

Francis / 5

CONFIDENTIEL

- Agence française
de sécurité
alimentaire
et sanitaire
Département
de la Région
Nord-Pas de Calais

RAPPORT D'ETUDE

ETUDE DES EFFETS DE L'HYDROLYSAT "ING 911", ADMINISTRE A DES FEMELLES TOUT AU LONG DE LA GESTATION, SUR LES MALFORMATIONS INTERNES ET EXTERNES CHEZ DES JEUNES RATS WISTAR DE DEUXIEME GENERATION

CODE DU PROTOCOLE : INGREDIA-13-2/0501/Anatomie Pathologique-F2

PROMOTEUR

INGREDIA
J.-F. BOUDIER, B. DEMAGNY, C. LEFRANC
51-53, Avenue F. Lobbedez F-62033 Arras Cedex

AUTEUR

Pr. F. PLENAT
Laboratoire d'Anatomie Pathologique – Faculté de Médecine
9, Avenue de la Forêt de Haye F-54505 Vandoeuvre-lès-Nancy Cedex

ESSAI EN CONFORMITE AVEC LES BONNES PRATIQUES
EN EXPERIMENTATION ANIMALE

OCTOBRE 2001

PERIODE D'EXPERIMENTATION : JUILLET - AOUT 2001

TABLE DES MATIERES

AUTEUR	2
1 - INTRODUCTION	3
2 - MATERIELS ET METHODES	3
2.1 - Animaux	3
2.2 - Procédure expérimentale	4
3 - RESULTATS	5
4 - CONCLUSION	11

LABORATOIRE D'ANATOMIE PATHOLOGIQUE
Faculté de Médecine
9, Avenue de la Forêt de Haye
B.P. 184
54505 VANDOEUVRE-LES-NANCY CEDEX
Tél. 03 83 59 26 03 - Fax : 03 83 59 26 60

**ETUDE DES EFFETS DE L'HYDROLYSAT "ING 911", ADMINISTREA DES FEMELLES TOUT
AU LONG DE LA GESTATION, SUR LES MALFORMATIONS INTERNES ET EXTERNES CHEZ
DES JEUNES RATS WISTAR DE DEUXIEME GENERATION**

AUTEUR

Je, soussigné, déclare que le travail décrit dans ce rapport a été réalisé sous ma responsabilité et que ce rapport correspond fidèlement aux résultats obtenus.

Je déclare par ailleurs que la présente étude a été réalisée en accord avec les Protocoles de Travail Standards du Laboratoire d'Anatomie Pathologique de la Faculté de Médecine de Nancy, Université H. Poincaré et conformément aux principes de Bonnes Pratiques de Laboratoire, y compris l'archivage des documents d'origine.

Vandoeuvre-lès-Nancy, le 25 Octobre 2001



Professeur F. PLENAT

1 – INTRODUCTION

A la demande d'INGREDIA, le Laboratoire d'Anatomie Pathologique de la Faculté de Médecine de Nancy, Université Henri Poincaré, a réalisé une étude macroscopique et microscopique afin d'évaluer les effets de l'hydrolysate "ING 911", administré tout au long de la gestation à des femelles de rats de la souche Wistar, sur les malformations internes et externes chez des jeunes mâles et femelles de deuxième génération.

Huit femelles de première génération, issues des femelles témoins ayant reçu 150 mg/kg/j de lait en poudre écrémé tout au long de la gestation et huit autres, issues des femelles traitées avec l'hydrolysate "ING 911" à la dose de 150 mg/kg/j pendant la même période, ont été fécondées par des mâles non consanguins différents, issus des femelles des mêmes groupes de traitements.

A la naissance, les portées ont été réduites à 8 jeunes (4-4 ou 3-5, en fonction du nombre de mâles et de femelles dans les portées). Dans chaque portée, à l'âge de 18 ou 19 jours, un mâle et une femelle, ont été tirés au hasard et confiés au Laboratoire d'Anatomie Pathologique de la Faculté de Médecine de Nancy, en vue d'examen macroscopiques et histologiques pour relever d'éventuelles malformations générales externes et internes.

2 - MATERIELS ET METHODES

2.1 - Animaux

Seize femelles Wistar de première génération, issues des portées de l'étude principale de toxicologie comportementale, ont été utilisées. Après croisement avec des mâles non consanguins de première génération, issus de femelles des mêmes groupes de traitements, les femelles fécondées ont été installées dans des cages en polycarbonate de type F (48 x 27 x 20 cm, U.A.R., 91 - Epinay-Sur-Orge, France). A la naissance, après avoir relevé la taille des portées, celles-ci ont été réduites à 8 jeunes (4-4 ou 3-5), afin d'étudier des groupes de tailles comparables. Pour individualiser les jeunes de chaque portée, un marquage sous-cutané avec un colorant vital (bleu alcyan) a été réalisé. Après l'apparition des poils, un marquage définitif, à l'aide d'acide picrique, a été appliqué sur le pelage suivant un code déterminé. Les femelles et leurs jeunes ont été stabulés dans une animalerie climatisée, à une température de 22-24°C. Les femelles ont disposé de nourriture (croquettes M25, Ets Piétrement, 77-Provins, France) et de boisson *ad libitum* et ont été soumises à un cycle lumière-obscurité de 12 heures.

