss. des sternèbres.	
7	253	373	11	0	3,77	5	0	R. A. S.	
8	226	310	8	0	3,56	2	0	7 foetus avec ret. d'oss. des sternèbres ou côtes.	
9	245	353	11	0	3,69	0	0	R. A. S.	
10	238	307	4	0	3,91	0	0	R. A. S.	
11	245	349	13	0	3,48	1	0	R. A. S.	
12	251	389	15	0	3,66	0	0	3 foetus avec ret. d'oss. des sternèbres.	
13	244	359	12	0	3,33	0	0	R. A. S.	
14	234	370	15	0	3,62	0	0	3 foetus avec sternèbres en damiers.	
15	226	354	10	0	3,71	2	0	R. A. S.	
16	245	345	7	0	3,80	2	0	1 foetus avec ret. d'oss. des sternèbres.	
17	243	384	13	0	3,82	1	0	R. A. S.	
18	263	417	16	0	3,73	0	0	1 foetus avec sternèbres en damiers.	
19	240	328	7	0	3,85	0	0	R. A. S.	
21	262	400	16	0	3,83	0	0	R. A. S.	
22	251	375	15	0	3,50	0	0	R. A. S.	
23	230	364	13	0	3,41	3	0	6 foetus avec ret. d'oss. des sternèbres.	
24	256	375	11	0	3,40	0	0	R. A. S.	
25	250	379	12	0	3,52	1	1	1 foetus avec ret. d'oss. des sternèbres. 1 foetus avec léger ret. d'oss. au niveau du crâne.	
28	265	360	9	0	2,75	6	0	R. A. S.	
			268	0			25	3	

TABLEAU N° 8

ESSAI TERATOGENE CHEZ LE RAT

PRODUIT 61 - 91 RC

LOT I (10 mg/kg)

N°	Poids de la mère		Foetus prélevés		Poids moyen	Résorptions		OBSERVATIONS
	J 1	J 21	Vivants	Morts-nés		préc.	tard.	
2	238	388	14	0	3,82	2	0	R. A. S.
3	248	400	14	0	3,54	0	0	3 foetus avec ret. d'oss. des sternèbres.
5	228	348	10	0	3,57	0	0	R. A. S.
6	246	387	15	0	3,83	0	0	R. A. S.
7	246	377	15	0	3,62	1	0	R. A. S.
8	235	384	15	0	3,50	0	0	1 foetus avec sternèbres en damiers.
9	240	376	14	0	3,66	1	0	R. A. S.
12	241	375	12	0	3,53	1	0	R. A. S.
13	246	357	12	0	3,41	1	0	R. A. S.
14	236	365	15	0	3,32	0	0	4 foetus avec ret. d'oss. des sternèbres. 1 foetus avec sternèbres en damiers.
15	264	400	14	0	3,43	1	0	R. A. S.
16	244	343	7	0	3,70	0	0	2 foetus avec ret. d'oss. des sternèbres.
17	245	376	16	0	3,29	1	0	R. A. S.
18	240	318	4	0	3,87	2	0	R. A. S.
21	244	316	3	0	3,15	7	0	R. A. S.
23	233	356	14	0	3,37	0	0	R. A. S.
24	246	350	12	0	3,37	0	0	R. A. S.
26	250	335	11	0	3,02	3	0	8 foetus avec ret. d'oss. des sternèbres.
28	218	327	14	0	3,26	0	0	R. A. S.
29	248	384	15	0	3,18	0	0	3 foetus avec ret. d'oss. des sternèbres.
			246	0		20	0	

TABLEAU N° 9

ESSAI TERATOGENE CHEZ LE RAT

PRODUIT 61 - 91 RC

LOT II (50 mg/kg)

