

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

Méthode d'essai *in vitro* sur membrane d'étanchéité pour la corrosion cutanée

INTRODUCTION

1. La corrosion cutanée désigne la survenue de lésions irréversibles de la peau, qui se manifestent sous forme de nécroses visibles dans l'épiderme et jusque dans le derme, après application d'un produit chimique testé, tel que défini par le Système général harmonisé de classification et d'étiquetage des produits chimiques (SGH) des Nations-Unies (NU) (1). Cette ligne directrice 435 mise à jour propose une méthode d'essai *in vitro* sur membrane d'étanchéité qui peut être utilisée pour identifier les produits chimiques corrosifs. La méthode d'essai emploie une membrane artificielle conçue pour au traitement par des produits chimiques de façon similaire à de la peau s'animaux vivants.

2. La corrosivité cutanée est habituellement évaluée en appliquant le produit chimique testé sur la peau d'animaux vivants et en déterminant l'ampleur de la lésion tissulaire après un intervalle de temps donné (2). Outre la présente Ligne directrice, un certain nombre de méthodes *in vitro* ont été adoptées comme alternatives (3) (4) à la méthode standard *in vivo* sur lapin (LD 404) utilisée pour identifier les produits chimiques corrosifs (2). La stratégie d'essai et d'évaluation à plusieurs niveaux du SGH des NU pour l'estimation et la classification de la corrosivité cutanée, ainsi que le Document Guide de l'OCDE sur les Approches Intégrées sur les Essais et l'Évaluation (IATA) pour l'irritation et la Corrosion de la peau autorise l'utilisation de procédés d'essai *in vitro* validés et acceptés tels que décrits dans les module 3 et 4 (1) (5). Le Document Guide IATA décrit plusieurs modules qui rassemblent les sources d'information et les outils d'analyse et (i) fournit des orientations sur la façon d'intégrer et d'utiliser les données d'essais et autres données pour l'évaluation du potentiel d'irritation ou de corrosion de la peau des produits chimiques testés et (ii) propose une approche quand des essais supplémentaires sont requis, y compris quand des résultats négatifs sont obtenus (5). Grâce à cette approche modulaire, les résultats positifs de méthodes d'essai *in vitro* peuvent servir à classer un produit chimique dans la catégorie corrosive sans impliquer d'essais sur les animaux, réduit et optimise ainsi l'usage des animaux et évite la douleur et les souffrances infligées aux animaux concernés.

3. Des études de validation de la méthode d'essai *in vitro* sur membrane d'étanchéité disponible dans le commerce sous l'appellation Corrositex[®] (6)(7)(8) ont été réalisées, démontrant une précision de 79% pour la prédiction de la corrosivité de la peau (128/163), une sensibilité de 85% (76/89), et une spécificité de 70% (52/74) pour une base de données de 163 produits chimiques (substances et mélanges) (7). Une fois la validité de cette méthode d'essai de référence (MRV) reconnue, son utilisation a été recommandée dans le cadre d'une stratégie d'essai à plusieurs niveaux pour évaluer le risque potentiel de corrosion dermique engendré par des produits chimiques (5) (7). Préalablement à l'utilisation d'une méthode d'essai *in vitro* sur membrane d'étanchéité pour évaluer la corrosion cutanée à des fins réglementaires, il convient de déterminer sa fiabilité, sa pertinence (précision) et ses limites afin de garantir son équivalence à celle de

la MRV (9), en accord avec les standards de performances pré-définis (10). L'acceptation mutuelle des données ne sera garantie qu'après examen et intégration à cette Ligne directrice de toute méthode d'essai nouvelle ou actualisée proposée, conformément aux normes de performance de cette Ligne directrice. Actuellement, une seule méthode d'essai *in vitro* figure dans cette Ligne directrice, la méthode Corrositex[®], disponible dans le commerce.

4. D'autres méthodes pour les essais de corrosion cutanée se basent sur l'utilisation de peau humaine reconstituée (OCDE LD 431) (3) et de la peau de rat isolée (OCDE LD 430) (4). La présente Ligne directrice permet également de sous-catégoriser les produits chimiques corrosifs en trois sous-catégories du SGH et dans les trois groupes d'emballage ONU pour les transports pour le risque de corrosivité. Cette Ligne directrice a été adoptée initialement en 2006, et mise à jour en 2015 pour faire référence au Document Guide IATA, et mettre à jour la liste des substances d'épreuve de compétence.

