

## INTRODUCTION

Alors que les produits cosmétiques à destination de l'Homme suivent une législation et une réglementation particulières formulées dans le chapitre : 'Autres produits et substances pharmaceutiques réglementés' extrait du livre premier de la cinquième partie, consacré aux produits de santé, du Code de la Santé Publique (C.S.P.), les produits d'hygiène pour animaux – qui ne sont pas considérés comme des 'cosmétiques' - ne sont soumis à aucune loi particulière si ce n'est les règles générales formulées au sein du code de la consommation et intéressant tous les produits.

Le but de cette thèse est l'élaboration d'un dossier en vue de la fabrication et de la commercialisation d'un shampoing d'entretien pour chien en suivant les dispositions législatives et réglementaires françaises prévues pour un shampoing à destination de l'Homme. Il est fort probable que dans un avenir proche, les considérations en faveur du bien-être animal vont orienter les législateurs vers une réglementation concernant ces produits à destination de l'animal et que les textes concernant les produits cosmétiques à destination de l'Homme serviront de bases à son élaboration.

Cette réglementation ne devra pas être considérée comme une contrainte établissant une quelconque discrimination entre les entreprises qui pourront s'y soumettre (c'est-à-dire les grandes firmes) et celles qui, par faute de moyen, ne pourront que difficilement l'appliquer (c'est-à-dire les petites unités de production). Elle n'aura pour but que de garantir la qualité du produit fini afin d'éviter tout préjudice pour la santé de l'animal.

Dans une première partie, nous allons nous intéresser aux dispositions législatives et réglementaires relatives aux produits cosmétiques humains qui pourront servir de modèles législatifs pour les produits d'hygiène pour animaux (dont font partie les shampoings).

Dans une seconde partie, nous allons nous attacher à l'élaboration d'un dossier concernant une formulation précise d'un shampoing d'entretien pour chien en ayant

préalablement rappelé sa fonction et les qualités requises, compte tenu de la particularité de la peau du chien. Une attention particulière sera apportée aux méthodes qui visent à réduire, voire à supprimer l'expérimentation animale des tests biologiques d'innocuités des cosmétiques humains, méthodes qui, dans le futur, serviront vraisemblablement à évaluer l'innocuité des produits d'hygiène pour animaux tels que les shampooings pour chiens.

Enfin, ce travail constitue la base d'informations qui pourrait permettre au responsable de la pharmacie centrale de l'E.N.V.A. de mettre au point un shampooing spécifique pour les chiens venant en consultation à l'école.

## **PARTIE I. : Les bases réglementaires de l'élaboration d'un dossier de cosmétiques vétérinaires**

Pour jeter les bases de la réalisation d'un dossier de cosmétiques vétérinaires, il faut se référer à des textes réglementaires. Nous avons sélectionné les dispositions et les recommandations de la législation des cosmétiques humains que nous jugeons transposable aux produits d'hygiène pour animaux.

### ***I. Dispositions législatives et réglementaires françaises concernant les cosmétiques***

L'ensemble de ces informations sont détaillées dans un fascicule (17) édité par les Journaux Officiels, dont la couverture est présentée en ***annexe 1***.

#### **A. Définition d'un produit cosmétique**

La définition d'un produit cosmétique est donnée par l'article L.5131-1 du Code de la Santé Publique :

*« On entend par produit cosmétique toute substance ou préparation destinée à être mise en contact avec les diverses parties superficielles du corps humain, notamment l'épiderme, les systèmes pileux et capillaire, les ongles, les lèvres et les organes génitaux externes, ou avec les dents et les muqueuses buccales, en vue, exclusivement ou principalement, de les nettoyer, de les parfumer, d'en modifier l'aspect, de les protéger, de les maintenir en bon état ou de corriger les odeurs corporelles. »*

Une telle définition pourrait s'appliquer aux produits d'hygiène pour animaux en le spécifiant dans la définition. Actuellement, on parle de produits d'hygiène pour animaux, ce

qui permet aux industriels d'éviter tout rapprochement avec la législation des cosmétiques humains.

Cet article définit le produit cosmétique par deux points caractéristiques : son action et son terrain d'action. Dans le cas d'un shampoing d'entretien pour chien, le terrain d'action est constitué par le poil et la peau de l'animal et son action consiste à nettoyer et à protéger le poil et la peau.

## **B. Conditions de mise sur le marché**

Elles sont spécifiées dans les articles suivants :

### **Article L.5131-6**

*« Un produit cosmétique ne peut être mis sur le marché à titre gratuit ou onéreux que :*

- *si son récipient et son emballage comportent le nom ou la raison sociale et l'adresse du fabricant ou du responsable de la mise sur le marché, établi dans un état membre de la Communauté européenne ou partie à l'accord sur l'Espace économique européen, ainsi que les autres mentions prévues par le décret mentionné au 1° de l'article L.5131-9 » ;*

### **Article L.5131-9 :**

*« Les modalités d'application du présent chapitre sont déterminées par décret en Conseil d'Etat et notamment :*

*1° Après avis du Conseil national de la consommation, les règles auxquelles doivent satisfaire les récipients et emballages des produits cosmétiques afin que soient lisibles et indélébiles le nom ou la raison sociale ainsi que l'adresse du fabricant ou du responsable de la mise sur le marché, le contenu nominal du produit ; sa date de durabilité minimale, les précautions d'emploi, la numérotation des lots de fabrication ou la référence permettant l'identification de la fabrication ; la fonction du produit, sauf si celle-ci ressort de la présentation du produit, la liste des ingrédients conformes à la nomenclature commune arrêtée par la Commission européenne ainsi que les règles applicables à la publicité pour ces produits lorsqu'il est fait référence à l'animal. »*

Cette première partie indique les obligations relatives à l'identification du produit ainsi qu'à l'identification de l'entité productrice. Elle concerne les règles d'étiquetage.

Suite de l'article L.5131-6

- « ...et si le fabricant, ou son représentant, ou la personne pour le compte de laquelle le produit cosmétique est fabriqué, ou le responsable de la mise sur le marché d'un produit cosmétique importé pour la première fois d'un état non membre de la Communauté européenne ou non partie à l'accord sur l'Espace économique européen tient effectivement à la disposition des autorités de contrôle, ..., un dossier rassemblant toutes informations utiles au regard des dispositions des articles L.5131-4 et L.5131-5, notamment sur la formule qualitative et quantitative, les spécifications physicochimiques et microbiologiques, les conditions de fabrication et de contrôle, l'évaluation de la sécurité pour la santé humaine, les effets indésirables de ce produit cosmétique et les preuves de ses effets revendiqués lorsque la nature de l'effet ou du produit le justifie. »

Article L.5131-4 :

*« Les produits cosmétiques mis sur le marché ne doivent pas nuire à la santé humaine lorsqu'ils sont appliqués dans les conditions normales ou raisonnablement prévisibles d'utilisation compte tenu, notamment, de la présentation du produit, des mentions portées sur l'étiquetage ainsi que toutes autres informations destinées au consommateur. »*

Article L.5131-5 :

*« La fabrication des produits cosmétiques doit être réalisée en conformité avec les Bonnes Pratiques de Fabrication (B.P.F.) dont les principes sont définis par arrêté des ministres chargés de l'artisanat, de la consommation, de l'industrie et de la santé, pris sur proposition de l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé. L'évaluation de la sécurité pour la santé humaine de ces produits doit être exécutée en conformité avec les bonnes pratiques de laboratoires dont les principes sont définis dans les mêmes conditions. »*

L'article L.5131-6 précise clairement la nécessité de constitution d'un dossier cosmétique ainsi que son contenu. Ce dossier, unique pour chaque formulation, indiquera :

- la formule qualitative et quantitative du produit,
- les conditions de fabrication,
- les conditions de contrôle,

- les spécifications physicochimiques et microbiologiques,
- l'évaluation de la sécurité du produit et de ses effets indésirables.

Avant de nous intéresser à la formulation qualitative et quantitative de notre produit, nous allons préciser les conditions de fabrication et de contrôle des produits cosmétiques. En effet, la production et les contrôles effectués (contrôles physico-chimiques, microbiologiques et tests d'innocuité) doivent suivre des règles de bonnes pratiques, comme il l'est précisé dans l'article L.5131-5. Ces règles de bonnes pratiques seront détaillées ci-après.

### Conclusion

On s'aperçoit que la législation prévue pour les cosmétiques humains peut être reprise, après quelques modifications, afin d'élaborer une base législative pour les produits d'hygiène destinés aux animaux.

## ***II. Lignes directrices des Bonnes Pratiques***

### **A. Bonnes Pratiques de production des produits cosmétiques**

Il existe, depuis octobre 1978, un document élaboré par la Commission Nationale de Pharmacopée et intitulé « Pratiques de Bonnes Fabrications » (B.P.F.) qui est détaillé, en ce qui concerne les cosmétiques, dans la partie ci-dessous. Ce document est destiné à l'industrie car, précise la préface de ce livret :

*« ... le contrôle 'in fine' ne peut offrir de garantie complète que s'il s'intègre dans un cadre plus général précisant minutieusement les conditions de fabrication... ».*

Les présentes lignes directrices (21) sont le résultat d'une étude commandée par le Comité d'Experts sur les produits cosmétiques du Conseil de l'Europe. La publication de lignes directrices a pour objet de fournir un modèle aux états membres que chaque gouvernement peut interpréter conformément à sa propre législation et pratique en la matière. On retrouvera tous les détails dans un recueil publié par les Journaux Officiels de la République Française sous le titre : « Bonnes pratiques de fabrication des produits de santé ».

Ce recueil propose des conseils d'organisation et de pratiques permettant la maîtrise des facteurs humains, techniques et administratifs ayant une incidence sur la qualité des produits. Ces recommandations incitent les entreprises à mettre en place leur système qualité en leur proposant une démarche. Elles énoncent un ensemble de conditions dans lesquelles devraient s'accomplir les différentes étapes du processus de production. Elles décrivent les activités qui concourent à la maîtrise de la qualité. Elles se limitent à l'aspect production après que le produit a été défini et mis au point par le développement. La production inclut toutes les étapes depuis l'achat des composants jusqu'à la sortie des produits conditionnés.

Ces lignes directrices se veulent de portée générale et laissent la porte ouverte :

- aux développements technologiques concernant les matériels et les installations de fabrication, de conditionnement, et de contrôle ;
- aux progrès en matière de procédés de fabrication et en matière de techniques de conditionnement ;
- à l'évolution des organisations de production.

Il appartient à chaque entreprise, indépendamment de sa taille, de les adapter à ses propres spécificités tout en respectant la sécurité du personnel et de l'environnement. L'application de ces lignes directrices repose sur l'engagement de la direction et implique la mise à la disposition de moyens appropriés, notamment au niveau du personnel, des locaux et du matériel.

### 1) Le système qualité

---

Pour atteindre les objectifs qu'elle s'est fixés en matière de qualité, il est nécessaire qu'une entreprise ait conçu, mis en place puis entretienne un système qualité documenté et adapté à ses activités, à la nature de ses produits et soutenu par la direction de l'entreprise.

Au niveau de la production, il s'agit d'un ensemble comprenant la structure organisationnelle, les responsabilités, les ressources disponibles, les procédures et les procédés pour mettre en œuvre la gestion de la qualité.

La structure organisationnelle doit être clairement établie pour permettre de comprendre l'organisation et le fonctionnement de l'entreprise. Elle doit tenir compte de l'importance de l'établissement et de la plus ou moins grande diversité de sa production. L'entreprise doit disposer des ressources suffisantes et appropriées en personnel, locaux installations, matériels et administration.

Le système qualité exige une analyse des anomalies, la mise en œuvre d'actions correctives, d'amélioration et de suivi.

### ***(a) Le personnel***

Le personnel doit :

- savoir se situer dans la structure organisationnelle ;
- connaître les responsabilités et les tâches qui lui sont confiées ;
- disposer des instructions, des informations et des données relatives à l'étape de la production le concernant ;
- être incité en permanence à signaler toute anomalie et constat de non-conformité dans chaque étape de la production ;
- se conformer à certaines pratiques en matière d'hygiène individuelle et à des instructions concernant la façon de travailler et de conduire les opérations.

Tous les moyens visant à accroître les compétences et la motivation de l'ensemble du personnel doivent être mis en place : la formation continue et l'élimination des entraves à la communication.

### ***(b) Le bâtiment***

Les locaux doivent être conçus, réalisés et aménagés de façon à satisfaire les conditions qu'imposent les activités auxquelles ils sont destinés. Ils doivent permettre :

- de maintenir l'ordre ;
- des conditions convenables de température et de bonnes conditions d'hygiène (par exemple éviter les risques d'eau stagnante, les poussières dans l'atmosphère, la présence d'insectes et autres animaux, l'accumulation de saleté et faciliter le nettoyage et la désinfection) ;
- d'éviter que les matériaux ne résistant pas à la corrosion soient en contact avec le produit ;
- de fournir des conditions d'éclairage naturel et ou artificiel valables, un nombre suffisant de lavabos, équipés d'eau chaude et froide, du nécessaire pour se laver les mains et se les sécher dans de bonnes conditions d'hygiène.



Les différentes zones de production et de stockage doivent être conçues de façon à éviter les passages inutiles et les flux croisés.

Les locaux affectés aux contrôles de laboratoire doivent être de taille appropriée et conçus de manière telle que les analyses qui y sont effectuées soient fiables.

### ***(c) Les équipements***

Le matériel de production :

- doit être conçu, installé et entretenu en fonction de sa destination ;
- ne doit présenter aucun risque de contamination et ou de dégradation pour les produits ;
- doit être positionné dans les locaux de façon à respecter le flux de personnes, de matières premières, de produits vrac et d'articles de conditionnement ;
- doit être régulièrement entretenu et maintenu en bon état selon des programmes pré-établis.

Tous les instruments de mesures utilisés pour la fabrication et pour le contrôle doivent être appropriés, précis et fiables.

### ***(d) Procédures et procédés***

L'administration de la qualité doit être rigoureuse et maintenue de façon à ce qu'à tout moment, on puisse retrouver les documents nécessaires : instructions, procédures, procédés, structure organisationnelle, documents relatifs au personnel.

#### **(i) Procédures et instructions**

Des procédures et instructions doivent être convenablement écrites et établies en ce qui concerne notamment :

- l'échantillonnage des matières premières et des articles de conditionnement ;
- la vérification des procédés de fabrication, des méthodes de conditionnement, des méthodes de contrôle, des matériels et des installations ;
- l'étalonnage des instruments de mesures en fabrication et sur les lignes de conditionnement ;

- le nettoyage et ou la désinfection des locaux et des matériels utilisés en production ;
- les actions à mener avant de démarrer toute opération de production, par exemple le vide de ligne ;
- le rappel des produits ;
- les dispositions à prendre et démarches à mener dans le cadre de la conformité des articles de conditionnement, des matières premières, des produits vrac et des produits finis.

## **(ii) Procédés**

Les procédés utilisés pour la fabrication, le conditionnement, le stockage (des matières premières, des produits vrac et des produits finis), la maintenance des équipements, bâtiments, etc., doivent être clairement décrits. Ils doivent faire l'objet d'une vérification et d'une révision si nécessaire.

## 2) Les différentes étapes de la production

---

### ***(a) Les achats***

Cette activité consiste à gérer les ressources nécessaires à la production et d'origine externe à l'entreprise. Ces achats doivent répondre à des exigences qualitatives définies et doivent être consignés par écrit afin qu'il soit possible de justifier de l'origine des composants.

### ***(b) Réception des produits entrants***

#### **(i) Matières premières, articles de conditionnement et produits vrac**

Chaque réception doit être enregistrée pour permettre d'identifier le produit entrant. Le document réalisé devrait comporter les informations suivantes :

- nom du produit inscrit sur le bon de livraison et ou sur les emballages ;

- nom donné dans l'établissement s'il est différent de celui du fournisseur, et/ou son code ;
- date de réception, nom du fournisseur, référence du ou des lots ;
- quantité totale livrée et nombres d'emballages reçus.

Le type de vérification lors de la réception des produits achetés dépend de l'agrément du système de vérification du fournisseur ou sous-traitant et de la performance de son système qualité.

Un exemple de protocole de prélèvement et d'analyse des matières premières réalisé par le Laboratoire DERMA SCIENCE est donné en *annexe 2*. Les résultats obtenus lors de ces analyses sont comparés à des valeurs témoins données sur une fiche technique fournie par le fournisseur de la matière première. La fiche technique de l'huile de Jojoba est donnée pour exemple en *annexe 3*.

## **(ii) Eau**

L'eau étant une matière première très importante, une attention particulière doit y être apportée. L'eau doit être en permanence de qualité, c'est pourquoi des procédures de désinfection des canalisations doivent être mises en place ainsi qu'une séparation stricte entre les lignes d'eau de fabrication (eau chaude, froide, déminéralisée), d'eau de nettoyage, etc.

Les qualités chimique et microbiologique de l'eau doivent être contrôlées régulièrement selon des procédures écrites et tout écart par rapport aux spécifications doit faire l'objet d'une action corrective.

## **(iii) Magasinage et stockage**

Les composants nécessaires à la production doivent être stockés dans des locaux maintenus propres et ordonnés, et selon les règles de sécurité en vigueur. Les conditions de stockage doivent être appropriées et adaptées à leur nature.

### **(c) Fabrication**

#### **(i) Préparation**

Toutes les matières premières doivent être identifiées et quantifiées (mesurées ou pesées) conformément à la formule. La manipulation des matières premières doit se faire de manière à éviter toute contamination.

#### **(ii) Fabrication proprement dite**

Toute fabrication doit se faire conformément à une formule et selon des instructions détaillées précisant :

- les équipements nécessaires ;
- la formule concernée ainsi que la désignation précise du produit ;
- la liste de toutes les matières premières désignées conformément aux règles établies par l'entreprise avec mention des numéros de lot et des quantités mesurées ;
- le procédé de fabrication détaillé pour chaque étape : par exemple les séquences d'introduction, les températures, les vitesses, les temps de mélange, les prélèvements et vérifications en cours ou en fin de fabrication, le nettoyage des matériels, les exigences relatives aux conditions de transfert du produit vrac.

A tout moment, il doit être possible d'identifier le produit en cours de fabrication par sa désignation et son numéro de lot.

#### **(iii) Conditionnement et stockage du produit fini**

Avant chaque conditionnement de lot, on doit s'assurer qu'un vide de ligne a été effectué. Des contrôles au cours du conditionnement permettent de suivre le bon déroulement des opérations. Un exemple de fiche technique pour ce type de suivi est donné en *annexe 4*.

Tout produit fini doit, avant sa mise sur le marché, avoir été reconnu conforme selon des procédures établies, efficaces et maintenues à jour. Une fiche récapitulative des contrôles effectués sur le produit fini est donnée en *annexe 5*.

Les opérations de stockage et d'expédition du produit fini doivent être décrites dans des procédures précisant notamment les conditions nécessaires au maintien de leur qualité. L'*annexe 6* décrit le protocole de contrôle des produits finis et l'*annexe 7* décrit le protocole de libération du lot.

### 3) Maîtrise de la qualité

---

#### *(a) Contrôle de la qualité*

Afin d'obtenir des conditions optimales de production, il est nécessaire d'assurer une maîtrise correcte des installations, des équipements et des réactifs de contrôle. Des étalonnages attestant l'exactitude des indications lues ou enregistrées doivent être réalisés régulièrement. Chaque équipement à étalonner doit être identifié de manière à connaître la date du dernier étalonnage, les initiales de la personne qui l'a effectué et la date du prochain étalonnage. En ce qui concerne les réactifs, ils doivent porter une étiquette précisant le nom du produit, son titre ou sa concentration, sa date limite d'utilisation et les initiales de la personne qui l'a préparé.

Des activités de contrôle doivent permettre de situer l'état de conformité des matières premières, des articles de conditionnement, des produits vrac et des produits finis. Elles doivent également comprendre la vérification du bon déroulement des opérations de fabrication et de conditionnement.

Les contrôles doivent être consignés et archivés et doivent comprendre la désignation, le numéro du lot et la date, les références aux spécifications et aux méthodes de contrôle et les résultats de ces contrôles.

### ***(b) Echantillonnage***

Des échantillonnages réguliers doivent être effectués selon des procédures écrites précisant :

- la ou les personnes habilitées à prélever des échantillons ;
- les quantités à prélever ;
- les matériels à utiliser ;
- les précautions particulières à observer, notamment pour les matières sensibles du point de vue microbiologique ;
- les conditions spéciales d'échantillonnage (par exemple, homogénéisation).

Un exemple de protocole de prélèvement est donné en ***annexe 8***.

Chaque échantillon doit être identifié au moyen d'une étiquette précisant le nom du produit, le numéro de lot, la date du prélèvement, les initiales de la personne qui a effectué le prélèvement.

Des échantillons de chaque lot doivent être stockés, la taille de l'échantillon doit être telle que deux analyses complètes puissent être effectuées.

## 4) Conclusion

---

La conformité avec le programme des Bonnes Pratiques de Fabrication peut être vérifiée par les audits qui doivent être menés de façon indépendante et approfondie. Ces audits concernent le système qualité en général (15). Les résultats de ces audits permettent d'identifier les points défaillants et ainsi la mise en œuvre d'actions correctrices.

### Conclusion

Les Bonnes Pratiques de Fabrication édictées ci-dessus sont des recommandations et non des obligations. Elles sont plus facilement mises en œuvre dans les grandes entreprises mais s'avèrent très contraignantes pour les petites entreprises ou unités productrices telles que le laboratoire de Pharmacie Toxicologie de l'E.N.V.A. ou une officine.

Ces règles ont été adaptées pour prendre en compte cette constatation et se déclinent dans les Bonnes Pratiques de préparation Officinale.

## B. Bonnes Pratiques de préparation Officinale (B.P.O.)

### 1) Définition et rôle : pourquoi définir des B.P.O.

---

A l'officine ou dans le laboratoire de pharmacie de l'E.N.V.A, les contrôles physico-chimiques et organoleptiques des matières premières et des produits finis ne sont pas absents mais, vu la diversité et le faible volume de sa production, les moyens matériels d'une officine ou de ce laboratoire, même importants, sont sans aucune commune mesure avec ceux de l'industrie. Il apparaît donc de la plus élémentaire logique qu'une place soit faite à un document destiné à la 'Pratique Officinale'. La parution en 1988 des B.P.O. (10), dix ans après celle des B.P.F. relatives à l'industrie, fixe un ensemble de dispositions, qui se rapprochent de celles édictées dans les B.P.F. mais adaptées à l'officine, qu'il convient de respecter tout au long de la préparation.

Les B.P.O. envisagent deux grands types de préparations :

- les préparations individuelles (sans application pratique dans le cas de shampooings pour chiens) ;
- et les préparations par 'lots'.

Le but de ces 'B.P.O.' est « *de définir sous forme de recommandations, les conditions générales de réalisation de l'ensemble des préparations officinales* » (7). Ce sont donc, comme les B.P.F., des recommandations et non des obligations. Les 'B.P.O.' sont essentiellement applicables aux médicaments destinés à l'usage humain et préparés dans les officines ouvertes au public (le laboratoire de la pharmacie centrale de l'E.N.V.A. sera considéré comme tel, malgré l'impossibilité de délivrer un produit en dehors du cadre des consultations internes à l'établissement). De plus, il est clairement noté que « *les mêmes grands principes d'organisation et d'hygiène peuvent être envisagés pour les préparations réalisées à l'officine dans le domaine de la cosmétologie* ». Selon les B.P.O., l'assurance qualité est obtenue par « *la mise en œuvre d'un ensemble approprié de dispositions préalables et systématiques destinées à donner confiance en l'obtention de la qualité requise* ».

Cette définition explicite le fait qu'il n'y a pas de frontière entre le contrôle de la qualité et les Bonne Pratique de Fabrication. En fait, les règles de Bonnes Pratiques de préparation Officinale définissent un niveau technique qui doit être respecté dans tous les cas afin d'obtenir satisfaction concernant la qualité du produit fini (11). Le contrôle de qualité

corrige les déviations en agissant sur le maintien de la bonne pratique de préparation et sur le contrôle de conformité.

## 2) Les recommandations

---

### ***(a) Dispositions relatives aux locaux et au matériel***

D'une façon générale, les locaux doivent être pourvus d'une alimentation correcte en eau potable, de sources d'énergie nécessaires et d'installations convenables pour le maintien des bonnes conditions de températures :

- le sol, les murs les plafonds et les plans de travail doivent être facilement nettoyables, munis d'un revêtement lisse ;
- l'éclairage et l'aération doivent être conçus pour identifier les matières premières, préparer et conditionner les préparations ; en effet certains produits peuvent dégager des gaz nocifs (nécessité de travailler sous hotte).

#### **(i) Le préparatoire**

##### Définition :

On appelle préparatoire « *un local ou partie de local conçu pour effectuer les diverses opérations de mise en forme pharmaceutique, de conditionnement, d'étiquetage, ainsi que les opérations de contrôles* ».

C'est une pièce distincte dont la surface, suffisante pour éviter le risque de confusion, est au minimum de 2,50m X 1,50m. Le préparatoire est réservé exclusivement aux opérations de mise en forme pharmaceutique, de conditionnement, d'étiquetage et de contrôle. Les autres activités, comme la vérification des commandes, les analyses biologiques, y sont interdites.

##### Equipement recommandé :

- Un plan de travail de surface suffisante, lisse, imperméable, facile à entretenir et à désinfecter, inerte aux colorants et aux substances agressives ;
- Un bac alimenté en eau chaude et froide, en matériau lisse et résistant muni de préférence d'un siphon antiretour ;



- Un endroit de dépôt des récipients et ustensiles à nettoyer après usage ;
- Un meuble ou support parfaitement horizontal pour y disposer les balances à demeure ;
- Un meuble ou un plan réservé à la lecture et à la rédaction des documents avec, à portée, la documentation réglementaire (pharmacopée française) ainsi que toute autre documentation utile aux préparations effectuées ;
- Des armoires ou éléments de rangement de capacité suffisante pour entreposer, à l'abri de la poussière et, si besoin, de la lumière : le matériel propre, les matières premières, les articles de conditionnement et les documents de fabrication.

#### Entretien :

- Les vestiaires, sanitaires et lavabos mis à la disposition du personnel seront soigneusement entretenus.
- On utilisera, autant que possible, du matériel à usage unique (essuie-mains), pour éviter des risques de contamination au cours de la préparation.

#### **(ii) Le matériel**

Le matériel utilisé pour l'identification des matières premières, la préparation, le conditionnement et le stockage de toute préparation doit :

- convenir à l'usage auquel il est destiné ;
- être conçu de telle sorte :
  - qu'il ne donne lieu à aucune réaction susceptible de porter atteinte aux qualités de la préparation,
  - qu'il soit entièrement accessible au nettoyage,
  - et qu'aucun produit nécessaire à son entretien ne puisse souiller la préparation.

Les instruments de mesure et de pesée employés pour la préparation doivent être étalonnés et vérifiés à des intervalles appropriés, selon les méthodes en conformité avec les obligations édictées par les Pouvoirs Publics, notamment le service des Poids et Mesures.

Le matériel doit être nettoyé le plus rapidement possible après usage.

Procédures de nettoyage :

Ce nettoyage permet d'éviter la contamination d'un produit par le matériel. Dans un premier temps le matériel est passé à l'eau et au savon liquide ayant des propriétés antiseptiques. Le deuxième temps consiste en un rinçage abondant et soigné à l'eau potable. Ces deux étapes peuvent être renouvelées deux fois.

Le séchage s'effectuera à l'aide d'un torchon sec et propre réservé à cet usage ou mieux au moyen de serviettes (en tissé) à usage unique.

Enfin, on termine l'opération de nettoyage par le passage du matériel à l'alcool à 60°.

Stockage du matériel :

Le matériel doit être entreposé dans des conditions telles que sa propreté et son intégrité soient maintenues.

Avant toute utilisation, on conseille de procéder à nouveau à l'opération de désinfection par l'alcool à 60°.

***(b) Dispositions relatives au personnel***

Conformément au Code de la Santé Publique (C.S.P. : article L.569 et L.579), toute préparation doit être assurée par un pharmacien titulaire de l'officine ou assistant (dans notre cas, par le Professeur responsable de l'Unité Pédagogique (U.P.) de Pharmacie Toxicologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort), éventuellement secondé, sous sa responsabilité, par un préparateur breveté (article L.584 du C.S.P.). Les opérations de contrôle, qui nécessitent une formation particulière, sont effectuées par le pharmacien ou, sous contrôle de celui-ci, par un personnel spécialement formé dans ce domaine.

De manière schématique, on rappelle ici les conditions, tant vestimentaires qu'hygiéniques, qui concerneront le personnel.

**(i) Tenue vestimentaire**

La blouse doit être propre, renouvelée régulièrement et chaque fois que cela est nécessaire. La tenue sera adaptée en fonction des types de préparations ; exemple : blouse et gants à usage unique si nécessaire.