N°	Poids de la mère :		Foetus prélevés		Poids moyen	Résorptions		OBSERVATIONS
	J 1	J 21	Vivants	Morts-nés		préc.	tard.	
1	256	385	13	0	3,54	0	0	R. A. S.
2	239	349	9	0	3,90	3	0	2 foetus avec sternèbres en damiers.
3	230	322	7	0	3,69	0	0	R. A. S.
4	240	409	19	0	3,41	0	0	1 foetus avec ret. d'oss. des sternèbres.
5	241	326	6	0	3,69	1	0	R. A. S.
6	233	349	15	0	3,13	0	0	1 foetus avec ret. d'oss. des sternèbres. 14 foetus avec sternèbres en damiers.
7	245	347	12	0	3,76	0	0	R. A. S.
8	241	355	14	0	3,40	2	0	4 foetus avec ret. d'oss. des sternèbres.
9	242	298	1	0	3,73	0	0	R. A. S.
11	231	356	13	0	3,55	2	0	R. A. S.
12	231	301	4	0	4,04	0	0	1 foetus avec ret. d'oss. des sternèbres.
13	241	382	15	0	3,70	0	0	R. A. S.
14	262	407	17	0	3,52	0	0	1 foetus avec sternèbres en damiers. 4 foetus avec ret. d'oss. des sternèbres.
15	255	391	15	0	3,58	1	0	R. A. S.
16	262	418	15	0	3,57	3	0	5 foetus avec ret. d'oss. des sternèbres.
17	238	348	11	0	3,60	1	0	1 foetus avec légère hypertrophie d'une glande surrénale.
18	242	292	1	0	3,91	0	0	R. A. S.
19	242	378	13	0	3,73	0	0	R. A. S.
20	234	359	11	0	3,58	2	0	R. A. S.
21	215	332	12	0	3,46	1	0	R. A. S.
22	232	382	14	0	3,43	2	0	3 foetus avec sternum en damiers. 1 foetus avec ret. d'oss. des sternèbres.
24	251	370	13	0	3,22	1	0	R. A. S.
27	233	343	11	0	3,19	2	0	9 foetus avec ret. d'oss. des sternèbres.
28	242	369	14	0	3,54	0	0	R. A. S.
			275	0		21	0	

TABLEAU N° 10

ESSAI TERATOGENE CHEZ LE RAT DU PRODUIT 61 - 91 RC				
( PAR VOIE ORALE )				
		<u>LOT</u> <u>TEMOIN</u>	<u>LOT I</u> (10 mg/kg)	<u>LOT II</u> (50 mg/kg)
Nombre de femelles accouplées		28	29	28
Nombre de femelles fécondées		23	20	24
Nombre de femelles mortes		0	0	0
Nombre de femelles n'ayant présenté que des résorptions		0	0	0
Nombre de foetus morts-nés		0	0	0
Foetus vivants prélevés pour examen	Nombre total	268	246	275
	Moyenne Ecart-type	11,7 3,1	12,3 3,7	11,5 4,7
Moyenne Poids moyen des foetus Ecart-type		3,62 0,32	3,49 0,23	3,53 0,30
Nombre de malformations majeures macroscopiques		0	0	0
Etude des organes (coupes de Wilson)	Nombre de foetus examinés	122	136	145
	Nombre d'anomalies majeures	0	0	0
Etude du squelette (Alizarine)	Nombre de foetus étudiés	146	110	130
	Nombre d'anomalies majeures	0	0	0
Stade d'ossification		normal	normal	normal
Anomalies mineures		0	0	0
Nombre total d'anomalies majeures trouvées et pourcentage		0	0	0
Nombre de femelles ayant présenté une ou plusieurs anomalies majeures		0	0	0

Discussion des résultats obtenus chez le rat

1 - Embryotoxicité

Lors de l'essai chez le rat, nous n'avons noté aucune mortalité chez les femelles traitées, aucun taux anormal de résorptions précoces et tardives.

D'autre part, l'importance des portées obtenues et le poids moyen des foetus indiquent qu'aux doses utilisées chez le rat, le produit 61 - 91 RC ne présente pas d'embryotoxicité.

2 - Effet tératogène

L'examen par moitié sur le plan squelettique, et par moitié sur le plan organique (coupes de Wilson), de respectivement : 268, 246 et 275 foetus appartenant aux lots témoin et traités à 10 et 50 mg/kg, n'a permis de déceler aucune malformation majeure.