DEFINITIONS

5. Les définitions utilisées sont données dans l'annexe 1.

CONSIDÉRATIONS INITIALES ET LIMITATIONS

6. L'essai décrit dans cette ligne directrice permet d'identifier les substances et mélanges chimiques corrosifs et de les classer en sous-catégories de substances corrosives, ainsi que le permet le SGH (tableau 1) (1). Ce procédé d'essai peut également contribuer aux décisions prises sur la corrosivité et la non corrosivité de classes spécifiques de produits chimiques, par exemple, les acides organiques et minéraux, les dérivés acides¹, et les bases dans certains cas d'essais de transport (7)(11)(12). La présente ligne directrice décrit un protocole générique similaire à un procédé d'essai de référence validé (7). Alors que la présente Ligne directrice ne fournit pas de données adéquates pour l'irritation de la peau, il faut noter que la Ligne directrice 439 adresse de façon spécifique l'irritation de la peau *in vitro* (13). Pour effectuer une évaluation complète des effets locaux sur la peau faisant suite à une exposition cutanée unique, le Document Guide no. 203 sur IATA doit être consulté (5).

Tableau 1. La catégorie et les sous-catégories de corrosivité cutanée du SGH des NU (1)

Catégorie de corrosivité (catégorie 1) (s'applique aux autorités qui n'utilisent pas de sous-catégories)	Sous-catégories éventuelles de corrosivité (ne s'appliquent qu'à certaines autorités)	Corrosives chez ≥ 1 sur 3 animaux	
		Exposition	Observation
Corrosive	Sous-catégorie corrosive 1A	≤ 3 minutes	≤ 1 heure
	Sous-catégorie corrosive 1B	> 3 minutes / ≤ 1 heures	≤ 14 jours
	Sous-catégorie corrosive 1C	> 1 heure / ≤ 4 heures	≤ 14 jours

7. La méthode d'essai de référence validé (7) comporte une limite par rapport à de nombreux produits chimiques non-corrosifs et certains produits chimiques corrosifs pour lesquels la méthode ne pourra pas s'appliquer, selon les résultats de l'essai de compatibilité initial (voir paragraphe 13). Les produits chimiques aqueux dont le pH est compris dans l'intervalle de 4,5 à 8,5, se qualifient rarement pour l'essai ; toutefois, 85 % des produits chimiques testés dans cet intervalle de pH n'étaient pas corrosifs dans

¹ "Dérivé acide" est une désignation de classe non spécifique et est largement défini comme un acide produit à partir d'une substance chimiquement directement ou par modification ou substitution partielle. Cette classe comprend les anhydrides, les acides halogénés, les sels et d'autres types de produits chimiques.

les essais sur animaux (7). Les procédés d'essai *in vitro* sur membrane d'étanchéité peuvent être utilisés pour tester des matières solides (solubles ou insolubles dans l'eau), des liquides (aqueux ou non aqueux) et des émulsions. Néanmoins, les produits chimiques d'essai qui ne provoquent pas de modifications détectables dans l'essai de compatibilité (c'est-à-dire un changement de couleur dans le système de détection chimique (CDS) du procédé d'essai de référence validé) ne peuvent être testés par la méthode d'essai sur membrane d'étanchéité et il faudra donc recourir à d'autres méthodes d'essais.

PRINCIPE DE L'ESSAI

8. Le système d'essai comporte deux éléments, une membrane biologique macromoléculaire synthétique et un CDS ; le procédé d'essai est fondé sur la détection par le CDS de dommages provoqués par des produits chimiques testés corrosifs sur la membrane d'étanchéité après l'application du produit chimique testé sur la surface de la membrane d'étanchéité macromoléculaire synthétique (7), dommages vraisemblablement dus à un ou des mécanismes de corrosion similaire à ceux qui agissent sur la peau vivante.

9. Il convient de mesurer la pénétration de la membrane d'étanchéité (ou sa percée) par plusieurs protocoles ou CDS, en particulier un changement de couleur d'un colorant indicateur de pH ou d'une quelconque autre propriété de la solution indicatrice située sous la barrière.

10. La validité de la membrane d'étanchéité, c'est-à-dire sa pertinence et sa fiabilité, doit être déterminée pour l'utilisation prévue. Il faut ainsi s'assurer que les différentes préparations confèrent effectivement des propriétés d'étanchéité, par exemple, qu'elles sont capables de maintenir une barrière contre des produits chimiques non corrosifs, et aptes à classer des propriétés corrosives des produits chimiques en diverses sous-catégories de corrosivité du SGH des NU (1). La classification attribuée dépend du temps nécessaire à un produit chimique pour pénétrer la membrane d'étanchéité jusqu'à la solution indicatrice.

