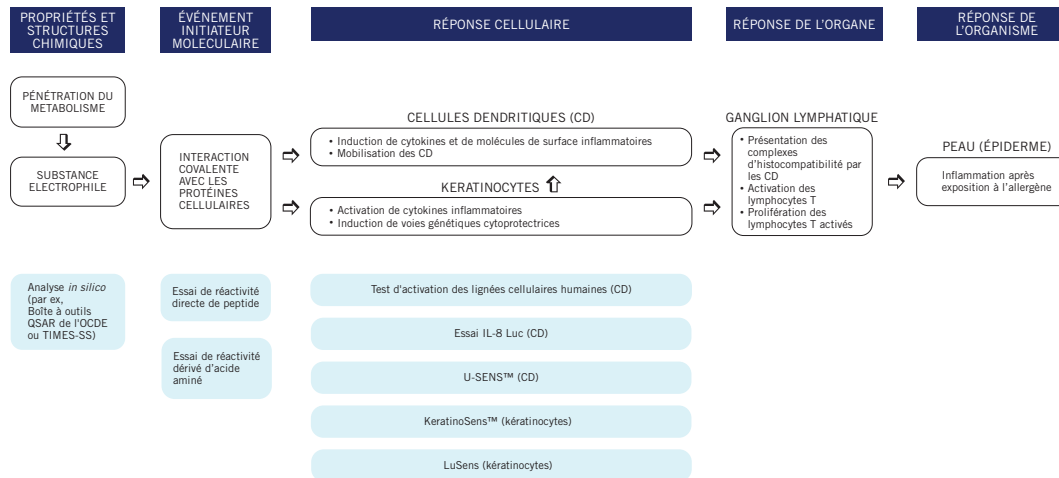


MÉTHODES *IN VITRO* ET *IN CHEMICO* POUR PRÉDIRE LA SENSIBILISATION DE LA PEAU

La voie toxicologique impliquée dans les effets indésirables (AOP) pour la sensibilisation de la peau induite par la liaison covalente aux protéines



