



HAL
open science

Optimisation de l'évaluation de la sécurité des extraits végétaux dans les produits cosmétiques : mise au point préliminaire, outils et cas pratiques

Yanna Le Roux

► To cite this version:

Yanna Le Roux. Optimisation de l'évaluation de la sécurité des extraits végétaux dans les produits cosmétiques : mise au point préliminaire, outils et cas pratiques. Sciences du Vivant [q-bio]. 2017. dumas-01812019

HAL Id: dumas-01812019

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01812019v1>

Submitted on 11 Jun 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THÈSE D'EXERCICE / UNIVERSITÉ DE RENNES 1
sous le sceau de l'Université Bretagne Loire

Thèse en vue du
DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

présentée par

Yanna Le Roux

**Optimisation de
l'évaluation de la sécurité
des extraits végétaux
dans les produits
cosmétiques : mise au
point préliminaire, outils
et cas pratiques.**

**Thèse soutenue à Rennes
Le 24/10/2017**

devant le jury composé de :

Thomas LEOPOLD

Pharmacien, Atout Reach / *examineur*

David DELMAIL

Maître de conférences, Université de
Rennes 1 / *directeur de thèse*

Isabelle MOREL

Professeure, Université de Rennes 1 /
présidente de thèse

THÈSE D'EXERCICE / UNIVERSITÉ DE RENNES 1
sous le sceau de l'Université Bretagne Loire

Thèse en vue du
DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

présentée par

Yanna Le Roux

**Optimisation de
l'évaluation de la sécurité
des extraits végétaux
dans les produits
cosmétiques : mise au
point préliminaire, outils
et cas pratiques.**

**Thèse soutenue à Rennes
Le 24/10/2017**

devant le jury composé de :

Thomas LEOPOLD

Pharmacien, Atout Reach / *examineur*

David DELMAIL

Maître de conférences, Université de
Rennes 1 / *directeur de thèse*

Isabelle MOREL

Professeure, Université de Rennes 1 /
présidente de thèse

Listes des enseignants-chercheurs de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques

ANNEE 2017-2018

PROFESSEURS		Pharmacien	HDR	Hospitalo-U
BOUSTIE	Joël	X	HDR	
BURGOT	Gwenola	X	HDR	X
DONNIO	Pierre Yves	X	HDR	X
FAILI	Ahmad		HDR	
FARDEL	Olivier	X	HDR	X
FELDEN	Brice	X	HDR	
GAMBAROTA	Giulio		HDR	
GOUGEON	Anne	X	HDR	
LAGENTE	Vincent	X	HDR	
LE CORRE	Pascal	X	HDR	X
LORANT (BOICHOT)	Elisabeth		HDR	
MOREL	Isabelle	X	HDR	X
SERGENT	Odile	X	HDR	
SPARFEL-BERLIVET	Lydie	X	HDR	
TOMASI	Sophie	X	HDR	
URIAC	Philippe	X	HDR	
VAN DE WEGHE	Pierre		HDR	
VERNHET	Laurent	X	HDR	

PROFESSEURS ASSOCIES		Pharmacien	HDR	Hospitalo-U
BUREAU	Loïc	X		
DAVOUST	Noëlle	X		

PROFESSEURS EMERITES		Pharmacien	HDR	Hospitalo-U
CILLARD	Josiane	X	HDR	
GUILLOUZO	André		HDR	

MAITRES DE CONFERENCES

		Pharmacien	HDR	Hospitalo-U
ABASQ-PAOFAL	Marie-Laurence			
ANINAT	Caroline	X	HDR	
AUGAGNEUR	Yoann			
BEGRICHE	Karima			
BOUSARGHIN	Latifa		HDR	
BRANDHONNEUR	Nolwenn			
BRUYERE	Arnaud	X		
BUNETEL	Laurence	X		
CHOLLET-KRUGLER	Marylène	X		
COLLIN	Xavier	X		
CORBEL	Jean-Charles	X	HDR	
DAVID	Michèle	X	HDR	
DELALANDE	Olivier			
DELMAIL	David			
DION	Sarah			
DOLLO	Gilles	X	HDR	X
GICQUEL	Thomas	X		X
GILOT	David		HDR	
GOUAULT	Nicolas		HDR	
HITTI	Eric			
JEAN	Mickaël			
JOANNES	Audrey			
LEUREUR	Valérie		HDR	
LE FERREC	Eric	X		
LE GALL-DAVID	Sandrine			
LE PABIC	Hélène			
LEGOUIN-GARGADENNEC	Béatrice			
LOHEZIC-LE DEVEHAT	Françoise	X		
MARTIN-CHOULY	Corinne		HDR	
MINET	Jacques	X	HDR	
NOURY	Fanny			
PINEL-MARIE	Marie-Laure			
PODECHARD	Normand			
POTIN	Sophie	X		X
RENAULT	Jacques	X	HDR	
ROUILLON	Astrid			

ASSISTANT HOSPITALO-UNIVERSITAIRE (AHU)

		Pharmacien	HDR	Hospitalo-U
BACLE	Astrid	X		X
BOUVRY	Christelle	X		X

ATER

PALAZZO	Claudio			
VICTONI	Tatiana	X		

Remerciements

Je souhaite tout d'abord adresser mes remerciements aux membres de mon jury :

A Madame la Professeure Isabelle Morel, Présidente du jury,

Merci d'avoir accepté de faire partie de ce jury et de prendre le temps de juger ce travail.

A Monsieur le Docteur David Delmail, Directeur de thèse,

Merci d'avoir accepté d'encadrer ce projet, pour vos conseils, votre intérêt et pour votre aide active à la rédaction de cette thèse.

A Monsieur le Docteur Thomas Léopold, Membre du jury,

Merci de m'avoir confié ce projet de stage qui fait aujourd'hui l'objet de ma thèse. Merci pour la relecture et les conseils de dernière minute. Enfin, merci de m'avoir accordé de nouveau ta confiance en m'ayant permis de rejoindre AtoutReach.

Mes remerciements s'adressent également :

A Monsieur Pierre Garçon, Président de la société EcoMundo,

Merci de m'avoir accueillie au sein d'EcoMundo pour ces 6 mois de stage. Merci également d'avoir accepté que j'approfondisse le sujet de ce stage pour écrire ma thèse.

A tous mes collègues d'EcoMundo,

Merci pour ces 6 mois mémorables passés en très agréable compagnie.

A mes parents, et à Paola. Merci pour votre soutien constant, vos encouragements tout au long de ces études, pour nos longs et agréables repas dans le calme de Kermabrianou. Merci pour tout.

Dziękuję bardzo à mes amis Carole, Clarisse, Hugues, Justine, Raquel, Michael, Rodrigo... avec qui l'amitié Erasmus s'étend bien au-delà des 10 mois de cohabitation à Poznań.

A mes amis farfelus guingampais et Rennais que je me fais toujours une joie de retrouver!

A ma binôme d'improvisation Hélène et ses appels encourageants.

A mes amies Annaïg et Lénaïg, mon groupe de soutien guingampais avec qui on se serre les coudes en terre parisienne. Merci pour votre présence, votre amitié et votre soutien.

A mes amis pharmaciens qui m'ont accompagnée lors de ces 6 années passées. Merci pour votre amitié, vos bizarreries, votre amour des raclettes, et les soirées sans queue ni tête. Merci à Margot-Mike, Pauline-Mike, Cécile, Marion, Isabelle, Nicolas, Guillaume, Matthieu, Vincent et ce brave Léon.

Une mention spéciale à mon cher Arthur, qui a pris très à cœur son rôle de coach C. au cours de ces derniers mois, et m'a permis de mener à bout ce travail qui me semblait sans fin. Merci d'avoir été là pour me changer les idées et pour les nombreuses séances de remontage de moral.

Sommaire

Listes des enseignants-chercheurs de la Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques.....	1
Remerciements.....	3
Sommaire	5
Liste des abréviations.....	8
Liste des figures	10
Liste des tableaux	11
1. Introduction.....	12
2. Définitions et contexte réglementaire	16
2.1. Définitions et notions relatives aux produits cosmétiques	16
2.2. Historique et instances	17
2.3. Le règlement cosmétique européen n° 1223/2009	19
2.3.1. Généralités	19
2.3.2. Constitution du DIP.....	24
2.3.3. Constitution du CPSR	24
2.4. Extraits végétaux et règlement cosmétique	26
2.5. Extraits végétaux et règlement REACH.....	26
3. Notions d'évaluation de la sécurité d'un produit cosmétique	29
3.1. Procédure d'évaluation de la sécurité des ingrédients cosmétiques selon les lignes directrices du SCCS.....	29
3.1.1. Evaluation du danger : Rédaction d'un profil toxicologique pour un ingrédient cosmétique	31
3.1.1.1. Caractérisation du danger	31
3.1.1.2. Evaluation de la relation dose réponse	36
3.1.2. Evaluation de l'exposition	36
3.1.3. Caractérisation du risque	40
3.2. Méthodes alternatives en toxicologie cosmétique	41
3.2.1. Contexte	41
3.2.2. Les instances impliquées dans la validation des méthodes alternatives.....	43
3.2.3. Typologie des méthodes alternatives à l'expérimentation <i>in vivo</i>	44
3.2.3.1. Les modèles <i>in silico</i>	44
3.2.3.2. Les cultures de cellules et de tissus.....	47
3.2.3.3. Les organismes <i>in vivo</i> alternatifs	48
3.2.3.4. Les études <i>ex vivo</i>	49
3.2.4. Méthodes existantes et validées (ou en cours de validation).....	49
3.2.4.1. Toxicité aiguë	53

3.2.4.2.	Irritation cutanée	53
3.2.4.3.	Corrosion cutanée.....	53
3.2.4.4.	Irritation oculaire/lésions oculaires graves	55
3.2.4.5.	Sensibilisation cutanée.....	56
3.2.4.6.	Phototoxicité.....	58
3.2.4.7.	Génotoxicité/mutagénicité.....	58
3.2.4.8.	Cancérogénicité	59
3.2.4.9.	Toxicité à doses répétées	60
3.2.4.10.	Reprotoxicité.....	60
3.2.4.11.	Absorption cutanée.....	60
3.2.5.	Intérêt de ces méthodes	61
3.2.6.	Limites de ces méthodes.....	61
4.	Les extraits végétaux.....	64
4.1.	Bref historique d'utilisation en cosmétique et attrait pour ces extraits	64
4.2.	Particularités et difficultés d'évaluation de la toxicité des extraits végétaux	66
4.2.1.	Origine et facteurs de variabilité des extraits végétaux	66
4.2.2.	Modes d'obtention des extraits végétaux	66
4.2.3.	Difficultés d'évaluation des extraits végétaux et méthodologie généralement utilisée	73
5.	L'évaluation de la sécurité des extraits végétaux dans les produits cosmétiques : méthodologie et optimisation	75
5.1.	Matériels et méthodes – collecte et organisation des données.....	75
5.2.	Mise en place d'une méthodologie d'évaluation de la sécurité des extraits végétaux	76
5.2.1.	Identification de la plante/de l'extrait	79
5.2.2.	Historique d'utilisation.....	82
5.2.3.	Données toxicologiques sur l'extrait.....	84
5.2.4.	Données toxicologiques sur les constituants de l'extrait.....	87
5.2.5.	Evaluation et gestion du risque	90
5.3.	Optimisation de l'évaluation des extraits végétaux via un logiciel : le projet SeVe.....	91
6.	Application de cette méthodologie avec l'exemple de deux extraits végétaux.....	97
6.1.	<i>Citrus aurantium</i> Dulcis peel oil expressed.....	97
6.1.1.	Identification de l'extrait et de la plante.....	97
6.1.2.	Recherche d'un historique d'usage	98
6.1.3.	Evaluation de la toxicité de l'extrait	100
6.1.4.	Recherche et évaluation de la toxicité des constituants de l'extrait.....	102
6.1.5.	Conclusion générale sur la sécurité d'utilisation de cet ingrédient en cosmétique	103

6.2.	<i>Scutellaria baicalensis</i> root extract	104
6.2.1.	Identification de l'extrait et de la plante.....	104
6.2.2.	Recherche d'un historique d'usage	104
6.2.3.	Evaluation de la toxicité de l'extrait	105
6.2.4.	Recherche et évaluation de la toxicité des constituants de l'extrait	106
6.2.5.	Conclusion générale sur la sécurité d'utilisation de cet ingrédient en cosmétique	107
7.	Conclusion	108
	Permis d'imprimer	111
	Bibliographie	111
	Annexe 1 : Arbre de décision pour les composés de faible masse moléculaire pour lesquels peu de données toxicologiques sont disponibles, présentant différents seuils de préoccupation toxicologique liés à différentes caractéristiques structurales	123
	Annexe 2 : Interface entre le règlement REACH et le règlement cosmétique à propos de l'expérimentation animale	124

Liste des abréviations

AHPA : *American Herbal Product Association*

ANSM : Agence Nationale de la Santé et des Médicaments

AOP : *Adverse Outcome Pathway*

BHMA : *British Herbal Medicine Association*

BMD : *Benchmark Dose*

BPL : Bonnes Pratiques de Laboratoire

CAS : *Chemical Abstract Service*

CE : Commission Européenne

CIR : *Cosmetic Ingredient Review*

CMR : Cancérogène, Mutagène, Reprotoxique

COMCOS : Comité permanent pour les produits cosmétiques

CPNP : *Cosmetic Products Notification Portal*

CSR : *Cosmetic Safety Report* ou RSC : Rapport sur la sécurité du produit.

Dap : *Dermal Absorption*

DGCCRF : Direction Général de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes.

DIP : Dossier d'Information Produit ou PIF : *Product Information File*.

EC : *Existing Chemical substance*

ECHA : Agence Européenne des Produits Chimiques

ECVAM : Centre européen pour la validation des méthodes alternatives

EFEO : *European Federation of Essential Oils*

EFSA : *European Food Safety Authority*

EURL-ECVAM : *European Union Reference Laboratory for alternative animal testing*

FDA : *Food and Drugs Administration*

FDS : Fiche de Données Sécurité

IFRA : *International Fragrance Association*

INCI : *International Nomenclature of Cosmetic Ingredients*

IPNI : *International Plant Name Index*

LD50 : *Lethal Dose 50* : dose létale pour 50% des animaux

Mg/kg mc/j : milligrammes par kilogrammes de masse corporelle par jour

MOS : *Margin of safety*

NOAEL : *No observed Adverse Effects Level*

NOEL : *No observed Effects Level*

OCDE : Organisation de Coopération et de Développement Économiques

PCPC : *Personal Care Products Council*

QSAR : *Quantitative Structure Activity Relationship*

REACH : *Registration, Evaluation, Authorization and Restriction of Chemicals*

SAR : *Structure Activity Relationship*

SCCS : *Scientific Committee on Consumer Safety* ou CSSC (Comité Scientifique pour la Sécurité du Consommateur)

SED : *Systemic Exposure Dosage*

SGH : Système Général Harmonisé de classification et d'étiquetage des produits chimiques

SNC : Substances Naturelles Complexes

TTC : *Toxicological Threshold of Concern* : Seuil de Préoccupation Toxicologique

UVCB : *Unknown or Variable composition, Complex reaction products, or Biological materials*
(substance à composition variable ou inconnue issue de procédés complexes ou de matériels biologiques)

Liste des figures

Figure 1. Les trois étapes principales du processus d'évaluation du risque	30
Figure 2. Description du phénoxyéthanol (nom INCI, numéro CAS, EC, restriction, fonction etc.) par la base de données européenne <i>Cosing</i>	32
Figure 3. Recherche sur <i>Cosmetics Info</i> de l'ingrédient phénoxyéthanol	32
Figure 4. Présentation des bases de données contenant des informations sur la toxicité du Phénoxyéthanol, son poids moléculaire et sa structure, à partir du moteur de recherche TOXNET ChemIDplus.....	33
Figure 5. Représentation schématique de l'extrapolation de l'animal à l'Homme	40
Figure 6. Schéma d'un AOP présentant les mécanismes clés liés à la sensibilisation cutanée	57
Figure 7. Extracteur de Soxhlet	68
Figure 8. Appareil de distillation et mode d'obtention d'une huile essentielle	69
Figure 9. Arbre décisionnel pour l'évaluation de la sécurité des ingrédients cosmétiques d'origine botanique	77
Figure 10. Méthodologie d'évaluation itérative des extraits végétaux	78

Liste des tableaux

Tableau 1. Liste des allergènes (annexe 3 du règlement cosmétique) avec leur origine	21
Tableau 2. Liste non exhaustive des principales bases de données utilisées pour la recherche bibliographique visant à établir un profil toxicologique	34
Tableau 3. Présentation de la cotation Klimisch, basée sur la fiabilité et la pertinence d'une étude.....	35
Tableau 4. Tableau issu des <i>Notes of Guidance</i> du SCCS (SCCS, 2015) : Estimation des niveaux d'exposition quotidiens pour différents types de produits cosmétiques selon les données de <i>Cosmetics Europe</i> (association d'industriels de la cosmétique européenne)	39
Tableau 5. Les méthodes <i>in vivo</i> , <i>ex vivo</i> et <i>in vitro</i> existantes et validées (avec référentiel OCDE) en toxicologie	50
Tableau 6. Les 3 sous-catégories de corrosion cutanée.....	54
Tableau 7. Bilan du nombre de bases de données passées en revue et sélectionnées pour le projet, classées en fonction de l'étape d'évaluation des extraits végétaux.....	75
Tableau 8. Sélection des réglementations et informations pertinentes pour l'historique d'utilisation : données issu des domaines Cosmétiques (1), Alimentaires (2), Pharmaceutiques (3)	83
Tableau 9. Sélection des bases de données pour la rédaction du profil toxicologique des extraits végétaux.....	85
Tableau 10. Profil toxicologique à partir de données issues de la littérature de l'extrait végétal <i>Citrus aurantium dulcis peel oil expressed</i>	101
Tableau 11. Profil toxicologique à partir de données issues de la littérature de l'extrait végétal <i>Scutellaria baicalensis root extract</i>	105

1. Introduction

Les produits cosmétiques occupent une vaste place dans nos vies. Ils font partie de nos sociétés depuis des siècles. L'être humain a de tout temps cherché à améliorer ou modifier son apparence. A cet effet, il a longtemps fait appel à des extraits de plantes, animaux, minéraux trouvés dans la nature. L'essor de l'industrie chimique a ensuite apporté des produits synthétiques ou semi-synthétiques aujourd'hui très employés dans la composition des produits cosmétiques. Ces derniers correspondent à une large gamme de produits utilisés dans la vie courante. Entrent dans la catégorie des produits cosmétiques : les produits de beauté et de soin (maquillage, crèmes de soin, produits pour bébé, crèmes solaires...), les produits capillaires (shampooings, laques, gels, mousses coiffantes, colorations...), les produits d'hygiène et de toilette (savons, gels douche, déodorants, dentifrices...) ainsi que les produits de parfumerie (parfums, eaux de toilette, eaux de Cologne...).

Utilisateurs quotidiens de ces produits, les consommateurs sont de plus en plus exigeants quant à leurs performances et leur qualité et sont toujours en quête de produits innovants. Toutefois, ils sont également de plus en plus méfiants vis-à-vis des ingrédients « non naturels ». Un mode de vie plus sain et naturel est en effet fréquemment recherché, à travers l'alimentation, les produits cosmétiques, et autres produits de la vie courante. Une des raisons pouvant expliquer ce récent attrait est que les produits naturels sont, dans la conscience collective, communément associés à une absence de risque par opposition aux produits de synthèse. Ainsi, les consommateurs se tournent de plus en plus vers des produits issus de plantes, voire de l'agriculture biologique. Les extraits naturels sont également intéressants pour les formulateurs de produits cosmétiques car ils contiennent fréquemment des molécules bioactives dont l'effet est recherché pour une activité spécifique. Aux yeux des industriels, les extraits végétaux sont une source infinie pour le développement de nouveaux actifs (Nohynek *et al.*, 2010). Malgré cela, il est bien connu que, en dépit de leurs nombreux avantages, certains végétaux peuvent contenir des constituants toxiques voire mortels pour l'Homme en cas de mésusage. Il est donc primordial de pouvoir offrir au consommateur des produits de qualité, non toxiques pour lui tout comme pour l'environnement. Il faut toutefois rester conscient que la notion de risque-

zéro ne peut pas exister quand il s'agit d'appliquer une substance étrangère au corps humain (Nohynek *et al.*, 2010).