## (ii) Règles d'hygiène

- Les cheveux devront être maintenus attachés ;
- Passage au vestiaire pour y déposer les effets et objets personnels, en particulier retrait de tout bijou (bagues, bracelets, montres, etc....) qui constitue une niche à germes ;
- Un lavage des mains et un brossage des ongles sont exigés avant et après toute manipulation ;
- Le 'préparateur' doit s'astreindre à ne pas boire, ni fumer, ni manger, ni mâcher durant toute la préparation ;
- On évitera le passage dans le local de personnes non concernées par la préparation. Elles pourraient véhiculer des poussières souillées. Les allées et venues sont à proscrire. Ce qui suppose le non abandon de la préparation durant sa réalisation.

## (c) *Matières premières et articles de conditionnement*

Pour ces deux catégories, les B.P.O. diffèrent peu des B.P.F.. Les B.P.O. concernant cette partie sont données en *annexe 9*.

## (d) *Dispositions relatives à la préparation*

Toutes les préparations doivent être prises de manière à éviter les risques d'erreur, de confusion, d'omission et de contamination.

La procédure de fabrication telle qu'elle a été définie lors de l'établissement du dossier cosmétique doit être rigoureusement respectée afin de garantir la stabilité du produit fini.

### (i) **Précautions générales contre les risques de contamination et de confusion : 'dispositions préalables'**

La préparation d'un lot destiné à être conditionné doit être exécutée de bout en bout par la même personne.

Sur le plan de travail, on devra trouver exclusivement les matières premières ainsi que le matériel et les articles de conditionnement destinés à la préparation que l'on doit effectuer.

Avant d'entreprendre toute préparation, il convient de s'assurer que le matériel dont il sera fait usage est en état de propreté de la même façon que le local tout entier.

Le récipient dans lequel se réalise la préparation doit être étiqueté et indiquer clairement le nom et le numéro du lot en cours de préparation.

Les documents nécessaires à la réalisation de la préparation et seulement ces documents, sont placés à la disposition du manipulateur.

## **(ii) Opérations de préparation**

### Les matières premières :

- les pesées de substances vénéneuses doivent être contrôlées par le pharmacien ;
- on consignera les références et les quantités de matières employées sur le document de préparation.

### Mise en forme pharmaceutique :

A chaque étape de la préparation, on doit pouvoir identifier le stade auquel se trouve la préparation et ceci, grâce à l'étiquetage du contenant, mais également grâce aux documents remplis au cours de la fabrication.

Toutes les précautions seront prises pour les produits laissés en attente : en effet certaines préparations font intervenir des temps d'arrêt (refroidissement, etc.) plus ou moins longs. Des informations devront être disponibles afin d'identifier à tout moment le stade de la production.

Enfin, dans les cas de préparations dites par lot, tout écart notable entre le rendement théorique et le rendement effectif doit être justifiable. Les conditions générales de conservation du produit fini sont à déterminer précisément en fonction des matières premières qu'il contient, en fonction également des essais de stabilité mis en œuvre, ainsi que la rotation du produit (quantité de produit vendu par unité de temps), afin de connaître la taille du lot qui sera produit.

### Conditionnement et étiquetage :

Les conditionnements devront être adaptés en fonction de la stabilité du produit.

- Opaque ou transparent selon que le produit est ou n'est pas sensible à la lumière ;

- Volume adapté à la durée de conservation du produit en fonction de la quantité prélevée à chaque utilisation.

Les étiquettes et articles de conditionnement doivent être stockés et manipulés de manière à éviter les risques de confusion avec des éléments relatifs à des produits différents. L'idéal est de disposer d'étiquettes pré-imprimées.

Pour les préparations dites par lot, il est vivement recommandé d'indiquer systématiquement une date limite d'utilisation qui ne saurait excéder un an, sauf justifications appropriées.

Il est conseillé de mentionner, sur le conditionnement, les précautions particulières d'utilisation, de conservation, en supplément des obligations légales.

### **(iii) Contrôle du produit fini**

Quelles que soient les préparations, il doit être pratiqué au minimum un examen approfondi des caractères organoleptiques. Les B.P.O. demandent le dosage du principe actif. Néanmoins, il ne devient obligatoire que s'il ne répond pas à l'une des trois conditions édictées ci-dessous :

- Garanties apportées sur la qualité des matières premières :
  - Fournisseur recommandé (ex : COOPER), c'est-à-dire un établissement pharmaceutique réalisant tous les contrôles analytiques.
  - Identification des matières premières à l'officine ;
  - Quantités employées consignées sur une fiche de préparation.
- Les doses employées en conservateur, substances vénéneuses, sont respectées. Le produit présente une marge de sécurité importante.
- Les éléments de qualité utiles à la mise en forme galénique, et à la maîtrise de la stabilité, sont connus.

Un échantillon de chaque lot de fabrication mis en forme au sein de l'officine sera gardé dans une 'échantillothèque' en vue de nouveaux contrôles. Ils seront conservés jusqu'à la date limite d'utilisation du lot, prolongée par sécurité de deux mois.

Tous les documents produits au cours de la phase de production devront être archivés et constituent des preuves écrites concernant les différentes étapes envisagées ; ils font partie intégrante du système d'assurance qualité des préparations effectuées à 'l'officine'.

### Conclusion

Le législateur a, en éditant les règles de Bonnes Pratiques de préparations Officinales, pris en compte la spécificité des petites unités de production. Mais, s'il y a eu un assouplissement de la réglementation par rapport aux B.P.F., il n'en demeure pas moins que le produit doit présenter une qualité irréprochable. Le responsable de la production, c'est-à-dire une personne mentionnée dans l'article L.658-2 du C.S.P. et possédant un diplôme parmi la liste édictée dans l'annexe 1 de l'arrêté du 25 août 1999 (J.O. du 14 septembre 1999), devra veiller très attentivement au bon déroulement des opérations.

Dans le cas où le laboratoire de la pharmacie centrale de l'E.N.V.A. décide de se lancer dans la fabrication d'un shampoing pour chien, de nombreuses modifications devront être apportées aux locaux qui n'ont pas été conçus à cet effet. Là aussi, le responsable de la fabrication devra s'investir profondément afin que toutes les conditions de travail soient requises avant de démarrer une production.

Les recommandations des B.P.O. concernant les matières premières et les préparations en lot pour plusieurs individus sont résumées sur des fiches signalétiques telles qu'elles sont présentées dans les *annexes 10, 11 et 12* qui pourront être utilisées comme des fiches mémos au moment de la fabrication.

## **C. Bonnes Pratiques de Laboratoire (B.P.L.)**

Les différents composants intervenant dans la formulation ainsi que le produit fini doivent être contrôlés du point de vue physicochimique et biologique afin de garantir la qualité et l'innocuité du produit, unique but de cette réglementation. La démarche à suivre pour ces méthodes de contrôle a été standardisée afin que les résultats de ces analyses puissent être reconnus comme fiables. Cette démarche est précisée dans les B.P.L. (2).

Au regard de l'article L.5131 du C.S.P., il doit être réalisé des tests visant à démontrer l'innocuité du produit vis-à-vis de l'espèce de destination (dans le C.S.P. : l'Homme ; dans notre cas : le chien). Les Bonnes Pratiques de Laboratoires mentionnées aux articles L.513-1 et R.5118 du Code de la Santé Publique et dans l'arrêté du 9 décembre 1996 ont pour but de garantir la qualité et l'intégrité des résultats obtenus lors des essais non cliniques. A cet égard, les essais de sécurité doivent être exécutés en conformité avec les dispositions relatives à ces Bonnes Pratiques de Laboratoires.

Les dispositions de ces B.P.L. sont établies par la directive du Conseil n° 87/18/CEE du 18 décembre 1986 complétée par l'annexe de la directive n° 1999/11/CE du 8 mars 1999. Les dispositions relatives à la protection des animaux de laboratoire utilisés à des fins expérimentales établies par la directive du Conseil n° 86/609/CEE ont été prises en compte.

On trouve dans ce document des indications générales concernant l'organisation et le personnel de l'installation d'essai, le programme d'assurance qualité, les installations, les matériels (appareils et réactifs), les systèmes d'essai et les éléments de référence. De plus, les modes opératoires doivent être normalisés par écrit, techniquement validés et approuvés par la direction de l'étude.

## 1) Instructions relatives à la réalisation de l'étude

---

### *(a) Plan de l'étude*

Pour chaque étude, il convient d'établir un plan écrit avant le début des travaux qui sera diffusé auprès du personnel concerné. Le plan de l'étude doit être approuvé par le directeur de l'étude, qui le date et le signe, et sa conformité aux Bonnes Pratiques de laboratoire doit être vérifiée par le personnel d'assurance de la qualité. Ce plan devra être scrupuleusement respecté et les déviations devront être décrites, expliquées, justifiées et datées par le directeur de l'étude.

### *(b) Contenu du plan de l'étude*

Le plan de l'étude doit comporter les renseignements suivants :

- identification de l'étude et des éléments d'essais et de référence ;
- renseignements relatifs au donneur d'ordre (nature du diplôme) et à l'installation d'essai (aux normes) ;
- dates
- méthodes d'essai ;
- points particuliers :
  - la justification du choix du système d'essai ;
  - la caractérisation du système d'essai (espèce, race, souche, etc. ...)
  - la méthode d'administration et les raisons qui ont guidé ce choix ;

- les doses ou les concentrations ainsi que la fréquence et la durée de l'administration ou de l'application ;
- des renseignements détaillés sur la conception de l'expérience.

## 2) Etablissement du rapport sur les résultats de l'étude

---

Il faut établir un rapport final écrit pour chaque étude. Pour les études à court terme, un rapport final pourra être préparé et s'accompagner d'un complément particulier à l'étude. Les responsables principaux des essais ou les scientifiques participant à l'étude doivent signer et dater le rapport.

Tous les éléments relatifs à cette étude devront être archivés ainsi que le rapport final de l'étude.

### Conclusion

Les recommandations des B.P.L. sont à appliquer aux méthodes d'analyses physicochimiques et biologiques énoncées dans la deuxième partie et concernant notre formulation. Néanmoins, les méthodes décrites dans la partie ci-dessous sont, pour la plupart, plus des méthodes de contrôle applicables dans le domaine industriel que dans le domaine officinal.

La réglementation et les recommandations (B.P.F., B.P.O., B.P.L.) énoncées ci-dessus ont pour but d'aboutir à un produit de qualité. Elles sont tout à fait applicables aux produits d'hygiène pour animaux dans la mesure où elles s'accompagnent de certaines modifications compte tenu que le marché des produits d'hygiène pour animaux, bien qu'en réelle progression, est nettement moins développé que le marché des produits cosmétiques à destination de l'Homme. La réglementation doit être un compromis entre le nécessaire besoin de qualité des produits d'hygiène pour animaux mis sur le marché et la faisabilité d'application des obligations et des recommandations qui a un coût.



### **III. Composition des produits cosmétiques**

Au regard de nombreuses études toxicologiques menées chez l'Homme et l'animal, des listes de substances (17), ne pouvant être incorporées aux produits cosmétiques ou seulement sous certaines conditions, ont été élaborées par le législateur. Celles-ci sont régulièrement modifiées pour tenir compte des études toxicologiques récentes. Les dernières en date figure à l'annexe de l'arrêté du 6 février 2001 (paru au J.O. du 23 février 2001) en application de l'article R. 5263-3 du C.S.P. .

#### **A. Liste des substances ne pouvant entrer dans la composition des produits cosmétiques**

Un extrait de cette liste figure en *annexe 13*.

Les goudrons de houille bruts ou raffinés figurent sur cette liste car ils contiennent des hydrocarbures aromatiques polycycliques (dont le benzopyrène), reconnus carcinogènes génotoxiques.

Les glucocorticoïdes figurent aussi sur cette liste car ils peuvent avoir une action immunosuppressive locale.

#### **B. Liste des substances soumises à restrictions**

Un extrait de cette liste figure en *annexe 14*.

Le disulfure de sélénium peut être utilisé à la concentration maximale de 1% dans les shampooings antipelliculaires.

#### **C. Liste des agents conservateurs que peuvent contenir les produits cosmétiques**

Un extrait de cette liste figure en *annexe 15*.

Les esters de l'acide benzoïque, dont font partie le méthylparaben et le propylparaben, figurent dans cette liste des agents conservateurs et la concentration maximale autorisée pour la forme acide est de 0,5%. Au-delà de cette concentration, ils peuvent s'avérer irritants pour la peau et les yeux.

### Conclusion

Dans ce paragraphe figurent les substances ne pouvant pas ou pouvant sous certaines conditions entrer dans la composition des produits cosmétiques à destination de l'Homme. En ce qui concerne les produits d'hygiène pour animaux et notamment ceux pour les chiens, il n'existe pas de liste de ce type étant donné le peu d'informations collectées à ce sujet. A défaut d'études toxicologiques spécifiques, on considèrera que ces listes s'appliquent aussi pour les animaux. En effet, la toxicité de certaines substances s'explique par le mécanisme d'action, par exemple au niveau de l'ADN ; on comprend alors aisément qu'il y ait peu de différences de toxicité entre l'Homme et l'animal et qu'un composé occasionnant des lésions sur l'ADN cellulaire humain pourra occasionner les mêmes lésions sur l'ADN des cellules animales.

### **Conclusion 1<sup>ère</sup> partie**

Cette première partie nous donne un aperçu de ce que pourrait être la législation concernant les produits d'hygiène pour animaux. On pourrait alors parler de cosmétiques à destination des animaux et non plus de produits d'hygiène.

Dans la seconde partie nous allons proposer une formulation d'un shampoing pour chien, spécifier ses modalités de réalisation et nous allons présenter les tests physicochimiques et biologiques nécessaires à l'évaluation de sa qualité et de son innocuité en considérant que celui-ci est soumis aux mêmes règles qu'un produit cosmétique à destination de l'Homme, ce qui se fera probablement dans l'avenir.

## **PARTIE II. : Elaboration d'un shampoing pour chien et évaluation de la qualité de la formule proposée.**

### ***I. Etablissement d'une formule qualitative et quantitative***

#### **A. Caractéristiques de la peau du chien**

La peau est un organe à part entière, qui recouvre presque entièrement le corps excepté au niveau de ses orifices naturels – digestifs (bouche et anus), respiratoires (narines), orbitaires et uro-génitaux – où elle est en continuité avec les muqueuses (9).

Cette étendue lui confère un rôle de barrière anatomique et physiologique entre l'animal et l'environnement.

Elle est composée chez tous les mammifères des couches suivantes :

- l'épiderme,
- le derme,
- l'hypoderme,

et elle est recouverte de poils sauf sur la truffe, les coussinets plantaires et les mamelles.

L'épaisseur du revêtement cutané varie de 0,5 à 6 mm chez le chien (4); il est plus épais sur la ligne dorsale et plus fin sur la ligne ventrale, les aires périgénitales et les pavillons auriculaires.

## 1) Structure

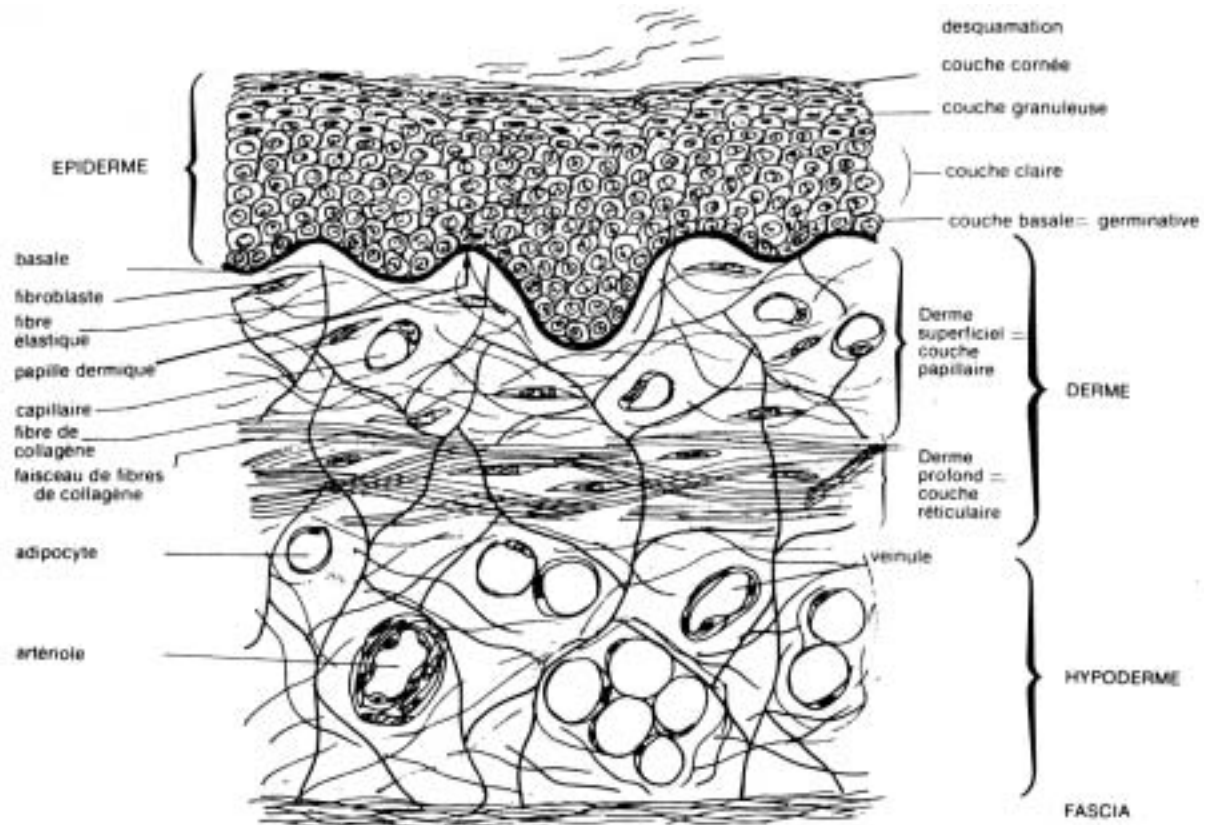
*(a) Les différentes couches de la peau*

Figure 1 : Structure histologique de la peau (3)

- Epiderme : il est constitué de quatre couches :
  - la couche germinative, la plus profonde, constituée par les kératinocytes, cellules responsables du renouvellement de l'épiderme, éliminées par desquamation (squames, pellicules) et les mélanocytes, cellules spécialisées produisant des pigments (mélanines) ;
  - la couche de Malpighi ;
  - la couche granuleuse ;
  - la couche cornée, formée de cellules mortes (squames) empilées les unes sur les autres et renfermant la kératine. Cette couche est très épaisse au niveau des coussinets digités.

- Derme : il comprend deux couches : le derme papillaire et le derme réticulaire. C'est le derme qui détermine l'épaisseur cutanée.
- Hypoderme : beaucoup plus lâche que le derme, il permet la mobilisation de la peau par les muscles peauciers. Il semble particulièrement développé dans certaines régions (plis du grasset, babines ...) et absent dans d'autres (lèvres, joues, paupières ...).

La figure 1 précédente nous montre la place et la proportion relative de chacun de ces éléments sur une coupe de peau.

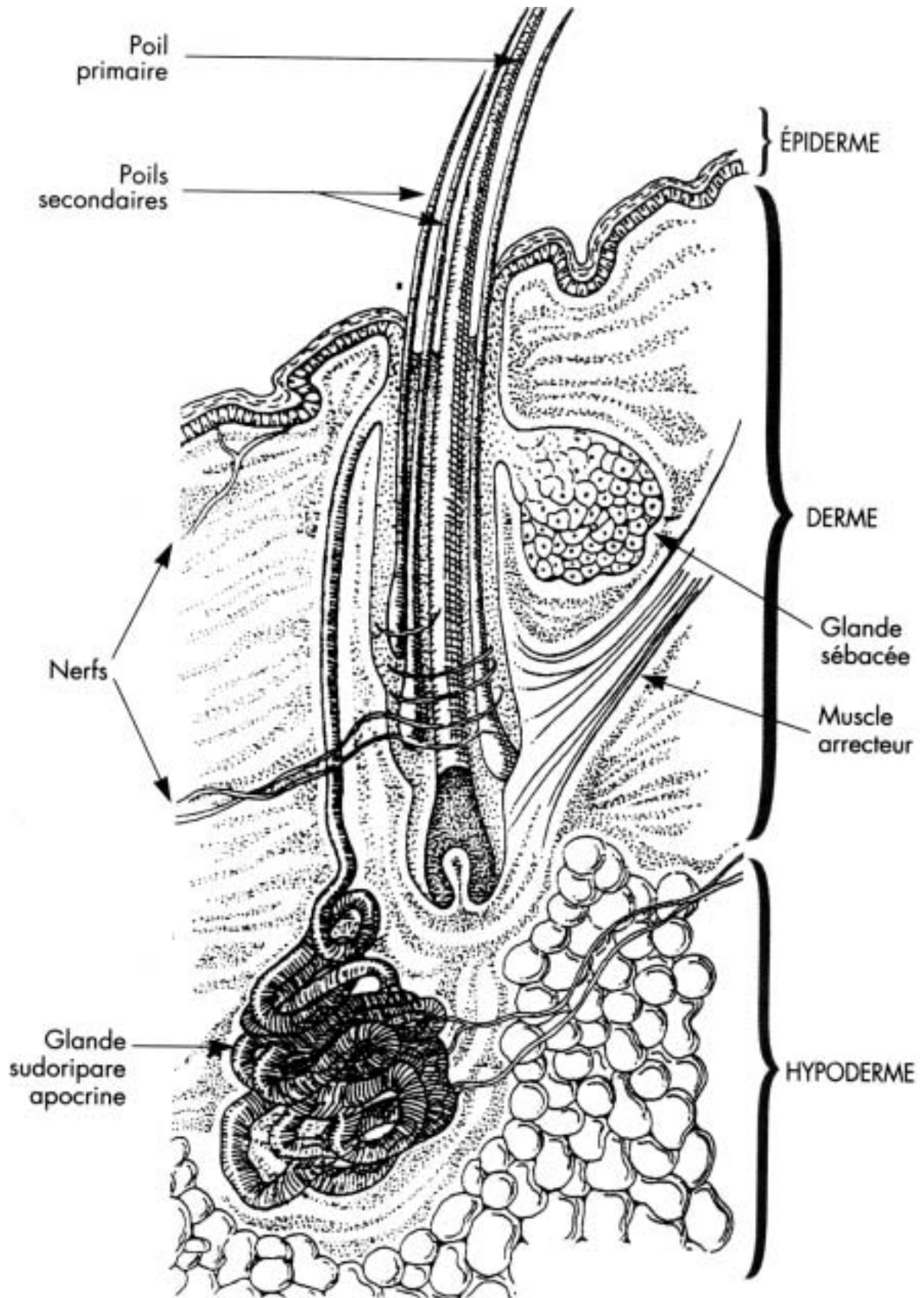
*(b) Le poil et ses annexes*

Figure 2 : Le poil et ses annexes (19)

### (i) Le poil

Le pelage du chien est un ensemble complexe constitué par des poils de différents types qui recouvrent presque totalement la surface du corps.

Anatomiquement, le poil comprend quatre parties :

- le bulbe pileux ;
- la racine ;
- la tige ;
- la pointe du poil.

Histologiquement, le poil se compose de trois zones :

- une zone centrale médullaire ;
- une zone périphérique corticale ;
- une cuticule écailleuse.

La gaine cutanée qui entoure la racine du poil s'appelle le follicule pileux. On retrouve ces différents éléments sur la figure 3 ci-dessous.

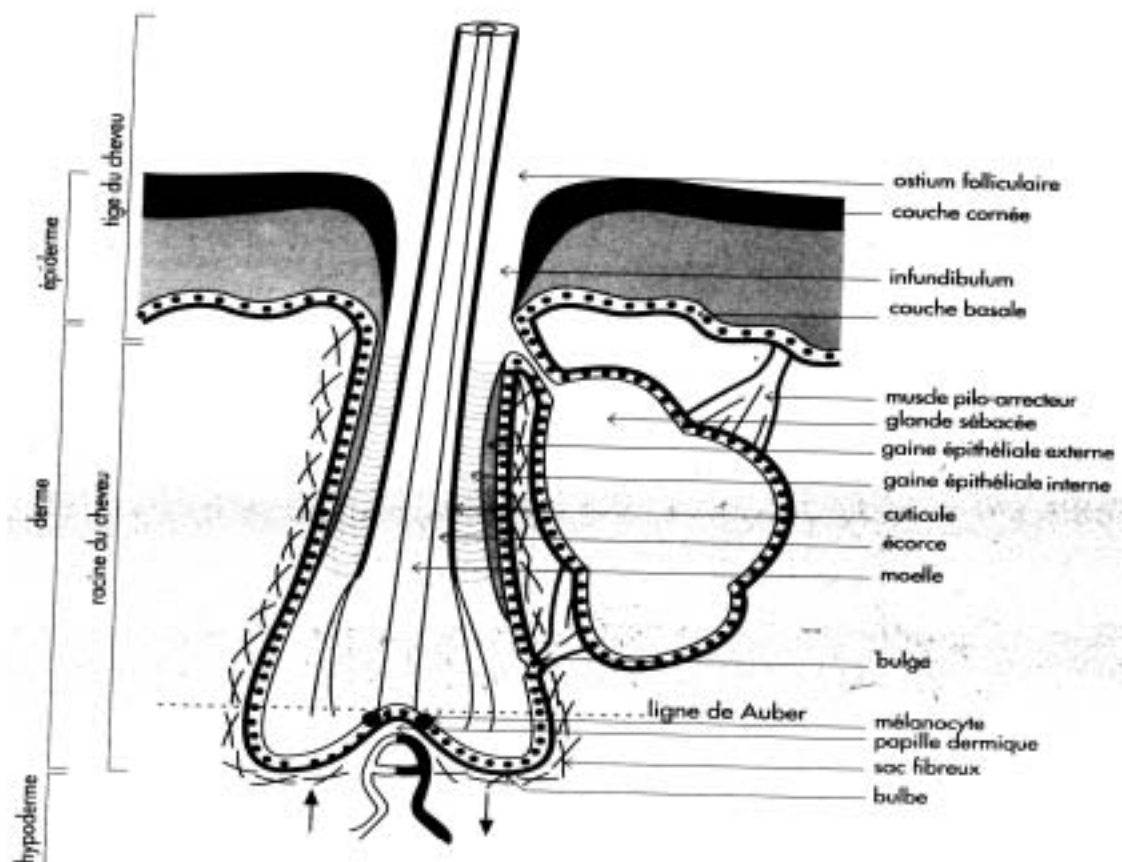


Figure 3 : Coupe d'un follicule pileux en phase anagène (6)

Chez le chien adulte, les poils sont regroupés en groupes folliculaires : chaque groupe folliculaire comprend un seul poil primaire (poil de couverture), long et raide et des poils secondaires (sous poils), fins et souples. Les poils de la glande caudale et les poils sensoriels ne sont jamais regroupés (9). D'une manière générale, on distingue :

- les poils de jarre (de couverture ou de garde), longs, larges, pigmentés et raides ;
- les poils de bourre (sous poil ou duvet), fins, courts, denses, peu ou pas pigmentés ;
- les poils laineux très fins et très longs.

La longueur des poils (liée elle-même à la vitesse de croissance) et les variations en longueur et en nombre des poils primaires et secondaires aboutissent aux différents types de pelage. Le tableau 1 ci-dessous nous donne des exemples de différents types de pelage.

<b>PELAGE NORMAL</b>	I <sup>re</sup> = II <sup>re</sup> voire II <sup>re</sup> > I <sup>re</sup> en densité mais pas en masse par unité de surface. Berger Allemand.
<b>PELAGE COURT</b>	<b>GROSSIER (DUR) :</b> I <sup>re</sup> > II <sup>re</sup> . Rottweiler, Braque, Beauceron. <b>FIN :</b> II <sup>re</sup> > I <sup>re</sup> en densité, avec poils I <sup>re</sup> plus courts et poils II <sup>re</sup> plus développés. Boxer, Teckel poils ras, Pinschers.
<b>PELAGE LONG</b>	<b>SOUPLE (FIN) :</b> maximum de poils en masse par unité de surface. Cocker, Chow-Chow. <b>GROSSIER (LAINEUX) :</b> II <sup>re</sup> > I <sup>re</sup> duvet prépondérant, mue peu importante et croissance continue (très peu de télogènes). Caniche, Bedlington. <b>DUR :</b> Fox, Terrier, Airedale.

Tableau 1 : Différents types de pelage chez le chien (4)

Le renouvellement du poil se fait selon un certain cycle (8) : « le cycle pileaire », qui comprend trois phases illustrées par la figure 4 ci-après:

- la phase de croissance (phase anagène), dont la durée conditionne la longueur du pelage ;
- la phase d'arrêt (phase télogène), qui dure plusieurs mois ;



- la phase intermédiaire (phase catagène) : un nouveau poil commence sa croissance et repousse l'ancien poil vers l'extérieur du follicule pileux.

