

Document sur l'approche scientifique

Ratio de l'exposition bioactive : L'application à l'établissement des priorités et l'évaluation des risques

Santé Canada

Mars 2021

Synopsis

Le présent document sur l'approche scientifique (DAS) présente une méthode quantitative fondée sur le risque permettant de relever les substances potentiellement préoccupantes ou peu préoccupantes pour la santé humaine. Cette méthode tient compte d'une évaluation à haut rendement de la bioactivité *in vitro* ainsi que d'une modélisation de la toxicocinétique à haut rendement afin d'obtenir un point de départ basé sur la bioactivité *in vitro* (PD_{Bioactivité}). L'objectif du présent DAS est de démontrer que le PD_{Bioactivité} peut fournir une estimation de la limite inférieure des concentrations avec effet observé *in vivo* provenant d'études avec doses orales répétées et d'études sur le développement et la reproduction examinées dans le cadre du Plan de gestion des substances chimiques (PGPC). Ainsi, le PD_{Bioactivité} peut servir de substitut conférant une protection en l'absence de données classiques sur les dangers. Après une comparaison du PD_{Bioactivité} avec une estimation de l'exposition dans le but d'établir un ratio bioactivité sur exposition (B/E), il est prévu que la méthode décrite dans le présent DAS sera utilisée dans les futures activités de priorisation et d'évaluation préalable des substances chimiques réalisées au titre de la *Loi canadienne sur la protection de l'environnement (1999)* (LCPE; Environnement Canada et Santé Canada 2014).

Santé Canada a examiné un sous-ensemble de 46 substances chimiques précédemment évaluées dans le cadre du PGPC afin de comparer le PD_{Bioactivité} avec les points de départ des études de toxicité par voie orale menées avec des animaux (PD_{Classique}). Cet examen avait pour but de démontrer que l'on peut en toute confiance utiliser la bioactivité *in vitro* pour remplacer l'estimation de la limite inférieure d'une concentration avec effet nocif *in vivo*. Cette comparaison a été réalisée spécifiquement pour les études de toxicité à doses répétées par voie orale, ainsi que de toxicité pour le développement et la reproduction. Dans le cas de 43 substances chimiques sur 46, le PD_{Bioactivité} était inférieur au PD_{Classique} le plus faible cité dans l'évaluation des risques. Ces résultats concordent avec d'autres études de cas publiées utilisant une méthodologie similaire. L'analyse présentée dans le présent DAS, ainsi que dans des études de cas disponibles, prouve que le recours au PD_{Bioactivité} serait tout aussi protecteur ou même plus protecteur que le recours au PD_{Classique} dans des méthodes modernes visant l'établissement de priorités et l'évaluation préalable des risques.

Sur les 46 substances ayant un PD_{Bioactivité}, le ratio bioactivité/exposition (B/E) a été calculé pour 41 substances, soit celles pour lesquelles on disposait de données quantitatives d'exposition. Cette méthode a permis de recenser 35 substances pour lesquelles le ratio B/E indique qu'elles risquent fort d'être préoccupantes. Les substances ont été considérées comme potentiellement préoccupantes si le PD_{Bioactivité} est environ 1 000 fois la valeur d'exposition maximale estimée.

Lorsqu'on utilise la méthode fondée sur le ratio B/E pour l'établissement des priorités, les substances dont le B/E est inférieur à 1 000 seraient l'objet de mesures futures dans le cadre du PGPC. Ces mesures futures pourraient comprendre la collecte de

renseignements, la production de données supplémentaires ainsi qu'une évaluation plus approfondie des risques, selon ce qui est jugé approprié. Pour les évaluations préalables des risques, en l'absence d'autres indicateurs de danger et avec le recours à des estimations de l'exposition humaine qui tiennent compte de toutes les sources potentielles d'exposition, un B/E supérieur à 1 000 peut être utilisé comme donnée probante étayant une décision de non-toxicité au sens de l'article 64(c) de la LCPE.

Une période de consultation sur le présent DAS est prévue pour le public, et permettra d'obtenir des commentaires et des informations supplémentaires avant que cette méthode ne soit utilisée dans le cadre des efforts modernisés déployés pour l'établissement des priorités et l'évaluation des risques. La publication de cette approche scientifique aidera le gouvernement à relever les substances peu préoccupantes parmi celles sur lesquelles on dispose de peu de données ou à recenser celles qui nécessitent des mesures supplémentaires.

Table des matières

Synopsis.....	i
1. Introduction	7
2. Contexte.....	9
2.1 La bioactivité <i>in vitro</i> dans une stratégie d'analyse et d'évaluation à plusieurs étapes.....	9
2.2 Études de cas existantes comparant la bioactivité <i>in vitro</i> aux études sur les animaux.....	10
3. Justification de la méthode.....	13
4. Méthodes	14
4.1 Sélection des substances	14
4.2 PD _{Classique} tirés des évaluations.....	15
4.3 Calcul du PD _{Bioactivité} <i>in vitro</i>	16
4.4 Calcul du ratio B/E	21
5. Résultats	22
5.1 Comparaison du PD _{Bioactivité} au PD _{Classique}	22
5.2 Ratios B/E calculés avec le PD _{Bioactivité} et les valeurs d'exposition.....	26
6. Facteurs d'incertitude (FI) à prendre en compte pour déterminer la pertinence du B/E	28
6.1 Calcul du PD _{Bioactivité} (FI _{Bioactivité})	28
6.2 Contraintes relatives aux cellules (FI _{Cellules})	30
6.3 Variabilité interindividuelle (chez l'humain) (FI _{Humain})	32
6.4 Résumé des facteurs d'incertitude relatifs aux dangers	32
6.5 Estimations de l'exposition	33
7. Recours à la méthode dans le cadre du PGPC.....	34
7.1 Considérations sur l'exclusion de substances	36

7.2 Besoins en matière de recherche	38
Références	Error! Bookmark not defined.

Liste d'abréviations

3 compartiments - État d'équilibre à trois compartiments

A*STAR - Agence pour la science, la technologie et la recherche

APCRA - Accélérer le rythme de l'évaluation des risques chimiques

BPA - Bisphénol A

CA₅₀ - Concentration nécessaire pour obtenir 50 % de l'activité maximale

C_{eq} - Concentration à l'équilibre

Cl_{int} – Clairance hépatique intrinsèque

DAS - Document sur l'approche scientifique

DEA - Dose équivalente administrée

DRE - Dose de référence

ECHA - Agence européenne des substances chimiques

EIVIV - Extrapolation *in vitro* à *in vivo*

EPA - Agence pour la protection de l'environnement

F_{gutabs} - Fraction d'absorption intestinale

FI - Facteur d'incertitude

F_{nlpp} - Fraction non liée aux protéines du plasma

HBCD - Hexabromocyclododécane

HIPPTox - Profil phénotypique obtenu par imagerie à haut rendement

ERAP - Établissement des priorités en matière d'évaluation des risques

LCPE - Loi canadienne sur la protection de l'environnement

LIS - Liste intérieure des substances

DME(N)O – Dose minimale avec effet (nocif) observé

ME - Marge d'exposition

DSE(N)O – Dose sans effet (nocif) observé

No CAS - Numéro de registre du Chemical Abstracts Service

OCDE - Organisation de coopération et de développement économiques

PGPC - Plan de gestion des substances chimiques

PD - Point de départ

B/E - Ratio bioactivité-exposition

REACH - Enregistrement, évaluation, autorisation et restriction des substances chimiques

REP - Rapport d'évaluation préalable

SNC - Système nerveux central

SPT - Seuil de préoccupation toxicologique

TCHR - Toxicocinétique à haut rendement

TCHR-Pop - Générateur de population virtuelle pour la TCHR

tcpl - Pipeline d'analyse des données ToxCast

ToxCast – Programme Toxicity Forecaster (prévision de la toxicité)

BDToxRef - Base de données de référence sur la toxicité

BDValTox - Base de données des valeurs de toxicité

1. Introduction

À la suite d'une catégorisation de substances dans la Liste intérieure des substances (LIS), qui a été achevée en 2006, il a été déterminé qu'environ 4 300 des 23 000 substances de la LIS devraient être évaluées dans le cadre des trois phases du Plan de gestion des substances chimiques (PGPC). Chaque phase du PGPC s'est appuyée sur les enseignements tirés de la phase précédente et a progressivement introduit des méthodes d'évaluation simplifiées dont l'utilité a été démontrée pour relever efficacement et évaluer rapidement les substances peu prioritaires. Le recours à ces méthodes d'évaluation a ainsi permis de concentrer les ressources sur les substances et les groupes de substances prioritaires.

Le PGPC du Canada a permis d'explorer l'intégration de nouvelles méthodes et de nouvelles données afin d'évaluer plus efficacement les substances chimiques. Dans le cadre des efforts mondiaux visant à moderniser l'analyse et l'évaluation des substances chimiques, des méthodes sont en cours d'élaboration pour éclairer la gestion des substances chimiques au Canada dans l'avenir. Cela inclut l'exploration et la mise en œuvre de nouvelles méthodologies servant à guider les activités de priorisation et d'évaluation des risques associés aux substances chimiques. Les nouvelles méthodologies comportent le plus souvent des méthodes d'analyse, des technologies ou des méthodes innovantes, sans recours aux animaux ou substitutives, mises au point pour soutenir l'évaluation des risques chimiques (Harrill et coll. 2019). Les nouvelles méthodologies peuvent être utilisées dans le cadre d'une stratégie globale d'analyse et d'évaluation pour réduire le nombre d'animaux vertébrés nécessaire ou remplacer ces derniers dans les essais de toxicité ou perfectionner les essais menés avec ces animaux.

En 2016, le gouvernement du Canada a convoqué une réunion du comité scientifique du PGPC pour discuter des questions scientifiques relatives à l'intégration des nouvelles méthodologies dans le PGPC, plus précisément pour établir les priorités en matière d'évaluation des risques. Parmi les différentes méthodes examinées, les membres du comité ont discuté de l'utilisation de la mesure de la bioactivité *in vitro* couplée à une estimation de l'exposition humaine pour obtenir un ratio bioactivité/exposition (B/E). Le comité a soutenu l'utilisation des nouvelles méthodologies et du concept de B/E pour établir les priorités, comme données probantes supplémentaires dans l'évaluation des risques et comme outil à haut rendement d'approximation et de classification des risques (Comité scientifique du PGPC 2017).

Dans le cadre de l'initiative APCRA (Accelerating the Pace of Chemical Risk Assessment [Accélérer le rythme de l'évaluation des risques chimiques]) de l'EPA (Kavlov et coll. 2018), Santé Canada a collaboré avec l'Agence américaine de protection de l'environnement (EPA) et l'Agence européenne des substances chimiques

(ECHA), entre autres organismes de réglementation internationaux, afin de discuter des progrès réalisés et d'élaborer des études de cas sur l'utilisation de paramètres quantitatifs dérivés des nouvelles méthodologies, pour l'établissement des priorités, les évaluations préalables et les évaluations de risque plus approfondies. Cette collaboration canadienne comprenait une analyse rétrospective à grande échelle qui a permis de mettre au point un processus permettant d'obtenir un point de départ fondé sur la bioactivité *in vitro* (PD_{Bioactivité}) qui sera comparé à un point de départ obtenu à l'aide d'études sur les animaux (PD_{Classique}). L'un des objectifs de l'analyse était de démontrer qu'un PD fondé sur la bioactivité peut servir d'estimation de la limite inférieure des concentrations avec effet observé *in vivo* et qu'à ce titre, il serait protecteur lorsqu'il est repris dans une méthode avec calcul du ratio B/E (Paul Friedman et coll. 2019). S'appuyant sur les avancées de la collaboration, la méthode développée dans le cadre de l'APCRA a été appliquée aux substances ayant fait l'objet d'une évaluation des risques dans le cadre du PGPC, comme preuve de concept avant qu'elle soit utilisée à plus grande échelle à l'avenir.

L'objectif du présent document d'approche scientifique (DAS) est de démontrer que la bioactivité *in vitro* peut fournir une estimation de la limite inférieure des concentrations avec effet observé *in vivo* obtenue à l'aide d'études avec doses répétées par voie orale et d'études sur le développement et la reproduction examinées dans le cadre du PGPC. Il est prévu que la méthode décrite dans le présent document soit utilisée pour les futures activités de priorisation et d'évaluation préalable des substances chimiques au titre de la *Loi canadienne sur la protection de l'environnement (1999)* (LCPE; Environnement Canada et Santé Canada 2014).

La méthode décrite dans le présent DAS ne détermine pas le potentiel génotoxique d'une substance chimique, lequel est également un élément important à prendre en considération dans le recensement des substances préoccupantes ou du potentiel de danger d'une substance. Une approche complémentaire de recherche des cancérogènes génotoxiques potentiels est en cours de développement et intègre d'autres essais de génotoxicité *in vitro* à plus haut rendement.

Le présent DAS a été préparé par le personnel du Programme d'évaluation des risques en vertu de la LCPE à Santé Canada, et a fait l'objet d'une révision et d'une consultation externe écrite par des pairs. Les examinateurs étaient le D^r Michael Waters, ainsi que les docteurs Joan Garey et Jennifer Flippin. Les commentaires externes ont été pris en considération, mais le contenu final et le recours à la méthode dans le futur demeurent la responsabilité de Santé Canada. Les données et les considérations cruciales sur lesquelles s'appuie le DAS sont présentées ci-dessous.

2. Contexte

2.1 La bioactivité *in vitro* dans une stratégie d'analyse et d'évaluation à plusieurs étapes

L'une des grandes difficultés de la réalisation d'évaluations des risques associés aux substances chimiques existantes dans le cadre de la LCPE, et en particulier pour les futures activités de priorisation et d'évaluation, est la faible quantité de données toxicologiques *in vivo* sur de nombreuses substances de la LIS. Comme cette contrainte n'est pas propre à l'évaluation des risques au Canada, de nouvelles méthodes à plusieurs étapes sont proposées à l'échelle internationale, lesquelles font appel à des essais *in vitro* sur des cellules humaines et à d'autres nouvelles méthodologies pour hiérarchiser efficacement les substances qui seront l'objet d'autres essais et évaluations (Thomas et coll. 2013; 2019). Dans ce type de cadre à plusieurs étapes, la première sélection fait appel à un ensemble d'essais *in vitro* à haut rendement qui sondent les premiers événements biologiques perturbés par chaque substance. Par exemple, les essais qui mesurent des paramètres tels que la cytotoxicité, la viabilité cellulaire et l'activité transcriptionnelle font partie de ceux utilisés dans le processus de sélection. Les essais sont choisis de façon à évaluer un large éventail de cibles biochimiques et cellulaires ayant un rôle dans les effets nocifs sur la santé, et les essais sont effectués en utilisant de nombreuses concentrations afin d'analyser la relation concentration-réponse. Si un essai est considéré comme ayant une activité (c'est-à-dire que la réponse augmente avec la concentration), la CA₅₀ (la concentration requise pour obtenir 50 % de l'activité maximale) est enregistrée. Chaque CA₅₀ peut ensuite être convertie en une dose équivalente administrée (DEA) par dosimétrie inverse à l'aide de modèles toxicocinétiques simplifiés et conservateurs. Pour un composé donné, il peut y avoir plusieurs DEA, mais seule la DEA correspondant au seuil de bioactivité *in vitro* (par exemple, le 5^e centile) est choisie pour représenter le PD_{Bioactivité}. Le ratio B/E, qui est un concept semblable à la marge d'exposition (ME), est calculé comme le ratio du PD_{Bioactivité} sur l'exposition humaine. Le ratio B/E peut servir à guider la hiérarchisation des substances chimiques. Par exemple, si la valeur d'un ratio B/E est supérieure à un seuil donné, la substance peut être considérée comme peu prioritaire ou faiblement prioritaire dans l'évaluation des risques. En revanche, si un ratio B/E est inférieur à un seuil donné, d'autres mesures peuvent être justifiées, notamment l'exploration de stratégies d'essais ciblées à des étapes ultérieures ou une évaluation approfondie des risques.

Actuellement, le plus grand ensemble de données sur la bioactivité *in vitro* est conservé sous l'égide du programme Toxicity Forecaster (ToxCast). À l'heure actuelle, la base de données de ToxCast contient des renseignements sur environ 1 400 paramètres d'essais *in vitro* et des quantités variables de données sur près de 10 000 substances chimiques. ToxCast a continuellement évolué depuis sa création et on a tiré des leçons apprises un plan stratégique utile pour la prochaine génération de méthodes d'évaluation des risques (Thomas et coll. 2019). Les progrès de la toxicologie par modélisation numérique ont aussi permis d'améliorer la capacité d'analyse de ToxCast

grâce à l'ajout d'algorithmes d'ajustement des courbes de dose et de filtres rigoureux qui diminuent l'influence du bruit expérimental (Filer et coll. 2017), fournissant des valeurs de CA_{50} robustes pour la modélisation des DEA. Ainsi, ToxCast poursuit son évolution pour devenir un outil puissant et un ensemble de données sur lequel la communauté de la réglementation peut compter dans les premières étapes de la sélection de substances chimiques.

La toxicocinétique à haut rendement (TCHR) est essentielle pour l'extrapolation de *in vitro* à *in vivo* (EIVIV) lorsqu'on convertit les concentrations associées à la bioactivité (par exemple la CA_{50} en μM) en doses pertinentes pour l'homme (c'est-à-dire en DEA en mg/kg pc/jour) à des fins d'interprétation et d'utilisation ultérieures. Le classement des substances chimiques utilisant uniquement les mesures de CA_{50} n'a qu'une utilité limitée pour la hiérarchisation des substances chimiques et fournit un ordre de classement de la toxicité chimique différent de celui obtenu à l'aide des DEA, ce qui laisse croire que le danger potentiel de chaque substance chimique peut être mal représenté si on ne procède pas à une EIVIV (Rotroff et coll. 2010). Les méthodes et les modèles de TCHR utilisés pour quantifier les DEA ont été en grande partie mis au point par l'industrie pharmaceutique, mais ont été judicieusement adaptés pour faire une EIVIV dans le but de répertorier des substances chimiques dans l'environnement et le milieu industriel (Rotroff et coll. 2010; Wetmore et coll. 2012; 2015b; Wetmore 2015a). Pour rendre plus prudentes les méthodes toxicocinétiques développées par le milieu pharmaceutique et pour élargir leur utilisation, on a eu recours à des hypothèses simplifiées pour élaborer des modèles de TCHR (Wambaugh et coll. 2018). Deux mesures d'essais à haut rendement sont utilisées pour évaluer par TCHR l'élimination des substances chimiques dans l'organisme : la liaison aux protéines du plasma et la clairance métabolique des cellules hépatiques *in vitro*. Les mesures de toxicocinétique *in vitro* servent à estimer la concentration à l'état d'équilibre (C_{eq}) dans le plasma d'une dose quotidienne constante de 1 mg/kg pc/jour (voir section 4.3, étape 4, pour plus de détails). En raison des hypothèses linéaires utilisées, les valeurs de CA_{50} et de C_{eq} peuvent être utilisées pour calculer les DEA, et obtenir par la suite le $PD_{Bioactivité}$, qui lui-même sert à déterminer le ratio B/E.

2.2 Études de cas existantes comparant la bioactivité *in vitro* aux études sur les animaux

Au cours de la production de données sur la bioactivité par des méthodes à haut rendement, une base de données de référence sur la toxicité (BDToxRef), constituée de données provenant de plusieurs types d'études *in vivo* (c'est-à-dire toxicité chronique, multigénérationnelle, développement prénatal), a été constituée afin de fournir une ressource pour la validation des résultats *in vitro* (Watford et coll. 2019; Thomas et coll. 2019; Knudsen et coll. 2009; Martin et coll. 2009a; Martin et coll. 2009b). Les premières substances chimiques intégrées à la BDToxRef ont été sélectionnées de manière à chevaucher celles des premières phases du programme ToxCast (77 % de chevauchement entre les substances chimiques) (Richard et coll. 2016). La base de données BDToxRef a été élargie au fil des ans et contient

actuellement environ 6 000 études pour la validation de modèles *in vitro*. Les comparaisons entre les données de BDToxRef et les résultats de ToxCast ont permis de démontrer la pertinence du recours aux outils de sélection à haut rendement dans la modélisation *in vivo* des dangers et des risques. Par exemple, une analyse de 59 substances chimiques de la phase I de ToxCast utilisant 600 essais *in vitro* ToxCast, ainsi que des mesures *in vitro* de la clairance hépatique chez le rat et des mesures de liaison aux protéines du plasma ont montré que la DEA minimale *in vitro* chez le rat était égale ou inférieure à 94 % des doses avec faible effet chez le rat de la BDToxRef (Wetmore et coll. 2013). L'arrimage entre les études *in vivo* et *in vitro* au moyen de la BDToxRef et d'autres études de cas peut non seulement soutenir l'utilisation de ces méthodes mais aussi améliorer la robustesse des modèles mis au point.

Une autre étude de cas a porté sur l'hexabromocyclododécane (HBCD), un ignifugeant (Gannon et coll. 2019a). Ce travail a permis d'examiner les ratios B/E propres à l'HBCD selon une progression par étapes faisant appel à divers types de données, soit la bioactivité *in vitro* au sens large (étape 1), la toxicogénomique *in vivo* (étape 2) et enfin les effets apicaux classiques observés dans une étude de toxicité *in vivo* de 28 jours menée sur des animaux (étape 3). L'étape 1 a permis d'examiner 821 paramètres de ToxCast et d'en repérer 93 comportant des valeurs de CA₅₀. Un modèle de toxicocinétique pour les substances chimiques persistantes a été mis au point et utilisé pour calculer les DEA associées à ces paramètres (Moreau et Nong 2019). Il en a résulté un ratio B/E de 810 selon l'essai ayant donné le résultat significatif le plus faible et l'intervalle de confiance de 95 % prévu pour la population canadienne (cette même estimation de l'exposition a été appliquée à tous les niveaux). L'étude de l'étape 2 (Farmahin et coll. 2019) a utilisé la toxicogénomique pour évaluer le foie de rats mâles et femelles exposés à 250, 1 250 et 5 000 mg/kg d'aliments/jour pendant 28 jours, conformément à la ligne directrice 407 de l'Organisation de coopération et de développement économiques (OCDE 2008). Les doses de référence (DRE) de l'étape 2 ont été fondées sur des gènes exprimés de façon différentielle ou des voies de l'expression différentielle suivant des méthodes précédemment recommandées (Farmahin et coll. 2017; NTP 2018). Ainsi, le ratio B/E de l'étape 2 a été obtenu par transcriptomique à grande capacité, une source d'information supplémentaire qui peut être utilisée pour évaluer la bioactivité des substances chimiques, et était de 96 000. À l'étape 3, des paramètres apicaux classiques ont été examinés dans les tissus des animaux de l'étape 2 et on a examiné la littérature scientifique (Gannon et coll. 2019b). Des analyses des doses de référence ont été effectuées pour tous les effets observés et utilisées pour obtenir les PD possibles. La dose de référence la plus faible associée à un effet apical chez les rongeurs a servi au calcul d'une ME de 150 000, valeur qui concorde avec celle de l'étape 2. Dans l'exemple de l'HBCD, il a été déterminé que l'étape 1 était plus prudente que les étapes 2 et 3 car deux ordres de grandeur les séparent, et que le PD obtenu serait protecteur d'effets potentiels sur la santé.