Malgré le fait que les produits cosmétiques aient toujours existé, leur réglementation est très récente. Celle-ci a été modelée par les différentes affaires sanitaires ayant eu lieu en France ou en Europe depuis une quarantaine d'années. L'exemple le plus notable est celui de l'affaire du talc Morhange. En 1975, cet incident avait provoqué l'intoxication de dizaines d'enfants et le décès de certains d'entre eux, marquant fortement l'opinion publique et initiant la réglementation de ces produits avec une première loi française. Cette loi suit l'exigence de base suivante : un produit cosmétique ne doit pas nuire à la santé humaine. Un an plus tard sera mise en place la directive européenne 76/768/CEE, rééditée à plusieurs reprises, avant d'être remplacée en 2009 par le règlement cosmétique européen n° 1223/2009, harmonisant les démarches dans l'ensemble les pays européens. Ce règlement requiert notamment davantage de sécurité et responsabilise les fabricants quant à la non-toxicité des produits qu'ils mettent sur le marché (Canorel, 2007; Coiffard and Couteau, 2017).

La réglementation a pour objectif prioritaire de garantir la sécurité du consommateur. « Les produits cosmétiques devraient être sûrs dans des conditions d'utilisation normales ou raisonnablement prévisibles. En particulier, un raisonnement risques/bénéfices ne devrait pas être utilisé pour justifier un risque pour la santé humaine. » (Article 3 règlement cosmétique (Commission Européenne, 2014)). Cette réglementation a pour but de contrôler la composition des produits, leurs processus de fabrication et de commercialisation, d'assurer une bonne information du consommateur mais aussi de répertorier les éventuels effets indésirables et de pouvoir rapidement retirer du marché un produit dangereux.

Dans son optique de protection du consommateur, le règlement cosmétique requiert un profil toxicologique des ingrédients présents dans le produit cosmétique. Cette démarche s'avère plus compliquée pour un extrait végétal que pour un ingrédient cosmétique « classique » c'est-à-dire un produit de synthèse et chimiquement bien défini. En effet, les extraits végétaux sont des ingrédients cosmétiques particuliers. Ils correspondent à des mélanges de composition complexe et variable selon de nombreux paramètres : l'environnement de croissance de la plante, le moment de récolte, la partie de plante

choisie, le mode de préparation... Leur nature complexe rend l'évaluation de leur sécurité difficile. Les données spécifiques sur ces extraits sont rarement disponibles pour établir leur profil toxicologique. En parallèle, le règlement cosmétique interdit désormais les tests sur animaux pour tous les produits et ingrédients cosmétiques. Les méthodes alternatives pouvant remplacer ces tests *in vivo* faisant parfois défaut, un manque de nouvelles données se fait sentir. L'évaluateur de la sécurité se reporte alors aux données présentes dans la littérature. Cette tâche délicate est chronophage et requiert de nombreuses connaissances spécifiques et approfondies.

Par conséquent, il s'avère nécessaire de développer une méthodologie fiable voire de mettre en place un outil permettant l'optimisation de l'évaluation de la sécurité des extraits végétaux. C'est ce thème que j'ai eu l'occasion d'explorer lors de mon stage de fin d'études au sein d'EcoMundo, qui est notamment consultant réglementaire en cosmétique. EcoMundo souhaite développer un outil informatique permettant d'optimiser l'évaluation de la sécurité des extraits végétaux dans les cosmétiques : le logiciel SeVe. L'objet de ce stage était d'aider au développement de cet outil en élaborant une base de données sur l'identité, la réglementation, la toxicologie et les constituants des extraits végétaux, en organisant ces données, et en développant une méthodologie pour optimiser l'élaboration du profil toxicologique de ces extraits dans les produits cosmétiques.

Cette thèse reprend et affine la thématique de mon mémoire de fin d'études. Dans un premier temps, je reviendrai sur le contexte réglementaire européen autour des produits cosmétiques ainsi que les différentes instances entrant en jeu. J'aborderai par la suite l'évaluation de la sécurité des ingrédients et des matières premières cosmétiques, ainsi que la méthodologie classique utilisée pour rédiger un profil toxicologique. J'évoquerai également le règlement européen des produits chimiques : REACH, pouvant impacter les produits cosmétiques. Les méthodes alternatives en toxicologie étant en plein essor (depuis l'interdiction de l'expérimentation *in vivo*), j'ai fait le choix de m'attarder sur ce sujet afin d'en faire l'état des lieux. Une partie sera ensuite accordée aux extraits végétaux, leurs particularités et les difficultés liées à leur évaluation. J'aborderai alors la problématique de l'évaluation de la sécurité de ces extraits végétaux utilisés dans les produits cosmétiques. Cette partie reviendra à exposer le travail réalisé au cours de mon stage de fin d'études au sein d'EcoMundo. C'est-à-dire : (i) élaboration d'une base de données sur l'identité, la

réglementation, la toxicologie et les constituants des extraits végétaux, (ii) organisation de ces données, et (iii) développement d'une méthodologie pour optimiser l'élaboration du profil toxicologique de ces extraits dans les produits cosmétiques. Puis je reviendrai sur le projet SeVe, quelles sont les attentes et les avancées de ce projet. J'appliquerai enfin ce travail à deux extraits végétaux que l'on peut retrouver dans des produits cosmétiques : *Citrus aurantium* Dulcis peel oil expressed et *Scutellaria baicalensis* root extract.

2. Définitions et contexte réglementaire

2.1. Définitions et notions relatives aux produits cosmétiques

Selon l'article 2 du règlement cosmétique n° 1223/2009 (Commission Européenne, 2014) et l'article L. 5131- 1 du Code de la Santé Publique, « un produit cosmétique est une substance ou un mélange destiné à être mis en contact avec les diverses parties superficielles du corps humain (épiderme, systèmes pileux et capillaire, ongles, lèvres et 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. » Un produit cosmétique est donc défini par sa zone d'application et par sa fonction.

Cette définition permet ainsi de mieux comprendre l'objectif d'un produit cosmétique et de statuer sur le domaine réglementaire auquel il appartient lorsqu'il s'agit d'un produit « frontière ». En effet, les allégations présentes sur les emballages de produits cosmétiques peuvent parfois faire passer le produit en question dans un ou plusieurs domaines différents, comme le domaine des dispositifs médicaux (exemple des peelings pour la peau), le domaine des médicaments (exemple des produits destinés aux jambes lourdes), le domaine des biocides (exemple d'un savon antiseptique) ou même le domaine alimentaire (exemple des chewing-gums contre la mauvaise haleine). Un produit cosmétique ne doit donc pas présenter de propriétés curatives ou préventives à l'égard de maladies humaines (European Commission, 2013).

Un ingrédient cosmétique est défini comme toute substance ou mélange utilisé de façon intentionnelle dans le produit cosmétique au cours du processus de fabrication. Toutefois, ne sont pas considérées comme des ingrédients : les impuretés contenues dans les matières premières utilisées et les substances techniques subsidiaires utilisées dans le mélange lors de la fabrication mais ne se retrouvant pas dans la composition du produit fini (article 19 du règlement cosmétique).

Un mélange est considéré comme un mélange ou une solution composé de deux substances ou plus (article 2 du règlement cosmétique).

Un produit cosmétique est composé d'une ou plusieurs matières premières constituées elles-mêmes d'un ou plusieurs ingrédients ou substances cosmétiques. Les

ingrédients cosmétiques sont caractérisés par un nom INCI (*International Nomenclature of Cosmetic Ingredients*). Le CFTA (*Cosmetics, Toiletry, and Fragrance Association*, devenu depuis 2007 le *Personal Care Products Council*, fédération des industries cosmétiques américaine) a mis en place en 1973 une nomenclature des ingrédients cosmétiques aux Etats-Unis. Ce travail sert de base à la nomenclature INCI, obligatoire en Europe depuis 1998, qui permet de proposer une information harmonisée et précise quant à l'information apportée au consommateur (Personal Care Products Council, 2010). Il y a parfois des différences entre les deux nomenclatures (par exemple en nomenclature européenne *Cocos Nucifera Oil* sera caractérisé sous la nomenclature américaine suivante : *Cocos Nucifera (Coconut) Oil*), l'eau aura l'INCI *aqua* en Europe et *water* aux Etats-Unis...). Les ingrédients cosmétiques (comme toutes les substances chimiques) sont également affublés d'identifiants numériques comme le numéro CAS (*Chemical Abstracts Service*) et le numéro EC (*Existing Chemical substance*). Le numéro CAS d'un ingrédient est un numéro d'enregistrement unique attribué par l'ACS (*American Chemical Society*) à chaque substance chimique. Il peut cependant être commun à plusieurs substances dans des cas particuliers. Par exemple, un même numéro CAS peut être attribué à plusieurs types d'extraits végétaux. Le numéro CAS '8001-31-8', est attribué à l'ensemble des extraits suivants : *Cocos Nucifera Fruit ; Cocos Nucifera Fruit Extract ; Cocos Nucifera Fruit Juice ; Cocos Nucifera Fruit Powder ; Cocos Nucifera Fruit/Fruit Juice Extract ; Cocos Nucifera Oil ; Cocos Nucifera Seed Butter ; Cocos Nucifera Shell Powder et Cocos Nucifera Water*. Alors que le numéro CAS est international, le numéro EC est européen, référençant les substances chimiques en Europe.

2.2. Historique et instances

Les produits cosmétiques ont longtemps été considérés comme inoffensifs. Or, ce sont des produits spécifiques, en contact direct avec le corps, dont l'exposition quotidienne est très large, multiple, touche toutes les catégories de population et ce de la naissance jusqu'à la mort. Jusqu'à récemment, aucun texte réglementaire n'était spécifique aux produits cosmétiques. Ce sont les affaires sanitaires de ces quarante dernières années qui ont modelé le règlement cosmétique qu'on connaît aujourd'hui.

Pour revenir sur l'affaire du talc Morhange, cette dernière est à l'origine de la création d'un cadre réglementaire pour ces produits : en 1972, 204 enfants ont été intoxiqués (parmi lesquels 36 décès) par un lot de talc Morhange. Sera mise en cause la

présence en quantité élevée d'hexachlorophène -puissant bactéricide mais également neurotoxique- dans un lot de talc à la suite d'une erreur de fabrication. Ce tragique accident industriel a fortement ému l'opinion publique nationale et sera à l'origine de la première loi française n°75-604 relative à la fabrication, au conditionnement, à l'importation et à la mise sur le marché des produits cosmétiques et d'hygiène corporelle du 10 juillet 1975 (Canorel, 2007; Coiffard and Couteau, 2017). Il n'est plus concevable qu'un produit cosmétique puisse nuire à la santé humaine. Cette loi prévoit la constitution d'un dossier pour les produits cosmétiques, ainsi qu'un encadrement des établissements fabricant ou important ce type de produit (Code de la santé publique, 1975).

Le 27 juillet 1976, un an après la première loi française, la directive européenne 76/768/CEE est adoptée. Elle ne sera transposée en droit français que le 1^{er} juillet 1998 avec la loi n°98-535 relative au renforcement de la veille sanitaire et le contrôle de la sécurité sanitaire des produits destinés à l'Homme (Code de la santé publique, 1998) ainsi qu'avec le décret n°2000-569 du 23 juin 2000 (Code de la santé publique, 2000). Cette directive subira sept amendements en 30 ans au gré des évolutions des produits cosmétiques et des affaires sanitaires. Par exemple, la directive 93/35/CEE du 14 juin 1993 introduit l'interdiction, à partir du 1^{er} Janvier 1998, de la mise sur le marché d'ingrédients ou de mélanges d'ingrédients ayant été testés sur les animaux, et rend obligatoire la réalisation de tests permettant d'apporter la preuve de l'effet revendiqué sur un plan marketing (qu'on appelle allégations) (Commission Européenne, 1993). Une directive devant être transposée au niveau du droit national de chaque Etat Membre, il existait une certaine hétérogénéité dans la réglementation. Ainsi, la directive cosmétique, de nombreuses fois modifiée, sera finalement transformée en un texte unique : le règlement cosmétique européen n° 1223/2009 publié au Journal Officiel de l'Union Européenne le 22 décembre 2009 (Commission Européenne, 2014). Il est directement applicable à tous les Etats Membres, ce qui permet la mise en place d'une réglementation harmonisée, simplifiée au sein de l'UE. Ainsi, quel que soit l'Etat Membre, tout consommateur est identiquement protégé vis-à-vis de son utilisation des produits cosmétiques. Le règlement apporte plus de précision, un renforcement de la sécurité, une rationalisation de la terminologie, plus de transparence et une meilleure surveillance du marché. Il entrera en application le 11 juillet 2013. A partir de cette date, tous les produits cosmétiques sur le marché doivent y être conformes.

La Commission Européenne est l'institution en charge des produits cosmétiques en Europe. Elle est aidée de deux comités : Le SCCS (*Scientific Committee on Consumer Safety*), comité scientifique d'experts européen indépendant qui rend des avis à la Commission sur tous les types de risques pour les produits de consommation (ce comité surveille notamment les ingrédients jugés préoccupants en cosmétique) ainsi que le COMCOS (Comité permanent pour les produits cosmétiques), dont le rôle est de faciliter la mise en œuvre des mesures nécessaires à l'évolution technique des textes législatifs.

En France, les produits cosmétiques sont donc soumis au règlement cosmétique européen n° 1223/2009 du 30 novembre 2009 mais aussi au code de la santé publique (CSP), notamment les articles L.5131-1 à L. 5131-8 et L. 5431-1 à L.5431- 9 issus de la loi n° 2014-201 du 24 février 2014 portant diverses dispositions d'adaptation au droit de l'Union européenne dans le domaine de la santé (article 3, I et II). En France, les produits cosmétiques sont sous l'égide de l'ANSM, Agence Nationale de la Santé et des Médicaments (ANSM, 2014). Les produits cosmétiques sont ainsi considérés comme des produits de santé. L'ANSM publie des rapports scientifiques et techniques concernant certaines substances ou usages de produits cosmétiques. Elle peut sommer la Commission Européenne de saisir le SCCS (*Scientific Committee on Consumer Safety*) afin que ce comité d'experts se penche sur une question particulière liée aux produits cosmétiques. La France dispose de deux Autorités compétentes : l'ANSM et la DGCCRF (Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes). Elles sont responsables de la bonne application du règlement cosmétique européen et assurent donc l'inspection des établissements cosmétiques.

2.3. Le règlement cosmétique européen n° 1223/2009

2.3.1. Généralités

Contrairement aux médicaments, une autorisation préalable de mise sur le marché n'est pas requise pour les produits cosmétiques. Cependant, ces derniers étant consommés quotidiennement par des millions de consommateurs, il est inconcevable qu'ils soient à l'origine de problèmes de santé (non-acceptabilité du concept de « bénéfice/risque » comme pour les produits pharmaceutiques). La notion de bénéfice en cosmétique est, de toute façon délicate à appliquer car difficile à quantifier.

Même si ces produits, de par leur définition ne sont appliqués que sur les surfaces extérieures du corps humain, une exposition systémique ne peut jamais être complètement exclue. De plus, les substances synthétiques ou naturelles peuvent produire des effets locaux sur la peau humaine tels que des irritations, de la sensibilisation ou de la phototoxicité (Nohynek *et al.*, 2010). Il incombe donc aux fabricants de garantir que leurs produits ne présentent aucun risque pour la santé et satisfont aux exigences législatives et réglementaires. Le règlement européen n° 1223/2009 encadre la mise sur le marché des produits cosmétiques et exige plus de sécurité, de qualité et d'informations sur les ingrédients, matières premières et produits cosmétiques. Ce règlement s'applique de manière égale dans les 28 pays de l'Union Européenne et dans 3 pays de l'Association Européenne de Libre-Echange (AELE : Norvège, Islande, Liechtenstein) et il concerne également les produits cosmétiques importés sur le territoire de l'Union Européenne (Commission Européenne, 2014).

La composition des produits cosmétiques est strictement réglementée au niveau européen. N'importe quelle substance ne peut être utilisée à des fins cosmétiques. Le règlement cosmétique contient en effet des annexes qui énumèrent les substances interdites (annexe II), réglementées (annexe III, avec concentration maximale de la substance en fonction du type de produit), et trois listes exhaustives positives de substances autorisées comme colorants (annexe IV), conservateurs (annexe V) et filtres ultraviolets (annexe VI).

L'annexe II du règlement cosmétique contient 1328 substances interdites dans les produits cosmétiques, dont des extraits végétaux.

L'annexe III du règlement cosmétique propose une liste de 256 substances que les produits cosmétiques ne peuvent contenir en dehors des restrictions prévues. Ces conditions peuvent être des conditions d'âge (par exemple substance à ne pas utiliser dans des produits à destination d'enfants de moins de 3 ans), des conditions de concentration (concentrations maximales dans les préparations prêtes à l'emploi). Les concentrations maximales de ces substances peuvent être fonction de la catégorie de produit ou de la partie du corps sur laquelle celui-ci est destiné à être appliqué. Voici l'exemple de l'acide borique (CAS n°10043-35-3/11113-50-1) : cet ingrédient ne doit pas être présent à plus de 5% dans le

talc, à plus de 0.1% dans les produits buccodentaires et à plus de 3% dans les autres produits (à l'exception des produits pour le bain et pour l'ondulation des cheveux).