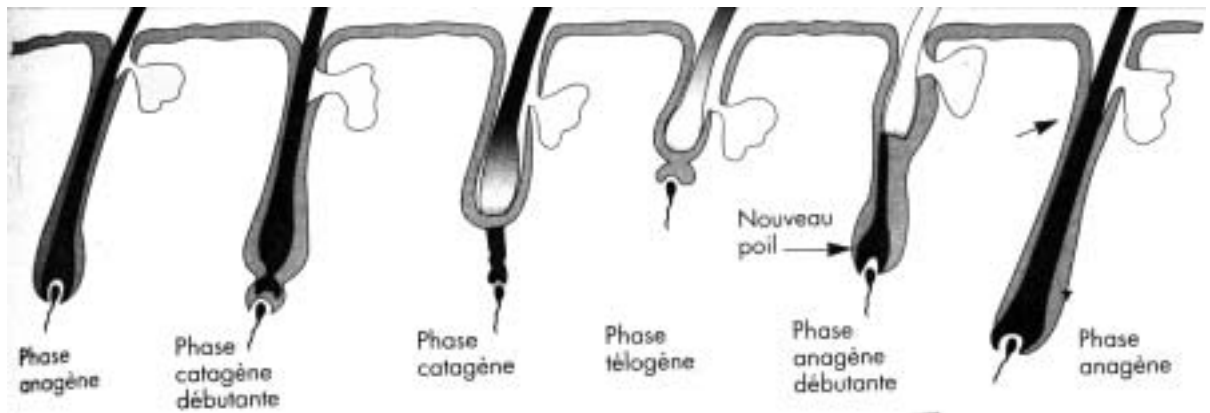


Figure 4 : Le cycle pilaire (4)

Le cycle pilaire est sous contrôle génétique, mais les facteurs de l'environnement (température ambiante, photopériodisme) sont également importants. La longueur du cycle varie selon la race et les régions du corps, ce qui aboutit aux différents types de pelage.

## (ii) Les annexes

Les glandes sébacées sont associées aux follicules pileux : on parle de follicules pilo-sébacés. Elles fabriquent le sébum. Chez le chien, les glandes sébacées sont volumineuses et particulièrement développées dans les régions où les poils sont courts et dans les zones des jonctions cutanéomuqueuses. Elles sont absentes au niveau de la truffe et des coussinets plantaires.

Sur la face dorsale de la queue (au niveau de la 8<sup>ème</sup> vertèbre caudale) est présente une zone ovale recouverte de poils plus longs, isolés et raides, associés à des glandes sébacées volumineuses. L'ensemble est appelé par un terme impropre « la glande caudale ».

Les glandes sudoripares sont moins développées que chez l'Homme. Elles ont essentiellement un rôle éthologique par l'odeur de leur produit de sécrétion et ne jouent aucun rôle dans la thermorégulation contrairement à leur rôle chez l'Homme.

Les muscles arrecteurs du poil, développés dans la peau du dos sont à l'origine du hérississement des poils.

### *(c) Le film cutané de surface*

La peau est recouverte d'un film cutané de surface (9) qui joue un rôle capital dans le maintien de l'écosystème cutané.

Ce film cutané de surface est composé :

- **de lipides** : on distingue :
  - Les lipides glandulaires qui proviennent essentiellement de la sécrétion des glandes sébacées : le sébum. Celui-ci contient divers lipides : cholestérol, cires et diesters et des acides gras labiles. La sécrétion sébacée est essentiellement sous dépendance hormonale mais des traumatismes et des irritations augmentent la sécrétion.
  - Les lipides épidermiques stricts, qui proviennent de l'épiderme dont les éléments intercellulaires sont riches en lipides.
- **de cellules cornées** : les kératinocytes subissent un programme de différenciation et de maturation à partir de la couche germinative : la kératinisation. La kératinisation aboutit à la formation de cellules mortes, aplaties (cellules cornées) : les squames (pellicules). Cette couche cornée est une barrière entre l'organisme et l'environnement avant d'être éliminé par la desquamation en 25-30 jours.

En conclusion, le film cutané de surface est une émulsion constituée de lipides (sébacées et épidermiques) et de cellules cornées.

## 2) Les fonctions de la peau

---

Les principales fonctions de la peau (3) sont :

- la protection du milieu intérieur en maintenant une barrière efficace,
- la protection contre les agressions externes (physique, chimique, microbiologique),
- le stockage d'eau, d'électrolytes, vitamines, acides gras, protéines, glucide...,
- l'immuno-régulation (défense contre les micro-organismes, réactions inflammatoires),
- les sécrétions,
- la perception sensorielle, la production de vitamine D (formation des os).

La peau possède donc de nombreuses fonctions qui en font un organe vital. Elle est l'interface entre le milieu intérieur et l'environnement. La peau, et notamment l'épiderme, oppose une barrière au monde extérieur et constitue un système de défense du milieu intérieur très efficace. C'est une barrière ou un système de protection anatomique, chimique, anti-bactérien et immunologique.

### ***(a) Une protection anatomique***

#### **(i) Une protection contre les agressions externes**

La peau est, par essence, un 'organe barrière' qui s'oppose à la pénétration d'éléments étranger à l'organisme, mais aussi permet de retenir tous les éléments de l'organisme (eau, ions, molécules). C'est l'épiderme et plus particulièrement la couche cornée qui joue ce premier rôle mécanique de protection vis-à-vis des agressions externes.

#### **(ii) Une protection contre la déshydratation**

Le film cutané de surface joue un rôle majeur dans l'état d'hydratation de l'épiderme, qui est normalement de 10%. Bien que faible par rapport à celle des autres éléments cutanés, cette hydratation de la couche cornée est une clef de la santé et de l'esthétique de la peau.

L'épiderme est globalement imperméable à l'eau en raison de sa richesse en lipides.

Toutefois, à l'état normal, l'imperméabilité de l'épiderme à l'eau n'est pas totale :

- il y a toujours une légère perte d'eau vers l'extérieur, tandis que la pénétration d'eau est extrêmement faible. Par contre, une peau saine est imperméable aux protéines et peu perméables aux molécules de petites dimensions ;
- ces pertes augmentent lors de lésions épidermiques avec un effet pervers d'auto accélération : la déshydratation de l'épiderme diminue son imperméabilité et s'aggrave en proportion des pertes hydriques qui en résultent.

## Conclusion

La réhydratation de l'épiderme et l'imperméabilisation qui en résulte constitue un acte majeur en dermatologie (13).

### ***(b) Une protection chimique***

La peau réalise une barrière chimique par l'intermédiaire du film lipidique de surface. Chez le chien, les acides gras libres, présents en très faible quantité, proviennent d'une lipolyse enzymatique par des bactéries saprophytes de surface et interviennent dans la régulation du pH cutané qui varie de 5,2 à 7,2 (selon les régions du corps et probablement selon les races). Ce pH est beaucoup moins acide que celui de l'Homme.

Le sébum joue également un rôle dans le maintien de l'écosystème cutané (flore bactérienne résidente normale). Des modifications qualitatives et quantitatives du sébum favorisent la prolifération bactérienne à l'origine de pyodermites secondaires.

### ***(c) Une protection anti-bactérienne***

La peau constitue une barrière bactériologique par l'intermédiaire d'une flore bactérienne cutanée normale que l'on dit 'résidente'. Les bactéries se trouvent à la surface de la peau, dans la partie superficielle de la couche cornée et sont abondantes dans la partie externe du follicule pileux jusqu'à la glande sébacée. La flore bactérienne cutanée résidente est constamment présente à la surface de la peau et au niveau du pore du poil. Elle s'y développe et s'y multiplie sans être habituellement pathogène.

L'équilibre bactérien (bactériostasie), de stabilité précaire, bloque le développement des niches microbiennes de germes pathogènes mais peut, à tout moment, être rompu. Chez l'Homme, il a été montré que certains germes commensaux sécrèteraient des antibiotiques capables d'inhiber le développement de micro-organismes pathogènes.

### ***(d) Une protection immunologique***

La peau fait partie intégrante du système immunitaire, parce qu'elle contient de façon constante des éléments propres au système immunitaire (macrophages, lymphocytes, ...), mais aussi parce que ses propres cellules sont capables de participer activement au développement des réactions inflammatoires.

### Conclusion

L'organisation complexe de la peau lui confère de nombreuses fonctions. La peau est un organe de protection vis-à-vis des agressions du milieu extérieur et une enveloppe pour le milieu intérieur ; c'est un organe sécrétoire mais aussi excrétoire, un organe de stockage et un organe de perception sensorielle.

Sa structure et les fonctions qu'elle assure permettent une protection efficace de l'ensemble de l'organisme.

## **B. Données générales concernant les shampoings**

Selon l'article 1<sup>er</sup> de l'arrêté du 30 juin 2000 (journal officiel du 12 juillet 2000), les shampoings font partie des cosmétiques sous la dénomination produits de nettoyage dans la section des produits de soins capillaires.

Comme nous l'avons dit précédemment, les shampoings destinés aux animaux sont regroupés sous l'appellation : « produits d'hygiène animale ».

### 1) Caractéristiques générales des shampoings pour chiens

---

Les shampoings sont des préparations le plus souvent liquides mais pouvant également se présenter sous la forme de gels, de crèmes, de mousse, de poudres, qui sont destinées à nettoyer le pelage de l'animal (le cuir chevelu et les cheveux chez l'Homme) (18). Les salissures proviennent des corps gras sécrétés par les glandes sébacées, des résidus kératinisés résultant de la desquamation, des résidus organiques et minéraux provenant de la gueule de l'animal lors du léchage, des poussières provenant de l'air ambiant, des microorganismes. Il leur est également demandé d'embellir le pelage. De plus, ils doivent pouvoir traiter la surface du poil, grâce à des substances qui se fixent à la surface du poil, et

Les shampooings doivent posséder les propriétés suivantes (6) :

- être acides (minimum pH=5,2) ou proches de la neutralité (maximum pH=7,5), mais surtout pas alcalins, afin de ne pas altérer la kératine et de ne pas perturber le pH de l'épiderme,
- avoir un pouvoir détergent pas trop important afin de ne pas 'délipider' à l'excès le pelage : le sébum participe, en tant que composant majeur du film lipidique, à la protection de la peau contre la déshydratation et est garant de la souplesse du poil. Un pouvoir détergent trop important provoquerait alors l'entretien ou l'aggravation de la séborrhée par un phénomène rebond ;
- être bien tolérés,
- posséder une bonne stabilité physico-chimique,
- se conserver parfaitement,
- être faciles d'application,
- former une mousse onctueuse et abondante (aspect psychologique de l'efficacité du produit),
- se rincer facilement et rapidement,
- permettre un brossage facile du poil mouillé (chiens à poils longs),
- donner de la brillance,
- avoir un parfum agréable pour l'animal et pour le maître,
- être économiques,
- compenser, ou du moins ne pas aggraver les déséquilibres de la peau et/ou du pelage résultant d'agressions diverses, internes ou externes (cas des shampooings traitants).

L'entretien du pelage (9) repose sur certaines règles et doit être adapté au cas de chacun, c'est-à-dire au type de poils mais aussi aux conditions de vie. Il est certain que la vie citadine et les diverses pollutions qu'elle entraîne imposent un entretien plus intense. Cet entretien comprend deux parties : le pansage et le lavage (c'est dans ce dernier qu'interviennent les shampooings).

Le pansage doit permettre l'élimination des poils télogènes, la mise en place des poils longs ou mi-longs, un accroissement de la circulation sanguine avec augmentation de l'activité des follicules pileux, l'élimination des souillures de surfaces.

Le lavage doit, quel que soit la race de l'animal, être pratiqué régulièrement. La fréquence peut atteindre une fois tous les 15 jours mais elle dépend surtout du type de shampoing employé.

Tout shampoing doit être complété systématiquement par l'application de solutions émollientes dont les buts sont de rétablir l'hydratation superficielle et d'adoucir la peau. Ces émollients permettront de redonner de la brillance à un pelage terne. Ils doivent être évités chez les races à poil dur car ils adoucissent trop le poil et lui font perdre le caractère dur.

## 2) Composition des shampoings

---

Nous limiterons notre étude aux shampoings d'entretien. Cependant, la fréquence des chiens présentant naturellement un état séborrhéique est élevée et cela nous conduit donc à intégrer dans le shampoing d'entretien, les composants actifs contre cet état séborrhéique.

La mise au point d'un shampoing résulte d'un judicieux équilibre entre la base lavante, formée de l'association de plusieurs tensioactifs, qui constitue le cœur de la formule, et tous les autres composants (stabilisateurs de mousse, épaississants, nacrants et opacifiants, adoucissants et surgraissants, séquestrants, correcteurs de pH, conservateurs, parfums et colorants, substances « actives »), qui lui confèrent ses qualités physiques et « cosmétiques » et peuvent, selon les besoins, en modifier les performances (6).

### ***(a) Base lavante : association de plusieurs tensioactifs***

Doués de propriétés mouillantes, détergentes, solubilisantes, dispersantes, émulsionnantes et généralement moussantes, les tensioactifs représentent les constituants principaux d'un shampoing, en quelque sorte, sa « matière active ». Ils représentent en moyenne, en solution, 15 à 30 % (poids ou volume) de la formule.

#### **PRINCIPE D'ACTION :**

Ils favorisent l'étalement de l'eau à la surface de la peau et des poils, décollent les salissures, les émulsionnent, qu'elles soient hydrophiles ou lipophiles, et enfin, en facilitent l'élimination par le rinçage.

Remarque : leur pouvoir moussant, qui n'est en rien lié à leurs capacités détergentes, permet cependant de suivre le processus de lavage. Toujours synonyme d'efficacité dans l'esprit du consommateur, la présence de mousse est pour lui nécessaire et les shampoings

ne moussant pas ou peu, même s'ils sont tout aussi efficaces, se voient délaissés, car moins agréables d'utilisation.

Ce sont des substances qui possèdent le pouvoir de modifier les propriétés de surface des corps à l'interface desquels ils sont placés, grâce à leur structure amphiphile comportant une partie hydrophile et une partie lipophile.

Les tensioactifs peuvent être d'origine naturelle (lécithines, stérols, saponines : extraites du bois de Panama (*Quillaya saponaria*, *Rosaceae*) ou de la saponaire (*Saponaria officinalis*, *Caryophyllaceae*)). Les saponines végétales connaissent un regain d'intérêt. Excellents détergents (pas trop agressifs), elles ne laissent pas de résidus sur la peau et ne provoquent aucune séborrhée réactionnelle, ce qui permet leur usage intensif. On peut toutefois leur reprocher leur caractère peu moussant.

Mais les plus utilisés sont synthétiques.

Ces derniers sont classés en quatre grandes familles, selon leur mode d'ionisation dans l'eau. On distingue ainsi :

- les anioniques, dont la partie hydrophile s'ionise avec formation d'une charge négative ;
- les cationiques, qui s'ionisent avec formation d'une charge positive ;
- les amphotères, qui s'ionisent différemment selon le pH de la solution : en milieu basique, ils présentent un caractère anionique et en milieu acide, un caractère cationique ;
- les non ioniques, qui ne s'ionisent pas.

La formule d'un shampoing comporte toujours une association de plusieurs tensioactifs de familles différentes car aucun agent de surface ne possède à lui seul toutes les propriétés requises.

#### (i) Les tensioactifs anioniques

Les tensioactifs anioniques sont très utilisés dans la formulation des shampoings dont ils représentent généralement la base, à des taux variant de 10 à 30 %, le plus souvent associés à un tensioactif amphotère (qui améliore leur pouvoir moussant en eau dure et leur tolérance) et/ou non ionique.

Sont employés :

- **les alkylsulfates** : laurylsulfate de sodium, d'ammonium, de triéthanolamine, d'isopropanolamine... Une étude américaine (12) portant sur 438



shampooings a montré que 24,4 % des shampooings contiennent du laurylsulfate de sodium, 27,2 % du laurylsulfate d'ammonium et 22,4 % du laurylsulfate de triéthanolamine ;

- **les alkyléthersulfates** : lauryléthersulfate de sodium, d'ammonium, de triéthanolamine, laurylmyristyléthersulfate de sodium... . La même étude (12) que précédemment a montré que 20,1 % des shampooings contiennent du lauryléthersulfate de sodium ;
- **les sulfonates** : sulfosuccinates, sulfonamides d'acides gras, acyliséthionates, alpha-oléphines sulfonates... ;
- **les carboxylates** : dérivés des aminoacides (acylsarcosinates, acylats de collagène ou de diverses autres protéines de blé, d'avoine, de maïs, de soja...), sels d'acides carboxyliques polyoxyéthylénés... .

Remarque : les savons ne sont plus utilisés dans les shampooings car, d'une part, ils sont très alcalins, d'autre part, ils forment avec les ions calcium et magnésium, contenus en quantité importante dans les eaux dures, des sels insolubles qui ternissent le pelage et le rendent rêche et difficile à brosser (surtout chez les chiens à poils longs).

En général, les tensioactifs anioniques sont de bons détergents (ils possèdent une forte affinité pour les salissures, chargées positivement ; par ailleurs, n'ayant aucune affinité pour la kératine, chargée négativement, ils ne se redéposent pas sur le poil et sont parfaitement éliminés au rinçage), de bons moussants (bien que leur pouvoir moussant se voit altéré en présence d'eau calcaire) et sont peu onéreux ; ils sont sensibles au pH et présentent de nombreuses incompatibilités avec les 'surfactifs' cationiques ; certains sont irritants et laissent le poil trop sec et difficile à brosser.

Les sulfonates et les carboxylates possèdent pour leur part une très bonne tolérance. Notre préférence va aux carboxylates et notamment, parmi eux, aux lipoaminoacides: nettoyeurs très doux à caractère acidifiant, les lipoaminoacides (acides palmitocystiniques, acides collagéniques...) entrent dans la composition de divers shampooings à usage intensif. Outre leur caractère nettoyant, les lipoaminoacides présentent les propriétés suivantes :

- normalisation du pH cutané, en améliorant le pouvoir tampon,
- propriété moussante importante,
- aucune séborrhée réactionnelle. Certains shampooings entraînent après usage une exacerbation du fonctionnement des glandes sébacées : c'est ce que l'on appelle une séborrhée réactionnelle. D'une manière

générale, plus le chien est lavé avec ce type de shampooing, plus vite la peau devient grasse ;

- dépôt d'un film lipoprotidique, qui subsiste après rinçage.

## (ii) Tensioactifs cationiques

Très substantifs pour la kératine (car chargés positivement), ils possèdent des propriétés bactériostatiques et fongistatiques mises à profit dans les formules antisquameuses. Leur affinité pour le poil les fait cependant essentiellement utiliser comme conditionneurs et filmogènes : ils sont ainsi présentés comme gainants et démêlants. Ils permettent de lisser la cuticule du poil (en restant sous forme de film sur le poil, ils referment les écailles ou les empêchent de s'écarter), rendant à celui-ci sa douceur et sa brillance et facilitent le brossage. Toutefois, cette affinité pour le poil les rend difficiles à éliminer.

Sont notamment utilisés :

- les **sels d'ammonium quaternaire** :
  - à chaîne courte : chlorure de benzalkonium, chlorure de cétylpyridinium, chlorure de cétyltriméthylammonium, chlorure de diméthylphénylammonium... ;
  - à chaîne longue : quaterniums, polyquaterniums... ; plus on augmente la longueur de la 'chaîne grasse', plus on obtient un effet « douceur ». L'étude américaine (12) a montré que 18,3 % des shampooings contiennent du quaternium-15 et 12,6 % contiennent du quaternium-19 ;
- les **sels d'amines** : chlorhydrate d'octadécylamine..., etc.

Ils sont utilisés dans des proportions allant de 5 à 10 %, généralement associés à des surfactifs amphotères et non ioniques, notamment dans certains shampooings traitants (antisquameux).

Beaucoup sont irritants, voire agressifs et décapants ; ce sont par ailleurs de mauvais détergents (car chargés positivement comme les salissures) et de mauvais moussants : ils ne constituent donc pas dans un shampooing l'agent lavant mais contribuent à améliorer la surface du poil. Ils sont sensibles au pH et sont incompatibles avec les tensioactifs anioniques. Toutefois les polymères cationiques ont apporté dans ce domaine une amélioration notable : leur structure particulière et les faibles concentrations utilisés (0,5 à 1%) permettent de les associer aux anioniques.

### (iii) Les tensioactifs amphotères

Encore appelés ampholytes, ils possèdent la particularité de se comporter différemment selon le pH de la solution : en dessous de leur point isoélectrique, c'est-à-dire à pH plus acide, ils sont cationiques et compatibles avec les cationiques ; au dessus, à pH plus alcalin, ils sont anioniques et compatibles avec les anioniques. A leur point isoélectrique, ils sont à la fois porteurs de charges positives et négatives et sont donc compatibles avec tous les autres tensioactifs.

Parmi les plus utilisés, on note :

- les **dérivés de la bétaine** :
  - alkylbétaines (laurylbétaine, cocobétaine...),
  - alkylamidobétaines (laurylamidobétaine...),
  - alkylamidopropylbétaines (laurylamidopropylbétaine, cocoamidopropylbétaine...),
  - sulfobétaines (laurylhydroxysulfobétaine, laurylamidohydroxysulfobétaine...) ;
- les **dérivés de l'imidazoline** :
  - alkylamphoacétates (cocoamphodiacétate disodique...),
  - alkylpolyaminocarboxylates (carboxyméthyl coco polypropylamine de sodium, carboxyméthyl oléyl polypropylamine de sodium) ;
- les **alkylpolypeptides** : obtenus par action d'un chlorure d'acide sur des hydrolysats de protéines ou des acides aminés (alkylamidopropyldiméthylamino polypeptide...).

Ils sont peu irritants, possèdent un bon pouvoir moussant et détergent, sont stables et possèdent un léger pouvoir conditionneur.

Le prix de revient est relativement élevé. On les utilise généralement à des taux de l'ordre de 5 à 15 %.

Ils sont fréquemment associés aux anioniques dont ils améliorent le pouvoir moussant en eau dure et la tolérance, cutanée et oculaire. Ils sont très utilisés également dans les shampooings pour usage fréquent (ainsi que les shampooings pour bébé chez l'Homme).

#### (iv) Les tensioactifs non ioniques

Ce sont de bons solubilisants, émulsionnants, mouillants et dispersants. Leurs performances moussantes sont généralement limitées, ils sont faiblement détergents et ils ne sont pas substantifs pour la kératine.

Parmi les plus utilisés :

- les **esters de polyoxyéthylèneglycols** (stéarate de PEG...),
- les **esters de sorbitanne, de sorbitanne polyoxyéthylénés** (polysorbates),
- les **esters de saccharose** ou sucro-esters (distéarate de saccharose, monodistéarate de saccharose, monopalmite de saccharose...),
- les **alkylpolyglucosides** (décylglucoside, laurylglucoside...),
- les **amides d'acides gras** : (monoéthanolamides, diéthanolamides, isopropanolamides d'acides gras). L'étude américaine (12) a montré que 42,2% des shampoings contiennent du lauramide DEA et que 30,4 % contiennent du cocamide DEA,

Relativement onéreux, ils sont généralement utilisés comme 'surfactifs' secondaires ou 'co-surfactifs'.

Etant compatibles avec les autres tensioactifs, ils leur sont souvent associés (à raison de 5 à 15 %), ce qui permet d'en diminuer le taux ; actifs, quel que soit le pH, ils sont moins irritants que les 'surfactifs' ioniques.

Ils améliorent les qualités des shampoings en présence de sels de calcium et facilitent le rinçage. Associés aux cationiques, ils améliorent le pouvoir détergent du shampoing.

#### (b) Les stabilisateurs de mousse

Symbole de propreté, la mousse est l'une des caractéristiques des shampoings que les utilisateurs apprécient le plus, la croyant d'ailleurs inhérente à leur efficacité, ce qui n'est pas vrai. Ceci étant, la mousse permet cependant de suivre le processus de lavage, un pelage sale, riche en sébum, faisant diminuer la mousse de façon importante.

Ses qualités s'apprécient selon différents critères, notamment sa vitesse de formation, son développement, sa densité, sa viscosité, la taille des bulles, sa stabilité, sa facilité d'élimination. Elles sont fortement influencées par la structure des tensioactifs choisis.

L'addition de stabilisateurs de mousse permet d'en améliorer la tenue et l'onctuosité. Ils jouent également souvent le rôle de 'surgraissants' et d'adoucissants.

On utilise pour cela certains tensioactifs non ioniques tels les amides d'acides gras : monoéthanolamides, diéthanolamides, isopropanolamides d'acides gras, notamment de coprah, mais également certains amphotères et polymères, à des taux de l'ordre de 3 à 4 %.

### *(c) Les épaississants*

Ils permettent d'augmenter la viscosité du shampoing afin d'en faciliter l'application. Ils modifient également la texture, l'aspect et le toucher du produit. On les emploie généralement à des concentrations variant de 2 à 10 %. Ils sont choisis non seulement en fonction des paramètres décrits ci-dessus, mais également selon des critères techniques : compatibilités, notamment avec les tensioactifs retenus, pH d'utilisation, pouvoir de tenue en suspension, capacité d'éviter la redéposition des salissures, etc.

Selon le cas, ils peuvent être :

- des **électrolytes** : chlorure de sodium, de magnésium, d'ammonium, sulfate d'ammonium... ;
- des **polysaccharides d'origine naturelle** : gommes guar, adragante, xanthane, alginates, carraghénates... ;
- des **dérivés de la cellulose** : méthylcellulose, hydroxyéthyl ou hydroxyméthylcellulose, carboxyméthylcellulose... . L'étude américaine (12) a montré que 18,7 % des shampoings contiennent de l'hydroxypropylméthylcellulose ;
- des **polymères carboxyviniliques** ;
- des **alcools polyvinyliques et les polyvinylpyrrolidones** ;
- des **alcanolamides** (amides d'acides gras) : monoéthanolamides, diéthanolamides, isopropanolamides d'acides gras... .

### *(d) Les nacrants et les opacifiants*

Ils modifient l'aspect des shampoings, leur donnant une apparence plus crémeuse et un coté précieux qui contribue à établir ou à renforcer l'image du produit. Le nacrage peut également permettre de masquer un trouble provoqué par certains composants de la formule.

Cet effet nacré est provoqué par des substances d'aspect cireux qui sont dispersées dans les tensioactifs et dont les particules, qui se présentent sous forme de paillettes ou de cristaux, réfléchissent la lumière.

Ce sont surtout des alcools gras tels que l'alcool cétylique, l'alcool stéarylique, des alcanolamides d'acides gras, des monoesters ou des diesters d'éthylène glycol... qui sont utilisés. Ils jouent souvent en plus un rôle d'adoucissants. Ils sont ajoutés à une concentration de l'ordre de 1 %.

### *(e) Les adoucissants et les surgraissants*

Leur rôle est de faciliter le brossage après le shampooing, de donner aux poils brillance et douceur (ce qui n'est pas recommandé pour les chiens à poils durs).

On utilise :

- des **dérivés d'acides gras** : alcools ou esters gras,
- la **lanoline et ses dérivés** : alcool de lanoline, dérivés acétylés, lanoline oxyéthylénée...,
- des **huiles végétales** : sésame, germe de blé, maïs, calophyllum...,
- des **huiles animales** : vison...,
- des **cires végétales** : jojoba...,
- des **humectants** : glycérol, sorbitol, propylèneglycol. L'étude américaine (12) a montré que 21,9 % des shampooings contiennent du propylèneglycol ;
- des **hydrolysats de protéines** La même étude (12) a montré que 37,9 % des shampooings contiennent des protéines animales hydrolysées.),
- des **polymères cationiques**,
- des **lécithines et leurs dérivés**.

Leur concentration varie aux environs de 1 à 5 %.

### *(f) Les séquestrants*

Ajoutés à des taux voisins de 0,1 %, ils complexent les ions calcium et magnésium présents dans les eaux de rinçage afin d'empêcher la formation de sels insolubles qui altèrent la qualité de la mousse et ternissent le poil. Les plus couramment employés sont les sels de l'acide éthylènediaminotétracétique (EDTA) ou l'hexamétaphosphate de sodium.

### ***(g) Les correcteurs de pH***

Pour ajuster le pH d'un shampoing, sont utilisés, selon les besoins :

- des acidifiants : acide lactique, citrique... ;
- des alcalinisants : soude, triéthanolamine...

### ***(h) Les conservateurs***

Leur rôle est d'inhiber le développement des bactéries et des levures et d'éviter les fermentations. Les plus utilisés sont les esters de l'acide parahydroxybenzoïque (parabens), l'acide sorbique, l'imidazolidinylurée, le phénoxyéthanol, les méthylisothiazolinones et méthylchlorisothiazolinone (l'étude américaine (12) a montré que 54,8 % des shampoings contiennent du méthylparaben et 35,6 % du propylparaben). Ils sont généralement utilisés en associations prédéfinies, de manière à couvrir un spectre d'activité le plus large possible ainsi qu'une échelle de pH importante. Ils sont ajoutés à des concentrations voisines de 0,1%, mais ils doivent être judicieusement choisis car beaucoup d'entre eux peuvent être inactivés par les 'surfactifs'.