Les rats des différents groupes ont tous été manipulés de la même façon et dans les mêmes conditions.

Les croisements, le suivi des gestations et la stabulation des portées au cours des trois semaines suivant la naissance ont été réalisés au sein du Centre de Recherches ETAP-Ethologie Appliquée 13, rue du Bois de la Champelle 54500 Vandoeuvre-lès-Nancy (Dr. A. NEJDI).

2.2 - Procédure expérimentale

A l'âge de 18 ou 19 jours, 8 mâles et 7 femelles du groupe "Traitement" et 8 mâles et 8 femelles du groupe "Témoin" ont été tirés au hasard à raison d'un mâle et d'une femelle dans chaque portée et confiés au Laboratoire d'Anatomie Pathologique de la Faculté de Médecine de Nancy, en vue d'examens macroscopiques et histologiques pour relever d'éventuelles malformations générales externes et internes.

Variables étudiées

- malformations générales externes ;
- malformations viscérales internes ;
- examens histologiques.

3 - RESULTATSTableau 1

MALFORMATIONS GENERALES						
Code Portée	C1		C5		C6	
Date de naissance	19-07-01		19-07-01		20-07-01	
Groupe Témoin	Mâle N° 2 (D6485)	Femelle N° 4 (D6488)	Mâle N° 3 (D6486)	Femelle N° 1 (D6491)	Male N° 1 (D6487)	Femelle N° 2 (D6490)
Tête						
-normale	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
Yeux						
-normaux	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
-nombre	2	2	2	2	2	2
Oreilles						
-normales	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
-nombre	2	2	2	2	2	2
Bouche						
-normale	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
-fente labiale	NON	NON	NON	NON	NON	NON
-fente palatine	NON	NON	NON	NON	NON	NON
Membres ant.						
-normaux	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
-nombre	2	2	2	2	2	2
-doigts	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
Membres post.						
-normaux	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
-nombre	2	2	2	2	2	2
-doigts	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
Anus						
-normal	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
Organes génit.						
Ext. - normaux	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
Queue						
-normale	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
Agénésies	0	0	0	0	0	0
Côtes						
-nombre	12	12	12	12	12	12
-disposition	RAS	RAS	RAS	RAS	RAS	RAS
MALFORMATIONS VISCERALES						
Cœur						
-normal	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
-cavités	RAS	RAS	RAS	RAS	RAS	RAS
Poumons						
-normaux	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
-nombre	2	2	2	2	2	2
Reins						
-normaux	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
-nombre	2	2	2	2	2	2
Appareil digestif						
Foie	G-/S+	G-/S+	G-/S-	G-/S+	G-/S-	G-/S+
Estomac	NORMAL	NORMAL	NORMAL	NORMAL	NORMAL	NORMAL
Intestins	NORMAUX	NORMAUX	NORMAUX	NORMAUX	NORMAUX	NORMAUX

Tableau 2

MALFORMATIONS GENERALES						
Code Portée	C7		C10		C11	
Date de naissance	20-07-01		21-07-01		21-07-01	
Groupe Témoin	Mâle N° 1 (D6484)	Femelle N° 3 (D6489)	Femelle(*) N° 2 (D6505)	Femelle N° 3 (D6501)	Mâle N° 3 (D6506)	Femelle N° 1 (D6502)
Tête						
-normale	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
Yeux						
-normaux	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
-nombre	2	2	2	2	2	2
Oreilles						
-normales	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
-nombre	2	2	2	2	2	2
Bouche						
-normale	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
-fente labiale	NON	NON	NON	NON	NON	NON
-fente palatine	NON	NON	NON	NON	NON	NON
Membres ant.						
-normaux	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
-nombre	2	2	2	2	2	2
-doigts	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
Membres post.						
-normaux	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
-nombre	2	2	2	2	2	2
-doigts	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
Anus						
-normal	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
Organes génit.						
Ext. - normaux	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
Queue						
-normale	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
Agénésies						
-nombre	0	0	0	0	0	0
Côtes						
-nombre	12	12	12	12	12	12
-disposition	RAS	RAS	RAS	RAS	RAS	RAS
MALFORMATIONS VISCERALES						
Cœur						
-normal	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
-cavités	RAS	RAS	RAS	RAS	RAS	RAS
Poumons						
-normaux	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
-nombre	2	2	2	2	2	2
Reins						
-normaux	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
-nombre	2	2	2	2	2	2
Appareil digestif						
Foie	G-/S-	G-/S+	G+/S-	G-/S-	G+/S-	G+/S-
Estomac	NORMAL	NORMAL	NORMAL	NORMAL	NORMAL	NORMAL
Intestins	NORMAUX	NORMAUX	NORMAUX	NORMAUX	NORMAUX	NORMAUX

(*) Dans la portée C10, le mâle n° 2 s'est révélé être une femelle.

Tableau 3

MALFORMATIONS GENERALES				
Code Portée	C12		C13	
Date de naissance	21-07-01		21-07-01	
Groupe Témoin	Mâle N° 3 (D6507)	Femelle N° 1 (D6503)	Femelle N° 3 (D6508)	Femelle N° 1 (D6504)
Tête				
-normale	OUI	OUI	OUI	OUI
Yeux				
-normaux	OUI	OUI	OUI	OUI
-nombre	2	2	2	2
Oreilles				
-normales	OUI	OUI	OUI	OUI
-nombre	2	2	2	2
Bouche				
-normale	OUI	OUI	OUI	OUI
-fente labiale	NON	NON	NON	NON
-fente palatine	NON	NON	NON	NON
Membres ant.				
-normaux	OUI	OUI	OUI	OUI
-nombre	2	2	2	2
-doigts	OUI	OUI	OUI	OUI
Membres post.				
-normaux	OUI	OUI	OUI	OUI
-nombre	2	2	2	2
-doigts	OUI	OUI	OUI	OUI
Anus				
-normal	OUI	OUI	OUI	OUI
Organes génit.				
Ext. - normaux	OUI	OUI	OUI	OUI
Queue				
-normale	OUI	OUI	OUI	OUI
Agénésies				
-nombre	0	0	0	0
-disposition	12 RAS	12 RAS	12 RAS	12 RAS
MALFORMATIONS VISCERALES				
Cœur				
-normal	OUI	OUI	OUI	OUI
-cavités	RAS	RAS	RAS	RAS
Poumons				
-normaux	OUI	OUI	OUI	OUI
-nombre	2	2	2	2
Reins				
-normaux	OUI	OUI	OUI	OUI
-nombre	2	2	2	2
Appareil digestif				
Foie	G-/S-	G+/S-	G+/S-	G-/S-
Estomac	NORMAL	NORMAL	NORMAL	NORMAL
Intestins	NORMAUX	NORMAUX	NORMAUX	NORMAUX

Tableau 4

MALFORMATIONS GENERALES						
Code Portée	C2		C3		C4	
Date de naissance	19-07-01		19-07-01		19-07-01	
Groupe Traitement	Mâle N° 3 (D6496)	Femelle N° 1 (D6492)	Mâle N° 2 (D6497)	Femelle N° 4 (D6493)	Mâle N° 1 (D6498)	Femelle N° 1
Tête						
-normale	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	-
Yeux						
-normaux	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	-
-nombre	2	2	2	2	2	
Oreilles						
-normales	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	-
-nombre	2	2	2	2	2	
Bouche						
-normale	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	-
-fente labiale	NON	NON	NON	NON	NON	
-fente palatine	NON	NON	NON	NON	NON	
Membres ant.						
-normaux	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	-
-nombre	2	2	2	2	2	
-doigts	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	
Membres post.						
-normaux	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	-
-nombre	2	2	2	2	2	
-doigts	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	
Anus						
-normal	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	-
Organes génit.						
Ext. - normaux	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	-
Queue						
-normale	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	-
Agénésies	0	0	0	0	0	-
Côtes						
-nombre	12	12	12	12	12	-
-disposition	RAS	RAS	RAS	RAS	RAS	
MALFORMATIONS VISCERALES						
Cœur						
-normal	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	-
-cavités	RAS	RAS	RAS	RAS	RAS	
Poumons						
-normaux	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	-
-nombre	2	2	2	2	2	
Reins						
-normaux	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	-
-nombre	2	2	2	2	2	
Appareil digestif						
Foie	G+/S-	G+/S-	G+/S-	G+/S-	G-/S+	-
Estomac	NORMAL	NORMAL	NORMAL	NORMAL	NORMAL	
Intestins	NORMAUX	NORMAUX	NORMAUX	NORMAUX	NORMAUX	