Au sein de cette annexe 3 du règlement cosmétique n° 1223/2009 sont retrouvés 26 allergènes (Observatoire des cosmétiques, 2016):

Tableau 1. Liste des allergènes (annexe 3 du règlement cosmétique) avec leur origine

Nom INCI	Numéro CAS	Origine
Alpha-Isométhyl-ionone	127-51-5	Synthétique
Amyl cinnamal	122-40-7	Synthétique
Alcool amylcinnamylique	101-85-9	Synthétique
Alcool d'anis	105-13-5	Synthétique ou Naturel : Miel, Huiles essentielles d'Anis, Tomates, Vanille de Tahiti
Alcool benzylique	100-51-6	Baume du Pérou, Baume de Tolu, Huiles essentielles de Jasmin, Abricot, Amande, Asperge, Banane, Cassis, Mûre, Pomme
Benzoate de benzyle	120-51-4	Synthétique ou Naturel : Baume du Pérou, Baume de Tolu, Huiles essentielles de Jasmin, Ylang-Ylang
Cinnamate de benzyle	103-41-3	Synthétique ou Naturel : Baume du Pérou, Baume de Tolu, Copahu
Salicylate de benzyle	118-58-1	Synthétique ou Naturel : Propolis
Butylphenyl methylpropional	80-54-6	Synthétique
Cinnamal	104-55-2	Synthétique ou Naturel : Huiles essentielles de Cannelle, Hyacinthe, Muscade, Patchouli
Alcool cinnamique	104-54-1	Synthétique ou Naturel : Hyacinthe
Citral	5392-40-5	Synthétique ou Naturel : Huiles essentielles de Citron, Huiles essentielles d'écorce d'Orange, Huiles essentielles d'Eucalyptus, Abricot, Cassis, Céleri, Framboise Gingembre, Mangue, Melon, Orange, Pamplemousse, Prune, Raisin, Rose, Kiwi
Citronellol	106-22-9	Synthétique ou Naturel : Huiles essentielles de Citron, Herbe, Huiles essentielles de Ceylan, Abricot, Cassis, Fruit de la Passion, Mûre, Myrtille, Orange, Pomme, Pêche, Rose
Coumarine	91-64-5	Synthétique ou Naturel : Aspérules, Flouves, Mélilot, Angélique, Berce
Eugénol	97-53-0	Synthétique ou Naturel : Huiles essentielles de giroflier, piment de la Jamaïque, bay (Myrcia acris), benoîte, de cannellier de Ceylan, laurier noble, ciste labdanifère, basilic, sassafras, basilic de Java, cassie, acore, œillet, boldo, cascarille, galanga, feuilles de laurier, muscade, rose pâle, ylang-ylang, marjolaine, muscade, calamus, camphrier, citronnelle, patchouli
Farnésol	4602-84-0	Synthétique ou Naturel : Huiles essentielles de rose, néroli, ylang-ylang, Tilleul, Baume de Tolu
Géraniole	106-24-1	Synthétique ou Naturel : Huile essentielle de rose • Orange • Palmarosa • Serpolet • Verveine • Néroli • Citronnelle • Géranium • Hysope • Laurier noble • Lavande • Lavandin • Mandarine, Mélisse, Muscade, Myrte
Hexyl cinnamal	101-86-0	Synthétique
Hydroxycitronnellal	107-75-5	Synthétique
Hydroxyisohexyl 3-cyclohexène carboxaldéhyde	31906-04-4	Synthétique
Isoeugénol	97-54-1	Synthétique ou Naturel : Huiles essentielles de citronnelle de Ceylan, ylang-ylang
Limonène	5989-27-5	Synthétique ou Naturel : Huiles essentielles de citronnier, aneth, genévrier commun • Orange • Verveine • Néroli • Niaouli • Melaleuca • Mélisse • Menthe poivrée • Muscade • Myrre • Angélique • Aspic • Badiane • Bergamote • Mandarine • Bigaradier • Carvi • Céleri • Lavande • Limette
Linalool	78-70-6	Synthétique ou Naturel : Huiles essentielles de thym, lavande officinale et lavandin, pin sylvestre, laurier noble, bigaradier, marjolaine, menthe poivrée • Citron • Orange • Serpolet • Ylang-ylang • Verveine • Myrte • Néroli • Coriandre • Géranium • Limette • Mélisse • Muscade • Lemongrass • Basilic • Bergamote • Bois de rose
2-octynoate de méthyle	111-12-6	Synthétique
<i>Evernia prunastri</i> (Mousse de chêne)	90028-68-5	Naturel : Extrait de mousse de chêne
<i>Evernia furfuracea</i> (Mousse d'arbre)	90028-67-4	Naturel : Extrait de mousse d'arbre

Il est flagrant que la plupart de ces allergènes ont une origine naturelle. Il faudra donc faire particulièrement attention à vérifier que l'extrait que l'on souhaite employer dans un produit cosmétique ne dépasse pas les limites autorisées. Il est également requis que ces allergènes figurent sur l'étiquette s'ils sont présents à plus de 0.1% dans les produits à rincer et à plus de 0.01% dans les produits sans rinçage.

Ces annexes sont régulièrement actualisées par la Commission Européenne, sur la base des avis du SCCS (*Scientific Committee on Consumer Safety*) (Pauwels and Rogiers, 2010). Elles peuvent évoluer et subir l'inclusion, le remplacement ou l'exclusion de certaines substances. Les produits cosmétiques mis sur le marché peuvent donc être sujets à des évolutions réglementaires plus ou moins conséquentes. Les substances classées comme CMR (Cancérogènes, Mutagènes et toxiques pour la Reproduction) sont interdites sauf si elles font l'objet de dérogations sous certaines conditions (article 15 du règlement cosmétique (Commission Européenne, 2014)). Les nanomatériaux peuvent être inclus dans les produits cosmétiques, sous réserve d'une bonne identification et évaluation (article 16 du règlement cosmétique (Commission Européenne, 2014))

Le Règlement Cosmétique n° 1223/2009 se focalise également sur les emballages de produits cosmétiques. Le point 4 de l'annexe I du règlement indique que des caractéristiques pertinentes concernant les matériaux composant l'emballage doivent être précisées, notamment sur sa pureté et sa stabilité. Et en cas de présence de substances interdites sous forme de traces, des éléments doivent prouver que celles-ci sont inévitables (Annexe I). Il convient donc de s'assurer que les composants primaires de l'emballage en contact direct avec la formule ne libèrent pas de substances non attendues dans le produit fini.

L'article 2 du règlement cosmétique définit les principaux acteurs de la cosmétique. Le fabricant est toute personne physique ou morale qui fabrique, fait concevoir ou fabriquer un produit cosmétique et commercialise ce produit sous son nom ou sa marque. L'importateur est toute personne physique ou morale établie dans la Communauté qui met sur le marché communautaire un produit cosmétique provenant d'un pays tiers. Le distributeur est toute personne physique ou morale faisant partie de la chaîne d'approvisionnement, autre que le fabricant ou l'importateur, qui met un produit cosmétique à disposition sur le marché communautaire (par exemple, les magasins spécialisés ou non, les parfumeries, les parapharmacies, les pharmacies, les instituts de

beauté, les coiffeurs...). L'utilisateur final est un consommateur ou un professionnel qui utilise le produit cosmétique.

L'article 4 du règlement cosmétique introduit la notion de personne responsable. Sa désignation est obligatoire pour la mise sur le marché de cosmétiques. Elle est garante de la conformité du produit cosmétique vis-à-vis du règlement. Elle est le premier interlocuteur des autorités compétentes des Etats Membres et doit être établie obligatoirement dans l'un des 31 pays de l'Espace Economique Européen. La personne responsable est généralement le fabricant, quand le produit est uniquement fabriqué dans la Communauté et ne fait pas l'objet, par la suite d'une exportation et d'une réimportation. Dans le cas d'un produit cosmétique importé, chaque importateur est la personne responsable du produit qu'il met sur le marché. Le fabricant et l'importateur peuvent désigner comme personne responsable une personne établie dans la communauté, qui accepte ce rôle par écrit. Si le distributeur modifie un produit cosmétique déjà mis sur le marché de telle façon que sa conformité aux exigences risque d'en être affectée, c'est lui qui devient personne responsable. La personne responsable doit notamment s'assurer de l'évaluation de la sécurité des produits cosmétiques mis sur le marché (article 10 du règlement cosmétique, (Commission Européenne, 2014)). Elle doit prendre des mesures correctives dans le cas d'un produit cosmétique non conforme en informant les autorités nationales compétentes de l'Etat Membre.

Le fait que le produit cosmétique ne requiert pas d'autorisation de mise sur le marché rend la personne responsable entièrement garante de la sécurité du produit cosmétique (Adler *et al.*, 2011).

La personne responsable se doit, lors de la mise sur le marché européen de son produit cosmétique de fournir le Dossier d'Information Produit « DIP » (ou *Product Information File* « PIF »). Ce dossier, très complet, s'articule autour du rapport sur la sécurité du produit qui est constitué du profil toxicologique des ingrédients tel que requis par l'annexe I du Règlement cosmétique. Ce règlement insiste également sur l'interdiction des tests de substances et produits finis sur animaux, impliquant le développement de méthodes alternatives qui doivent être validées.

Le produit cosmétique devra, au préalable de sa mise sur le marché être notifié via le portail CPNP (*Cosmetic Products Notification Portal*) afin d'en informer la Commission

Européenne en en donnant les principales informations (article 13, règlement cosmétique, (Commission Européenne, 2014)). Le CPNP est un site Web que seules la personne responsable et les autorités compétentes peuvent utiliser afin d'avoir accès aux informations du produit. Cela permet aux autorités d'avoir l'exacte connaissance de l'ensemble des produits commercialisés sur le marché européen.

Ainsi, la mise sur le marché d'un produit cosmétique nécessite une notification via le portail CPNP, la constitution du DIP, l'actualisation permanente des informations sur le produit, la présence obligatoire de certaines informations sur l'étiquetage du produit, l'assurance que les produits n'ont pas été testés sur des animaux, la surveillance du marché (cosméto-vigilance) et la déclaration d'établissement auprès de l'ANSM (article L. 5131-2 du CSP). Ces exigences relèvent de la personne responsable.

2.3.2. Constitution du DIP

La constitution du DIP est décrite dans l'article 11 du règlement cosmétique. Celui-ci indique que le DIP est nécessaire à la mise sur le marché d'un produit cosmétique et qu'il devra être actualisé régulièrement et conservé 10 ans après que le dernier lot du produit cosmétique a été mis sur le marché par la personne responsable. Elle doit également veiller à ce que ce DIP soit accessible à l'Autorité Compétente de l'Etat Membre où il est conservé.

Ce DIP devra contenir une description du produit cosmétique, le rapport sur la sécurité du produit cosmétique (CPSR), une description de la méthode de fabrication et une déclaration de conformité aux Bonnes Pratiques de Fabrication, les preuves de l'effet revendiqué par le produit cosmétique et les données sur l'expérimentation animale.

2.3.3. Constitution du CPSR

Afin de mettre un produit cosmétique sur le marché, la personne responsable doit s'assurer qu'il est « sûr pour la santé humaine lorsqu'il est utilisé dans des conditions d'utilisation normales ou raisonnablement prévisibles » (article 3, règlement n° 1223/2009). Une évaluation de la sécurité du produit fini par un évaluateur de la sécurité qualifié¹ est

¹ Article 10 du règlement cosmétique: « L'évaluation de la sécurité du produit cosmétique, exposée à l'annexe I, partie B, est effectuée par une personne titulaire d'un diplôme ou autre titre sanctionnant une formation universitaire d'enseignement théorique et pratique en pharmacie, toxicologie, médecine ou dans une discipline analogue, ou une formation reconnue équivalente par un Etat membre. »

Un arrêté publié au Journal Officiel Français le 17 mars 2015 (JORF, 2015) vient compléter cette définition par une liste de formations reconnues pour être évaluateur de la sécurité de produits cosmétiques pour la santé

donc requise. Cette évaluation prend la forme d'un rapport d'expert constitué de deux parties (A et B) qui doit être établi conformément à l'annexe I du règlement cosmétique. La partie A correspond aux informations sur la sécurité du produit cosmétique. Dix points sont requis :

- Formule quantitative et qualitative du produit cosmétique
- Caractéristiques physico-chimiques et stabilité du produit cosmétique
- Qualité microbiologique
- Impuretés, traces, informations concernant le matériau d'emballage (si présence d'une substance interdite sous forme de traces, fournir les éléments prouvant qu'elle est techniquement inévitable)
- Utilisation normale et raisonnablement prévisible
- Exposition au produit cosmétique (site(s), zone(s) d'application, quantité de produits appliquée, durée/fréquence d'utilisation, voies d'exposition normales ou raisonnablement prévisibles, populations visées)
- Exposition aux substances (idem point précédent)
- **Profil toxicologique des substances** : pour tous les effets toxicologiques pertinents. Accent particulier sur la toxicité locale (irritation de la peau, des yeux), sur la sensibilisation cutanée et en cas d'absorption UV, de la toxicité photo-induite. C'est cette partie du CPSR qui sera mise en exergue dans cette thèse, avec l'évaluation de la sécurité des ingrédients cosmétiques.
- Effets indésirables et effets indésirables graves
- Informations sur le produit cosmétique (autres informations pertinentes)

La partie B doit être rédigée et signée par une personne compétente (telle que décrite à l'article 10 règlement n° 1223/2009). Elle correspond à l'évaluation à proprement dite de la sécurité du produit cosmétique. Elle permet de conclure quant à la sécurité du produit cosmétique, de décrire quels seront les avertissements et instructions d'utilisation figurant sur l'étiquette. Le raisonnement scientifique ayant amené à la rédaction de la conclusion doit être clairement expliqué. Enfin cette partie contient les références de la personne chargée de l'évaluation et de l'approbation de la partie B.

humaine en France. Cet arrêté liste les formations reconnues comme équivalentes aux diplômes de médecin, pharmacie et toxicologue qui sont requis pour avoir ce rôle.

2.4. Extraits végétaux et règlement cosmétique

Il n'existe pas de réglementation particulière encadrant l'utilisation d'extraits végétaux dans les produits cosmétiques au sein de l'Union Européenne. Seules certaines plantes ou certains extraits en particulier, cités dans les annexes sont interdits ou restreints d'utilisation dans ces produits (Commission Européenne, 2014).

Un produit cosmétique se décompose en une ou plusieurs matières premières constituées elles-mêmes d'un ou plusieurs ingrédients. Un extrait végétal n'est pas un ingrédient cosmétique classique (chimiquement bien défini), il est constitué d'un ensemble de substances présentes en quantités variables.

Le nom INCI des extraits végétaux est construit à partir du nom botanique (en latin) de la plante suivi ou non du type d'extrait (exemple pour des extraits de vigne : *Vitis vinifera* ; *Vitis vinifera* leaf water ; *Vitis vinifera* fruit extract ; *Vitis vinifera* oil...). Un nom de plante correspond ainsi à de nombreux noms INCI, et chaque nom INCI englobera une infinité d'extraits de compositions variées (du fait de la variabilité de composition des extraits végétaux) (Bailey J.E. 1995; Personal Care Product Council 2016).

2.5. Extraits végétaux et règlement REACH

Entré en vigueur le 1^{er} juin 2007, le règlement européen REACH (*Registration, Evaluation, Authorization and Restriction of Chemicals* : enRegistration, Evaluation et Autorisation des substances Chimiques) a pour but d'améliorer la protection de la santé humaine et de l'environnement en permettant de répertorier et de connaître les dangers de toutes les substances fabriquées ou importées au-delà d'une tonne par an en Europe. REACH prévoit également d'interdire ou de restreindre les substances les plus dangereuses. En application de ce règlement, il incombe aux entreprises de recueillir des informations sur les propriétés et les utilisations des substances qu'elles fabriquent ou importent dans des quantités supérieures à une tonne par an sous forme d'un dossier d'enregistrement. Elles doivent également évaluer les dangers et les risques potentiels liés à la substance.

Ces informations sont communiquées à l'ECHA (Agence Européenne des Produits Chimiques) au moyen d'un dossier d'enregistrement contenant les informations en matière de danger et, s'il y a lieu, une évaluation des risques que l'utilisation de la substance peut présenter ainsi que la façon de les maîtriser.

Les substances utilisées dans les produits cosmétiques ne sont pas exemptes d'enregistrement.

Sous REACH, une substance est définie de la manière suivante : « élément chimique et ses composés à l'état naturel ou obtenus par un processus de fabrication, y compris tout additif nécessaire pour en préserver la stabilité et toute impureté résultant du processus mis en œuvre, mais à l'exclusion de tout solvant qui peut être séparé sans affecter la stabilité de la substance ou modifier sa composition ». Un « mélange (ou une solution) est composé de deux substances ou plus » (ECHA, 2016b).

Le règlement REACH décrit deux types de substances (ECHA, 2016a):

- Les substances bien définies : ce sont des substances de compositions qualitative et quantitative définies. Elles englobent :
 - les substances monoconstituants : substances définies par leur composition quantitative dans laquelle un constituant principal est présent à plus de 80%,
 - les substances multiconstituants : substances définies par leur composition quantitative dans laquelle plus d'un constituant principal est présent entre 10 et 80%.
- Les substances UVCB (*Unknown or Variable composition, Complex reaction products, or Biological materials*) : ce sont des substances de composition variable ou inconnue issues de procédés complexes ou de matériels biologiques. Une substance UVCB est difficilement définie par sa composition chimique seule. Elle doit être identifiée par son nom, son origine ainsi que son mode d'obtention ou processus de fabrication. Pour une substance biologique, il faudra indiquer le nom scientifique de l'espèce d'origine, et préciser si c'est le cas la partie de l'organisme utilisée ainsi que le traitement appliqué pour obtenir la substance finale.

Les extraits végétaux sont des substances complexes dont la composition varie selon le genre, l'espèce, les conditions de croissance et de récolte de la plante ainsi que le procédé utilisé pour son traitement. Pour les définir, l'EFEO (*European Federation of Essential Oils*) et l'IFRA (*International Fragrance Association*) parlent de Substances Naturelles Complexes (SNC). Les grands paramètres caractérisant une SNC sont les suivants : la source botanique, le processus de fabrication et la composition chimique (EFEO/IFRA, 2015). Il est compliqué

d'établir une similitude entre deux substances UVCB. Leur description précise est donc primordiale.

Le règlement REACH prévoit des exemptions d'enregistrement pour certaines catégories de substances à l'annexe V. Pour ce qui est des extraits végétaux, on s'intéressera aux critères listés au point 8 : pour pouvoir bénéficier de l'exemption, la substance doit être présente dans la nature, ne pas être chimiquement modifiée, et ne pas être dangereuse (critères de classification comme substances dangereuses conformément au règlement (CE) n° 1272/2008, ou substance persistante, bioaccumulable et toxique ou très persistante et très bioaccumulable conformément aux critères définis à l'annexe XIII). Les extraits ne répondant pas à ces trois critères ne peuvent pas être exemptés. Dans ce cas, le règlement REACH exige de monter un dossier d'enregistrement, comme pour toutes les autres substances dont le volume excède une tonne par an. La source et le mode de préparation sont importants mais la composition est également prise en compte lors de l'enregistrement. (Struessmann, 2008 ; BERPC, 2008)

3. Notions d'évaluation de la sécurité d'un produit cosmétique

3.1. Procédure d'évaluation de la sécurité des ingrédients cosmétiques selon les lignes directrices du SCCS

Le règlement cosmétique n° 1223/2009 donne les grandes lignes à suivre sans pour autant parler des mises en applications. Pour cela, il existe un guide du SCCS : *les notes of guidance*, 9^{ème} révision (SCCS, 2015).

L'évaluation de la sécurité des produits cosmétiques est une discipline plutôt récente, qui a évolué depuis la seconde moitié du 20^{ème} siècle. Jusque dans les années 60, il était largement reconnu que les produits cosmétiques restaient en surface du corps humain. Les effets locaux ont donc été les premiers à être évalués (tolérance locale, oculaire, sensibilisation, toxicité photo-induite). Cependant, depuis quelques décennies, il est admis que les substances appliquées sur la peau pouvaient la traverser et provoquer une exposition systémique. Des tests ont donc été mis au point pour évaluer la pénétration cutanée ainsi que la toxicité systémique des substances. Les modèles animaux ont été massivement utilisés afin de parvenir à élaborer le profil toxicologique des substances. Les expérimentations animales étant totalement prohibées depuis 2013 en Europe, les méthodes alternatives (*in vitro*, *in silico*) sont actuellement en plein essor et sont désormais utilisées en toxicologie cosmétique dès lors qu'elles sont disponibles et validées (Nohynek *et al.*, 2010).

Selon l'OCDE (Organisation de Coopération et de Développement Économiques), l'évaluation du risque se définit comme le « processus permettant de calculer ou d'estimer le risque pour un organisme, un système ou sous-population ciblés, incluant l'identification d'incertitudes, faisant suite à l'exposition à un agent particulier, en tenant compte des caractéristiques inhérentes à cet agent ainsi que les caractéristiques du système cible » (OCDE, 2003).

L'évaluation du risque pour les produits cosmétiques se distingue d'autres produits pour trois raisons (Adler *et al.*, 2011) :

- L'absence d'autorisation de mise sur le marché implique que l'entière responsabilité de la sécurité des produits revienne à l'industriel (ou sa personne responsable).

