Section 4
Effets sur la santé

Ligne directrice n° 405

Effet irritant/corrosif aigu sur les yeux



4 juillet 2023

Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques

OCDE
DES POLITIQUES MEILLEURES POUR UNE VIE MEILLEURE

OECD/OCDE 405

Adopteé :
9 octobre 2017
Corrigée: 4 juillet 2023

LIGNE DIRECTRICE DE L'OCDE POUR LES ESSAIS DE PRODUITS CHIMIQUES

Effet irritant/corrosif aigu sur les yeux

INTRODUCTION

1. Régulièrement mises à jour, les Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques intègrent les meilleures données scientifiques disponibles. Les examens précédents de cette Ligne directrice pour les essais ont mis l'accent sur les possibilités d'éviter l'utilisation inutile des animaux de laboratoire afin de répondre aux préoccupations relatives au bien-être des animaux, moyennant l'évaluation préalable de toutes les informations existantes se rapportant aux substances d'essai. La présente version de la Ligne directrice (adoptée en 1981 et mise à jour en 1987, 2002, 2012, 2020 et 2021) fait référence au Document d'orientation sur les Approches Intégrées pour les Essais et l'Évaluation des lésions sévères de l'œil et l'irritation de l'œil (1), proposant une approche modulaire aux essais sur l'irritation oculaire. Le Document d'orientation décrit en effet plusieurs modules qui regroupent les sources d'information et les outils d'analyse, et *i*) oriente le sur la manière d'intégrer et utiliser les données expérimentales et les autres données pour l'évaluation de l'irritation de l'œil et les lésions oculaires graves des produits chimiques testés, et *ii*) propose une approche dans le cas où des nouveaux essais s'avèrent nécessaires (1). Les essais sur les animaux ne seront réalisés qu'en dernier recours s'ils s'avèrent nécessaires après examen des méthodes alternatives disponibles et mise en œuvre de celles jugées appropriées, en accord avec le Document d'orientation No. 263 sur les approches intégrées concernant l'irritation des yeux et les lésions oculaires graves. Il est recommandé de recourir à l'utilisation de stratégies d'essai alternatives telles que celles décrites dans les Ligne directrice 467 et 492B pour couvrir la gamme complète de potentiel irritant. À l'heure où ce projet de mise à jour de la LD 405 est rédigé, il existe encore des cas où le recours à cette Ligne directrice peut demeurer indispensable ou être exigé par certaines autorités réglementaires.

2. La mise à jour de 2012 concernait essentiellement l'utilisation d'analgésiques et d'anesthésiques sans changer le concept de base et la structure de la Ligne directrice. Le Comté américain de Coordination Inter-agence sur la Validation des Méthodes Alternatives (ICCVAM) et un groupe international d'experts scientifiques indépendants ont examiné l'utilité et les limites d'un recours en routine à des anesthésiques topiques, des analgésiques systémiques et des effets mesurés éthiquement acceptables lors d'essais *in vivo* d'irritation oculaire (2). Ils ont conclu que l'utilisation d'anesthésiques topiques et d'analgésiques systémiques permettait d'éviter la majeure partie, voire la totalité, de la douleur et de la détresse des animaux sans modifier le résultat de l'essai, et recommandé que ces substances soient systématiquement utilisées. La présente Ligne directrice tient compte des conclusions de cet examen. Il convient donc que les anesthésiques topiques, analgésiques systémiques et effets mesurés éthiquement acceptables soient

© OCDE (2023)
L'OCDE autorise l'utilisation de ce contenu aux conditions décrites sur le site: http://www.oecd.org/fr/conditionsdutilisation.

utilisés en routine dans le cadre des essais *in vivo* de l'irritation de l'oeil/les lésions oculaires graves. Toute exception à cet égard devra être justifiée. Les raffinements décrits dans cette proposition allègeront considérablement ou éviteront la douleur et la détresse chez les animaux dans la plupart des cadres expérimentaux qui exigent encore un essai de sécurité oculaire *in vivo*.