Plusieurs petites études de cas comparant les DEA fondées sur la bioactivité *in vitro* aux concentrations avec effet observé *in vivo* ont été menées au cours des premières phases de ToxCast (Judson et coll. 2011; Paul-Friedman et coll. 2016; Tilley et coll.

2017; Blackwell et coll. 2017; Corsi et coll. 2019; Turley et coll. 2019), mais il a été constaté que les organismes de réglementation internationaux devaient examiner un grand nombre de substances chimiques couvrant une large gamme diversifiée afin d'utiliser cette méthode en toute confiance dans les activités de réglementation. La première étude de cas de l'initiative APCRA a été menée pour évaluer rétrospectivement le PD_{Bioactivité} par rapport au PD_{Classique} à l'aide d'études sur les animaux (Paul Friedman et coll. 2019). Pour ce faire, des données chevauchant les substances chimiques de ToxCast, une banque de TCHR (Pearce et coll. 2017), et la base de données des valeurs de toxicité (BDValTox) (Williams et coll. 2017) ont été utilisées. La BDValTox contient des données provenant de plusieurs sources, dont la BDToxRef, et a servi à guider l'évaluation du PD_{Classique} *in vivo*. En outre, des valeurs supplémentaires du PD_{Classique} ont été fournies par les gouvernements qui ont collaboré à l'étude. Plus précisément, Santé Canada a fourni des données sur les substances chimiques qui ont été recueillies dans le cadre du PGPC du Canada, l'ECHA a fourni des données provenant du programme d'enregistrement, d'évaluation, d'autorisation et de restriction des substances chimiques (REACH), et l'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) a fourni des données provenant de ses évaluations de la santé humaine. Un programme de l'Agence pour la science, la technologie et la recherche (A*STAR) a aussi fourni des données *in vitro* supplémentaires tirées de la base des données sur les profils phénotypiques obtenus par imagerie à haut rendement (HIPPTox), lorsqu'elles étaient disponibles. La plateforme HIPPTox fait appel à l'imagerie cellulaire à grande capacité et à haut rendement ainsi qu'à des algorithmes d'apprentissage machine pour rechercher les marqueurs phénotypiques prédictifs de la toxicité (Lee et coll. 2018).

Au total, on disposait de suffisamment de données sur 448 substances chimiques pour comparer les PD *in vitro* et *in vivo*. On avait accès aux données de ToxCast pour les 448 substances chimiques et à des données d'imagerie HIPPTox pour 57 d'entre elles. Dans le calcul du PD_{Bioactivité}, la concentration associée à la bioactivité en μM était la valeur minimale de CA₅₀ de ToxCast au 5^e centile et la concentration induisant 10 % d'effet (CE₁₀) dans HIPPTox. Lorsque les valeurs de CE₁₀ de l'HIPPTox étaient disponibles, la valeur HIPPTox minimale a été choisie, car la valeur HIPPTox était considérée comme plus indicatrice d'effets nocifs qu'un seuil prudent de bioactivité de ToxCast. Cependant, comme les données biologiques de ToxCast ne couvrent pas tous les tissus, le modèle HIPPTox pouvait fournir des données sur les poumons, les reins et le foie qui pourraient ne pas exister dans ToxCast. L'extrapolation EIVIV par modélisation de la TCHR a permis de convertir la concentration associée à la bioactivité en DEA à l'état d'équilibre en mg/kg/jour (PD_{Bioactivité}). La majorité des valeurs de PD_{Bioactivité} se sont avérées prudemment protectrices par rapport au PD_{Classique} (400/448 substances chimiques). La différence de la médiane entre les PD sur une échelle arithmétique correspondait à un facteur de 100 environ. Trois composés présentaient un PD_{Bioactivité} supérieur de plus de deux ordres de grandeur au PD_{Classique} et il s'agissait dans les trois cas de pesticides organophosphorés. En outre, 24 des 48 substances ayant un PD_{Bioactivité} supérieur au PD_{Classique} présentaient des caractéristiques de structure chimique indiquant qu'il s'agissait de pesticides carbamates ou

organophosphorés. Il a été déterminé que cette méthode, combinée aux essais actuellement utilisés, pourrait ne pas être adaptée pour hiérarchiser les organophosphates et les carbamates. Dans l'ensemble, les résultats montrent que les modèles peuvent être utilisés comme des outils de sélection prudents pour les autres classes de composés évaluées dans l'étude de cas.

L'une des principales réussites de cette étude de cas est l'élaboration d'un processus générique, applicable à une large gamme de substances chimiques, qui permet d'obtenir un PD_{Bioactivité} qui guidera la priorisation ou les évaluations préalables. Cet effort de collaboration éclaire considérablement les méthodes et constitue le fondement de la méthode présentée dans le présent DAS.

3. Justification de la méthode

Pour évaluer le potentiel d'effets d'une substance sur la santé humaine, une évaluation des risques permet de déterminer la concentration à laquelle des effets nocifs sur la santé se produisent, d'appliquer des facteurs pour tenir compte des zones d'incertitude et de comparer les estimations de l'exposition humaine par rapport à cette concentration pour déterminer le risque. Les effets sur la santé sont considérés comme nocifs s'ils entraînent une altération fonctionnelle ou des lésions pathologiques susceptibles de raccourcir la durée de vie de l'organisme, de nuire à sa capacité à se reproduire ou de réduire sa capacité à répondre à des difficultés supplémentaires (US EPA 2011; Lewis et coll. 2002; PISC 2004). En revanche, la méthode proposée, qui fait appel à des essais *in vitro* pour obtenir un PD_{Bioactivité}, ne détermine pas un seuil au-delà duquel des effets nocifs sur la santé se produiraient. Elle tient plutôt compte des perturbations observées dans les essais *in vitro* évaluant un large éventail biologique de cibles biochimiques et cellulaires possibles qui peuvent être à l'origine des événements constituant une voie menant à des effets nocifs mais qui ne sont pas par elles-mêmes indicatives d'un effet nocif sur la santé. On s'attend à ce que ces premières perturbations biologiques se produisent à des concentrations inférieures à celles auxquelles les effets nocifs sur la santé se manifestent en aval après une exposition *in vivo* de longue durée (Becker et coll. 2015; Honda et coll. 2019). C'est pourquoi il est biologiquement plausible que la méthode fournisse des estimations de la limite inférieure des concentrations avec effet observé *in vivo*.

Le principe sous-jacent de cette méthode est qu'une concentration minimale correspondant à la bioactivité observée dans une large gamme d'essais *in vitro* peut subir une extrapolation dans le but d'obtenir l'estimation d'un point de départ substitutif (PD_{Bioactivité}). Le PD_{Bioactivité} se veut une estimation de la limite inférieure (et donc une estimation protectrice) des concentrations avec effet qui pourraient être mesurées *in vivo*, indépendamment des événements biologiques ou des voies menant à des effets nocifs en jeu (Paul Friedman et coll. 2019). La bioactivité *in vitro* provient de la base de données ToxCast (version 3) et, bien que de nombreux essais biochimiques et cellulaires soient utilisés, on admet qu'elle ne couvre pas toutes les cibles ou tous les processus biologiques (voir la discussion des incertitudes à la section 6).

Afin de renforcer la confiance dans l'utilisation de données *in vitro* humaines comme substitut des concentrations avec effet observé dans les études sur les animaux, il est important de comprendre comment le PD_{Bioactivité} obtenu se compare aux valeurs du PD_{Classique}. Pour ces comparaisons, on a utilisé des PD tirés d'études sur des rongeurs, car les évaluations classiques s'appuient généralement sur des données sur les rongeurs pour caractériser le danger et le potentiel de risque pour la santé humaine. On présente ici une étude de cas où l'on compare le PD_{Bioactivité} au PD_{Classique} tiré d'études *in vivo* recueillies pour des substances chimiques antérieurement évaluées en vertu de la LCPE. La comparaison se limite aux études animales où la voie d'exposition était la voie orale. Bien que d'autres sources de données *in vivo* puissent exister, les données utilisées pour définir le PD_{Classique} dans cette étude de cas se restreignent à celles d'études existantes, examinées par les évaluateurs scientifiques de Santé Canada au moment de l'évaluation des risques. Les ratios B/E sont ensuite calculés pour montrer l'utilité de la méthode dans la priorisation basée sur le risque et guider les activités d'évaluation futures.

4. Méthodes

4.1 Sélection des substances

Au total, 46 substances existantes précédemment évaluées en vertu de la LCPE ont été choisies pour illustrer l'utilisation de la méthode et son utilité. Le nom chimique et le numéro de registre du Chemical Abstracts Service (No CAS) de ces substances sont indiqués à l'Annexe A (Tableau A-1). La sélection des substances chimiques a été basée sur la disponibilité des données nécessaires à la mise en œuvre de la méthode. En effet, des données sur la bioactivité *in vitro* de la substance chimique devaient être disponibles dans la base de données ToxCast, des données sur les essais de TCHR étaient nécessaires pour l'EIVIV, et des évaluations des risques antérieures en vertu de la LCPE où les PD classiques (ou des données de toxicité recueillies dans le cadre d'activités d'évaluation en cours dans le cadre de la troisième phase du PGPC) ont été examinés. La source de données qui limitait le nombre de substances chimiques analysées était la disponibilité des essais de TCHR nécessaires à la réalisation des EIVIV à l'aide des estimations de la DEA. Seules 29 substances chimiques ont été recensées comme répondant aux critères ci-dessus, c'est-à-dire dont les données étaient disponibles dans le progiciel TCHR (version 1.8) (Pearce et coll. 2017) et dans R (R Core Team 2013). Afin d'augmenter le nombre de substances chimiques utilisées pour illustrer la méthode, un sous-traitant externe a été chargé de générer des données de TCHR *in vitro* pour 17 autres substances chimiques qui seront ensuite utilisées dans le logiciel R du progiciel TCHR (voir l'Annexe 1 pour plus de détails).

4.2 PD_{Classique} tirés des évaluations

Les rapports d'évaluation des risques pour les 46 substances chimiques ont été examinés et des données sur le PD_{Classique} ont été extraites d'études sur des doses répétées par voie orale (de durées diverses) ainsi que d'études de toxicité pour le développement et la reproduction citées dans les évaluations. Le type d'étude, la durée, l'espèce, la souche, la méthode d'exposition (gavage, régime alimentaire ou eau potable) et l'identification de la source (référence) ont été tirés des évaluations et indexés selon le numéro de registre CAS et le nom de la substance chimique. Dans la mesure du possible, pour les PD_{Classique} recueillis, la dose sans effet (nocif) observé (DES[N]O) et la dose minimale avec effet (nocif) observé (DME(N)O) ont été enregistrées pour chaque étude. En outre, pour les études de toxicité sur le développement ou la reproduction, les PD_{Classique} ont été séparés en fonction des résultats obtenus chez les descendants ou les parents des animaux. Lorsqu'il était existant dans l'évaluation, un court passage de texte descriptif a été extrait afin de décrire les effets observés à la DME(N)O (par exemple, effets sur les organes cibles, résultats histopathologiques, paramètres de biochimie clinique ou autres résultats généraux [tels que les variations de poids corporel]). Les effets ont été classés par grand sous-type. Les résultats des études de toxicité sur le développement ont été classés de manière générale sous la rubrique « développement » si un effet était observé chez la progéniture à la suite d'une exposition prénatale ou postnatale. Cela inclut les effets particuliers tels que des malformations structurelles, mais cette étiquette inclut également des effets généraux tels que les réductions ou les gains de poids. Les effets ont été classés comme « reproductifs » si les organes reproducteurs étaient la cible dans les études à doses répétées ou si les paramètres de fertilité des études de toxicité sur la reproduction variaient. Les autres effets des études de toxicité ont été généralement qualifiés de « systémiques ». Ce terme a été appliqué aux substances chimiques qui avaient des effets sur plusieurs sites/paramètres ou un seul organe, autres que le point de contact. Les valeurs du PD_{Classique} qui étaient exprimées en parties par million dans le régime alimentaire ou l'eau potable ou en mg/kg dans le régime alimentaire ont été converties en mg/kg p.c./jour à l'aide des facteurs de conversion décrits dans la publication de Santé Canada (1994).

Deux types de valeurs PD_{Classique} ont été utilisés pour faire des comparaisons avec le PD_{Bioactivité} obtenu. Plus précisément, le PD_{Classique} le plus faible (minimal) de toutes les études de toxicité examinées et le PD_{Classique} utilisé comme base de la caractérisation des risques sont tirés d'évaluations publiées précédemment en vertu de la LCPE. Le PD_{Classique} utilisé pour la caractérisation des risques est sélectionné selon des considérations relatives à l'exposition, telles que la durée et la voie d'exposition ou la sous-population d'intérêt, généralement lors du calcul de la ME pour évaluer les risques. Enfin, pour une analyse plus fine, les valeurs du PD_{Classique} associées à des effets largement classés comme étant liés au développement ou à la reproduction ont été comparées à celles du PD_{Bioactivité}.

4.3 Calcul du PD_{Bioactivité} *in vitro*

Les méthodes de calcul du DEA et du PD_{Bioactivité} qui en découle sont semblables aux méthodes décrites dans Paul Friedman et coll. (2019). Un processus générique a été élaboré, dont les grandes étapes sont les suivantes :

- 1) Extraire les données de bioactivité de la base de données ToxCast pour chaque substance chimique d'intérêt.
- 2) Appliquer des critères de filtrage génériques pour éliminer les valeurs de CA₅₀ des données ToxCast ayant subi un ajustement de la courbe et dont l'information quantitative peut être moins pertinente.
- 3) Calculer le 5^e centile à partir de la distribution des valeurs de CA₅₀ des paramètres d'essai avec activité pour obtenir un seuil de bioactivité *in vitro* inférieur par substance chimique.
- 4) Utiliser la modélisation de TCHR pour estimer une DEA correspondant au seuil de bioactivité *in vitro* pour obtenir le PD_{Bioactivité}.

Chaque étape du processus est résumée plus en détail ci-dessous.

ÉTAPE 1 : Extraction de la bioactivité *in vitro* de la base de données ToxCast

La bioactivité *in vitro* des substances examinées dans le cadre de cette méthode a été tirée de la base de données MySQL ToxCast (invitrodb_v3) (US EPA 2015) accessible au public, et extraite à l'aide du progiciel ToxCast Data Analysis Pipeline (tcpl) (version 2.0) (Filer et coll. 2017) dans R (version 3.5.3) (R Core Team 2013). La base de données ToxCast et les méthodes utilisées pour l'ajustement des courbes, la détermination de l'activité (hit-call) à l'aide des paramètres d'essai et la quantification de l'incertitude respective pour ces méthodes sont décrites en détail ailleurs (Filer et coll. 2017; Watt et Judson 2018). L'Annexe 2 fournit plus de détails sur la manière dont cette étape a été réalisée.

ÉTAPE 2 : Appliquer les critères génériques de filtrage des essais

Des critères de filtrage génériques pour les essais avec activité (c'est-à-dire les essais jugés ayant une activité induite par une substance chimique donnée) ont été choisis et justifiés en détail dans Paul Friedman et coll. (2019). L'objectif est d'éliminer les résultats avec activité moins reproductibles ou moins fiables et les valeurs de CA₅₀ respectives à des fins quantitatives dans le cadre du calcul du PD_{Bioactivité}. Quant aux essais qui sont éliminés pendant le processus de filtrage, il est probable que leur concentration modélisée CA₅₀ ait une moins grande valeur informative en raison des artefacts du processus d'ajustement automatique des courbes du progiciel tcpl. La première partie du processus de filtrage supprime les essais associés à trois indicateurs de mise en garde ou plus et un pourcentage de réussite (c'est-à-dire la proportion en % sur 1 000 cycles d'ajustement de courbe avec méthode bootstrap classée comme associés à une activité) de moins de 50 % (les deux conditions devant être remplies

pour que le filtrage s'applique). Il a été établi que les essais avec trois indicateurs de mise en garde ou plus sont plus susceptibles d'avoir une reproductibilité inférieure de l'ajustement de la courbe, ce qu'indique le pourcentage de réussite. Ainsi, la première étape de filtrage supprime les ajustements et les essais avec activité les moins reproductibles. La deuxième étape du processus de filtrage consiste à supprimer les catégories 36 et 45 d'ajustement de la courbe du logiciel tcpl. La catégorie d'ajustement 36 correspond aux ajustements du modèle de Hill où le sommet du modèle (sommet de l'ajustement de la courbe) est inférieur ou égal à 1,2 fois le seuil de réponse positive et une valeur de CA_{50} inférieure ou égale à la limite inférieure de la gamme de concentrations obtenue. En d'autres termes, la réponse maximale ajustée (ou l'efficacité) n'est que légèrement supérieure au seuil lorsqu'un essai est considéré comme ayant une activité et lorsque la valeur de CA_{50} a été estimée comme étant inférieure à la plus faible concentration obtenue. De même, la catégorie d'ajustement 45 indique les mêmes critères mais pour un ajustement du modèle gain-perte. Ces catégories d'ajustement sont considérées comme moins informatives quantitativement car l'efficacité est limitée et la valeur estimée de la CA_{50} se situe dans une gamme de concentrations où il n'y a pas de données réelles qui permettent le calcul de la pente de la courbe. Aucun filtrage basé sur la cytotoxicité des données de ToxCast n'a été effectué. Pour les 46 substances chimiques de l'étude de cas du PGPC, le pourcentage de paramètres des essais avec activité après filtrage et le nombre total d'essais disponibles sont représentés à la Figure 4-1.

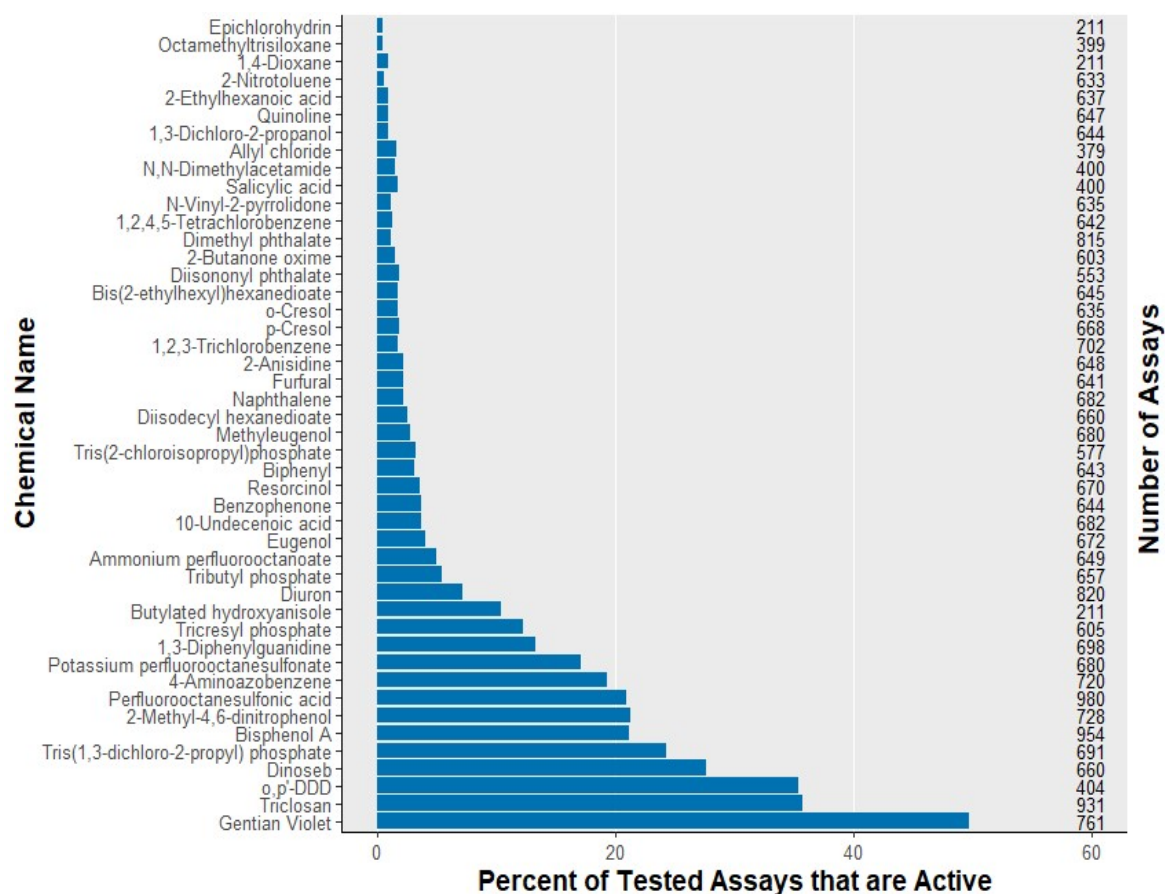


Figure 4 1 : Essais ToxCast disponibles pour chaque substance chimique. Le pourcentage d'essais avec activité (post-filtrage) est représenté par des barres bleues et le nombre d'essais effectués sur chaque substance chimique est indiqué à l'extrême droite sur l'axe du graphique.

ÉTAPE 3 : Calculer le 5^e centile à l'aide de la distribution des valeurs de CA_{50} provenant de essais avec activité pour représenter le seuil de bioactivité *in vitro*

Le 5^e centile de la distribution des valeurs de CA_{50} de l'étape précédente a été sélectionné pour représenter le seuil de bioactivité *in vitro* dans le calcul de la DEA et pour représenter le $PD_{Bioactivité}$. Le 5^e centile des valeurs de CA_{50} a été choisi plutôt que la valeur minimale CA_{50} afin de limiter l'influence des valeurs de CA_{50} extrêmes potentielles qui auraient pu résulter des limitations inhérentes au processus d'ajustement généralisé de la courbe appliqué dans le logiciel R du tcpl. En choisissant le 5^e centile, on tente de trouver un équilibre entre le désir de sélectionner un seuil de bioactivité prudent basé sur l'ensemble de la distribution des valeurs de CA_{50} et celui de ne pas se fonder uniquement sur des valeurs aberrantes potentiellement non représentatives des extrêmes (c'est-à-dire le minimum). L'estimation du 5^e centile des

valeurs de CA_{50} a été calculée en utilisant R (R Core Team 2013). Par défaut, R utilise l'algorithme de type 7 pour l'estimation du quantile, qui est destiné aux échantillons continus (Hyndman et Fan, 1996). Comme il a été mentionné, la cytotoxicité n'a pas été prise en compte lors du filtrage des valeurs de CA_{50} dans les essais avec activité. Il est possible qu'une partie de la bioactivité observée dans la distribution des essais avec activité soit faussée par la cytotoxicité et le phénomène de « manifestation soudaine », où un grand nombre d'essais se mettent à présenter une activité à l'approche des concentrations induisant une cytotoxicité. Cependant, le 5^e centile est utilisé pour définir un seuil de bioactivité probablement inférieur au seuil de cytotoxicité pour la plupart des substances chimiques. Sur les 46 substances chimiques examinées dans l'étude de cas du PGPC, le 5^e centile est inférieur à la limite inférieure de la concentration induisant une cytotoxicité estimée par le tcpl pour 92 % des substances chimiques.

ÉTAPE 4 : Calculer la DEA correspondant au seuil de bioactivité *in vitro* qui représente le $PD_{\text{Bioactivité}}$

Le seuil de bioactivité *in vitro* n'est pas particulièrement utile à lui seul pour rechercher les substances préoccupantes car il ne fournit pas d'indication sur l'exposition humaine nécessaire à induire la variation de bioactivité observée. C'est pourquoi la bioactivité *in vitro* peut subir une extrapolation par EIVIV pour obtenir une DEA et ainsi pour fournir une mesure plus utile appelée ici le $PD_{\text{Bioactivité}}$.

La modélisation EIVIV a été réalisée à l'aide du progiciel TCHR (version 1.8) (Pearce et coll. 2017) dans R (R Core Team 2013). TCHR contient tous les paramètres de données tissulaires et physiologiques nécessaires pour réaliser une modélisation de toxicocinétique par voie orale ou intraveineuse chez l'humain. De plus, TCHR contient des données physico-chimiques et *in vitro* pour plus de 1 000 substances chimiques. Dans l'ensemble de données de TCHR déjà disponibles dans R, on disposait de certaines données pour 29 des 46 substances du PGPC sélectionnées pour l'analyse. Les données manquantes nécessaires pour les EIVIV ont été obtenues par des essais de pharmacocinétique *in vitro* effectués par Paraza Pharma Inc. (Montréal, QC) (détails en Annexe 1).

Le modèle à trois compartiments à l'état d'équilibre (« 3compartimentss ») de TCHR, modifié par des travaux de Wetmore et coll. (2012; 2015b) et Wetmore (2015a), a été utilisé pour la modélisation EIVIV des 46 substances avec exposition par voie orale. Les trois compartiments sont l'intestin, le foie et le reste de l'organisme. Ce modèle est simple et destiné à être appliqué à un large éventail de substances chimiques. Les paramètres utilisés dans le modèle des « 3 compartiments » sont la clairance hépatique, la fraction non liée aux protéines du plasma, le poids moléculaire et la prédiction à l'état d'équilibre.

Lorsqu'il est utilisé dans le TCHR, le modèle à 3 compartiments prédit une C_{eq} dans le plasma d'après une dose de 1 mg/kg/pc/jour. La C_{eq} est calculée à l'aide de l'équation :

$$C_{ss} = k_{dose} / \left(f_{up} Q_{gfr} + \frac{(Q_{liver} + Q_{gut}) f_{up} Cl_{metabolism}}{(Q_{liver} + Q_{gut}) + f_{up} Cl_{metabolism} / R_{blood2plasma}} \right)$$

Où k_{dose} est la dose constante (mg/kg pc/jour)

f_{nlpp} est la fraction de substance chimique non liée aux protéines du plasma

Q_{frg} est le taux de filtration glomérulaire

Q_{foie} est le débit sanguin vers le foie

$Q_{intestin}$ est le débit sanguin vers l'intestin

$Cl_{métabolisation}$ est la clairance hépatique du foie entier

$R_{sangsurplasma}$ est le rapport entre la concentration de la substance chimique dans le sang sur la concentration de cette substance dans le plasma

Une fois calculée, cette C_{eq} est utilisé pour estimer la DEA (mg/kg pc/jour). À l'état d'équilibre, la concentration plasmatique augmente de façon linéaire avec la dose. Ainsi, la DEA pour une concentration donnée associée à une bioactivité *in vitro* (dans ce cas, le 5^e centile des valeurs de CA_{50} de ToxCast obtenues à l'étape 3) peut être extrapolée à l'aide de la formule :

$$AED = bioactivity\ concentration\ (\mu M) \times \frac{1 \frac{mg}{kg}}{\frac{day}{C_{ss} (\mu M)}}$$

Les paramètres *in vitro* requis pour le modèle à 3 compartiments dans TCHR sont la clairance hépatique intrinsèque (Cl_{int}), qui est mise à l'échelle pour donner une valeur approximative de la $Cl_{métabolisation}$, et la F_{nlpp} . L'intégration des données de l'essai de perméabilité dans les cellules Caco-2, qui mesure la fraction du composé absorbée par l'intestin (F_{absint}), peut également améliorer la détermination de la concentration à l'état d'équilibre pour une petite fraction de substances chimiques (Wetmore et coll. 2012). Cependant, TCHR suppose que l'absorption a été complète lorsque les données de F_{absint} ne sont pas disponibles (détails à l'Annexe 1).

Le modèle utilise un simulateur de Monte Carlo, connu sous le nom de générateur de population virtuelle pour TCHR (TCHR-Pop) (Ring et coll. 2017), pour tenir compte de la variation interindividuelle dans la population humaine. Les mesures physiologiques utilisées par TCHR-Pop sont issues des données de la National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) (Johnson et coll. 2014). Différentes données démographiques et différents sous-groupes peuvent être utilisés dans l'échantillonneur en modifiant les paramètres que sont le sexe, l'âge limite, le poids corporel, la fonction rénale et l'ethnicité. Dans le modèle, il est également possible d'utiliser par défaut l'ensemble de la population américaine. La simulation de Monte Carlo fait varier plusieurs paramètres, notamment : le volume du foie, la densité cellulaire, le débit sanguin, le poids corporel, le Q_{frg} et le Cl_{int} . Un coefficient de variation de 30 % est utilisé par défaut pour chaque paramètre. La fonction donne une C_{eq} au 95^e centile pour 1 000 individus. Les paramètres par défaut de TCHR-Pop ont servi à prédire une C_{eq}

pour chacune des 46 substances avant l'EIVIV. Ainsi, le $PD_{\text{Bioactivité}}$ est la DEA calculée en fonction du 5^e centile de la CA_{50} divisé par le 95^e centile de la C_{eq} . Selon la formule ci-dessus, une C_{eq} plus élevée au 95^e centile donne une estimation de dose plus faible (c'est-à-dire que le 95^e centile reflète les individus les plus susceptibles de nécessiter une dose plus faible pour obtenir la même C_{eq}), et donc, l'obtention d'une DEA basée sur le 95^e centile de la C_{eq} est prudent.

4.4 Calcul du ratio B/E

Le ratio B/E est obtenu en comparant un $PD_{\text{Bioactivité}}$ à une estimation de l'exposition et cette valeur peut être utilisée pour déterminer si une substance doit faire l'objet d'une action prioritaire. Cela peut inclure la collecte de données, des essais ciblés, un autre champ d'utilisation ou une évaluation supplémentaire. Des méthodes utilisant le ratio B/E ont fait l'objet d'autres publications, dans lesquelles on a comparé un $PD_{\text{Bioactivité}}$ à une valeur d'exposition comme décrit ci-dessus (Gannon et coll. 2019; Paul Friedman et coll. 2019).

Les rapports d'évaluation préalable (REP) pour les 46 substances chimiques ont été examinés et des estimations de l'exposition ont été extraites pour tous les scénarios d'exposition, y compris toutes les voies d'exposition. Dans certains cas, les estimations de l'exposition incluses dans la détermination du B/E ont été modifiées par rapport aux valeurs présentées dans les scénarios d'exposition ou dans le calcul de la ME réalisé dans les REP. Par exemple, dans certains REP, les ME étaient fondées sur la comparaison des concentrations dans l'air sur les concentrations minimales avec effets nocifs observés. Dans ces cas, les estimations d'exposition initiales (en tant que concentrations dans l'air) ont été converties en doses en mg/kg pc/jour en fonction de la durée d'exposition d'événements précis. Dans d'autres cas, il se peut que l'on ait calculé la moyenne des valeurs d'exposition utilisées dans le calcul des ME des REP sur une certaine période pour mieux correspondre à la durée d'exposition du $PD_{\text{Classique}}$ (par exemple, on a converti la moyenne de l'exposition à un produit à usage intermittent (1/semaine) pour obtenir une fréquence « par jour »); les estimations d'exposition « par événement » sans moyennes ont été utilisées dans le calcul du ratio B/E. À la suite du recours à ces méthodes, certaines valeurs d'exposition calculées ici et utilisées dans cette analyse sont supérieures aux valeurs utilisées dans les REP originaux.

Les estimations d'exposition ont été classées séparément selon : 1) l'absorption quotidienne dans les milieux naturels (dont l'air, l'eau, le sol et la nourriture), 2) l'exposition résultant de l'utilisation quotidienne ou intermittente de produits utilisés par les consommateurs (par exemple, les cosmétiques, la peinture, les produits de bricolage, les textiles), et 3) les estimations d'exposition basées sur des données de biosurveillance. Voici des exemples de facteurs clés enregistrés dans des feuilles de calcul indexées selon le numéro de registre du CAS et le nom de la substance chimique : voie d'exposition, durée d'exposition, sous-population et facteur d'absorption cutanée. Dans le cas des produits mis à la disposition des consommateurs, des estimations d'exposition distinctes ont été générées pour les produits considérés

comme entraînant une exposition intermittente (par exemple, une estimation de l'exposition à des produits utilisés peu fréquemment tels que la peinture murale) et ceux entraînant une exposition quotidienne ou de longue durée (par exemple, un hydratant pour la peau). Dans les cas où l'inhalation a été relevée comme une voie d'exposition principale, les concentrations atmosphériques (mg/m^3) ont été converties en doses ($\text{mg}/\text{kg pc}/\text{jour}$) en fonction de la durée de l'exposition et du poids corporel de certaines sous-populations, selon le cas. Dans le cas des composés perfluorés, les données de biosurveillance ont été converties en $\mu\text{g}/\text{mL}$ dans le plasma et le sérum. Par conséquent, la même dosimétrie inverse utilisée pour convertir la CA_{50} en DEA, basée sur la C_{eq} dans le plasma, a été appliquée à la concentration plasmatique la plus élevée enregistrée dans les données de biosurveillance afin de faciliter les comparaisons en unités de $\text{mg}/\text{kg pc}/\text{jour}$.

Pour chaque substance, la valeur d'exposition maximale ($\text{mg}/\text{kg pc}/\text{jour}$) pour chaque type d'estimation de l'exposition (c'est-à-dire les milieux naturels, les produits à la disposition des consommateurs utilisés par intermittence (de courte durée), les produits à la disposition des consommateurs utilisés quotidiennement (à long terme) et les données de biosurveillance) a été déterminée. Cette exposition maximale a été comparée au $\text{PD}_{\text{Bioactivité}}$ afin de calculer un ratio B/E pour chaque substance.

On disposait d'estimations quantitatives de l'exposition pour 41 des 46 substances. Pour cinq de ces 46 substances, seule une description qualitative de l'exposition humaine était disponible dans le REP. Pour ces évaluations, une approche qualitative a été utilisée pour décrire l'exposition. Une approche qualitative pour l'évaluation de l'exposition a été utilisée pour diverses raisons, notamment en cas d'exposition négligeable ou lorsqu'il a été déterminé qu'une substance présentait un faible potentiel de danger. Le fait d'obtenir une estimation quantitative de l'exposition à ces substances n'aurait pas eu d'incidence significative sur l'évaluation préalable réalisée en vertu de la LCPE. Par conséquent, en utilisant le $\text{PD}_{\text{Bioactivité}}$ et les estimations de l'exposition tirées des rapports d'évaluation du PGPC, des ratio B/E ont pu être calculés pour 41 substances. Il n'a pas été possible d'établir un B/E pour les cinq autres substances précédemment évaluées dans le cadre du PGPC.

5. Résultats

5.1 Comparaison du $\text{PD}_{\text{Bioactivité}}$ au $\text{PD}_{\text{Classique}}$

Deux comparaisons ont été faites entre le $\text{PD}_{\text{Bioactivité}}$ et le $\text{PD}_{\text{Classique}}$ (Figure 5-1). La première comparaison utilise le $\text{PD}_{\text{Classique}}$ minimum extrait des rapports d'évaluation, et la seconde comparaison utilise le $\text{PD}_{\text{Classique}}$ repris de la caractérisation des risques. Sur une échelle logarithmique, la mesure décrivant la comparaison entre les deux types de PD est le rapport du $\log_{10}\text{PD}$, qui est la différence entre le \log_{10} du $\text{PD}_{\text{Classique}}$ et le \log_{10} du $\text{PD}_{\text{Bioactivité}}$. Le rapport entre les PD peut également être calculé sur une échelle arithmétique en divisant le $\text{PD}_{\text{Classique}}$ par le $\text{PD}_{\text{Bioactivité}}$.

Pour la première comparaison utilisant le $PD_{\text{Classique}}$ minimal, le $PD_{\text{Bioactivité}}$ était inférieur au $PD_{\text{Classique}}$ minimal (c'est-à-dire le plus faible DSE(N)O ou DME(N)O) examiné lors de l'évaluation des risques pour ~93 % des 46 substances chimiques étudiées dans la présente étude de cas [c'est-à-dire un rapport du $\log_{10}PD > 0$], et la valeur médiane du rapport du $\log_{10}PD$ était de 2,24 (fourchette de -0,73 à 6,43). Cette valeur médiane se traduit par un $PD_{\text{Bioactivité}} \sim 100$ fois inférieur au $PD_{\text{Classique}}$ sur une échelle arithmétique (toutes les valeurs sont indiquées à l'Annexe A). Trois substances chimiques ont des valeurs minimales de $PD_{\text{Classique}}$ inférieures au $PD_{\text{Bioactivité}}$ (p-crésol, bisphénol A et chlorure d'allyle). Ces substances chimiques sont examinées en détail à l'Annexe 3.

Une façon d'évaluer davantage le degré de prudence offert par le $PD_{\text{Bioactivité}}$ est d'effectuer une deuxième comparaison, qui utilise les valeurs traditionnelles du PD reprises de la caractérisation des risques dans les évaluations des risques de la LCPE. Le PD utilisé pour la détermination de la ME au moment où l'évaluation des risques a été réalisée n'est pas toujours le PD le plus bas de toutes les études animales recueillies et dépend à la fois de la qualité et de l'étendue de l'ensemble de données sur les dangers ainsi que des données disponibles concernant les sources, les utilisations, la manipulation et l'élimination de la ou des substances. En conséquence, le $PD_{\text{Classique}}$ a été choisi lorsque sa qualité et sa pertinence sont suffisantes pour éclairer la caractérisation des risques pour la voie et le ou les scénarios d'exposition cruciaux à la détermination de la conformité d'une substance aux critères définis dans l'article 64 de la LCPE 1999. En outre, au cours de la caractérisation des risques, différents PD peuvent être utilisés pour calculer la ME associée à différentes sous-populations et pour divers scénarios d'exposition possibles. Les PD utilisés pour la caractérisation des risques ont été relevés pour 38 substances chimiques de l'étude de cas. Pour les 8 autres substances, la caractérisation des risques a été qualitative sans détermination d'un $PD_{\text{Traditionnel}}$ clé pour le calcul de la ME. Pour ces substances chimiques, le $PD_{\text{Bioactivité}}$ était inférieur au $PD_{\text{Classique}}$ le plus faible utilisé pour la caractérisation des risques pour toutes les substances chimiques sauf une (chlorure d'allyle), et la valeur médiane du rapport du $\log_{10}PD$ était de 2,32 (fourchette de 0,47 à 7,3). Sur une échelle arithmétique, la valeur de la médiane se traduit par un $PD_{\text{Bioactivité}}$ 209 fois plus faible que le $PD_{\text{Classique}}$ utilisé pour la caractérisation des risques.

Enfin, une comparaison a été faite en examinant plus particulièrement les PD qui pourraient être associés à des effets classés globalement comme ayant une incidence sur le développement ou la reproduction. Il y avait 31 substances chimiques dont la DME(N)O était associée à un effet sur le développement (c'est-à-dire que la description des effets de la DME(N)O était largement jugée liée au développement). Sur ces 31 substances chimiques, 22 avaient également une DSE(N)O (Annexe B; Figure B-1). Pour ces substances chimiques, le $PD_{\text{Bioactivité}}$ était inférieur au $PD_{\text{Classique}}$ le plus faible avec effet sur le développement pour toutes les substances chimiques sauf une (le bisphénol A), et la valeur médiane du rapport du $\log_{10}PD$ était de 3,025 (fourchette de -0,73 à 8,08). Une analyse similaire a été menée pour les effets sur la reproduction. On disposait d'un PD considéré comme associé à un effet sur la reproduction pour 21 substances chimiques (Annexe B; Figure B-2) et le $PD_{\text{Bioactivité}}$ était inférieur au

PD_{Classique} le plus faible avec effet sur la reproduction pour 20 des substances, et la valeur médiane du rapport du log₁₀PD était de 3,57 (fourchette de -0,73 à 7,76). Le rapport du log₁₀PD du bisphénol A était inférieur à zéro pour les deux sous-types d'effets, car il présentait un PD_{Classique} considéré comme lié à la fois au développement et à la reproduction et, bien que plus faible, ces études à faible dose se situaient dans la fourchette du PD_{Bioactivité} obtenu (voir l'Annexe 3).

Ces résultats sont semblables à ceux observés dans l'analyse d'envergure menée sur 448 substances dans le cadre de l'initiative des études de cas de l'APCRA. Sur ces 448 substances, 90 % avaient un PD_{Bioactivité} inférieur à la valeur du PD_{Classique} et un rapport du log₁₀PD médian de 2. La fourchette des rapports de log₁₀PD trouvés était de -2,7 à 7,5. Cependant, une fois les substances chimiques organophosphorés et les carbamates exclus de l'analyse, seules 24 substances chimiques présentaient un rapport du log₁₀PD inférieur à zéro et aucun n'était inférieur à -2 (c'est-à-dire que le PD_{Bioactivité} était 100 fois plus élevé que le PD_{Classique} pour ce qui est des valeurs extrêmes de l'analyse).

Prises ensemble, ces études de cas montrent qu'un PD basé sur la bioactivité peut servir d'estimation de la limite inférieure des concentrations avec effet après une exposition par voie orale tirées d'études sur les animaux et qu'il constituerait à ce titre un substitut protecteur lorsqu'il est repris dans la méthode permettant de calculer le ratio B/E (Paul Friedman et coll. 2019). Des mesures peuvent être prises pour tenir compte des substances dont le PD_{Bioactivité} n'est pas inférieur, comme l'exclusion de certaines classes de substances chimiques dans leur ensemble (c'est-à-dire les organophosphates ou les carbamates), l'examen de données relatives au contrôle de la qualité et des propriétés physico-chimiques, ou la prise en compte de certains facteurs d'incertitude (FI) lors du recours à cette méthode (voir les sections 6 et 7 ci-dessous).



Figure 5 1. Comparaison du $PD_{\text{Bioactivité}}$ tiré de ToxCast avec le $PD_{\text{Classique}}$ provenant d'études sur les animaux. Le $PD_{\text{Bioactivité}}$ représente le 5^e centile des valeurs de CA_{50} tirées des essais ToxCast avec un résultat positif converti en DEA par dosimétrie inverse et les données de toxicocinétique à haut rendement du logiciel R du progiciel TCHR. Le $PD_{\text{Classique}}$ représente la DSE(N)O et la DME(N)O minimales déterminées dans les évaluations de risques précédentes.

5.2 Ratios B/E calculés avec le PD_{Bioactivité} et les valeurs d'exposition

Le ratio B/E de 41 substances (soit celles parmi les 46 pour lesquelles des estimations quantitatives de l'exposition étaient disponibles) a été déterminé en comparant le PD_{Bioactivité} et les valeurs d'exposition maximales pour chaque source. Sur une échelle logarithmique, la mesure de la comparaison entre les deux valeurs est le $\log_{10}B/E$, qui représente la différence entre la valeur du $\log_{10}PD_{Bioactivité}$ et la valeur du \log_{10} de l'exposition (c'est-à-dire, $\log_{10}(B/E) = \log_{10}(PD_{Bioactivité}) - \log_{10}(Exposition)$ et $B/E = PD_{Bioactivité}/Exposition$).

Pour les 41 substances, le $\log_{10}B/E$ s'est avéré inférieur à 0 pour 17 substances, et inférieur à 2 pour 31 substances (Figure 5-2). Dans ces deux cas, le B/E peut indiquer qu'une évaluation plus poussée est nécessaire pour ces substances, car il existe un risque potentiel. Dans certains cas, les faibles $\log_{10}B/E$ (par exemple, < 2) étaient principalement dus à des valeurs d'exposition élevées (par exemple, le bis(2-éthylhexyl)hexanedioate (ou DEHA)), tandis que dans d'autres cas, un faible $\log_{10}B/E$ était attribuable à un très faible PD_{Bioactivité} (par exemple, le 1,4-dioxane). Ce résultat est important car il souligne à la fois l'importance d'une méthode fondée sur le risque et l'uniformité des éléments pris en considération et des facteurs par rapport à ceux de l'évaluation classique des risques. Sept des huit substances pour lesquelles on dispose de données sur l'exposition, et qui avaient été initialement considérées comme un risque potentiel pour la santé humaine en vertu de l'article 64(c) de la LCPE, ont été associées à un $\log_{10}B/E$ inférieur à 2. La quinoléine, dont on a également conclu qu'elle répondait au critère 64(c) de la LCPE, avait un $\log_{10}B/E$ très élevé, étant donné une valeur d'exposition très faible et un PD_{Bioactivité} élevé. Dans le cas de la quinoléine, la conclusion en vertu de l'article 64(c) était motivée par le potentiel génotoxique et non la caractérisation quantitative des risques.