- Les tests sur les animaux étant interdits pour les produits cosmétiques, les nouvelles données sur leur innocuité ne pourront être générées qu'à partir de méthodes alternatives.
- Elle prend le nom d'évaluation de la sécurité pour les produits cosmétiques étant donné qu'un produit cosmétique est considéré *a priori* comme sûr pour la santé humaine.

Que cela concerne les produits cosmétiques ou les autres produits chimiques présents sur le marché, l'évaluation du risque des substances se déroule en trois étapes principales : évaluation du danger (qui consiste en l'identification du danger et l'évaluation de la relation dose-réponse), évaluation de l'exposition puis caractérisation du risque.

L'évaluation de la sécurité d'un produit fini cosmétique pour la santé humaine se fait en établissant le profil toxicologique de chaque ingrédient, en caractérisant leur exposition et en considérant les caractéristiques spécifiques des zones corporelles sur lesquelles le produit est appliqué et de la population à laquelle il est destiné (article R. 5131-2 du CSP). La sécurité d'utilisation d'un produit cosmétique est donc basée sur la connaissance des dangers de chaque ingrédient entrant dans sa composition ainsi que sur son utilisation.

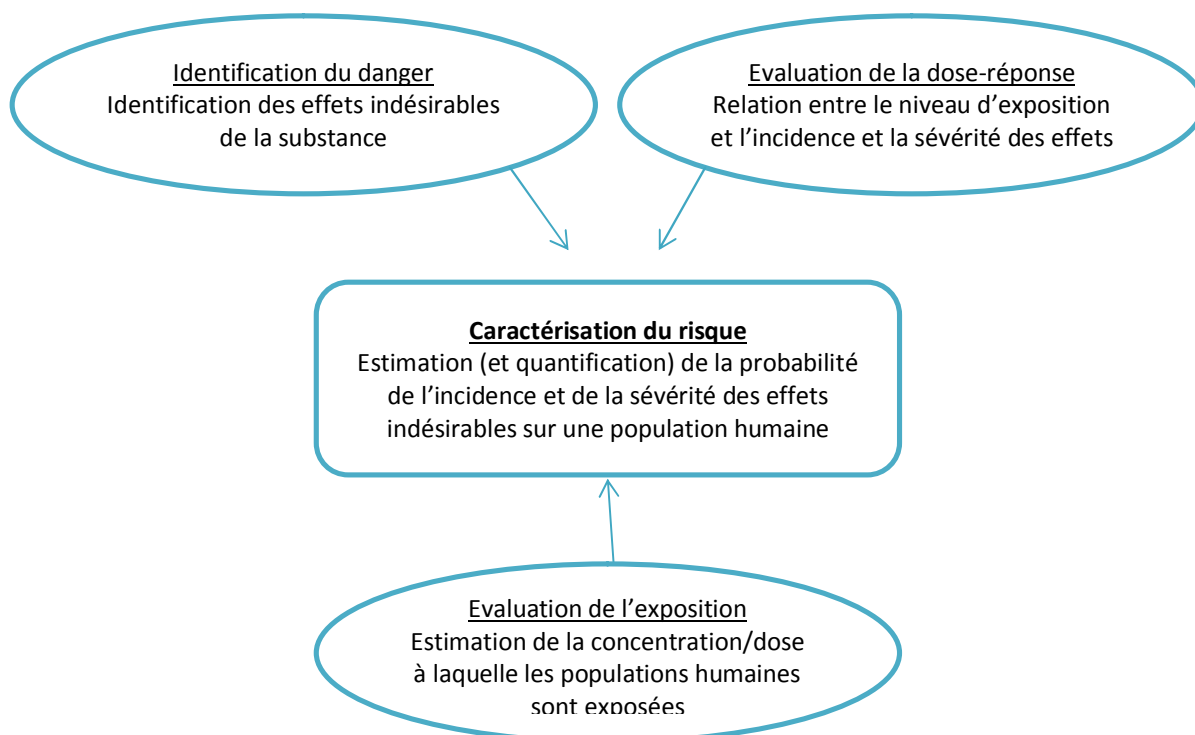


Figure 1. Les trois étapes principales du processus d'évaluation du risque (Adler et al. 2011 , SCCS 2015)

3.1.1. Evaluation du danger : Rédaction d'un profil toxicologique pour un ingrédient cosmétique

3.1.1.1. Caractérisation du danger

Cette démarche correspond à la rédaction du profil toxicologique de l'ingrédient selon l'annexe I, point 8 du règlement cosmétique. Elle permet de déterminer quelles sont les propriétés toxicologiques intrinsèques d'une substance, autrement dit si elle est dangereuse ou non pour l'Homme. Elle est basée sur les résultats de tests *in vivo*, *in vitro*, *in silico*, d'études cliniques, épidémiologiques... Les propriétés physico-chimiques intrinsèques de la substance sont également prises en considération (SCCS, 2015).

Cette étape concerne donc l'aspect qualitatif du danger c'est-à-dire le type et la nature des effets indésirables causés par une substance à un organisme. Un profil toxicologique correspond à un ensemble d'*endpoints*, qui sont des résultats d'études menées pour déterminer à quel point une substance est dangereuse. De nombreux *endpoints* sont ainsi requis pour établir le profil toxicologique d'un ingrédient cosmétique : toxicité aiguë, corrosion et irritation cutanée et oculaire, sensibilisation, toxicité à doses répétées, reprotoxicité, carcinogénicité, génotoxicité, phototoxicité (en cas d'absorption UV) et études de toxicocinétique. Toutes les informations toxicologiques sont rassemblées, triées et analysées. Elles proviennent de sources variées : instances officielles, données fournisseur, bases de données payantes, publications... Le but de cette recherche est d'établir les seuils de toxicité ou un niveau d'utilisation sûr pour l'ingrédient évalué.

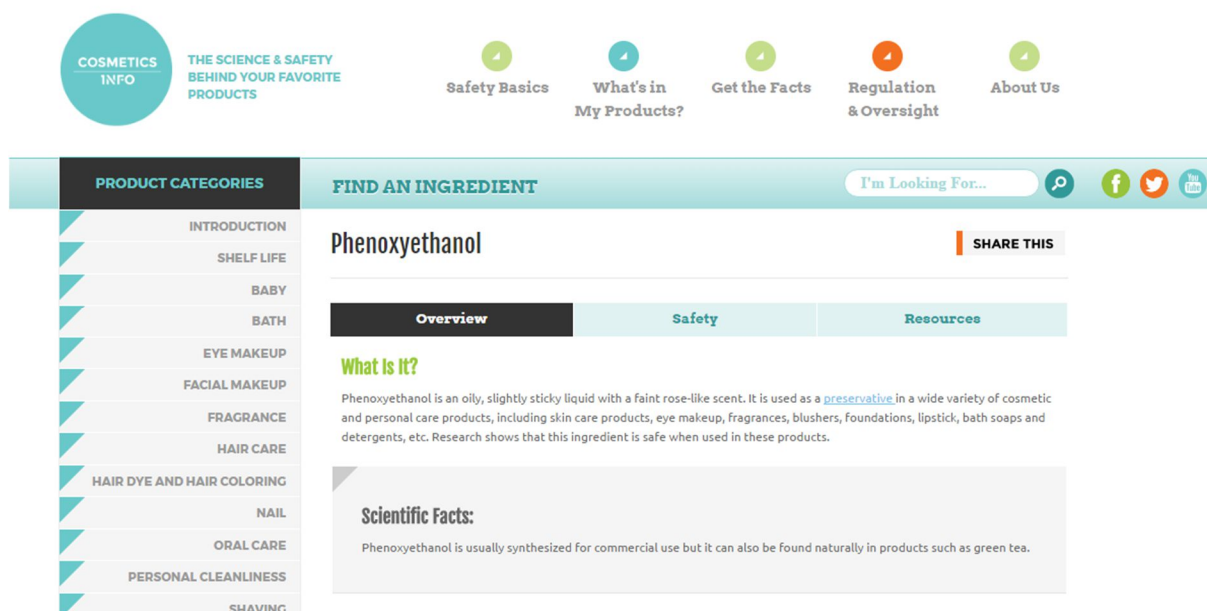
En pratique, la recherche bibliographique s'effectue par le nom INCI correspondant au nom officiel de l'ingrédient cosmétique et son numéro CAS ou EC. La base de données *Cosing* permet de retrouver le nom INCI et le numéro CAS d'un ingrédient cosmétique, ainsi que ses potentielles fonctions, ses éventuelles restrictions et les opinions du SCCS le concernant (Figure 2). *Cosing* est la première source consultée lors de l'évaluation d'un ingrédient cosmétique. Il s'agit de l'inventaire Européen officiel des noms INCI (Commission Européenne, 2012).

Ingredient : PHENOXYETHANOL

INCI Name	PHENOXYETHANOL
Description	
INN Name	
Ph. Eur. Name	phenoxyethanolum
CAS #	122-99-6
EC #	204-589-7
Chemical/IUPAC Name	2-Phenoxyethanol
Cosmetic Restriction	V/29
Other Restriction(s)	
Functions	<ul style="list-style-type: none"> • PRESERVATIVE
SCCS opinions	
Identified INGREDIENTS or substances e.g.	


Figure 2. Description du phénoxyéthanol (nom INCI, numéro CAS, EC, restriction, fonction etc.) par la base de données européenne *Cosing* (Commission Européenne, 2012)

Une recherche rapide pour se faire une idée des données disponibles sur l'ingrédient à évaluer peut être réalisée sur la base de données *Cosmetics Info* (Personal Care Products Council 2016), qui est gérée par le *Personal Care Products Council* (figure 3 ci-dessous). Si l'ingrédient à évaluer est disponible dans cette base, l'évaluateur pourra avoir des informations sur son mode d'action, sa sécurité, son usage et sa réglementation.



COSMETICS INFO THE SCIENCE & SAFETY BEHIND YOUR FAVORITE PRODUCTS

Safety Basics | What's in My Products? | Get the Facts | Regulation & Oversight | About Us

PRODUCT CATEGORIES | **FIND AN INGREDIENT** | I'm Looking For... | 

Phenoxyethanol | **SHARE THIS**

Overview | Safety | Resources

What is it?

Phenoxyethanol is an oily, slightly sticky liquid with a faint rose-like scent. It is used as a [preservative](#) in a wide variety of cosmetic and personal care products, including skin care products, eye makeup, fragrances, blushers, foundations, lipstick, bath soaps and detergents, etc. Research shows that this ingredient is safe when used in these products.

Scientific Facts:

Phenoxyethanol is usually synthesized for commercial use but it can also be found naturally in products such as green tea.

Figure 3. Recherche sur *Cosmetics Info* de l'ingrédient phénoxyéthanol (*Personal Care Products Council*, 2016a)

La recherche bibliographique s'effectue ensuite en consultant des moteurs de recherches spécialisés, tels qu'*eChemPortal* (OCDE), ou *TOXNET ChemIDplus* (Figure 4) (ChemIDplus, 2017) qui permettent de faire un premier tri des bases de données existantes contenant des informations sur la toxicité de l'ingrédient. Ensuite, la recherche s'effectue directement dans les bases de données toxicologiques.

U.S. National Library of Medicine **TOXNET** TOXICOLOGY DATA NETWORK

TOXNET > ChemIDplus > Substance

Registry Number starts with 122-99 Search

ChemIDplus A TOXNET DATABASE Lite • Browse • Advanced

Start New Query Modify Query Search History Switch to Summary View

Substance Name: Phenoxyethanol [NF]
 RN: 122-99-6
 UNII: HIE492ZZ3T
 InChIKey: QCDWFXQBSFUVSP-UHFFFAOYSA-N

Classification Codes
 Anesthetics
 Anti-Infective Agents
 Anti-Infective Agents, Local
 Central Nervous System Agents
 Central Nervous System Depressants
 Mutation Data
 Skin / Eye Irritant

Molecular Formula
 C₈H₁₀O₂

Molecular Weight
 138.165

Links to Resources

NLM Resources (File Locators)

<input type="checkbox"/> CCRIS	<input type="checkbox"/> Haz-Map	<input type="checkbox"/> PubChem	<input type="checkbox"/> PubMed Toxicology
<input type="checkbox"/> DART	<input type="checkbox"/> Household Products	<input type="checkbox"/> PubMed	<input type="checkbox"/> RTECS
<input type="checkbox"/> DrugPortal	<input type="checkbox"/> HSDB	<input type="checkbox"/> PubMed AIDS	<input type="checkbox"/> TOXLINE
<input type="checkbox"/> DSLD	<input type="checkbox"/> MedlinePlusAll	<input type="checkbox"/> PubMed Cancer	
<input type="checkbox"/> EMIC	<input type="checkbox"/> MeSH	<input type="checkbox"/> PubMed Central	

Regulatory Agencies (Superlist Locators)

<input type="checkbox"/> CGB	<input type="checkbox"/> HPV	<input type="checkbox"/> TSCAINV
<input type="checkbox"/> DSL	<input type="checkbox"/> INER	<input type="checkbox"/> WHMI

Other Resources (Internet Locators)

<input type="checkbox"/> CAMEO	<input type="checkbox"/> EINECS	<input type="checkbox"/> EPA SRS	<input type="checkbox"/> NTP DBS
<input type="checkbox"/> CTD	<input type="checkbox"/> EPA ACToR	<input type="checkbox"/> IUCLID	<input type="checkbox"/> OSHA Chem
<input type="checkbox"/> ECHA	<input type="checkbox"/> EPA CompTox	<input type="checkbox"/> NIOSH ICSC	<input type="checkbox"/> SRC DATALOG
<input type="checkbox"/> eChemPortal	<input type="checkbox"/> EPA Envirofacts	<input type="checkbox"/> NIST WebBook	<input type="checkbox"/> USA.gov

Search for this InChIKey on the Web

Figure 4. Présentation des bases de données contenant des informations sur la toxicité du Phénoxyéthanol, son poids moléculaire et sa structure, à partir du moteur de recherche TOXNET ChemIDplus (ChemIDplus, 2017)

Les autres bases de données peuvent être spécifiques au domaine cosmétique, mais peuvent également être des bases de données en alimentaire, et peuvent contenir des informations généralistes ou spécifiques sur la toxicité de l'ingrédient (Tableau 2).

Tableau 2. Liste non exhaustive des principales bases de données utilisées pour la recherche bibliographique visant à établir un profil toxicologique

Bases de données	Types de rapport
Cosing http://ec.europa.eu/growth/tools-databases/osing/index.cfm?fuseaction=app.welcome	Inventaire Européen officiel des noms INCI
Cosmetics info http://www.cosmeticsinfo.org/	Regroupe des données de sécurité, d'utilisation... sur l'ingrédient.
CIR (Cosmetic Ingredient Review) , issu du PCPC (Personal Care & Products council) américain http://www.cir-safety.org/	Rapports d'évaluation d'ingrédients cosmétiques
ECHA (European Chemicals Agency) http://echa.europa.eu/web/guest	Dossiers d'évaluation de substances chimiques. A noter cependant que les données rendues publiques dans les dossiers disséminés de l'ECHA ne peuvent être utilisées qu'après accord des industriels et achat d'une part de ces données.
EFSA (European Food Safety Authority) http://www.efsa.europa.eu/	Opinions sur des substances utilisées en alimentaire
EMA (European Medicines Agency) http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?url=pages/medicines/landing/herbal_search.jsp	Monographies de substances utilisées en pharmaceutique
HERA (Human and Environmental Risk Assessment) http://www.heraproject.com/disclaimer.cfm	Rapports d'évaluation de substances utilisées en tant que surfactants (détergents, tensioactifs)
IARC (International Agency for Research on Cancer) http://monographs.iarc.fr/	Monographies de substances à potentiel carcinogène. Base de données qui permet d'accéder au classement des substances en fonction de leur cancérrogénicité établie par le Centre International de Recherche contre le Cancer.
IFRA (International Fragrance Association) http://www.ifraorg.org/	Association représentant les industriels du parfum et leurs associations nationales et régionales. Nombreuses monographies (accès libre pour certaines)
JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) http://www.inchem.org/	Monographies de substances utilisées en alimentaire
NICNAS (National Industrial Chemicals Notification and Assessment Scheme) https://www.nicnas.gov.au/chemical-information/cosmetics	Rapports d'évaluation du département santé du gouvernement australien
TERA (Toxicology Excellence for Risk Assessment) http://www.tera.org/index.html	Portail qui indique pour chaque substance référencée les bases de données pour lesquelles des valeurs toxicologiques de référence sont disponibles en fonction du type d'effet et de la voie d'exposition.
US FDA CFR 21 (U.S. Food and Drug Administration Code of Federal Regulations Title 21) https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/cfrsearch.cfm	Classification de substances utilisées en alimentaire

Les données résumées dans le profil toxicologique sont issues d'études avec un degré de fiabilité et de pertinence variable.

Les lignes directrices établies par l'OCDE (l'Organisation de Coopération et Développement Economique) permettent de juger de la qualité d'une étude toxicologique. En effet, ces lignes directrices reconnues internationalement décrivent en détail la méthodologie à adopter pour la réalisation de ces études. Les études doivent également suivre les BPL (Bonnes Pratiques de Laboratoire). La méthodologie des études toxicologiques peut cependant varier de ces lignes directrices, ce qui peut influencer sur leur qualité.

Afin de juger de la fiabilité d'une étude, Klimisch et ses collaborateurs ont en 1997 établi un système de cotation, le score Klimisch. Ainsi, suivant les variations de méthodologie, le score d'une étude peut varier en fonction de sa robustesse. La cotation des études s'effectue sur quatre niveaux, et s'appuie sur la méthodologie utilisée ainsi que sur la description des résultats obtenus (Tableau 3) (Klimisch, Andreae and Tillmann, 1997). C'est à l'évaluateur du risque de juger du score Klimisch de l'étude.

Tableau 3. Présentation de la cotation Klimisch, basée sur la fiabilité et la pertinence d'une étude (Klimisch, Andreae and Tillmann, 1997)

Klimisch 1 : Fiable sans restrictions.	1a : Étude BPL (bonnes pratiques de laboratoire) et suivant les lignes directrices OCDE 1b : Comparable aux lignes directrices OCDE 1c : Méthodes nationales standards (AFNOR/DIN) 1d : Standards scientifiques et détails suffisants
Klimisch 2 : Fiable avec restrictions.	2a : Lignes directrices OCDE sans documentation détaillée 2b : Lignes directrices OCDE avec des restrictions acceptables 2c : Comparable aux lignes directrices OCDE avec des restrictions acceptables 2d : Méthodes nationales standards avec des restrictions acceptables 2e : Standards scientifiques bien justifiés et acceptables pour l'évaluation
Klimisch 3 : Non fiable.	3a : Documentation insuffisante pour l'évaluation 3b : Biais méthodologiques significatifs 3c : Protocole du test peu acceptable
Klimisch 4 : Non évaluable.	4a : Résumé 4b : Littérature scientifique secondaire 4c : Référence pas encore disponible 4d : Référence dans une langue étrangère 4e : Documentation insuffisante pour l'évaluation

Dans le cas d'un score Klimisch faible, il est possible de faire une approche de *Weight of Evidence* ou « charge de la preuve » sur le critère toxicologique concerné. En prenant par exemple le cas de l'irritation cutanée, si plusieurs études avec un score Klimisch de 3 ou 4

présentent des résultats similaires, alors le score peut évoluer, et le résultat gagne en fiabilité.