===oo§§oo===

C - RESULTATS OBTENUS CHEZ LE LAPIN NEO-ZELANDAIS

Les résultats de cet essai figurent dans les tableaux ci-après N° 11 à 15, sur lesquels sont consignés :

	<u>TABLEAU</u>	<u>PAGE</u>
- L'évolution pondérale des femelles gestantes des différents lots, témoin et traités.....	11	26
- Les anomalies relevées pour chaque femelle de chacun des lots.....	12 à 14	27 à 29
- Tableau récapitulatif permettant de comparer les résultats obtenus chez les lots témoin et traités, en ce qui concerne l'embryotoxicité et le pouvoir tératogène.....	15	30

---

(§) Certains résultats sont exprimés sous forme de moyenne (m) suivie du calcul de l'écart-type (s) :  $\sqrt{\frac{\sum(x - m)^2}{n - 1}}$

(§§) Dans ces tableaux ne figurent que les femelles fécondées ou mortes au cours de la gestation. Ne figurent pas les femelles ne présentant à la césarienne, ni fœtus, ni trace de résorption.

TABLEAU N° 11

ESSAI TERATOGENE CHEZ LE LAPIN DU PRODUIT 61-91 RC

---

EVOLUTION PONDERALE DES FEMELLES GESTANTES

---

	NOMBRE DE ♀		JOUR 1	JOUR 6	JOUR 16	JOUR 29
<u>LOT</u> <u>TEMOIN</u>	11	m	3,26	3,44	3,69	3,99
		s	0,49	0,50	0,45	0,42
<u>LOT I</u> (5 mg/kg)	14	m	3,44	3,56	3,79	4,12
		s	0,47	0,49	0,46	0,48
<u>LOT II</u> (25 mg/kg)	11	m	3,15	3,39	3,59	3,85
		s	0,41	0,34	0,34	0,32

TABLEAU N° 12

ESSAI TERATOGENE CHEZ LE LAPIN DU PRODUIT 61 - 91 RC

- Lot Témoin -

N°	POIDS DE LA MERE		FOETUS PRELEVES		POIDS MOYEN DES FOETUS	RESORPTIONS		Observations
	J 1	J 29	Vivants	Morts-nés		Précoces	Tardives	
1	3,81	4,35	3	0	64,4	1	0	R. A. S.
3	3,40	4,05	4	0	38,9	0	0	R. A. S.
4	3,43	4,20	11	0	30,9	0	0	R. A. S.
5	2,60	3,20	6	0	36,9	0	0	R. A. S.
6	2,50	3,74	9	0	35	0	0	R. A. S.
7	2,55	3,40	8	0	34,9	1	0	R. A. S.
8	3,65	4,65	11	0	30,9	2	0	R. A. S.
10	3,65	4,10	7	0	30,4	0	0	R. A. S.
11	3,75	4,35	6	0	41,5	0	0	R. A. S.
13	3,28	4,00	10	0	32,7	0	0	R. A. S.
14	3,20	3,90	7	0	38,7	0	0	R. A. S.
			82	0		4	0	

710404

TABLEAU N° 13

## ESSAI TERATOGENE CHEZ LE LAPIN DU PRODUIT 61 - 91 RC

- Lot I (5 mg/kg) -

N°	POIDS DE LA MERE		FOETUS PRELEVES		POIDS MOYEN DES FOETUS	RESORPTIONS		Observations
	J 1	J 29	Vivants	Morts-nés		Précoces	Tardives	
1	3,80	4,50	4	0	39,6	1	0	R. A. S.
2	3,50	3,90	9	0	37,3	0	0	R. A. S.
3	2,75	3,35	8	0	34,9	0	0	1 foetus avec <u>début de fente palatine</u>
4	3,90	4,76	10	0	32,4	0	0	R. A. S.
5	3,50	3,95	9	0	34,6	1	0	R. A. S.
6	4,10	4,65	11	0	33,2	0	0	R. A. S.
7	3,35	4,10	5	0	42,3	1	0	R. A. S.
8	3,50	3,85	4	0	40	1	0	R. A. S.
9	2,85	3,85	10	0	30	1	0	1 foetus avec sternèbres en damier.
10	3,60	4,50	5	0	29,4	4	1	R. A. S.
11	2,80	3,75	8	0	37,4	0	0	R. A. S.
12	2,85	3,55	10	0	25,9	0	0	R. A. S.
14	3,60	4,02	7	0	34	0	0	R. A. S.
15	4,10	5,00	5	0	38,8	0	0	R. A. S.
			105	0		9	1	

