



LIGNES DIRECTRICES DE L'OCDE
POUR LES ESSAIS DE PRODUITS CHIMIQUES

**RÉSUMÉ DES CONSIDÉRATIONS DU RAPPORT
DES GROUPES D'EXPERTS DE L'OCDE
SUR LA TOXICOLOGIE A COURT ET A LONG TERME**

Les Lignes directrices pour les essais expérimentaux de toxicité ont été préparées sous forme de projets par les deux groupes d'experts de l'OCDE sur la toxicologie à court terme et la toxicologie à long terme (Voir la liste des participants en annexe). Les projets ont été présentés en décembre 1979 par les pays pilotes (R.U. et E.U.) dans un rapport final qui contient des considérations détaillées sur les approches des groupes, les objectifs et les principes généraux des essais de toxicité etc. Le texte ci-dessous est un résumé de ces considérations et constitue une information de base pour les utilisateurs des Lignes directrices de l'OCDE pour les essais.

GÉNÉRALITÉS

Le but du présent travail a été de fournir pour chacun des essais de toxicité un schéma qui soit suffisamment bien défini pour permettre de réaliser l'expérience de la même façon dans les différents pays et de fournir des résultats qui seront largement acceptables par les différentes organisations responsables. Les demandes croissantes pour tester et évaluer la toxicité des substances chimiques exercent une pression toujours plus grande sur le personnel et les équipements de laboratoire. Une approche harmonisée, mettant en exergue les aspects scientifiques des essais de toxicité et assurant une large acceptabilité des résultats à des fins de réglementation, évitera les duplications ou les répétitions inutiles et contribuera à l'utilisation efficace des installations de laboratoire et de personnels qualifiés.

Pour évaluer les résultats des essais toxicologiques sur un produit chimique donné on doit garder en tête les limites de ces essais. On utilise par nécessité des systèmes animaux ou *in vitro*, et les résultats sont ensuite extrapolés à l'homme. De telles extrapolations peuvent ne pas être toujours correctes. De plus, puisqu'il n'est pas possible de trouver des méthodes d'essai

« standard », appropriées à tous les produits chimiques, on doit, dans chaque cas, exercer un jugement afin d'évaluer le bien-fondé d'une méthode particulière. Dans de nombreux domaines de toxicologie, il existe une controverse à propos du modèle expérimental approprié qui doit être utilisé. Il existe, par exemple, des opinions variées sur la durée d'une étude et sur le nombre ou les espèces d'animaux d'expérience qui sont considérés comme nécessaires. D'autres limites à l'évaluation des risques pour l'homme dérivent du fait qu'en règle générale, des substances isolées sont testées avec des voies d'exposition définies, alors qu'une exposition réelle a lieu avec une combinaison de produits et habituellement par plus d'une voie. Il est également certain qu'à cause de la taille limitée des expérimentations animales, on ne peut pas mettre en évidence des effets de faible fréquence. En conséquence, bien que les résultats des essais de toxicité donnent dans la plupart des cas de bonnes indications sur les risques possibles, ils ne suppriment pas la nécessité de continuer la poursuite d'observations soigneuses chez les humains.

Les Lignes directrices pour les essais doivent être appropriées à l'évaluation de la plupart des produits chimiques et on ne pourra effectuer un approfondissement ou une extension ultérieurs qu'avec de bonnes raisons. Une réflexion scientifique est essentielle pour définir la conduite d'un essai particulier si bien qu'une flexibilité raisonnée de l'approche est toujours nécessaire. Les Lignes directrices actuelles ont été mises au point en prenant en considération un juste équilibre entre les moyens disponibles et les exigences scientifiques.

Les groupes d'experts soulignent que des recherches supplémentaires sont nécessaires afin d'améliorer la mise au point et la validité expérimentales dans ces différents domaines de toxicologie. Ces efforts peuvent conduire à des essais qui ont plus de valeur et qui demandent également moins de moyens pour évaluer les dangers potentiels que les produits chimiques font courir à l'homme. Quand de meilleures méthodes seront mises au point, elles devront remplacer ou compléter celles qui sont recommandées ici.

Un certain nombre de documents nationaux et internationaux ont été passés en revue afin de mettre au point le rapport final. L'examen de ces documents fait apparaître à la fois des éléments communs ainsi que des différences dans l'approche et dans le protocole expérimental. Au fur et à mesure du développement des Lignes directrices, des projets de Lignes directrices

et des rapports provenant d'un certain nombre de nations et d'organisations internationales sont devenus disponibles et ont été soumis à l'examen des Groupes. Au cours de cet examen, les Groupes ont trouvé qu'en toxicologie, il existait relativement peu de domaines où il y avait des méthodes d'essai bien définies et de valeur qui puissent être facilement adoptées pour une approche harmonisée des essais. Le résultat en est qu'après l'examen détaillé des principes mis en jeu dans les essais de toxicité, une partie des activités des Groupes a été consacrée à la préparation des Lignes directrices pour les essais qui couvrent les points clés de ces méthodes d'essai.

Les Lignes directrices pour les essais n'atteignent pas le niveau de détails qu'on peut trouver dans les modes opératoires normalisés ou dans des documents similaires. Ceci est intentionnel ; la toxicologie est en effet une science expérimentale en développement, et une rigidité excessive ou une spécialisation trop détaillée des méthodes pourrait inhiber l'initiative scientifique et être un obstacle à l'efficacité. On doit prévoir des dispositions pour qu'au cours d'une étude, on puisse exercer non seulement ses compétences en toxicologie mais aussi son jugement, même quand cela fait partie d'un ensemble d'éléments indispensables prescrits pour un essai. Ainsi les Lignes directrices ou les modes opératoires similaires doivent permettre l'exercice des compétences toxicologiques. Il est évident que les raisons des modifications apportées au mode opératoire doivent être expliquées et scientifiquement motivées. Cette insistance pour une approche souple ne doit pas être interprétée comme une recommandation pour une absence de méthode. Elle doit être considérée comme nécessaire à l'établissement d'une situation dans laquelle l'examen de la toxicité d'une substance chimique est mené comme un exercice scientifique plutôt que comme un ensemble d'essais stéréotypés effectués en routine.

SIGNIFICATION DES DOMAINES D'ESSAIS DE TOXICITÉ EXAMINÉS

Toxicité Aiguë

On étudie celle-ci pour déterminer le degré de toxicité d'une substance chimique, c'est-à-dire la relation entre la dose et les effets défavorables ; pour établir sa toxicité relativement aux autres produits chimiques dont la toxicité aiguë est connue ; pour déterminer les effets toxiques spécifiques ; et pour fournir des informations sur le mode d'action toxique. Une étude de toxicité aiguë correctement conçue fournira également des informations à partir desquelles on

pourra calculer une dose létale moyenne (DL 50). En étudiant les effets consécutifs à l'administration par différentes voies, on peut aussi évaluer les risques relatifs des différentes voies d'exposition. En utilisant des animaux des deux sexes on peut détecter dans la réponse au toxique les différences dues au sexe.

Les études de toxicité aiguë permettent ainsi d'identifier les produits chimiques hautement toxiques et fournissent des informations sur les risques possibles qui pourraient survenir quand des humains sont exposés. La pente de la courbe dose-réponse, ainsi que le type de réponse toxique chez les animaux de laboratoire sont utiles pour évaluer les risques existant pour la santé humaine ; une exposition à des doses uniques hautement toxiques d'un produit chimique représente une situation anormale ou accidentelle dans le cas d'une exposition humaine générale. La valeur numérique de la dose létale moyenne (DL 50) est largement utilisée dans les systèmes de classification de la toxicité mais on ne doit pas la considérer comme un nombre absolu qui caractérise la toxicité d'une substance chimique. Les valeurs de la DL 50 pour un même produit chimique peuvent varier d'une étude à l'autre ainsi qu'entre des espèces différentes ou à l'intérieur d'une même espèce, parce que la toxicité aiguë est influencée à la fois par des facteurs internes et par des facteurs externes.

Études à Court Terme avec Administration de Doses Répétées et Toxicité Subchronique

Alors que la toxicité aiguë concerne les effets nocifs dus à des doses uniques, une forme plus commune de l'exposition humaine à de nombreux produits chimiques se fait par la répétition de doses qui ne produisent pas d'effets toxiques immédiats. Des effets tardifs peuvent survenir à cause de l'accumulation du produit dans les tissus ou à cause d'autres mécanismes, et il est important d'identifier toute possibilité de ce genre par des études subchroniques.

Le terme « subchronique » a été utilisé pour désigner les effets toxiques associés à l'exposition à des doses répétées d'un produit chimique pendant une partie de la durée de vie moyenne des animaux d'expérience. La limite distinguant les régimes subchroniques et chroniques d'administration des doses est souvent prise comme égale à 10% de la durée de vie des animaux d'expérience. Des périodes d'administration de doses s'étendant entre une simple dose et 10% de la durée de vie sont souvent qualifiées de mode d'administration subaigu. Ce

terme est considéré comme sémantiquement incorrect et par conséquent, pour distinguer de telles périodes des périodes décrites classiquement comme subchroniques on doit les décrire comme « études à court terme avec administration de doses répétées ». Ceci s'applique aux études portant sur 14, 21 et 28 jours. Les durées d'étude réalisées ont été principalement de 14, 28 et 90 jours. D'autres durées d'étude ont été utilisées en toxicologie, mais on considère que le choix de ces trois durées principales qui ont le soutien de l'expérience ou pour lesquelles il existe des prescriptions en matière de réglementation, représente une approche raisonnable. En général, plus l'étude subchronique est longue, plus on est susceptible d'obtenir des informations. Ceci est un domaine dans lequel on doit effectuer une comparaison scientifique des résultats provenant d'études subchroniques de différentes durées sur les mêmes produits chimiques afin de déterminer leur utilité relative.

Ces études fourniront des informations détaillées sur les effets toxiques, les organes cibles, la réversibilité ou la non-réversibilité des effets ainsi qu'une indication d'un « niveau sans effet ». Le Groupe recommande qu'on considère que l'utilisation d'un groupe supplémentaire d'animaux d'essai, auxquels on a donné la dose la plus forte et qui ont ensuite été observés après la fin de l'exposition, peut donner des informations supplémentaires sur la persistance ou la réversibilité des effets.

Ces études sont importantes parce qu'elles seront les premières et pour certains produits peut-être les seules faites avec des doses répétées. Il est donc nécessaire d'en tirer le maximum d'informations et ceci doit avoir pour corollaire une extension des recherches de chimie clinique et d'histopathologie.

Effets Locaux sur la Peau et les Yeux

La détermination des effets de surface d'un produit chimique sur la peau et les yeux est importante parce qu'une contamination accidentelle est toujours possible. Les dangers peuvent être en rapport avec l'état physique dans le cas d'un liquide ou de particules possédant une probabilité plus grande de contaminer la surface corporelle, et aux propriétés physiques, en particulier le pH qui peut indiquer une potentialité de provoquer une atteinte ou une corrosion importante des tissus. Si au cours des études cutanées, on trouve qu'un produit est fortement irritant ou corrosif, on considérera qu'il n'est pas nécessaire de reproduire les expériences sur l'œil puisqu'en général, les effets y seront encore plus marqués. Dans de tels cas, la seule indication pour des études oculaires est la détermination des effets d'une thérapeutique comme par exemple un lavage immédiat de l'œil.

Sensibilisation Allergique

Une sensibilisation allergique, telle que celle qui peut survenir après une exposition par des voies cutanées ou respiratoires, pose des problèmes à un grand nombre de personnes, que ce soit dans le secteur professionnel ou dans la population générale. Les réactions allergiques sont de plusieurs types, mais toutes nécessitent au moins une exposition préalable pour initier le processus de sensibilisation. Il est considéré judicieux d'identifier rapidement toute potentialité allergisante afin de s'assurer que des méthodes de contrôle appropriées peuvent être employées.

Toxicité pour la Reproduction

Ce terme recouvre les domaines de la reproduction, de la fertilité et de la tératogénicité. On a trouvé que de nombreux produits chimiques peuvent affecter la fertilité et la reproduction, d'une manière souvent insidieuse sans autres signes manifestes de toxicité. La fertilité peut être affectée chez les mâles comme chez les femelles et les effets peuvent aller d'une légère diminution du pouvoir reproducteur à une stérilité complète. La tératogénicité concerne les effets néfastes que peut avoir un produit chimique sur le développement de l'embryon et du fœtus. La toxicité pour la reproduction est importante puisqu'elle a un grand retentissement sur la santé des humains. Les techniques expérimentales se développent et le concept d'essais combinés couvrant tous les aspects de la toxicologie pour la reproduction s'annonce prometteur.

Neurotoxicité

Parmi tous les effets spécifiques, la neurotoxicité est particulièrement importante car les dommages causés peuvent être irréversibles. Certains groupes de produits chimiques sont connus pour leur potentiel neurotoxique ; la structure chimique peut donc indiquer la nécessité d'effectuer des essais de neurotoxicité.

Carcinogénicité

Le but d'une étude de carcinogénicité à long terme est d'observer des animaux d'expérience pendant une grande partie de leur vie afin de suivre le développement des lésions néoplasiques pendant et après une exposition à différentes doses d'un produit d'essai par une voie appropriée. Une telle étude requiert une préparation et une documentation soigneuses pour la mise au point expérimentale, un niveau de connaissances élevé en pathologie et une analyse statistique impartiale.

Toxicité Chronique

Le but d'une étude de toxicité chronique est de déterminer les effets d'une substance d'essai, chez une espèce de mammifère donnée, à la suite d'une exposition prolongée et répétée. Dans les conditions de cet essai devraient se manifester les effets qui demandent une longue période de latence ou qui sont cumulatifs. L'application de ces Lignes directrices doit fournir des résultats sur lesquels on peut s'appuyer pour identifier la majorité des effets chroniques et pour déterminer les relations dose-réponse. Théoriquement, la conception et la conduite de ces études doivent permettre de détecter une toxicité générale comprenant des effets neurologiques, physiologiques, biochimiques, ainsi que des effets morphologiques reliés à l'exposition.

Toxicité Chronique/Carcinogénicité Combinées

Le but d'une telle étude est de déterminer de façon combinée les effets d'une substance à tester prévue isolément dans le programme d'études de carcinogénicité et celui de toxicité chronique.

Toxicocinétique et Métabolisme

La toxicocinétique se définit comme l'étude des taux d'absorption et de distribution et l'étude du métabolisme et de l'excrétion des substances toxiques (ou des substances en cours d'étude toxicologique). Le métabolisme se définit grossièrement comme tous les aspects du devenir d'une substance dans un organisme et ainsi inclut l'absorption, la distribution dans les tissus, les biotransformations et toutes les voies d'excrétion. Le terme toxicocinétique s'applique aux valeurs quantitatives de tous ces processus métaboliques.

Il est souhaitable de disposer de données toxicocinétiques pour permettre l'évaluation des résultats d'essais dans les autres études de toxicologie et permettre d'extrapoler à l'homme les résultats obtenus chez les animaux. Ces études doivent être effectuées sur tout produit chimique présentant un intérêt toxicologique. Cet intérêt peut être prédit d'après le niveau et le type de toxicité observés ou prévus et selon l'importance de l'exposition humaine éventuelle.

Les études de toxicocinétique fournissent également des données permettant de choisir des niveaux de doses appropriés pour les études de toxicité chronique et de carcinogénicité en donnant des informations sur la cinétique en fonction des doses.

Le moment auquel il est préférable d'effectuer une étude de toxicocinétique varie selon le moment où se fait sentir le besoin de posséder des données permettant d'évaluer l'innocuité du produit chimique étudié. Dans certains cas les premières expériences pour déterminer l'absorption, la distribution et l'excrétion du produit chimique étudié peuvent être faites immédiatement après les études de toxicité aiguë. Des expériences ultérieures établissant le devenir métabolique du composé peuvent être nécessaires pour les produits chimiques qui seront vraisemblablement soumis à des essais « chroniques ». Si les résultats des études toxicologiques indiquent que de plus amples informations sur le métabolisme du produit étudié sont nécessaires, on doit procéder à l'identification et à la caractérisation des principaux métabolites dans le sang et l'urine. Dans un certain nombre de cas, on peut effectuer des études de toxicocinétique reliées à la dose. Chez les animaux gravides, une analyse cinétique permet d'évaluer le taux de transfert placentaire du composé de départ et des métabolites aux périodes critiques de l'organogénèse, en rapport avec l'exposition maternelle.