3.1.1.2. *Evaluation de la relation dose réponse*

Cette étape permet d'évaluer la relation entre l'exposition et la réponse obtenue (aspect quantitatif du danger). Elle permet de caractériser :

- Le potentiel irritant de l'ingrédient (issu de données cliniques, *in vitro*, *in vivo*) et de définir le pourcentage d'utilisation associé avec un risque acceptable.
- Le potentiel sensibilisant de l'ingrédient.
- L'absence de potentiel génotoxique (via les études de mutagénicité, de clastogénicité (fracture de l'ADN) et d'aneugénicité (perturbation de la mise en place du fuseau mitotique)).
- La toxicité systémique de l'ingrédient via la détermination d'une dose sans effets (ou plus petite dose sans effets). S'il s'agit d'un effet avec seuil, en général la NOAEL (*No Observed Adverse Effects Level*: dose la plus haute sans effets toxiques observés expérimentalement) est déterminée. Elle est exprimée en mg/kg mc (masse corporelle)/j. Elle peut être issue de plusieurs types d'études différents : étude de toxicité subaigüe, étude de toxicité subchronique, étude de toxicité chronique, étude de carcinogénicité, étude de reprotoxicité et étude de tératogénicité. Il est possible qu'aucune NOAEL ne puisse être déduite à la suite d'une étude de toxicité. L'évaluation se base alors sur une NOEL (*No Observed Effects Level*), dose la plus haute sans aucun effet ou sur la LOAEL (*Lowest Observed Adverse Effect Level*), plus petite dose entraînant un effet toxique. Des facteurs de sécurité sont utilisés en fonction du type de NOAEL, ou dans le cas de l'utilisation d'une LOAEL. Ils sont choisis au cas par cas par l'évaluateur, en fonction de la fiabilité de l'étude, de la durée de l'exposition à la substance, ou du type de valeur toxicologique et peuvent varier de 0 à 10. Ces scores permettent d'être le plus conservateur possible et de protéger au maximum le consommateur.

3.1.2. *Evaluation de l'exposition*

Il s'agit de déterminer la quantité de substance et la fréquence d'exposition à la substance. Plusieurs voies d'entrée sont considérées : la voie topique, la voie orale (pour les

produits soins des lèvres), ou voie respiratoire. Les expositions topique et orale sont additionnées (pour les produits destinés au visage et aux soins des lèvres). Quant à l'exposition respiratoire, elle est évaluée indépendamment lorsque cela est pertinent. Les données suivantes sont utilisées pour déterminer l'exposition à un ingrédient d'un produit cosmétique : le type de produit, le mode d'application, le site d'application, la concentration, la fréquence, la quantité appliquée, la composition chimique, la stabilité, la population ciblée (exemple de groupes à risque : enfants, nouveau-nés, femmes enceintes, peaux sensibles et atopiques...) ainsi que les données d'absorption cutanée (Pauwels and Rogiers, 2004).

L'absorption cutanée est une information nécessaire au calcul de la SED (*Systemic Exposure Dosage* = Dose d'Exposition Systémique), qui correspond à la dose retrouvée au niveau systémique par la masse corporelle en kg et par jour (SCCS, 2015). L'absorption cutanée peut être évaluée par des tests expérimentaux, selon la ligne directrice de l'OCDE n°428. L'absorption cutanée peut également être estimée en utilisant les paramètres suivants : masse moléculaire, coefficient de partage (log P), solubilité dans l'eau. Si on ne dispose pas de données concernant l'absorption cutanée, on la définit à 50% par défaut (SCCS, 2015). On considèrera au contraire que l'absorption est négligeable si la masse moléculaire des molécules de l'ingrédient est supérieure à 1 000 Da. S'il existe des informations prouvant une très faible biodisponibilité, la valeur par défaut descend à 10%. Les produits cosmétiques étant généralement appliqués par voie cutanée, le SED va principalement dépendre de l'absorption cutanée.

La SED dépend de trois paramètres (SCCS, 2015) : L'absorption cutanée (**DAp** = *dermal Absorption*) en %, la concentration finale de la substance dans le produit cosmétique en % (**C**), et l'exposition quotidienne (**A**) au produit cosmétique par kg de masse corporelle, basée sur la quantité appliquée et la fréquence d'application du produit cosmétique, en mg/kg mc/j. Cette SED est exprimée en mg/kg mc/day, et est utilisée pour le calcul de la MoS (*Margin of Safety*).

$$SED = A \text{ (mg/kg mc/day)} \times C \text{ (\%)/100} \times DAp \text{ (\%)/100}$$

L'utilisation de cette formule implique de connaître le paramètre A, c'est-à-dire l'exposition quotidienne au produit cosmétique par kg de masse corporelle. Cette information est fournie dans les *Notes of Guidance* du SCCS dont le tableau 4 est repris ci-dessous. Le facteur de rétention a été introduit par le SCCNFP (*scientific committee on*

cosmetic products and non-food products intended for consumers, ancien SCCS) dans le but de prendre en compte le rinçage et la dilution du produit fini du fait d'une application sur peau ou cheveux mouillés. Tous les produits cosmétiques ne sont bien sûr pas concernés par ce tableau. Pour les autres produits finis, il est du ressort de l'industriel et de l'évaluateur de la sécurité de faire une évaluation au cas par cas du niveau d'exposition quotidien et/ou de la fréquence d'application (SCCS, 2015).

Concernant l'exposition par voie respiratoire : l'exposition systémique liée à cette voie ne peut se produire que si le produit contient plus de 1% de particules sous forme aérosol de taille inférieure à 10 μm . L'exposition respiratoire peut induire des effets locaux ou systémiques dépendant de la nature de l'ingrédient. Les substances induisant des effets locaux sont par exemple des composés gras, des polymères, des silicones et des particules inertes (SCCS, 2015).

Tableau 4. Tableau issu des *Notes of Guidance* du SCCS (SCCS, 2015) : Estimation des niveaux d'exposition quotidiens pour différents types de produits cosmétiques selon les données de *Cosmetics Europe* (association d'industriels de la cosmétique européenne)

Type de produit	Estimation de la quantité appliquée / jour	Quantité relative appliquée (en mg/kg mc/j)	Facteur de rétention	Calcul de l'exposition journalière (g/j)	Calcul de l'exposition journalière relative (mg/kg mc/j)
Bain/douche					
Gel douche	18,67g	279,20	0,01	0,19	2,79
Savon pour les mains	20,00g	-	0,01	0,20	3,33
Soin cheveux					
Shampooing	10,46g	150,49	0,01	0,11	1,51
Après-shampooing	3,92g	-	0,01	0,04	0,60
Soins pour cheveux	4,00g	57,40	0,1	0,40	5,74
Colorations semi-permanentes (et lotions)	35 ml (par application)	-	0,1	Pas calculé	-
Colorations oxydantes/permanentes	100 ml (par application)	-	0,1	Pas calculé	-
Soins pour la peau					
Lotion corporelle	7,82g	123,20	1,0	7,82	123,20
Crème pour le visage	1,54g	24,14	1,0	1,54	24,14
Crème pour les mains	2,16g	32,70	1,0	2,16	32,70
Maquillage					
Fond de teint	0,51g	7,90	1,0	0,51	7,90
Démaquillant	5,00g	-	0,1	0,50	8,33
Ombre à paupière	0,02g	-	1,0	0,02	0,33
Mascara	0,025g	-	1,0	0,025	0,42
Eye liner	0,005g	-	1,0	0,005	0,08
Sticks à lèvres	0,057g	0,90	1,0	0,057	0,90
Déodorants					
Non-spray	1,50g	22,08	1,0	1,50	22,08
Spray aérosol (à base d'éthanol)	1,43g	20,63	1,0	1,43	20,63
Spray	0,69g	10,00	1,0	0,69	10,00

3.1.3. Caractérisation du risque

La caractérisation du risque est l'étape finale. Elle consiste à calculer la MoS (*Margin of Safety*) correspondant au ratio entre la NOAEL et SED (*Systemic Exposure Dose*) qui ont été déterminés au cours des étapes précédentes (OCDE, 2003).

$$MoS = NOAEL / SED$$

Une MoS supérieure ou égale à 100 est considérée comme dépourvue de risques pour le consommateur et donc acceptable. Cette valeur sert à pallier aux variabilités inter- et intra-espèce (voir figure 5). Un premier facteur de sécurité de 10 tient compte des variabilités inter-espèces (de l'animal à l'Homme). Un second de 10 tient compte des variabilités intra-espèces, et permet donc de considérer les personnes les plus sensibles dans la population humaine. En plus de ces deux facteurs de sécurité, il est possible d'ajouter d'autres facteurs selon le type d'étude à l'origine de la NOAEL. Une NOAEL issue d'une étude de toxicité à doses répétées durant 90 jours est préférentiellement choisie. Dans le cas de l'utilisation d'une LOAEL, un facteur de 3 est généralement utilisé (fonction de l'effet observé). Dans le cas d'une NOAEL issue d'une étude à doses répétées sur 28 jours, un facteur de 3 est également utilisé. Ainsi, dans le cas de l'utilisation d'une LOAEL, ou d'une NOAEL 28 jours, la MoS doit être au minimum égale à 300 (**10** (inter-espèces) x **10** (intra-espèces) x **3** (durée d'exposition)).

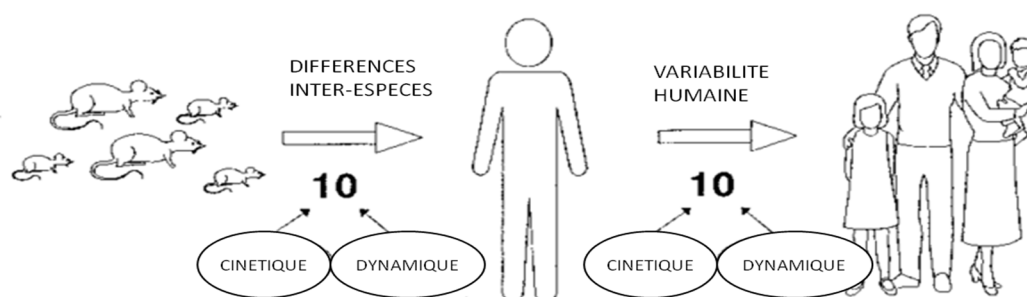


Figure 5. Représentation schématique de l'extrapolation de l'animal à l'Homme (SCCS, 2015)

Concernant l'évaluation du risque du produit fini, en parallèle du calcul de la SED sont réalisés des tests cliniques de tolérance locale. Après la réalisation d'un test *in vitro* en prérequis, les tests cliniques suivants sont réalisés au cas par cas :

- Patch test : application de la substance pendant 48h sous pansement occlusif ou semi-occlusif.

- Test de compatibilité : utilisation de la substance par les volontaires selon les conditions normales d'emploi pendant 5 jours.
- Test d'usage : utilisation de la substance par les volontaires selon les conditions normales d'emploi pendant 30 jours.
- HRIPT (*Human Repeat Insult Patch Test*) : ce test est réalisé indépendamment, pour déterminer si le produit est un sensibilisant pour l'Homme. Il s'agit d'appliquer un patch contenant le produit cosmétique sur la peau des volontaires pendant 24h. Après une pause de 24h, un patch est de nouveau appliqué au même endroit. Ce protocole est répété pendant 3 semaines. Après une pause de 2 semaines sans application vient la phase de challenge qui consiste à appliquer un nouveau patch contenant la substance à un autre endroit et à observer les éventuelles réactions synonymes d'une sensibilisation au produit (Politano and Api, 2008).

3.2. Méthodes alternatives en toxicologie cosmétique

3.2.1. Contexte

Chaque année, des millions d'animaux dans le monde sont utilisés pour la recherche ou le développement de nouveaux produits chimiques/médicaux. Ce nombre n'a cessé d'augmenter avec les avancées médicales. L'éthique animale est un sujet qui intervient de plus en plus dans les débats, avec des inquiétudes quant au bien-être des animaux bien sûr, mais également concernant leur fiabilité et leur applicabilité à l'Homme.

L'expérimentation animale ne pose pas qu'un problème éthique, elle demande également de la main d'œuvre expérimentée, est onéreuse et chronophage. En outre, les modèles animaux sont de plus en plus remis en question, comme n'étant pas optimaux pour prédire les effets et la toxicité chez l'Homme (Association Antidote., no date).

Le règlement cosmétique requiert l'arrêt de l'expérimentation animale en Europe au profit de méthodes dites alternatives validées. Depuis septembre 2004, l'expérimentation animale est interdite sur les produits finis. Elle est interdite sur les ingrédients des produits cosmétiques depuis mars 2009. Si elle reste autorisée pour certains effets spécifiques pour lesquels aucune méthode alternative n'existe comme la toxicité à dose répétée, la reprotoxicité et la toxicocinétique, l'interdiction est totale, même pour ces effets spécifiques depuis mars 2013.

Longtemps, les animaux ont été utilisés en science sans que le problème de leur bien-être ou de leur souffrance ne se pose. Il faut attendre le 17^{ème} siècle pour que les premiers biologistes s'en inquiètent et s'objectent moralement à la cruauté : il s'agit de Robert Boyle, Robert Hooke et Richard Lower (Guerrini, 1989). Le concept de remplacement des animaux dans l'expérimentation animale a été discuté pour la première fois en 1957 par Charles Hume et William Russell à la fédération des universités pour le bien-être animal (*Universities Federation for Animal Welfaires* : UFAW) (Balls, 1994). Russell et Burch (1959) proposent des moyens pour rendre l'expérimentation animale moins cruelle, qui prendront le nom plus tard des 3Rs ("*Reduce Refine Replace*" : réduire, affiner, remplacer). Cette approche incite à utiliser le minimum d'animaux, à revoir les protocoles pour diminuer la souffrance et le stress et si possible, à remplacer l'expérimentation animale par des méthodes alternatives (Ranganatha and Kuppast, 2012). Par ailleurs certaines réglementations (REACH notamment) prônent le partage des données pour limiter la répétition des tests (Doke and Dhawale, 2015). Suivant son objectif ultime de mettre un terme à l'expérimentation animale, en la remplaçant par des méthodes de substitution, l'Union Européenne adopte en octobre 2010 la directive 2010/63/UE sur l'expérimentation animale : elle veille à établir un équilibre entre l'amélioration du bien-être animal et la contribution à la recherche contre les maladies. Les États membres disposent d'un délai de deux ans (délai de transposition de la directive : 10 novembre 2012) pour se conformer aux nouvelles dispositions visant à faire baisser, pour des raisons éthiques, le nombre d'animaux utilisés à des fins d'expérimentation scientifique, sans entraver la recherche en évaluant les conséquences (Parlement Européen, 2010). De nombreuses méthodes alternatives ont vu le jour pour remplacer certaines de ces procédures éthiquement problématiques.

Certaines réglementations sont en contradiction avec d'autres : les tests imposés pour déterminer la toxicité d'une substance chimique ne sont pas les mêmes selon que cette substance soit un cosmétique, un pesticide, une substance chimique industrielle ou un médicament. Un produit cosmétique ne doit en aucun cas avoir été testé sur des animaux pour pouvoir être mis sur le marché européen tandis qu'un médicament requiert des tests sur au moins deux espèces animales. Le règlement REACH quant à lui limite seulement les tests sur les animaux. Ainsi, une substance ayant été testée pour répondre aux exigences du

règlement REACH sur des animaux sera interdite d'utilisation en cosmétique (sauf si un autre usage que celui en cosmétique est prouvé).

3.2.2. Les instances impliquées dans la validation des méthodes alternatives

Les méthodes alternatives sont d'ores et déjà utilisées en cosmétologie : des tests pour évaluer l'irritation, la corrosion, la sensibilisation et la phototoxicité ont été validés par l'ECVAM (Centre européen pour la validation des méthodes alternatives). Cependant, des doutes ont été émis par le Comité Scientifique de l'Union Européenne quant à la possibilité de remplacer toutes les expérimentations animales par une méthode alternative convenable, garantissant un haut niveau de sécurité pour le consommateur. C'est notamment le cas pour la toxicité à dose répétée, la reprotoxicité, la cancérogénicité et les tests de toxicocinétique (Quantin *et al.*, 2015).

Le Laboratoire de Référence de l'Union Européenne pour les méthodes alternatives à l'expérimentation animale (ou *European Union Reference Laboratory for alternative animal testing* : EURL-ECVAM) a été mis en place en 2011 suite à l'augmentation du besoin de nouvelles méthodes. Ce laboratoire a une longue expérience dans la validation de méthodes qui réduisent, affinent ou remplacent l'utilisation d'animaux pour l'évaluation de sécurité des produits chimiques. Son rôle est de coordonner la validation de ces méthodes, de les promouvoir et de les diffuser (FRANCOPA, 2009).

Ces méthodes alternatives *in vitro* sont longues à mettre en place, plusieurs sont toujours en phase de recherche ou en phase de validation. La mise en place d'une méthode alternative validée suit le schéma suivant : optimisation en recherche et développement, puis une pré-validation, une validation par l'ECVAM, un examen par des experts, et enfin une reconnaissance réglementaire par l'OCDE (les lignes directrices de l'OCDE recensent les tests reconnus à l'échelle internationale). Les protocoles de ces tests sont ainsi définis très précisément et appliqués de manière reproductible partout dans le monde.

L'ICATM (*International Cooperation on Alternative Test Methods*) est l'organisme international, qui a été établi par un accord entre l'ECVAM, l'ICCVAM (instance américaine), le JaCVAM (instance japonaise) et *Health Canada* (instance canadienne). Son rôle est d'établir une coopération internationale quant à la validation et l'harmonisation des méthodes alternatives dans le monde.

3.2.3. Typologie des méthodes alternatives à l'expérimentation *in vivo*

Les méthodes alternatives à l'expérimentation animale sont variées : il existe des modèles *in silico*, c'est-à-dire via des modèles informatiques, des modèles *in vitro* utilisant des cellules ou des tissus obtenus via des cultures cellulaires, ainsi que des méthodes utilisant des organismes alternatifs.

3.2.3.1. Les modèles *in silico*

L'informatique peut aider à comprendre les principes variés et basiques de la biologie. Les simulations *in silico* sont utilisées pour prédire les effets biologiques et toxiques possibles sans l'utilisation d'animaux. Ces modèles permettent également de réaliser un screening des molécules avant de les tester avec des expériences *in vivo* ou *in vitro* plus complexes et coûteuses.

i. Les outils permettant d'établir une relation structure-activité (FRANCOPA, 2009)

Ces outils prédisent l'activité biologique d'une molécule en fonction de sa structure. Ils se basent sur le principe selon lequel des structures similaires induisent des effets adverses similaires. Les caractéristiques physico-chimiques (par exemple l'acidité, la réactivité, l'affinité pour d'autres molécules) permettent de prédire l'activité toxicologique d'une substance par comparaison avec celle d'une molécule similaire. Il y a trois niveaux de complexité : le *read-across*, le SAR (*Structure-Activity Relationship* : relation structure activité) et le QSAR (*Quantitative Structure Activity Relationship* : relation quantitative structure activité).

Le *read across* (Teixeira do Amaral *et al.*, 2014), ou méthodes des catégories et des références croisées permet une approche structure-toxicité *ad hoc* : cette méthodologie prédictive se base sur l'utilisation d'informations toxicologiques relatives à une (ou plusieurs) substance(s) afin de prédire la toxicité pour une autre substance qui est considérée comme un analogue structurel (ECHA, 2015). C'est la méthode la plus facile à appliquer car elle ne nécessite pas de modélisation mathématique, c'est un outil facilement utilisé par les toxicologues au jour le jour. Il est évident que la fiabilité des données expérimentales des substances similaires est primordiale.

Les SARs sont basés sur l'identification d'alertes structurelles (par exemple : les cycles de la structure des oestrogènes), permettant par exemple de prédire les interactions avec un

récepteur biologique. Un modèle SAR ne prend pas en compte l'effet modulateur que les parties restantes de la structure moléculaire ont sur la toxicité.