3. Une gestion préventive et équilibrée de la douleur comprend : (i) un prétraitement en routine avec un anesthésique topique (p. ex. proparacaïne ou tétracaïne) et un analgésique systémique (p. ex. buprénorphine), (ii) un programme de traitement post-exposition en routine avec un analgésique systémique (p. ex. buprénorphine et méloxicam), (iii) un programme d'observation, de suivi et de consignation des signes cliniques de douleur et/ou de détresse chez les animaux, et (iv) un programme d'observation, de suivi et de consignation de la nature, de la gravité et de la progression de toutes les lésions oculaires. D'autres détails sont fournis dans les procédures mises à jour décrites ci-dessous. Après l'exposition au produit chimiques testé, aucun anesthésique ou analgésique *topique* supplémentaire ne sera administré, de manière à éviter toute interférence avec l'essai. Les analgésiques dotés de propriétés anti-inflammatoires (comme le méloxicam) ne feront pas l'objet d'une application locale, et les doses systémiques employées ne devront pas perturber les effets sur l'œil.

4. Les définitions sont données en annexe à cette Ligne directrice.

REMARQUES PRÉLIMINAIRES

5. Dans le souci de concilier la fiabilité des résultats scientifiques et le bien-être animal, on ne procédera pas aux essais *in vivo* avant d'avoir évalué, par une analyse du poids de la preuve, toutes les données relatives au caractère potentiellement irritant ou de nature à provoquer des lésions oculaires graves du produit chimique testé, telle que recommandée dans le Document d'Orientation No. 263 et les différents modules le composant (1). En résumé, dans la Section 1 les données existantes sont réparties selon huit modules comprenant les données humaines, les données d'expérimentation animale, les données in vitro ou ex vivo d'irritation de l'œil et de lésions oculaires graves, les propriétés physico-chimiques (p. ex. le pH) et les méthodes non expérimentales ; dans la Section 2 du Document d'orientation No. 263, une analyse par le poids des preuves est effectuée. Si cette dernière est non concluante, la Section 3 est envisagée avec des essais supplémentaires, en commençant par des méthodes *in vitro* (3) (4) (5) (6) (7) (8) ou *in chemico* (9), et *in vivo* en dernier recours. L'essai in vivo sur animaux, s'il est demandé par les régulateurs par exemple, ne doit être considéré qu'après avoir conduit des essais *in vitro* et uniquement quand : *i*) le produit chimique testé n'est pas identifié comme Catégorie 1, ou Catégorie 2 ou Non classé dans le système de classification des dangers du Système Global Harmonisé (SGH) des Nations Unies par l'une des méthodes in vitro adoptée ou une approche définie ; *ii*) le poids des preuves ne permet pas de conclure avec suffisamment de confiance si le produit chimique testé fait partie de l'une des Catégorie 1, Categorie 2 (2A ou 2B le cas échéant), Non classé, en fonction des exigences réglementaires spécifiques des pays, iii) le produit chimique ne peut pas être testé avec l'une des méthodes *in vitro* ou une approche définie (AD) à cause des limitations de ces méthodes ou quand le produit chimique est en dehors du domaine d'application de la méthode in vitro ou de l'approche définie.

PRINCIPE DE L'ESSAI *IN VIVO*

6. Après l'administration d'un analgésique systémique et l'induction d'une anesthésie topique adaptée, le produit chimique testé est appliqué en une seule dose sur un des yeux de l'animal d'expérience, l'œil non traité servant de témoin. On évalue le score de l'irritation ou de lésion oculaire grave en cotant la gravité des lésions affectant la conjonctive, la cornée et l'iris, à intervalles déterminés. Les autres réactions de l'œil et les troubles systémiques sont également décrits de manière à fournir une évaluation

© OCDE (2023)

complète des effets. La durée de l'étude doit être suffisante pour permettre d'évaluer la réversibilité des effets.

7. Les animaux qui présentent des signes de douleur et/ou de détresse aiguës à tout stade de l'essai, ou des lésions correspondant aux effets mesurés éthiquement acceptables décrits dans la présente Ligne directrice (voir paragraphe 24) seront euthanasiés, et ces symptômes seront à prendre en compte dans l'évaluation du produit chimique testé sans procéder à de nouveaux essais sur des animaux supplémentaires. Les critères régissant la décision d'euthanasier les animaux moribonds et pris de fortes douleurs sont exposés dans un document d'orientation séparé (10).

PRÉPARATION DE L'ESSAI *IN VIVO*

Choix des espèces

8. On choisira de préférence des lapins albinos et de jeunes adultes sains seront utilisés. L'utilisation d'une autre espèce ou souche fait l'objet de justification.

Préparation des animaux

9. Les deux yeux de chaque animal susceptible de participer à l'essai sont examinés dans les 24 heures précédant le début de l'essai. Les animaux qui présentent des signes d'irritation oculaire, des défauts oculaires ou une lésion de la cornée seront écartés.