Tableau 5

MALFORMATIONS GENERALES						
Code Portée	C8		C9		C15	
Date de naissance	21-07-01		21-07-01		22-07-01	
Groupe Traitement	Mâle N° 4 (D6499)	Femelle N° 2 (D6495)	Mâle N° 4 (D6500)	Femelle N° 1 (D6494)	Mâle N° 1 (D6509)	Femelle N° 2 (D6512)
Tête						
-normale	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
Yeux						
-normaux	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
-nombre	2	2	2	2	2	2
Oreilles						
-normales	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
-nombre	2	2	2	2	2	2
Bouche						
-normale	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
-fente labiale	NON	NON	NON	NON	NON	NON
-fente palatine	NON	NON	NON	NON	NON	NON
Membres ant.						
-normaux	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
-nombre	2	2	2	2	2	2
-doigts	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
Membres post.						
-normaux	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
-nombre	2	2	2	2	2	2
-doigts	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
Anus						
-normal	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
Organes génit.						
Ext. - normaux	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
Queue						
-normale	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
Agénésies	0	0	0	0	0	0
Côtes						
-nombre	12	12	12	12	12	12
-disposition	RAS	RAS	RAS	RAS	RAS	RAS
MALFORMATIONS VISCERALES						
Cœur						
-normal	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
-cavités	RAS	RAS	RAS	RAS	RAS	RAS
Poumons						
-normaux	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
-nombre	2	2	2	2	2	2
Reins						
-normaux	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI	OUI
-nombre	2	2	2	2	2	2
Appareil digestif						
Foie	G-/S+	G+/S-	G-/S+	G+/S-	G+/S+	G-/S+
Estomac	NORMAL	NORMAL	NORMAL	NORMAL	NORMAL	NORMAL
Intestins	NORMAUX	NORMAUX	NORMAUX	NORMAUX	NORMAUX	NORMAUX

Tableau 6

MALFORMATIONS GENERALES				
Code Portée	C16		C18	
Date de naissance	22-07-01		22-07-01	
Groupe Traitement	Mâle N° 3 (D6510)	Femelle N° 4 (D6513)	Femelle N° 2 (D6511)	Femelle N° 1 (D6514)
Tête				
-normale	OUI	OUI	OUI	OUI
Yeux				
-normaux	OUI	OUI	OUI	OUI
-nombre	2	2	2	2
Oreilles				
-normales	OUI	OUI	OUI	OUI
-nombre	2	2	2	2
Bouche				
-normale	OUI	OUI	OUI	OUI
-fente labiale	NON	NON	NON	NON
-fente palatine	NON	NON	NON	NON
Membres ant.				
-normaux	OUI	OUI	OUI	OUI
-nombre	2	2	2	2
-doigts	OUI	OUI	OUI	OUI
Membres post.				
-normaux	OUI	OUI	OUI	OUI
-nombre	2	2	2	2
-doigts	OUI	OUI	OUI	OUI
Anus				
-normal	OUI	OUI	OUI	OUI
Organes génit.				
Ext. - normaux	OUI	OUI	OUI	OUI
Queue				
-normale	OUI	OUI	OUI	OUI
Agénésies	0	0	0	0
Côtes				
-nombre	12	12	12	12
-disposition	RAS	RAS	RAS	RAS
MALFORMATIONS VISCERALES				
Cœur				
-normal	OUI	OUI	OUI	OUI
-cavités	RAS	RAS	RAS	RAS
Poumons				
-normaux	OUI	OUI	OUI	OUI
-nombre	2	2	2	2
Reins				
-normaux	OUI	OUI	OUI	OUI
-nombre	2	2	2	2
Appareil digestif				
Foie	G-/S+	G-/S+	G-/S+	G-/S+
Estomac	NORMAL	NORMAL	NORMAL	NORMAL
Intestins	NORMAUX	NORMAUX	NORMAUX	NORMAUX

4 – CONCLUSION

Aucune malformation n'a été observée à l'examen sous microscope opératoire chez les jeunes rats mâles et femelles de deuxième génération des deux groupes de traitements.

Les contrôles histologiques systématiques (poumons, cœur, foie, reins, pancréas, estomac, colon et grêle) se sont révélés normaux. A noter cependant, chez certains animaux des deux groupes "Traitement" et "Témoin", une très discrète stéatose macrovésiculaire (intitulée G+ dans les tableaux). Cette stéatose est le plus souvent, bien qu'inconstamment, observée chez des animaux dont la charge glycogénique hépatique est réduite. Cela pourrait s'expliquer par le fait que ces animaux aient été sacrifiés après un jeûne de 16 heures.

En conclusion, l'administration quotidienne d'hydrolysat "ING 911", à la dose de 150 mg/kg, P.O., à des rattes Wistar tout au long de leur gestation, n'induit pas de malformations générales ou viscérales chez les jeunes mâles et femelles de deuxième génération.

Vandoeuvre-lès-Nancy, le 25 Octobre 2001

Professeur F. PLENAT

LABORATOIRE D'ANATOMIE PATHOLOGIQUE
Faculté de Médecine
9, Avenue de la Forêt de Haye B.P. 184
54505 VANDOEUVRE-LES-NANCY CEDEX
Tél. 03 83 59 26 03 - Fax : 03 83 59 26 60