Les antioxydants (tocophérols, ...) ne sont utilisés que si la formule renferme des lipides facilement oxydables.

### ***(i) Les parfums et les colorants***

Ils donnent au shampoing son caractère, tant sur le plan olfactif que visuel, lui conférant une odeur et un aspect agréables. L'aspect concerne uniquement le propriétaire alors que l'odeur touche à la fois le propriétaire et le chien. Agréable au nez du propriétaire, le parfum doit être accepté par l'animal ; c'est pour cela que nous éviterons tous les parfums d'écorces d'agrumes (citron, orange) forts agréables pour le propriétaire mais répulsifs pour l'animal. Nous disposons de très peu d'informations concernant les odeurs appréciées des chiens. Les industriels qui utilisent ces substances en garde le secret pour des raisons commerciales.

Leur choix est fonction non seulement de leurs critères qualitatifs et de leur stabilité, mais ils doivent également préserver la stabilité de la base dans laquelle ils sont incorporés ainsi que ses caractéristiques physicochimiques : viscosité, solubilité, pH. Leur compatibilité avec les autres constituants, y compris avec le conditionnement, est très sérieusement prise en compte. Les parfums sont le plus souvent solubilisés grâce à la présence des tensioactifs. Ils sont utilisés à des concentrations de l'ordre de 0,1 %.

**(j) Les substances actives : kératolytiques,  
kératorégulateurs et anti-séborrhéiques.**

Ces substances actives sont ajoutées aux formules pour leur conférer des propriétés spécifiques. Elles sont particulièrement nombreuses et on les regroupe en plusieurs sous-groupes :

- les **agents kératolytiques** : ils réduisent l'épaisseur de la couche cornée et éliminent les squames, ce qui est particulièrement intéressant lors de troubles de la kératinisation (séborrhées). L'acide salicylique est un kératolytique majeur qui agit par abaissement du pH et augmentation de la quantité d'eau absorbable par la kératine : la couche cornée se ramollit et s'élimine facilement. Il est fréquemment associé au soufre, car il y a une synergie de leurs actions. Il est de plus bactériostatique.
- les **agents kératorégulateurs** : ils réduisent le rythme de division des cellules germinatives de la couche basale lors de l'accélération excessive de leur renouvellement. Le goudron de houille purifié (Coaltar) est le chef de file des kératorégulateurs, et le plus utilisé en dermatologie vétérinaire, mais il présente l'inconvénient majeur d'être trop agressif et de provoquer des séborrhées rebonds. Son utilisation est interdite chez l'Homme par la législation européenne depuis le 30 juin 1999 car il contient des hydrocarbures aromatiques polycycliques (dont le benzopyrène), reconnus carcinogènes génotoxiques, en teneurs très importantes, qu'il soit brut ou raffiné. Des goudrons à faible teneur en benzopyrène sont mis au point pour le remplacer. Il existe le goudron de Cade ainsi que l'Ichtyol : ce dernier est utilisé comme agent kératorégulateur en dermatologie humaine et du fait de sa très grande tolérance, il peut être utilisé chez le chien contre les séborrhées sèches ou grasses.
- les **agents anti-séborrhéiques** : ils diminuent la production sébacée et secondairement l'encombrement du canal du poil. Le soufre est classé comme anti-séborrhéique. On considère actuellement que son activité anti-séborrhéique est réelle mais mal expliquée. Son usage fréquent doit être réservé aux cas de séborrhée grasse car il peut provoquer des irritations et des sécrétions sébacées rebonds.



**(k) Remarques :**

Les shampooings à base de disulfure de sélénium sont à éviter, en usage intensif, car ils entraînent une séborrhée réactionnelle intense et désagréable.

Le pH de la peau du chien (5,2-7,2) étant plus alcalin que celui de la peau de l'Homme, les shampooings acides sont à proscrire chez le chien, car ils provoquent de sérieux dérèglements de l'écosystème cutané, pouvant être à l'origine de lésions cutanées.

### 3) Les différentes catégories de shampooings

---

On distingue différents types de shampooings (6) qui peuvent être classés suivant les formes galéniques qu'ils peuvent prendre (liquide, gel, crème, mousse, poudre [les shampooings secs, longtemps proposés, sont à proscrire : ils « collent » les poils et les impuretés sans nettoyer]) ou suivant l'objectif majeur qui leur est attribué ; on distingue alors :

**(a) Les shampooings d'hygiène**

On trouve parmi eux :

- les **shampooings classiques** : leur principal but étant de nettoyer la peau et les poils, ce qu'ils font généralement très bien. Ils contiennent essentiellement des tensioactifs, lesquels sont également choisis pour fournir une mousse abondante, critère tant apprécié des utilisateurs. Les quelques additifs (adoucissants, épaississants, stabilisateurs de mousse...) qui leur sont néanmoins incorporés ont pour but de former à la surface du poil débarrassé de ses salissures, un film fin et homogène qui lui confère facilité de brossage, douceur, brillance, tenue et souplesse. Leurs formules étant simples, ils sont économiques.
- les **shampooings pour usage fréquent** : ce sont des shampooings dont la base lavante est très douce. Peu détergents, leurs formules associent généralement des tensioactifs amphotères et anioniques doux, et parfois non ioniques. Ils possèdent aussi un léger effet filmogène qui contribue à améliorer l'état du pelage.

Les shampooings pour bébé rentrent dans cette catégorie. Ils se doivent d'être particulièrement doux et non irritant, que ce soit pour le cuir chevelu, les cheveux, la peau ou les yeux. La base lavante associe donc généralement des anioniques parmi les plus doux, des amphotères qui améliorent la tolérance des anioniques, et des non ioniques. Elle est moins détergente que celles qui peuvent être utilisées chez les adultes. Des surgraissants y sont ajoutés car les glandes sébacées du bébé, une fois passée la poussée de sébum post-natale, se mettent presque totalement au repos et ne sécrètent alors quasiment plus de sébum. Le pH de ces shampooings est maintenu aux alentours de la neutralité, afin de se rapprocher du pH des larmes et ne pas piquer les yeux. L'utilisation de ces shampooings pour bébé chez l'animal n'est pas recommandée, la sécrétion de sébum chez ce dernier étant souvent importante.

### *(b) Les shampooings traitants*

On a entre autres :

- les shampooings antiséborrhéiques : les caractéristiques et les besoins des pelages gras orientent la formulation de ces shampooings vers :
  - une action détergente efficace mais douce (amphotères et non ioniques, notamment dérivés des polyglycols [qui permettent de ralentir le regraissage], extraits de *Quillaya* riche en saponines...) afin d'éliminer le sébum en excédent sans pour autant entraîner une délipidation excessive qui pourrait être source d'une séborrhée réactionnelle, et sans irriter d'avantage la peau,
  - l'incorporation de substances destinées à réguler le flux séborrhéique, à freiner sa migration sur le pelage (huile essentielle de cèdre, acides aminés soufrés, extraits végétaux divers [ortie...], vitamine B6, astringents, agents sébophobes...) et à assainir la peau de manière à éviter une prolifération microbienne trop importante (huiles essentielles antiseptiques...),
  - une fonction absorbante du sébum (argiles...).
- les **shampooings antisquameux** (antipelliculaire) : pour éliminer les squames et éviter ou limiter leur réapparition, les formules des shampooings doivent comporter :

- une base détergente douce mais suffisamment efficace pour éliminer les squames adhérentes et d'une totale innocuité pour la peau qui est déjà très perturbée,
- des bactéricides et des fongicides pour limiter la prolifération microbienne (piroctone olamine, zinc pyrithione, dérivés undécyléniques, antiseptiques divers dont ammoniums quaternaires...),
- des actifs qui ralentissent le renouvellement des cellules (kératoréducteurs : huile de cade, dérivés de l'ichtyol...) et qui éliminent les squames (kératolytiques type acide salicylique...),
- des substances anti-inflammatoires et adoucissantes (Aloe Vera, extrait de Camomille, colloïde d'avoine, ...) pour calmer les démangeaisons fréquemment associées à ces états.

Ces shampoings seront réalisés en alternance avec les shampoings d'hygiène ou encore shampoings d'entretien.

#### 4) Etudes de quelques shampoings d'entretien pour chiens

---

Différents laboratoires proposent des shampoings d'entretien pour chiens. Le but de ce paragraphe est d'analyser et de comparer les formules de ces shampoings au regard des informations fournis par le Dictionnaire des Médicaments Vétérinaires (20).

- BIOZOL<sup>R</sup> Shampoing démêlant : aucune information concernant la base lavante. Cependant, présence de dérivés d'huile de coprah et d'huile de vison à 0,25% qui nourrit, embellit et facilite le brossage du poil.
- DOUXO<sup>R</sup> Entretien : la base lavante est un lipo-amino-acide (acide undécylénoylcollagénique à 2%). On trouve un agent gras hydratant (polyol-esters d'acide gras à 1%) que l'on peut classer parmi les agents émollients.
- SEBODERM<sup>R</sup> : contient des bases lavantes douces sous formes libres et encapsulées (urée à 5% et glycérine à 10%) ainsi que du chitosanide, biopolymère naturel qui forme un film protecteur à la surface du poil et de la peau.

- SEBO-DRY<sup>R</sup> : contient du lauryl sulfate de sodium à 7,5%, du stéarate de glycérol à 1,5% et de l'huile de coco saponifiée à 1% qui correspondent à la base lavante et des liposomes contenant l'émollient.
- SHAMPI<sup>R</sup> : contient un tensioactif doux non précisé, des polyesters d'acides gras (Diéthanolamide d'acide gras de Coprah) qui adoucissent la peau et lubrifient le poil, ainsi que l'association de la DL méthionine à 1% et du chlorhydrate de Pyridoxine à 0,5% qui libère *in situ* de la cystine native, constituant fondamentale du poil et stimule le bulbe pileux.
- SPECICARE<sup>R</sup> AKTIV Chien Shampooing 'embellisseur' pour chiens : contient :
  - des solvants : eau, glycérine ;
  - des réducteurs de tension de surfaces : sodium laureth sulfate, MEA lauryl sulfate,... ;
  - des émollients : glycérides d'amandes PEG-60, soie hydrolysée ;
  - un ajusteur de pH : acide lactique ;
  - un anti-électricité statique : Polyquaternium-10 ;
  - des régulateurs de viscosité : glycole distéarate, chlorure de sodium ;
  - des conservateurs : méthylparaben, ethylparaben, propylparaben, butylparaben
  - un parfum
- SPECICARE<sup>R</sup> DEZENNIN : on retrouve les mêmes composants que précédemment avec quelques modifications : l'acide citrique remplace l'acide lactique comme ajusteur de pH, le phenoxyéthanol intervient en plus comme conservateur.
- VETRIDERM<sup>R</sup> Entretien : il contient de l'Aloe Vera à 10%, substance hydratante et antiprurigineuse, du panthénol à 0,5%, hydratant, anti-irritant et kératoplastique, des liposomes à 0,25% et des Acides Gras Essentiels (A.G.E.) à 1% qui permettent une bonne hydratation de l'épiderme et restaurent le film lipidique cutané.
- VIACUTAN<sup>R</sup> Shampooing : contient de très nombreux composés et notamment des A.G.E. (omega 6) qui interviennent dans la restauration du film protecteur de la peau.

A la lumière de ces informations, qui restent tout de même superficielles pour des raisons de secrets de fabrication, on peut classer les shampooings en deux catégories :

- la première catégorie dans laquelle on a des shampooings comportant un minimum de composants ('surfactifs' et émollients) : DOUXO<sup>R</sup>, BIOZOOL<sup>R</sup>, ... ;
- la deuxième catégorie qui regroupe des shampooings dont la formule est très élaborée et fait intervenir des technologies pointues (exemple des NOVASOME<sup>R</sup> dans SEBO-DRY<sup>R</sup>, SPECICARE<sup>R</sup> AKTIV, ...).

Remarque : les liposomes et les nanosomes sont des vecteurs de substances (1). Un schéma détaillé est donné en figure 5. En effet, certaines substances ne peuvent pénétrer les tissus et les cellules en raison de leurs propriétés physico-chimiques (poids moléculaire, solubilité). Les liposomes et les nanosomes, vont former une « coque » autour de ces substances grâce à leur caractère amphiphile. Ils jouent alors le rôle de passeur pour ces substances à travers les membranes des cellules.

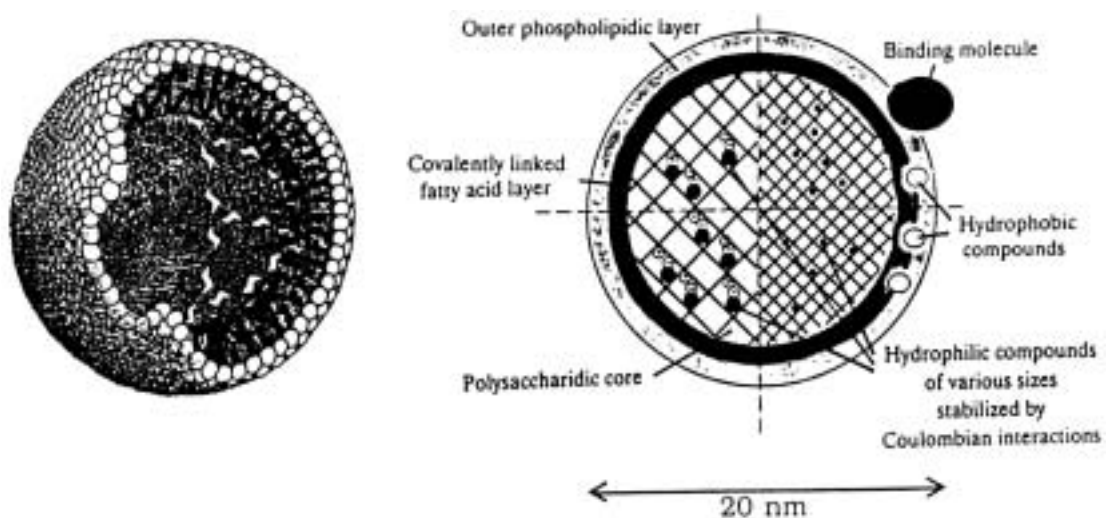


Figure 5 : Schéma détaillé d'un liposome (1)

## 5) Etudes de quelques shampooings d'hygiène pour l'Homme

---

Nous avons sélectionné 4 shampooings parmi les nombreux shampooings commercialisés aux Etats-Unis. La sélection a été faite parmi les shampooings d'entretien en fonction du prix et du nombre de composés entrant dans la formule.

\Shampooings Composants\	Shampooing Nestle Jojoba	Shampooing Neutrogena	Shampooing Love's Baby Soft Gentle	Shampooing L'Oréal Ultra Rich
Tensioactifs anioniques	Laurylsarcosinate de sodium, diisopropanolamine	Laurylsulfate d'ammonium	Laurylsulfate de sodium, TEA c.h.a.p	Lauroyl sarcosine
Tensioactifs cationiques				
Tensioactifs amphotères		Cocamidopropyl bétaine	Amphotérique-7	
Tensioactifs non ioniques	Cocamide DEA	Cocamide DEA	Cocamide DEA,	Cocamide DEA, cocamide MEA
Stabilisateurs de mousse	Cocamide DEA	Cocamide DEA	Cocamide DEA	Cocamide DEA, cocamide MEA
Epaississants	Gélatine		Hydroxypropyl méthylcellulose, chlorure de sodium	Hydroxypropyl méthylcellulose, Chlorure d'ammonium
Nacrants et opacifiants	Mica et dioxyde titane			
Adoucissants et surgraissants	Propylèneglycol, huile minérale, huile de jojoba, panthénol	Glycérine	Protéines animales hydrolysées, glycérine, lanoline PEG 85	PEG-5M, Alcool benzylique
Sequestrants	Tetrasodium EDTA			Trisodium EDTA
Correcteurs de pH	Acide citrique		Acide citrique, acide benzoïque	
Conservateurs	Formaldéhyde, benzophénone	Methylparaben, propylparaben, imidazolidinylurée	Benzophénone-2	Formaldéhyde,
Parfums et colorants	Parfum, 3 colorants	Parfum	Parfum, 3 colorants	Parfum, 1 colorant
Substances actives				
Solvant	Eau	Eau	Eau	Eau
Nombre total de composants	20	9	18	13
Prix: \$ = bon marché, à \$\$\$\$= très cher	\$\$\$	\$\$\$\$	\$\$	\$

Tableau 2 : Comparaison de 4 shampooings humains suivant leur composition et leur prix  
(12)

Il ressort de cette étude comparée que le prix d'un shampooing ne dépend pas du nombre de substances intervenant dans la formule mais de la nature de ces substances et de leurs coûts respectifs. Le shampooing Neutrogena est le plus cher bien qu'il fasse intervenir que 9 composés ; en effet il comporte un tensioactif amphotère et des conservateurs aux prix de revients élevés.

Ce sont fréquemment les mêmes substances qui interviennent dans les formules. On peut alors évaluer l'importance de chacun des composés en calculant un nombre proportionnel à la fréquence d'incorporation du composé dans les shampoings et proportionnel à la position de ce composé dans la formule. C'est le R.I.F (Relative Importance Factor ou Facteur d'Importance Relative). L'eau qui intervient au premier rang des composés de chaque formule de shampoings liquides aura un RIF égale à 1. On obtient donc une liste dans laquelle les composants sont classés par ordre d'importance. Les dix composés les plus importants sont :

- le laurylsulfate d'ammonium RIF = 11,81 ;
- le lauramide DEA RIF = 10,83 ;
- le laurylsulfate de TEA RIF = 9,32 ;
- le cocamide DEA RIF = 9,05 ;
- le lauryléthersulfate de sodium RIF = 7,41 ;
- les protéines animales hydrolysées RIF = 6,28 ;
- le méthylparaben RIF = 4,64 ;
- l'amphoterique-2 RIF = 4,35 ;
- l'ester de glycol RIF = 3,51.

Les RIF ont été calculés à partir de l'étude menée sur 438 shampoings (12).

## C. Proposition d'une formule

### 1) Principes à respecter

---

Dans le cadre de notre étude, et dans la perspective d'une production d'un shampoing par le laboratoire du service de Pharmacologie Toxicologie de l'Ecole Vétérinaire d'Alfort, la formule devra être compatible avec les moyens du laboratoire (similaire à ceux d'une officine), de réalisation peu onéreuse mais toutefois la plus complète possible. En raison de l'anthropomorphisme dont font preuve certains propriétaires, il est nécessaire de proposer des produits dont la technicité est proche de celle des shampoings pour l'Homme. Elle devra donc comporter les éléments suivants :

- des réducteurs de tension de surface constituant la base lavante,
- des adoucissants et des surgraissants,
- des conservateurs,

- des correcteurs de pH ;

et éventuellement :

- des stabilisateurs de mousse,
- des épaississants ou régulateurs de viscosité,
- des nacrants et opacifiants
- des séquestrants,
- des parfums et colorants et
- des substances actives (shampooing traitant).

Il existe plusieurs formes cosmétiques pour les shampooings (liquide, crème, gel). Seul le rajout d'un ou plusieurs composants entraîne une modification de la forme cosmétique : excès de stéarate de sodium par exemple pour les shampooings crème, agents épaississants tel que les silicones liquides pour les shampooings gels.

## 2) Formule proposée pour un shampooing d'entretien pour chiens

---

La première étape dans l'établissement d'une formulation de shampooing à destination des chiens est l'élaboration du mélange de tensioactifs constituant la base lavante. Au regard de ce qui a été expliqué ci-dessus, nous avons décidé d'associer dans la base lavante deux composés :

- le **laurylsulfate d'ammonium**, tensioactif anionique de la famille des alkylsulfates, de formule  $\text{CH}_3 (\text{CH}_2)_{10-12} \text{CH}_2\text{OSO}_3^- \text{NH}_4^+$ , utilisé pour ses propriétés détergente et moussante. Il est soluble dans l'eau, compatible avec de nombreux composés, plus performant que les autres composés de sa famille (sels de sodium, sels de triéthanolamine), bon marché et utilisé depuis de longue date sans problème particulier. Ces caractéristiques font de ce produit un composant de choix. Il peut représenter 100 % des tensioactifs anioniques. Il est légèrement toxique et est irritant pour la peau et les yeux, surtout à pH alcalin, dans quel cas il y a formation d'ammoniac très irritant. A pH acide, cet ester peut subir une hydrolyse, qui peut aboutir à la formation d'acide sulfurique très irritant et ceci par un mécanisme auto entretenu. Le pH devra donc être maintenu entre 4,5 et 6,9.
- le **N-cocoyléthanolamide** (ou cocamide DEA), tensioactif non ionique de formule  $\text{RCO} (\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH})_2$ , ou RCO représente le radical cocoyl, utilisé



pour ses propriétés de renforçateur et stabilisateur de mousse ainsi que d'agent modifiant la viscosité. Il est pratiquement non toxique, peu irritant pour la peau et les yeux aux concentrations d'emploi. Dans le cas où il y a beaucoup de sébum, ce composé permet de maintenir une mousse de qualité ce que ne permet pas le laurylsulfate d'ammonium seul. Ce composé peut représenter entre 10 et 50 % de la part des tensioactifs anioniques pour obtenir un résultat optimal. Ce composé n'a pas entraîné de problème particulier en 40 ans d'utilisation.

La base lavante représente entre 15 et 30 % de la formulation. Nous choisissons une concentration de 25 % pour le laurylsulfate d'ammonium et une concentration de 5 % pour le cocamide DEA dans notre formule.

Dans une deuxième étape, nous avons choisi parmi les adoucissants et surgraissants ; notre choix s'est porté sur :

- le **propylène glycol**, utilisé pour ses propriétés de solvant, d'humectant, d'émollient, d'antioxydant, de conservateur et d'agent de contrôle de la viscosité. Sa formule est  $\text{CH}_3\text{CHOHCH}_2\text{OH}$ . Il est non irritant pour la peau et n'entraîne aucun effet secondaire. Complètement soluble dans l'eau, il joue le rôle de solvant pour de nombreuses substances (parabens, parfums, colorants) peu solubles dans l'eau et ceci à des concentrations optimales de 1 à 5 %. Au cours de la fabrication du shampooing, les substances peu solubles dans l'eau seront incorporées au propylène glycol avant d'ajouter celui-ci au reste de la formule. Pour les autres propriétés, celles-ci s'exercent à une concentration de 10 %. On peut noter que le propylène glycol augmente la fluidité du mélange et participe à son éclaircissement en solubilisant les particules entraînant le trouble. On l'utilisera donc à cette dernière concentration.

Dans une troisième étape, nous avons choisi des conservateurs ; notre choix s'est porté sur les parabens et notamment deux d'entre eux:

- le **méthyl p-hydroxybenzoate** (ou méthylparaben) de formule chimique  $\text{HOC}_6\text{H}_4\text{COOCH}_3$ , utilisé pour ses propriétés antimicrobiennes. Pratiquement non toxique, il n'est pas irritant pour la peau et les yeux aux concentrations d'emploi. Le méthylparaben est un ester qui convient parfaitement à la conservation des produits cosmétiques. La faible toxicité pour la peau, la

compatibilité avec une grande gamme d'ingrédients et l'activité sur une large plage de pH sont de la plus haute importance pour de tels produits. Il est actif contre les champignons, les levures et les bactéries. Cette substance n'enraye pas seulement le développement de ces microorganismes (activité bactériostatique), il peut également les détruire (activité bactéricide). Ce composé est le plus bactériostatique de la famille des parabens mais il a une activité fongistatique moins importante que d'autres membres de cette famille. C'est pourquoi, on l'utilise à la concentration de 0,2 % en association avec

- le **propyl p-hydroxyparaben** (ou propylparaben) de formule chimique  $\text{HOC}_6\text{H}_4\text{COOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ , dont les propriétés fongistatiques sont supérieures à celles des autres composés de la famille et ce à la concentration de 0,1 %. Pratiquement non toxique, il n'est pas irritant pour la peau et les yeux aux concentrations d'emploi. Les effets de ces deux composés de la même famille sont additifs mais non synergiques.

Remarque : il existe des interactions entre les parabens et le propylène glycol qui peuvent réduire l'action des parabens (d'où la nécessité d'évaluer l'action antimicrobienne du produit fini).

Dans une quatrième et dernière étape, nous avons décidé de rajouter un composant qui, par son appellation connue, réalise une promotion du produit. Il s'agit de :

- **l'huile de Jojoba** (*Simmondsia sinensis*, *Buxaceae*), ester d'acide gras aux propriétés émollientes et adoucissantes. Non toxique et non irritant pour la peau et les yeux, elle peut être incorporée à la concentration de 2 %. Cette huile présente l'avantage de ne pas rancir. Non soluble dans l'eau, elle sera d'abord mélangée avec le propylène glycol.

Un parfum peut être rajouté afin de couvrir une odeur désagréable pour le propriétaire et l'animal. L'incorporation se fera d'abord dans le propylène glycol pour des raisons de solubilité.

Des ajusteurs de pH seront probablement nécessaires (acide citrique, soude) afin de garantir un produit au pH compris dans la fourchette d'utilisation du laurylsulfate d'ammonium (voir ci-dessus) et compatible avec la peau de l'animal. Une étude américaine effectuée sur 210 shampooings pour humains (7) montre que l'acide citrique est de loin le plus utilisé des acides pour ajuster le pH des shampooings. De plus, il agit comme agent

séquestrant, formant des complexes solubles avec les ions magnésium et calcium présents dans les eaux dures urbaines évitant ainsi la formation d'un précipité blanchâtre à la surface du poil, précipité résultant de l'interaction de certains composés avec les ions magnésium et calcium.

L'eau purifiée constituera le solvant principal qsp : 100%. Ses caractéristiques sont données en *annexe 16*.

Un récapitulatif de la formule est donné par le tableau 3.

Nom du composé	Rôles	Caractéristiques physiques	Concentration d'emploi	Prix
eau purifiée	Solvant	Liquide limpide, incolore, inodore et insipide	qsp 100 %	0,89 €L cooper
laurylsulfate d'ammonium	Agent détergent, moussant	Liquide visqueux incolore et limpide, soluble dans l'eau	25 %	3,94 €L cooper
cocamide DEA	Stabilisateur de mousse, ajusteur de viscosité	Liquide jaune pâle, limpide avec une odeur ammoniaquée, soluble dans l'eau	5%	3,32 €L www.chemistrystore.com
propylène glycol	Solvant, humectant, émollient, conservateur, ajusteur de viscosité, antioxydant	Liquide visqueux, incolore et limpide, complètement soluble dans l'eau	10 %	4,50 €L cooper
Huile de Jojoba	Emollient Marketing	Liquide huileux, jaune pâle, insoluble dans l'eau	2 %	52,31 €L cooper
méthylparaben	Bactériostatique, bactéricide	Poudre blanche inodorante, très faiblement soluble dans l'eau	0,2 %	31,32 €/kg cooper
propylparaben	Fongistatique	Poudre blanche inodorante, très faiblement soluble dans l'eau	0,1 %	40,84 €/kg cooper

Tableau 3: Détail de la formulation du shampoing pour chien (noms des composés, rôles, caractéristiques physiques, concentrations d'emploi et prix)

### 3) Processus de fabrication

---

La fabrication se fait classiquement en trois étapes (12) :

La première étape consiste à mélanger les constituants non solubles dans l'eau (méthylparaben, propylparaben, huile de Jojoba) avec le propylène glycol.

La deuxième étape consiste à incorporer le mélange précédent à l'eau purifiée préalablement chauffée pour faciliter la dissolution, puis, après stabilisation du pH, à ajouter les composés sensibles au pH (laurylsulfate d'ammonium).

Les substances volatiles, telles que les parfums, sont ajoutées une fois la température retombée en dessous de 40° Celsius, ce qui constitue la troisième et dernière étape de la fabrication.

Remarque : la préparation se fait dans des récipients inertes aux composés (acier, verre) (16). L'industrie dispose de malaxeurs dont le principe est détaillé en *annexe 17*. Les différentes étapes de la production sont détaillées dans *l'annexe 18*.

#### Conclusion

Si les composants intervenant dans la formule ont des mécanismes d'actions et des propriétés bien définies, des interactions et des incompatibilités entre les composés dans le mélange peuvent avoir lieu. Il est donc nécessaire de valider la formule en réalisant des contrôles physico-chimiques et biologiques afin de s'assurer de la qualité et de l'innocuité du produit fini.

## ***II. Contrôle de la qualité et de l'innocuité de la formulation proposée***

Afin de mettre sur le marché un produit de qualité et sans danger pour l'animal, des contrôles doivent être effectués sur le produit fini. Les matières premières utilisées ici peuvent entrer dans la composition des shampooings pour l'Homme : en effet, des tests de toxicité ont été réalisés et ont montré l'innocuité de ces composés. En l'absence d'étude de toxicité de ces composés sur les animaux, nous considérerons que les substances sans danger

pour l'Homme, utilisées dans le cadre d'applications locales à la peau et aux muqueuses, le sont aussi pour l'animal.