Les QSARs sont des modèles mathématiques de la relation entre les propriétés physicochimiques d'une molécule et son activité biologique. Ils permettent de lier la structure moléculaire à une activité ou propriété biologique via des modèles statistiques complexes. Le QSAR est caractérisé par un domaine d'application défini : le domaine d'application est représenté par les propriétés physico-chimiques, structurales et biologiques par rapport auxquelles le modèle a été développé : seules les prédictions obtenues pour des substances chimiques qui se conforment à ces critères peuvent être considérées comme étant valides. L'avantage de ces modèles informatiques est la rapidité et un coût moindre. Ils permettent de réaliser un screening d'un nombre conséquent de molécules. Il faut toutefois se méfier de ces modèles et de leur domaine d'applicabilité : la difficulté est de savoir comment définir la similarité de manière à obtenir des prédictions fiables (Doke and Dhawale, 2015).

ii. L'approche du TTC (*Toxicological Threshold of Concern* ou Seuil de Préoccupation Toxicologique)

Le TTC est une méthode utilisée dans le domaine de l'alimentaire, établie en 1978 (Cramer, Ford and Hall, 1976), développée en 1996 (Munro *et al.*, 1996) puis approfondie en 2004 (Kroes *et al.*, 2004). Cette approche est basée sur la classification de Cramer, composée elle-même de trois niveaux : Classe de Cramer I ; Classe de Cramer II ; Classe de Cramer III. Le principe du TTC repose sur l'hypothèse que toute substance possède un seuil d'exposition sous lequel celle-ci n'entraîne pas de risque pour l'Homme au niveau systémique. Cette méthode ne se base donc pas sur la caractérisation du danger de la substance, mais sur l'évaluation du risque en utilisant un arbre décisionnel basé sur la structure de la molécule (Kroes *et al.*, 2004). L'arbre décisionnel de Cramer est composé de 33 questions permettant de classer une substance (Cramer, Ford and Hall, 1976). Sur la base de cet arbre, Munro *et al.* (1996), ont ainsi pu créer une base de données de plus de 400 substances, classées sur la base des trois niveaux de Cramer. En 2004, Kroes et son équipe ont mis au point un arbre décisionnel pour des composés à faible poids moléculaire en se basant sur leur structure chimique (voir annexe 1 : arbre décisionnel, issu de la publication de Kroes *et al.*). Ce concept ne peut être utilisé que si le constituant n'appartient pas à certaines classes de molécules

préoccupantes pour la santé humaine (aflatoxines, dioxines, dibenzo-dioxines polyhalogénées, dibenzofuranes, biphényles, composés azotés, stéroïdes, protéines et métaux, constituants génotoxiques).

Cette approche se fait donc sur des substances ayant une structure déterminée. Le logiciel *ToxTree* (Patlewicz *et al.*, 2008) permet d'estimer, grâce aux SMILES (*Simplified Molecular Input Line Entry Specification* : langage symbolique de description de la structure des molécules chimiques), à quelle classe de Cramer une substance appartient, via cet ensemble de questions sur la substance. Cet outil classe, sur la base de la structure chimique, les substances en 3 classes de Cramer (Cramer, Ford and Hall, 1976) avec des seuils de toxicité assignés par (Munro *et al.*, 1996) et (Kroes *et al.*, 2007) :

- **Classe de Cramer I** (toxicité faible) : Il s'agit de substances à structure simple, pouvant subir une métabolisation. Seuil : $1800 \mu\text{g}/\text{personne}/\text{j} = 30 \mu\text{g}/\text{kg mc}/\text{j}$
- **Classe de Cramer II** (toxicité intermédiaire) : Concerne les substances à structure plus complexe. Seuil : $540 \mu\text{g}/\text{personne}/\text{j} = 9 \mu\text{g}/\text{kg mc}/\text{j}$.
- **Classe de Cramer III** (toxicité importante) : Concerne les substances à structure complexe et présentant des groupements potentiellement réactifs et pouvant entraîner une certaine toxicité. Seuil : $180 \mu\text{g}/\text{personne}/\text{j} = 3 \mu\text{g}/\text{kg mc}/\text{j}$.

Cette approche TTC a ensuite été étendue au domaine cosmétique, et sert à présent à l'évaluation d'ingrédients cosmétiques (Kroes *et al.*, 2007). Le TTC est un outil prometteur pour évaluer la sécurité des substances présentes à l'état de traces et des ingrédients mineurs des substances dérivées de plantes. Les extraits végétaux représentent en effet un cas particulier du domaine cosmétique. Ce sont des substances UVCB, sans structure chimique définie et sont généralement composés de plusieurs substances chimiques, de différents groupes moléculaires. Le principe pour les extraits végétaux est donc de se focaliser sur les substances chimiques qui les composent, et d'établir leurs profils toxicologiques avec l'approche TTC (Antignac *et al.*, 2011). Il arrive que la composition de l'extrait ne soit pas ou partiellement connue. Dans ce cas, un classement par défaut dans la classe de Cramer III est possible, afin de surestimer le risque, à défaut de données toxicologiques. Le seuil de la classe de Cramer III étant de $3 \mu\text{g}/\text{kg pc}/\text{j}$, il convient de dire que la NOAEL de la substance concernée est de $0,3 \text{ mg}/\text{kg pc}/\text{j}$.

iii. Weight of evidence ou éléments de preuve

Cette démarche correspond à la combinaison d'informations provenant de sources différentes et indépendantes afin de fournir la preuve qui permettra de répondre à l'exigence d'information. Elle peut être utilisée dans le cas où des données sur un élément de preuve unique, prises de façon isolée ne permettent pas de répondre à une exigence d'information. Cette approche requiert un jugement scientifique. Il est donc nécessaire de fournir une documentation fiable et adéquate. Plus il y aura d'informations fournies, plus le *weight of evidence* aura de poids. Pour chaque élément de preuve unique entrant en jeu dans le *weight of evidence*, il faudra tenir compte de facteurs comme la qualité des données, la cohérence des résultats, la pertinence des informations ainsi que la nature et la gravité des effets. Il s'agit donc de rassembler l'ensemble des informations issues de sources variées : la littérature, les données QSAR, les données issues d'études existantes, les données *in vitro*, les données épidémiologiques. Il faut ensuite que l'expert combine les preuves et conclue quant à la propriété de la substance étudiée, en fournissant une justification scientifique (Balls *et al.*, 2006)

iv. Les modèles PBPK (*Physiologically Based Pharmacokinetic*)

Ils intègrent des paramètres biochimiques (paramètres du métabolisme, coefficients de partage) et physiologiques (volumes d'organes, flux sanguins) pour décrire les phénomènes suivants : absorption, distribution, métabolisme et élimination des substances chimiques (FRANCOPA, 2009).

3.2.3.2. Les cultures de cellules et de tissus

Ce sont les méthodes dites *in vitro* (Doke and Dhawale, 2015). Il s'agit de faire se développer dans un milieu de culture des cellules, des tissus ou organes humains particuliers pour étudier leur réponse *in vitro* à la substance testée. La rapidité et le coût moindre de ces méthodes sont leurs principaux avantages. Ces méthodes sont utilisées en routine pour réaliser un screening préliminaire des substances pour vérifier leur toxicité et leur efficacité. De nos jours, tous les types cellulaires humains sont cultivables, en trois dimensions, voire sous forme d'organes.

Les cellules en culture sont utilisées par exemple (dans le cas d'une peau humaine reconstituée) pour déterminer la toxicité cutanée d'un produit ou également pour tester la

cytotoxicité d'une substance : il s'agit de la mesure de la dose à laquelle une substance tue un lot de cellules. C'est un bon indicateur pour déterminer la toxicité aiguë. On peut également avoir recours à des marqueurs (fluorescents, montrant l'activité électrique des membranes cellulaires) ou à la méthode des gènes reporteurs ou toxicogénomique (il s'agit de gènes dont les variations d'expression révèlent une activité particulière dans la cellule).

Il existe une approche qui permet d'avoir une connaissance précise du mode d'action de la substance : il s'agit des AOP (*Adverse Outcome Pathways*). Les systèmes de marqueurs et de toxicogénomique peuvent être utilisés à cette fin. L'AOP se base sur le principe qu'une substance toxique, après avoir atteint et interagi avec une cible biologique, va déclencher une cascade d'évènements qui peuvent mener à un état néfaste. L'hypothèse générale de l'approche AOP est qu'un ensemble d'évènements clés mesurables suffit à décrire les voies biologiques et à prédire des effets néfastes à différents niveaux (cellule, tissu/organe, organisme, population). Ce concept permet la mise en évidence de phénomènes complexes à partir d'une série d'éléments clés. En effet, un AOP décrit une séquence d'évènements clés déclenchés par une substance. Tout AOP commence avec un évènement moléculaire initiateur qui initie une cascade de réactions (au niveau cellulaire, de l'organe ou de l'organisme) générant l'effet indésirable (voir exemple en 3.2.4.5).

3.2.3.3. *Les organismes in vivo alternatifs*

Les problématiques éthiques ont amené à des restrictions quant à l'usage de vertébrés pour l'expérimentation. D'autres espèces vivantes ont alors été utilisées : comme les vertébrés inférieurs (intéressants car ils possèdent des points communs avec les vertébrés supérieurs, tout en soulevant moins de problèmes éthiques, exemple du poisson Zèbre (*Danio rerio*)). Les invertébrés sont également utilisés comme alternative à l'expérimentation sur les vertébrés supérieurs. Ils sont largement utilisés pour étudier de nombreux phénomènes (comme le vieillissement cutané, la cicatrisation...). Ils ont l'inconvénient de présenter moins de similarités avec les vertébrés. En revanche, leur cycle de vie court, leur petite taille, leur anatomie simple leur procurent un avantage : un grand nombre d'invertébrés peuvent être utilisés dans une même expérience, avec des résultats rapidement obtenus. Ces méthodes sont également peu coûteuses (exemples de la mouche (*Drosophila melanogaster*) ou du nématode (*Caenorhabditis elegans*)). Enfin, les microorganismes sont également une alternative à l'expérimentation animale. Par exemple,

le plus populaire d'entre eux : *Saccharomyces cerevisiae*. Ce microorganisme a une croissance rapide, est facile à répliquer et possède un système génétique bien défini. Les bactéries sont également utilisées, surtout pour les tests de mutagénèse ou de génotoxicité (Doke and Dhawale, 2015).

3.2.3.4. Les études ex vivo

Ce sont des méthodes qui se font sur des tissus d'animaux provenant d'abattoirs, de laboratoires ou sur des tissus humains (les déchets chirurgicaux par exemple). Les explants de peau humaine permettent par exemple de tester l'absorption cutanée des substances. L'irritation oculaire peut être évaluée grâce aux yeux de bœufs ou de poulets récupérés des abattoirs (OCDE 437 et 438).

3.2.4. Méthodes existantes et validées (ou en cours de validation)

Le tableau ci-dessous liste les méthodes *in vivo*, *ex vivo* et *in vitro* existantes et validées par l'OCDE pour les différents *endpoints* à tester pour la réalisation du profil toxicologique d'un ingrédient cosmétique.

Tableau 5. Les méthodes *in vivo*, *ex vivo* et *in vitro* existantes et validées (avec référentiel OCDE) en toxicologie.

Endpoint		Test <i>in vivo</i> et cliniques	Test <i>in vitro</i> et <i>ex vivo</i>
Toxicité aiguë Caractérise le potentiel toxique d'une substance après une seule administration. Permet d'évaluer la dose létale et de connaître les organes cibles. Obtention d'une LD50 (dose létale pour 50% des animaux)		Orale : OCDE 420, OCDE 423, OCDE 425 Dermale : OCDE 402 Inhalation : OCDE 403, OCDE 436	Pas de référentiel OCDE, mais un guide documentant l'usage de tests <i>in vitro</i> de cytotoxicité pour estimer les doses de départ pour les tests <i>in vivo</i> .
Irritation/Corrosion Permet de classer une substance selon son degré de corrosion ou d'irritation. En fonction des résultats de ce test, une substance peut être interdite ou limitée dans les produits cosmétiques.	Irritation cutanée (lésions réversibles)	<i>In vivo</i> : OCDE 404 Clinique : single patch test, test de compatibilité, test d'usage, HRIPT (<i>Human Repeated Insult Patch Test</i>)	Tests avec épiderme humain reconstitué <i>in vitro</i> (RhE) : EpiDerm®; EpiSkin®; SkinEthic® et LabCyte® EPI-Model24SIT. OCDE 439
	Corrosion cutanée (lésions irréversibles)		-Test sur membrane d'étanchéité artificielle : Corrositex® : OCDE 435 -Tests sur épiderme humain reconstitué <i>in vitro</i> (RhE) : EpiSkin®, EpiDerm®, SkinEthic®, EpiCS® (EST-1000) : OCDE 431 -Résistance Electrique Transcutanée (TER, sur explant de peau de rat) : OCDE 430 Pas encore validé : Prediskin
	Irritation oculaire/lésions oculaires graves	<i>In vivo</i> : OCDE 405 Clinique : single patch test, HRIPT (<i>Human Repeated Insult Patch Test</i>)	-Test BCOP (<i>Bovine Corneal Opacity and Permeability</i>) : OCDE 437 -Test ICE (<i>Isolated Chicken Eye</i>): OCDE 438 -Test FLT (<i>Fluorescing Leakage Test</i>) : OCDE 460 -Test sur cellules de cornée de lapin : OCDE 491 -Test sur épithélium cornéen humain reconstitué (RhCE) : OCDE 492 Pas encore validé : HET CAM (<i>Hen's Egg Test – Chorioallantoic Membrane</i>), Predisafe, Relargage au rouge neutre, test sur œil de lapin.

<p>Sensibilisation Caractérise le potentiel sensibilisant après contact cutané avec une substance. (Les substances sensibilisantes doivent être limitées dans les cosmétiques)</p>	<p>-LLNA (<i>Local Lymph Node Assay</i>) : OCDE 429 (+442A et 442B) -GPMT (<i>Guinea Pig Maximization Test</i>) ou Test de Buehler: OCDE 406</p> <p>Clinique : -HRIPT (<i>Human Repeat Insult Patch Test</i>)</p>	<p>AOP (<i>Adverse Outcome Pathway</i>). Concept qui décrit le lien entre un évènement moléculaire initial direct et un résultat indésirable :</p> <p>-DPRA (<i>Direct Peptide Reactivity Assay</i>) : OCDE 442C -ARE-Nrf2 <i>Luciferase Test Method</i> (KeratinoSens™) OCDE 442D -h-CLAT (<i>human-Cell Line Activation Test</i>) OCDE 442E.</p> <p>En cours de validation : -MUSST (<i>Myeloid u937 Skin Sensitization Test</i>) : similaire au h-CLAT</p>
<p>Phototoxicité Test réalisé si la substance absorbe dans l'UV. Si ce test est positif, la substance est interdite dans les produits solaires.</p>		<p>OCDE 432 : <i>in vitro</i> 3T3 NRU Phototoxicity test</p>
<p>Mutagenicité/Génotoxicité Les produits cosmétiques sont utilisés à long terme, il est donc important de connaître leur potentiel mutagène et génotoxique.</p>	<p>Mutagenicité : OCDE 477/478/484/488/489 Génotoxicité : OCDE 474/475/483/485/486</p>	<p>Mutagenicité : OCDE -471 : essai de mutation reverse (sur bactéries) -476 : essai de mutation génique (sur cellules) Genotoxicité : OCDE -473 : essai d'aberration chromosomique <i>in vitro</i> (sur cellules) -487 : essai des micronoyaux sur cellules</p>
<p>Cancérogénicité Caractérise le potentiel d'une substance à induire des tumeurs ou d'en augmenter l'incidence</p>	<p>OCDE 451, OCDE 453 (Combinée à toxicité répétée)</p>	
<p>Toxicité à dose répétée (subaiguë, subchronique, chronique) Caractérise le potentiel toxique d'une substance après des administrations répétées. Obtention d'une NOAEL (<i>No observed adverse effects level</i>), valeur permettant le calcul des marges de sécurité.</p>	<p>Orale : OCDE 407 (28d), OCDE 408 (90d), OCDE 422 (combiné à reprotoxicité), OCDE 452 (12 mois), OCDE 453 (combiné à cancérogénicité) Dermale : OCDE 410 (21, 28d), OCDE 411 (90d) Inhalation : OCDE 412 (28d), OCDE 413 (90d)</p>	

<p>Reprotoxicité Caractérise le potentiel toxique d'une substance sur la fonction de reproduction ou sur le développement.</p>	<p>OCDE 414 (prénatal), OCDE 415 (1ère génération), OCDE 416 (2ème génération), OCDE 421 (reproduction-développement), OCDE 422 (Combinée à toxicité répétée), OCDE 443 (1ère génération étendue)</p>	
<p>Absorption cutanée Un produit cosmétique ne doit pas pouvoir avoir une action systémique et donc son passage à travers la peau doit être limité. Si pas de données disponibles, dans une démarche conservatrice, on choisit 50% de l'absorption orale par défaut. (guidance du SCCS, (SCCS, 2015))</p>	<p>OCDE 427 : Absorption cutanée : méthode <i>in vivo</i>.</p>	<p>OCDE 428 : Absorption cutanée : méthode <i>in vitro</i> (cellules provenant de peaux humaines ou d'animaux)</p>

3.2.4.1. Toxicité aiguë

La toxicité aiguë est un terme utilisé pour décrire les effets néfastes résultant d'une exposition ponctuelle (une seule exposition ou plusieurs au cours de 24 heures) à une substance. L'exposition peut être orale, dermale ou par inhalation. Si des données de toxicité aiguë *in vivo* existent au préalable, elles peuvent être utilisées. Cependant, si aucune donnée n'est disponible, la toxicité aiguë n'est pas obligatoirement à évaluer, l'usage d'une approche *weight of evidence* (sur des données de *read-across*, de QSAR, d'études *in vitro* ou d'études de toxicité à dose répétée) peut s'avérer suffisante (SCCS, 2015).

3.2.4.2. Irritation cutanée

L'irritation cutanée est caractérisée par l'apparition sur la peau de lésions réversibles (érythèmes, escarres ou œdèmes). Une seule catégorie est définie pour l'irritation cutanée (catégorie 2, la catégorie 1 étant réservée à la corrosion cutanée traitée dans le prochain paragraphe). La ligne directrice OCDE 439 (OCDE, 2015c) décrit un essai sur épiderme humain reconstitué qui reproduit les propriétés biochimiques et physiologiques de la partie supérieure de la peau humaine. La viabilité cellulaire est mesurée par conversion enzymatique du colorant MTT (bromure de 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényltétrazolium) en un sel de formazan bleu, quantitativement mesuré après extraction des tissus. Les produits testés sont catégorisés selon leur capacité à réduire la viabilité cellulaire au-dessous d'un seuil défini ($\leq 50\%$, pour la catégorie 2 du SGH (Système Général Harmonisé de classification et d'étiquetage des produits chimiques de l'ONU)). Au-delà de ce seuil, le produit testé peut être considéré comme non irritant. Quatre méthodes d'essai suivant cette ligne directrice ont déjà été validées par l'ECVAM (voir tableau 5), chacune avec son protocole spécifique.

3.2.4.3. Corrosion cutanée

La corrosion cutanée correspond à la survenue de lésions irréversibles de la peau. Cela se manifeste sous la forme de nécroses dans l'épiderme jusque dans le derme (ulcérations, saignements...) suite à l'application d'un produit chimique.

Le SGH définit trois sous-catégories de corrosion cutanée en fonction du temps d'exposition à la substance et de la période d'observation. Une substance est classée comme corrosive selon le tableau 6 ci-dessous (sur la base de résultats d'essais sur animaux).