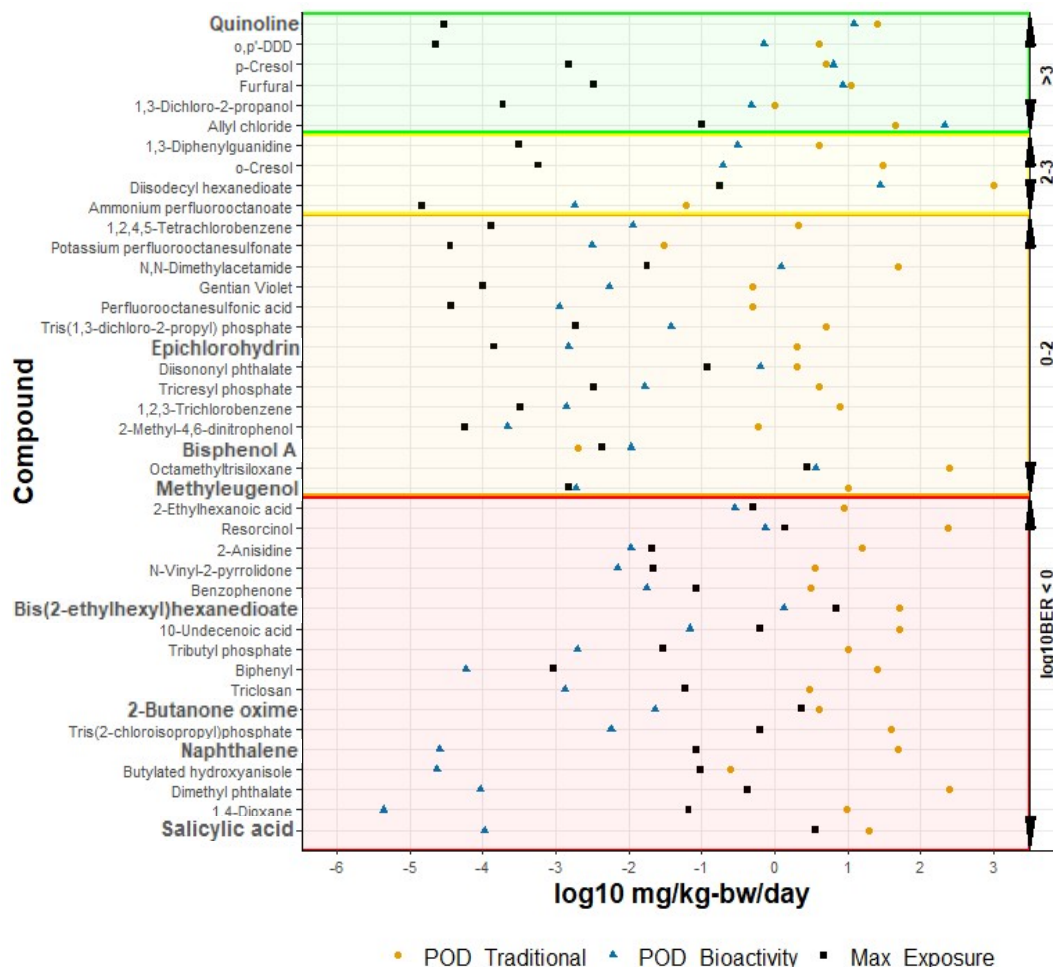


Figure 5 2. Comparaison de la $PD_{\text{Bioactivité}}$ tirée de ToxCast, de la $PD_{\text{Classique}}$ et des valeurs d'exposition maximales. Les substances chimiques sont classées par ordre décroissant du $\log_{10} B/E$ dans quatre catégories : $\log_{10} B/E < 0$ ($PD_{\text{Bioactivité}} < \text{exposition}$), $\log_{10} B/E 0-2$, $\log_{10} B/E 2-3$, et $\log_{10} B/E > 3$. Les substances chimiques évaluées comme toxiques au sens de l'article 64 de la LCPE 1999 sont en gras. Le 2-nitrotoluène est une autre substance toxique mais n'apparaît pas dans la figure en raison du manque de données sur l'exposition.

Il convient de noter que plusieurs (17/41) des scénarios d'exposition pour les substances ayant un faible $\log_{10} B/E$ sont considérés comme des scénarios intermittents ou de courte durée (et non comme des expositions quotidiennes). Pour les besoins de cette méthode, des B/E fondés sur des expositions intermittentes ont encore été obtenus. Cependant, ces substances utilisées de façon intermittente peuvent ne pas atteindre un état d'équilibre dans le plasma comme on le suppose dans la prévision des valeurs de $PD_{\text{Bioactivité}}$. Des adaptations aux modèles de TCHR et des modifications du processus (comme l'utilisation de la concentration maximale dans le plasma)

(Wambaugh et coll. 2018) peuvent être utilisées dans les applications futures pour le traitement des cas où l'exposition est intermittente.

6. Facteurs d'incertitude (FI) à prendre en compte pour déterminer la pertinence du B/E

La méthode du B/E sert principalement en tant qu'outil de sélection fondé sur le risque pour soutenir les activités de priorisation et d'évaluation rapide des risques. À ce titre, diverses décisions relatives au mode de calcul du $PD_{\text{Bioactivité}}$ ont intégré des considérations prudentes (par exemple, la sélection du 5^e centile des valeurs de CA_{50} des essais et le recours à une C_{eq} au 95^e centile d'une population pour l'EIVIV). Néanmoins, il existe plusieurs zones d'incertitude inhérentes à la méthode que nous décrirons de façon qualitative. Des facteurs d'incertitude par défaut sont proposés, qui peuvent faciliter la détermination de ce que peut être un B/E cible adéquat lors de l'utilisation du $PD_{\text{Bioactivité}}$ à des fins de priorisation et d'évaluation préliminaire des risques. Nous proposons ici des facteurs qui peuvent être largement utilisés pour la composante « danger » du ratio B/E, selon les enseignements tirés de cette analyse et de celle menée dans le cadre de l'APCRA. Les incertitudes peuvent être divisées en trois grandes catégories associées au calcul du $PD_{\text{Bioactivité}}$, à l'utilisation d'essais cellulaires et à la variabilité interindividuelle (c'est-à-dire la variabilité chez l'humain). Nous notons également que la définition de la pertinence d'un B/E dépendra également du cas et doit également tenir compte de l'incertitude associée aux estimations d'exposition utilisées pour faire des comparaisons avec le $PD_{\text{Bioactivité}}$.

6.1 Calcul du $PD_{\text{Bioactivité}}$ ($FI_{\text{Bioactivité}}$)

Actuellement, l'ensemble des essais de ToxCast comprend près de 1 400 paramètres (Richard et coll. 2016), mais il n'est pas certain que ces tests couvrent l'espace toxicologique lorsque l'on quantifie avec précision la puissance de tous les effets possibles (c'est-à-dire que l'espace biologique est incomplet). Dans le futur, l'expansion prévue du programme ToxCast par l'incorporation d'essais supplémentaires (par exemple, de toxicogénomique) permettra de réduire davantage l'incertitude associée à l'espace toxicologique. Pour les utilisations actuelles, il est recommandé d'utiliser des critères d'exclusion pour les substances chimiques situées hors du domaine d'utilisation des paramètres de l'essai et des facteurs d'incertitude.

Une source d'incertitude pour l'estimation des PD à l'aide des données de bioactivité *in vitro* concerne la confiance dans les essais. Des facteurs non identifiés, tels que la variabilité entre laboratoires, peuvent avoir une incidence sur l'exactitude et la précision des estimations de CA_{50} par les essais individuels. Cela peut à son tour avoir un impact sur la concentration associée à la bioactivité et les calculs ultérieurs de DEA. Pour ces raisons, bien que des incertitudes similaires existent pour les données classiques, une approche basée sur les centiles a été choisie pour tenir compte des mesures inexacts

obtenues dans les des essais individuels, qui peuvent entraîner une sous-estimation du seuil de bioactivité.

Les modèles biologiques associés aux essais *in vitro* comportent des limites, car ils sont complexes du point de vue biologique. Cela ajoute à l'incertitude de l'interprétation des résultats d'un essai. Plus précisément, il existe des incertitudes quant à l'établissement d'un lien clair entre les événements clés indiqués par les essais *in vitro* et les effets nocifs. Toutefois, à mesure que la base de données sur les voies menant à des effets nocifs (Ankley et coll. 2010; Villeneuve et coll. 2014) s'étoffera, les associations entre les événements clés et les effets nocifs seront plus claires. Cela permettra de connaître plus précisément les essais et les perturbations sont les plus susceptibles d'entraîner des effets nocifs. En outre, l'intégration d'essais fournissant une grande quantité de données, dont la transcriptomique, pourrait permettre de cartographier les voies biologiques perturbées par les composés à l'étude. Toutefois, il est important de noter que la fonction des essais à haut rendement, telle que décrite dans cette méthode, doit être utilisée comme un outil de sélection plutôt que de prédiction d'un danger précis (Thomas et coll. 2013), et à cet égard, les essais sont utiles pour appuyer la priorisation des substances chimiques.

La comparaison directe des PD *in vitro* avec ceux prédits *in vivo* est ici difficile car les mesures *in vitro* ont été effectuées avec des cellules humaines, alors que les études *in vivo* ont été réalisées à l'aide de rongeurs. Les différences entre les espèces en toxicodynamique et en toxicocinétique aggraveront la variabilité entre les PD. Ainsi, les écarts entre les études *in vitro* et *in vivo* peuvent être dus à une prévision *in vitro* inexacte, à l'incertitude associée à l'EIVIV et à l'incertitude dans le modèle *in vivo* (animal). La reproduction des résultats à l'aide des modèles de nouvelles méthodologies applicables aux rongeurs pourrait expliquer en partie les différences entre les résultats *in vitro* et *in vivo*, car la concordance qualitative et quantitative serait plus élevée entre les résultats *in vivo* et les nouvelles méthodologies utilisant des rongeurs. Toutefois, le recours continu à des modèles de cellules humaines pourrait être plus pertinent pour les évaluations de la santé humaine et constitue une utilisation plus appropriée des ressources.

La dosimétrie inverse utilisée pour estimer les DEA est une autre source d'incertitude dans l'utilisation de la bioactivité comme PD protecteur (Wambaugh et coll. 2019). Plus précisément, la méthode EIVIV, le modèle TCHR et les mesures d'essai choisies peuvent avoir une incidence sur la valeur de la C_{eq} utilisée pour calculer la DEA. Il existe une incertitude quant au choix d'un modèle à l'état d'équilibre pour réaliser l'EIVIV. Un modèle à l'état d'équilibre tend à être plus précis pour les produits pharmaceutiques, qui ont généralement un schéma posologique régulier et sont conçus pour être facilement absorbés par voie orale. L'incertitude est plus grande pour divers composés industriels et environnementaux à l'exposition sporadique qui ne seront peut-être pas facilement absorbés. Cependant, des résultats antérieurs ont montré que cette méthode est suffisamment robuste pour l'espace chimique visé (Wambaugh et coll. 2015; 2018) et que l'utilisation systématique d'un modèle à l'état d'équilibre pour toutes

les classes peut être considérée comme une approche prudente. Il est reconnu que la stratégie simplifiée de l'EIVIV à haut rendement a ses limites (Wetmore 2015a). Par exemple, le modèle ne tient pas compte de facteurs tels que la réabsorption rénale active et la recirculation entéro-hépatique. Toutefois, les comparaisons avec les résultats *in vivo* montrent que les paramètres manquants ne devraient avoir des effets que sur une petite fraction des composés examinés.

La capacité prédictive des modèles de TCHR peut être touchée par des propriétés chimiques uniques hors de l'espace chimique examiné dans les travaux précédents. Cela est particulièrement vrai pour plusieurs classes de composés environnementaux et industriels. L'EIVIV peut ne pas convenir à certaines substances examinées, telles que celles qui subissent une bioaccumulation ou qui n'atteignent pas l'état d'équilibre (Wambaugh et coll. 2015) ou celles dont les principales voies d'exposition sont la voie cutanée ou l'inhalation. Pour d'autres substances, il se peut que les paramètres utilisés dans le modèle d'EIVIV ne soient pas les plus précis. Par exemple, deux types de clairance hépatique peuvent être utilisés dans le calcul de la C_{eq} : restrictive (dépendant de la F_{nlpp}) et non restrictive (indépendante de la F_{nlpp}). Étant donné qu'il est impossible de prédire quel type de clairance s'applique à une substance donnée (Yoon et coll. 2014), la clairance restrictive a été choisie car cette hypothèse donne de bons résultats dans les modèles de TCHR (Honda et coll. 2019) et elle est prudente. La même incertitude s'applique aux autres paramètres utilisés dans les modèles. Une comparaison entre les valeurs de C_{eq} prédites *in vitro* et *in vivo* dans la littérature a montré que des méthodes et des hypothèses semblables à celles appliquées ici sont appropriées pour plus de 85 % des substances chimiques examinées, dans la mesure où la valeur de la C_{eq} prédite est située à l'intérieur de 10x la C_{eq} *in vivo* (Wambaugh et coll. 2015; 2018). La mise en œuvre d'améliorations futures permettra d'optimiser la capacité prédictive d'une EIVIV rapide et de réduire l'incertitude de ces modèles.

Si l'espace toxicologique limité de ToxCast et les méthodes utilisées pour l'EIVIV étaient un facteur important qui ferait en sorte que le $PD_{Bioactivité}$ serait une estimation moins prudente du $PD_{Classique}$, on s'attendrait à ce qu'une proportion beaucoup plus élevée de substances chimiques reflète cela dans les études de cas présentées. De fait, aucune des 46 substances chimiques analysées dans le cadre du PGPC ne présentait un $PD_{Bioactivité}$ dix fois supérieur au $PD_{Classique}$. Dans le pire des cas, le $PD_{Bioactivité}$ était 5,4 fois plus élevé que le $PD_{Classique}$. C'est pourquoi il est proposé d'utiliser un facteur d'incertitude inférieur à 10 (c'est-à-dire 3), ce qui ramène le $PD_{Bioactivité}$ à une dose égale ou inférieure à celle du $PD_{Classique}$ pour presque toutes les substances chimiques examinées.

6.2 Contraintes relatives aux cellules ($FI_{Cellules}$)

Les essais sur cellules permettent une évaluation efficace et biologiquement pertinente des mécanismes de la toxicité chimique (NASEM 2015). Cependant, les essais sur cellules ont également des limites qui augmentent l'incertitude associée au calcul du $PD_{Bioactivité}$. En particulier, il existe une incertitude concernant la biotransformation des

composés parents en métabolites *in vivo* qui n'est pas prise en compte dans les essais *in vitro*. Les essais *in vitro* manquent souvent de compétence métabolique pour les xénobiotiques, ce qui peut conduire à des faux positifs, si la substance chimique est détoxifiée *in vivo*, ou à des faux négatifs, si le métabolite est bioactif (DeGroot et coll. 2018). Il s'agit d'une difficulté de ToxCast, qui peine à évaluer l'inhibition de l'acétylcholinestérase des organophosphates et des composés apparentés (Aylward et Hays 2011). L'incertitude entourant la métabolisation pourrait diminuer à mesure que ToxCast, dans son développement, intègre des méthodes visant à tenir compte de la métabolisation.

D'autres incertitudes existent quant aux conditions dans lesquelles les cellules sont mises en culture. Par exemple, il est prouvé que les antibiotiques utilisés dans la culture cellulaire pour prévenir la contamination peuvent modifier l'activité biologique des cellules (Ryu et coll. 2017). Un autre élément à prendre en considération est que les lignées cellulaires ayant subi un grand nombre de passages (c'est-à-dire le nombre de fois que les cellules ont été repiquées) peuvent voir leur morphologie, leur taux de croissance et leur réponse aux stimuli se modifier par rapport aux cellules ayant subi un nombre plus faible de passages (ATCC 2010, Kwist et coll. 2016). Enfin, les essais qui ont recours à une seule lignée cellulaire (monoculture), ne peuvent pas reproduire les interactions cellulaires au sein des systèmes biologiques. Les nouvelles méthodes axées sur l'utilisation de co-cultures, c'est-à-dire constituées de différents types de cellules (modèles de tissus organotypiques), ou de technologies du type « organe sur puce », peuvent contribuer à mieux reproduire les conditions physiologiques chez l'humain.

Une partie des essais cellulaires de ToxCast a recours à des cellules cancéreuses humaines immortalisées (US EPA 2019b), telles que HeLa (cellules cancéreuses du col de l'utérus humain), BG1 (cancer de l'ovaire) et HepG2 (cancer du foie). Ces lignées cellulaires contiennent des altérations génétiques qui les rendent aptes à l'évaluation de l'activité biologique en culture. Or, ces altérations ajoutent une dimension d'incertitude quant à la pertinence de la mesure de la bioactivité de ces lignées cellulaires pour évaluer la physiologie et la santé humaines. Comme ces lignées cellulaires proviennent d'une seule tumeur, elles ne parviennent pas à rendre compte de la variabilité interindividuelle chez l'humain (dont il est davantage question dans la section 6.3 sous le terme d'incertitude propre à la variabilité humaine, FI_{Humain}).

Compte tenu du fait que les tests sur cellules ne constituent qu'un élément du programme ToxCast, qui est plus étendu, et qu'il y a des redondances dans l'évaluation des paramètres, un facteur d'incertitude de 3 est proposé pour tenir compte de l'incertitude associée aux cellules. Un facteur de 3, au lieu de 10, est également proposé pour tenir compte du fait que certaines des incertitudes liées à l'utilisation des essais sur cellules sont déjà prises en compte dans les $FI_{\text{Bioactivité}}$ et les FI_{Humain} .

6.3 Variabilité interindividuelle (chez l'humain) (FI_{Humain})

Généralement, dans l'évaluation des risques, que le $PD_{\text{Classique}}$ soit basé sur des données animales ou humaines, un facteur d'incertitude par défaut de 10 est appliqué pour tenir compte de la variabilité interindividuelle (chez l'humain). Ce facteur tient compte des différences générales entre humains liées à la physiologie et à la métabolisation, qui peuvent mener à des sous-populations sensibles en raison de variations d'âge, de sexe et de susceptibilité génétique, entre autres considérations. On considère généralement que ce facteur englobe les différences de toxicodynamique et de toxicocinétique d'une population.

ToxCast utilise principalement des lignées cellulaires (voir section 6.2) ou des cibles (récepteurs) humaines. Cependant, il se peut que ces types d'essais ne tiennent pas compte toute la variabilité d'une population, ce qui peut se traduire par une incertitude en toxicodynamique. En outre, il existe une incertitude concernant la variabilité interindividuelle lorsqu'on recourt à une approche de toxicocinétique. Plus précisément, il a été démontré, en utilisant le simulateur de populations, que le taux de clairance intrinsèque diminue avec l'âge et que les populations âgées de 65 ans et plus présentent des DEA plus faibles (Ring et coll. 2017). En revanche, les groupes d'âge plus jeunes (19 ans ou moins) ont des taux de clairance plus élevés, ce qui est interprété comme un risque plus faible dans la détermination des DEA. Cela est pris en compte dans une certaine mesure dans cette méthode, car la méthode EIVIV appliquée ici utilise une simulation Monte Carlo pour modéliser les effets sur la population lors du calcul de la DEA et fait varier le volume du foie, la densité cellulaire, le débit sanguin, le poids corporel, la filtration glomérulaire et la clairance intrinsèque. Le calcul donne une C_{eq} au 95^e centile de 1 000 individus, qui, est déjà une approximation qui tient compte d'une population « sensible » qui peut avoir des vitesses de clairance métabolique et rénale plus faibles. Par défaut, les paramètres de modélisation représentent la population américaine, il y a donc une certaine incertitude sur la façon dont cela peut être appliqué à la population canadienne, mais on s'attend à ce que ce soit une approximation raisonnable.

Pour cette méthode, le facteur d'incertitude standard de 10 sera utilisé pour tenir compte de la variabilité interindividuelle chez l'humain. Il s'agit d'une approche probablement prudente car la partie toxicocinétique de ce facteur a déjà été prise en compte, au moins partiellement, dans le modèle TCHR utilisé.

6.4 Résumé des facteurs d'incertitude relatifs aux dangers

Des études de cas, telles que celle présentée dans le présent DAS et menées dans le cadre de l'APCRA, comparant les PD *in vitro* et *in vivo* ont permis de démontrer que la méthodologie actuelle permet de prédire de manière adéquate une estimation de la limite inférieure des concentrations avec effet basée les effets nocifs *in vivo* utilisés dans les évaluations de risques dans la grande majorité des cas. Dans l'étude de cas de l'APCRA, après exclusion des organophosphates et des carbamates, seules quatre

substances chimiques se sont avérées avoir un $PD_{\text{Bioactivité}}$ 10 fois supérieur au $PD_{\text{Classique}}$ (c'est-à-dire que 99 % des substances chimiques avaient un rapport du $\log_{10}PD$ supérieur à -1). Le rapport du $\log_{10}PD$ médian dans l'étude de cas de l'APCRA était de 2, ce qui signifie que le $PD_{\text{Bioactivité}}$ est généralement 100 fois plus faible que le $PD_{\text{Classique}}$. Grâce à la combinaison des facteurs d'incertitude des trois catégories, un facteur total arrondi à 100 (Tableau 6-1) peut être pris en compte lors de l'utilisation du $PD_{\text{Bioactivité}}$ pour calculer le ratio B/E à des fins de priorisation et d'évaluation préalable (voir la section 7). Ce facteur combiné est considéré comme prudent et devrait permettre de tenir compte des lacunes potentielles de l'espace biologique couvert par les essais de ToxCast ainsi que des incertitudes associées au recours d'essais sur cellules et des méthodes d'EIVIV.

Tableau 6-1. Facteurs d'incertitude proposés liés au $PD_{\text{Bioactivité}}$ pour faciliter la détermination de la pertinence du ratio B/E.

Type	Facteur	Justification
Obtention du $PD_{\text{Bioactivité}}$ ($FI_{\text{Bioactivité}}$)	3	Espace biologique incomplet couvert par les essais de ToxCast. Incertitudes associées au modèle à trois compartiments pour estimer la C_{eq} à l'aide de paramètres de toxicocinétique <i>in vitro</i> .
Monocultures immortalisées et conditions de culture (FI_{Cellules})	3	Examine les effets du recours à des monocultures et des lignées cellulaires immortalisées, ainsi que les conditions de culture, sur les mesures des effets. Limites associées à un seul type de cellule comme substitut des effets systémiques ainsi que compétence métabolique limitée.
Variabilité interindividuelle (chez l'humain) (FI_{Humain})	10	Variabilité interindividuelle liée à la toxicodynamique et à la toxicocinétique. Il convient de noter que cela est probablement prudent car la partie toxicocinétique normale de ce facteur est déjà au moins partiellement prise en compte dans le modèle TCHR.
TOTAL	~100	

6.5 Estimations de l'exposition

Les estimations de l'exposition sont fondées sur les données disponibles au moment de chaque rapport d'évaluation préalable. Des données actualisées peuvent être disponibles sur ces substances; toutefois, aux fins de la présente analyse, il a été jugé approprié de comparer les données qui ont servi de base aux premières conclusions de l'évaluation des risques menée avec les valeurs obtenues par cette méthode.

Il se peut que les substances qui présentent des risques propres à une voie d'exposition ne puissent pas être relevées par cette méthode (c'est-à-dire des effets locaux associés à la voie d'entrée plutôt que des effets systémiques). En outre, la caractérisation de l'exposition par inhalation sous forme de dose (mg/kg pc/jour) peut également empêcher le recensement de problèmes de risque associés à une exposition maximale (par exemple, des concentrations atmosphériques maximales entraînant un effet sur la santé). Par conséquent, l'incertitude des estimations de l'exposition doit être considérée au cas par cas.

7. Recours à la méthode dans le cadre du PGPC

Sur la base des facteurs d'incertitude décrits ci-dessus, plusieurs recommandations peuvent être formulées concernant le recours à cette méthode pour soutenir la priorisation et les évaluations préalables fondées sur les risques. La méthode du ratio B/E peut être utilisée et les substances peuvent être « mises en réserve » avant d'être examinées dans le cadre de l'établissement des priorités en matière d'évaluation des risques (IPER), dans la formulation des problèmes ou dans d'autres activités liées aux essais et aux évaluations, en particulier lorsqu'il y a un manque de données *in vivo* disponibles sur lesquelles fonder les décisions (Figure 5-2; Tableau 7-1). Pour autant que l'estimation de l'exposition soit suffisamment fiable, les $\log_{10}B/E$ des substances toxiques connues analysées dans le présent DAS laissent croire qu'un B/E inférieur à 100 ($\log_{10}B/E < 2$) indiquerait que la substance chimique est de priorité plus élevée en ce qui concerne les mesures à prendre. Pour ces substances chimiques, le B/E peut ne pas être suffisant pour tenir compte des incertitudes inhérentes à la méthode. Aux fins de l'établissement des priorités, les valeurs du B/E qui se rapprochent du facteur d'incertitude total (c'est-à-dire un B/E compris entre 100 et 1 000 ou un $\log_{10}B/E$ entre 2 et 3) seraient considérées comme marginales et seraient alors examinées de plus près en vue d'une décision concernant les mesures à prendre. Lorsque le rapport de la bioactivité sur l'exposition est élevé, de sorte que le B/E est supérieur ou égal à 1 000 ($\log_{10}B/E > 3$), les substances ne seraient pas considérées comme une priorité sur la base du B/E. Toutefois, la priorisation et l'évaluation des risques tiennent généralement compte des multiples sources de données disponibles sur le danger et l'exposition aux substances chimiques. Ainsi, il peut y avoir d'autres indicateurs de danger et d'exposition qui pourraient entraîner une mesure ou une décision à recommander autre que celle qu'indique de façon indépendante le ratio B/E, en particulier si des données de phases supérieures sont disponibles (par exemple des études *in vivo*).

Tableau 7-1. Seuils proposés pour le ratio B/E en vue de la priorisation et l'évaluation

B/E ¹	Utilisation	Justification
<1	Élément déclencheur d'un examen plus approfondi	L'exposition est plus élevée que le $PD_{\text{Bioactivité}}$, ce qui semble indiquer un problème potentiel. La substance

		serait considérée comme une priorité pour une action ultérieure.
1-100	Élément déclencheur d'un examen plus approfondi	Le B/E peut ne pas être adéquat pour tenir compte des incertitudes inhérentes à la méthode utilisée pour obtenir le PD _{Bioactivité} et pour prendre en compte la variabilité interindividuelle. Il peut y avoir un problème potentiel; un examen plus approfondi est nécessaire.
100-1 000	Examen au cas par cas pour l'établissement des priorités	Le ratio B/E s'approche d'un seuil qui pourrait ne pas tenir compte des incertitudes inhérentes à la méthode utilisée pour obtenir le PD _{Bioactivité} et la variabilité interindividuelle. Ces substances doivent être examinées au cas par cas pour un établissement de leur ordre de priorité, en même temps que toute donnée complémentaire (c'est-à-dire les éléments des estimations de l'exposition).
>1 000	Non considéré comme une priorité à l'heure actuelle Pour certaines évaluations préalables des risques, en l'absence de données <i>in vivo</i> ou lorsque les autres indicateurs de danger potentiel sont peu nombreux, un ratio B/E supérieur à 1 000 peut être utilisé comme une donnée probante étayant une décision de non-toxicité en vertu de l'article 64(c) de la LCPE.	Le rapport entre la bioactivité et l'exposition est élevé et la substance n'est pas considérée comme une priorité pour une action ultérieure, sauf s'il existe d'autres indicateurs de danger ou d'exposition pertinents pour étayer une décision de priorisation ou d'évaluation

¹ ratio B/E basé sur le PD_{Bioactivité} à condition qu'il y ait une confiance suffisante dans la prévision de l'exposition

L'utilisation des facteurs d'incertitude indiqués au Tableau 6-1 pour guider la catégorisation du Tableau 7-1 permettrait de dégager un total de 35 composés sur 41, pour lesquelles on dispose de données quantitatives sur l'exposition, et qui feront l'objet d'un examen plus approfondi en priorité. La forte proportion de composés prioritaires n'est pas surprenante, étant donné que ces composés avaient été précédemment relevés comme étant prioritaires pour une évaluation.

On prévoit que la méthode de l'obtention du ratio B/E évoluera pour intégrer des sources supplémentaires de données fournies par les nouvelles méthodologies. À mesure que les essais *in vitro* et à haut rendement évoluent, pour le calcul des B/E, ces technologies et les données qu'ils fournissent pourront être accessibles pour poursuivre le perfectionnement de la méthode. Par exemple, la sélection à haut débit à l'aide de données de transcriptomique peut servir à appuyer le calcul du ratio B/E dans le cadre d'un programme d'essais échelonnés (Thomas et coll. 2013 ; Mezencev et Subramaniam 2019).

À mesure que l'expérience du recours au ratio B/E s'accroît, les données pourraient servir à appuyer l'évaluation des risques dans le cadre actuel de Santé Canada. Il est prévu que des outils de sélection complémentaires, tels que les relations quantitatives structure-activité (QSAR) *in silico* et le seuil de préoccupation toxicologique (SPT), serviront à répertorier les substances génotoxiques et d'autres classes de substances chimiques qui ne se prêtent pas à la méthode du ratio B/E décrite ici.

7.1 Considérations sur l'exclusion de substances

Il se peut que la méthode décrite dans le présent DAS soit moins applicable à certaines classes de substances ou à certains scénarios d'exposition. Par conséquent, la décision d'exclure une substance d'un recours futur se fera au cas par cas, au fur et à mesure de l'utilisation de la méthode. Les considérations connues pour justifier une exclusion sont décrites ci-dessous. Toutefois, comme l'intention de cette méthode est de continuer à adapter les méthodes à mesure que l'on acquiert une plus grande expérience des classes de substances ou que de nouveaux modèles d'EIVIV sont mis au point, ces considérations continueront à évoluer.

Substances chimiques volatiles

Les composés volatils de faible poids moléculaire pourraient ne pas être bien classés par la batterie actuelle d'essais de ToxCast. Cette limite est bien connue pour les méthodes d'essai *in vitro* et a été relevée lors de l'examen du chlorure d'allyle. Il est probable que ces types de substances chimiques nécessitent des essais, des conditions ou une gestion différents ce qui existe généralement dans ToxCast pour observer la bioactivité en fonction des propriétés physico-chimiques.

En outre, ces types de substances chimiques peuvent présenter des expositions maximales de courte durée ou intermittentes élevées, où la principale voie d'exposition est l'inhalation. Il serait préférable d'utiliser un modèle d'EIVIV généralisé plus adapté à ces types de composés et d'exposition pour convertir la bioactivité pertinente observée en une dose équivalente pour l'homme. Enfin, le PD_{Bioactivité} a été comparé uniquement au PD_{Classique} provenant d'études de toxicité menées par voie orale, tant dans l'étude de cas de l'APCRA que dans les travaux présentés ici. La détermination de la capacité du PD_{Bioactivité} à fournir une estimation de la limite inférieure des concentrations avec effet

observé dans les études par inhalation sur les animaux nécessiterait une analyse plus approfondie.

On envisagera donc d'exclure les substances chimiques volatiles de faible poids moléculaire lorsqu'on mettra en œuvre la méthode actuellement décrite.

Organophosphates et Carbamates

Comme mentionné précédemment, le présent DAS s'appuie sur les travaux menés dans le cadre d'une collaboration internationale au titre de l'initiative APCRA (Paul Friedman et coll. 2019). L'étude de cas de l'APCRA a examiné spécifiquement si certaines classes chimiques avaient plus souvent leur $PD_{\text{Bioactivité}}$ respectif plus élevé que le $PD_{\text{Classique}}$ tiré d'études sur les animaux. Pour ce faire, les 448 substances chimiques ont été associées à leurs caractéristiques structurales (c'est-à-dire leurs chimiotypes) en utilisant un ensemble de caractéristiques structurales publiquement disponibles connu sous le nom de ToxPrint, développé par Altamira (Altamira, Columbus, OH USA) et Molecular Networks (Molecular Networks, Erlangen, GmbH) en vertu d'un contrat avec la Food and Drug Administration américaine (Yang et coll., 2015). Des méthodes statistiques (rapport de cotes (RC) avec le test de probabilité exacte de Fisher) ont ensuite été utilisées pour déterminer si une caractéristique structurale donnée était significativement associée à des substances chimiques dont le $PD_{\text{Bioactivité}}$ était supérieur au $PD_{\text{Classique}}$ (c'est-à-dire $\log_{10}PD < 0$). Certaines caractéristiques structurales liées aux organophosphates et aux carbamates avaient un $RC \geq 3$ et une valeur $p \leq 0,05$. En outre, 24 des 48 substances de l'étude de cas de l'APCRA ayant un rapport du $\log_{10}PD < 0$ ont été considérées comme des organophosphates ou des carbamates, et 21 d'entre elles étaient associées à une description indiquant clairement qu'elles sont des pesticides. Enfin, seules 3 des 48 substances présentaient un rapport du $\log_{10}PD$ inférieur à -2, toutes étant des insecticides organophosphorés (Paul Friedman et coll. 2019).

Trois composés organophosphorés (le phosphate de tributyle, le phosphate de tricrésyle et le phosphate de tris(2-chloroisopropyle)) ont été examinés dans l'étude de cas du PGPC présentée dans le présent DAS. Pour ces trois composés, le $PD_{\text{Bioactivité}}$ était inférieur au $PD_{\text{Classique}}$ disponible. Comme il est indiqué dans l'étude de cas de l'APCRA, bien que ToxCast dispose de plusieurs essais permettant de mesurer l'inhibition de l'acétylcholinestérase (Padilla et coll. 2012; Sipes et coll. 2013), des travaux antérieurs ont décrit l'incapacité de ces essais à refléter avec précision l'activité d'inhibition de l'acétylcholinestérase (Aylward et Hays 2011). En outre, les métabolites organophosphorés peuvent être des inhibiteurs de l'acétylcholinestérase plus puissants, qui ne sont peut-être pas actuellement pris en compte dans les essais *in vitro* de ToxCast en raison des limites associées à la capacité métabolique. Enfin, il existe un large éventail d'autres cibles potentielles vulnérables aux organophosphates et aux carbamates (Casida et Quistad, 2004) qui peuvent ne pas être prises en compte par les essais ToxCast, ce qui entraîne une caractérisation inexacte des dangers.

Compte tenu de ces préoccupations, l'utilisation future de cette méthode dans le cadre du PGPC exclura les composés organophosphorés et les carbamates.

Étude de cas sur l'espace chimique

L'étude de cas de l'APCRA et l'examen des substances chimiques présentés dans le présent DAS indique si le $PD_{\text{Bioactivité}}$ est une limite inférieure de l'estimation des concentrations avec effet possibles mesurées *in vivo*. À l'avenir, pour chaque substance chimique pour laquelle on utilise cette méthode, une vérification sera effectuée afin de veiller à ce que les caractéristiques structurales (par exemple les chimiotypes) et les propriétés physicochimiques pertinentes se situent dans l'espace chimique de l'étude de cas existante. Un exemple d'une telle analyse de l'espace chimique peut être consulté dans le DAS de Santé Canada « Approche fondée sur le seuil de préoccupation toxicologique (SPT) pour certaines substances » (Santé Canada, 2016).

7.2 Besoins en matière de recherche

Les résultats présentés pour les substances chimiques sélectionnées dans le présent DAS démontrent l'utilité du recours au ratio B/E pour établir des priorités et pour évaluer des risques. Toutefois, pour une application plus large de la méthode, certaines lacunes importantes en matière de données devront être comblées et sont examinées ici en tant que besoins futurs en matière de recherche. Les principaux besoins en matière de recherche consistent à établir le champ d'application des modèles et bases de données TCHR et ToxCast existants.

Les modèles et la base de données TCHR ont une portée définie. Par exemple, les modèles sont principalement limités à l'absorption orale, mais des travaux sont en cours pour les étendre à d'autres voies d'exposition, telles que l'inhalation (Linakis et coll. 2020, accepté). Des recherches supplémentaires visant à étendre les voies d'exposition prises en compte par ces modèles augmenteront considérablement le champ d'application de la TCHR. Un autre élément à considérer est que la base de données TCHR elle-même comporte un enrichissement de certaines classes chimiques, telles que les pesticides. On ignore comment les substances chimiques hors de cet espace chimique se comporteront lorsqu'on utilisera les modèles de TCHR. La caractérisation de l'espace chimique couvert par le TCHR est considérée comme un besoin de recherche immédiat, car elle aidera les évaluateurs à relever les classes chimiques pour lesquelles le TCHR peut être utilisé. Pour l'espace chimique présentant des propriétés cinétiques uniques, il sera important de déterminer les ajustements de modèle nécessaires ou de trouver des modèles plus complexes et plus appropriés pour extrapoler la bioactivité *in vitro* à des doses équivalentes *in vivo*.

Actuellement, le principal élément de données limitant une plus grande utilisation de la méthode du ratio B/E est l'exigence selon laquelle la substance chimique étudiée doit être présente dans la base de données ToxCast. Pour une utilisation accrue, d'autres éléments appropriés de données seront nécessaires. Ainsi, des recherches permettant

de relever les principaux essais fournissant des données sur la bioactivité sont utiles. Une approche prometteuse est le recours à la transcriptomique. Des études de cas ont déjà montré que la transcriptomique est un outil puissant pour obtenir des ratios B/E prudents (Gannon et coll. 2019a; Harrill et coll. 2019). En l'absence de données ToxCast, les études de transcriptomique peuvent servir à fournir des données de grande capacité afin d'établir les ratios B/E pertinents activés par les substances chimiques évaluées. Ce type de données, seul ou en conjonction avec d'autres essais biologiques, sera utile comme autre source de données pour générer des ratios B/E prudents en vue d'une évaluation quantitative des risques.

La recherche sur les modèles *in silico* offre le plus grand potentiel d'expansion de l'applicabilité du processus menant à l'obtention du B/E. Plus précisément, les prévisions *in silico* peuvent servir à combler les lacunes dans les données sur les substances chimiques pour lesquelles on ne dispose pas de données TCHR, de données ToxCast ou les deux. Il existe de nombreux modèles *in silico* qui peuvent prédire les paramètres nécessaires au fonctionnement des modèles de TCHR. Par exemple, l'un des domaines de recherche actifs est la recherche de simulateurs appropriés de la métabolisation et de la clairance. L'évaluation de l'efficacité de ces modèles est une étape importante pour combler le manque de données à entrer dans le TCHR. Cependant, pour de nombreux composés, combler le manque de données ToxCast s'avère une entreprise plus complexe, mais les progrès des algorithmes d'apprentissage machine ou les adaptations des approches de lecture croisée peuvent être utiles pour établir le poids de la preuve lorsqu'ils sont combinés à d'autres éléments d'information. Enfin, l'exploration de nouveaux modèles d'exposition aidera à faire progresser le processus de la détermination du ratio B/E, car les données sur l'exposition constituent souvent une lacune limitant les données permettant d'obtenir le ratio B/E.

Une des limites de la méthode du ratio B/E dans sa forme actuelle est l'absence de paramètres qui tiennent compte de la génotoxicité de manière adéquate. C'est ce qu'a révélé le ratio B/E élevé de la quinoléine, un composé qui avait été précédemment recensé comme une substance toxique en raison de son potentiel génotoxique. Les recherches en cours à Santé Canada se concentrent sur la recherche d'essais et de paramètres qui indiquent une génotoxicité (c'est-à-dire les essais sur les mutagènes, les clastogènes et les aneugènes). Ces travaux serviront de base à une méthode et à un DAS complémentaires, qui quantifieront les ratios B/E associés à une génotoxicité.

Dans l'ensemble, le présent DAS démontre l'utilité des données sur la bioactivité *in vitro* dans la priorisation et l'évaluation quantitatives basées sur le risque. Les besoins de recherche décrits ici seront explorés et comblés de manière continue. La méthode fondée sur le ratio B/E doit être considérée comme dynamique, et elle continuera à évoluer à mesure que de nouvelles sources de données seront disponibles et que les besoins de recherche individuels seront satisfaits.

Références

Al'meev KS, Karmazin VE. 1969. Pathomorphological changes in the organs of animals under the impact of allyl alcohol and allyl chloride. Faktory Vnesh Sredy Ikh Snach Sdorov'ya Naseleniya 1:31-35. [cité dans OECD 1996]. *Disponible en anglais seulement*

Ankley GT, Bennett RS, Erickson RJ, Hoff DJ, Hornung MW, Johnson RD, Mount DR, Nichols JW, Russom CL, Schmieder PK, et coll. 2010. Adverse outcome pathways: a conceptual framework to support ecotoxicology research and risk assessment. Environ Toxicol and Chem 730-741 *Disponible en anglais seulement*

ANSES. 2014. Annex XV Restriction Report: Proposal for a Restriction: 4.4'-isopropylidenediphenol (bisphenol A; BPA). France. *Disponible en anglais seulement*

[ATCC] American Type Culture Collection. 2010. Passage number effects in cell lines. ATCC Tech Bulletin No. 7. *Disponible en anglais seulement*

[ATSDR] Agency for Toxic Substances and Disease Registry. 2008. [Toxicological Profile for Cresols](#). Atlanta (GA): U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service. *Disponible en anglais seulement*

Aylward LL, Hays SM. 2011. Consideration of dosimetry in evaluation of ToxCast™ data. J Appl Toxicol 31:741-751 *Disponible en anglais seulement*

Becker RA, Ankley GT, Edwards SW, Kennedy SW, Linkov I, Meek B, Sachana M, Segner H, Van Der Burg B, Villeneuve DL, et coll. 2015. Increasing scientific confidence in adverse outcome pathways: application of tailored Bradford-Hill considerations for evaluating weight of evidence. Regul Toxicol Pharmacol 72:514-537. *Disponible en anglais seulement*

[BRRC] Bushy Run Research Centre/Hazleton Laboratories. 1988. Project Report 51-508, Developmental toxicity evaluation of o-, m-, or p-cresol administered by gavage to New Zealand White rabbits, June, 1988 (at the request of CMA) EPA/OTS0517695 [cité dans OECD 2005]. *Disponible en anglais seulement*

[BRRC] Bushy Run Research Center/Hazleton Laboratories. 1989. Final Project Report 52-512, Two-generation reproduction study of p-cresol (CAS No. 106-44-5) administered by gavage to Sprague-Dawley (CD) rats. NTIS Report No. OTS0529224 [cité dans CIR Expert Panel 2006]. *Disponible en anglais seulement*

Blackwell BR, Ankley GT, Corsi SR, DeCicco LA, Houck KA, Judson RS, Li S, Martin MT, Murphy E, Schroeder AL, et coll. 2017. An “EAR” on environmental surveillance and monitoring: A case study on the use of exposure–activity ratios (EARs) to prioritize sites, chemicals, and bioactivities of concern in Great Lakes waters. Environ Sci Technol 51(15):8713-8724. *Disponible en anglais seulement*

Brown J, Watt ED, Setzer RW, Judson R, Paul-Friedman K. 2018. [Defining uncertainty in publically available high-throughput screening data from the ToxCast program](#). Presented at 57th Annual Meeting of the Society of Toxicology, San Antonio, Texas, March 11 - 15, 2018. *Disponible en anglais seulement*

Cagen SZ, Waechter JM, Jr., Dimond SS, Breslin WJ, Butala JH, Jekat FW, Joiner RL, Shiotsuka RN, Veenstra GE, Harris LR. 1999. Normal reproductive organ development in CF-1 mice following prenatal exposure to bisphenol A. *Toxicol Sci* 50(1):36-44. *Disponible en anglais seulement*

Carr R, Bertasi F, Betancourt A, Bowers S, Gandy BS, Ryan P, Willard S. 2003. Effect of neonatal rat bisphenol A exposure on performance in the Morris water maze. *J Toxicol Environ Health A* 66(21):2077-88. *Disponible en anglais seulement*

Casida JE, Quistad, GB. 2004. Organophosphate toxicology: safety aspects of nonacetylcholinesterase secondary targets. *Chem Res Toxicol* 17(8):983-998. *Disponible en anglais seulement*

Ceccarelli I, Della SD, Fiorenzani P, Farabollini F, Aloisi AM. 2007. Estrogenic chemicals at puberty change ER α in the hypothalamus of male and female rats. *Neurotoxicol Teratol* 29(1):108-115. *Disponible en anglais seulement*

[CIR Expert Panel] Cosmetic Ingredient Review Expert Panel. 2006. Cosmetic Ingredient Review. Final report on the safety assessment of Sodium-p-chloro-m-cresol, p-chloro-m-cresol, chlorothymol, mixed cresols, m-cresol, o-cresol, p-cresol, isopropyl cresols, thymol, o-cymen-5-ol, and carvacrol. *Int J Toxicol* 25 (Suppl 1):29-127. *Disponible en anglais seulement*

Comité scientifique sur le PGPC. 2017. Considérations relatives à l'intégration de nouvelles approches méthodologiques au Plan de gestion des produits chimiques : [Rapport du Comité de novembre 2016](#). Ottawa (Ont.) : Gouvernement du Canada.

Corsi SR, De Cicco LA, Villeneuve DL, Blackwell BR, Fay KA, Ankley GT, Baldwin AK. 2019. Prioritizing chemicals of ecological concern in Great Lakes tributaries using high-throughput screening data and adverse outcome pathways. *Sci Total Environ* 686:995-1009. *Disponible en anglais seulement*

Darwich AS, Neuhoff S, Jamei M, Rostami-Hodjegan A. 2010. Interplay of metabolism and transport in determining oral drug absorption and gut wall metabolism: a simulation assessment using the "Advanced Dissolution, Absorption, Metabolism (ADAM)" model. *Curr Drug Metab* 11:716-729. *Disponible en anglais seulement*

DeGroot DE, Swank A, Thomas RS, Strynar M, Lee M, Carmichael PL, Simmons SO. 2018. mRNA transfection retrofits cell-based assays with xenobiotic metabolism. *J.Pharmacol Toxicol Methods* 92:77-94 *Disponible en anglais seulement*

[ECCC, SC] Environnement et Changement climatique Canada, Santé Canada. 2016. [Évaluation préalable : Groupe de substances classifiées internationalement : Substances de crésol \(méthylphénol\)](#). Gouvernement du Canada.