Essais Séquentiels

Les Groupes de Toxicologie incluent un rapport contenant des recommandations pour une estimation des risques par l'utilisation de systèmes séquentiels. Les recommandations pour un Ensemble Minimal de Données à obtenir avant Commercialisation (MPD) y sont développées, des indications sur la réalisation des essais ainsi que des exemples d'exceptions concernant le MPD y figurent.

CONSIDÉRATIONS SUR LES ESSAIS DE TOXICITÉ

Analyse Chimique

On doit définir la nature de la substance à tester. Les propriétés physiques et chimiques de la substance à tester fournissent des informations importantes pour le choix de la voie d'administration, la mise au point des études ainsi que pour la manipulation et le stockage de la substance à étudier. Il est important de caractériser les mélanges d'essai et d'identifier les impuretés qui sont connues ou qui sont susceptibles d'être présentes. Des études séparées sur les impuretés peuvent fournir des observations utiles pour l'évaluation de la carcinogénicité des mélanges.

Choix des Animaux

Il n'existe aucune espèce d'animal de laboratoire dont le métabolisme ou la structure soient identiques à ceux de l'homme. Il existe des ressemblances et des similitudes de fonction évidentes entre l'homme et d'autres espèces animales, mais même dans le cas des primates proches de l'homme, elles ne permettent pas une extrapolation directe à l'homme des essais réalisés sur animaux. L'interprétation des résultats des essais sur animaux pour évaluer les dangers possibles pour la santé humaine reste une affaire de spécialistes.

Étant entendu qu'aucun animal idéal analogue à l'homme ne peut être utilisé pour des essais de laboratoire, le choix d'une espèce expérimentale peut être influencé par des considérations de nature logistique, telles que la facilité de reproduction ou d'achat, l'élevage, la vitesse de croissance et de développement et la manipulation dans les conditions expérimentales. Les rongeurs remplissent un grand nombre de ces conditions logistiques et sont donc utilisés en grand nombre dans les études de toxicologie. Pour les études d'absorption par ingestion, par voie percutanée et par inhalation, les rats constituent l'espèce la plus appropriée avec les lapins pour les études cutanées. Sur ce point, le lapin a l'avantage d'une taille plus grande ; d'autre part de bonnes informations de base sont disponibles sur son comportement dans les études cutanées ; cependant pour comparer les effets toxiques obtenus par différentes voies d'absorption et pour évaluer les dangers possibles, le rat qui est également utilisé pour des études de toxicité par d'autres voies, est nettement préférable.

Pour les essais d'irritation et de causticité sur l'œil et sur la peau, les Lignes directrices sont basées sur les méthodes mises au point par Draize, et dans ce cas, le lapin est l'espèce de choix. Pour la sensibilité cutanée, les espèces utilisées dans les six méthodes recommandées sont le cobaye, le lapin, la souris et le chien, pour les études de neurotoxicité, où le mécanisme d'action se fait par inhibition de la cholinestérase, il semble que la poule soit l'espèce la plus indiquée.

Il est généralement admis qu'on peut inclure à la fois des rongeurs et des non-rongeurs dans les Lignes directrices pour les essais subchroniques et chroniques, en admettant qu'un certain nombre de facteurs puissent imposer le nombre ou le choix des espèces à étudier.

Pour les études de toxicité subchronique les mêmes considérations peuvent être faites. Il y a des cas où l'utilisation d'espèces autres que les rongeurs (en plus de ceux-ci) est indiquée car elle permet d'examiner plus en profondeur les réponses aux toxiques chez les différentes espèces. Une espèce fréquemment utilisée est le chien qu'on retrouve dans plusieurs Lignes directrices différentes pour les études de toxicité par voie orale. Dans les études de toxicité cutanée subchronique on ajoute aux espèces recommandées le cobaye à cause de facteurs logistiques et d'une bonne connaissance de cet animal.