DÉMONSTRATION DES COMPÉTENCES

11. Avant d'appliquer en routine la méthode d'essai *in vitro* sur membrane d'étanchéité, conformément à la présente Ligne directrice, les laboratoires doivent faire la preuve de leur compétence technique en classifiant correctement les douze produits énumérés au tableau 2. Dans le cas où une substance figurant dans le tableau 2 serait indisponible, où dans d'autres cas où il est justifié de la remplacer par une autre substance (par exemple à partir de la liste de substances de référence (10)), cette autre substance peut être utilisée si des données de référence appropriées *in vivo* et *in vitro* sont disponibles, et dans la mesure où les mêmes critères de sélection que ceux décrits sous le tableau 1 sont utilisés.

Tableau 2 : Liste des produits chimiques d'épreuve de compétence¹

Produit chimique ¹	Numéro CAS	Classe chimique ²	Sous-Cat. SGH de l'ONU d'après les résultats <i>in vivo</i> ³	Sous-Cat. SGH de l'ONU d'après les résultats <i>in vitro</i> ⁴
Trifluorure de bore dihydraté	13319-75-0	acide inorganique	1A	1A
Acide nitrique	7697-37-2	acide inorganique	1A	1A

Produit chimique ¹	Numéro CAS	Classe chimique ²	Sous-Cat. SGH de l'ONU d'après les résultats <i>in vivo</i> ³	Sous-Cat. SGH de l'ONU d'après les résultats <i>in vitro</i> ⁴
Pentachlorure de phosphore	10026-13-8	Précurseur d'acide organique	1A	1A
Chlorure de valéryle	638-29-9	Chlorure d'acide	1B	1B
Hydroxyde de sodium	1310-73-2	Base inorganique	1B	1B
1-(2-Aminoethyl) pipérazine	140-31-8	Amine aliphatique	1B	1B
Chlorure de benzène-sulfonyle	98-09-9	Chlorure d'acide	1C	1C
N,N-diméthyle benzylamine	103-83-3	Aniline	1C	1C
Tetraéthylène pentamine	112-57-2	Amine aliphatique	1C	1C
Eugénol	97-53-0	Phenol	NC	NC
Acrylate de nonyle	2664-55-3	Acrylate/méthacrylate	NC	NC
Bicarbonate de soude	144-55-8	Sel inorganique	NC	NC

¹ La liste des douze produits chimiques présentée ci-dessus contient trois substances de chacune des trois sous-catégories du SGH pour les substances corrosives, et trois substances non corrosives, toutes disponibles dans le commerce ; la sous-catégorisation selon de SGH de l'ONU se base sur des résultats *in vivo* de bonne qualité. Ces substances sont extraites de la liste de 40 substances de référence inclus dans la liste minimale des produits chimiques identifiés pour démontrer la précision et la fiabilité des méthodes d'essai de structure et de fonction similaires à la MRV, et ont été sélectionnées à partir de 163 produits chimiques de référence initialement utilisés pour la validation de la MRV (Corrositex® (7) (10) (14). Le but de cette sélection était d'inclure, dans la mesure du possible, des substances qui : (i) sont représentatives de la gamme des réactions de corrosion provoquées (par exemple non corrosives ; groupe d'emballage I, II, III de l'ONU) que les MRV sont capables de mesurer ou de prévoir ; (ii) sont représentatives des classes chimiques utilisées dans les études de validation ; (iii) ont une structure chimique bien définie ; (iv) permettent d'obtenir des résultats reproductibles avec la MRV ; (v) permettent d'obtenir des résultats définitifs avec la méthode d'essai *in vivo* de référence ; (vi) sont disponibles dans le commerce et (vii) ne sont pas associées à des coûts d'élimination prohibitifs.

² Substances testées pures ou avec une pureté $\geq 90\%$.

³ Les groupes d'emballage de l'ONU correspondants sont les groupes I, II et III respectivement pour les catégories SGH de l'ONU 1A, 1B et 1C.

NC; Non corrosif.

PROTOCOLE

12. Les paragraphes suivants proposent une description des composants et des protocoles d'un procédé d'essai sur membrane d'étanchéité artificielle pour l'évaluation de la corrosivité (7) (15), sur la base de la MRV, i.e. la méthode commercialement disponible Corrositex®. La membrane d'étanchéité et les solutions de compatibilité et indicatrices ainsi que les solutions permettant la catégorisation peuvent être produites, préparées ou obtenues dans le commerce, comme dans le cas de la MRV Corrositex®. Un exemple de protocole de procédé d'essai sur échantillon du procédé d'essai de référence validé est disponible (7). L'essai doit être effectué à température ambiante (17-25 °C) et les composants doivent se conformer aux critères suivants.