Conditions d'hébergement et d'alimentation

10. Les animaux sont placés dans des cages individuelles. La température du local expérimental est réglée à 20 °C (± 3 °C) pour les lapins. S'il convient que l'humidité relative atteigne au moins 30 % sans excéder de préférence 70 %, en dehors des heures de nettoyage du local, on s'efforcera de maintenir le taux d'humidité autour de 50 à 60 %. L'éclairage est artificiel, avec une séquence alternant 12 heures de lumière et 12 heures d'obscurité. On évitera les éclairages trop intenses. Les lapins seront nourris avec un mélange classique pour animaux de laboratoire et boiront de l'eau potable à volonté.

MODE OPÉRATOIRE

Utilisation d'anesthésiques topiques et d'analgésiques systémiques

11. Les procédures suivantes sont recommandées pour réduire ou éviter la douleur et la détresse dans le cadre des essais de sécurité pour l'œil. On pourra faire appel à des procédures de remplacement dont il est avéré qu'elles sont aussi efficaces ou plus efficaces pour réduire ou éviter la douleur et la détresse des animaux.

- Soixante minutes avant l'application du produit chimique testé (APC), les animaux reçoivent 0.01 mg/kg de buprénorphine par injection sous-cutanée (ISC) afin d'atteindre un niveau thérapeutique d'analgésie systémique. La buprénorphine et d'autres analgésiques opioïdes similaires administrés de façon systémique ne sont pas connus pour, ou suspectés de, modifier les lésions oculaires (2) ;
- Cinq minutes avant l'APC, une ou deux gouttes d'anesthésique oculaire topique (p. ex. hydrochlorure de proparacaïne ou de tétracaïne à 0.5 %) sont appliquées sur chaque œil. Les anesthésiques topiques dénués d'agents conservateurs sont recommandés afin d'éviter toute interférence avec l'essai. L'œil de chaque animal non traité avec le produit chimique testé, mais qui reçoit l'anesthésique topique, joue le rôle de témoin. Si l'on suppose que le produit chimique testé peut entraîner une douleur et une détresse intenses, elle ne sera normalement pas testée *in vivo*. Néanmoins, quand un doute subsiste ou dans les

© OCDE (2023)

cas où un tel essai est exigé, il convient d'envisager des administrations supplémentaires d'anesthésique topique toutes les 5 minutes, en amont de l'APC. Les expérimentateurs doivent toutefois savoir que les applications multiples d'anesthésiques topiques sont susceptibles d'accroître légèrement la gravité des lésions induites par la substance chimique et/ou le délai de réversibilité de ces lésions.

- Huit heures après l'APC, on injecte par voie sous-cutanée 0.01 mg/kg de buprénorphine et 0.5 mg/kg de méloxicam afin de maintenir l'analgésie systémique à un niveau thérapeutique. Bien qu'aucune donnée ne suggère d'effet anti-inflammatoire sur l'œil quand le méloxicam est injecté par voie sous-cutanée une fois par jour, on attendra au moins huit heures après l'APC pour administrer ce produit afin d'éviter une interférence éventuelle avec l'essai (2).
- Après ce délai de 8 heures, on administre 0.01 mg/kg de buprénorphine par ISC toutes les 12 heures, parallèlement à un traitement au méloxicam à 0.5 mg/kg par ISC toutes les 24 heures, jusqu'à ce qu'une régression des lésions oculaires soit observée et qu'aucun signe clinique de douleur et de détresse ne se manifeste. Ces analgésiques sont disponibles dans des formes à libération prolongée, qui peuvent être envisagées pour réduire la fréquence d'administration d'analgésique.
- Un traitement analgésique « de secours » est effectué immédiatement après l'APC lorsque l'analgésique et l'anesthésique topique administrés au préalable se révèlent inadaptés. Si un animal montre des signes de douleur ou de détresse en cours d'essai, une dose « de secours » de buprénorphine de 0.03 mg/kg sera immédiatement injectée par voie sous-cutanée puis répétée toutes les 8 heures (intervalle minimum), si nécessaire ; cette posologie remplace les doses de 0.01 mg/kg par ISC toutes les 12 heures. La dose « de secours » de buprénorphine sera accompagnée de méloxicam à 0.5 mg/kg par ISC toutes les 24 heures, la première injection n'intervenant toutefois pas dans les 8 heures qui suivent l'APC.

Application du produit chimique testé

12. L'expérimentateur introduit le produit chimique testé dans le cul-de-sac conjonctival d'un des deux yeux de chaque animal, après avoir délicatement écarté la paupière inférieure du globe oculaire. Il ramène ensuite délicatement les deux paupières l'une contre l'autre et les maintient dans cette position pendant environ quelques secondes afin d'éviter toute perte de substance. L'autre œil, qui ne subit pas de traitement, sert de témoin.

Irrigation

13. Il convient de ne pas laver les yeux des animaux traités pendant au moins 24 heures après l'instillation du produit chimique testé, à moins que celle-ci soit à l'état solide (voir paragraphe 16) ou déclenche immédiatement des irritations de l'œil ou des lésions oculaires graves. Au besoin, un lavage pourra être effectué à l'issue de ce délai.

14. L'utilisation d'un groupe d'animal satellite pour étudier l'influence du lavage n'est pas indiquée, à moins qu'elle ne se justifie d'un point de vue scientifique. Le cas échéant, on utilisera deux lapins. Les conditions du lavage sont décrites minutieusement : par exemple le moment du lavage, la composition et la température de la solution ophtalmique, la durée, le volume et la vitesse d'application.

Niveau de dose

(1) Essais de liquides

15. Pour les liquides, on utilise une dose de 0.1 mL. Il convient d'éviter d'instiller le produit chimique testé directement dans l'œil avec un vaporisateur à pression ; il est préférable d'expulser d'abord le produit chimique dans une fiole, d'en prélever 0.1 mL et de l'instiller dans l'œil.

(2) Essais de solides

© OCDE (2023)

16. Dans le cas des solides, pâtes ou substances particulaires, la quantité utilisée a un volume de 0.1 mL ou un poids ne dépassant pas 100 mg. Le produit chimique testé sera broyé finement. Il convient de mesurer le volume de la substance solide après l'avoir légèrement tassée, par exemple en tapotant le récipient de mesure. La quantité utilisée ne doit pas excéder 100mg. L'application de produit chimique sous forme de poudre va accroître le clignement de l'œil et cela peut contribuer à une plus forte irritation. Si le produit chimique testé solide n'a pas encore été évacuée de l'œil de l'animal par des mécanismes physiologiques au premier moment d'observation, à savoir une heure après le traitement, l'œil peut être rincé à l'aide d'une solution saline ou à l'eau distillée.

(3) Essais d'aérosols

17. Il est recommandé de prélever une dose du contenu de tous les vaporisateurs à pression et aérosols avant de l'instiller dans l'œil. La seule exception concerne les produits chimiques testés conditionnés en bombes aérosol sous pression, qui sont impossibles à recueillir préalablement à l'instillation car elles se vaporisent. Dans ce cas, l'expérimentateur maintient l'œil de l'animal ouvert et administre le produit chimiques à tester en un seul jet d'environ une seconde, émis à 10 cm et directement en face de l'œil. Cette distance peut être modulée en fonction de la pression du jet et de sa composition. Il convient de veiller à ce que la pression du jet n'endommage pas l'œil. Dans certains cas, il pourra être nécessaire d'évaluer l'ampleur des dégâts « mécaniques » risquant d'être causés à l'œil par la force du jet.

18. La dose d'aérosol peut être estimée grâce à une simulation de l'application menée comme suit : le produit chimique testé est projeté sur du papier pour pesée à travers une ouverture de la taille d'un œil de lapin placée directement devant le papier. L'augmentation du poids du papier donne une idée approximative de la quantité administrée à l'œil de lapin. Pour un produit chimique volatile, la dose peut être estimée à partir du poids du récipient (dans lequel il est contenu) avant et après utilisation.

Essai initial (essai in vivo d'irritation de l'œil/lésions oculaires graves mené sur un seul animal)

19. Il est fortement recommandé de commencer par pratiquer l'essai *in vivo* sur un seul animal. Les observations qui en découlent doivent permettre de déterminer la gravité et la réversibilité des lésions avant de mettre en œuvre un essai de confirmation avec un animal supplémentaire.

20. Si les résultats de cet essai, mené selon la procédure décrite, indiquent que le produit chimique provoque des lésions oculaires graves, il n'y a pas lieu de mener d'autres essais d'irritation oculaire. La fin de l'essai avec un seul animal montrant des lésions oculaires est décidée pour des raisons de bien-être animal et le taux de mauvaise classification dû à la variabilité entre animaux pourra être prise en considération.

Essai de confirmation (essai d'irritation oculaire in vivo conduit sur des animaux supplémentaires)

21. Si l'essai initial ne révèle pas de lésion oculaire grave suite à l'essai initial, il est nécessaire de recourir à des essais supplémentaires d'irritation oculaire pour confirmer la réaction irritante ou négative sur un ou deux animaux supplémentaires. Si l'essai initial produit un effet irritant, il est recommandé de conduire l'essai de confirmation sur un mode séquentiel en n'utilisant qu'un seul animal à la fois, plutôt que d'exposer les deux animaux simultanément. Si le deuxième animal manifeste des signes de lésion oculaire grave, l'essai s'arrête là. Si les résultats de l'essai sur le deuxième animal suffisent à déterminer la catégorie de danger de la substance, l'essai s'arrête là.

Période d'observation

22. La durée de la période d'observation doit être suffisante pour permettre d'évaluer entièrement l'ampleur et la réversibilité des effets observés. Il convient cependant de mettre un terme à l'essai dès qu'un animal manifeste des signes de détresse ou de douleur aiguë (11)(12). Pour déterminer la réversibilité des

© OCDE (2023)

effets, les animaux sont normalement observés durant 21 jours après l'exposition au produit chimique testé. Si la réversibilité est constatée avant ce délai, l'expérience prend fin à ce moment-là.

Observations cliniques et score de la gravité des réactions oculaires

23. Les yeux font l'objet d'un examen complet pour repérer d'éventuelles lésions oculaires une heure après l'APCE, puis cette procédure est répétée au moins une fois par jour. Les trois premiers jours qui suivent l'exposition, on examinera les animaux plusieurs fois par jour afin de pouvoir mettre un terme à l'essai en temps opportun, s'il y a lieu. Les animaux sont soumis à des examens de routine tout au long de l'essai pour rechercher des signes cliniques de douleur et/ou de détresse (p. ex. coups de patte ou frottements de l'œil répétés, cillement excessif, larmoiement excessif) (11) (12), au moins deux fois par jour à six heures d'intervalle minimum, ou plus fréquemment si besoin est. Ces examens sont nécessaires pour (i) évaluer correctement les signes de douleur et de détresse des animaux afin d'établir la nécessité d'augmenter le dosage des analgésiques en conséquence et (ii) déterminer si les effets mesurés éthiquement acceptables sont atteints, de manière à décider en connaissance de cause d'euthanasier ou non les animaux et veiller à ce que les décisions d'euthanasier soient prises en temps voulu. Pour faciliter la détection et la mesure des lésions oculaires et déterminer si les effets observés éthiquement acceptables motivant l'euthanasie ont été atteints, on utilisera une coloration à la fluorescéine en routine ainsi qu'un biomicroscope (lampe à fente), si nécessaire (p. ex. pour évaluer la profondeur de la lésion en cas d'ulcération cornéenne). Des photographies numériques des lésions observées pourront être collectées à titre de référence et pour garder une trace permanente attestant l'étendue de la lésion oculaire. Les animaux ne seront maintenus dans l'essai que le temps nécessaire pour obtenir un résultat définitif. Ceux qui manifestent des signes de douleur ou de détresse aiguë sont euthanasiés immédiatement, et ces symptômes sont à prendre en compte dans l'évaluation du produit chimique testé, sans recourir à des essais supplémentaires sur animaux.

24. Il convient également d'euthanasier les animaux qui présentent les lésions oculaires suivantes à la suite de l'instillation (voir le tableau 1 pour une description des scores des lésions): une perforation de la cornée ou une ulcération profonde de la cornée associée à un staphylome ; la présence de sang dans la chambre antérieure de l'œil ; une opacité cornéenne de niveau 4 ; l'absence de réflexe photomoteur (réaction iridienne de niveau 2) durant 72 heures ; l'ulcération de la membrane conjonctivale ; une nécrose des conjonctives ou de la membrane nictitante ; ou un décollement du tissu nécrosé. Et ce, parce que ces lésions sont généralement irréversibles. Il est par ailleurs recommandé de considérer les lésions oculaires suivantes comme des effets mesurés éthiquement acceptables, dont la survenue motive l'arrêt d'un essai avant la période d'observation de 21 jours prévue. On estime que ces lésions en annoncent d'autres symptomatiques d'un effet oculaire grave, ou qui ne seront que partiellement réversibles dans le délai d'observation de 21 jours : lésions très profondes (p. ex. une ulcération cornéenne qui dépasse les couches superficielles du stroma), destruction du limbe > 50 % (traduite par un blanchiment du tissu conjonctival) et infection oculaire aiguë (écoulement purulent). Une vascularisation de la surface cornéenne (c'est-à-dire un pannus) associée à une surface colorée à la fluorescéine qui ne diminue pas au fil des examens quotidiens et/ou à l'absence de réépithélialisation 5 jours après l'application du produit chimique testé peuvent aussi constituer un faisceau de critères utiles pour justifier la décision clinique de mettre un terme à l'essai prématurément. Cependant, chacun de ces résultats pris isolément ne suffit pas à motiver l'arrêt prématuré de l'essai. Dès que des lésions oculaires graves ou des effets irréversibles sont observés, il convient de faire appel à un vétérinaire traitant ou spécialisé dans les animaux de laboratoire, ou à du personnel formé à identifier les lésions cliniques, pour mener un examen clinique permettant de juger si l'association de ces réactions implique un arrêt prématuré de l'essai. On attribuera un score aux réactions oculaires (des conjonctives, de la cornée et de l'iris) 1, 24, 48 et 72 heures après l'application de la substance d'essai, et les résultats seront consignés (tableau 1). L'essai devrait s'arrêter après trois jours suivant l'instillation si les animaux ne développent pas de lésion oculaire. Les animaux dont les lésions ne sont pas sévères demeurent en observation jusqu'à la disparition de ces lésions, ou pendant 21 jours, après quoi l'essai prend fin. Ces observations sont effectuées et consignées au moins à 1, 24, 48, 72 heures, puis 7, 14

© OCDE (2023)

et 21 jours après l'APC afin de déterminer l'état des lésions ainsi que leur réversibilité ou leur irréversibilité. Il est parfois nécessaire de rapprocher les examens pour déterminer s'il convient d'euthanasier un animal pour des raisons éthiques ou de l'écarter de l'essai du fait de résultats négatifs.

25. Le niveau des lésions oculaires (tableau 1) est consigné à chaque examen. Toutes les autres lésions oculaires (p. ex. pannus, coloration, modifications de la chambre antérieure) et les troubles systémiques sont également signalés.

26. Pour examiner les réactions, on peut s'aider d'une loupe binoculaire, d'une lampe à fente portative, d'un biomicroscope ou d'un autre appareil approprié. Après l'enregistrement des observations effectuées à la vingt-quatrième heure, l'examen des yeux peut se poursuivre à la fluorescéine.

27. L'attribution de score aux réactions oculaires est inévitablement subjective. L'harmonisation de l'attribution de scores aux réactions oculaires et l'appui aux laboratoires d'essai ainsi qu'au personnel chargé d'effectuer et d'interpréter les observations passent par une formation adéquate des expérimentateurs au système de score utilisé.

RÉSULTATS ET RAPPORTS

Évaluation des résultats

28. Le score d'irritation oculaire est évalué à la lumière de la nature et de la gravité des lésions ainsi que de leur réversibilité ou absence de réversibilité. Les cotes individuelles ne livrent pas une valeur absolue des propriétés irritantes d'une substance, celles-ci étant évaluées parallèlement à d'autres effets de la substance. En revanche, les cotes individuelles ont une valeur de référence et ne sont significatives que lorsqu'elles sont appuyées par une description et une évaluation complètes de toutes les observations.

Rapport d'essai

29. Le rapport d'essai comporte les informations suivantes :

Justification de l'essai *in vivo*: analyse fondée sur le poids de la preuve des résultats d'essais préexistants, notamment ceux qui procèdent de la stratégie d'essai séquentielle :

- description des résultats pertinents d'essais précédents ;
- données obtenues à chaque étape de la stratégie d'essai ;
- description des essais effectués *in vitro* détaillant les procédures et mentionnant les résultats obtenus avec les substances d'essai et de référence ;
- description de l'étude d'irritation/corrosion cutanée menée *in vivo* mentionnant les résultats obtenus ;
- comment l'analyse fondée sur le poids de la preuve des résultats disponibles a débouché sur la décision de conduire l'étude *in vivo* ;

Produit chimique testé :

- données d'identification (par exemple nom chimique et si possible numéro CAS, pureté, impuretés connues, source, numéro de lot) ;
- état physique et propriétés physico-chimiques (p. ex., pH, volatilité, solubilité, stabilité, réactivité avec l'eau) ;
- s'il s'agit d'un mélange, les composants sont identifiés, et les données d'identification des substances constituant le mélange (par exemple les noms et, s'ils sont disponibles, les numéros CAS) et leurs concentrations sont fournies;

© OCDE (2023)

– dose appliquée ;

Véhicule :

– identification, concentration (s'il y a lieu), volume utilisé ;
– justification du choix du véhicule.

Animaux d'essai :

– espèce/souche utilisée, justification de l'utilisation éventuelle d'un animal autre que le lapin albinos ;
– âge de chaque animal au début de l'essai ;
– nombre d'animaux de chaque sexe dans les groupes d'essai et témoin (le cas échéant) ;
– poids de chaque animal au début et à la fin de l'essai ;
– source, conditions d'encagement, régime alimentaire, etc.

Anesthésiques et analgésiques :

– doses d'anesthésiques topiques et d'analgésiques systémiques administrés, et chronologie d'administration ;
– si on a eu recours à un anesthésique local : identification, pureté, type et interaction potentielle avec le produit chimique testé.

Résultats :

– description de la méthode utilisée pour coter l'irritation à chaque moment d'observation (p. ex. lampe à fente portative, biomicroscope, fluorescéine) ;
– présentation sous forme de tableaux des réactions d'irritation ou de lésions oculaires graves relevées chez chaque animal et à chaque moment d'observation jusqu'à la fin de la participation de chaque animal à l'essai ;
– description circonstanciée du degré et de la nature de l'irritation ou de la corrosion observées ;
– description de toute autre lésion notée dans l'œil (p. ex. vascularisation, formation d'un pannus, adhésions, coloration) ;
– description des effets non oculaires locaux et des troubles systémiques, enregistrement des signes cliniques de douleur et de détresse, photographies numériques et observations histopathologiques, le cas échéant.

Le cas échéant, la classification relevant du SGH des Nations Unies (13) pour les produits chimiques, y compris la non classificaiton.

Interprétation des résultats

30. L'extrapolation à l'humain des résultats d'études d'irritation oculaire menées sur des animaux de laboratoire n'est valable que dans une certaine mesure. Dans bien des cas, le lapin albinos est plus sensible que l'espèce humaine aux substances irritantes ou corrosives pour l'œil.

31. Lors de l'interprétation des résultats, il faut savoir reconnaître une irritation consécutive à une infection secondaire, laquelle ne devra pas être prise en compte.

© OCDE (2023)

BIBLIOGRAPHIE

(1) OECD (2019). Guidance Document on an Integrated Approaches on Testing and Assessment for Serious Eye Damage and Eye irritation. Series on Testing and Assessment No.263. ENV Publications, Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.

(2) ICCVAM (2010), ICCVAM Test Method Evaluation Report: Recommendations for Routine Use of Topical Anesthetics, Systemic Analgesics, and Humane Endpoints to Avoid or Minimize Pain and Distress in Ocular Safety Testing, NIH Publication No. 10-7514, Research Triangle Park, NC, USA: National Institute of Environmental Health Sciences. Available: http://iccvam.niehs.nih.gov/methods/ocutox/OcuAnest-TMER.htm

(3) OECD(2020), *Test No. 437: Bovine Corneal Opacity and Permeability Test Method for Identifying i) Chemicals Inducing Serious Eye Damage And ii) Chemicals Not Requiring Classification For Eye Irritation Or Serious Eye Damage*, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing. https://doi.org/10.1787/9789264203846-en

(4) OECD (2018), *Test No. 438: Isolated Chicken Eye Test Method for Identifying i) Chemicals Inducing Serious Eye Damage And ii) Chemicals Not Requiring Classification For Eye Irritation Or Serious Eye Damage*, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris. https://doi.org/10.1787/9789264203860-en

(5) OECD (2017), *Test No. 460: Fluorescein Leakage Test Method for Identifying Ocular Corrosives and Severe Irritants*. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris. https://doi.org/10.1787/9789264185401-en

(6) OECD (2020), *Test No. 491: Short Time Exposure In Vitro Test Method for Identifying i) Chemicals Inducing Serious Eye Damage and ii) Chemicals Not Requiring Classification for Eye Irritation or Serious Eye Damage*. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing. https://doi.org/10.1787/9789264242432-en

(7) OECD (2019), *Test No. 492: Reconstructed human Cornea-like Epithelium (RhCE) test method for identifying chemicals not requiring classification and labelling for eye irritation or serious eye damage*. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing. https://doi.org/10.1787/9789264242548-en

(8) OECD (2019), *Test No. 494: Vitrigel-Eye Irritancy Test Method for Identifying Chemicals Not Requiring Classification and Labelling for Eye Irritation or Serious Eye Damage*. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing. https://doi.org/10.1787/9f20068a-en

(9) OECD (2019), *Test No. 496: In vitro Macromolecular Test Method for Identifying Chemicals Inducing Serious Eye Damage and Chemicals Not Requiring Classification for Eye Irritation or Serious Eye Damage*. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing. https://doi.org/10.1787/970e5cd9-en

(10) OECD (2000), Guidance Document on the Recognition, Assessment and Use of Clinical Signs as Humane Endpoints for Experimental Animals Used in Safety Evaluation. OECD Environmental Health and Safety Publications, Series on Testing and Assessment No. 19 (http://www.oecd.org/ehs/test/monos.htm).

(11) Wright EM, Marcella KL, Woodson JF. (1985), Animal pain: evaluation and control, Lab Animal, May/June: 20-36.

© OCDE (2023)

(12) National Research Council (NRC) (2009), Recognition and Alleviation of Pain in Laboratory Animals, Washington, DC: The National Academies Press.

© OCDE (2023)

TABLEAU 1 : SCORE DES LÉSIONS OCULAIRES

Cornée **Cote**

Opacité : degré de densité (les observations porteront sur les zones les plus denses)*

Pas d'ulcération ni d'opacité……0

Zones d'opacité (autres qu'un léger ternissement de l'éclat normal) dispersées ou diffuses ; détails de l'iris nettement visibles……1

Zone translucide aisément discernable ; détails de l'iris légèrement masqués……2

Zone nacrée ; détails de l'iris complètement invisibles ; dimension de la pupille à peine discernable……...3

Cornée opaque ; iris non discernable à travers l'opacité……4

Maximum possible : 4

* L'étendue de l'opacité cornéenne est précisée

Iris

Normal……0

Plis nettement plus profonds, congestion, tuméfaction, hyperhémie péricornéenne modérée ou conjonctives injectées ; iris réactif à la lumière (une réaction lente est considérée positive)……..1

Hémorragie, destruction marquée ou absence de réaction à la lumière……2

Maximum possible : 2

Conjonctives

Rougeur (s'applique aux conjonctives palpébrale et bulbaire, mais pas à la cornée ni à l'iris)

Normal……0

Hyperhémie de certains vaisseaux sanguins (yeux injectés)……..1

Coloration pourpre diffuse, vaisseaux sanguins difficilement discernables les uns des autres……2

Coloration rouge soutenu diffuse……3

Maximum possible : 3

Chémosis

Tuméfaction (s'applique aux paupières et/ou aux membranes nictitantes)

Normal……0

Tuméfaction légèrement supérieure à la normale……...1

Tuméfaction patente avec éversion partielle des paupières……2

© OCDE (2023)

Tuméfaction avec paupières à demi closes……3

Tuméfaction avec paupières plus qu'à demi closes……4

Maximum possible : 4

ANNEXE: DÉFINITIONS

1. Produit chimique non classé : produit chimique testé qui n'est pas classé comme irritant oculaire au sens des catégories 1, 2A, ou 2B du SGH (13).

2. Lésions oculaires graves se réfèrent à des effets du produit chimique provoquant des lésions irréversibles des tissus oculaires, ou une dégradation physique grave de la vue qui n'est pas complètement réversible après l'exposition au produit chimique ou au mélange ; produit chimique classé comme provoquant des lésions oculaires graves dans la catégorie 1 du SGH (13).

3. Produit chimique irritant pour l'œil : produit chimique provoquant une modification réversible de l'œil faisant suite à une exposition de l'œil à un produit chimique ou un mélange ; ces produits chimiques sont classés dans les catégories 2A ou 2B du SGH (13).

4. Evaluation du poids de la preuve : procédé consistant à prendre en compte les forces et les faiblesses de divers éléments d'information pour aboutir à une conclusion concernant les dangers potentiels d'une substance et étayer cette conclusion.

5. Approche intégrée pur les d'essais et l'évaluation (IATA en anglais): approche structure utilisée pour l'identification des dangers (potentiel), et la caractérisation des dangers (puissance), et/ou pour l'évaluation de la sureté (potentiel/puissance et l'exposition) d'un produit chimique ou un groupe de produits chimiques, qui intègre de façon stratégique et pèse toutes les données pertinentes pour informer la décision réglementaire concernant les dangers potentiels, les risques, et le besoin d'essais ciblés supplémentaires.

6. Approche définie (AD) : une AD consiste en une procédure fixe d'interprétation des données (p. ex. un modèles mathématique, statistique) appliquée aux données (p.ex. données de prédiction *in silico, in chemico, in vitro*) générés par un ensemble de sources d'information définies afin de déterminer une prédiction.

© OCDE (2023)