Historiquement, on a généralement recommandé de réaliser les essais chroniques sur deux espèces différentes de mammifères, une espèce de rongeur et une autre de non-rongeur. Le rat est généralement le rongeur de choix. Parmi les non-rongeurs, les chiens et les primates ont été très utilisés, à cause de leur grande taille, de leur aptitude à subir des examens cliniques et biochimiques, et de leur disponibilité générale. Il faut remarquer que la disponibilité des non-rongeurs pour la recherche peut être considérée comme un problème international. On doit également reconnaître que l'absence de résultats chez un non-rongeur, peut entraîner une sérieuse diminution de la sensibilité de l'essai quand il s'agit d'évaluer des effets importants que l'on pourrait rencontrer chez les humains.

Une telle dichotomie ne peut être résolue de façon générique. Alors qu'il reste toujours à démontrer que les effets chroniques obtenus à la fois à partir d'un rongeur et d'un non-rongeur sont nécessaires, le choix d'une ou de plusieurs espèces appropriées à un essai chronique doit plutôt être basé sur des raisons pratiques et sur les résultats d'études antérieures. Des essais réalisés sur une seule espèce peuvent fournir des données suffisantes pour déterminer les dangers dus à un produit chimique.

Pour les études de carcinogénicité, un composé d'activité inconnue doit être testé dans deux espèces animales et sur les deux sexes de chacune. Parmi les trois espèces de rongeurs préférées, la souris et le rat ont été plus largement utilisés que le hamster. Le hamster doré syrien s'est révélé utile pour détecter les effets carcinogènes dans le système respiratoire et principalement dans le système urinaire ; il est cependant manifeste que dans le futur, cette espèce devrait être plus largement utilisée pour des essais de « screening » de carcinogénicité générale. D'autres espèces peuvent être utiles dans des cas spéciaux.

La mise au point d'un essai sur des êtres vivants doit être telle que des variations dans l'incidence des tumeurs dues au hasard n'interfère pas dans l'interprétation des résultats. On doit définir de façon adéquate la variation « de base » de l'incidence des tumeurs dans les colonies d'animaux utilisés pour les essais de carcinogénicité.

Dans tous les cas, les animaux doivent être sains, d'origine connue, d'âge et de poids raisonnablement uniformes, et suffisamment acclimatés à l'environnement expérimental avant que l'étude commence. En général, les Lignes directrices ne précisent pas d'âge ni de fourchette de poids spécifiques pour les animaux à tester, mais par contre, elles comportent des recommandations par exemple pour l'utilisation de jeunes adultes. De la même façon, il n'existe pas de recommandations absolues pour l'emploi de lignées déterminées, car on considère qu'à l'heure actuelle le stade de développement des essais ne fournit pas de justification solide pour une telle recommandation.

Soins des Animaux

Pour obtenir des résultats significatifs, il est nécessaire d'effectuer un contrôle strict de l'environnement des animaux et d'utiliser des techniques appropriées pour leurs soins. La nourriture doit répondre à toutes les exigences nutritionnelles de l'espèce utilisée dans les essais. Il est hautement souhaitable de connaître l'influence du régime alimentaire sur le métabolisme, le développement des signes de toxicité et la longévité de l'animal. Les variations des conditions d'utilisation des produits chimiques dans l'industrie et dans l'agriculture à travers le monde empêchent l'harmonisation et la constitution d'une liste unique des contaminants alimentaires. Cependant, les constituants alimentaires habituels qui sont connus pour influencer la toxicité ne doivent pas être présents en concentrations capables de provoquer des interférences.

Nombre et Taille des Groupes

Si l'on veut disposer d'une méthode efficace pour tester les produits chimiques, il n'est pas nécessaire d'utiliser plus de groupes ou plus d'animaux par groupe qu'il n'est strictement nécessaire pour atteindre un seuil de détection fiable des effets toxiques.