Essai de compatibilité du produit chimique testé

13. Avant de procéder à l'essai sur membrane d'étanchéité, un essai de compatibilité est mis en œuvre afin de déterminer si le produit chimique testé est détectable par le CDS. Si ce n'est pas le cas, le procédé d'essai sur membrane d'étanchéité ne convient pas à l'évaluation de la corrosivité potentielle de ce produit chimique testé particulier et il conviendra d'utiliser un autre procédé d'essai. Le CDS et les conditions d'exposition employés pour l'essai de compatibilité doivent reproduire l'exposition subie dans le futur essai sur membrane d'étanchéité.

Essai de catégorie d'échelle de temps du produit chimique testé

14. Si le procédé d'essai le permet, un produit chimique testé qualifié par l'essai de compatibilité peut également subir un essai de catégorie d'échelle de temps, c'est-à-dire un criblage permettant de distinguer entre acides ou bases faibles et forts. Par exemple, dans le procédé d'essai de référence validé, un essai de catégorie d'échelle de temps permet de définir l'une des deux échelles de temps à utiliser selon que l'on détecte une réserve acide ou alcaline significative (pouvoir tampon). Il convient d'utiliser deux échelles de temps de percée différentes pour déterminer la corrosivité et la sous-catégorie de corrosivité cutanée du SGH de l'ONU, en fonction de la réserve acide ou alcaline du produit chimique testé.

Éléments du procédé d'essai sur membrane d'étanchéité

Membrane d'étanchéité

15. La membrane d'étanchéité comprend deux éléments : un gel aqueux macromoléculaire protéique et une membrane de support perméable. Le gel protéique doit être étanche aux liquides et aux solides, mais susceptible d'être corrodé et perméabilisé. Il convient de stocker la membrane d'étanchéité terminée dans des conditions prédéfinies afin d'éviter la détérioration du gel, par exemple, par séchage, croissance microbienne, déplacement des couches, craquelures, qui pourraient nuire à ses performances. On déterminera une période de stockage acceptable et les préparations de membranes d'étanchéité ne seront plus utilisées au-delà.

16. La membrane de support perméable assure un soutien mécanique au gel protéique pendant le processus de gélification et l'exposition au produit chimique testé. La membrane de support doit prévenir tout affaissement ou déplacement du gel et être aisément perméable à tout produit chimique testé.

17. Le gel protéique, composé de protéines, par exemple, kératine, collagène ou mélanges de protéines qui forment une matrice de gel, sert de cible pour le produit chimique testé. Le matériau protéique est placé sur la surface de la membrane de support et se gélifie avant la pose de la membrane d'étanchéité sur la solution indicatrice. L'épaisseur et la densité du gel protéique doivent être uniformes, et le matériau doit être exempt de bulles d'air et de défauts qui pourraient affecter son intégrité fonctionnelle.

Système de détection chimique (CDS)

18. La solution indicatrice, identique à celle utilisée pour l'essai de compatibilité, doit répondre à la présence d'un produit chimique testé. On peut employer un colorant ou une combinaison de colorants indicateurs de pH, par exemple du rouge crésol et de l'orange méthyl, qui change de couleur en présence du produit chimique testé. Le système de mesure peut être visuel ou électronique.

19. Il convient d'évaluer la pertinence et la fiabilité des systèmes de détection développés pour détecter le passage du produit chimique testé à travers la membrane d'étanchéité afin de définir la gamme de produits chimiques testés susceptible d'être détecté et les limites quantitatives de détection.

MISE EN ŒUVRE DE L'ESSAI**Assemblage des éléments de la méthode d'essai**

20. La membrane d'étanchéité est placée dans un flacon (ou un tube) contenant la solution indicatrice de telle sorte que la membrane support soit entièrement au contact de la solution indicatrice en l'absence de toute bulle d'air. On s'assurera du maintien de l'intégrité de la membrane.

Application du produit chimique testé

21. Une quantité appropriée du produit chimique testé, par exemple 500 µl d'un liquide ou 500 mg d'un solide finement pulvérisé (7), est soigneusement déposée sur la surface supérieure de la membrane d'étanchéité et uniformément répartie. Un nombre approprié de répliques, par exemple quatre (7), est préparé pour chaque produit chimique testé et ses témoins correspondants (voir paragraphes 23 à 25). La durée d'application du produit chimique testé à la membrane d'étanchéité est notée. Pour garantir un enregistrement précis des courtes durées de corrosion, les durées d'application du produit chimique testé dans les flacons des répliques sont échelonnées.

Mesure des pénétrations dans la membrane d'étanchéité

22. Chaque flacon est contrôlé de manière adéquate et le moment auquel intervient le premier changement dans la solution indicatrice, c'est-à-dire la pénétration de la membrane d'étanchéité, est noté, et la durée écoulée entre l'application et la pénétration de la membrane d'étanchéité déterminée.