On distingue deux types de contrôle sur le produit fini :

- les contrôles physicochimiques et
- les contrôles biologiques.

On présentera les contrôles applicables à l'ensemble des unités de production et nous préciseront ceux qui sont applicables aux petites structures (indiqué par le sigle  $\Sigma$ ).

## **A. Contrôles physico-chimiques**

Les techniques officielles de contrôles physicochimiques (17) applicables aux produits cosmétiques sont énoncées dans les arrêtés du 26 novembre 1982 (JO 06/01/83), 12 janvier 1995 (JO 27/01/95), 15 février 1996 (JO 29/02/96) et 11 février 1997 (JO 21/02/97).

L'article 1<sup>er</sup> de l'arrêté du 26 novembre 1982 (JO 06/01/83) précise que : « *les contrôles physico-chimiques... ont pour objet de permettre au responsable de la mise sur le marché du produit cosmétique ou d'hygiène corporelle considéré de s'assurer de l'identité et de la pureté des matières premières utilisées, de vérifier le bon déroulement des opérations de fabrication des lots de produits finis, éventuellement d'identifier et de doser dans ces derniers leurs constituants et de déterminer la durée de conservation du produit* ».

Le contrôle des matières premières représente une phase importante des contrôles, notamment dans le cas des préparations officinales. En effet, dans ces dernières, le dosage du principe actif peut ne pas être réalisé si toutes les garanties sont apportées sur la qualité des matières premières, les quantités mises en œuvres (par un suivi de comptabilité rigoureux des matières premières), et le respect du protocole de préparation.

Le contrôle du produit fini s'intéresse aux caractères généraux du produit et éventuellement à l'identification et au dosage des constituants de la formule.

### 1) Contrôles des matières premières

---

Toute matière première entrant dans une préparation doit faire l'objet d'un contrôle de conformité à des spécifications préétablies (monographies de la pharmacopée si elles existent). Il appartient au responsable de la mise sur le marché de vérifier l'identité des matières premières fournies ainsi que la pureté de celles-ci, par la mise en œuvre de réactions d'identifications. L'**annexe 19** donne le spectre servant de référence à la méthode d'identification du propylène glycol par spectrophotométrie d'absorption.

## 2) Contrôle du produit fini

---

Nous avons sélectionné les contrôles réalisables dans le cas de petites structures.

L'arrêté du 26 novembre 1982, articles 7 et 8 prévoit un ensemble de contrôles à réaliser sur le produit fini, subdivisé en trois grands groupes :

### ***(a) Contrôles des caractéristiques générales du produit fini***

Ces contrôles portent sur la détermination du poids ou du volume du contenu, sur les caractères organoleptiques tels que aspect, couleur, odeur, saveur, sur les caractères physiques ou mécaniques tels que masse volumique, pH, indice de réfraction, consistance ou tout autre caractère permettant une vérification de la constance de la composition du produit.

Ces contrôles font parfois intervenir des instruments d'analyses coûteux (viscosimètre, appareil de Ross-Miles pour la détermination du pouvoir moussant...) qui ne peuvent se retrouver dans une officine ou encore dans le laboratoire de la pharmacie centrale de l'E.N.V.A. C'est pourquoi, les B.P.O. spécifient que le contrôle du produit fini doit comporter au minimum un examen approfondi des caractères organoleptiques.

✎ Nous déterminerons donc :

- l'aspect, la couleur, l'odeur,
- la masse volumique à l'aide d'une balance et d'un récipient de volume connu,
- le pH à l'aide d'un pH mètre.

### ***(b) Contrôles d'identification et de dosage des constituants***

Le législateur exige de l'expérimentateur, l'identification et le dosage de :

- « toute substance dont la présence est annoncée dans la présentation, la publicité ou la dénomination du produit, ...,
- tout agent conservateur, bactéricide ou fongicide autorisé en application de l'arrêté du 6 février 2001 fixant la liste des agents conservateurs que peuvent contenir les produits cosmétiques ».

**(i) Méthodes générales d'identification et de dosage des conservateurs**

Il existe différentes méthodes de séparation, d'identification, et de dosage des conservateurs utilisés dans les produits cosmétiques.

- **La chromatographie sur couche mince (C.C.M.)** : il s'agit d'une méthode rapide d'identification et d'évaluation semi quantitative des conservateurs. En faisant varier éluant et révélateurs (réactif à l'acide chromotropique, réactif à la vapeur d'iode,...), on peut obtenir des méthodes spécifiques d'identification des différentes classes de conservateurs. La réalisation d'une C.C.M. impose une mise en solution du produit à analyser ; généralement, le produit est mis en solution alcoolique, solution qui est filtrée et concentrée. Un dépôt de 5 à 10  $\mu\text{L}$  de cette solution est effectué sur une plaque de silice. La plaque est développée dans une cuve fermée avec un éluant approprié. Les spots seront examinés sous la lumière ultraviolette de longueur d'onde courte, et on calcule le  $R_f$  de chaque spot (le  $R_f$  représente le rapport entre la distance spot - point de dépôt et la distance point de dépôt – front du solvant). Les  $R_f$  trouvés sont comparés aux tables de  $R_f$  pour identification. Dans cette méthode, les limites de détection sont de 0,1 à 0,5  $\mu\text{g}$ .
- **La chromatographie de partage** : elle permet de séparer le conservateur du produit cosmétique par une élution sur colonne de partage avec différentes concentrations d'alcools acidifiés. Les éluations sont examinées en spectrophotométrie ultraviolette et on en déduit la concentration en conservateur grâce à la courbe étalon réalisée préalablement. Par cette méthode, il est possible d'identifier et de doser plusieurs conservateurs dans une même formule.
- **La chromatographie liquide haute performance** : c'est une méthode qui, malgré un appareillage coûteux, répond parfaitement aux problèmes posés par les conservateurs. Il s'agit de la méthode de choix pour réaliser la séparation et le dosage de plusieurs conservateurs issus d'un même squelette (exemple de notre formule qui contient du méthyl et du propyl paraben).

Nous allons prendre l'exemple de l'identification et du dosage du parahydroxybenzoate de méthyl sodé (méthylparaben) de la formule proposée par spectrophotométrie dans l'ultraviolet.

- Réactifs :
  - HCl dilué,
  - Chloroforme,
  - Soude 0,1 N (NaOH),
  - Para-hydroxybenzoate de méthyl sodé
- Méthode d'extraction du méthyl paraben à partir du shampoing : la prise d'essai du shampoing, dissoute dans une quantité donnée d'eau, est soumise à une première extraction en milieu acide. La forme acide subit plusieurs extractions successives au moyen d'un solvant apolaire : le chloroforme. Les solutions chloroformiques sont recueillies dans une ampoule à décanter et soumises à une extraction en milieu alcalin (extraction des esters). La phase supérieure est filtrée dans une fiole jaugée de 100 mL. On complète avec la soude jusqu'au trait de jauge. La solution-étalon est également préparée dans des conditions bien déterminées (elle doit être utilisée rapidement).
- Caractérisation : elle est faite en traçant le spectre d'absorption de la solution-étalon et de la solution à doser. On observe que les deux spectres ont un même maximum à 293 nm. Le spectre sera joint au dossier.
- Dosage : les résultats seront portés au dossier.

#### **(ii) Méthodes d'identification et de dosage de l'huile de Jojoba**

L'incorporation de l'huile de Jojoba a pour but essentiel de réaliser la promotion de notre shampoing en affichant « Shampoing au Jojoba » sur l'étiquette. Nous devons alors réaliser l'identification et le dosage de ce composant.

La méthode d'identification repose sur la spectrophotométrie I.R. (le spectre de référence est donné en *annexe 20*) ou la Résonance Magnétique Nucléaire (R.M.N.). Le matériel est coûteux et ne peut se trouver dans des petites unités de production. Il en est de même de la méthode de dosage de l'huile de Jojoba dans le produit fini. Il existe des organismes agréés par l'Etat qui vont réaliser le dosage sur la formule proposée et fournir un document certifiant la concentration de l'huile de Jojoba dans le shampoing, document qui aura valeur auprès des services de la D.G.C.C.R.F. . Cet organisme se fait payer sa prestation



et pour cela il n'est pas possible de connaître la méthode d'extraction et de dosage de l'huile de Jojoba.

Seul la C.C.M. est applicable dans le cadre des petites structures de production pour l'identification des conservateurs. Dans les autres cas, il faudra faire appel à des laboratoires spécialisés.

### *(c) Etude de la stabilité dans le temps*

L'arrêté relatif aux contrôles physicochimiques nous offre le choix entre deux méthodes :

- essai de **vieillissement en temps réel**,
- essai de **vieillissement accéléré**.

Attribuer une date limite à un produit, c'est garantir le maintien de ses qualités originelles pendant le temps de la conservation (7). La nécessité de préciser une date limite d'utilisation oblige le responsable de la mise sur le marché du produit à justifier sa prédiction, d'où la nécessité de l'étude de la stabilité du produit en vieillissement.

Nous prendrons l'exemple du vieillissement accéléré.

- Stabilité à température ambiante 23° C (à la lumière et à l'obscurité) et à 40° C.
  - 3 flacons sont placés à 40° C
  - 3 flacons sont placés à 23° C +/- 2° C à la lumière
  - 3 flacons sont placés à 23° C +/- 2° C à l'obscurité

Le stockage est prévu pendant deux mois, en flacon complètement rempli. Les observations se font pendant les premiers jours toutes les 24 heures, puis tous les 48 heures, puis chaque semaine. Des études (7) montrent qu'un stockage de 2 mois à 40° C correspond à un stockage de 2 ans à température ambiante (de 21° à 25° C).

- Stabilité du produit aux variations de températures.

Cinquante millilitres de shampoing sont introduits dans une éprouvette. Cette dernière est couverte d'un film de paraffine. Le tout est placé au congélateur à -10° C pendant 16 heures, puis à 23° C pendant 8 heures. Nous notons les modifications observées. S'il ne se produit aucune modification, le cycle gel/dégel sera répétée jusqu'à ce qu'une modification soit observée ou, au maximum 5 fois au total. La

stabilité à des cycles de température est exprimée par le nombre de cycles gel/dégel que le shampoing supporte sans modification apparente.

Les paramètres observés lors de ces essais sont :

- l'évolution de la coloration et du parfum au cours du temps sous l'action de la lumière ;
- l'apparition de troubles au cours du temps, souvent en fonction de l'évolution du pH ;
- la diminution de la viscosité au cours du temps et en fonction de la température de stockage.

✕ Les deux test cités ci-dessus sont parfaitement réalisables par les petites structures de production.

Les résultats collectés lors des essais de vieillissement vont permettre la détermination d'une date limite d'utilisation. Les résultats collectés lors des essais de stabilité aux variations de températures vont permettre de spécifier les précautions de stockage de ce produit.

La date limite d'utilisation conditionne aussi la durée de conservation des échantillons du produit par le producteur, celui-ci devant conserver les échantillons deux mois au-delà de la date limite d'utilisation.

## **B. Contrôles biologiques**

On distingue deux parties au sein des contrôles biologiques :

- les contrôles visant à identifier la présence de germes contaminant le produit. Les méthodes officielles (17) sont décrites en annexe de l'arrêté du 3 juillet 1972 (JO du 8/08/1972) ;
- les contrôles visant à déterminer le potentiel toxique des produits cosmétiques. Les méthodes officielles (17) sont décrites dans l'arrêté du 5 avril 1971 (JO du 21/04/1971), modifiées et complétées à plusieurs reprises par d'autres arrêtés. Voir le détail ci-après.

## 1) Contrôles bactériologiques

---

### ***(a) Méthode officielle pour la préparation de l'échantillon, de la suspension mère et des dilutions décimales.***

La méthode officielle figure à l'annexe I de l'arrêté du 3 juillet 1972. Elle a pour objet la préparation des échantillons soumis à l'analyse, de la suspension mère destinée à servir d'inoculum et à la préparation des dilutions décimales en vue de dénombrements ou recherches de diverses bactéries dans les produits cosmétiques.

### ***(b) Méthode officielle pour le dénombrement des germes aérobies mésophiles.***

La méthode officielle figure à l'annexe II de l'arrêté du 3 juillet 1972.

Principe : à partir de la suspension mère diluée au dixième et des deux séries de dilutions décimales, on réalise un ensemencement en double, en profondeur, en utilisant un milieu non sélectif. Le milieu de culture est mis en incubation à 30° C en aérobiose pendant 3 jours. On calcule, à partir du nombre de colonies par boîtes de Pétri, le nombre de microorganismes revivifiables par gramme d'échantillon.

### ***(c) Méthode officielle pour la recherche d'un pouvoir inhibiteur intrinsèque.***

La méthode officielle figure à l'annexe III de l'arrêté du 3 juillet 1972.

Principe : des disques de papiers filtres imbibés d'une dilution de l'échantillon sont déposés à la surface de milieux gélosés ensemencés avec une suspension de microorganismes. La mise en évidence du pouvoir inhibiteur intrinsèque doit être effectuée à l'aide de trois genres de microorganismes différents (*Staphylococcus aureus* souche Oxford H, *Klebsiella pneumoniae* et *Saccharomyces cerevisiae*). On dit qu'il y a pouvoir inhibiteur intrinsèque si, après incubation, la culture est inhibée au voisinage des disques imprégnés.

***(d) Méthode officielle de dénombrement des levures et des moisissures.***

La méthode officielle figure à l'annexe IV de l'arrêté du 3 juillet 1972.

Principe : à partir de la suspension mère diluée au dixième et des dilutions décimales, on réalise un ensemencement en double et en surface sur un milieu inhibiteur pour les bactéries aérobies. L'incubation des milieux se fait à 20° C en aérobiose pendant 5 jours. On calcule, à partir du nombre de colonies par boîtes de Pétri, le nombre de levures et de moisissures par gramme d'échantillon.

⌘ Dans le cas des petites structures, ces tests sont réalisables dans la mesure où l'on dispose du matériel de mise en culture (boîtes de Pétri, incubateur, ...) et d'observation des germes (microscope).

2) Essais de tolérance cutanée ou muqueuse.

---

Il existe plusieurs types d'essais toxicologiques (toxicité aiguë, chronique, irritation oculaire, irritation cutanée, ...) pour l'évaluation de l'innocuité d'un composé ou d'un mélange de composés. L'intérêt de ces essais varie suivant le type d'exposition. En effet, il existe de grandes différences entre les produits cosmétiques quant à leur méthode d'application, leur concentration, leur fréquence d'application, leur surface totale de contact avec la peau, le temps de contact... . On détermine donc, pour chaque type de produit, les essais nécessaires à l'évaluation de leur toxicité. Un tableau récapitulatif est présenté en ***annexe 21***.

En ce qui concerne les shampoings liquides, deux types d'essais sont nécessaires en France : l'un pour déterminer l'indice d'irritation primaire cutanée, l'autre pour déterminer l'indice d'irritation oculaire.

***(a) Méthode officielle pour la détermination de l'indice d'irritation primaire cutanée.***

La méthode officielle figure à l'annexe I de l'arrêté du 5 avril 1971 présentée en ***annexe 22***.

On désigne par irritant primaire toute substance provoquant une réaction cutanée après une application unique. Cet essai consiste à maintenir sur la peau du dos du lapin albinos préalablement tondu une certaine quantité de produit déposée sur un carré de gaze, d'une part sur une région de peau normale et, d'autre part, sur une zone incisée au vaccinostyle et maintenue par un sparadrap hypoallergénique. L'irritation est évaluée après 24 heures, puis après 72 heures. L'évaluation de l'indice d'irritation primaire se fait à l'aide d'échelles numériques décrivant l'érythème et la formation d'escarres ainsi que l'œdème. L'irritation obtenue dépend de la nature de la substance testée, de sa concentration et du temps d'exposition sur la peau.

***(b) Méthode officielle pour la détermination de l'irritation oculaire.***

La méthode officielle figure à l'annexe II de l'arrêté du 5 avril 1971, modifiée par les arrêtés du 21 septembre 1984, du 3 mai 1990 et du 9 juin 1992. Elle est présentée en ***annexe 23***.

Cette méthode est utilisée pour déterminer de manière objective le degré d'irritation oculaire provoquée par une substance lorsqu'elle est introduite dans l'œil du lapin. L'œil non traité sert de témoin à l'œil traité. La technique consiste à introduire le produit dans le sac conjonctival et à observer les lésions palpébrales, iriennes et cornéennes qui sont notées pendant 7 jours. L'évaluation fait intervenir des échelles numériques décrivant les lésions oculaires notamment, des lésions concernant la cornée avec une échelle pour le degré d'opacité de celle-ci et une échelle pour l'étendue de cette opacité, des lésions concernant l'iris et des lésions concernant la conjonctive avec une échelle pour le rougissement de la conjonctive palpébrale, une échelle pour le chemosis et une échelle pour le larmolement.

**Conclusion**

Les essais de tolérance cutanée et muqueuse se font sur des lapins albinos dans les méthodes officielles d'évaluation de la toxicité des produits cosmétiques à destination de l'Homme. Dans le cadre de produits vétérinaires, les tests pourraient être réalisés sur l'espèce de destination et ainsi permettre l'obtention de résultats plus précis. Cependant, les coûts de l'expérimentation seraient plus élevés. Dans un souci de considération envers l'animal, il faut espérer que l'expérimentation animale dans le cadre d'élaboration de produits vétérinaires (dont les produits d'hygiène), suive la même évolution que celle menée



dans le cadre de l'élaboration de produits cosmétiques pour l'Homme. En effet, la recherche actuelle vise à développer des méthodes alternatives à l'expérimentation animale.

### **C. Les méthodes d'évaluation de l'innocuité des composés chimiques intervenant dans les cosmétiques.**

(14)

La France fait partie de l'Union Européenne. Comme chacun des pays membre de l'Union Européenne, elle doit retranscrire en droit national les directives du Conseil des Communautés européennes.

La directive du Conseil, relative aux produits cosmétiques, n° 76/768/CEE du 27 juillet 1976 a été amendée à plusieurs reprises depuis cette date. Elle arrête par l'article 2 que: *« Les produits cosmétiques mis sur le marché à l'intérieur de la Communauté ne doivent pas être susceptibles de nuire à la santé humaine lorsqu'ils sont appliqués dans les conditions normales d'utilisation ... »*. Pour cela elle a établi au regard d'informations scientifiques une liste de composants qui, s'ils sont contenus dans le produit, interdisent sa mise sur le marché. Le détail est fourni par l'article 4 de cette directive. On trouve notamment dans cet article, à l'alinéa i) que sont interdits les produits cosmétiques contenant: *« des ingrédients ou combinaisons d'ingrédients expérimentés sur des animaux à partir du '30 juin 2002' afin de respecter les exigences de la Directive n° 2000/41/CE du 19 juin 2000 »*.

Le fabricant devra donc mettre au point des méthodes pouvant se substituer à l'expérimentation animale afin d'évaluer le potentiel toxique d'une substance. Ces méthodes devront être validées par la Commission qui présente, au Parlement européen et au Conseil, un rapport sur les progrès réalisés en matière de développement, de validation et d'acceptation légale de méthodes pouvant être substituées à l'expérimentation animale.

Néanmoins, *« s'il y a eu des progrès insuffisants dans la mise au point de méthodes pouvant se substituer de manière satisfaisante à l'expérimentation animale, notamment dans le cas où les méthodes d'expérimentations alternatives n'ont pas, malgré tous les efforts raisonnablement possibles, été scientifiquement validées comme offrant au consommateur un degré de protection équivalent, un projet de mesures visant à reporter au-delà d'un délai suffisant la date d'application de cette disposition »*, de l'article 4 précédemment cité, sera mis en place.

## 1) Le rôle des études toxicologiques

---

Le rôle premier d'une étude toxicologique est d'obtenir des informations biologiques permettant une évaluation des effets toxiques lors de l'utilisation de la substance sur un être vivant (en particulier l'Homme). Les principales caractéristiques d'une étude toxicologique sont sa capacité à reproduire des processus biologiques similaires à ceux spécifiques à l'Homme (ou à l'animal) et sa capacité à identifier l'ensemble des manifestations désagréables produites par le composé.

## 2) Les tests *in vivo*

---

L'ensemble des données utilisées dans l'évaluation de l'effet toxique d'une substance a été obtenu grâce à l'expérimentation animale. La recherche scientifique des cinquante dernières années a mis au point des méthodes fiables utilisant des animaux pour chaque effet désagréable intervenant dans l'évaluation du risque d'une substance.

Les principaux types d'expérimentations animales pour l'évaluation de la toxicité sont :

- les tests de toxicité aiguë, subaiguë et chronique. Ils déterminent les effets d'un composé chimique sur la santé et la mortalité durant des expositions au produit de durée et à des concentrations variables ;
- les tests de sensibilisation. Ils évaluent le pouvoir d'un produit chimique à entraîner des réactions de prurit et autres réactions allergiques ;
- les tests de photo toxicité. Ils évaluent le potentiel toxique d'un produit lorsque celui-ci est activé par la lumière ;
- les tests de toxicité de développement. Ils évaluent la capacité d'un produit d'entraîner des malformations de l'embryon, du fœtus et du nouveau-né ;
- les tests toxico cinétique. Ils explorent les voies d'absorption, de distribution, de métabolisation, de stockage et d'excrétion du produit chimique ;
- les tests d'irritation oculaire et cutanée ;
- les tests comportementaux. Ils évaluent l'action de la substance sur les fonctions cognitives durant le développement et chez l'adulte.

Le nombre d'animaux nécessaire à l'évaluation du risque d'un composé intervenant dans un cosmétique peut être estimé grâce aux directives de la Communauté européenne qui

spécifient les protocoles d'essais toxicologiques. Le tableau 4 suivant montre qu'il faut approximativement 200 animaux pour élaborer un dossier de base d'évaluation de la sécurité d'emploi d'un composé chimique destiné à la cosmétologie.

Type d'étude	Espèces	Nombre
Toxicité aiguë orale (3 doses + contrôle)	Rat	40
Absorption cutanée	Rat / Souris	10
Irritation cutanée	Lapin	3
Irritation des muqueuses	Lapin	3
Sensibilisation cutanée	Cobaye	30
Toxicité subchronique orale (3 doses + contrôle)	Rat	80
Sous total	Rat	130
	Lapin	6
	Cobaye	30
<b>Total</b>		<b>166</b>

Tableau 4 : Nombre d'animaux, recommandés par le comité scientifique pour la cosmétologie de la Commission Européenne, nécessaire pour l'évaluation de 'base' de la sécurité d'utilisation d'une substance (14)

Si les études se prolongent par d'autres tests tels que l'étude des pouvoirs carcinogène et tératogène d'une substance, les tests de toxicocinétique ainsi que les tests de toxicité chronique, il est possible que le nombre d'animaux nécessaire atteigne 1000 animaux. Compte tenu du nombre de composés testés, on peut évaluer le nombre important d'animaux de laboratoire ayant été utilisé depuis de nombreuses années dans ce type d'expérience.

Pour limiter au maximum l'utilisation d'animaux dans les tests d'évaluation de la toxicité d'un composé et ainsi répondre à un souci de respect de l'Animal et de son bien-être, la Commission européenne a mis en place des directives.

Le Conseil des Communautés Européennes arrête dans l'article 7 de la directive 86/609/CEE que les expériences utilisant des animaux de laboratoire ne doivent pas être effectuées si une autre méthode scientifiquement satisfaisante permettant d'obtenir un résultat analogue, ne faisant pas intervenir d'animaux, est raisonnablement réalisable. De plus, toute expérience utilisant des animaux doit éviter le stress et toute douleur ou



souffrance inutiles pour l'animal. Des modifications des protocoles de tests de toxicité ont été réalisées afin de se mettre en accord avec la précédente directive. Ces modifications sont listées dans les directives 87/302/CEE et 92/69/CEE. Elles concernent notamment le nombre d'animaux utilisé qui est le minimum nécessaire, l'euthanasie des animaux souffrant trop, etc. ...

### 3) Les méthodes alternatives à l'expérimentation animale

---

A coté des expériences *in vivo*, il existe des méthodes alternatives *in vitro* qui ont pour objet l'abandon du modèle animal. Ces méthodes ne sont pas à l'heure actuelle en mesure de remplacer totalement les expérimentations sur animaux. Néanmoins, elles occupent une place de plus en plus importante parmi les expériences, grâce à la compilation de données disponibles et l'élaboration de nouveaux protocoles expérimentaux. C'est sur ce dernier point, c'est-à-dire sur le développement et la validation de méthodes alternatives, que se portent tous les efforts actuels. Un schéma montrant les étapes de la validation des méthodes alternatives est détaillé en **annexe 24**.

Les lois actuelles ne spécifient pas explicitement l'usage d'animaux pour les expériences mais elles spécifient que ce sont les meilleures méthodes qui doivent être utilisées dans l'évaluation de la sécurité. C'est pourquoi les méthodes alternatives ne peuvent se substituer aux tests *in vivo* que lorsque ces méthodes ont été démontrées être aussi efficaces et fiables que les méthodes utilisant l'expérimentation animale.

Récemment, les méthodes alternatives connaissent un essor important, tant dans la recherche médicale que dans les tests d'évaluation de l'innocuité de composés chimiques, et ceci pour plusieurs raisons :

- une meilleure compréhension des mécanismes biologiques de base et notamment *in vitro* ;
- la prodigalité de certains tests considérés utiles par le passé et qui s'avèrent archaïques aujourd'hui (dose létale 50),
- la pression de plus en plus importante du public et des groupes de défense des animaux pour le développement de méthodes respectant le bien-être animal et pour l'arrêt de l'expérimentation animale quand cela est possible.

L'arrêté du 27 Décembre 1999 relatif aux méthodes d'analyses nécessaires au contrôle de la composition des produits cosmétiques arrête deux méthodes officielles d'évaluation du potentiel irritant oculaire des produits cosmétiques, alternatives à la méthode, utilisant des

animaux, décrite initialement en annexe II de l'arrêté du 5 Avril 1971 et modifiée à plusieurs reprises par arrêtés, le dernier en date étant celui du 9 juin 1992. Ces deux méthodes sont présentées ci-dessous. (On les retrouve dans le tome 3 de la brochure Cosmetlex présentée en *annexe 25*).

***(a) Méthode officielle d'évaluation du potentiel irritant  
par détermination de la cytotoxicité après diffusion en  
gel d'agarose.***

Le principe est basé sur la détermination de la cytotoxicité d'un produit, vingt quatre heures après son application à la surface d'un gel d'agarose en contact avec une monocouche cellulaire. Le paramètre de l'appréciation retenu est le diamètre moyen de la plage de lyse cellulaire révélée par coloration. Celui-ci reflète la toxicité du produit à l'essai et est lié à sa capacité de diffusion dans le gel d'agarose.

Le système réactif se compose de fibroblastes de poumon de souris, de lignée NCTC L 929 (ATCC - CCL 1 – American Type Culture Collection – Rockville, Maryland, USA) cultivés en milieu (D) MEM additionné de 10 % de sérum de veau fœtal, d'antibiotiques et de L-glutamine.

Pour chaque produit testé, deux essais indépendants sont effectués en double (au total quatre boîte de Pétri). Le produit est déposé à la quantité de 10 microlitres à la surface d'un disque de papier filtre de 6 mm de diamètre placé, au centre de la boîte, à la surface du gel d'agarose. Après 24 heures de contact, rinçage et coloration (solution de rouge neutre à 0,05 mg/ml dans le milieu de culture ou solution aqueuse de Bleu de Méthylène-Eosine [Giemsa à 10% ]), l'interprétation des résultats peut commencer.

Après coloration des cellules, une plage non colorée (zone de lyse) peut apparaître au centre de la boîte. Le plus grand et le plus petit diamètre, estimés à l'œil, sont mesurés et le diamètre moyen (DM) est calculé. En cas de lyse irrégulière, l'expérimentateur doit valider l'observation. Pour le produit à l'étude, la réponse est la moyenne arithmétique des diamètres moyens mesurés sur les quatre boîtes. Cette valeur est exprimée en centimètres avec une décimale. La cytotoxicité du produit est donnée par l'échelle suivante :

- DM inférieur à 2 cm : cytotoxicité faible ;
- DM compris entre 2 cm (inclus) et 3 cm : cytotoxicité modérée ;
- DM supérieur ou égal à 3 cm : cytotoxicité importante.

L'expérimentateur appréciera le potentiel irritant du produit à l'essai par comparaison aux données acquises pour des produits de même catégorie et de même forme galénique.

Le rapport d'essai doit comporter toutes les indications prévues par les règles de Bonnes Pratiques de Laboratoire (B.P.L.).

De façon à vérifier la validité de l'essai, il est conseillé de procéder systématiquement à des contrôles à l'aide des témoins suivants :

- témoin négatif : milieu de culture complet ;
- témoin positif : solution aqueuse de dodécyl sulfate de sodium à 0,01%, 0,05% et 0,20 %

Cette méthode présente des limites ; elle permet de tester des produits tels quels, hydropersibles et hydrophiles mais elle n'est pas adaptée aux produits volatils ou contenant des substances volatiles ou présentant des pH extrêmes.