Tableau 6. Les 3 sous-catégories de corrosion cutanée

	Sous-catégories de corrosivité	Corrosif pour 1 animal sur 3 au moins	
		Exposition	Observation
Catégorie 1 : Corrosif	1A	< 3 minutes	≤ 1 heure
	1B	> 3 minutes - ≤ 1 heure	≤ 14 jours
	1C	> 1 heure - ≤ 4 heures	≤ 14 jours

La ligne directrice OCDE 435 (OCDE, 2015b) propose un essai employant une membrane biologique artificielle et un système de détection chimique. Le système de détection chimique détecte les dommages provoqués par des produits chimiques sur la membrane d'étanchéité. Il s'agit de mesurer la pénétration de la membrane grâce au système de détection chimique, par exemple un changement de couleur d'un colorant indicateur de pH ou d'une autre propriété de la solution indicatrice située sous la membrane. La classification attribuée au produit chimique dépendra du temps qu'il a mis à pénétrer la membrane pour atteindre la solution indicatrice.

La ligne directrice OCDE 431 (OCDE, 2016a) fait appel à un épiderme humain reconstitué reproduisant les propriétés des couches supérieures de la peau humaine. Cette méthode part du principe que les substances corrosives pour la peau humaine peuvent pénétrer dans la couche cornée et sont cytotoxiques pour les cellules des couches sous-jacentes. Après application du produit chimique à tester sur l'épiderme reconstitué, la viabilité cellulaire est mesurée via la conversion enzymatique du colorant MTT en un sel de formazan bleu. Celui-ci est mesuré après avoir été extrait des tissus. Le produit chimique sera considéré comme corrosif et classé dans une sous-catégorie (voir tableau 6) selon sa capacité à faire chuter la viabilité cellulaire sous un seuil dépendant du modèle prédictif. Quatre modèles sont actuellement validés (voir tableau 5).

La méthode OCDE 430 (OCDE, 2015a) s'appuie sur la méthode d'essai de RET (Résistance Electrique Transcutanée), pratiquée sur des disques cutanés d'épiderme de rat. Le produit à tester est appliqué sur les disques cutanés, qui font office de séparation dans un système à deux compartiments. Le produit chimique sera classé corrosif en fonction de sa capacité à provoquer la perte de l'intégrité et de sa fonction de barrière de la couche cornée. La perte d'intégrité est mesurée par une diminution de la RET en-deçà d'une valeur seuil.

Les méthodes *in vitro* pour tester l'irritation et la corrosion cutanée ont été validées par le SCCS. Il y a cependant des inquiétudes à propos des substances réductrices, des colorants et des colorations pour les cheveux qui peuvent biaiser les tests avec le colorant

MTT. Quand il s'agit de tester ces substances, une autre technique sera utilisée impliquant une séparation par HPLC au préalable de la quantification (SCCS, 2015).

3.2.4.4. Irritation oculaire/lésions oculaires graves

On entend par irritation oculaire, une atteinte de l'œil totalement réversible dans les 21 jours suivant l'application du produit chimique responsable. Une lésion oculaire grave (catégorie 1 du SGH) correspond à une lésion des tissus oculaires ou une dégradation grave de la vue, non totalement réversible dans les 21 jours suivant l'application du produit responsable (Parlement Européen, 2008).

La ligne directrice OCDE 437 (OCDE, 2013a) est une méthode d'essai d'opacité et de perméabilité de la cornée bovine pour l'identification des produits chimiques provoquant des lésions oculaires graves ou ne relevant d'aucune classification pour irritation oculaire ou lésion oculaire. Pour cet essai, des cornées isolées d'yeux de bovins récupérés d'abattoirs sont déposées dans des porte-cornées, composés de deux compartiments, respectivement en contact avec les faces épithéliale et endothéliale de la cornée. Le produit chimique est appliqué sur la face épithéliale de la cornée. Les effets mesurés sont l'opacité (déterminée avec un opacimètre) et la perméabilité (déterminée par la quantité de fluorescéine sodique pénétrant la totalité des couches cellulaires de la cornée. La fluorescéine a au préalable été introduite dans la chambre antérieure. La quantité de fluorescéine passant dans la chambre postérieure est déterminée par spectrophotométrie UV-visible.)

La ligne directrice OCDE 438 (OCDE, 2013b) s'intitule : Méthode d'essai sur œil de poulet isolé pour l'identification des produits chimiques provoquant des lésions oculaires graves et ne relevant d'aucune classification pour irritation oculaire ou lésion oculaire grave. De la même façon que pour la méthode précédente, des yeux de poulets sont récupérés d'abattoirs. La cornée est également utilisée et placée sur un support. Les effets toxiques observés sont l'opacité de la cornée, la perméabilité (également sur la base de la rétention de fluorescéine) ainsi que l'évaluation qualitative de l'endommagement morphologique macroscopique de la surface. Ces paramètres sont ensuite combinés en une classification d'effet irritant pour le produit chimique testé.

La ligne directrice OCDE 460 (OCDE, 2012a) est la méthode d'essai de diffusion de fluorescéine pour identifier les substances corrosives et fortement irritantes pour l'œil. Cet

essai prévoit cette fois-ci d'utiliser une monocouche artificielle de cellules MDCK (*Madin-Darby Canine Kidney*) qui sert de séparation entre deux chambres. Le produit testé est appliqué sur cette monocouche et cette fois encore, la fluorescéine est utilisée pour calculer l'accroissement de perméabilité de la cornée.

La ligne directrice OCDE 491 décrit un essai de courte durée, réalisé sur une couche de fibroblastes de cornée de lapin. Après exposition au produit testé, la cytotoxicité est quantitativement déterminée en mesurant la viabilité relative des cellules grâce au test MTT.

La ligne directrice OCDE 492 présente un essai utilisant un modèle d'épithélium cornéen humain reconstitué. De la même façon, on évalue, avec un test MTT la cytotoxicité et on classe le produit testé en fonction du pourcentage de viabilité cellulaire.

Actuellement, les tests alternatifs présentés ci-dessus ne remplacent pas entièrement le test *in vivo* car ces tests ne permettent d'identifier que des irritants sévères mais ne permettent pas de distinguer les irritants faibles à modérés. Ces tests permettent de classer le produit testé en tant qu'irritant ou non-irritant (SCCS, 2015)

3.2.4.5. *Sensibilisation cutanée*

On entend par sensibilisation cutanée, une substance qui entraîne une réaction allergique par contact cutané. La sensibilisation est subdivisée en deux phases : la phase d'induction d'une mémoire immunologique spécialisée lors de l'exposition à un allergène ; puis la phase de challenge permettant de mettre en évidence l'élicitation (autrement dit une réaction allergique à médiation cellulaire ou humorale chez une personne sensibilisée au préalable à l'allergène).

L'*endpoint* sensibilisation cutanée dispose de plusieurs tests à réaliser en batterie dans une approche d'AOP (*adverse outcome pathway*). Les évènements clés permettant l'approche AOP pour l'*endpoint* de la sensibilisation cutanée sont cités ci-dessous (voir figure 6 ci-dessous) avec les lignes directrices OCDE qui décrivent les tests à réaliser :

-L'évènement moléculaire initiateur correspond à l'établissement d'une liaison covalente entre la substance et les protéines de la peau (OCDE 442C : Essai de liaison directe sur la réactivité peptidique (DPRA). Ce test mesure la capacité du produit chimique à réagir avec les protéines de la peau.).

-Le second évènement clé se déroule dans les kératinocytes et comprend des réponses inflammatoires, des phénomènes d'expression génique liés à des voies de signalisation cellulaire spécifiques telles que les voies dépendant de l'élément de réponse antioxydant/électrophile (ARE, *Antioxidant Response Element*) (OCDE 442D : méthode d'essai ARE-Nrf2 luciférase qui permet de déterminer la réactivité du produit chimique à se lier avec les résidus cystéine de Keap1, un régulateur de Nrf2).

-Le troisième évènement clé est l'activation des cellules dendritiques (évalué d'après l'expression de marqueurs de surface de la cellule) (OCDE 442 E : Test d'activation de la lignée cellulaire humaine (h-CLAT)).

-Enfin, le quatrième évènement clé est la prolifération des lymphocytes T.

Ainsi, l'étude de ces différents phénomènes permet de déterminer si la substance étudiée déclenche ces évènements clés et permet de prouver ou non si elle est sensibilisante pour la peau. Les trois tests *in vitro* validés (OCDE 442 C, D et E) ne doivent pas être utilisés seuls mais doivent être inclus dans une approche intégrée (SCCS, 2015).

De nombreuses autres méthodologies sont en cours de développement.

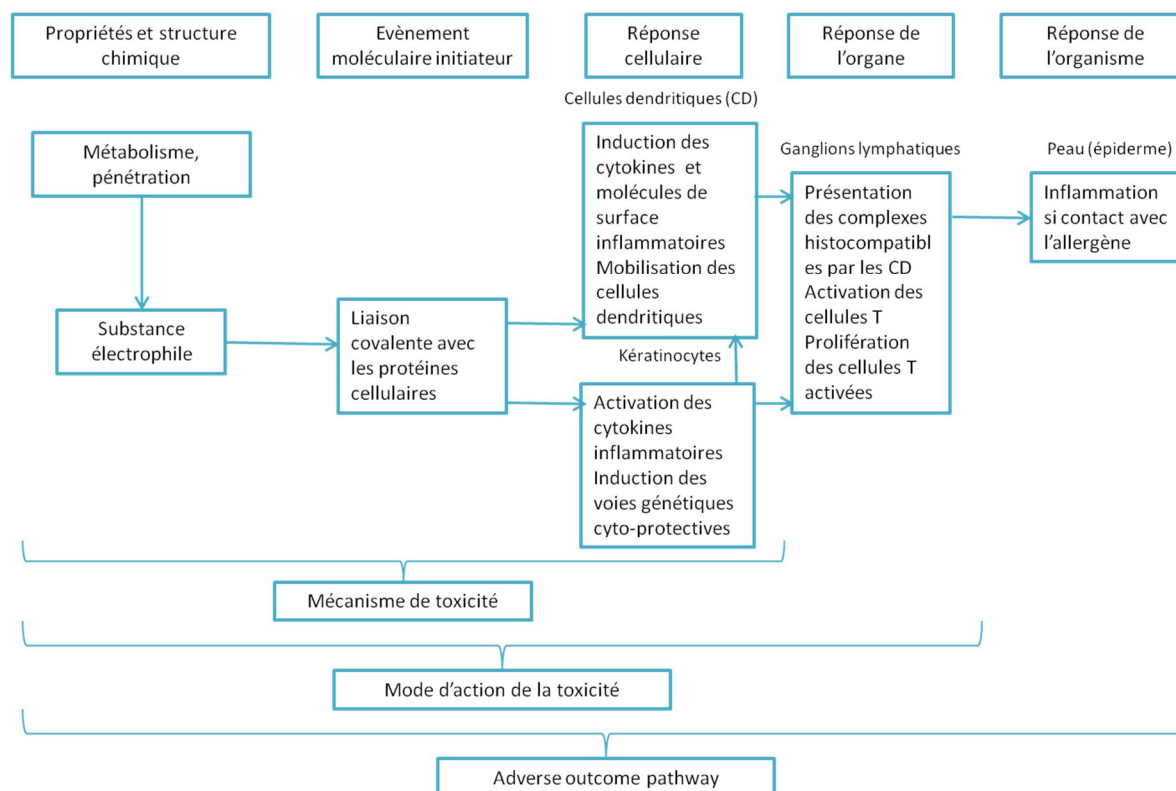


Figure 6. Schéma d'un AOP présentant les mécanismes clés liés à la sensibilisation cutanée (OCDE, 2012b)

3.2.4.6. Phototoxicité

La phototoxicité est décrite comme un effet toxique lié à une substance appliquée sur la peau, déclenché ou accentué par une exposition à la lumière ou bien provoqué par l'irradiation de la peau après administration de la substance par voie systémique.

La ligne directrice OCDE 432 (OCDE, 2004a) décrit un essai évaluant la réduction de la viabilité des cellules (fibroblastes de souris, Balb/c3T3) exposées à un produit chimique, en présence ou en absence de lumière. La viabilité cellulaire est déterminée par le test de fixation au rouge neutre (*Neutral Red Uptake* – NRU).

3.2.4.7. Génotoxicité/mutagénicité

La mutagénicité se réfère à l'induction de changements permanents et transmissibles dans la quantité ou la structure du matériel génétique d'une cellule ou d'un organisme. La génotoxicité est un terme plus large qui correspond à des modifications de la structure, du contenu informationnel ou de la séparation de l'ADN.

L'évaluation du potentiel mutagène d'une substance cosmétique devrait fournir trois *endpoints* génotoxiques : i) mutagénicité au niveau génique, ii) clastogénicité (cassures ou réarrangements chromosomiques), iii) aneuploïdie (anomalie du nombre de chromosomes).

Voici la liste avec une brève description pour les *endpoints* mutagénicité et génotoxicité.

i. Pour l'*endpoint* mutagénicité :

-OCDE 471 (OCDE, 1997) : essai de mutation reverse (sur bactéries) : cet essai repose sur la détection de mutations qui inversent les mutations présentes dans les souches de gènes nécessaires à la synthèse de l'histidine (*Salmonelle typhimurium* et *Escherichia coli*). Les souches de bactéries sont auxotrophes pour l'histidine c'est-à-dire qu'elles ont besoin d'un apport extérieur en histidine pour survivre et se développer. Les bactéries sont placées dans un milieu sans histidine, avec la substance à tester (ainsi que des contrôles positif et négatif). Si la substance testée est mutagène, les souches de départ (His-) mutent en souches (His+) et peuvent alors se développer. Si la substance n'est pas mutagène, on n'observe au contraire pas plus de croissance bactérienne que dans le contrôle négatif.

-OCDE 476 (OCDE, 2016c) : essai de mutation génique (sur cellules de mammifères) : Cet essai se base sur le fait que des cellules mutantes sur le gène endogène de l'enzyme Hypoxanthine-guanine phosphoribosyl transférase (Hprt), sont par conséquent déficientes en cette enzyme et résistantes aux effets de la 6-thioguanine (TG). Les cellules munies de l'enzyme Hprt sont quant à elles sensibles à la TG, ce qui entraîne une inhibition de leur métabolisme et l'arrêt de leur division. Les cellules mutantes peuvent proliférer en présence de TG, contrairement aux cellules normales. L'apparition de colonies révertantes à la fin de cet essai (après contact avec la substance testée) et leur comptage permet de conclure quant au potentiel mutagène de la substance.

ii. Pour l'*endpoint* génotoxicité :

-OCDE 473 (OCDE, 2016b) : essai d'aberration chromosomique *in vitro* (sur cellules) : les cellules sont exposées au produit testé, puis traitées avec une substance qui bloque la métaphase. Après récolte et coloration, on peut alors observer les aberrations chromosomiques au microscope.

-OCDE 487 (OCDE, 2016d) : essai des micronoyaux sur cellules de mammifères : cet essai permet de détecter des micronoyaux (peuvent provenir de fragments de chromosomes acentriques (sans centromère) ou de chromosomes qui ne peuvent pas migrer vers les pôles lors de la division cellulaire) dans le cytoplasme de cellules en interphase. Les cellules sont exposées au produit testé avant ou au cours de la division cellulaire.

Le SCCS recommande de combiner les deux tests suivants pour évaluer la génotoxicité et la mutagénicité des produits cosmétiques : OCDE 471 (essai de mutation reverse sur bactéries) et OCDE 487 (essai d'aberration chromosomique *in vitro* sur cellules).

3.2.4.8. Cancérogénicité

Une substance est dite cancérogène si elle induit des tumeurs ou accroît leur incidence, sévérité ou vitesse d'apparition. Il existe des cancérogènes agissant par des mécanismes génotoxiques et les cancérogènes dit non-génotoxiques qui agissent par d'autres mécanismes que l'interaction directe avec l'ADN. Il n'existe pas aujourd'hui de test *in vitro* validé pour évaluer le potentiel cancérogène d'une substance. Sans le test *in vivo* de 2 ans (OCDE 451), il est très difficile de conclure quant à la cancérogénicité d'une substance.

Si une substance a donné des résultats positifs dans les tests *in vitro* évaluant la génotoxicité, cela peut être un indicateur quant à son potentiel cancérigène. Ces tests de génotoxicité peuvent être considérés comme des tests de pré-screening pour la cancérigénicité. Il y a également des développements en cours de tests *in vitro* qui fourniraient des informations complémentaires sur les tests de génotoxicité (*Cell Transformation Assay*). Il y a actuellement de nombreuses discussions sur les cancérigènes non-génotoxiques (SCCS, 2015).

3.2.4.9. Toxicité à doses répétées

Cet *endpoint* étudie les effets toxicologiques généraux (excluant les effets reprotoxiques, génotoxiques et cancérigènes) apparaissant suite à l'exposition répétée quotidienne à une substance pendant une partie de la vie des espèces testées. Les mécanismes étant trop complexes, il n'existe pas non plus pour cet *endpoint* de méthode alternative validée, même si des efforts ont été faits dans certains domaines comme en hépatotoxicité, en neurotoxicité et en néphrotoxicité.

3.2.4.10. Reprotoxicité

Une substance reprotoxique est une substance qui induit des effets néfastes sur la fonction sexuelle, la fertilité et le développement de la descendance. Ces effets sont généralement observés via des tests *in vivo* sur une ou deux générations de mammifères. Pour cet *endpoint* également, il n'existe pas encore de méthode alternative validée.

3.2.4.11. Absorption cutanée

L'exposition de l'Homme aux produits cosmétiques se produit principalement par la peau. Pour rejoindre la circulation systémique, le produit cosmétique doit traverser un certain nombre de couches de cellules de la peau. Un grand nombre de facteurs jouent un rôle clé dans ce processus : la masse moléculaire, la charge, la lipophilie, l'épaisseur, la pilosité et la composition de la couche cornée (dépendant de la localisation dans le corps), la durée d'exposition, la quantité de produit appliquée, la concentration en substance, l'éventuelle occlusion du site, le véhicule... La ligne directrice OCDE 428 (OCDE, 2004b) a pour principe d'appliquer la substance étudiée à la surface d'un échantillon de peau (humaine ou animale) à l'interface de deux compartiments (receveur et donneur) d'une cellule de diffusion. Au cours de l'étude, le fluide receveur est plusieurs fois échantillonné

puis analysé pour y rechercher la substance d'essai. On obtient ainsi la dose non absorbée et la dose absorbée par la peau (qui correspond à la dose interne).

3.2.5. Intérêt de ces méthodes

L'utilisation de méthodes alternatives remet en cause les modèles animaux et les problèmes éthiques qu'ils posent. En effet, le bien-être animal et les essais de toxicologie sur ces derniers sont des notions contradictoires. L'interdiction de l'expérimentation animale en cosmétologie en Europe a permis le développement d'approches secondaires, ainsi que l'accélération de l'innovation de méthodes alternatives. En effet, dans le but de respecter les nouvelles obligations du règlement cosmétique, des méthodes *in vitro* et des approches comme le *read-across*, le *weight of evidence*, le TTC sont considérées afin d'évaluer le risque toxicologique en absence de données. Ces méthodes permettent de définir le profil de danger d'une substance généralement à moindre coût et en réduisant considérablement le temps d'obtention des résultats.

Une fois les modèles correctement développés, certains scientifiques s'attendent à obtenir des données plus fiables pour l'Homme. En effet, que cela soit par des modèles informatiques ou des tissus ou cellules humaines *in vitro*, ces données prédiraient mieux la toxicité d'une substance pour l'Homme que les tests faits sur les animaux. L'expérimentation animale a par de nombreux exemples tragiques démontré ses limites pour prédire les effets qu'une substance aura sur l'Homme. On peut citer les exemples du Distilbène®, du Thalidomide® ou du Vioxx®... qui avaient été testé avec succès sur des modèles animaux et qui ont gravement handicapé, rendu malade voire tué des humains. A l'inverse, l'expérimentation animale pourrait faire passer à côté de découvertes utiles : l'aspirine et la pénicilline sont par exemple très toxiques pour certains rongeurs et ne passeraient plus la phase des essais pré-cliniques aujourd'hui.

3.2.6. Limites de ces méthodes

Comme nous l'avons vu plus haut, les méthodes alternatives à l'expérimentation animale ne sont pas disponibles pour tous les *endpoints* toxicologiques. Il n'existe toujours pas de méthodes alternatives pour la reprotoxicité, la toxicité chronique, la cancérogénicité. Ce sont pourtant les domaines utilisant le plus d'animaux. Ces domaines de la toxicologie sont dépendants de mécanismes relevant d'interactions complexes au sein d'un organisme

vivant. La notion d'*Adverse Outcome Pathway* avec l'utilisation de batteries de tests *in vitro/in silico* dont les résultats peuvent s'approcher des phénomènes complexes du vivant pourrait permettre de palier à ce manque de méthodes alternatives pour les effets systémiques. Il était toujours autorisé de faire des tests sur les animaux pour ces *endpoints* jusqu'en 2013. Le SCCS considère que pour ces *endpoints*, même si les tests sur animaux devraient être utilisés au minimum, cela ne devrait pas se faire au détriment de la sécurité du consommateur. Ainsi par exemple pour le cas d'un nouvel ingrédient pour lequel aucune étude n'a jamais été faite, avec aucun *weight of evidence* envisageable, selon le SCCS, d'un point de vue scientifique, il s'avèrerait encore nécessaire aujourd'hui sous certaines conditions, de réaliser un test *in vivo*. Cette démarche devrait être dûment justifiée, avec un rapport apparaissant dans le DIP. Les nouvelles lignes directrices de l'OCDE pour les méthodes *in vivo* appliquent les principes de réduction du nombre d'animaux et du bien-être animal. Cette opinion du SCCS n'a bien sûr aucune valeur réglementaire, l'expérimentation animale restant interdite par le règlement cosmétique. On retrouve en annexe du règlement un diagramme (voir annexe 2) représentant les cas où l'expérimentation animale est autorisée. En effet, sur ce point, le règlement cosmétique est en conflit avec le règlement REACH (voir partie 2.5) car ce dernier requiert, en fonction de la quantité de substance fabriquée ou importée par an des tests toxicologiques sur les animaux. Le diagramme, édité par l'ECHA présente les cas où il est nécessaire ou non de générer des tests sur les animaux dans le cas où la substance à enregistrer est utilisée dans les produits cosmétiques. Il est possible de ne pas réaliser certains tests animaux requis par REACH si la substance est uniquement utilisée en cosmétiques ou s'il n'y a aucune exposition du travailleur (qui pourrait se présenter lors de la fabrication, la formulation ou le packaging). Il n'est pas possible de bénéficier de cette exemption si d'autres usages que celui en cosmétique existent pour cette substance. L'interdiction de tests *in vivo* peut donc être considérée comme un frein à l'innovation en cosmétique car certains ingrédients, pour lesquels aucune donnée n'existe, ne respectant pas les conditions du diagramme cité plus haut ne peuvent pas être mis sur le marché.

Pour que les nouvelles méthodes développées soient reconnues, elles doivent être validées par les organismes européens. Or, la validation de ces méthodes est lente, et elle se fait en référence à des données animales et non humaines. La recherche de méthodes de

remplacement est très active mais le remplacement intégral d'une méthode *in vivo* peut prendre des années.

4. Les extraits végétaux

4.1. Bref historique d'utilisation en cosmétique et attrait pour ces extraits

L'Être Humain a de tout temps accordé une importance particulière à son apparence en modifiant, amplifiant ou camouflant certains de ses aspects corporels, notamment grâce aux cosmétiques. Que ce soient les produits d'hygiène, les soins, les parfums, les produits capillaires, ou les maquillages, les cosmétiques font désormais partie de notre routine. Nous utilisons de nombreux produits cosmétiques au quotidien, tout au long de notre vie. L'exposition y est donc considérable.

Les extraits végétaux, avec les extraits animaux et minéraux, sont les premiers à avoir été utilisés en cosmétique. On retrouve des données d'utilisation de plantes jusque chez les Hommes préhistoriques avec notamment des peintures corporelles. L'usage de produits naturels en tant que cosmétiques est également retrouvé dans l'Égypte ancienne, il y a plus de 6 000 ans (Pradesh, 2013). Des papyrus égyptiens montrent par exemple que la coriandre et le ricin étaient utilisés pour leurs propriétés médicales, cosmétiques et conservatrices dans de nombreuses préparations (Azmir *et al.*, 2013). Les extraits naturels étaient majoritairement utilisés avant l'essor de l'industrie de la chimie, précurseur de la grande révolution des formulations avec l'utilisation de dérivés issus de la chimie du pétrole ainsi que de nombreux tensioactifs synthétiques à partir de la moitié du XX^{ème} siècle. Les formules des produits cosmétiques sont de plus en plus sophistiquées et innovantes. Depuis quelques années, les consommateurs sont en quête d'un retour à des produits plus naturels (Nardello-rataj and Bonté, 2008). Quel que soit le domaine concerné (pharmaceutique, cosmétique, alimentaire...), les extraits végétaux et produits naturels sont en effet grandement plébiscités. Les consommateurs cherchent à éviter au maximum les ingrédients de synthèse, issus d'une industrie chimique fortement décriée. Il est fréquent que des ingrédients de synthèse soient portés sur le devant de la scène et accusés de toxicité. On peut prendre l'exemple des parabènes, conservateurs très répandus dans les produits cosmétiques : suite à une grande médiatisation, toute la famille des parabènes est devenue indésirable, alors que seulement certains d'entre eux se sont avérés dangereux. Dans ces cas précis, la « non-présence » d'un ingrédient décrié devient alors un argument marketing. Se pose également la difficulté de remplacer ces ingrédients par des substituants dont l'absence de toxicité est avérée, et dont par ailleurs l'efficacité peut s'avérer moindre,

impliquant l'utilisation de concentrations plus élevées. Dans le cas des parabènes, d'autres conservateurs comme le phénoxyéthanol ou la MIT (méthylisothiazolinone) (ingrédients dont la toxicité est désormais reconnue) ont alors été utilisés car leur nom n'évoquaient rien de négatif et se fondaient dans la liste des ingrédients cosmétiques. D'ailleurs, les produits « naturels » sont communément associés à tort à une absence de danger. L'essor du développement durable et de la conscience écologique pousse d'autant plus les consommateurs à se tourner vers des produits plus naturels. Les extraits végétaux sont également attractifs pour les industriels car ils représentent des sources d'innovation intéressantes et infinies pour le développement de nouveaux actifs en cosmétique. Ils sont grandement utilisés en cosmétique grâce à leurs propriétés intéressantes : anti-oxydants, anti-inflammatoires, antiseptiques, antimicrobiens... Dans un contexte de développement durable, les extraits végétaux et les produits « bio-sourcés » ont le vent en poupe et deviennent un argument marketing (Pradesh, 2013). Par ailleurs, le règlement REACH évoqué précédemment apporte un contexte réglementaire plus exigeant en matière de santé humaine et de protection de l'environnement. Certains ingrédients toxiques pour l'environnement auparavant utilisés en cosmétique (le règlement cosmétique ne requiert pas d'un produit cosmétique qu'il soit inoffensif pour l'environnement) peuvent désormais être soumis à autorisation ou à restriction. REACH prévoit pour les extraits naturels des exemptions d'enregistrement sous conditions (Voir partie 2.5. Extraits végétaux et règlement REACH)

Bien que l'utilisation d'extraits végétaux dans les produits cosmétiques soit positive par bien des aspects, il ne faut pas oublier que ce sont malgré tout des substances chimiques plus ou moins actives et potentiellement toxiques. L'amalgame est en effet souvent fait entre l'origine naturelle d'un ingrédient et sa non-toxicité. Or, ce n'est pas parce qu'une matière première est issue de la nature qu'elle ne comporte aucune toxicité. De nombreuses plantes ou molécules de plantes peuvent entraîner une toxicité plus ou moins grave chez l'Homme due à des propriétés intrinsèques de l'extrait ou de la plante. L'évaluation de la sécurité est dans tous les cas requise pour tout ingrédient cosmétique, y compris les produits d'origine naturelle.

4.2. Particularités et difficultés d'évaluation de la toxicité des extraits végétaux

4.2.1. Origine et facteurs de variabilité des extraits végétaux

Un extrait végétal correspond à une substance complexe de composition variée et difficile à prédire. En effet, la composition quantitative et qualitative des extraits est affectée par de nombreux facteurs environnementaux et géographiques : la composition d'une plante dépend du lieu, de la saison et des conditions de culture (ensoleillement, hygrométrie, température, caractéristiques édaphiques...), de récolte, de conditionnement et de stockage. L'extrait sera également différent selon la variété, le cultivar, le chémotype ou l'organe végétal sélectionné. En effet, deux organes d'une même plante peuvent avoir des compositions chimiques strictement différentes (ratio chimique différent ou composition chimique originale). Par exemple, une molécule toxique peut être présente dans la graine et être absente de tout le reste de la plante (par exemple les graines d'amandes de drupes du genre *Prunus* contenant des hétérosides cyanogéniques (qui se métabolisent en cyanure d'hydrogène), alors que le reste de la plante en est dépourvu.). La méthode d'obtention de l'extrait a également une influence considérable sur le type d'extrait obtenu (extraction par solvant, distillation, expression, macération, purification, concentration...). Ainsi, chaque extrait végétal aura sa propre composition (Batista & Oliveira 2010; Harrigan et al. 2010).

4.2.2. Modes d'obtention des extraits végétaux

Les extraits végétaux présentant un intérêt pour les produits cosmétiques sont nombreux, ils sont une alternative à certains ingrédients de synthèse. L'essor de leur utilisation a soulevé le problème de la protection de la biodiversité. La surexploitation d'une espèce végétale particulière peut conduire à son extinction, à la dégradation de son environnement, comme cela a été le cas dans l'Himalaya pour les espèces *Nardostachys jatamansi* (Valériane indienne) et *Aconitum spp.* (Schmidt, 2012). Par ailleurs, derrière ce marché se dessinait un déséquilibre géographique : la biodiversité se concentrant au Sud et la majorité des centres de recherche et des laboratoires dans les pays du Nord. C'est dans ce contexte qu'a été adopté en 2010 le protocole de Nagoya (Convention on Biological Diversity United Nations, 2010) par la convention sur la diversité biologique. Les trois objectifs de la Convention sont la conservation de la diversité biologique, l'utilisation durable de ses

composantes et le partage juste et équitable des avantages découlant de l'utilisation des ressources génétiques.

Avant ce protocole, des conventions avaient déjà été mises en place, comme par exemple la CITES (Convention sur le commerce international des espèces de faune et de flore sauvages menacées d'extinction), accord intergouvernemental signé en 1973 à Washington (CITES, 1973). La CITES prévoit des annexes contenant environ 34 000 espèces animales et végétales réparties entre les annexes I, II et III en fonction de la gravité du risque que le commerce international leur fait courir.

Ainsi, lorsqu'un industriel de la cosmétique ou de tout autre domaine qui utilise des extraits de plantes ou d'animaux souhaite se procurer des matières premières naturelles, il doit s'engager à respecter ces conventions afin de préserver la biodiversité.

Les extraits végétaux peuvent provenir de toutes les espèces de plante, du moment que celles-ci possèdent des actifs intéressants. Ces derniers seront extraits en fonction de leur nature.

Les méthodes utilisées pour obtenir ces différents extraits végétaux sont très variées avec plus ou moins de paramètres influents sur la composition finale de l'extrait. Elles peuvent être couplées les unes avec les autres. Les méthodes conventionnelles pour obtenir des extraits végétaux sont basées sur le pouvoir d'extraction de différents solvants utilisés seuls ou en association, avec ou sans influence de la température (Azmir et al. 2013 ; Brusotti et al. 2014). Ci-après un aperçu des méthodes conventionnelles :

- l'extraction par solvant se fait avec un appareil de Soxhlet (voir figure 7 ci-dessous) (Luque de Castro and García-Ayuso, 1998). Il s'agit d'une extraction à chaud et en flux continu. Le résultat est équivalent à une série de macérations successives. Le solvant est porté à ébullition puis une fois recondensé, retombe sur la matière à extraire, la faisant macérer à nouveau. Le facteur déterminant pour la qualité de l'extrait est la polarité du solvant. Un solvant polaire extrait les composés polaires et inversement pour un solvant apolaire. Cette technique est principalement utilisée dans les cas suivant : pour les plantes pour lesquelles il est difficile de récolter beaucoup d'extrait par distillation, les plantes chères et pour préserver les composés hydrosolubles qui seraient perdus lors d'une distillation. Suite à une

extraction par solvant, on obtient une « concrète » qui, une fois chauffée à 45-60°C avec de l'éthanol pur, est refroidie à -5 à -12°C et enfin filtrée devient une « absolue »

La détermination du nombre de bains de solvant et du temps d'extraction est importante (cela dépend de chaque plante). Les principaux solvants utilisés sont les suivants : solvants organiques volatils : *n*-hexane, butane, pentane, éther de pétrole, benzène, toluène...

Le choix du solvant se fait selon : sa polarité (polaire : alcool ; apolaire : pentane, hexane, benzène), son état physique (il doit être liquide à la température et pression de l'extraction), sa température d'ébullition (doit être faible pour qu'il puisse être éliminé rapidement.).

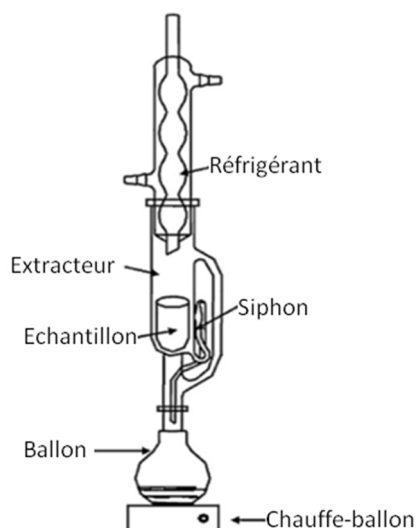


Figure 7. Extracteur de Soxhlet (Luque de Castro and Priego-Capote, 2010)

- Le procédé de macération consiste à mettre tout ou partie de plante en contact avec un solvant pendant au moins 3 jours. Le liquide est par la suite éliminé par filtration ou décantation. On parle également de percolation quand le solvant passe à travers la matière à extraire. L'infusion et la décoction suivent le même principe que celui de la macération (à chaud ou à froid), mais le solvant utilisé est l'eau. Ici également la polarité du solvant est importante, mais certains autres paramètres peuvent entrer en jeu, comme la température ou le temps d'extraction.

- l'hydrodistillation (voir figure 8 ci-dessous) est la méthode d'obtention des huiles essentielles. Elle consiste à vaporiser en présence de vapeur d'eau une substance peu ou pas

miscible à l'eau. La matière première est mise en présence d'eau portée à ébullition ou de vapeur d'eau dans un alambic. La vapeur d'eau entraîne la vapeur d'huile essentielle qui est condensée dans le réfrigérant pour être récupérée en phase liquide dans un essencier où l'huile essentielle est séparée de l'eau par décantation. Les facteurs impactant la qualité de l'huile essentielle ne concernent pas ici le solvant puisqu'il s'agit systématiquement d'eau ou de vapeur d'eau mais la durée et la température de distillation. On nomme « eau aromatique » ou « hydrolat » ou « eau distillée florale », le distillat aqueux qui subsiste après l'entraînement à la vapeur d'eau, une fois la séparation de l'huile essentielle effectuée (Baser and Buchbauer, 2010).

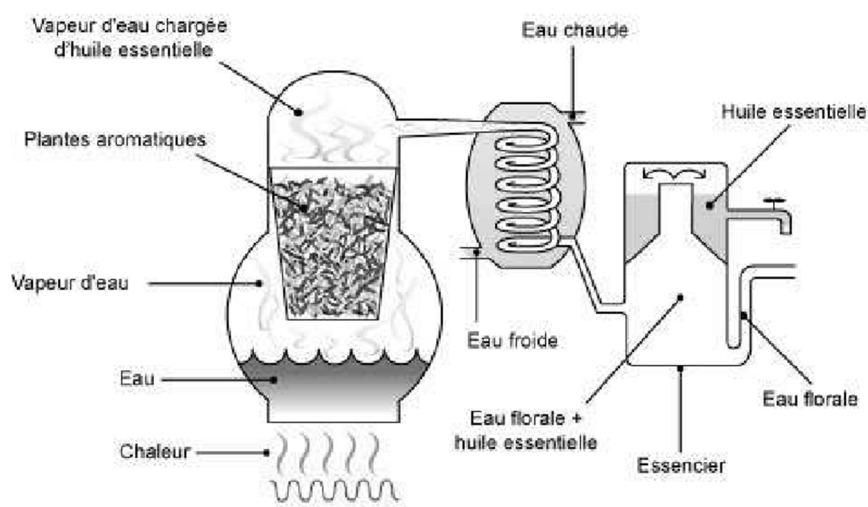


Figure 8. Appareil de distillation et mode d'obtention d'une huile essentielle (Ranjitha and Vijiyalakshmi, 2014)

- la distillation sèche permet d'obtenir des huiles essentielles à partir de bois, d'écorces ou de racines, sans addition d'eau ou de vapeur d'eau (Baser and Buchbauer, 2010).
- l'expression à froid permet d'obtenir l'huile essentielle des fruits et écorces d'agrumes par des procédés mécaniques (pression à froid) à température ambiante (Baser and Buchbauer, 2010).
- la trituration ou la pression à froid : les graines et les fruits sont broyés et pressés mécaniquement jusqu'à obtention d'un corps gras. Une huile sera dite « vierge » et un beurre sera dit « brut » si elle/il est obtenu(e) par simple pression à froid et ne subit par la suite aucun traitement secondaire. Cette pression à froid (40°C en général) est privilégiée car elle ne dégrade pas les actifs de l'huile et ne fait appel à aucun solvant. Pour un meilleur

rendement, le processus peut se faire à chaud, mais c'est prendre le risque de dénaturer les actifs et les acides gras (Lis-Balchin, 2006).

D'autres techniques ont été élaborées pour permettre de s'affranchir des limites des méthodes conventionnelles comme par exemple pour limiter l'utilisation de grands volumes de solvant coûteux, réduire le temps d'extraction, permettre l'extraction de constituants difficiles à extraire par les méthodes classiques, protéger les constituants thermolabiles... En voici quelques exemples:

- l'extraction assistée par ultrasons : on parle là d'une extraction classique avec solvant, assistée par des ultrasons qui permettent de détruire les parois cellulaires améliorant le relargage des actifs dans le solvant (Azmir *et al.*, 2013; Brusotti *et al.*, 2014).

- l'extraction enzymatique : des enzymes comme les cellulases ou pectinases sont ajoutées lors de l'extraction afin de rendre les actifs plus disponibles pour le solvant (destruction des parois cellulaires, hydrolyse des polysaccharides et corps lipidiques auxquels les actifs peuvent être liés) (Azmir *et al.*, 2013; Brusotti *et al.*, 2014).

- l'extraction assistée par micro-ondes, il s'agit d'extraction traditionnelle au solvant assistée par micro-ondes, qui favorisent la pénétration du solvant dans la matière première (Azmir *et al.*, 2013; Brusotti *et al.*, 2014).

- l'extraction assistée par champ électrique pulsé : dans le même but que les méthodes précédentes de détruire les parois cellulaires afin d'en récupérer le contenu, cette méthode consiste à exercer un potentiel électrique qui, via la création de pores détruit les membranes cellulaires (Azmir *et al.*, 2013; