

LES INFORMATIONS DE LA COORDINATION NATIONALE POUR LES LIGNES DIRECTRICES DE L'OCDE



Ineris - 200960- 2542333 - v.1.0

DECEMBRE 2020

Actualités

Cette fin d'année est traditionnellement la période de dépôt des nouveaux sujets en vue de leur possible intégration dans le programme de travail des lignes directrices de l'OCDE. Les propositions de nouveaux sujets sont désormais connues et viennent d'être communiquées aux Coordinateurs Nationaux des différents Pays Membres, qui doivent se positionner sur la pertinence de ces projets et définir leurs niveaux d'implication respectifs. Contrairement aux années précédentes, pour lesquelles les sujets étaient nombreux et variés, les propositions soumises en cette fin d'année sont limitées.

Les retours concernant ces propositions doivent être transmis au secrétariat du programme des lignes directrices de l'OCDE pour le 15 janvier 2021. Les proposant doivent ensuite répondre aux commentaires et modifier les propositions (si nécessaire) en collaboration avec les Coordinateurs Nationaux concernés avant la fin février 2021.

→ Nouveaux sujets 2021

NOUVELLES LIGNES DIRECTRICES

▪ **A marine biodegradation screening test for chemical persistence assessment (MaP test)**

Cette proposition a pour objectif de développer une nouvelle ligne directrice permettant d'évaluer la persistance des substances chimiques en milieu marin. Cette nouvelle ligne directrice viendra compléter, mais ne remplacera pas, la TG 306 existante de l'OCDE sur la biodégradabilité dans l'eau de mer. Le test MaP proposé entend fournir une identification et un dépistage plus précis et plus fiables des substances non persistantes et potentiellement persistantes rejetées dans le milieu marin que l'actuelle ligne directrice OCDE 306 dans le cadre des évaluations de la persistance (P) uniquement (pilote : Royaume-Uni).

▪ **Identification of the immunotoxic potential of chemicals using the IL-2 Luc assay**

Cette proposition de nouvelle ligne directrice a pour objectif de mesurer le potentiel immunotoxique des substances chimiques. Il est en lien avec le projet d'une revue détaillée sur les tests d'immunotoxicité dans l'objectif de définir une approche intégrée de tests et d'évaluation (projet 4.134, intégré en 2019). L'approche est basée sur la mesure de l'interleukine IL-2, dont la suppression est identifiée comme événement clé dans un chemin d'effet adverse (AOP) d'immunotoxicité. Cette méthode *in vitro* utilise la lignée cellulaire Jurkat et le gène rapporteur IL-2-luciférase. Ce test n'a pas vocation à être utilisé seul mais comme un composant des approches intégrées de tests et d'évaluations (IATA) pour détecter le potentiel immunotoxique des produits chimiques *in vitro*. Ce projet avait déjà été proposé en 2019 et considéré comme trop prématuré pour entrer dans le programme de travail. (pilote : Japon).

▪ **BRET-based dimerization assay for the detection of compounds with androgen receptor binding affinity**

Ce projet propose de développer une ligne directrice décrivant un test de dimérisation *in vitro* basé sur le transfert d'énergie par résonance de bioluminescence (BRET) pour la détection de composés ayant une affinité de liaison aux récepteurs androgéniques (AR) en utilisant des cellules embryonnaires de rein humain (HEK-293) (pilote : Corée).

▪ **BRET-based dimerization assay for the detection of compounds with estrogen receptor α binding affinity**

Ce projet concerne le développement d'une ligne directrice et s'inscrit dans la même démarche que le précédent, avec la même méthodologie (un test de dimérisation *in vitro* basé sur le transfert d'énergie par résonance de bioluminescence (BRET)) appliquée ici pour la détection de composés ayant une affinité de liaison au récepteur des œstrogènes α (ER α) en utilisant des cellules embryonnaires de rein humain (HEK-293) (pilote : Corée).

REVISION DE LIGNES DIRECTRICES EXISTANTES

▪ **Revision of Freshwater Alga and Cyanobacteria, Growth Inhibition Test (TG 201) relating to algal strains**

L'objectif principal de la proposition est de réviser l'annexe 2 de la ligne directrice 201 afin de mettre à jour le nom scientifique de certaines des souches d'essai recommandées, l'ajout d'une nouvelle souche de *Navicula pelliculosa* et d'actualiser les listes de collections de cultures d'algues. À l'heure actuelle, les noms scientifiques de trois souches recommandées : *Pseudokirchneriella subcapitata*, *Navicula pelliculosa* et *Anabaena flos-aquae* (algue verte, diatomée et cyanobactérie, respectivement) doivent être mis à jour sur la base des études taxonomiques les plus récentes. Par ailleurs, il est nécessaire d'ajouter de nouvelles souches de *Navicula pelliculosa* car l'UTEX664 est une souche qui a été perdue dans toutes les collections de cultures d'algues dans le monde, et donc indisponible aujourd'hui (pilote : Japon).

▪ **Revision of *In Vitro* Skin Sensitisation assays addressing the Key Event on activation of dendritic cells on the Adverse Outcome Pathway for Skin Sensitisation (TG 442E) to improve the performance of the prediction model of the IL-8 Lu assay**

Le projet proposé vise à améliorer les performances de la méthode IL-8 Luc incluse dans ligne directrice 442E en modifiant le modèle de prédiction du test IL-8 Luc. Le modèle de prédiction révisé prend en compte la solubilité des substances chimiques et rajoute l'utilisation d'un indicateur de cytotoxicité, basé sur l'activité de la glyceraldéhyde 3-phosphate déshydrogénase luciférase. Sur la base de ce modèle de prédiction révisé, les produits chimiques non concluants sont jugés négatifs s'ils présentent des preuves de cytotoxicité. Cette modification réduit le nombre de produits chimiques non concluants et augmente la spécificité du test (pilote : Japon).

NOUVEAUX DOCUMENTS GUIDES

▪ **Development of a new Guidance Document on the determination of concentrations of nanoparticles in biological samples for (eco)toxicity studies**

Le résultat attendu de ce projet est un document guide pour la détermination des concentrations de nanoparticules dans les échantillons biologiques en soutien à la réalisation d'essais de toxicité et d'écotoxicité. L'objectif est de fournir des orientations pour aider au choix de la technique de base, d'identifier l'approche la plus appropriée pour la préparation et la validation des échantillons, et de comprendre les limites des résultats dans le contexte des essais d'(éco)toxicité correspondants. Le document guide reflétera l'état de l'art actuel et contiendra: (a) des descriptions des techniques analytiques disponibles incluant des références aux documents pertinents de l'OCDE et aux normes internationales (ISO, CEN) le cas échéant, leurs forces et faiblesses, y compris les limites de détection (spécifiques au matériau et à la taille des particules) et la robustesse / fiabilité des résultats; b) des orientations détaillées sur les protocoles appropriés de préparation à utiliser pour préparer les échantillons biologiques à analyser en utilisant les techniques choisies (liées à la matrice biologique, aux caractéristiques du nanomatériau (forme, taille) et au niveau de concentration attendu (par exemple l'utilisation d'approches de digestion enzymatique pour des nanomatériaux plus solubles sera abordée)); (c) des approches de validation et des critères d'acceptation appropriés; et (d) une série d'organigrammes de décision conçus pour permettre à l'utilisateur d'identifier facilement l'approche la plus appropriée (pilote : Royaume-Uni).

➔ Point d'actualité sur les projets nationaux

Cette rubrique a pour objet d'informer sur les avancées marquantes des sujets coordonnés par la France (seule ou en collaboration avec d'autres Pays Membres).

SECTION 2 : EFFETS SUR LES SYSTEMES BIOLOGIQUES

Essai sur embryon de poisson zèbre pour la mesure du potentiel oestrogénique des substances chimiques

Le test EASZY (« Endocrine Active Substance, acting through estrogen receptors, using transgenic cyp19a1b-GFP Zebrafish embrYos »), développé à l'INERIS, arrive dans la phase finale de développement de la ligne directrice. A

l'issue des deux phases de l'étude de validation, le projet de ligne directrice a été soumis, en premier lieu, aux commentaires des experts du groupe VMG-Eco (Validation Management Group for Ecotoxicity Testing) puis a fait l'objet d'une première consultation publique auprès des Coordinateurs Nationaux. Le document révisé ainsi que les réponses apportées aux commentaires ont été discutés lors de la dernière réunion du groupe VMG-Eco (22-23 octobre 2020) qui a acté le lancement de la seconde phase de consultation publique qui s'achèvera le 20 janvier 2021. L'adoption de cette ligne directrice est prévue en avril 2021.

Contact : **François BRION** ; francois.brion@ineris.fr

Essai de retour à la ruche pour des abeilles exposées à des doses sublétales de substances chimiques

Ce projet (project 2.60 : Homing flight test on honeybee (*Apis mellifera* L.) after single exposure to sublethal doses) a été intégré dans le programme de travail en 2016. Il s'intègre dans une démarche d'évaluation des risques des pesticides sur les abeilles. Le test du vol de retour à la ruche est proposé pour compléter les méthodologies actuelles en étudiant les effets des doses sublétales sur le comportement de retour à la ruche des butineuses après leurs activités de collecte de nourriture ; ce comportement impliquant des mécanismes d'orientation et de navigation des individus. L'essai consiste en une évaluation des effets d'une exposition unique et par voie orale à des doses sublétales de produits chimiques administrées en laboratoire sur le succès de retour à la ruche des butineuses sur le terrain. Le succès de retour chez les butineuses exposées est mesuré et comparé aux butineuses non exposées sur une période de 24 heures. Cinq exercices successifs d'intercomparaison ont été réalisés pour la validation de cet essai (2015, 2016, 2017, 2018, 2019) permettant également d'optimiser le protocole expérimental et de caler les critères de validité de la méthode. Les rapports rassemblant les résultats des différentes étapes de l'étude de validation ainsi que le projet de ligne directrice ont été discutés au sein du groupe d'experts lors de deux réunions dans le dernier trimestre de cette année. Le projet de ligne directrice révisée devrait être prochainement diffusé auprès des coordinateurs nationaux pour un premier tour de commentaires public.

Contact : **Julie FOURRIER** ; julie.fourrier@itsap.asso.fr

SECTION 4 : EFFETS SUR LA SANTE

Deux projets sont en cours concernant l'évaluation de l'irritation oculaire. L'objectif commun de ces 2 projets est de disposer de méthodes standardisées pour distinguer les 3 catégories ONU/SGH (catégorie 1 : lésions oculaires graves ; catégorie 2 : irritant pour les yeux ; No Cat : aucune classification) et pour classer les substances de catégorie 2 (irritant).

Deux approches définies pour la prédiction de l'irritation oculaire

Ce projet (Project 4.136 : Two Defined Approaches for Ocular Irritation Predictions Based on *in vitro* Bottom-Up Approach Combined with Physico-Chemical Properties) a été intégré dans le programme de travail en 2019. Il s'inscrit dans le contexte d'une Approche Intégrée (IATA ; GD263), avec l'objectif d'établir deux approches définies, combinant des essais *in vitro* validés avec les propriétés physico-chimiques et permettant de classer les substances selon les trois catégories du GHS. Ces approches sont applicables aux substances chimiques liquides. C'est un projet novateur qui intègre des Approches Définies dans un contexte réglementaire : son avancement bénéficie de l'expérience acquise dans le projet sur les approches définies pour la sensibilisation cutanée.

En 2020, les critères de sélection et la liste des substances chimiques de référence ont été discutés et définis. Le document décrivant en détail les deux approches définies (éléments de l'approche définie, capacités de prédiction, domaine d'applicabilité...) a été préparé, soumis au groupe d'experts, discuté en novembre, et une version consolidée du document sera diffusée en janvier 2021.

Révision de la ligne directrice LD 492 pour intégrer une amélioration de prédiction de l'essai SkinEthic™ HCE-EIT

Ce projet (Project 4.143: Implementation of the SkinEthic™ Human Corneal Epithelium (HCE) Eye Irritation Time to Toxicity Test (TTL-TTS) for identifying chemicals not requiring a classification for eye irritation and serious eye damage in TG 492) a été intégré, cette année, dans le programme de travail. Dans le même cadre méthodologique que les méthodes de référence validées au sein de la TG 492, la méthode proposée ici diffère par la prise en compte des temps de traitement (Time to Toxicity) et les modèles de prédiction.

Le rapport de validation a été soumis pour « peer-review » en avril 2020 ; le retour est attendu pour décembre 2020.

Contact pour les deux projets : **Nathalie ALEPEE** ; nathalie.alepee@rd.loreal.com

Essai SENS-IS pour l'évaluation de la sensibilisation cutanée

Ce projet (Project 4.107 New TG : Toxicogenomic analysis on 3D reconstituted epidermis for measuring skin sensitization potency – the SENS-IS assay) a été intégré dans le programme de travail en 2016. Le proposant a révisé le dossier, notamment en recalculant la prédictivité de la méthode sur la base de la mise à jour de la base de données de substances de référence (contexte du projet DASS). La soumission révisée a été évaluée par l'ECVAM (décembre 2020) et peut désormais être soumise à évaluation/peer review par l'ESAC.

Contact : **Hervé GROUX** ; hgroux@immunosearch.fr

Essais *in vitro* de génotoxicité sur modèles 3D de peau reconstituée, après exposition cutanée : test micronoyaux et test comète

Ce projet (Project 4.139: *In vitro* genotoxicity testing for dermal exposure using 3D skin models: reconstructed skin micronucleus test and reconstructed skin Comet assay) a été intégré dans le programme de travail en 2019, en copilotage avec l'Allemagne.

La pré-soumission pour le test des micronoyaux a été évaluée par l'ECVAM en 2020 et les dossiers complets sont en cours de préparation pour l'évaluation/peer review des deux essais (micronoyaux et comète) sur les modèles 3D de peaux reconstruite. La mise en forme des lignes directrices est prévue pour 2021.

Contact : **OUEDRAOGO Gladys** ; gladys.ouedraogo@rd.loreal.com

→ Personnes-contacts

Comme pour les années précédentes, si vous souhaitez vous positionner sur ces propositions, vos interlocuteurs sont les suivants :

- Activités en lien avec l'évaluation des effets sur la santé (section 4) :
Anne BRAUN (anne.braun@ineris.fr, 03 44 55 64 03),
- Activités en lien avec les autres domaines (section 1 : propriétés physico-chimiques ; section 2 : Effets sur les systèmes biologiques ; section 3 : Dégradation et accumulation ; section 5 : Autres lignes directrices) :
Pascal PANDARD (pascal.pandard@ineris.fr, 03 44 55 67 19).