MÉTHODE	PRINCIPE DU TEST	DOMAINE D'APPLICABILITÉ	CATÉGORISATION SGH
OCDE LD 442c : Sensibilisation cutanée <i>in chemico</i> – essais portant sur l'événement clé AOP relatif à l'établissement d'une liaison covalente avec les protéines	L'essai de réactivité peptidique directe (DPRA) et l'essai de réactivité à des dérivés d'acides aminés (ADRA) sont des méthodes <i>in chemico</i> qui s'intéressent à l'événement moléculaire déclencheur du AOP pour la sensibilisation cutanée en quantifiant, par CLHP couplée à un détecteur UV, la déplétion de peptides de synthèse contenant de la cystéine ou de la lysine, dans le cas du DPRA, et le N-(2-(1-naphtyl)acétyl)-L-cystéine (NAC), dérivé de la cystéine, ou l' α -N-(2-(1-naphtyl)acétyl)-L-lysine (NAL), dérivé de la lysine, dans le cas de l'essai ADRA, après une exposition de 24 heures au produit chimique d'essai. Les taux de déplétion, en pourcentage, des peptides contenant de la lysine ou de ses dérivés sont calculés et utilisés dans des modèles de prévision, afin d'aider à distinguer les sensibilisants des non sensibilisants cutanés.	Applicable aux produits chimiques solubles dans un solvant approprié, par exemple l'acétonitrile, l'eau, l'isopropanol et l'acétone. Peut être utilisée pour des mélanges de substances connues mais pas de substances inconnues. Ne peut pas être utilisée pour les métaux car on sait qu'ils réagissent avec les protéines par des mécanismes autres que la liaison covalente ; de plus, ne peut être utilisée pour des produits de réaction complexes ni des matériaux biologiques. Les produits chimiques qui nécessitent une bioactivation enzymatique pour exercer leur potentiel de sensibilisation sur la peau ne peuvent pas non plus être détectés.	Soutenir la discrimination entre les sensibilisants cutanés (SGH Cat 1) et les non sensibilisants, dans le cadre des approches intégrées en matière d'essais et d'évaluation (IATA)
OCDE LD 442d : Essais de sensibilisation cutanée <i>in vitro</i> portant sur l'événement clé AOP relatif à l'activation des kératinocytes	Les méthodes KeratinoSens™ et LuSens portent sur le deuxième événement clé de l'AOP pour la sensibilisation cutanée en utilisant une lignée de cellules adhérentes immortalisées dérivées de kératinocytes humains transfectés de manière stable avec un plasmide sélectionnable. La lignée cellulaire contient le gène de la luciférase sous le contrôle transcriptionnel d'un promoteur constitutif fusionné à l'ARE d'un gène dont on sait qu'il est régulé à la hausse par les sensibilisateurs de contact – ce qui permet une mesure quantitative (par détection de luminescence) de l'induction du gène de la luciférase.	Applicable aux produits chimiques qui sont solubles ou qui forment une dispersion stable dans l'eau ou le DMSO. Peut être utilisé pour tester des substances et des mélanges à plusieurs constituants. Les produits chimiques hautement cytotoxiques ou les produits qui interfèrent avec l'enzyme luciférase ne peuvent pas toujours être évalués de manière fiable par cette méthode.	Soutenir la discrimination entre les sensibilisants cutanés (SGH Cat 1) et les non sensibilisants dans le cadre d'IATA.
OCDE LD 442e : Essais de sensibilisation cutanée <i>in vitro</i> portant sur l'événement clé AOP relatif à l'activation des cellules dendritiques	L'essai h-CLAT porte sur le troisième événement clé de l'AOP pour la sensibilisation cutanée, correspondant à l'activation des CD immatures en réponse à un sensibilisant, après quoi ces cellules migrent vers les ganglions lymphatiques et subissent un processus de maturation ; la régulation à la hausse des CD86 et des CD54 est un signe de cette maturation. Cet essai mesure l'expression des CD86 et CD54 dans les cellules THP-1 (cellules humaines de lignée cellulaire de leucémie monocyttaire) après une exposition de 24 heures au produit chimique d'essai, par cytométrie de flux après coloration des cellules avec des anticorps marqués par fluorescence. La méthode U-SENS™ aborde le troisième événement clé de l'AOP pour la sensibilisation cutanée en quantifiant les changements dans l'expression des CD86 dans la lignée cellulaire de lymphome histiocyttaire humain, U937. CD86 est un marqueur de surface cellulaire associé à l'activation des monocytes et des CD dans les cellules U937 suite à une exposition aux sensibilisants cutanés. Après une exposition de 45 heures au produit chimique testé, l'expression de CD86 est mesurée par cytométrie de flux après coloration des cellules avec des anticorps marqués par fluorescence. L'essai IL-8 Luc porte sur le troisième événement clé de l'AOP pour la sensibilisation cutanée, en utilisant la lignée cellulaire THP-G8. Les cellules THP-G8 sont dérivées de la lignée cellulaire humaine de leucémie monocyttaire aiguë, THP-1, et contiennent un gène de luciférase sous le contrôle du promoteur de l'IL-8. L'IL-8 est une cytokine associée à l'activation des CD, et cet essai permet de quantifier l'induction du gène de la luciférase comme indicateur de l'activité de l'IL-8.	Applicable aux produits chimiques qui sont solubles ou forment une dispersion stable dans une solution saline, un milieu de culture ou du DMSO. Peut être utilisé pour tester des substances et des mélanges à plusieurs constituants. Dans les cas où un produit chimique d'essai fortement fluorescent émet à la même longueur d'onde que le FITC ou que le PI, un autre anticorps marqué avec un fluorochrome doivent être utilisés. Applicable aux produits chimiques qui sont solubles ou forment une dispersion stable dans un solvant approprié. Peut être utilisé pour tester des substances et des mélanges à plusieurs constituants. Des résultats positifs pour les agents de surface doivent être considérés avec prudence. Dans les cas où un produit chimique d'essai fortement fluorescent émet à la même longueur d'onde que le FITC ou que le PI, un autre anticorps marqué avec un fluorochrome doit être utilisé. Applicable aux produits chimiques qui sont solubles dans X-VIVO™ 15 (Lonza) ou d'autres solvants lorsqu'il existe une justification scientifique suffisante. Peut être utilisé pour tester des substances et des mélanges à plusieurs constituants. Les résultats négatifs pour les sensibilisants respiratoires doivent être interprétés avec prudence. Ne peut pas être utilisé pour les détergents.	Soutenir la discrimination entre les sensibilisants cutanés (SGH Cat 1) et des non sensibilisants dans le cadre d'IATA.

Lectures complémentaires

- Organisation pour la coopération et le développement économique. 2016. Guidance Document on the Reporting of Defined Approaches and Individual Information Sources to Be Used Within Integrated Approaches to Testing and Assessment (IATA) for Skin Sensitisation. No 256. Series on Testing and Assessment. Voir aussi Annexe 1 et Annexe 2.
- Organisation pour la coopération et le développement économique. 2012. The Adverse Outcome Pathway for Skin Sensitisation Initiated by Covalent Binding to Proteins. No 168. Series on Testing and Assessment. Part 1, Part 2.
- US Environmental Protection Agency. 2018. Interim Science Policy: Use of Alternative Approaches for Skin Sensitization as a Replacement for Laboratory Animal Testing.
- L'Agence européenne des produits chimiques (ECHA). 2017. Guidance on information requirements and chemical safety assessment. Chapter R.7a: Endpoint specific guidance. Version 6.0. Voir R.7.3.4–R.7.3.7.