***(b) Méthode officielle d'évaluation du potentiel irritant par application directe sur monocouche de fibroblastes de cornée de lapin par la méthode de relargage du rouge neutre.***

Le principe est basé sur l'évaluation de la cytotoxicité du produit testé par détermination de la concentration entraînant 50 % de mortalité (CI 50), à l'aide de la technique de relargage du rouge neutre.

Le système réactif se compose de fibroblastes de cornée de lapin, de lignée SIRC cat n° 2-552 (ATCC – CCL 60 – American Type Culture Collection – Rockeville, Maryland, USA) cultivés en milieu (D) MEM, additionné de 10% de sérum de veau fœtal, d'antibiotiques, et de L-glutamine.

Dans cette méthode, le pourcentage de mortalité cellulaire est calculé pour chaque dilution du produit à l'essai selon une formule faisant intervenir la densité optique (DO). La courbe du pourcentage de mortalité cellulaire en fonction de la concentration en produit à l'essai est tracée. La CI 50 du produit à l'essai est alors calculée par analyse de régression linéaire. La cytotoxicité du produit est donnée par l'échelle suivante :

- si la CI 50 est strictement supérieure à 50% et si le pourcentage de mortalité observé à la dilution 50% est inférieur ou égal à 20%, alors la cytotoxicité est considérée comme négligeable ;

- si la CI 50 est strictement supérieure à 50% et si le pourcentage de mortalité observé à la dilution 50% est compris entre 20% et 50%, alors la cytotoxicité est considérée comme peu importante ;
- si la CI 50 est comprise entre 25% et 50% (inclus), la cytotoxicité est considérée comme modérée ;
- si la CI 50 est inférieure ou égale à 25%, la cytotoxicité est considérée importante.

L'expérimentateur appréciera le potentiel irritant du produit à l'essai par comparaison aux données acquises pour des produits de même catégorie et de même forme galénique.

Le rapport d'essai doit comporter toutes les indications prévues par les règles de Bonnes Pratiques de Laboratoire (B.P.L.).

De façon à vérifier la validité de l'essai, il est conseillé de procéder systématiquement à des contrôles à l'aide des témoins suivants :

- témoin négatif : diluant hydrophile ou éventuellement lipophile ;
- témoin positif : solution aqueuse de dodécyl sulfate de sodium à 0,01 %, 0,05% et 0,20 %

Bien qu'utilisable pour tous types de formulations, sauf les formulations ayant des propriétés fixantes en raison d'interactions avec le relargage du rouge neutre, cette méthode peut provoquer une surestimation du potentiel irritant des formulations contenant plus de 10% de tensioactifs en matière active.

### Conclusion

Ces deux méthodes représentent une alternative à l'expérimentation animale dans l'étude du potentiel irritant oculaire d'une substance. Il n'existe à ce jour aucune méthode alternative aux méthodes officielles d'évaluation du potentiel d'irritation primaire cutanée et d'appréciation de l'agressivité superficielle cutanée par applications itératives pendant vingt-huit jours consécutifs d'un produit cosmétique. Ces deux dernières méthodes s'appuient toujours sur l'expérimentation animale avec l'emploi de lapins albinos.

## CONCLUSION

Alors que la législation pour les produits cosmétiques à destination de l'Homme est très poussée, notamment grâce à la réglementation européenne, les produits cosmétiques pour animaux ne suivent pas de règle particulière et ne doivent répondre qu'à certains principes communs à tous les produits mis sur le marché : un étiquetage suffisamment explicite indiquant l'espèce de destination, la teneur en un composé spécifique si le nom du produit mentionne l'intervention de ce composé et l'adresse de l'entreprise mettant le produit sur le marché.

La mise en place d'une législation sur les produits d'hygiène pour animaux permettrait de garantir la qualité et l'innocuité d'utilisation de ces produits. On pourrait alors parler de produits cosmétiques pour animaux.

En ce qui concerne les tests biologiques d'innocuité des matières premières et du produit fini, les progrès faits par la science permettent déjà de remplacer certaines méthodes faisant appel à l'expérimentation animale par d'autres méthodes dites alternatives qui ne font pas intervenir d'animaux de laboratoire.

Les techniques alternatives ne sont pas pour l'instant toutes validées, mais il devrait y avoir une accélération dans la validation de ces techniques grâce à la mise en place d'une date limite. Au-delà du 30 juin 2002, les produits cosmétiques ne pourront plus contenir de substances testées sur des animaux.

Toute cette étude a été menée en prenant pour base législative et réglementaire ce qui existe déjà pour les produits cosmétiques à destination de l'Homme. Actuellement, la différence de législation entre les produits d'hygiène pour animaux et les produits cosmétiques est très importante et ce n'est probablement que dans plusieurs années que l'on

verra apparaître une législation pour les produits d'hygiène pour animaux. En effet, cette législation qui aura pour but de garantir la qualité du produit entraînera un surcoût important et pas obligatoirement rentabilisable compte tenu que le marché des produits d'hygiène pour animaux est beaucoup plus restreint que celui des cosmétiques humains.

Néanmoins, notre étude sera dès maintenant utilisée comme base de travail pour l'élaboration d'un shampoing pour chiens par le laboratoire de la pharmacie centrale de l'E.N.V.A. .

## ANNEXES

## ANNEXE 1

Couverture du livre « Produits Cosmétiques » (17)



LÉGISLATION ET RÉGLEMENTATION

# Produits cosmétiques



*Les éditions des*  
**JOURNAUX OFFICIELS**



**ANNEXE 2**

Fiche de contrôle Laboratoire Derma Science

(57175 GANDRANGE)

## Protocoles de prélèvement et d'analyse des matières premières

1. Prélèvement de 200 g de matière première par lot différent.
2. Recopier les spécifications de l'emballage d'origine sur le bulletin de contrôle.
3. Numéroté l'échantillon d'après le numéro interne de bulletin de contrôle.
4. Vérification du pH ,de la viscosité, de la densité selon les protocoles établis. <sup>1</sup>
5. Vérification de l'aspect ,la couleur ,l'odeur. <sup>1</sup>
6. Le classement des échantillons de matières premières se fait par :
  1. Noms de produits
  2. Numéros de contrôle
  3. Dates

<sup>1</sup> Les valeurs témoins sont données sur la fiche technique fournie par le fournisseur de la matière première.

## ANNEXE 3

## Certificat d'analyse COOPER

		DUPLICATA		le 13/03/02	
		CERTIFICAT D'ANALYSE		à 14:14:51 Page : 1	
-----					
Article		HUILE DE JOJOBA			
Code Article		5004304			
Lot		01120160			
N° Analyse		94346			
Monographie		591		Version 7	
Date de Réception		13/12/01		Réf.2 Monographie	
				CPF	
				Date de Libération 21/12/01	
-----					
TESTS		SPECIFICATIONS			RESULTATS
		Min.	Max.	Unité	
-----					
CARACTERES					
- CARACTERES		HUILE JAUNE, DE TRES FAIBLE ODEUR			CONFORME
-----					
SOLUBILITE					
- SOLUBILITE DANS L'ETHER		SOLUBLE			CONFORME
- SOLUBILITE DANS L'ALCOOL		INSOLUBLE			CONFORME
-----					
IDENTIFICATION					
- PROFIL CHROMATOGRAPHIQUE		CONFORME			CONFORME
-----					
ESSAI					
- POINT DE SOLIDIFICATION		10.0	11.5	°C	10.6 °C
- INDICE D'ACIDE		0	1		1
- DENSITE RELATIVE		0.863	0.900		0.867
- INDICE DE REFRACTION		1.460	1.470		1.466
- INDICE DE SAPONIFICATION		85	100		94
- INDICE D'IODE		80	90		83
-----					

DECISION : PRODUIT ACCEPTE

CE CERTIFICAT N'EST PAS SIGNE CAR IL EST EMIS INFORMATIQUEMENT.

THIS CERTIFICATE HAS BEEN PRODUCED ELECTRONICALLY AND BEARS NO SIGNATURE.

DIRECTION QUALITE



## ANNEXE 5

Fiche de contrôle Laboratoire Derma Science

(57175 GANDRANGE)

CONTRÔLE EFFECTUE SUR PRODUIT FINI

<b>FICHE D'ANALYSE</b>
------------------------

<b>N° LOT :</b>  <b>DATE</b>  <b>DATE de CONDITIONNEMENT :</b> <b>RESPONSABLE :</b>  <b>N° LOT (FLACON) :</b>	<b>PRODUIT ACCEPTE</b> <b>REFUSE</b>  <b>VISA DU CHIMISTE :</b>  <b>VISA du PHARMACIEN</b>
--	---

CONTRÔLES	NORMES	RESULTATS
<b>1- <u>CONTRÔLE de FORME et d'IMPRESSION</u></b>  - Impression - Aspect - Contrôle de poids moyen	Conforme Conforme Volume * Densité	
<b>2- <u>CONTROLE ANALYTIQUE</u></b>  - Caractères	Aspect crème, légèrement nacré Viscosité : épaisse Couleur :	
<b>3- <u>CONTRÔLE MICROBIOLOGIQUE</u></b>  Dénombrement des : - Germes aérobies mésophiles - Levures - Germes pathogènes	< 100 Germes / ml 0 0	

## ANNEXE 6

Fiche de contrôle Laboratoire Derma Science  
(57175 GANDRANGE)

# Protocoles de contrôle des produits finis

1. Nombre total de produit : n.

2. Nombre de produits à contrôler :  $\sqrt{n}$  .

3. Le contrôle porte sur :

- a. Le remplissage.
- b. Le n° de Lot.
- c. Le collage de l'étiquette.
- d. La présence d'opercule.
- e. La fermeture des flacons.
- f. L' étui

4. Eléments à contrôler dans les cartons d'expédition :

- a.  $\sqrt{n}$
- b. Calage et fermeture.
- c. Nombre de produits par carton.
- d. Inscription correspondante au produit et au client.

## **ANNEXE 7**

Fiche de contrôle Laboratoire Derma Science

(57175 GANDRANGE)

# **Protocole de libération de lot**

1. Vérifier le bulletin de contrôle du produit fini.
2. Si les résultats sont conformes, le produit est conforme.
3. Compléter la feuille de libération de lot. La signer.
4. Le lot ainsi libéré est identifié par un autocollant vert.
5. Expédition des lots identifiés par la pastille de couleur verte.

## ANNEXE 8

Fiche informative Laboratoire Derma Science  
(57175 GANDRANGE)

### **PROTOCOLE DE PRELEVEMENT**

En fin de fabrication, produit terminé, PH mesuré, viscosité mesurée, cuve au repos, opérer de la façon suivante :

1. Utiliser le filtre prévu pour toutes les productions ; transvaser la production en filtrant ; prélever la bactério sur le filtre.
2. Utiliser 2 pots stériles de 150 ml :
  - un, à la bactério
  - un, à l'échantillothèque
3. Après vidange dans le container, nouveau prélèvement pour bactério.  
N° de lot + C. à J+3.
4. Ces prélèvements s'effectuent avec les précautions habituelles (calots, gants, masques, spray de désinfection ).

## ANNEXE 9

### B.P.O. relatives aux matières premières et aux articles de conditionnement (10)

#### 5. – Matières premières et articles de conditionnement

Le pharmacien doit porter une attention particulière à l'origine et à la qualité des matières premières et des articles de conditionnement. Il vérifie leur identité, les étiquette de façon à éviter toute confusion, les stocke dans des conditions adaptées et les manipule en prenant les précautions appropriées.

##### 5-1. Matières premières :

##### a) Sources d'approvisionnement :

Plusieurs possibilités s'offrent au pharmacien et déterminent l'importance des contrôles de conformité qu'il lui appartient de mettre en œuvre (cf. paragraphe 5-1. c) :

- soit, de préférence, avoir recours à des matières premières contrôlées par un établissement pharmaceutique ;
- soit avoir recours à des matières premières non contrôlées par un établissement pharmaceutique (délivrées par un établissement pharmaceutique ou non) ;
- soit lorsqu'il est impossible de se procurer des principes actifs avoir, exceptionnellement et dans le cadre des dispositions législatives et réglementaires applicables en la matière, recours à des spécialités pharmaceutiques. Cette procédure ne peut, par ailleurs, être envisagée qu'au vu d'une prescription médicale pour une préparation individuelle, et exclusivement dans les deux circonstances suivantes :
  - ajustement thérapeutique lorsqu'il n'existe pas de spécialité pharmaceutique disponible au dosage souhaité.
  - modification d'une forme galénique lorsque l'administration du médicament s'avère impossible sous sa forme initiale.

En tout état de cause, pour cette procédure, le pharmacien doit prendre en compte les exigences spécifiques des spécialités d'origine et de la préparation finale quant à l'efficacité, l'innocuité et la stabilité : il engage en effet tout particulièrement sa responsabilité, au même titre que le prescripteur, lorsqu'il prépare un médicament utilisé dans des conditions non étudiées par l'expérimentation clinique et non validées par une autorisation de mise sur le marché de spécialité pharmaceutique.

Le pharmacien doit veiller tout particulièrement à la qualité de l'eau utilisée.

##### b) Réception – quarantaine :

A leur réception, les matières premières sont enregistrées et mises en quarantaine, pour contrôle de conformité, jusqu'à la décision d'acceptation ou de refus.

Chaque récipient est examiné pour en vérifier l'intégrité et l'étiquetage.

Il importe d'éliminer tout risque de confusion, entre matières premières acceptées et matières premières en quarantaine, par une procédure appropriée (apposition de la référence de contrôle sur l'étiquette, au moment de l'acceptation de la matière première).



**c) Contrôle de conformité :**

Toute matière première entrant dans une préparation doit avoir fait l'objet d'un contrôle de conformité à des spécifications préétablies (monographies de la Pharmacopée si elles existent) :

- dans le cas de matières premières contrôlées par un établissement pharmaceutique, l'assurance du contrôle de la qualité pharmaceutique est apportée par une référence de contrôle ou éventuellement une attestation ;
- dans le cas de matières premières non contrôlées par un établissement pharmaceutique (délivrées ou non par un établissement pharmaceutique), le pharmacien doit procéder, ou faire procéder, au contrôle analytique complet.

Dans les deux cas, il appartient au pharmacien de vérifier l'identité des matières premières fournies, par la mise en œuvre de réactions d'identification.

Les matières premières sont alors affectées d'une référence de contrôle, propre à l'officine, qui est portée sur le registre des matières premières et sur l'étiquette du récipient.

Les matières premières refusées sont renvoyées aux fournisseurs dans les plus brefs délais, ou détruites.

**d) Etiquetage :**

L'étiquetage des matières premières doit être parfaitement lisible et précis. Une référence portée sur l'étiquette doit permettre à tout moment de retrouver l'origine et la qualité de la matière première considérée. Cette référence est la référence du contrôle. La date de réception des matières premières doit être mentionnée sur le récipient.

**e) Stockage :**

Les matières premières identifiées et acceptées sont stockées dans des conditions assurant l'absence de contamination croisée et leur bonne conservation physicochimique et microbiologique.

Une attention particulière doit être portée à la nature du conditionnement de livraison et son adéquation au stockage. En cas de changement de conditionnement, il importe de veiller à ne pas mélanger plusieurs lots de matière première dans un même récipient.

Le pharmacien doit être particulièrement vigilant sur la rotation des stocks de matières premières.

**5-2. Articles de conditionnement :**

A leur réception, les articles de conditionnement sont enregistrés, vérifiés et stockés dans des conditions appropriées.

Lorsqu'il est prévu de soumettre certains articles de conditionnement à des essais particuliers, des procédures de quarantaine et de contrôle, de même type que pour les matières premières, sont mises en œuvre.

Les textes des articles imprimés doivent être vérifiés.

## ANNEXE 10

### Fiche récapitulative B.P.O. (10)

#### **MATIÈRES PREMIÈRES**

**Mentions données, à titre indicatif, pour l'enregistrement et le contrôle des matières premières :**

- désignation de la matière première ;
- fournisseur et numéro d'identification du « lot » ;
- date de réception, quantité reçue et nombre de contenants ;
- référence de contrôle ou attestation de l'établissement pharmaceutique fournisseur, ou résultats des essais réalisés à l'officine, ou sous-traités pour le compte de l'officine ;
- durée limite d'utilisation éventuelle après contrôle. Cette précision peut, dans certains cas, être apportée par les fournisseurs ;
- conditions particulières, s'il y a lieu, de stockage et de manipulation ;
- éventuellement, caractères organoleptiques pertinents pour un contrôle rapide dès réception ;
- résultats des réactions d'identité : celles-ci doivent être effectuées systématiquement sur chaque matière première ;
- signature et qualité de l'exécutant ;
- décision d'acceptation ou de refus par tout moyen approprié et signature du pharmacien.

## ANNEXE 11

### Fiche récapitulative B.P.O. (10)

#### PRÉPARATIONS POUR PLUSIEURS INDIVIDUS

Mentions données, à titre indicatif, pour l'établissement du mode opératoire des préparations :

**a) Désignation de la préparation :**

- nom ;
- dosage ;
- forme pharmaceutique ;
- composition qualitative et quantitative complète (unitaire ou centésimale) ;
- conditionnement (nature et quantité par unité de conditionnement).

**b) Mise en forme pharmaceutique du produit :**

- formule complète de fabrication qualitative et quantitative (quantités mises en œuvres) ;
- mode opératoire :
  - désignation du matériel et des récipients à utiliser pour la préparation considérée ;
  - indication des valeurs des divers paramètres ayant une influence sur la fabrication, par exemple :
    - \* durée d'introduction, de mélange, de dissolution,
    - \* température de dissolution, de refroidissement,
    - \* conditions de stockage des produits semi-finis éventuels ;
  - mise en œuvre des matières premières et techniques de préparation ;
- description des contrôles éventuels en cours de fabrication ;
- indication de la quantité théorique de produit à obtenir et limites admissibles de rendement au stade final et, si nécessaire, aux stades intermédiaires.

**c) Conditionnement et étiquetage :**

- mode opératoire ;
- renseignements concernant les mentions mobiles à apposer sur le conditionnement ;
- modèle ou fac-similé des articles mis en œuvre.

**d) Contrôle du produit fini :**

- caractères organoleptiques ;
- dosage éventuel du principe actif.

## ANNEXE 12

### Fiche récapitulative B.P.O. (10)

#### DOSSIER DE « LOT »

Mentions données à titre indicatif :

*a)* Désignation de la préparation :

Elle reprend les mentions portées à l'annexe III, paragraphe *a*, avec en outre le numéro d'identification du « lot » préparé ;

*b)* Contrôle des matières premières et articles de conditionnement :

Il est attesté par la référence de contrôle de chaque composant entrant dans la préparation ainsi que, le cas échéant, celle des articles de conditionnement ;

*c)* Mise en forme pharmaceutique et conditionnement :

- dates et heures de début et de fin de chaque opération de préparation et de conditionnement ;
- relevé dûment signé des opérations effectuées, avec précautions prises et observations particulières faites au cours de la fabrication ;
- nombre d'unités de vente fabriquées ;
- indication éventuelle de la date limite d'utilisation ;
- signature et qualité de l'exécutant ;

*d)* Contrôle du produit fini :

- résultat de l'examen approfondi des caractères organoleptiques ;
- résultats des essais éventuels avec référence aux normes d'acceptation ;
- signature et qualité de l'exécutant ;

*e)* Décision de libération du « lot » :

Après examen de l'ensemble des données rassemblées dans le dossier du médicament, le pharmacien qui assure le suivi des préparations prend, par écrit, la décision d'acceptation ou de refus, décision signée par laquelle il assume sa responsabilité pleine et entière.

## ANNEXE 13

Extrait de la liste des substances ne pouvant entrer dans la composition des produits cosmétiques (17)

NUMÉRO D'ORDRE de la directive 76/768/CEE du Conseil (*)	NOM DE LA SUBSTANCE
164	Ephédrine et ses sels.
14	Epinéphrine.
400	1,2-Epoxybutane.
335	Ergocalciférol et cholécalciférol (Vitamine D 2 et D 3).
166	Esérine ou physostigmine et ses sels.
170	Ester diéthylphosphorique du p-nitrophénol.
167	Esters de l'acide p-aminobenzoïque (avec le groupe amino libre).
168	Esters de la choline et de la méthylcholine et leurs sels.
319	Ethionamide.
173	Ethoheptazine et ses sels.
406	4-Ethoxy-m-phénylènediamine et ses sels.
362	Ethyl - 3' - tétrahydro - 5', 6', 7', 8' - tétraméthyl - 5', 5', 8', 8' - acétonaphtone - 2' ou tétraméthyl - 1, 1, 4, 4 - éthyl - 6 - acé- tyl - 7 - tétrahydronaphtalène - 1, 2, 3, 4.
182	Ethylène (oxyde d').
272	Ethylphénacémide.
208	Fénadiazol.
180	Fénazolone.
274	Fényramidol.
187	Fluanisone.
189	Fluoresone.
191	Fluorhydrique (acide), ses sels, ses composés complexes et les hydrofluorures sauf exceptions reprises dans l'arrêté fixant la liste des substances qui ne peuvent être utilisées dans les produits cosmétiques en dehors des restrictions et condi- tions fixées par cette liste.
190	Fluorouracil.
252	Furazolidone.
192	Furfuryltriméthylammonium (sels de, dont iodure de furtrétho- nium).
358	Furocoumarines (dont trioxysalén, méthoxy-8 psoralène, méthoxy-5 psoralène) sauf teneurs normales dans les essences naturelles utilisées. Dans les crèmes solaires et les produits bronzants, les furocou- marines doivent être en quantité inférieure à 1 mg/kg.
193	Galanthamine.
194	Gestagène (substances à effet).
54	Glucinium et ses composés.
300	Glucocorticoïdes.
318	Glucosides de <i>Thevetia neriifolia</i> Juss.
181	Glutéthimide et ses sels.
100	Glycyclamide.
420	Goudrons de houille bruts et raffinés.
230	Guaifénésine.
259	Guanéthidine et ses sels.
185	Halopéridol.

## ANNEXE 14

Extrait de la liste des substances soumises à restrictions (17)

NUMÉRO d'ordre	SUBSTANCES	CHAMP D'APPLICATION et/ou usage	RESTRICTIONS		CONDITIONS D'EMPLOI et avertissements à reprendre obligatoirement sur l'étiquetage
			Concentration maximale autorisée dans le produit cosmétique fini	Autres limitations et exigences	
a	b	c	d	e	f
49	Disulfure de sélénium.	Shampoings antipelli- culaires.	1 %.		Contient du disulfure de sélénium. Éviter le contact avec les yeux et la peau endommagée.
50	Hydroxychlorures d'alu- minium et de zirconium hydratés $Al_2Zr(OH)_6Cl$ et leur complexe avec la glycine.	Antiperspirants.	20 % d'hydroxychlorure d'aluminium et de zir- conium anhydre. 5,4 % (en zirconium).	1. Le rapport entre les nombres d'atomes d'aluminium et de zir- conium doit être compris entre 2 et 10. 2. Le rapport entre les nombres d'atomes (Al+Zr) et de chlore doit être compris entre 0,9 et 2,1. 3. Interdit dans les géné- rateurs d'aérosols (sprays).	Ne pas appliquer sur la peau irritée ou endom- magée.

## ANNEXE 15

Extrait de la liste des agents conservateurs que peuvent contenir les produits cosmétiques (17)

NUMÉRO CE	SUBSTANCE	CONCENTRATION MAXIMALE autorisée	LIMITATIONS ET EXIGENCES	CONDITIONS D'EMPLOI et avertissements à reprendre obligatoirement sur l'étiquetage
1	Acide benzoïque, ses sels et ses esters (*).	0,5 % (en acide).		
2	Acide propionique et ses sels (*).	2 % (en acide).		
3	Acide salicylique et ses sels (*).	0,5% (en acide).	A ne pas utiliser dans les préparations destinées aux enfants en dessous de trois ans, à l'exception des shampoings	Ne pas employer pour les soins d'enfants en dessous de trois ans (1).
4	Acide sorbique et ses sels (*).	0,8% (en acide).		
5	Formaldéhyde et paraformaldéhyde.	0,2% (sauf pour hygiène buccale). 0,1% (pour hygiène buccale). Concentrations exprimées en formaldéhyde libre.	Interdits dans les aérosols (sprays).	
7	O-Phénylphénol et ses sels (*).	0,2% (en phénol).		
8	Sels de zinc du pyridine-1-ox-2-thiol (*) (pyrithione de zinc).	0,5 %.	Autorisés dans les produits rincés après usage. Interdits dans les produits pour les soins buccaux.	

## ANNEXE 16

Fiche technique de la Pharmacopée Française (10<sup>e</sup> édition)

### EAU PURIFIÉE

*Aqua purificata*

H<sub>2</sub>O

*M<sub>r</sub>* 18,02

L'eau purifiée est préparée soit par distillation, soit à l'aide d'un échangeur d'ions, soit par tout autre procédé approprié, à partir de l'EAU POTABLE.

#### CARACTÈRES

Liquide limpide, incolore, inodore et insipide.

#### ESSAI

**Acidité ou alcalinité.** A 10 ml d'eau purifiée récemment bouillie et refroidie dans un ballon de verre borosilicaté, ajoutez 0,05 ml de solution de rouge de méthyle R. La solution n'est pas colorée en rouge.

A 10 ml d'eau purifiée, ajoutez 0,1 ml de solution de bleu de bromothymol R1. La solution n'est pas colorée en bleu.

**Substances oxydables.** Chauffez à ébullition pendant 5 min un mélange de 100 ml d'eau purifiée, de 10 ml d'acide sulfurique dilué R et de 0,1 ml de permanganate de potassium 0,1N. La solution reste légèrement colorée en rose.

**Chlorures.** A 10 ml d'eau purifiée, ajoutez 1 ml d'acide nitrique dilué R et 0,2 ml de solution de nitrate d'argent R2. La solution ne présente aucun changement pendant 15 min au moins.

**Nitrates.** Dans un tube à essai placé dans l'eau glacée, introduisez 5 ml d'eau purifiée, 0,4 ml d'une solution de chlorure de potassium R à 10 pour cent *m/V* et 0,1 ml de solution de diphénylamine R, puis goutte à goutte en agitant, 5 ml d'acide sulfurique R. Placez le tube au bain-marie à 50 °C. Après 15 min, s'il apparaît une coloration bleue, elle n'est pas plus intense que celle d'un témoin préparé simultanément et dans les mêmes conditions avec un mélange de 4,5 ml d'eau exempte de nitrate R et de 0,5 ml de solution à 2 ppm de nitrate (NO<sub>3</sub>) R (0,2 ppm).

**Sulfates.** A 10 ml d'eau purifiée, ajoutez 0,1 ml d'acide chlorhydrique dilué R et 0,1 ml de solution de chlorure de baryum R1. La solution ne présente aucun changement pendant 1 h au moins.

Janvier 1989 - Janvier 1991.



**Ammonium.** A 20 ml d'eau purifiée, ajoutez 1 ml de solution alcaline de tétraiodomercure de potassium R. Après 5 min, examinez la solution dans l'axe vertical du tube. La solution n'est pas plus fortement colorée qu'une solution témoin préparée simultanément par addition de 1 ml de solution alcaline de tétraiodomercure de potassium R à un mélange de 4 ml de solution à 1 ppm d'ammoniaque ( $\text{NH}_3$ ) R et de 16 ml d'eau exempte d'ammonium R (0,2 ppm).

**Calcium et magnésium.** A 100 ml d'eau purifiée, ajoutez 2 ml de solution tampon chlorure d'ammonium pH 10,0 R, 50 mg de mélange composé au mordant noir 11 R et 0,5 ml d'édétate de sodium 0,01M. Il apparaît une coloration bleu franc.

**Métaux lourds (V.3.2.8).** Dans une capsule de verre, chauffez au bain-marie 150 ml d'eau purifiée jusqu'à réduction du volume à 15 ml. 12 ml de la solution concentrée satisfont à l'essai limite A des métaux lourds (0,1 ppm). Préparez le témoin avec la solution à 1 ppm de plomb (Pb) R.

**Résidu à l'évaporation.** Evaporez au bain-marie à siccité 100 ml d'eau purifiée et desséchez à l'étuve à 100-105 °C. La masse du résidu n'excède pas 1 mg (0,001 pour cent).

*L'eau purifiée destinée à la préparation de solutions pour dialyse satisfait en plus à l'essai suivant :*

**Aluminium (V.3.2.17).** A 400 ml d'eau purifiée, ajoutez 10 ml de solution tampon acétate pH 6,0 R et 100 ml d'eau. La solution satisfait à l'essai limite de l'aluminium (0,01 ppm m/V). Utilisez comme solution de référence un mélange de 2 ml de solution à 2 ppm d'aluminium (Al) R, de 10 ml de solution tampon acétate pH 6,0 R et de 98 ml d'eau et comme solution à blanc un mélange de 10 ml de solution tampon acétate pH 6,0 R et de 100 ml d'eau.