TABLEAU N° 14

## ESSAI TERATOGENE CHEZ LE LAPIN DU PRODUIT 61 - 91 RC

- Lot II (15 mg/kg) -

N°	POIDS DE LA MERE		FOETUS PRELEVES		POIDS MOYEN DES FOETUS	RESORPTIONS		Observations
	J 1	J 29	Vivants	Morts-nés		Précoces	Tardives	
2	2,65	3,30	5	0	33,6	2	0	R. A. S.
5	3,35	3,80	3	0	37,7	1	0	R. A. S.
7	2,85	3,55	6	0	36,9	0	0	R. A. S.
8	3,35	3,55	5	0	34,9	1	0	R. A. S.
9	2,70	3,80	7	0	36	0	0	R. A. S.
10	3,50	4,15	2	0	40	1	0	R. A. S.
11	3,10	3,86	7	0	34,6	1	0	R. A. S.
12	3,15	4,00	10	0	31,1	0	0	R. A. S.
13	2,70	3,70	6	0	36,5	0	0	R. A. S.
14	3,35	4,26	9	0	31,8	0	2	R. A. S.
15	4,00	4,35	6	0	34,5	0	3	1 foetus avec <u>spina-bifida</u>
			66	0		6	5	

TABLEAU N° 15

ESSAI TERATOGENE CHEZ LE LAPIN DU PRODUIT 61 - 91 RC				
<u>L A P I N</u>		<u>LOT</u> <u>TEMOIN</u>	<u>LOT I</u> (5 mg/kg)	<u>LOT II</u> (15 mg/kg)
Nombre de femelles accouplées		15	15	15
Nombre de femelles fécondées		11	14	11
Nombre de femelles mortes		0	0	0
Nombre de femelles n'ayant présenté que des résorptions		0	0	0
Nombre de foetus morts-nés		0	0	0
Foetus vivants prélevés pour examen	Nombre total	82	105	66
	Moyenne Ecart-type	7,5 2,7	7,5 2,5	6 2,3
Moyenne Poids moyen des foetus Ecart-type		35,4 7,4	34,1 2,5	34,5 4,1
Nombre de malformations majeures macroscopiques		0	0	1
Etude des organes (coupes de Wilson)	Nombre de foetus examinés	38	49	30
	Nombre d'anomalies majeures	0	1	0
Etude du squelette (Alizarine)	Nombre de foetus étudiés	44	56	36
	Nombre d'anomalies majeures	0	0	1
Stade d'ossification		normal	normal	normal
Anomalies mineures		0	1	0
Nombre total d'anomalies majeures trouvées et pourcentage		0	1 0,95 %	1 1,52 %
Nombre de femelles ayant présenté une ou plusieurs anomalies majeures		0	1	1

Discussion des résultats obtenus chez le lapin1 - Embryotoxicité

Lors de l'essai tératogène chez le lapin, 2 lots traités à 5 et 15 mg/kg, comprenant chacun 15 femelles, ont donné respectivement 14 et 11 portées.

Aucune femelle n'a présenté de signes de toxicité à la dose de 15 mg/kg.

Le nombre de résorptions précoces et tardives obtenues sur les lots traités ne présente pas de différence significative avec le lot témoin ; il en est de même de l'importance des portées et de la viabilité et du poids moyen des foetus.

2 - Effet tératogène

L'examen des 105 foetus du lot I et des 66 foetus du lot II a donné les résultats suivants :

- LOT I : la femelle N° 3 a présenté, sur 8 foetus vivants, un foetus avec un début de fente palatine.
- LOT II : la femelle N° 15 a donné un foetus présentant une spina-bifida.

La présence d'une seule anomalie majeure par lot ne permet pas d'attribuer celle-ci au traitement des mères avec le produit 61 - 91 RC (test  $\chi^2$  négatif).

==00§§00==

