



# *PERTURBATEURS ENDOCRINIENS*

## *CADRE CONCEPTUEL DE L'OCDE, PROCESSUS DE VALIDATION ET PRÉ-VALIDATION*

Anne Gourmelon  
Direction de l'Environnement, OCDE  
Colloque PE, Museum National d'Histoire Naturelle  
30 juin 2016



# Priorités des pays de l'OCDE en lien avec les PE

---

- Développer des Lignes directrices pour les essais permettant la détection des PE, avec l'appui de:
  - Groupe consultatif sur les tests et l'évaluation des PE (EDTA AG),
  - Groupes de gestion de la validation des méthodes d'essai (VMGs)
- S'assurer de la pertinence et de la fiabilité des méthodes d'essai par des efforts concertés de validation expérimentale
- Offrir un cadre conceptuel organisant les différents essais selon leur degré de complexité biologique et selon la pertinence des informations fournies sur le mode d'action et les effets indésirables
- Servir de forum de discussion en vue d'harmoniser les approches méthodologiques pour l'évaluation des dangers des PE (≠ harmonisation des exigences réglementaires)



# Accomplissements principaux

---

- Depuis 1998, développement et adoption de **nombreuses Lignes directrices** et autres outils d'aide à la réalisation des tests et l'évaluation des données sur la perturbation endocrinienne
- 2002: Accord sur le **Cadre conceptuel** sur les essais et l'évaluation des PE (révisé en 2012)
- 2012: Publication du **Document Guide 150** sur l'évaluation des données d'essais standardisés dans le cadre de la PE
- 2012: Revue détaillée sur les **nouveaux effets et modes d'action**



# Cadre conceptuel PE (2012)

---

**Level 1:** Existing Data and Non-Test Information

**Level 2:** *In vitro* assays providing data about selected endocrine mechanism(s) / pathways(s) (Mammalian and non mammalian methods)

**Level 3:** *In vivo* assays providing data about selected endocrine mechanism(s) / pathway(s)

**Level 4:** *In vivo* assays providing data on adverse effects on endocrine relevant endpoints

**Level 5:** *In vivo* assays providing more comprehensive data on adverse effects on endocrine relevant endpoints over more extensive parts of the life cycle of the organism



# Cadre conceptuel PE (2012)

Mammalian and non mammalian Toxicology		
<b>Level 1</b> Existing Data and Non-Test Information	<ul style="list-style-type: none"> <li>Physical &amp; chemical properties, e.g., MW reactivity, volatility, biodegradability</li> <li>All available (eco)toxicological data from standardized or non-standardized tests.</li> <li>Read across, chemical categories, QSARs and other <i>in silico</i> predictions, and ADME prediction models</li> </ul>	
<b>Level 2</b> In vitro assays providing data about selected endocrine mechanism(s) / pathway(s) (Mammalian and non mammalian methods)	<ul style="list-style-type: none"> <li>Estrogen or androgen receptor binding affinity (OECD TG 493- TG 458)</li> <li>Estrogen receptor transactivation (OECD TG 455 )</li> <li>Steroidogenesis in vitro (OECD TG 456)</li> <li>Androgen or <b>thyroid</b> transactivation (If/when TGs are available)</li> <li>Other assays as appropriate</li> </ul>	
	Mammalian Toxicology	Non-Mammalian Toxicology
<b>Level 3</b> In vivo assays providing data about selected endocrine mechanism(s) / pathway(s) <sup>1</sup>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Uterotrophic assay (OECD TG 440)</li> <li>Hershberger assay (OECD TG 441)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Xenopus embryo thyroid signalling assay (When/if TG is available)</li> <li>Amphibian metamorphosis assay (OECD TG 231)</li> <li>Fish Reproductive Screening Assay (OECD TG 229)</li> <li>Fish Screening Assay (OECD TG 230)</li> <li>Androgenized female stickleback screen (GD 140)</li> </ul>



# Cadre conceptuel PE (2012)

## Level 4

In vivo assays providing data on adverse effects on endocrine relevant endpoints <sup>2</sup>

- Repeated dose 28-day study (OECD TG 407)
- Repeated dose 90-day study (OECD TG 408)
- 1-generation reproduction toxicity study (OECD TG 415)
- Male pubertal assay (see GD 150, Chapter C4.3)<sup>3</sup>
- Female pubertal assay (see GD 150, Chapter C4.4)<sup>3</sup>
- Intact adult male endocrine screening assay (see GD 150, Chapter Annex 2.5)
- Prenatal developmental toxicity study (OECD TG 414)
- Chronic toxicity and carcinogenicity studies (OECD TG 451-3)
- Reproductive screening test (OECD TG 421 if enhanced)
- Combined 28-day/reproductive screening assay (OECD TG 422 if enhanced)
- Developmental neurotoxicity (OECD TG 426)
- Fish sexual development test (OECD TG 234)
- Larval Amphibian Growth & Development Assay (OECD TG 241)
- Avian Reproduction Assay (OECD TG 206)
- Mollusc Partial Lifecycle Assays (OECD TG 242, OECD TG 243)
- Chironomid Toxicity Test (TG 218-219)<sup>4</sup>
- Daphnia Reproduction Test (with male induction) (OECD TG 211)<sup>4</sup>
- Earthworm Reproduction Test (OECD TG 222)<sup>4</sup>
- Enchytraeid Reproduction Test (OECD TG 220)<sup>4</sup>
- Sediment Water Lumbriculus Toxicity Test Using Spiked Sediment (OECD TG 225)<sup>4</sup>
- Predatory mite reproduction test in soil (OECD TG 226)<sup>4</sup>
- Collembolan Reproduction Test in Soil (TG OECD 232)<sup>4</sup>



# Cadre conceptuel PE (2012)

## Level 5

In vivo assays providing more comprehensive data on adverse effects on endocrine relevant endpoints over more extensive parts of the life cycle of the organism <sup>2</sup>

- Extended one-generation reproductive toxicity study (**OECD TG 443**)<sup>5</sup>
- 2-Generation reproduction toxicity study (**OECD TG 416 most recent update**)
- Medaka Extended One-Generation Reproduction Test (**OECD TG 240**)
- Avian 2 generation reproductive toxicity assay (**OCSPP Test Guideline 890.2100**)
- Copepod Reproduction and Development Test (**GD 201**)
- Sediment Water Chironomid Life Cycle Toxicity Test (**OECD TG 233**)<sup>4</sup>
- Mollusc Full Lifecycle Assays (if and when TG available)<sup>4</sup>



# Lacunes identifiées / Questions restantes

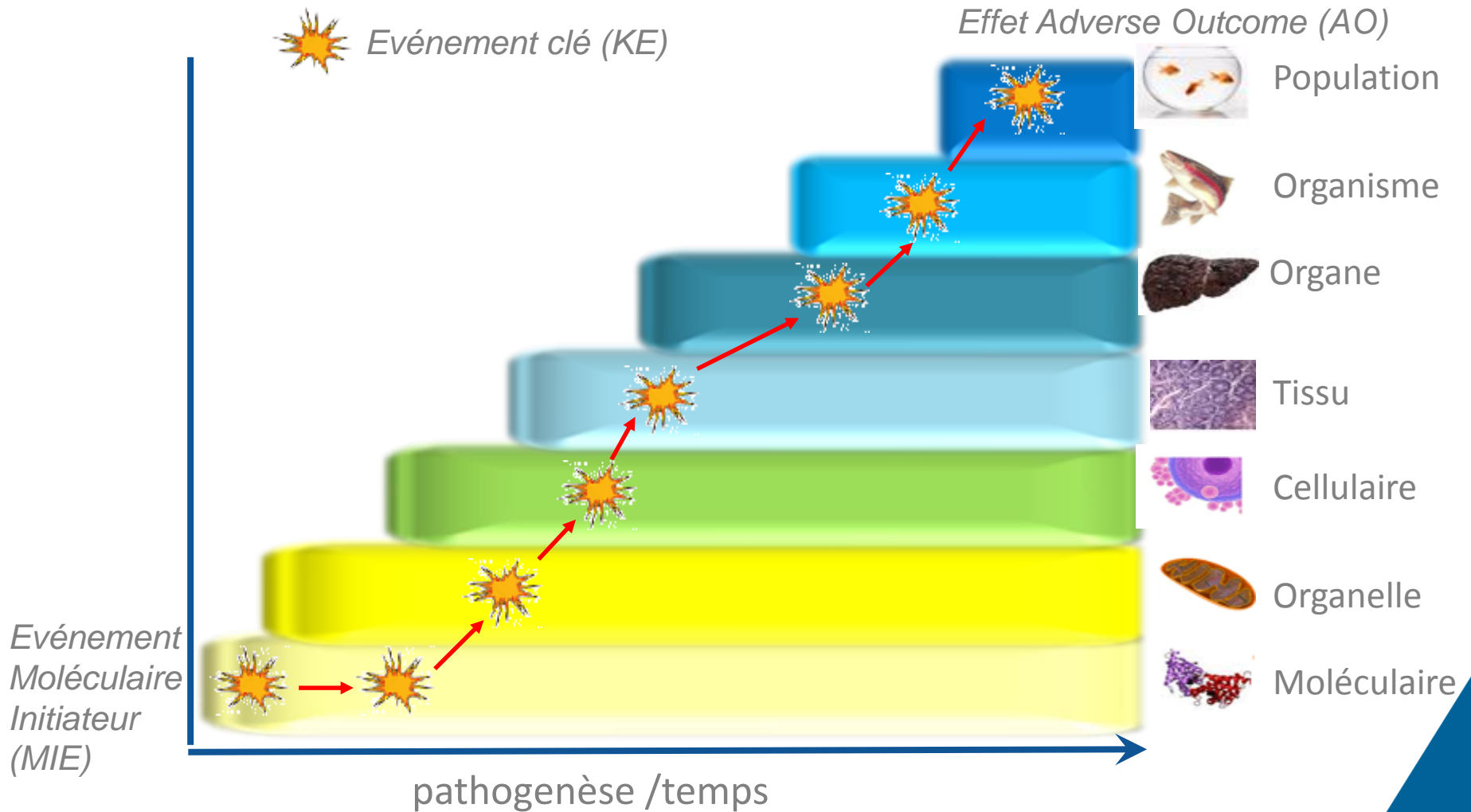
---

- Toujours pas d'essai *in vitro* standardisé pour l'axe thyroïdien
- Les aspects temporels de la PE ne sont pas bien pris en compte
- D'autres axes endocriniens ne sont pas pour l'instant pris en compte dans les Lignes directrices (voir Detailed Review Paper 178):
  - adrénocortical
  - somatotropique
  - signalisation rétinoidienne (RAR, RXR)
  - signalisation de la vitamin D
  - signalisation du récepteur activé par les proliférateurs de peroxyisomes (PPAR)





# Les AOP (Adverse outcome pathway) et le développement de méthodes

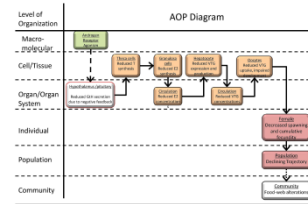




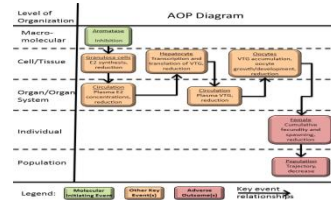
# Programme de développement d'AOP

- 4 AOPs en cours de développement ou approuvés ont trait à la PE:

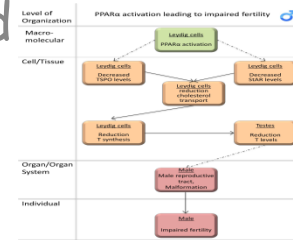
- Androgen receptor agonism leading to reproductive dysfunction



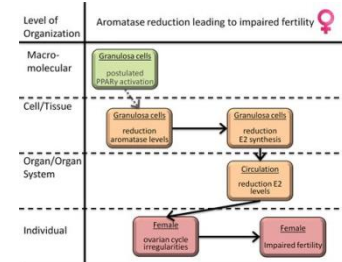
- Aromatase inhibition leading to reproductive dysfunction (in fish)



- PPARα activation leading to impaired fertility upon utero exposure in rodent males



- PPARγ activation leading to impaired fertility in adult female rodents



(Source: aopwiki.org)



# Activités supplémentaires en cours

- Revue détaillée (DRP) en cours d'élaboration sur la signalisation rétinoidienne (Suède/Commission européenne)
  - Plusieurs AOPs en préparation
- Prise en compte de marqueurs de la PE (p. ex. dosages T3, T4, TSH, poids de la thyroïde, anomalies génitales caractéristiques,...)
  - Mise à jour de la TG 408 (RDT, 90 jours, voie orale)
  - Mise à jour de la TG 414 (toxicité du développement)

Validation par  
évaluation de la  
performance  
statistique de façon  
rétrospective sur  
études publiées



# Qu'attend-on d'une étude de validation?

---

- Document Guide 34 de l'OCDE sur les principes de la validation (2005):
  - 1) Fondement scientifique clair et utilité réglementaire justifiée.
  - 2) Démonstration du lien entre la réponse mesurée dans l'essai et l'effet biologique observé au niveau de l'organisme. Limitations connues de l'essai.
  - 3) Protocole clair et détaillé disponible dans le domaine public. Le niveau de détail doit permettre à l'utilisateur de reproduire l'essai, y compris d'analyser les données et d'arriver aux bonnes conclusions. Les résultats de l'essai doivent avoir fait l'objet d'un examen indépendant.
  - 4) Quantification de la variabilité intra-test, répétabilité et reproductibilité de la méthode dans les laboratoires.
  - 5) Choix de substances de référence permettant de tester le champ d'application de l'essai; tests à l'aveugle.
  - 6) Indication de la capacité prédictive de l'essai (% faux <0, % faux >0) par rapports à des données de toxicité *in vivo*.
  - 7) Toutes les données générées lors de l'étude de validation doivent être disponibles pour un examen indépendant.



# Etude de validation modulaire

---

- Typiquement, l'étude de validation comprend au minimum deux phases:
  - Pré-validation dans un/qqs laboratoires sur un nombre important de substances
  - Validation multi-centrique sur un nombre précis de substances connues, y compris tests à l'aveugle
  - Quelques études complémentaires sont parfois nécessaires
- En fonction de ce que l'on sait déjà de la méthode à valider, on peut mettre l'accent sur certains aspects, p.ex.:
  - Tester plus de substances dans un nombre restreints de laboratoires pour mieux cerner le champ d'application de la méthode;
  - Compléter les études par des analyses statistiques plus poussées pour définir le protocole optimal;
  - Recherche de données retrospectives pour analyser la robustess de variantes du protocole



# Aspects déterminant la réussite d'une étude de validation

---

- Avoir un protocole clair et détaillé;
- Bien choisir les substances à tester, se renseigner à l'avance sur la disponibilité, les questions de solubilité et d'analyse;
- S'assurer de la disponibilité et fiabilité des données de référence pour la comparaison;
- S'assurer que les laboratoires ont bien compris le protocole;
- Produire des feuilles standardisées de résultats/calculs;
- Si les ressources sont une contraintes sur la validation, bien définir le plan de l'étude expérimentale pour avoir un nombre suffisant (>3) de répétitions/substance;
- Associer au déroulé de l'étude de validation un groupe de gestion expérimenté, comprenant au moins un statisticien.



# Pour plus d'information

---

- Secrétariat de l'OCDE: [anne.gourmelon@oecd.org](mailto:anne.gourmelon@oecd.org)
- Site public de l'OCDE:  
<http://www.oecd.org/env/ehs/testing/oecdworkrelatedtoendocrinedisrupters.htm>
- Plan de travail Programme des Lignes directrices de l'OCDE (y compris méthodes PE en développement):  
[www.oecd.org/env/testguidelines](http://www.oecd.org/env/testguidelines)