## CONSERVATION

En récipient bien fermé n'altérant pas les propriétés de l'eau.

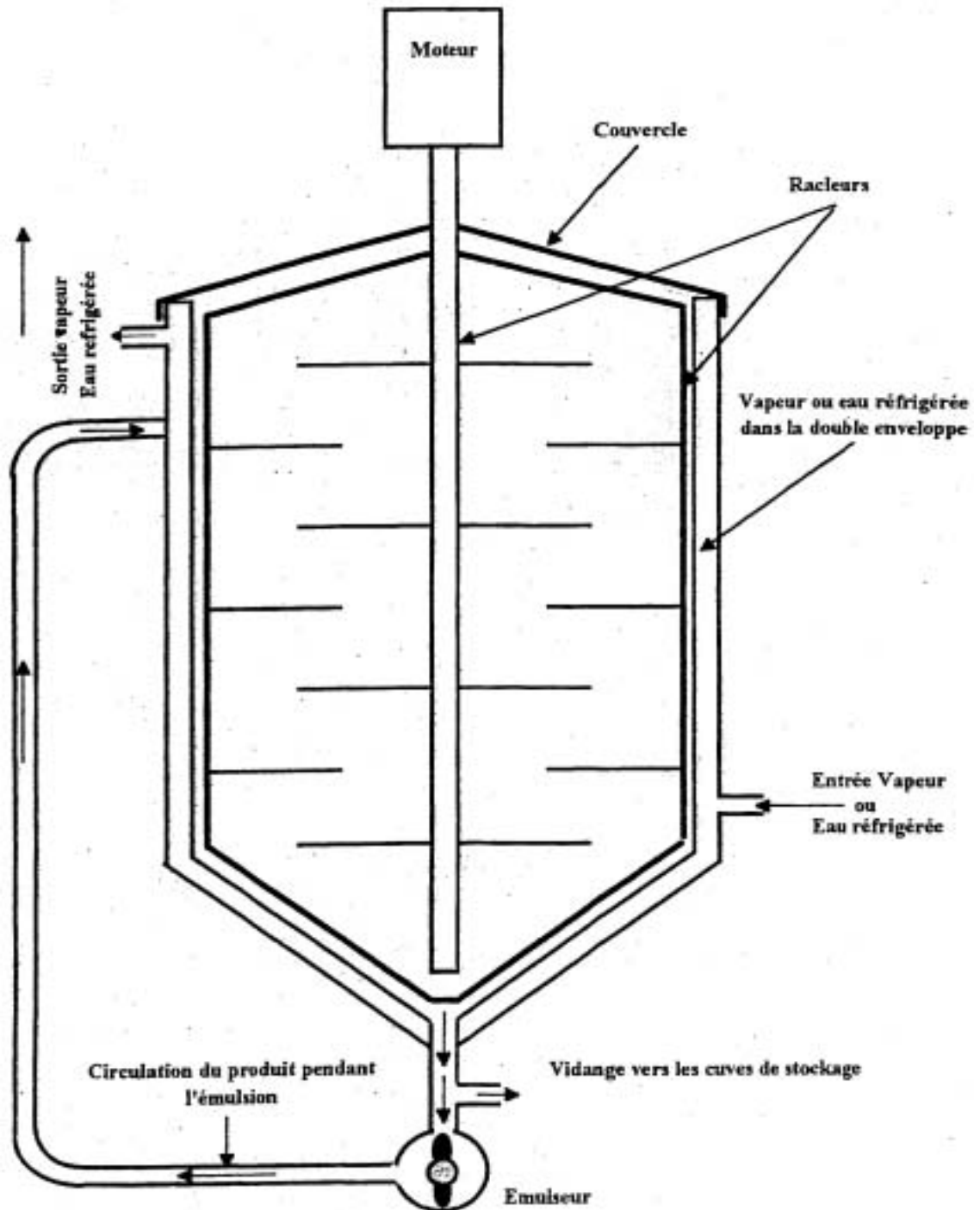
## ÉTIQUETAGE

L'étiquette indique, dans les cas appropriés, que la substance convient à la préparation de solutions pour dialyse.

Janv. 1991

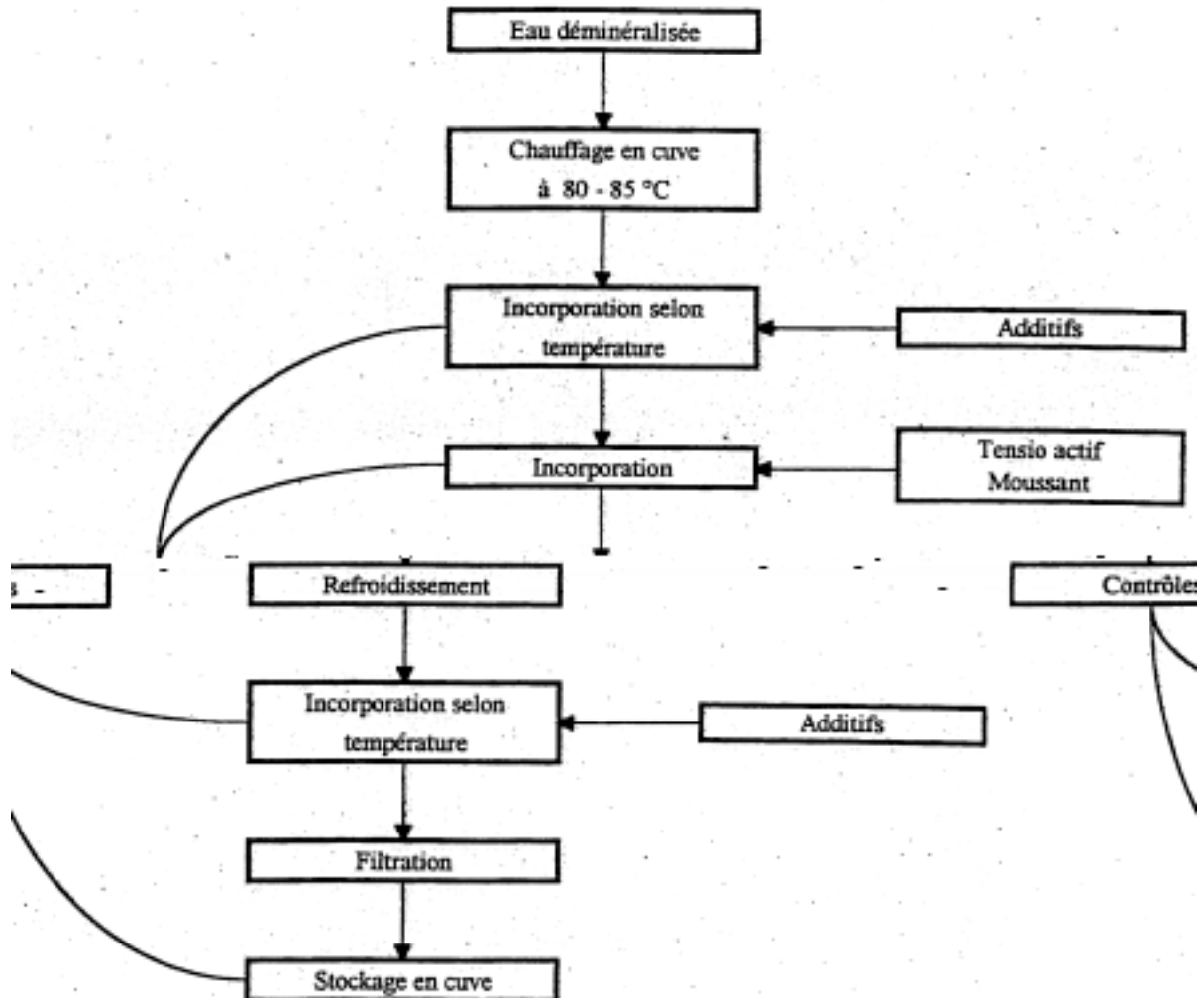
## ANNEXE 17

(15)

PRINCIPE D'UN MALAXEUR

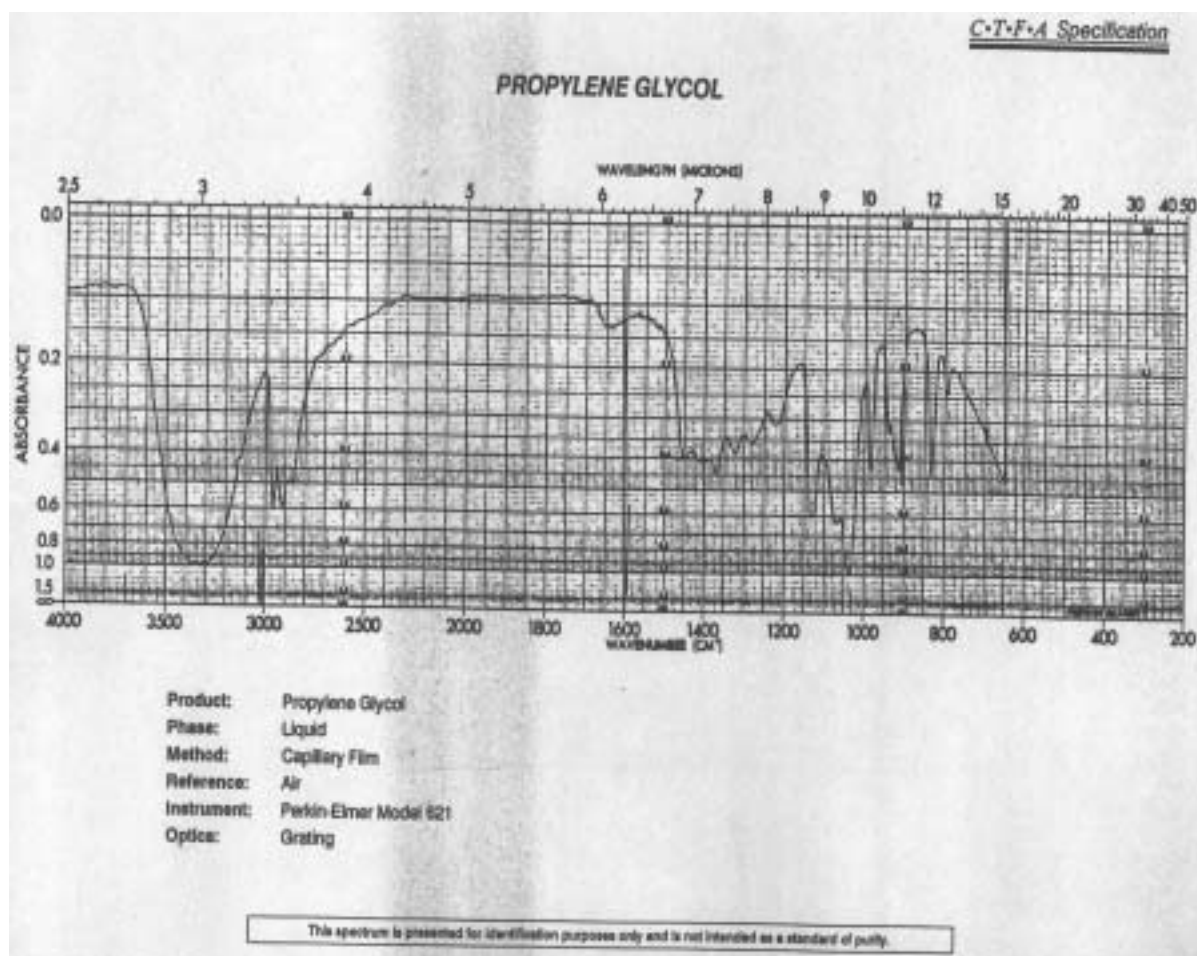
## ANNEXE 18

### Etapes de fabrication d'un shampoing (15)



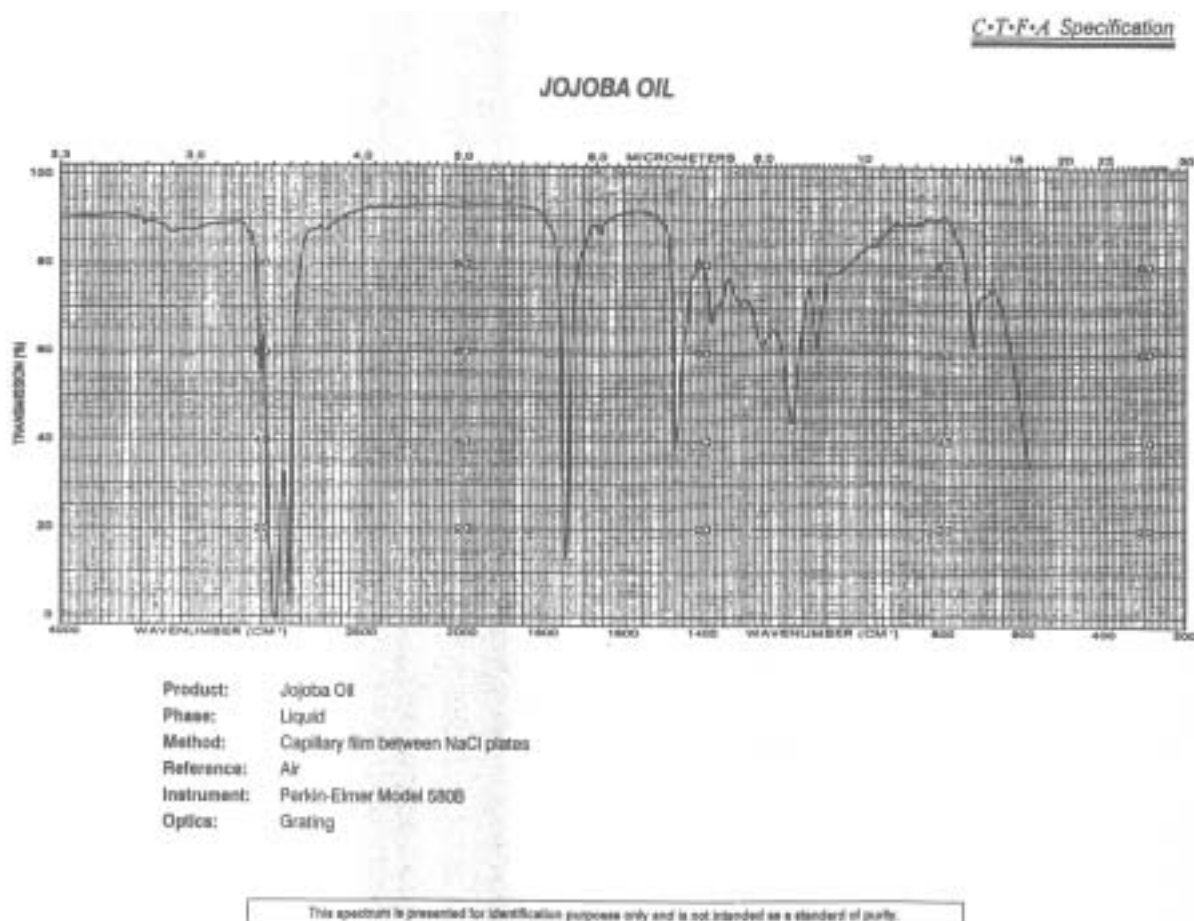
## ANNEXE 19

Spectre du propylène glycol servant de référence à la méthode d'identification par spectrophotométrie d'absorption (16)



## ANNEXE 20

Spectre de l'huile de Jojoba servant de référence à la méthode d'identification par spectrophotométrie d'absorption (16)



## ANNEXE 21

Tests toxicologiques requis aux Etats-Unis pour les différents types de cosmétiques (16)

	Human Repeated Insult Patch Test	Primary Irritation	Acne	Photo Toxicity	Photo Allergy	Ophthalmology	Sun Protection Factor (SPF), When Required	Efficacy	Vaginal
Bath Products		X							X
Deodorant/ Antiperspirants	X							X	
Eye Area Makeup	X					X			
Eye Area Treatments	X					X	X		
Fragrances	X			X	X				
Lip Products	X						X		
Makeup/Face	X		X				X		
Nail Enamels	X								
Shampoos/ Conditioners		X							
Skin Treatment/ Body	X						X		
Skin Treatment/ Face	X		X				X		
Sun/Beach Products	X	X	X	X		X			

## ANNEXE 22

### Méthode officielle de détermination de l'indice d'irritation primaire

(17)

#### MÉTHODE OFFICIELLE POUR LA DÉTERMINATION DE L'INDICE D'IRRITATION PRIMAIRE

##### I. — *Objectif.*

Cette méthode est utilisée pour déterminer la capacité d'irritation primaire d'une substance. On désigne par irritant primaire toute substance provoquant une réaction cutanée après une application unique. L'irritation obtenue dépend de la nature de la substance testée, de sa concentration et du temps d'exposition sur la peau.

##### II. — *Matériel et réactifs.*

1. Boîte à double contention pour lapin laissant libre le dos de l'animal ;
2. Lapin albinos, mâles de 2,5 à 3,5 kg environ. Les animaux doivent avoir séjourné dans l'animalerie huit jours au minimum, afin d'être parfaitement acclimatés ;
3. Tondeuse électrique pour animal ;
4. Rasoir électrique à grille ;
5. Vaccinostyle stérile ;
6. Bandes de fixation, largeur 3,8 mm ;
7. Gaze hydrophile : carrés à quatre épaisseurs de 2,5 cm de côté ;
8. Coton hydrophile ;
9. Rouleaux de sparadrap de 10 cm de large ;
10. Seringue de 1 ml au 1/100 ;
11. Balance de précision.



### III. — Mode opératoire.

#### A. — Préparation de la peau.

1. Tondre le dos et les flancs de six lapins à la tondeuse électrique pour dégager une surface d'environ 14 cm × 14 cm.
2. Raser la surface tondue au rasoir électrique. Opérer avec précaution de manière à éviter toute irritation due au contact du rasoir.
3. Laisser la peau rasée au repos pendant vingt-quatre heures.
4. Conserver le flanc gauche de chaque lapin intact, pour servir de témoin.
5. Effectuer sur le flanc droit, au vaccinostyle, conservé jusque-là en état de stérilité, trois incisions parallèles de 3 cm de long environ et espacées de 0,5 cm environ. L'incision doit être pratiquée de façon à attaquer l'épiderme sans atteindre le derme. Tout saignement doit être évité et en aucun cas le muscle sous-jacent ne doit apparaître sous l'incision.

#### B. — Application de la substance.

1. Déposer une quantité déterminée de la substance à tester sur deux carrés de gaze :  
Produit pâteux, 0,5 gramme ;  
Produit liquide, 0,5 ml ;  
Produit solide, 0,5 gramme dispersé à l'état de pâte dans un solvant approprié.
2. Appliquer un carré de gaze ainsi préparé sur le flanc non incisé et un second sur le flanc incisé de l'animal. Les maintenir à l'aide de deux bandes de fixation de 7 cm. de long environ disposées en diagonales.
3. Placer un petit tampon de 1 gramme environ de coton hydrophile au point de croisement des bandes de fixation. Ceci permettra de maintenir une pression uniforme sur toute la surface du carré de gaze.
4. Enrouler l'animal, au niveau des carrés, avec une bande de sparadrap de 10 cm de large de manière à envelopper le tronc et à bloquer les carrés de gaze.
5. Maintenir le lapin dans la boîte à double contention pendant vingt-quatre heures.
6. Enlever le carré de gaze vingt-quatre heures après l'application.

#### C. — Evaluation de l'irritation primaire cutanée.

L'indice d'irritation primaire doit être évalué immédiatement après enlèvement des carrés de gaze et de nouveau quarante-huit heures plus tard (vingt-quatre heures et soixante-douze heures après l'application respectivement).

Ces observations doivent se faire sur le côté incisé et sur le côté non incisé.

#### D. — Echelle numérique.

Erythème et formation d'escarres :

Pas d'érythème .....	0
Léger érythème (à peine visible) .....	1
Erythème bien visible .....	2
Erythème modéré à important .....	3
Erythème grave (rouge pourpre) avec formation de légères escarres (lésions profondes) .....	4

#### E. — Echelle numérique.

Formation d'œdème :

Pas d'œdème .....	0
Très léger œdème (à peine visible) .....	1
Léger œdème (contours bien définis, gonflement apparent) .....	2
Œdème moyen (épaisseur environ 1 mm) .....	3
Œdème grave (épaisseur supérieure à 1 mm et sur face supérieure à celle du carré) .....	4

#### F. — Notation.

1. Additionner les notes obtenues pour l'œdème et pour l'érythème après vingt-quatre heures et soixante-douze heures sur les six zones correspondant aux surfaces incisées.

2. Effectuer le même total pour les six zones correspondant aux surfaces non incisées.

3. Effectuer le total des chiffres obtenus pour les lectures des six zones (surfaces incisées et non incisées).

4. Calculer la note moyenne en divisant le total précédent par 24.

5. La moyenne obtenue (toujours inférieure à 8) est désignée comme étant l'indice d'irritation primaire cutanée.

NOTA. — L'évaluation des érythèmes est facilitée en effectuant une injection intraveineuse dans l'oreille du lapin, d'une solution à 1 p. 100 de trypan bleu dans le sérum physiologique stérile à raison de 1 ml de solution par kilogramme de lapin. Les zones vascularisées se colorent en bleu et l'intensité de la coloration est proportionnelle à l'intensité de l'irritation.



#### IV. — *Interprétation des résultats.*

La substance est considérée comme :

Non irritante pour un indice nul ;

Légèrement irritante pour un indice compris entre 0 et 2 ;

Moyennement irritante pour un indice compris entre 2 et 5 ;

Sévèrement irritante pour un indice compris entre 5 et 8.

## ANNEXE 23

### Méthode officielle pour la détermination de l'irritation oculaire (17)

#### MÉTHODE OFFICIELLE POUR L'ÉVALUATION DE L'IRRITATION OCULAIRE

##### I. - *Objet*

La présente méthode est utilisée pour l'évaluation de l'irritation oculaire par un produit cosmétique ou d'hygiène corporelle.

On considère généralement comme inutile d'effectuer l'essai avec des produits très alcalins ( $\text{pH} \geq 11,5$ ) ou très acides ( $\text{pH} \leq 2$ ) en raison de leurs propriétés corrosives probables.

##### II. - *Principe*

La méthode est fondée sur l'observation des réactions oculaires provoquées par l'instillation unique du produit.

##### III. - *Animaux de laboratoire et équipement*

3.1. Lapins albinos, de souche définie, de même sexe et pesant 2,5 kg environ.

Les animaux doivent avoir séjourné dans l'animalerie, en cage individuelle, une semaine au minimum afin d'être parfaitement acclimatés et reçoivent, dès leur arrivée, une alimentation de composition constante et équilibrée. ....

- 3.2 Dispositif de maintien permettant la bonne réalisation du protocole expérimental.
- 3.3 Seringue stérile de 1 ml graduée au centième.
- 3.4 Solution aqueuse de fluorescéine sodique à 2 p. 100 m/v, de préférence préparée extemporanément.
- 3.5 Solution de chlorure de sodium à 9 p. 1000 m/v, ou isotonique aux larmes ou solution équivalente.
- 3.6 Lampe torche.
- 3.7 Ophthalmoscope.
- 3.8 Lampe loupe U.V. de type utilisé en ophtalmologie.
- 3.9 Balance de laboratoire sensible au moins au milligramme pour la pesée du produit.

#### IV. - Mode opératoire

Cet essai doit être effectué sur trois lapins ayant les yeux sains et sans défaut.

- 4.1 Appliquer directement le produit dans le sac conjonctival de l'un des yeux de chaque lapin à raison de :  
Produits liquides : 0,1 ml ;  
Produits semi-liquides et pâteux : 0,1 ml ou 100 mg ;  
Produits solides et pulvérulents : 100 mg ou le volume de 0,1 ml dans le cas de poudres de faible densité.
- 4.2 Maintenir les paupières fermées pendant 10 secondes, afin d'éviter toute perte.
- 4.3 Maintenir les animaux pendant une heure dans le dispositif (3.2) afin qu'ils ne puissent pas se frotter l'œil, puis les remettre dans leur cage.
- 4.4 Observer l'œil des lapins une heure, puis un, deux, trois, quatre et sept jours après l'instillation, en utilisant l'œil non instillé comme témoin pour évaluer une irritation éventuelle de l'œil traité.

Effectuer les examens dans l'ordre suivant :

- conjonctive (chemosis, larmoiement, rougissement) ;
- iris ;
- cornée (degré et surface d'opacification).

L'observation des lésions de la conjonctive, de l'iris et de la cornée se fera par examen direct (3.6 et 3.7). L'observation de la cornée sera complétée (à l'exclusion de la lecture à une heure) par un examen après instillation de la solution de fluorescéine (3.4) et rinçage à l'aide de la solution (3.5). Elle sera poursuivie en utilisant la lampe U.V. (3.8).

- 4.5. Les animaux morts en cours d'essai seront remplacés par d'autres animaux qui seront traités dans les mêmes conditions.

#### V. - Notation

- 5.1 Procéder aux différents temps à l'évaluation des lésions dans l'ordre d'instillation des animaux.
- 5.2 Noter les observations à l'aide de l'échelle d'évaluation numérique ci-après.

#### VI. - Evaluation numérique des lésions oculaires

- 6.1. Conjonctive :

Commencer l'évaluation du chemosis et du larmoiement avant d'ouvrir les paupières de l'animal.

- 6.1.1. Chemosis (A) :

Pas de gonflement .....	0
Gonflement léger, y compris la membrane nictitante.....	1
Gonflement avec éversion de paupière.....	2
Gonflement avec paupières à demi fermées.....	3
Gonflement avec paupières fermées plus qu'à moitié ou complètement.....	4

- 6.1.2. Larmoiement (B) :

Absence de larmoiement.....	0
Larmoiement léger (ne pas tenir compte des légères sécrétions existant normalement dans l'angle interne).....	1
Larmoiement avec humidification des paupières et des poils avoisinant les paupières.....	2
Larmoiement avec humidification des paupières et des poils sur de larges surfaces autour de l'œil.....	3

- 6.1.3. Rougissement de la conjonctive palpébrale (C) :

Vaisseaux normaux.....	0
Vaisseaux nettement plus injectés que la normale.....	1
Vaisseaux difficiles à distinguer individuellement :	
- couleur rouge vif, diffuse.....	2
- couleur rouge foncé, diffuse.....	3

- 6.1.4. Additionner les trois notes et multiplier le total par 2 :

(A + B + C) × 2 :  
Maximum = 20.

## 6.2. Iris (D) :

Normal.....	0
Nettement plus plissé que la normale, congestion, gonflement, iris réagissant encore à la lumière, même lentement (une ou plusieurs de ces caractéristiques).....	1
Pas de réaction à la lumière, hémorragie, destruction importante (une ou plusieurs de ces caractéristiques).....	2

6.2.1. Multiplier la note obtenue D par 5 :  $D \times 5$  :

Maximum = 10.

## 6.3. Cornée :

Ne tenir compte que de la zone présentant le degré de lésion le plus élevé.

## 6.3.1. Degré d'opacification cornéenne (E) :

Aucune modification visible à l'examen direct (perte de brillant ou de poli) ou après instillation de fluorescéine.....	0
Présence de zones translucides (diffuses ou disséminées), détails de l'iris clairement visibles.....	1
Présence d'une zone translucide facilement identifiable, détails de l'iris légèrement masqués.....	2
Présence d'une zone opalescente, aucun détail de l'iris visible, contour de la pupille à peine discernable.....	3
Présence d'une opacité cornéenne totale rendant l'iris et la pupille invisibles.....	4

## 6.3.2. Surface d'opacité (F) :

Un quart (ou moins mais non nulle).....	1
Entre le quart et la moitié.....	2
Entre la moitié et les trois quarts.....	3
Des trois quarts à toute la surface.....	4

6.3.3. Faire le produit des deux notes et le multiplier par 5 :  $E \times F \times 5$  :

Maximum = 80.

## VII. - Détermination des indices d'irritation oculaire

- 7.1. Additionner pour chaque lapin les notes obtenues, à chaque temps d'observation. On obtient ainsi les indices d'irritation oculaire individuels : I.O.I.
- 7.2. Faire à chaque temps la moyenne des I.O.I. des trois lapins. On obtient ainsi l'indice d'irritation oculaire moyen : I.O.
- 7.3. Noter parmi les I.O. celui qui a la valeur la plus élevée. On obtient ainsi l'indice d'irritation oculaire maximum : I.O.Max. Le temps d'apparition de celui-ci sera précisé au rapport d'essai.

## VIII. - Expression des résultats

L'appréciation du produit examiné sera faite en fonction de l'indice d'irritation oculaire maximum mentionné au point VII, selon le tableau suivant :

I.O. MAX.	APPRÉCIATION
$\leq 15$ $> 15$ et $\leq 30$ $> 30$ et $\leq 50$ $> 50$	Faiblement irritant. Moyennement irritant. Irritant. Très irritant.