Contrôles

23. Dans les essais qui requièrent l'utilisation d'un véhicule ou d'un solvant avec le produit chimique testé, ceux-ci doivent être compatibles avec le système de membrane d'étanchéité, c'est-à-dire ne pas nuire à l'intégrité du système de membrane d'étanchéité et ne pas modifier la corrosivité du produit chimique testé. Le cas échéant, un témoin de solvant (ou de véhicule) sera soumis à l'essai en même temps que le produit chimique testé afin de démontrer la compatibilité du solvant avec le système de membrane d'étanchéité.

24. Il convient également de soumettre simultanément à l'essai le produit chimique testé et un produit chimique témoin positif (corrosif) dont l'activité de corrosion est intermédiaire, par exemple, 110±15 mg hydroxyde de sodium (sous-catégorie de corrosivité 1B du SGH de l'ONU) (7), afin de vérifier que les performances du système d'essai sont acceptables. Il peut être utile d'inclure un second témoin positif de même classe chimique que le produit chimique testé pour évaluer le potentiel de corrosivité relatif d'un produit chimique testé corrosif. On choisira un ou plusieurs témoins positifs de corrosivité intermédiaire (sous-catégorie 1B du SGH de l'ONU) de manière à déterminer des changements de durée de pénétration éventuellement trop longs ou trop courts par rapport à la valeur de référence établie, et qui signalent par conséquent un fonctionnement incorrect du système d'essai. A cette fin, les produits chimiques extrêmement corrosifs (sous-catégorie 1A du SGH de l'ONU) ou non corrosifs n'ont qu'une utilité limitée. Un produit chimique corrosif de sous-catégorie 1B du SGH de l'ONU doit permettre la détection d'une durée de percée trop courte ou trop longue. Il est possible d'employer un produit chimique faiblement corrosif (sous-catégorie 1C du SGH de l'ONU) comme témoin positif pour mesurer l'aptitude du procédé d'essai à distinguer systématiquement les produits chimiques faiblement corrosives des produits chimiques non corrosives. Quelle que soit l'approche utilisée, il est nécessaire de définir un intervalle acceptable de réponses des témoins positifs fondé sur l'intervalle historique des durées de percée de la ou des témoins positives employées, par exemple sous la forme moyenne ± 2-3 écarts types. Dans chaque étude, il

convient de déterminer la durée de percée exacte du témoin positif de manière à pouvoir détecter des écarts hors de l'intervalle acceptable.

25. On testera également des témoins négatives (non corrosifs), par exemple acide citrique 10 % , acide propionique 6 % (7) parallèlement au produit chimique testé pour obtenir une mesure de contrôle de qualité supplémentaire démontrant l'intégrité fonctionnelle de la membrane d'étanchéité.

Critères d'acceptabilité de l'étude

26. Conformément aux paramètres de durée établis pour chaque sous-catégorie de corrosivité du SGH de l'ONU, la durée (en minutes) écoulée entre l'application du produit chimique testé sur la membrane d'étanchéité et la pénétration de la membrane est utilisée pour prédire la corrosivité du produit chimique testé. Pour qu'une étude soit jugée acceptable, le témoin positif correspondant doit donner la durée de réponse de pénétration attendue (par exemple 8-16 min. de temps de pénétration pour l'hydroxyde de soude si cette substance est utilisée comme témoin positif), le témoin négatif correspondant ne doit pas être corrosif et, le témoin de solvant correspondant éventuellement ne doit pas présenter de corrosivité ni altérer le potentiel de corrosivité du produit chimique testé. Avant d'introduire l'utilisation en routine d'une méthode d'essai conforme à cette ligne directrice pour les essais, certains laboratoires estimeront souhaitable d'éprouver leurs compétences techniques à l'aide des 12 produits chimiques recommandés dans le tableau 2. Dans le cas des nouvelles méthodes d'essai similaires développés dans le cadre de cette ligne directrice pour les essais, structurellement et fonctionnellement similaires à la méthode d'essai de référence validée (14), les normes de performance pré-définies décrites seront utilisés pour démontrer la fiabilité et la précision du nouveau procédé d'essai avant son application aux essais réglementaires (10).

Interprétation des résultats et classification de corrosivité des produits chimiques testés

27. La durée (en minutes) écoulée entre l'application du produit chimique testé à la membrane d'étanchéité et la pénétration de la membrane est utilisée pour classer le produit chimique testé en sous-catégories de corrosivité selon le SGH de l'ONU (1) et, le cas échéant, dans un groupe d'emballage ONU (16). Les valeurs de durée limites de chacune des trois sous-catégories de corrosivité sont définies pour chaque procédé d'essai proposé. Les décisions ultimes d'établissement des durées limites seront adoptées en s'efforçant de minimiser une sous-classification du risque corrosif (c'est-à-dire des faux négatifs). Dans la présente Ligne directrice, les temps limites de la méthode Corrositex® tels que décrits dans le tableau 3 doivent être utilisés car cette méthode est actuellement la seule décrite au sein de cette Ligne directrice (7).

Tableau 3. Modèle de prédiction de Corrositex®

Temps de pénétration moyen (min).		
Catégorie 1 de produits chimiques testés ¹ (déterminée par le test de catégorisation de la méthode)	Catégorie 2 de produits chimiques testés ² (déterminée par le test de catégorisation de la méthode)	Prédiction selon le SGH de l'ONU ³
0-3 min.	0-3 min.	Corrosif, sous-catégorie 1A optionnelle
>3 to 60 min.	>3 to 60 min.	Corrosif, sous-catégorie 1B optionnelle
>60 to 240 min.	>30 to 60 min.	Corrosif, sous-catégorie 1C optionnelle
> 240 min.	> 60 min.	Non corrosif

¹ Produit chimique possédant une forte réserve acide ou alcaline (6).

² Produit chimique possédant une faible réserve acide ou alcaline (6).

³ Sous-catégories 1A, 1B, 1C du SGH de l'ONU correspondant aux groupes d'emballage I, II et III.

RÉSULTATS ET RAPPORTS

Résultats

28. La durée (en minutes) écoulée entre l'application et la pénétration de la membrane par le produit chimique testé et le ou les témoins positifs est rapportée sous forme de tableaux contenant les résultats individuels de chaque réplique et la moyenne \pm écart type pour chaque essai.

Rapport d'essai

29. Le rapport d'essai doit contenir les informations suivantes :

Substance mono-constituant

- Identification chimique : désignation(s) IUPAC ou CAS, numéro(s) CAS, code SMILES ou InChI, formule structurale et/ou autres identifiants, pureté, identité chimique des impuretés s'il y a lieu et si les conditions pratiques le permettent;

Substance multi-constituants, UVCB ou mélange :

- Caractérisation, dans la mesure du possible, par exemple par l'identité chimique (voir ci-dessus), la pureté, les caractéristiques quantitatives et les propriétés physico-chimiques pertinentes (voir ci-dessus) des constituants, selon les données disponibles ;
- Apparence physique, hydrosolubilité, solubilité dans le DMSO et autres propriétés physico-chimiques pertinentes, selon les données disponibles ;
- Source et numéro de lot si disponible ;
- Traitement du produit chimique testé ou de la substance de contrôle avant la conduite de l'essai, s'il y a lieu (par exemple chauffage, broyage) ;
- Stabilité du produit chimique testé, date de péremption, ou date de vérification analytique si disponible ;
- Conditions de stockage et stabilité, selon les données disponibles.

Véhicule

- Identification, concentration (s'il y a lieu), volume utilisé ;
- Justification pour le choix du véhicule ;

Modèle de membrane d'étanchéité *in vitro* et du protocole, en particulier démonstration de leur précision et de leur fiabilité

Conditions d'essais :

- description de l'appareil et des protocoles de préparation utilisés ;
- source et composition de la membrane d'étanchéité *in vitro* utilisée ;
- composition et propriétés de la solution indicatrice ;
- méthode de détection ;
- quantités de substance d'essai et de contrôle ;
- nombre de répliques ;
- description et justification de l'essai de catégorisation d'échelle de temps ;
- méthode d'application ;
- durées d'observation ;
- description de l'évaluation de des critères de classification appliqués ;
- démonstration de la compétence dans la mise en œuvre de la méthode d'essai avant son utilisation routinière au moyen des substances d'épreuve de compétence.

Résultats :

- présentation sous forme de tableau des données brutes individuelles issues de chaque échantillon d'essai et de contrôle individuel pour chaque réplique ;
- descriptions des autres effets observés ;
- classification obtenue en lien avec les critères du modèle prédictif/décisionnel employé.

Discussion des résultats

Conclusions.

BIBLIOGRAPHIE

- (1) Nations Unies (UN). (2013). Système Général Harmonisé de Classification et d'Étiquetage des Produits Chimiques (SGH), Première Édition Révisée, UN New York et Genève, 2013. [http://www.unece.org/trans/danger/publi/ghs/ghs_rev05/05files_f.html].
- (2) OCDE. (2015). Ligne directrice pour les essais de produits chimiques. Ligne directrice (No. 404.) : Effet irritant/corrosif aigu sur la peau. Organisation de Coopération et de Développement Économiques, Paris.
- (3) OCDE. (2015).. Ligne directrice de l'OCDE pour les essais de produits chimiques. Ligne directrice (No. 431.) : Corrosion cutanée *In Vitro* : Essai sur Modèle de Peau Humaine. Organisation de Coopération et de Développement Économiques, Paris.
- (4) OCDE. (2015). Lignes directrices pour les essais de produits chimiques Ligne directrice (No. 430.) : Corrosion Cutanée *In Vitro* : Essai de Résistance Électrique Transcutanée (RET). Organisation de Coopération et de Développement Économiques, Paris.
- (5) OECD (2014). Guidance Document on Integrated Approaches to Testing and Assessment.. Series on Testing and Assessment, (No. 203). Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.
- (6) Fentem, J.H., Archer, G.E.B., Balls, M., Botham, P.A., Curren, R.D., Earl, L.K., Esdaile, D.J., Holzhutter, H.-G. and Liebsch, M. (1998). The ECVAM International Validation Study on *In Vitro* Tests for Skin Corrosivity. 2. Results and Evaluation by the Management Team. *Toxicology In Vitro* 12, 483-524.
- (7) ICCVAM. (1999). Corrositex®. An *In Vitro* Test Method for Assessing Dermal Corrosivity Potential of Chemicals. The Results of an Independent Peer Review Evaluation Coordinated by ICCVAM, NTP and NICEATM. NIEHS, NIH Publication No. 99-4495.
- (8) Gordon V.C., Harvell J.D. and Maibach H.I. (1994). Dermal Corrosion, the Corrositex® System: A DOT Accepted Method to Predict Corrosivity Potential of Test Materials. *In vitro* Skin Toxicology-Irritation, Phototoxicity, Sensitization. *Alternative Methods in Toxicology* 10, 37-45.
- (9) OECD. (2005). Guidance Document on the Validation and International Acceptance of New or Updated Test Methods for Hazard Assessment, . Series on Testing and Assessment (No. 34.) Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.
- (10) Performance Standards for the Assessment of Proposed Similar or Modified *In Vitro* Membrane Barrier Test Method for Skin Corrosion in Relation to TG 435. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.
- (11) ECVAM. (2001). Statement on the Application of the CORROSITEX® Assay for Skin Corrosivity Testing. 15th Meeting of ECVAM Scientific Advisory Committee (ESAC), Ispra, Italy. *ATLA* 29(2), 96-97.
- (12) U.S. DOT. (2002). Exemption DOT-E-10904 (Fifth Revision). (September 20, 2002). Washington, D.C., U.S. DOT. Available: [<http://www.hazmat.dot.gov/exemptions/E10904.pdf>].
- (13) OECD. (2015). OECD Guideline for the Testing of Chemicals (No. 439.): *In vitro* Skin Irritation: Reconstructed Human Epidermis Test Method. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.

- (14) ICCVAM. (2004). ICCVAM Recommended Performance Standards for *In Vitro* Test Methods for Skin Corrosion. NIEHS, NIH Publication No. 04-4510. Available at: [http://www.ntp.niehs.nih.gov/iccvam/docs/dermal_docs/ps/ps044510.pdf].
- (15) U.S. EPA. (1996). Method 1120, Dermal Corrosion. Available at: [<http://www.epa.gov/osw/hazard/testmethods/sw846/pdfs/1120.pdf>].
- (16) United Nations (UN). (2013). UN Recommendations on the Transport of Dangerous Goods, Model Regulations, 18th revised edition (Part, chapter 2.8), UN, 2013. Available at: [http://www.unece.org/fileadmin/DAM/trans/danger/publi/unrec/rev18/English/Rev18_Volume1_Part2.pdf].

ANNEXE 1DÉFINITIONS

Corrosion cutanée *in vivo* : survenue de lésions irréversibles de la peau. En l'occurrence, il s'agit de nécrose visible, à travers l'épiderme et jusque dans le derme, suite à l'application d'une substance d'essai pendant une durée allant jusqu'à quatre heures. Les réactions corrosives se traduisent généralement par des ulcères, des saignements, des croûtes sanguinolentes et, à la fin de la période d'observation, soit à 14 jours, par une décoloration due au blanchissement de la peau, des zones complètes d'alopécie, et des cicatrices. Un examen histopathologique peut être envisagé pour évaluer les lésions sujettes à questionnement.

Fiabilité : Mesure de la reproductibilité de l'essai mis en œuvre, au sein d'un laboratoire et entre des laboratoires, au cours du temps, en utilisant le même mode opératoire. Elle est évaluée par calcul de la reproductibilité intra-laboratoire et inter-laboratoires et de la répétabilité intra-laboratoire. (7)(8)(10).

IATA : Approches Intégrées d'Essai et d'Evaluation.

Mélange : mélange ou solution composée de deux substances ou plus, qui ne réagissent pas entre elles.

Normes de performance : Normes, basées sur un procédé d'essai validé, pour l'évaluation de la comparabilité d'un procédé d'essai proposé similaire en termes de propriétés mécanistiques et fonctionnelles. Sont inclus dans ces normes (1) les éléments essentiels de la méthode d'essai ; (2) une liste minimale de produits chimiques de référence choisis parmi les produits chimiques utilisés pour démontrer la performance correcte du procédé d'essai validé ; et (3) des niveaux de précision et de fiabilité comparables à ceux obtenus pour la méthode d'essai validée, que la méthode d'essai proposée doit présenter lorsqu'on l'évalue à l'aide des produits chimiques de référence de la liste minimale.

NC : non corrosif

Pertinence : Description de la relation entre l'essai et l'effet étudié, et détermination de son adéquation et de son utilité dans un objectif particulier. Elle définit le degré auquel l'essai mesure ou prédit correctement l'effet biologique d'intérêt. La pertinence tient compte de la précision (concordance) d'un procédé d'essai. (7)(8)(10).

Produit chimique : substance ou mélange.

Produit chimique testé : ce qui est testé.

Précision : conformité entre les résultats du procédé d'essai et les valeurs de référence acceptées. Elle constitue une mesure de performance du procédé d'essai et l'un de ses aspects de pertinence. Le terme est souvent utilisé indifféremment avec le terme "concordance" pour qualifier la proportion de résultats corrects d'un procédé d'essai. (7)(8)(10).

Système de détection chimique (CDS) : Système de mesure visuelle ou électronique employant une solution indicatrice qui répond en présence d'un produit chimique testé, par exemple, par une modification d'un colorant indicateur de pH, ou d'une combinaison de ces colorants, qui change de couleur en réponse à la présence d'un produit chimique testé, ou par d'autres types de réactions chimiques ou électrochimiques.

SGH : (Système général harmonisé de classification et d'étiquetage des produits chimiques) : système proposant la classification des produits chimiques (substances et mélanges) conformément à des types et des niveaux normalisés de dangers physiques, sanitaires et environnementaux, la communication des

éléments d'information correspondants, par exemple, des pictogrammes, des mentions d'avertissement, des mentions de danger, conseils de prudence et des fiches de données de sécurité, afin de diffuser des informations sur leurs effets indésirables dans l'objectif de protéger les personnes (en particulier les employeurs, les employés, les transporteurs, les consommateurs et les personnels des services d'urgence) ainsi que l'environnement (1).

Sensibilité : Proportion des substances positives (et actives) correctement classées par l'essai. Il s'agit d'une mesure de la précision d'une méthode d'essai qui produit des résultats catégoriels, et c'est un paramètre qu'il est important de considérer lors de l'évaluation de la pertinence d'une méthode d'essai.

Spécificité : Proportion des substances négatives (ou inactives) correctement classées par l'essai. Il s'agit d'une mesure de la précision d'une méthode d'essai qui produit des résultats catégoriels, et c'est un paramètre qu'il est important de considérer lors de l'évaluation de la pertinence d'une méthode d'essai.

Substance : élément chimique et ses composés à l'état naturel ou obtenus par un processus de fabrication, y compris tout additif nécessaire pour préserver la stabilité du produit et toute impureté résultant du processus mis en œuvre, à l'exclusion de tout solvant pouvant être séparé de la substance sans affecter sa stabilité ni modifier sa composition.

Substance mono-constituant : une substance, définie par sa composition quantitative, dans laquelle un des constituants principaux est présent à hauteur d'au moins 80% (m/v).

Substance multi-constituant : une substance, définie par sa composition quantitative, dans laquelle plus d'un constituant figure à une concentration supérieure ou égale à 10% (m/v) and inférieure ou égale à 80% (m/v). Une substance multi-constituant est le résultat d'un processus de manufacture. La différence entre un mélange et une substance multi-constituant est que le mélange est obtenu en mélangeant deux substances ou plus sans que celles-ci réagissent entre elles.. une substance multi-constituant est le résultat d'une réaction chimique.

Corrosion cutanée : Survenue de lésions irréversibles de la peau, elle se manifeste sous forme d'une nécrose visible dans l'épiderme et jusqu'au derme, suite à l'application d'une substance d'essai (1).