[ECCC, SC] Environnement et Changement climatique Canada, Santé Canada. 2009. [Évaluation préalable pour le Défi concernant le 3-chloropropène](#). Numéro de registre du Chemical Abstracts Service 107-05-1. Ottawa (Ont.) : Gouvernement du Canada.

[ECCC, SC] Environnement et Changement climatique Canada, Santé Canada. 2008. [Évaluation préalable finale pour le Défi concernant le Phénol, 4,4' -\(1-méthyléthylidène\)bis \(Bisphénol-A\)](#). Numéro de registre du Chemical Abstracts Service 80-05-7. Ottawa (Ont.) : Gouvernement du Canada.

Ema M, Fujii S, Furukawa M, Kiguchi M, Ikka T, Harazono A. 2001. Rat two-generation reproductive toxicity study of bisphenol A. *Reprod Toxicol* 15(5):505-523. *Disponible en anglais seulement*

Environnement Canada, Santé Canada. 2014. [Approche d'identification des substances chimiques et des polymères jugés prioritaires pour l'évaluation des risques en vertu de la Partie 5 de la Loi canadienne sur la protection de l'environnement de 1999 \[LCPE \(1999\)\]](#). Ottawa (Ont.) : Gouvernement du Canada.

Farmahin R, Gannon AM, Gagné R, Rowan-Carroll A, Kuo B, Williams A, Curran I, Yauk CL. 2019. Hepatic transcriptional dose-response analysis of male and female Fischer rats exposed to hexabromocyclododecane. *Food Chem Toxicol* 133:1102623 *Disponible en anglais seulement*

Farmahin R, Williams A, Kuo B, Chepelev NL, Thomas RS, Barton-Maclaren TS, Curran IH, Nong A, Wade MG, Yauk CL. 2017. Recommended approaches in the application of toxicogenomics to derive points of departure for chemical risk assessment. *Arch Toxicol* 91:2045-2065. *Disponible en anglais seulement*

Filer DL, Kothiya P, Woodrow Setzer R, Judson RS, Martin MT. 2017. Tcpl: The ToxCast pipeline for high-throughput screening data. *Bioinformatics* 33:618-620. *Disponible en anglais seulement*

Funabashi T, Kawaguchi M, Furuta M, Fukushima A, Kimura F. 2004. Exposure to bisphenol A during gestation and lactation causes loss of sex difference in corticotropin-releasing hormone-immunoreactive neurons in the bed nucleus of the stria terminalis of rats. *Psychoneuroendocrinology* 29(4):475-485. *Disponible en anglais seulement*

Gannon AM, Moreau M, Farmahin R, Thomas RS, Barton-Maclaren TS, Nong A, Curran I, Yauk CL. 2019a. Hexabromocyclododecane (HBCD): A case study applying tiered testing for human health risk assessment. *Food Chem Tox In Press*: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.110581>. *Disponible en anglais seulement*

Gannon AM, Nunnikhoven A, Liston V, Rawn DFK, Pantazopoulos P, Fine JH, Caldwell D, Bondy G, Curran I. 2019b. Rat strain response differences upon exposure to technical or alpha hexabromocyclododecane. Food Chem Tox 130:284-307. *Disponible en anglais seulement*

Harrill J, Shah I, Setzer RW, Haggard D, Auerbach S, Judson R, Thomas RS. 2019. Considerations for strategic use of high-throughput transcriptomics chemical screening data in regulatory decisions. Curr Opin Toxicol 15:64-75. *Disponible en anglais seulement*

He F, Jacobs JM, Scaravilli F. 1981. The pathology of allyl chloride neurotoxicity in mice. Acta Neuropathol 55(2):125-133. [cité dans OECD1996]. *Disponible en anglais seulement*

Hirose M, Inoue T, Asamoto M, Tagawa Y, Ito N. 1986. Comparison of the effects of 13 phenolic compounds in induction of proliferative lesions of the forestomach and increase in the labeling indices of the glandular stomach and urinary bladder epithelium of Syrian golden hamsters. Carcinogenesis 7(8):1285-1289 [cité dans ATSDR 2008]. *Disponible en anglais seulement*

Honda GS, Pearce RG, Pham LL, Setzer RW, Wetmore BA, Sipes NS, Gilbert J, Franz B, Thomas RS, Wambaugh JF. 2019. Using the concordance of in vitro and in vivo data to evaluate extrapolation assumptions. PloS one 14(5):e0217564. *Disponible en anglais seulement*

Howdeshell KL, Furr J, Lambright CR, Wilson VS, Ryan BC, Gray LE, Jr. 2007. Gestational and lactational exposure to ethinyl estradiol, but not bisphenol A, decreases androgen-dependent reproductive organ weights and epididymal sperm abundance in the male long evans hooded rat. Tox Sci 102(2):371-382. *Disponible en anglais seulement*

Hyndman RJ, Fan Y. 1996. Sample Quantiles in Statistical Packages. Am Stat. 50:361-365. *Disponible en anglais seulement*

[IARC] IARC Working Group on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. 1985. Allyl compounds, aldehydes, epoxides and peroxides. IARC Monogr Eval Carcinog Risk Chem Hum 36:39-54. *Disponible en anglais seulement*

Ishido M, Yonemoto J, Morita M. 2007. Mesencephalic neurodegeneration in the orally administered bisphenol A-caused hyperactive rats. Toxicol Lett 173(1):66-72. *Disponible en anglais seulement*

[IPCS] International Programme on Chemical Safety. 2004. [IPCS Risk Assessment Terminology](#). Geneva (CH): World Health Organization. *Disponible en anglais seulement*

[JECFA] Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. 2011. [Safety evaluation of certain food additives and contaminants. WHO Food Additive Series 64](#). Prepared by the 73rd meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives [p. 207-253: Addendum to Phenol and phenol derivatives]. *Disponible en anglais seulement*

Johnson CL, Dohrmann SM, Burt VL, Mohadjer LK. 2014. National health and nutrition examination survey: sample design, 2011-2014. Vital Health Stat 2(162):1-33
Disponible en anglais seulement

Judson RS. 2019. [Package'tcpl' Version 2.0.2: Reference Manual](#). *Disponible en anglais seulement*

Judson RS, Kavlock RJ, Setzer RW, Cohen Hubal EA, Martin MT, Knudsen TB, Houck KA, Thomas RS, Wetmore BA, Dix DJ. 2011. Estimating toxicity-related biological pathway altering doses for high-throughput chemical risk assessment. Chem Res Toxicol 24(4):451-462. *Disponible en anglais seulement*

Kavlock R. 2016. Practitioner Insights: Bringing New Methods for Chemical Safety into the Regulatory Toolbox; It is Time to Get Serious. Bloomberg BNA Daily Environment Report (223 B-1). *Disponible en anglais seulement*

Kavlock RJ, Bahadori T, Barton-Maclaren TS, Gwinn MR, Rasenberg M, Thomas RS. 2018. Accelerating the pace of chemical risk assessment. Chem Res Toxicol 31(5):287-290. *Disponible en anglais seulement*

Kawai K, Murakami S, Senba E, Yamanaka T, Fujiwara Y, Arimura C, Nozaki T, Takii M, Kubo C. 2007. Changes in estrogen receptors alpha and beta expression in the brain of mice exposed prenatally to bisphenol A. Regul Toxicol Pharmacol 47(2):166-70.
Disponible en anglais seulement

Knudsen TB, Martin MT, Kavlock RJ, Judson RS, Dix DJ, Singh AV. 2009. Profiling the activity of environmental chemicals in prenatal developmental toxicity studies using the US EPA's BDToxRef. Reprod Toxicol 28:209-219 *Disponible en anglais seulement*

Kubo K, Arai O, Ogata R, Omura M, Hori T, Aou S. 2001. Exposure to bisphenol A during the fetal and suckling periods disrupts sexual differentiation of the locus coeruleus and of behavior in the rat. Neurosci Lett 304(1-2):73-6. *Disponible en anglais seulement*

Kwist K, Bridges WC, Burg KJ. 2016. The effect of cell passage number on osteogenic and adipogenic characteristics of D1 cells. Cytotechnology 68(4):1661-1667. *Disponible en anglais seulement*

Kwon S, Stedman DB, Elswick BA, Cattley RC, Welsch F. 2000. Pubertal development and reproductive functions of Crl:CD BR Sprague-Dawley rats exposed to bisphenol A

during prenatal and postnatal development. *Toxicol Sci* 55(2):399-406. *Disponible en anglais seulement*

Lee JY, Miller JA, Basu S, Kee TZ, Loo LH. 2018. Building predictive in vitro pulmonary toxicity assays using high-throughput imaging and artificial intelligence. *Arch Toxicol* 92(6):2055-2075. *Disponible en anglais seulement*

Lewis R, Billington R, Debryune E, Gamer A, Lang B, Carpanini F. 2002. Recognition of adverse and nonadverse effects in toxicity studies. *Tox Pathol* 30:66-74. *Disponible en anglais seulement*

Martin MT, Judson RS, Reif DM, Kavlock RJ, Dix DJ. 2009a. Profiling chemicals based on chronic toxicity results from the U.S. EPA ToxRef Database. *Environ Health Perspect* 117:392-399. *Disponible en anglais seulement*

Martin MT, Mendez E, Corum DG, Judson RS, Kavlock RJ, Rotroff DM, Dix DJ. 2009b. Profiling the reproductive toxicity of chemicals from multigeneration studies in the toxicity reference database. *Toxicol Sci* 110:181-190. *Disponible en anglais seulement*

Mezencev R, Subramaniam R. 2019. The use of evidence from high-throughput screening and transcriptomic data in human health risk assessments. *Toxicol Appl Pharmacol* 380:114706. *Disponible en anglais seulement*

Microbiological Associates (Microbiological Associates Inc., Mulligan LT). 1988. Subchronic toxicity of para-cresol in Sprague-Dawley rats, MBA Chemical No: 25, Study No. 5221.08, Final Report, Bethesda (MD) (at the request of Research Triangle Institute: Dennis Dietz), NTIS Report No. PB88-195292 [cité dans OECD 2005]. *Disponible en anglais seulement*

Moreau M, Nong A. Evaluating hexabromocyclododecane (HBCD) toxicokinetics in humans and rodents by physiologically based pharmacokinetic modeling. *Food Chem Tox In Press*: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.110785>. *Disponible en anglais seulement*

Morrissey RE, George JD, Price CJ, Tyl RW, Marr MC, Kimmel CA. 1987. The developmental toxicity of bisphenol A in rats and mice. *Fundam Appl Toxicol* 8(4):571-582. *Disponible en anglais seulement*

Nagao T, Saito Y, Usumi K, Yoshimura S, Ono H. 2002. Low-dose bisphenol A does not affect reproductive organs in estrogen-sensitive C57BL/6N mice exposed at the sexually mature, juvenile, or embryonic stage. *Reprod Toxicol* 16(2):123-30. *Disponible en anglais seulement*

Nagel SC, vom Saal FS, Thayer KA, Dhar MG, Boechler M, Welshons WV. 1997. Relative binding affinity-serum modified access (RBA-SMA) assay predicts the relative

in vivo bioactivity of the xenoestrogens bisphenol A and octylphenol. Environ Health Perspect 105(1):70-76. *Disponible en anglais seulement*

[NASEM] National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine. 2015. Application of modern toxicology approaches for predicting acute toxicity for chemical defense. National Academies Press. *Disponible en anglais seulement*

National Cancer Institute. 1978. Bioassay of allyl chloride for possible carcinogenicity. Bethesda (MD): US Department of Health, Education, and Welfare, Public Health Service, National Institutes of Health. Carcinogenesis Technical Report Series No. 73; DHEW Publication No. (NIH) 78-1323. [cité dans IARC 1985]. *Disponible en anglais seulement*

Negishi T, Kawasaki K, Suzaki S, Maeda H, Ishii Y, Kyuwa S, Kuroda Y, Yoshikawa Y. 2004. Behavioral alterations in response to fear-provoking stimuli and tranylcypromine induced by perinatal exposure to bisphenol A and nonylphenol in male rats. Environ Health Perspect 112(11):1159-1164. *Disponible en anglais seulement*

[NTP] National Toxicology Program. 2018. NTP Research Report on National Toxicology Program Approach to Genomic Dose-Response Modeling. *Disponible en anglais seulement*

[NTP] National Toxicology Program. 1992. NTP report on the toxicity studies of cresols (CAS Nos. 95-48-7, 108-39-4, 106-44-5) in F344/N rats and B6C3F1 mice (feed studies). Research Triangle Park (NC): National Toxicology Program. NIH Publication No. 92-3128. NTP Tox 9. [Cité dans ATSDR 2008] *Disponible en anglais seulement*

[OCDE] Organisation de coopération et de développement économiques. 2008. [Ligne directrice de l'OCDE pour les essais de produits chimiques n° 407 : Étude de toxicité orale à dose répétée pendant 28 jours chez les rongeurs.](#)

[OECD] Organisation for Economic Co-operation and Development. 2005. [M/P-CRESOL CATEGORY. m/p-Cresol \(CAS No: 15831-10-4\); m-Cresol \(CAS No: 108-39-4\); p-Cresol \(CAS No: 106-44-5\)](#) SIDS Initial Assessment Report for SIAM 16, Paris, 27. *Disponible en anglais seulement*

[OECD] Organisation for Economic Co-operation and Development. 1996. SIDS Initial Assessment Report for 4th SIAM (Tokyo, 20–22 May 1996). [Chloropropene, CAS No. 107-05-1.](#) UNEP Publications. Including accompanying SIDS (IUCLID) dataset, dated February 17, 2003. *Disponible en anglais seulement*

Padilla S, Corum D, Padnos B, Hunter DL, Beam A, Houck KA, Sipes N, Kleinstreuer N, Knudsen T, Dix DJ., et coll. 2012. Zebrafish developmental screening of the ToxCast Phase I chemical library. Reprod Toxicol 33(2):174-87. *Disponible en anglais seulement*

Palanza PL, Howdeshell KL, Parmigiani S, vom Saal FS. 2002. Exposure to a low dose of bisphenol A during fetal life or in adulthood alters maternal behavior in mice. *Environ Health Perspect* 110 (Suppl 3):415-422. *Disponible en anglais seulement*

Paul Friedman K, Gagne M, Loo H, Karamertzanis P, Netzeva T, Sobanski T, Franzosa J, Richard A, Lougee R, Gissi A, et coll. 2019. Utility of in vitro bioactivity as a lower bound estimate of in vivo adverse effect levels and in risk-based prioritization. *Tox Sci* 173(1):202-225. *Disponible en anglais seulement*

Paul Friedman K, Papineni S, Marty MS, Yi KD, Goetz AK, Rasoulpour RJ, Kwiatkowski P, Wolf DC, Blacker AM, Pepper RC. 2016. A predictive data-driven framework for endocrine prioritization: a triazole fungicide case study. *Crit Rev Toxicol* 46(9):785-833. *Disponible en anglais seulement*

Pearce RG, Setzer RW, Strobe CL, Wambaugh JF, Sipes NS. 2017. TCHR: R package for high-throughput toxicokinetics. *J Stat Softw.* 79:1. *Disponible en anglais seulement*

R Core Team. 2013. R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. (version 2.15). *Disponible en anglais seulement*

Richard AM, Judson RS, Houck KA, Grulke CM, Volarath P, Thillainadarajah I, Yang C, Rathman J, Martin MT, Wambaugh JF. 2016. ToxCast chemical landscape: paving the road to 21st century toxicology. *Chem Res Toxicol* 29:1225-1251. *Disponible en anglais seulement*

Ring CL, Pearce RG, Setzer RW, Wetmore BA, Wambaugh JF. 2017. Identifying populations sensitive to environmental chemicals by simulating toxicokinetic variability. *Environ Int* 106:105-118. *Disponible en anglais seulement*

[RIVM] Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu. 1991. Voorstel voor de humaan-toxicologische onderbouwing van C-(toetsings) waarden. [Proposal for the foundation of human-toxicological C-(for review) values]. Vermeire TG, van Apeldoorn ME, de Fouw JC, Janssen PJCM. RIVM-report no. 725201005, February 1991. Bilthoven ((NL): National Institute for Public Health and the Environment. *Disponible en anglais seulement*

Rotroff DM, Wetmore BA, Dix DJ, Ferguson SS, Clewell HJ, Houck KA, LeCluyse EL, Andersen ME, Judson RS, Smith CM. 2010. Incorporating human dosimetry and exposure into high-throughput in vitro toxicity screening. *Toxicol Sci* 117: 348-358. *Disponible en anglais seulement*

Ryu AH, Eckalbar WL, Kreimer A, Yosef N, Ahituv N. 2017. Use antibiotics in cell culture with caution: genome-wide identification of antibiotic-induced changes in gene expression and regulation. *Sci Rep* 7(1):7533. *Disponible en anglais seulement*

Santé Canada. 1994. L'évaluation du risque à la santé humaine des substances d'intérêt prioritaire. Ottawa (Ont.) : Ministre des Approvisionnements et Services Canada. N° de cat. En40-215/41F.

Santé Canada. 2016. [Approche fondée sur le seuil de préoccupation toxicologique \(SPT\) pour certaines substances.](#)

Sipes NS, Martin MT, Kothiya P, Reif DM, Judson RS, Richard AM, Houck KA, Dix DJ, Kavlock RJ, Knudsen TB. 2013. Profiling 976 ToxCast chemicals across 331 enzymatic and receptor signaling assays. *Chem Res Toxicol* 26(6):878-895. *Disponible en anglais seulement*

Thomas RS, Bahadori T, Buckley TJ, Cowden J, Deisenroth C, Dionisio KL, Frithsen JB, Grulke CM, Gwinn MR, Harrill JA. 2019. The next generation blueprint of computational toxicology at the US Environmental Protection Agency. *Toxicol Sci*: 169(2):317-332. *Disponible en anglais seulement*

Thomas RS, Philbert MA, Auerbach SS, Wetmore BA, Devito MJ, Cote I, Rowlands JC, Whelan MP, Hays SM, Andersen ME. 2013. Incorporating new technologies into toxicity testing and risk assessment: moving from 21st century vision to a data-driven framework. *Toxicol Sci* 136:4-18. *Disponible en anglais seulement*

Tilley SK, Reif DM, Fry RC. 2017. Incorporating ToxCast and Tox21 datasets to rank biological activity of chemicals at Superfund sites in North Carolina. *Environ Int* 101:19-26. *Disponible en anglais seulement*

Timms BG, Howdeshell KL, Barton L, Bradley S, Richter CA, vom Saal FS. 2005. Estrogenic chemicals in plastic and oral contraceptives disrupt development of the fetal mouse prostate and urethra. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102(19):7014-9. *Disponible en anglais seulement*

[TRL] Toxicity Research Laboratories. 1986. Subchronic neurotoxicity study in rats of ortho-, meta-, and para-cresol. Unpublished data submitted by Toxicity Research Laboratories to EPA [cité dans ATSDR 2008]. *Disponible en anglais seulement*

Turley AE, Isaacs KK, Wetmore BA, Karmaus AL, Embry MR, Krishan M. 2019. Incorporating new approach methodologies in toxicity testing and exposure assessment for tiered risk assessment using the RISK21 approach: Case studies on food contact chemicals. *Food Chem Toxicol* 134:110819. Tyl RW, Myers CB, Marr MC, Thomas BF, Keimowitz AR, Brine DR, Veselica MM, Fail PA, Chang TY, Seely JC, et coll. 2002. Three-generation reproductive toxicity study of dietary bisphenol A in CD Sprague-Dawley rats. *Toxicol Sci* 68(1):121-146. *Disponible en anglais seulement*

Tyl RW, Myers CB, Marr MC. 2007. Two-generation reproductive toxicity evaluation of bisphenol A (BPA; CAS No. 80-05-7) administered in the feed to CD-1® Swiss mice

(modified OECD 416). Research Triangle Park (NC): RTI International Center for Life Sciences and Toxicology. *Disponible en anglais seulement*

Tyl RW. 1988. Developmental toxicity evaluation of o-, m-, or p-cresol administered by gavage to New Zealand white rabbits. Chemical Manufacturers Association. Submitted to the U.S. Environmental Protection Agency under TSCA Section 4. OTS0517695 [cité dans ATSDR 2008]. *Disponible en anglais seulement*

[US EPA] US Environmental Protection Agency. 2019a. [The ToxCast\(TM\) analysis pipeline \(tcpl\) an R package for processing and modeling chemical screening data \(Version 2.0\)](#). *Disponible en anglais seulement*

[US EPA] US Environmental Protection Agency. 2019b. [ToxCast Data Generation: Overview of ToxCast Assays](#). Last updated on March 27, 2019. *Disponible en anglais seulement*

[US EPA] US Environmental Protection Agency. 2015. [ToxCast & Tox21 MySQL Database invitrodb \(Version 3\)](#). *Disponible en anglais seulement*

[US EPA] US Environmental Protection Agency. 2011. [Integrated risk information system glossary](#). *Disponible en anglais seulement*

Villeneuve DL, Crump D, Garcia-Reyero N, Hecker M, Hutchinson TH, LaLone CA, Landesmann B, Lettieri T, Munn S, Nepelska M. 2014. Adverse outcome pathway (AOP) development I: strategies and principles. *Toxicol Sci* 142:312-320. *Disponible en anglais seulement*

Wambaugh JF, Hughes MF, Ring CL, MacMillan DK, Ford J, Fennell TR, Black SR, Snyder RW, Sipes NS, Wetmore BA. 2018. Evaluating in vitro-in vivo extrapolation of toxicokinetics. *Toxicol Sci* 163:152-169. *Disponible en anglais seulement*

Wambaugh JF, Wetmore BA, Pearce R, Strope C, Goldsmith R, Sluka JP, Sedykh A, Tropsha A, Bosgra S, Shah I. 2015. Toxicokinetic triage for environmental chemicals. *Toxicol Sci* 147:55-67. *Disponible en anglais seulement*

Wambaugh JF, Wetmore BA, Ring CL, Nicolas CI, Pearce RG, Honda GS, Dinallo R, Angus D, Gilbert J, Sierra T, et coll. 2019. Assessing Toxicokinetic Uncertainty and Variability in Risk Prioritization. *Toxicol Sci* 172(2):235-251. *Disponible en anglais seulement*

Watford S, Pham LL, Wignall J, Shin R, Martin MT, Friedman KP. 2019. BDToxRef version 2.0: Improved utility for predictive and retrospective toxicology analyses. *Reprod Toxicol* 89:145-158. *Disponible en anglais seulement*

Watt ED, Judson RS. 2018. Uncertainty quantification in ToxCast high throughput screening. *PLoS ONE* 13. *Disponible en anglais seulement*

Wetmore BA. 2015a. Quantitative in vitro-to-in vivo extrapolation in a high-throughput environment. *Toxicology* 332:94-101. *Disponible en anglais seulement*

Wetmore BA, Wambaugh, JF, Allen, B, Ferguson, SS, Sochaski, MA, Setzerm RW Houck, KA, Strobe, CL, Cantwell, K, Judson, RS, LeCluyse, E, Clewell, HJ, Thomas, RS and Andersen, ME (2015b) Incorporating high-throughput exposure predictions with dosimetry-adjusted in vitro bioactivity to inform chemical toxicity testing, *Toxicological Sciences* 148 (1),121–136. *Disponible en anglais seulement*

Wetmore BA, Wambaugh JF, Ferguson SS, Li L, Clewell III HJ, Judson RS, Freeman K, Bao W, Sochaski MA, Chu T. 2013. Relative impact of incorporating pharmacokinetics on predicting in vivo hazard and mode of action from high-throughput in vitro toxicity assays. *Toxicol Sci* 132:327-346. *Disponible en anglais seulement*

Wetmore BA, Wambaugh JF, Ferguson SS, Sochaski MA, Rotroff DM, Freeman K, Clewell III HJ, Dix DJ, Andersen ME, Houck KA. 2012. Integration of dosimetry, exposure, and high-throughput screening data in chemical toxicity assessment. *Toxicol Sci* 125:157-174. *Disponible en anglais seulement*

Williams AJ, Grulke CM, Edwards J, McEachran AD, Mansouri K, Baker NC, Patlewicz G, Shah I, Wambaugh JF, Judson RS, et coll. 2017. The CompTox Chemistry Dashboard: a community data resource for environmental chemistry. *J Cheminform* 9(1):61. *Disponible en anglais seulement*

Yang C, Tarkhov A, Marusczyk J, Bienfait B, Gasteiger J, Kleinoeder T, Magdziarz T, Sacher O, Schwab CH, Schwoebel J, et coll. 2015. New Publicly Available Chemical Query Language, CSRML, To Support Chemotype Representations for Application to Data Mining and Modeling. *J Chem Inf Model* 55(3):510-528. *Disponible en anglais seulement*

Yoon M, Efremenko A, Blaauboer BJ, Clewell HJ. 2014. Evaluation of simple in vitro to in vivo extrapolation approaches for environmental compounds. *Toxicol in vitro* 28:164-170. *Disponible en anglais seulement*

Annexe 1 : Aperçu des données *in vitro* supplémentaires produites par le TCHR

Le logiciel R original du TCHR disposait de certaines données pour 29 des 46 composés du PGPC sélectionnés pour l'analyse. Les données manquantes nécessaires pour les EIVIV ont été obtenues à l'aide d'essais de pharmacocinétique *in vitro* effectués par Paraza Pharma Inc. (Montréal, QC).

Les valeurs de F_{nlpp} non disponibles dans le TCHR ont été mesurées à l'aide d'un essai liaison aux protéines du plasma. En bref, une concentration de 10 μM de chaque composé à l'étude a été ajoutée au plasma humain (BioIVT, Westbury, NY, USA) et le plasma a ensuite été aliquoté en triple exemplaire sur une plaque de dialyse à haut rendement de 96 puits. Le tampon de dialyse et le plasma sont séparés sur les plaques par une membrane de cellulose semi-perméable, imperméable aux substances chimiques liés aux protéines. Après une incubation de six heures à 37 °C avec légère agitation, les échantillons de plasma et de tampon ont été analysés par LC-MS/MS ou GC-MS (méthode de chromatographie choisie selon le composé). La valeur de F_{nlpp} a été calculée à l'aide de la formule suivante :

$$F_{up} = \frac{\text{Concentration in buffer}}{\text{Concentration in plasma}}$$

Les mesures de Cl_{int} pour chaque composé ont été déterminées à l'aide de l'essai de stabilité sur hépatocytes. En bref, des hépatocytes humains primaires (BioIVT) ont été incubés avec des composés sur une plaque de 96 puits à 37 °C à une densité cellulaire finale de $0,5 \times 10^6$ cellules/mL et une concentration finale de composé de 1 et 10 μM (composés sensibles) ou de 10 et 30 μM (composés de faible sensibilité). Aux points temporels choisis (15, 30, 60, 120 et 240 minutes), les réactions ont été interrompues. Les échantillons ont ensuite été analysés par LC-MS/MS ou GC-MS (méthode de chromatographie choisie en fonction du composé) pour déterminer la demi-vie métabolique *in vitro*. Comme pratique standard, un seuil de 720 minutes (3 x la période d'incubation) a été utilisé comme limite supérieure de la demi-vie lorsque celle-ci ne pouvait pas être déterminée expérimentalement pour les métaboliseurs lents. Les valeurs de Cl_{int} ont été calculées à l'aide de l'équation suivante :

$$Cl_{int} = \frac{\ln 2 / \text{in vitro } t_{1/2}}{0.5} \times 1,000$$

Où $t_{1/2}$ *in vitro* est la durée moyenne de la demi-vie, entre les deux concentrations examinées, en minutes

0,5 est la densité cellulaire en millions de cellules/mL

1 000 est le facteur de conversion de mL en μL

Pour s'assurer que la stabilité observée n'était pas touchée par la cytotoxicité, un essai de viabilité sur cellules luminescentes CellTiter-Glo® a été réalisé. Aucun signe de cytotoxicité manifeste dans les hépatocytes n'a été observé aux concentrations de substances chimiques examinées.

Les valeurs de F_{absint} ont pu être déterminées en utilisant l'essai de perméabilité des cellules Caco-2 pour 16 des substances chimiques. En bref, des monocouches de Caco2 ont été formées dans des plaques Transwell à 12 puits. Les composés examinés ont été ajoutés dans le compartiment donneur des plaques et les cellules sont incubées à 37 °C. Les compartiments donneurs se situaient sur le côté apical de la monocouche de Caco-2 pour l'essai A-à-B ou le côté basolatéral pour l'essai B-à-A. Des aliquotes ont été prélevées dans le compartiment receveur aux temps d'incubation de 30, 60 et 90 minutes pour l'analyse par LC-SM/SM. La perméabilité apparente (P_{app}) de chaque composé a été déterminée à l'aide de la formule suivante :

$$P_{\text{app}} = \frac{dQ/dt}{A \times C_i \times 60} \times 100$$

Où dQ/dt est le taux net de l'apparition dans le compartiment récepteur

A est la superficie de chaque puits Transwell (1,12 cm²)

C_i est la concentration initiale du composé dans le compartiment donneur

60 est le facteur de conversion des minutes en secondes

Les valeurs de F_{absint} ont ensuite été estimées à l'aide d'un modèle empirique (Darwich et coll. 2010) à l'aide les équations suivantes :

$$P_{\text{eff}} = 10^{(0.6532 \times \log P_{\text{app}} - 0.3036)}$$

$$F_{\text{gutabs}} = 1 - (1 + 0.54 \times P_{\text{eff}})^{-7}$$

Où P_{eff} est le coefficient effectif de la perméabilité du jéjunum humain

Toutes les substances chimiques à l'étude avaient une absorption totale ou quasi totale ($F_{\text{absint}} \approx 1$). Par conséquent, on a assumé par défaut une absorption totale des substances chimiques à l'étude, ainsi que de celles qui n'ont pas pu être analysées à l'aide de l'essai de perméabilité des Caco-2 dans le logiciel TCHR.

Annexe 2 : Fonctions des logiciels Tcpl et TCHR R utilisées dans la méthode

Bioactivité in vitro tirée de la base de données ToxCast

La fonction `tcplLoadChem()` du logiciel `tcpl` a servi à charger la liste des 46 substances chimiques et les fonctions `tcplPrepOtppt()` et `tcplLoadData()` ont été utilisées pour extraire les données de niveau 5, 6 et 7 de la base de données MySQL ToxCast. Les données de niveau 5 comprennent des données sur l'activité des substances chimiques et les valeurs de CA_{50} des modèles choisis pour l'ajustement de la courbe (`modl_ga`). L'extraction de niveau 5 a été limitée aux paramètres d'essai qui présentaient une activité (`hitc = 1`) et pour lesquels la substance chimique a été analysée à diverses concentrations (`type = 'mc'`). Il a été jugé plus approprié d'obtenir un PD à partir des courbes de réponse aux concentrations plutôt que d'inclure des essais réalisés à une seule concentration, ce qui ne pourrait pas convenir à une approche qualitative. Dans la base de données ToxCast, plusieurs échantillons d'une substance chimique peuvent avoir été testés pour un paramètre d'essai donné. La fonction `tcplSubsetChid()` a été utilisée dans ces cas, et applique une série de modèles logiques pour définir des sous-ensembles de données de niveau 5, de sorte qu'une seule paire de paramètres d'essai chimique soit utilisée dans les analyses ultérieures (Judson 2018). Les données de niveau 6 et 7 ont été extraites pour chaque essai donné (sur la base de l'identité de l'échantillon ou '`spid`'), et fournissent des indicateurs de mise en garde et des données sur l'incertitude pour l'ajustement de la courbe et les résultats d'activité, respectivement. Les indicateurs de mise en garde attirent l'attention sur les courbes qui pourraient ne pas avoir de valeurs de CA_{50} quantitativement informatives (voir le tableau des indicateurs de mise en garde ci-dessous).

Indicateurs de mise en garde et descriptions de ToxCast

ID de l'indicateur	Description
6	résultat unique où l'activité n'est observée qu'à la concentration la plus élevée
7	résultat unique où l'activité n'est pas observée à la concentration la plus élevée
8	Essai sans activité avec plusieurs médianes au-dessus de la ligne de base
10	courbe avec bruit, par rapport à l'essai
11	Résultat avec activité limite
12	Essai sans activité avec activité limite
18	CA_{50} modélisée inférieure à la plus faible concentration examinée
15	où le gain-perte est le modèle « gagnant », le gain CA_{50} est inférieur à la concentration la plus faible examinée et la perte CA_{50} est inférieure à la concentration moyenne
16	résultat avec un facteur confusionnel potentiel attribuable à un ajustement trop important (le résultat ne serait pas le même après une petite correction de N dans les valeurs AIC)
17	Résultats avec des valeurs d'efficacité inférieures à 50 %.

Les données de niveau 7 tentent de quantifier le degré d'incertitude associé à la reproductibilité de l'ajustement de la courbe et à la détermination ultérieure des résultats, lequel est décrit en détail ailleurs (Watt et Judson 2018; Brown et coll. 2018). En bref, des méthodes bootstrap sont utilisées pour introduire des valeurs de concentration-réponse ayant un bruit de distribution normale pour chaque essai, puis le processus d'ajustement de la courbe est répété en utilisant les trois modèles ToxCast (c'est-à-dire constant, Hill, gain-perte). Ce processus de rééchantillonnage est répété pour 1 000 passages et, pour chaque passage, le modèle gagnant est déterminé en même temps que le résultat et les estimations ponctuelles modélisées (par exemple, la valeur de CA_{50}) en utilisant les mêmes méthodes que le traitement de niveau 5 dans tcpl. Il est possible que le résultat change entre les passages et des statistiques sommaires sont générées, y compris le « pourcentage de résultat », qui fournit une indication de la probabilité que l'essai soit classé comme un essai avec activité après avoir pris en compte le bruit de distribution normale. Si le pourcentage de réussite est faible (c'est-à-dire inférieur à 50 %), le degré de confiance dans la classification de l'essai comme essai avec activité est moindre (Watt et Judson 2018; Paul Friedman et coll. 2019). La cytotoxicité dans certains essais peut être un facteur de confusion dans l'interprétation des résultats de la bioactivité observée dans ToxCast. Il a été noté que les substances examinées dans ToxCast activent de façon non spécifique de nombreuses cibles mesurées dans les essais lorsque les cellules entrent en apoptose, un phénomène désigné « manifestation soudaine » (US EPA 2019a). La fonction tcplCytoPt() applique une méthode permettant de prédire la cytotoxicité propre à une substance chimique qui fait appel à 79 paramètres d'essai au maximum dans le calcul (« essais de manifestation soudaine »). La prédiction fournit essentiellement une fenêtre de concentration où la substance chimique peut être cytotoxique et comprend une estimation de la limite inférieure qui fournit un contexte pour le phénomène de « manifestation soudaine » (US EPA 2019a). Cette fonction a été utilisée pour extraire l'estimation de la limite inférieure de la cytotoxicité à (cyto_pt_um) pour les 46 substances chimiques de l'étude de cas.

Calculer la dose équivalente administrée (DEA) correspondant au seuil de bioactivité in vitro qui représente le $PD_{Bioactivité}$

L'ensemble du processus de l'EIVIV (calcul de la C_{eq} et du DEA) peut être effectué dans TCHR (version 1.8) à l'aide de la fonction calc_mc_oral_equiv(). Pour évaluer les 46 composés, les paramètres par défaut ont été utilisés dans calc_mc_oral_equiv() à l'exception de output.units= 'uM' et well.stirred.correction = T, qui utilise une correction « well-stirred » dans le calcul de la clairance hépatique (suppose une clairance proportionnelle à la quantité de substance chimique non liée dans le sang total par rapport au plasma).

Annexe 3 : Substances ayant un PD_{traditionnel} inférieur au PD_{Bioactivité}

p-crésol

Bioactivité

La bioactivité du p-crésol a été mesurée à l'aide de 668 essais de ToxCast et la substance n'a montré une activité que dans 12 essais après application des critères de filtrage (Tableau A3-1). Le p-crésol a été analysé dans 79 essais de cytotoxicité et n'a montré aucune activité. La cytotoxicité ne devrait donc pas être un facteur de confusion influençant la bioactivité observée. Les paramètres d'essai liés aux interactions avec les hormones stéroïdiennes ou les récepteurs nucléaires semblent être indicateurs du type de bioactivité le plus fréquemment observé. Les valeurs de CA₅₀ dans les essais avec activité converties en DEA respective ont varié de 4,24 à 806,13 mg/kg pc/jour. La DEA pour le 5^e centile des valeurs de CA₅₀ tirées des essais avec activité, qui est à la base du PD_{Bioactivité}, a été estimée à 6,33 mg/kg pc/jour.

Tableau A3-1. Aperçu des 12 paramètres d'essai associés à une activité du p-crésol, regroupés en fonction de la classe cible

Classe cible	Sous-groupe	Nombre d'essais avec activité
Cytokine	activateur de plasmogène	1
récepteur couplé aux protéines G (GPCR)	récepteur de type rhodopsine	2
hormone stéroïdienne	progestagènes	2
hormone stéroïdienne	œstrogènes	2
récepteur nucléaire	non stéroïdien	3
liaison à l'ADN	protéine HMGB	1
liaison à l'ADN	NF-kappa B	1

Études in vivo réalisées avec des animaux

Le p-crésol a été inclus dans un groupe de crésols (ortho, para, méta et mixte), et l'évaluation préalable finale du PGPC a été publiée en mai 2016 (CCE, SC, 2016).

Un grand nombre d'études de toxicité utilisées dans l'évaluation de ce groupe ont été réalisées à l'aide d'un mélange d'isomères de crésols. On trouvera le détail des études dans lesquelles la substance examinée était le p-crésol seul dans l'évaluation du PGPC (ECCC, SC, 2016), et les résultats de ces études sont résumés à la Figure A3-1.

Le plus faible $PD_{\text{Classique}}$ par voie orale du p-crésol est une DSE(N)O de 5 mg/kg pc/jour fondée sur une DME(N)O déterminée chez des lapines mères à 50 mg/kg pc/jour dans une étude de toxicité pour le développement où l'on a observé des effets sur le système nerveux central (SNC). Cependant, la caractérisation des risques de l'évaluation des crésols a été réalisée avec des données de toxicité de différents isomères de crésols ainsi que des mélanges. Pour les effets autres que le cancer, une ME a été calculée pour tous les crésols en utilisant une dose de 30 mg/kg pc/jour, qui a été déterminée comme étant une DSE(N)O fondée sur des effets sur le SNC et qui protégeait contre d'autres effets sur le développement observés à des doses plus élevées.

Comparaison du $PD_{\text{Bioactivité}}$ avec le $PD_{\text{Classique}}$

La valeur du $PD_{\text{Bioactivité}}$ de 6,33 mg/kg pc/jour est similaire au $PD_{\text{Classique}}$ par voie orale le plus faible, qui est de 5 mg/kg pc/jour, et qui est basée sur une DSE(N)O mesurée chez les mères et provenant d'une étude de toxicité sur le développement réalisée avec des lapins où on a constaté des effets sur le SNC (BRRC 1988; Tyl et coll. 1988). Il est important de noter que le $PD_{\text{Bioactivité}}$ est inférieur à la DME(N)O de la même étude, et donc, le $PD_{\text{Classique}}$ plus faible peut être associé aux doses utilisées dans l'étude. De plus, le $PD_{\text{Bioactivité}}$ est inférieur à la DSE(N)O de 30 mg/kg pc/jour fondée sur des effets sur le SNC, qui a été utilisée pour le calcul de la ME dans l'évaluation tenant compte du poids de la preuve et portant sur plusieurs crésols. Le $PD_{\text{Bioactivité}}$ était également environ 60 fois plus faible que la DME(N)O obtenue de l'étude sur la toxicité pour le développement et la DSE(N)O obtenue dans l'étude de toxicité sur la reproduction. Compte tenu de la variabilité et des problèmes liés à la sélection de la dose pour le calcul du $PD_{\text{Classique}}$, le $PD_{\text{Bioactivité}}$ peut toujours être considéré comme une valeur comparable équivalente à l'estimation de la limite inférieure du $PD_{\text{Classique}}$ propre à la substance.

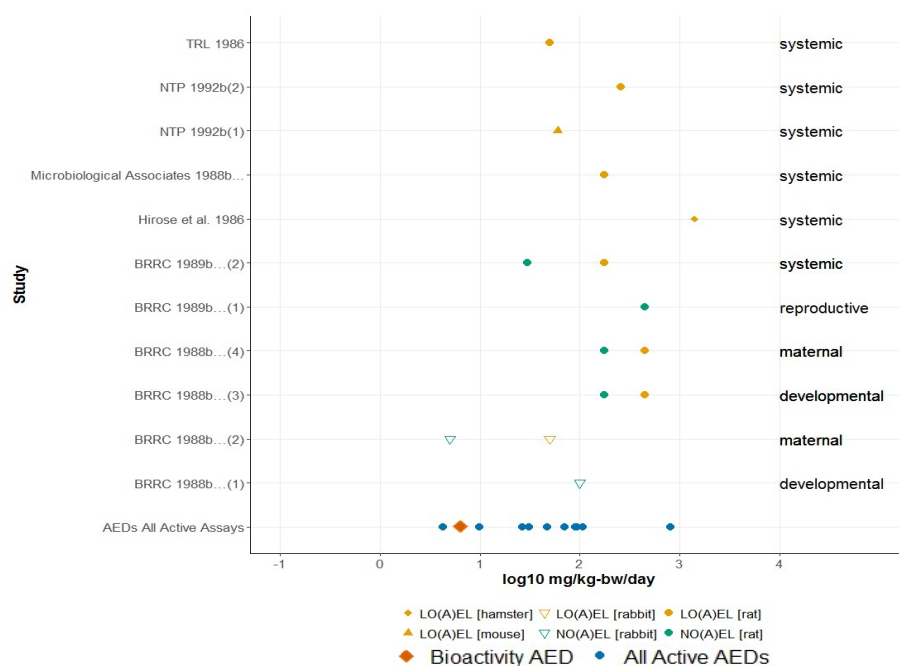


Figure A3-1. Comparaison du $PD_{\text{Bioactivité}}$ tiré de ToxCast avec le $PD_{\text{Classique}}$ pour le p-crésol. Les valeurs de CA_{50} dans les essais avec activité (post-filtrage) ont été converties en leur dose équivalente administrée (DEA) respective en utilisant la dosimétrie inverse et les données de toxicocinétique à haut rendement dans le logiciel R du TCHR (points bleus). Le $PD_{\text{Bioactivité}}$ est représenté par le point rouge qui correspond au 5^e centile des valeurs de CA_{50} converties en DEA.

Bisphénol A (BPA)

Bioactivité

La base de données ToxCast compte 954 paramètres d'essai du bisphénol A (BPA) et, après application des critères de filtrage, 202 essais sont considérés comme ayant une activité, ce qui indique une large gamme de bioactivité. Le BPA a été analysé à l'aide de 79 essais de cytotoxicité et a été considéré comme ayant une activité dans 15 d'entre eux. La limite inférieure du seuil de cytotoxicité estimée par le logiciel tcpl en utilisant la fonction « burst assays » disponible dans la version 3.0 d'invitrodb est de $\sim 13,95 \mu\text{M}$. On a dénombré 73 paramètres d'essai avec activité ayant des valeurs de CA_{50} inférieures à cette estimation de la limite inférieure. Une vue d'ensemble de ces essais, regroupés en fonction de la classe cible prévue, ainsi que la somme totale des essais avec activité dans chaque sous-groupe, est présentée dans le Tableau A3-2. Une grande partie de l'activité observée pour le BPA est probablement faussée par la cytotoxicité. Les paramètres liés aux récepteurs nucléaires (la majorité dans la voie des récepteurs d'œstrogènes) sont les classes cibles associées au plus grand nombre de résultats. Le 5^e centile de la distribution des valeurs de CA_{50} provenant des essais avec activité a été estimé à $0,351 \mu\text{M}$, ce qui est inférieur au seuil de cytotoxicité. Ce 5^e

centile donne une DEA de 0,01 mg/kg pc/jour, sur laquelle repose le PD_{Bioactivité}. La fourchette des DEA pour tous les essais avec activité est comprise entre $1,05 \times 10^{-4}$ et 4,96 mg/kg pc/jour.

Tableau A3-2. Vue d'ensemble des 73 paramètres d'essai avec activité dont les valeurs de CA₅₀ sont inférieures à l'estimation de la cytotoxicité du bisphénol A, regroupés en fonction de leur classe cible

Classe cible	Sous-groupe	Nombre d'essais actifs
récepteur nucléaire	stéroïdien	20
morphologie cellulaire	conformation des organelles	1
récepteur nucléaire	non stéroïdien	7
cycle cellulaire	cytotoxicité	3
molécules d'adhésion cellulaire	immunoglobuline CAM	2
molécules d'adhésion cellulaire	collagène	1
cytokine	facteur chimiotactique	1
récepteur couplé aux protéines G (GPCR)	récepteur de type rhodopsine	6
Cytokine	facteur d'inflammation	2
cyp (cytochromes P450)	métabolisme des xénobiotiques	17
Protéase	métalloprotéinase matricielle	1
transporteur	transporteur de neurotransmetteurs	2
transporteur	transporteur vésiculaire	1
mesure du bruit de fond	contrôle de base	4
hormone stéroïdienne	androgènes	2
malformation	anomalie neurale	2
oxydoréductase	Peroxydase	1

Études animales in vivo

L'évaluation préalable finale du BPA a été publiée en octobre 2008 dans le cadre du PGPC (ECCC, SC 2008).