## IX. - Rapport d'essai

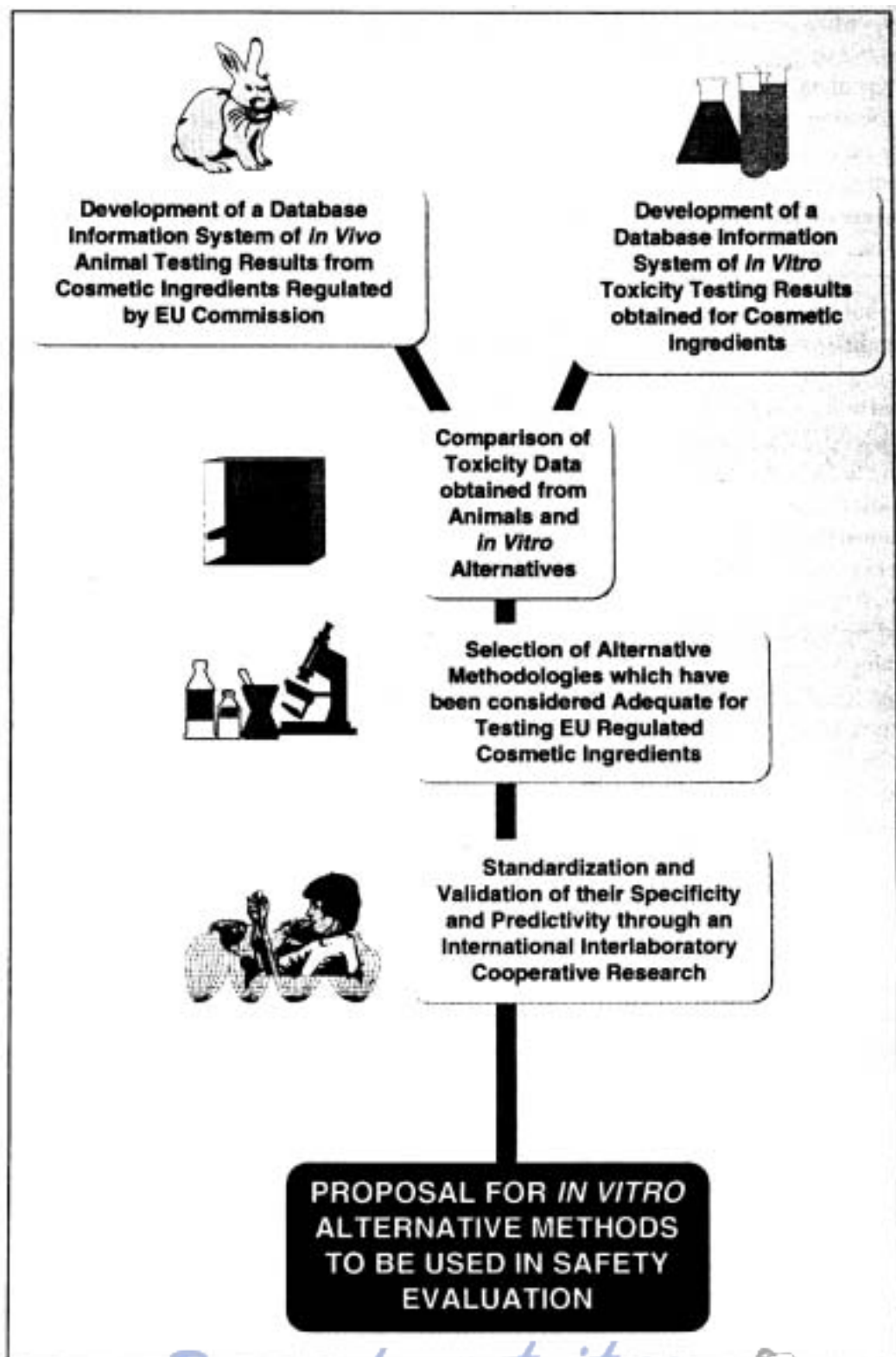
Le rapport d'essai doit comporter toutes les indications prévues par les règles de bonnes pratiques de laboratoire.

Dans ses conclusions l'expérimentateur tiendra compte de toutes les observations et des résultats des examens, une attention particulière étant portée à la réversibilité des effets.

En cas d'impossibilité absolue d'utiliser la méthodologie décrite, l'expérimentateur devra mentionner avec précision et justifier les modifications apportées.

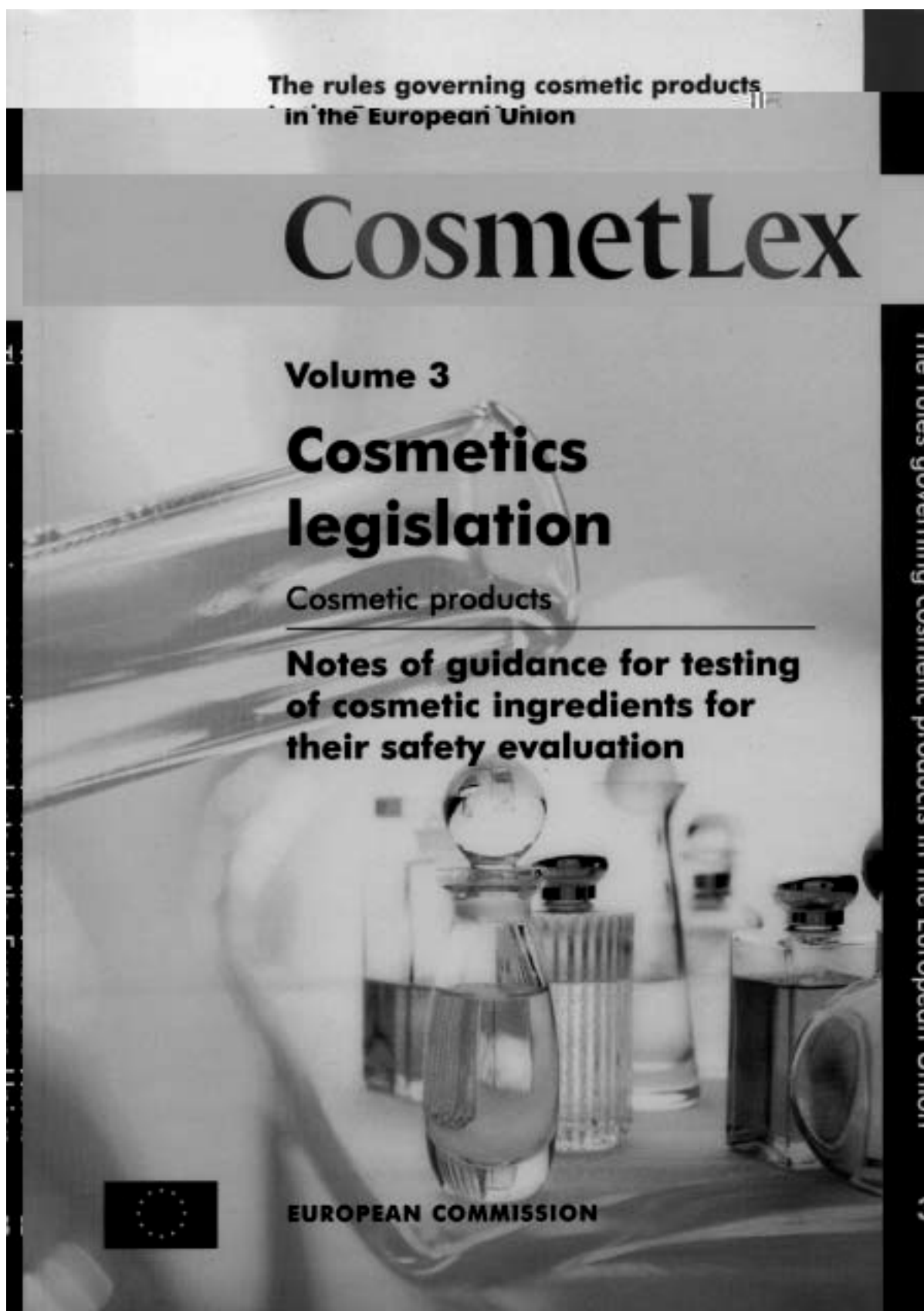
## ANNEXE 24

Schéma de mise au point de méthodes alternatives (14)



**ANNEXE 25**

Couverture et table des matières COSMETLEX (5)





# TABLE OF CONTENTS

<b>FOREWORD.....</b>	<b>III</b>
<b>1. INTRODUCTION.....</b>	<b>1</b>
<b>2. THE SCIENTIFIC COMMITTEE ON COSMETIC PRODUCTS AND NON-FOOD PRODUCTS INTENDED FOR CONSUMERS.....</b>	<b>3</b>
<b>3. THE SIXTH AMENDMENT (COUNCIL DIRECTIVE 93/35/EEC) .....</b>	<b>6</b>
<b>4. TESTING OF INGREDIENTS AND SAFETY ASSESSMENT OF THE FINISHED PRODUCT .....</b>	<b>10</b>
<b>5. LISTS OF INGREDIENTS .....</b>	<b>11</b>
<b>6. CATEGORIES OF COSMETIC PRODUCTS AND EXPOSURE LEVELS IN USE.....</b>	<b>15</b>
<b>7. PHYSICAL AND CHEMICAL SPECIFICATIONS .....</b>	<b>17</b>
<b>8. TOXICITY STUDIES .....</b>	<b>18</b>
8.1 ACUTE TOXICITY .....	18
8.2 PERCUTANEOUS ABSORPTION .....	19
8.3 SKIN IRRITATION .....	19
8.4 EYE IRRITATION .....	20
8.5 SKIN SENSITISATION AND PHOTSENSITISATION .....	20
8.6 SUBCHRONIC TOXICITY .....	20
8.7 MUTAGENICITY/GENOTOXICITY .....	21
8.8 PHOTOTOXICITY/PHOTOIRRITATION .....	21
8.9 PHOTOMUTAGENICITY / PHOTOGENOTOXICITY .....	21
8.10 HUMAN DATA .....	22
8.11 TOXICOKINETIC STUDIES .....	22
8.12 METABOLISM STUDIES .....	22
8.13 LONG-TERM TOXICITY STUDIES .....	22
8.14 FINISHED PRODUCTS .....	22

<b>9. TEST PROCEDURES (METHODOLOGIES) .....</b>	<b>24</b>
<b>ANNEX 1 – GENERAL TOXICOLOGICAL REQUIREMENTS FOR COSMETIC INGREDIENTS.....</b>	<b>25</b>
<b>ANNEX 2 – THE USE OF METHODS ALTERNATIVE TO ANIMAL STUDIES IN THE SAFETY EVALUATION OF COSMETIC INGREDIENTS OR COMBINATIONS OF INGREDIENTS .....</b>	<b>26</b>
1. PREAMBLE .....	26
2. ALTERNATIVE METHODS .....	27
REFERENCES .....	30
<b>PRESENT DEVELOPMENT AND VALIDATION OF ADEQUATE ALTERNATIVE METHODOLOGIES TO THE USE OF ANIMALS IN SAFETY TESTING OF COSMETICS.....</b>	<b>32</b>
1. PREAMBLE .....	32
2. SAFETY EVALUATION OF COSMETIC INGREDIENTS.....	32
3. PRESENTLY VALIDATED ALTERNATIVE METHODS .....	33
4. OPINION OF THE SCCNFP.....	36
REFERENCES .....	37
<b>ANNEX 3 – GUIDELINES FOR THE <i>IN VITRO</i> ASSESSMENT OF THE PHOTOTOXIC POTENTIAL OF UV-FILTERS .....</b>	<b>39</b>
1. INTRODUCTION .....	39
2. TESTING FOR PHOTOMUTAGENICITY.....	39
3. TESTING FOR PHOTOTOXICITY .....	40
<b><i>IN VITRO</i> METHODS TO ASSESS PHOTOTOXICITY IN THE SAFETY EVALUATION OF COSMETIC INGREDIENTS OR MIXTURES OF INGREDIENTS .....</b>	<b>41</b>
<b>TERMS OF REFERENCE .....</b>	<b>41</b>
1. BACKGROUND .....	41
2. DIFFERENT PHASES IN THE STUDY.....	41
3. OPINION OF THE SCCNFP.....	42
4. REFERENCES .....	42
<b>ANNEX 4 – GENERAL SCHEME FOR DETERMINING THE MARGIN OF SAFETY OF HAIR DYES .....</b>	<b>44</b>
<b>ANNEX 5 – GENERAL SCHEME FOR DETERMINING THE MARGIN OF SAFETY OF PRESERVATIVES.....</b>	<b>46</b>
ESTIMATION OF EXPOSURE .....	46



<b>ANNEX 6 – GENERAL SCHEME FOR DETERMINING THE MARGIN OF SAFETY OF UV FILTERS.....</b>	<b>49</b>
<b>ANNEX 7 – GUIDELINES FOR THE SAFETY ASSESSMENT OF THE FINISHED COSMETIC PRODUCT .....</b>	<b>50</b>
INTRODUCTION .....	50
1. TRANSPARENCY OF THE INGREDIENT'S IDENTITY .....	50
2. TRANSPARENCY OF THE ASSESSMENT OF THE SAFETY FOR HUMAN HEALTH OF THE FINISHED COSMETIC PRODUCT .....	54
3. FRAGRANCES .....	55
<b>ANNEX 8 – GUIDELINES ON MICROBIOLOGICAL QUALITY OF THE FINISHED COSMETIC PRODUCT .....</b>	<b>57</b>
1. PREAMBLE.....	57
2. CATEGORIES OF COSMETICS IN MICROBIOLOGICAL QUALITY CONTROL.....	57
3. QUANTITATIVE LIMITS .....	57
4. QUALITATIVE LIMITS .....	57
5. PRODUCT PRESERVATION .....	58
6. THE CHALLENGE TESTING .....	58
7. GOOD MANUFACTURING PRACTICE .....	58
<b>ANNEX 9 – GUIDELINES FOR <i>IN VITRO</i> METHODS TO ASSESS SKIN CORROSIVITY IN THE SAFETY EVALUATION OF COSMETIC INGREDIENTS OR MIXTURES OF INGREDIENTS .....</b>	<b>59</b>
TERMS OF REFERENCE .....	59
1. BACKGROUND .....	59
2. ORGANISATION OF THE STUDY .....	59
3. MAIN RESULTS.....	60
4. OPINION OF THE SCCNFP .....	60
5. REFERENCES .....	61
<b>ANNEX 10 – GUIDELINES FOR <i>IN VITRO</i> METHODS TO ASSESS PERCUTANEOUS.....</b>	



5.	BASIC CRITERIA FOR THE <i>IN VITRO</i> ASSESSMENT OF PERCUTANEOUS ABSORPTION OF COSMETIC INGREDIENTS .....	64
6.	REFERENCES .....	68
<b>ANNEX 11 – GUIDELINES ON THE USE OF HUMAN VOLUNTEERS IN THE TESTING OF POTENTIALLY CUTANEOUS IRRITANT COSMETIC INGREDIENTS OR MIXTURES OF INGREDIENTS .....</b>		<b>70</b>
1.	BACKGROUND .....	70
2.	PROCEDURE OF IRRITANCY ASSESSMENT.....	71
3.	ETHICAL CONSIDERATIONS.....	72
4.	REFERENCES .....	72
<b>ANNEX 12 – GUIDELINES ON THE USE OF HUMAN VOLUNTEERS IN COMPATIBILITY TESTING OF FINISHED COSMETIC PRODUCTS .....</b>		<b>73</b>
1.	BACKGROUND .....	73
2.	ETHICAL CONSIDERATIONS.....	74
3.	TEST METHODS IN HUMAN VOLUNTEERS FOR THE SKIN COMPATIBILITY ASSESSMENT OF FINISHED COSMETIC PRODUCTS.....	75
<b>ANNEX 13 – CLASSIFICATION OF SUBSTANCES.....</b>		<b>77</b>
<b>ANNEX 14 – STANDARD FORMAT OF THE OPINIONS .....</b>		<b>78</b>
EXECUTIVE SUMMARY .....		78
FULL OPINION.....		79

## BIBLIOGRAPHIE

- (1) BENITA S.: *Microencapsulation : methods and industrial application*. New York: M. Dekker, 1996, 640p.
  
- (2) Bonnes pratiques de laboratoire. Ministère de l'emploi et de la solidarité, numéro spécial 2000-5 bis, 2000.
  
- (3) BUSSIERAS J., CHERMETTE R. ET BOURDEAU P. : La peau saine. *Rec. Méd. Vét.*, 1984, N° Spécial Dermatologie **160** (5), 405-408
  
- (4) CARLOTTI D.N. et MATHET J.L. : Anatomie de la peau. *Prat. Méd. Chir. Anim. Comp.*, (Personnel soignant), 1994, **2**, 19-25
  
- (5) Cosmetlex : *The rules governing cosmetic products in the European Union*. Luxembourg: Office for official publications of the european communities, 2000
  
- (6) ESTRADE M.N. : *Guide pratique du conseil cosmétologique à l'officine*. Paris : éditions Pro-Officina, 1998, **4**, 1-112
  
- (7) ETIENNE M.C. : *Démarche en vue de la constitution d'un dossier cosmétique : application à un shampoing antipelliculaire A.C.T.O.* Thèse Pharmacie, Dijon, 1988 ; n°32, 153p.
  
- (8) GALL Y., BAZEX J.: *La santé de la peau*. Toulouse : éditions Privat, 1999, 261p.

- (9) GUAGUERE E. : Cosmétologie canine : bases anatomiques, physiologiques et cliniques. *Prat. Méd. Chir. Anim. Comp.*, (Personnel soignant), 1990, **2**, 7-12
- (10) Guide de bonnes pratiques de préparation officinale. Paris : Editions des Journaux Officiels, 1988, 29p.
- (11) HEDOUIN-DORE C. : *Création d'une gamme cosmétique à l'officine : aspect réglementaire et application pratique*. Thèse Pharmacie, Rouen, 1997 ; n°35,101p.
- (12) HUNTING, ANTHONY L.L. : *Encyclopedia of shampoo ingredients*. Crauford Weyrmouth: Micelle press, 1991, 467p.
- (13) LEFEVRE C. : *Lancement d'une gamme dermatologique en médecine vétérinaire*. Thèse Méd. Vét., Alfort, 1999 ; n°32,126p.
- (14) LOPRIENO N. : *Alternative methodologies for the safety evaluation of chemicals in the cosmetic industry*. Boca Raton : CRC Press, 1996, 261p.
- (15) MANS-BUREAU F. : *Surveillance du système qualité et de l'hygiène en production cosmétique*. Thèse Pharmacie, Aix Marseille II, 1999 ; 3092 B, 56 p.
- (16) MITCHELL L., SCHLOSSMAN, B.A., FAIC, FSCC : *The chemistry and manufacture of cosmetics. Volume I, Basic science*. 3<sup>rd</sup> ed. Carol Stream: Allured Publishing Corporation, 2001, 452p.
- (17) Produits cosmétiques. Paris : Editions des Journaux Officiels, 2001, n° 1544.
- (18) SAUVEZ F. : *Les préparations a usage dermatologique chez le chien : aspects galéniques et thérapeutiques*. Thèse Méd. Vét., Toulouse, 1987 ; n° 81, 146p.
- (19) SCOTT D.W., MILLER W.H. and GRIFFIN C.E. : Structure and fonction of the skin. In: MULLER G.H. et KIRK R.W.: *Small Animal Dermatology*. 5<sup>th</sup> ed. Philadelphia : WB Saunders, 1995, 1-54

(20) VANDAELE E. ET VEILLET F. : *Dictionnaire des médicaments vétérinaires*. 10<sup>ème</sup> éd., Maisons-Alfort : Edition du Point Vétérinaire, 1999, 1660p.

(21) VAN DER MAREN M.L. : *Lignes directrices de bonnes pratiques de production des produits cosmétiques (B.P.P.C.)*. Bruxelles : Editions du Conseil de l'Europe, 1995, 35p.

## TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION .....	1
PARTIE I. : Les bases réglementaires de l'élaboration d'un dossier de cosmétiques vétérinaires .....	3
I. Dispositions législatives et réglementaires françaises concernant les cosmétiques .....	3
A. Définition d'un produit cosmétique .....	3
B. Conditions de mise sur le marché .....	4
II. Lignes directrices des Bonnes Pratiques .....	6
A. Bonnes Pratiques de production des produits cosmétiques .....	6
1) Le système qualité .....	7
(a) Le personnel .....	8
(b) Le bâtiment .....	8
(c) Les équipements .....	9
(d) Procédures et procédés .....	9
(i) Procédures et instructions .....	9
(ii) Procédés .....	10
2) Les différentes étapes de la production .....	10
(a) Les achats .....	10
(b) Réception des produits entrants .....	10
(i) Matières premières, articles de conditionnement et produits vrac .....	10
(ii) Eau .....	11
(iii) Magasinage et stockage .....	11
(c) Fabrication .....	12
(i) Préparation .....	12
(ii) Fabrication proprement dite .....	12
(iii) Conditionnement et stockage du produit fini .....	12
3) Maîtrise de la qualité .....	13
(a) Contrôle de la qualité .....	13
(b) Echantillonnage .....	14
4) Conclusion .....	14
B. Bonnes Pratiques de préparation Officinale (B.P.O.) .....	15
1) Définition et rôle : pourquoi définir des B.P.O. ....	15
2) Les recommandations .....	16
(a) Dispositions relatives aux locaux et au matériel .....	16
(i) Le préparatoire .....	16
(ii) Le matériel .....	17
(b) Dispositions relatives au personnel .....	18
(i) Tenue vestimentaire .....	18
(ii) Règles d'hygiène .....	19
(c) Matières premières et articles de conditionnement .....	19

(d) Dispositions relatives à la préparation.....	19
(i) Précautions générales contre les risques de contamination et de confusion : ‘dispositions préalables’ .....	19
(ii) Opérations de préparation.....	20
(iii) Contrôle du produit fini .....	21
C. Bonnes Pratiques de Laboratoire (B.P.L.).....	22
1) Instructions relatives à la réalisation de l'étude.....	23
(a) Plan de l'étude .....	23
(b) Contenu du plan de l'étude.....	23
2) Etablissement du rapport sur les résultats de l'étude.....	24
III. Composition des produits cosmétiques .....	25
A. Liste des substances ne pouvant entrer dans la composition des produits cosmétiques .....	25
B. Liste des substances soumises à restrictions.....	25
C. Liste des agents conservateurs que peuvent contenir les produits cosmétiques.....	25

## PARTIE II. : Elaboration d'un shampoing pour chien et évaluation de la qualité de la formule proposée. .... 27

I. Etablissement d'une formule qualitative et quantitative .....	27
A. Caractéristiques de la peau du chien.....	27
1) Structure .....	28
(a) Les différentes couches de la peau .....	28
(b) Le poil et ses annexes .....	30
(i) Le poil.....	31
(ii) Les annexes .....	33
(c) Le film cutané de surface.....	34
2) Les fonctions de la peau .....	34
(a) Une protection anatomique.....	35
(i) Une protection contre les agressions externes.....	35
(ii) Une protection contre la déshydratation.....	35
(b) Une protection chimique .....	36
(c) Une protection anti-bactérienne.....	36
(d) Une protection immunologique .....	36
B. Données générales concernant les shampoings.....	37
1) Caractéristiques générales des shampoings pour chiens .....	37
2) Composition des shampoings .....	39
(a) Base lavante : association de plusieurs tensioactifs.....	39
(i) Les tensioactifs anioniques.....	40
(ii) Tensioactifs cationiques .....	42
(iii) Les tensioactifs amphotères.....	43
(iv) Les tensioactifs non ioniques.....	44
(b) Les stabilisateurs de mousse.....	44
(c) Les épaississants .....	45
(d) Les nacrants et les opacifiants .....	45
(e) Les adoucissants et les surgraissants .....	46
(f) Les séquestrants .....	46
(g) Les correcteurs de pH.....	47
(h) Les conservateurs .....	47
(i) Les parfums et les colorants .....	47



(j) Les substances actives : kératolytiques, kératorégulateurs et anti-séborrhéiques.....	48
(k) Remarques : .....	49
3) Les différentes catégories de shampooings .....	49
(a) Les shampooings d'hygiène .....	49
(b) Les shampooings traitants .....	50
4) Etudes de quelques shampooings d'entretien pour chiens .....	51
5) Etudes de quelques shampooings d'hygiène pour l'Homme .....	53
C. Proposition d'une formule .....	55
1) Principes à respecter .....	55
2) Formule proposée pour un shampooing d'entretien pour chiens .....	56
3) Processus de fabrication .....	60
II. Contrôle de la qualité et de l'innocuité de la formulation proposée.....	60
A. Contrôles physico-chimiques .....	61
1) Contrôles des matières premières .....	61
2) Contrôle du produit fini .....	62
(a) Contrôles des caractéristiques générales du produit fini .....	62
(b) Contrôles d'identification et de dosage des constituants.....	62
(i) Méthodes générales d'identification et de dosage des conservateurs.....	63
(ii) Méthodes d'identification et de dosage de l'huile de Jojoba.....	64
(c) Etude de la stabilité dans le temps.....	65
B. Contrôles biologiques .....	66
1) Contrôles bactériologiques .....	67
(a) Méthode officielle pour la préparation de l'échantillon, de la suspension mère et des dilutions décimales.....	67
(b) Méthode officielle pour le dénombrement des germes aérobies mésophiles.....	67
(c) Méthode officielle pour la recherche d'un pouvoir inhibiteur intrinsèque.....	67
(d) Méthode officielle de dénombrement des levures et des moisissures.....	68
2) Essais de tolérance cutanée ou muqueuse.....	68
(a) Méthode officielle pour la détermination de l'indice d'irritation primaire cutanée.....	68
(b) Méthode officielle pour la détermination de l'irritation oculaire.....	69
C. Les méthodes d'évaluation de l'innocuité des composés chimiques intervenant dans les cosmétiques.....	70
1) Le rôle des études toxicologiques.....	71
2) Les tests <i>in vivo</i> .....	71
3) Les méthodes alternatives à l'expérimentation animale.....	73
(a) Méthode officielle d'évaluation du potentiel irritant par détermination de la cytotoxicité après diffusion en gel d'agarose.....	74
(b) Méthode officielle d'évaluation du potentiel irritant par application directe sur monocouche de fibroblastes de cornée de lapin par la méthode de relargage du rouge neutre.....	75
CONCLUSION .....	77
ANNEXES .....	79
BIBLIOGRAPHIE .....	115



# **REALISATION D'UN DOSSIER DE COSMETIQUE DESTINE À DES CHIENS : EXEMPLE D'UN SHAMPOOING**

**ROSER  
Pierre-Marie**

## **RESUME :**

Les shampooings destinés à l'Homme font partie des produits cosmétiques. Ils suivent une législation particulière et bien spécifique. Dans le cas de shampooings destinés aux animaux et en particulier aux chiens, la réglementation utilise plutôt le terme de produits d'hygiène sans faire appel au terme de cosmétique. Ces produits ne suivent aucune législation particulière.

Le but de cette thèse est de proposer la constitution d'un dossier cosmétique pour animal qui garantisse au mieux la qualité du produit fini, sur la base des exigences réglementaires des cosmétiques humains.

Le travail est réalisé dans l'optique qu'un jour la législation, concernant les produits d'hygiène pour animaux, évolue et s'inspire de la législation existante pour les produits cosmétiques humains et donc de cette synthèse.

Cette évolution permettra de mieux prendre en compte le bien-être de l'animal qu'il s'agisse de productions industrielles ou artisanales.

## **MOTS CLES :**

PRODUITS D'HYGIENE  
SHAMPOOINGS  
COSMETOLOGIE  
LEGISLATION  
BONNES PRATIQUES

## **JURY :**

Président : Professeur

Directeur : Professeur B. ENRIQUEZ

Assesseur : Maître de conférences P. ARNE

## **ADRESSE DE L'AUTEUR :**

Monsieur Pierre-Marie ROSER  
43, Rue des Châteaux  
57570 CATTENOM

# **ACHIEVEMENT OF A FILE WHICH DEALS WITH COSMETICS FOR DOGS: EXAMPLE OF A SHAMPOO**

**ROSER  
Pierre-Marie**

## **SUMMARY :**

Human shampoos are cosmetics which have their own legislation. Whereas for animals, especially for dogs, shampoos are not considered as cosmetics but as hygiene products; that is why they have no specific legislation.

The purpose of this thesis is to create a file which deals with hygiene products for animals taking references, which already exist for human cosmetics, into consideration as to warrant quality products.

This work is realised in the hope that the legislation, as far as cosmetic products are concerned, will evolve in the same way for animals and humans.

This progress should enable us to take care of animals and to avoid marketing products which could cause serious damage to animal health.

## **KEY WORDS :**

HYGIENE PRODUCTS  
SHAMPOOS  
COSMETICS  
LEGISLATION  
GOOD PRACTICE

## **JURY :**

President : Pr

Director : Pr B. ENRIQUEZ

Assessor : M. P. ARNE

## **AUTHOR'S ADDRESS :**

M. Pierre-Marie ROSER  
43, Rue des Châteaux  
57570 CATTENOM