Il est incontestable que les études de toxicité reviennent cher, en finances ou en moyens. Une partie du coût dépend du nombre d'animaux, de l'étendue des études cliniques nécessaires

et des recherches indispensables par autopsies et histopathologie. Pour tenir compte de la variabilité propre aux systèmes biologiques, on doit toujours choisir un moyen terme entre le nombre d'animaux théoriquement indispensable pour détecter tous les effets y compris les plus discrets, et le nombre nécessaire pour détecter des effets toxiques manifestes. Dans une étude bien conduite, se déroulant selon les prévisions, il est possible d'utiliser un petit nombre d'animaux. Cependant, au cours d'essais sur des produits chimiques dont on ignore les caractéristiques toxiques, des problèmes surviennent souvent parce que les réponses réelles des animaux diffèrent largement de celles qui avaient été prévues au moment de la conception de l'étude. Pour résoudre ces problèmes, il est prudent d'augmenter le nombre d'animaux afin d'être sûr qu'on dispose d'assez de sujets aux points clés d'une étude pour fournir des informations adéquates sur les effets produits. Dans les études de toxicité aiguë, le nombre nécessaire de groupes et d'animaux par groupe dépend de la nécessité d'une détermination absolue des effets toxiques aigus et de l'estimation de la dose létale moyenne. Dans les essais subchroniques, le nombre d'animaux nécessaires dépend de la possibilité de détection des effets ; il doit être suffisant pour permettre d'étudier correctement les mécanismes de toxicité et pour donner une indication sur la dose sans effet.

On doit utiliser un nombre suffisant d'animaux de manière à ce qu'à la fin de l'étude on puisse disposer de suffisamment d'animaux dans chaque groupe pour réaliser une évaluation biologique complète. Après de nombreuses discussions, il a été décidé que, pour les rongeurs, chaque groupe exposé et chaque groupe témoin correspondant devait contenir au moins 20 animaux de chaque sexe. Pour les non-rongeurs, il a été recommandé d'utiliser un minimum de quatre animaux de chaque sexe.

Les essais de carcinogenèse sur les êtres vivants sont des méthodes de sensibilité relativement basse, à cause des limites dues à la fois aux conditions et aux moyens expérimentaux. Au cours de ces essais, on peut obtenir des résultats positifs en utilisant un petit nombre d'animaux si, d'autre part, l'essai est correctement conçu et mené et si la réponse tumorale est significative. Cependant, pour pouvoir aboutir à une conclusion négative dans un essai de carcinogenèse sur êtres vivants, on utilise, en général un nombre d'animaux plus grand, supérieur à celui nécessaire dans les autres essais de toxicité, de manière qu'à la fin de l'étude on puisse disposer de suffisamment d'animaux dans chaque groupe pour réaliser une évaluation biologique et statistique complète.

La stratégie d'utilisation de groupes témoins est conventionnelle, elle comprend des groupes témoins non traités dans les études de subchronicité, de sensibilisation cutanée et de tératogénicité et des groupes témoins pour le véhicule clinique utilisé quand cela est nécessaire, un témoin positif dans les études de neurotoxicité et périodiquement des témoins positifs dans les études de sensibilisation cutanée.

Essais à Dose Massive

De nombreux produits chimiques ne seront toxiques pour l'homme que dans des conditions relativement extrêmes. Dans de tels cas, l'étude de la toxicité sur des groupes ayant reçu des doses multiples devient un exercice académique dans lequel la quantité de produit chimique testé devient le seul facteur limitant. Les Lignes directrices appropriées pour les essais à court terme contiennent des recommandations concernant les essais à dose massive dans lesquels une dose de grandeur appropriée est utilisée pour donner une idée de la présence ou de l'absence de danger toxique. Ces valeurs ne sont pas présentées comme des valeurs absolues mais plutôt comme une base sur laquelle on peut fonder des estimations toxicologiques raisonnées du risque encouru.

Relations Structure-Activité

Il existe actuellement une augmentation de la quantité des connaissances concernant les relations existant entre structure chimique, propriétés physiques et toxicité. Ces développements sont intéressants et offrent la perspective de pouvoir prédire de mieux en mieux la toxicité des produits chimiques, en particulier de ceux qui appartiennent à certains groupes. Cependant, ces développements n'en sont qu'au tout premier stade et actuellement une estimation de la toxicité d'un produit chimique fondée sur des analogies structurales pourrait fournir des résultats trompeurs. Il demeure nécessaire d'étudier chaque produit chimique individuellement.

QUESTIONS RELATIVES AUX ESSAIS DE TOXICITÉ

Les problèmes majeurs viennent du fait que la toxicologie est actuellement dans une phase de développement rapide et que l'harmonisation des méthodes d'essai reste basée sur la compétence et le raisonnement et pas nécessairement sur des critères purement scientifiques. C'est pourquoi, les principes directeurs représentent une ligne de conduite de principe, établie

d'un commun accord qui doit servir de base à des développements et à des améliorations futures. Ces progrès ne peuvent être que le fruit de l'expérience et le Groupe considère qu'il est important que le départ soit pris en utilisant tout d'abord les méthodes des Lignes directrices. Il faudra ensuite s'assurer que les résultats obtenus sont correctement évalués, ceci dans le but de pouvoir introduire de manière concertée et harmonisée, toute amélioration jugée nécessaire.

Il a déjà été souligné que la conduite des essais de toxicité et leur extrapolation pour évaluer les dangers qu'ils représentent pour la santé humaine ne sont pas simples et que les techniques sont toujours en voie de développement. Ceci est un autre domaine où le groupe considère qu'une coordination assortie d'une surveillance médicale de populations humaines bien définies, serait nécessaire pour s'assurer que les méthodes d'évaluation des dangers pesant sur la santé humaine sont en progrès réel.

GROUPES DE TOXICOLOGIE A COURT ET A LONG TERME DE L'OCDE
LISTE DES PARTICIPANTS

I. Carruthers*	(Australie)	E. Dybing	(Norvège)
R. Cumming*	(Australie)	G.S. Dominguez*	(Suisse)
M. Delcour-Firquet*	(Belgique)	C. Klotsche	(Suisse)
A. Lafontaine*	(Belgique)	K. Schaerer*	(Suisse)
G.C. Becking	(Canada)	E. Stenger*	(Suisse)
G.S. Wiberg*	(Canada)	K. Fletcher	(Royaume-Uni)
I. Knudson*	(Danemark)	E.M.B. Smith	(Royaume-Uni)
E. Poulsen*	(Danemark)	Président	
		du groupe de toxicologie à court terme	
J. Schou*	(Danemark)	J.R. Beall	(Etats-Unis)
I. Chouroulinkov	(France)	M.E. Brown*	(Etats-Unis)
G. Smagghe*	(Allemagne)	W.M. Butler*	(Etats-Unis)
H. Froberg*	(Allemagne)	W. D'Aguanno*	(Etats-Unis)
H.P. Gelbke	(Allemagne)	Président (début)	
D. Kayser*	(Allemagne)	du groupe de toxicologie à long terme	
P.J. Kramer*	(Allemagne)	S. Green*	(Etats-Unis)
M. Kunde	(Allemagne)	R. Hehir*	(Etats-Unis)
W. Lingk	(Allemagne)	R.B. Jaeger	(Etats-Unis)
P. Muhs	(Allemagne)	C.R. Morris	(Etats-Unis)
H. Stotzer*	(Allemagne)	N.P. Page*	(Etats-Unis)
H. Zeller*	(Allemagne)	Président (fin)	
		du groupe de toxicologie à long terme	
G. DellaPorta	(Italie)	R.L. Raleigh*	(Etats-Unis)
D. Misiti*	(Italie)	A. Berlin	(CCE)
T. Akimoto*	(Italie)	M. Biart*	(CCE)
M. Ikeda	(Japon)	W.J. Hunter*	(CCE)
H. Iwasaki*	(Japon)	K. Krisor*	(CCE)
T. Kamiya*	(Japon)	M.T. van der Venne*	(CCE)
M. Katoh	(Japon)	A.P. Walker*	(OCDE)
Y. Omori*	(Japon)		
V.J. Feron	(Pays-Bas)	<u>Observateurs :</u>	
R. Kroes	(Pays-Bas)	C. Agthe*	(OMS)
G.J. van Esot*	(Pays-Bas)	J. Parizek*	(OMS)
E. van Julsingha*	(Pays-Bas)	G. Vettorazzi	(OMS)
M. van Loghten	(Pays-Bas)		

* N'a pas assisté à toutes les conférences

** Conseiller de l'OCDE