Comme les publications sur la toxicité examinées au moment de l'évaluation du BPA étaient très abondantes, nous n'avons pas présenté de résumé complet des études examinées, mais il est possible de consulter les conclusions tirées de la caractérisation des risques de cette substance dans l'évaluation publiée (ECCC, HC 2008). Les résultats des études sont résumés dans la Figure A3-2 afin de mettre en contexte la comparaison du PD_{Bioactivité} avec le PD_{Classique}.

Pour la caractérisation des risques du BPA, des DSE(N)O de 5 et 50 mg/kg pc/jour fondées sur la toxicité systémique chez l'adulte et des effets sur le développement ou la reproduction, respectivement, ont été pris en compte dans le calcul d'un PD servant à la détermination de la ME (Tyl et coll. 2002; 2007). Toutefois, dans le contexte général du poids de la preuve, les effets inférieurs à ces seuils (par exemple, la neurotoxicité pour le développement) provenant d'études à faible dose ont joué un rôle notable dans la caractérisation des risques. Au moment de l'évaluation, bien qu'il ait été déterminé que ces études à faible dose étaient entachées d'une incertitude considérable, elles laissaient entrevoir la possibilité d'effets à des doses beaucoup plus faibles que celles que reflètent les PD plus classiques. Les effets de la neurotoxicité à faible dose sur le développement ont servi à étayer une conclusion de toxicité au titre de la LCPE en utilisant le principe de précaution.

Comparaison du $PD_{\text{Bioactivité}}$ avec le $PD_{\text{Classique}}$

La valeur du $PD_{\text{Bioactivité}}$ de 0,01 mg/kg pc/jour (10 µg/kg pc/jour) se situe dans la fourchette des valeurs du $PD_{\text{Classique}}$ provenant des études à faible dose prises en compte lors de l'évaluation du BPA (2 à 10 µg/kg pc/jour). Le $PD_{\text{Bioactivité}}$ est ~500 à 5000 fois plus faible que les DSE(N)O trouvées dans les études multigénérationnelles de toxicité pour la reproduction et le développement utilisées pour déterminer la ME de l'évaluation (Tyl et coll. 2002; 2007).

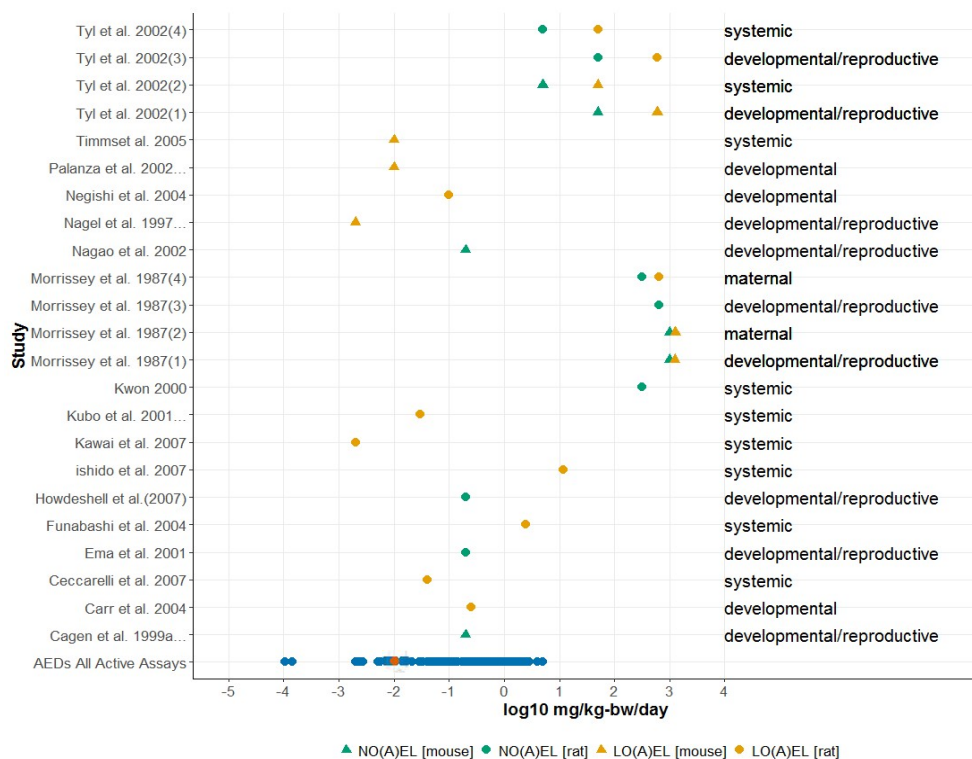


Figure A3 2. Comparaison du PD_{Bioactivité} tiré de ToxCast avec le PD_{Classique} pour le BPA. Les valeurs de CA₅₀ dans les essais avec activité (post-filtrage) ont été converties en leur dose équivalente administrée (DEA) respective en utilisant la dosimétrie inverse et les données de toxicocinétique à haut rendement dans le logiciel R du TCHR (points bleus). Le PD_{Bioactivité} est représenté par le point rouge qui correspond au 5^e centile des valeurs CA₅₀ converties en DEA.

Chlorure d'allyle

Bioactivité

Après l'application des critères de filtrage de l'essai, le chlorure d'allyle a été considéré comme ayant une activité selon 6 paramètres sur un total de 379 examinés. Le chlorure d'allyle a été analysé à l'aide de 62 essais de cytotoxicité et n'a montré aucune activité. Ainsi, la cytotoxicité ne devrait pas fausser la bioactivité observée. Les essais avec activité sont décrits dans le Tableau A3-3 avec leur classe cible. Le chlorure d'allyle présente une activité limitée liée aux interactions avec les récepteurs nucléaires tels que PXR et ER et d'autres cibles qui régulent l'activité transcriptionnelle. Le chlorure d'allyle est un composé volatil de faible poids moléculaire, et il se peut que ces types de substances chimiques ne soient pas bien analysés par la batterie actuelle d'essais de ToxCast. Il est possible que différents essais, conditions ou types de gestion auraient été nécessaires pour que l'on puisse observer une bioactivité du chlorure d'allyle en fonction de ses propriétés physico-chimiques. Ces propriétés seront considérées comme des critères potentiels à inclure dans le champ d'application et serviront d'indicateurs pour un examen plus approfondi à l'avenir. Les valeurs de CA₅₀ de tous les essais avec activité ont été converties en DEA respective et se situaient entre 18,01 et 2412,34 mg/kg pc/jour. La DEA pour le 5^e centile des valeurs de CA₅₀ des essais avec activité, sur laquelle repose le PD_{Bioactivité}, a été estimée à 214,36 mg/kg pc/jour.

Tableau A3-3. Aperçu de 6 paramètres d'essai avec activité pour le chlorure d'allyle, regroupés en fonction de leur classe cible

Classe cible	Sous-groupe	Nombre d'essais actifs
récepteur nucléaire	non stéroïdien	1
Kinase	récepteur tyrosine kinase	1
mesure du fond	contrôle de base	2
récepteur nucléaire	Stéroïdien	2

Études animales in vivo

L'évaluation préalable finale du chlorure d'allyle a été publiée en novembre 2009 dans le cadre de la phase « Défi » du PGPC (ECCC, SC, 2009).

Le chlorure d'allyle a été classé en fonction de sa cancérogénicité par d'autres organismes nationaux et internationaux (c'est-à-dire la Commission européenne et

l'EPA des États-Unis), mais les preuves de génotoxicité et de cancérogénicité ont été jugées faibles au moment de l'évaluation canadienne. C'est pourquoi la caractérisation du risque pour le chlorure d'allyle a été fondée sur des effets autres que le cancer observés dans les études de toxicité.

Parmi le petit nombre d'études par voie orale trouvées, la plus faible DME(N)O déterminée était de 45 mg/kg pc/jour et était fondée sur une congestion et des changements dystrophiques limités dans des organes non précisés (Al'meev et Karmazin 1969). La caractérisation des effets dans l'étude a été jugée médiocre et d'une utilité limitée. La DME(N)O par voie orale la plus faible dans une étude pour laquelle on disposait de suffisamment de données pour caractériser les effets a été déterminé à 73 mg/kg pc/jour sur la base d'une diminution du poids corporel liée à la dose dans une étude de gavage à long terme réalisée sur des rats et a été utilisée pour la caractérisation des risques afin de déduire une ME (National Cancer Institute 1978). À des doses plus élevées, on a également signalé une faiblesse des membres postérieurs chez les souris (He et coll. 1981).

Comparaison du $PD_{\text{Bioactivité}}$ avec le $PD_{\text{Classique}}$

La valeur du $PD_{\text{Bioactivité}}$ de 214,36 mg/kg pc/jour est supérieure au $PD_{\text{Classique}}$ le plus faible et à la valeur utilisée pour le calcul de la ME, qui étaient respectivement de 45 et 73 mg/kg pc/jour (Figure A3-3).

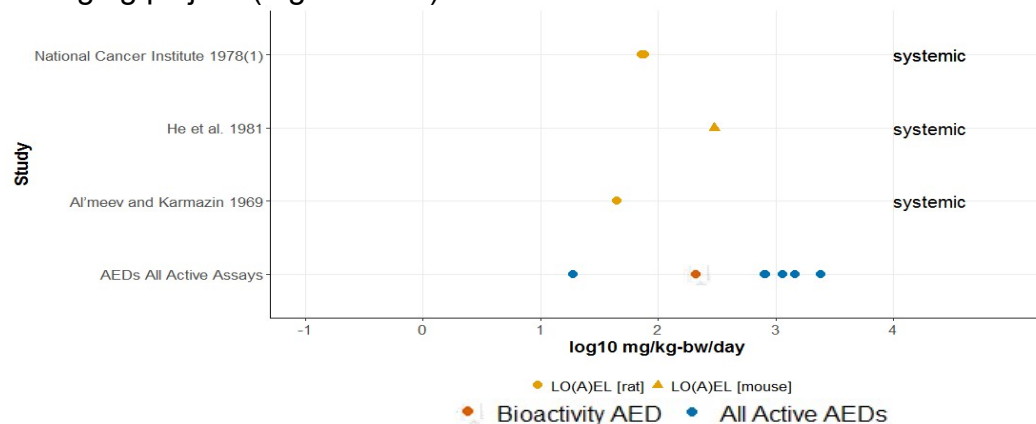


Figure A3 3. Comparaison du $PD_{\text{Bioactivité}}$ tiré de ToxCast avec le $PD_{\text{Classique}}$ pour le chlorure d'allyle. Les valeurs de CA_{50} dans les essais avec activité (post-filtrage) ont été converties en leur DEA respective en utilisant la dosimétrie inverse et les données de toxicocinétique à haut rendement dans le logiciel R du TCHR (points bleus). Le $PD_{\text{Bioactivité}}$ est représenté par le point rouge qui correspond au 5^e centile des valeurs CA_{50} converties en DEA.

Annexe A : Liste des substances et résultats de l'étude de cas comparative du PGPC

Tableau A-1 : Substances chimiques du PGPC ayant servi à comparer le PD_{Bioactivité} au PD_{Classique}

N° de registre du CAS	Nom commun de la substance	Phase du PGPC	PD _{Bioactivité} (log ₁₀ mg/kg pc/jour)	PD _{Classique} minimum (log ₁₀ mg/kg pc/jour)	Rapport du log ₁₀ PD	Rapport PD _{Classique} sur PD _{Bioactivité}
102-06-7	1,3-Diphénylguanidine	PGPC1	-0,51	0,6	1,11	12,88
103-23-1	Bis(2-éthylhexyl)hexanedioate	PGPC1	0,13	1,71	1,58	38,02
106-44-5	p-crésol	PGPC2	0,8	0,7	-0,10	0,79
106-89-8	Épichlorohydrine	PGPC1	-2,82	0,3	3,12	1318,26
107-05-1	Chlorure d'allyle	PGPC1	2,33	1,65	-0,68	0,21
107-51-7	Octaméthyltrisiloxane	PGPC1	0,57	2,4	1,83	67,61
108-46-3	Résorcinol	PGPC3	-0,13	2,37	2,5	316,23
112-38-9	Acide 10-undécylénique	PGPC3	-1,16	1,72	2,88	758,58
119-61-9	Benzophénone	PGPC3	-1,75	0,49	2,24	173,78
123-91-1	1,4-Dioxane	PGPC1	-5,36	0,98	6,34	2187761,62
126-73-8	Phosphate de tributyle	PGPC1	-2,7	1	3,70	5011,87
127-19-5	N,N-Diméthylacétamide	PGPC1	0,09	1,7	1,61	40,74
131-11-3	Phtalate de diméthyle	PGPC2	-4,03	2,4	6,43	2691534,80
1330-78-5	Phosphate de tricrésyle	PGPC2	-1,78	0,6	2,38	239,88
13674-84-5	Phosphate de tris(2-chloroisopropyle)	PGPC2	-2,24	1,6	3,84	6918,31
13674-87-8	Phosphate de tris(1,3-dichloro-2-propyle)	PGPC2	-1,42	0,7	2,12	131,83
149-57-5	Acide 2-éthylhexanoïque	PGPC1	-0,54	0,95	1,49	30,90
1763-23-1	Acide perfluorooctanesulfonique	Pré-PGPC	-2,95	-0,3	2,65	446,68
25013-16-5	Hydroxyanisole butylé	PGPC1	-4,63	-0,6	4,03	10715,19
27178-16-1	Hexanedioate de diisodécyle	PGPC3	1,45	3	1,55	35,48

2795-39-3	Perfluorooctanesulfonate de potassium	Pre-PGPC	-2,5	-1,52	0,98	9,55
28553-12-0	Phtalate de diisononyle	PGPC2	-0,19	0,3	0,49	3,09
330-54-1	Diuron	PGPC1	-0,35	0	0,35	2,24
3380-34-5	Triclosan	PGPC2	-2,87	0,48	3,35	2238,72
3825-26-1	Perfluorooctanoate d'ammonium	PGPC2	-2,74	-1,22	1,52	33,11
53-19-0	o,p'-DDD	PGPC1	-0,15	0,6	0,75	5,62
534-52-1	2-méthyl-4,6-dinitrophénol	PGPC2	-3,66	-0,23	3,43	2691,53
548-62-9	Violet de gentiane	PGPC3	-2,26	-0,3	1,96	91,20
60-09-3	4-aminoazobenzène	PGPC2	-1,23	1,46	2,69	489,78
69-72-7	Acide salicylique	PGPC3	-3,97	1,3	5,27	186208,71
80-05-7	Bisphénol A	PGPC1	-1,97	-2,7	-0,73	0,19
87-61-6	1,2,3-Trichlorobenzène	Pré-PGPC	-2,85	0,89	3,74	5495,41
88-12-0	N-vinyl-2-pyrrolidone	PGPC1	-2,15	0,56	2,71	512,86
88-72-2	2-nitrotoluène	PGPC1	0,01	1,26	1,25	17,78
88-85-7	Dinoseb	PGPC3	-3,78	-0,11	3,67	4677,35
90-04-0	2-anisidine	PGPC2	-1,97	1,2	3,17	1479,11
91-20-3	Naphtalène	PGPC1	-4,59	1,7	6,29	1949844,60
91-22-5	Quinoléine	PGPC2	1,09	1,4	0,31	2,04
92-52-4	Biphényle	PGPC2	-4,23	1,4	5,63	426579,52
93-15-2	Méthyleugénol	PGPC1	-2,72	1	3,72	5248,07
95-48-7	o-Crésol	PGPC2	-0,71	1,48	2,19	154,88
95-94-3	1,2,4,5-tétrachlorobenzène	Pré-PGPC	-1,94	0,32	2,26	181,97
96-23-1	1,3-dichloro-2-propanol	PGPC3	-0,32	0	0,32	2,09
96-29-7	2-Butanone oxime	PGPC1	-1,64	0,6	2,24	173,78
97-53-0	Eugénol	PGPC3	1,15	2	0,85	7,08
98-01-1	Furfural	PGPC1	0,94	1,04	0,10	1,26

Annexe B : Comparaison entre le PD_{Classique} et le PD_{Bioactivité} pour ce qui est des effets sur le développement et la reproduction

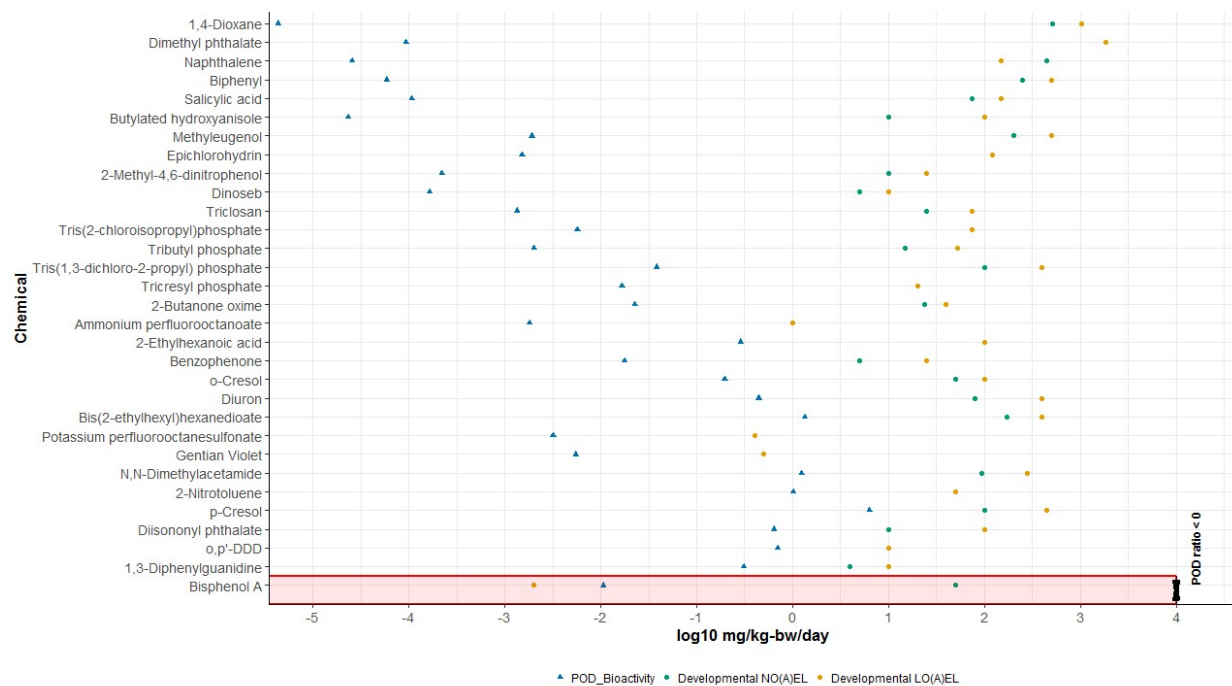


Figure B-1 : Comparaison du PD_{Bioactivité} tiré de ToxCast et du PD_{Classique} avec effets sur le développement. Le PD_{Bioactivité} représente le 5^e centile des valeurs de CA₅₀ tirés des essais de ToxCast avec un résultat avec activité converti en DEA en utilisant la dosimétrie inverse et les données de toxicocinétique à haut rendement dans le logiciel R du TCHR. La DSE(N)O et la DME(N)O représentent les concentrations avec effet les plus faibles dans toutes les études recueillies dans le cadre de

l'évaluation du composé.

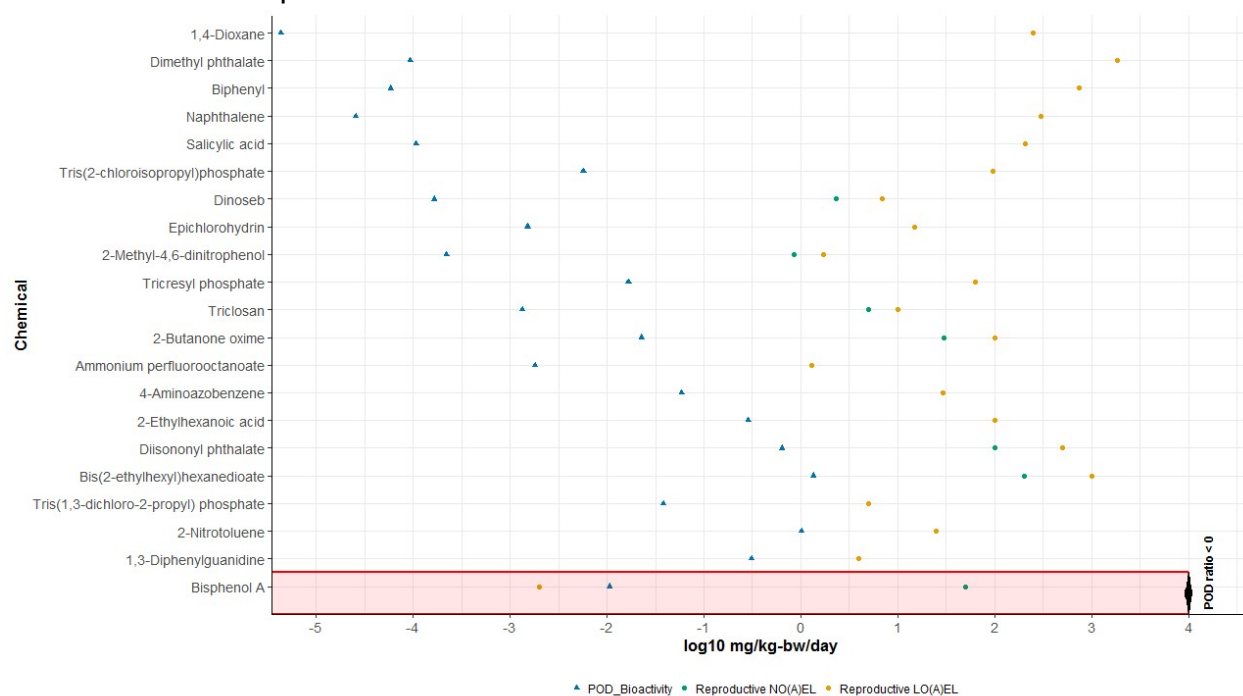


Figure B-2 : Comparaison entre le PD_{Bioactivité} tiré de ToxCast et le PD_{Classique} avec effets sur la reproduction. Le PD_{Bioactivité} représente le 5^e centile des valeurs CA₅₀ des essais ToxCast avec un résultat avec activité converti en DEA en utilisant la dosimétrie inverse et les données de toxicocinétique à haut rendement dans le logiciel R de TCHR. La DSE(N)O et la DME(N)O représentent les concentrations avec effet les plus faibles dans toutes les études recueillies dans le cadre de l'évaluation du composé.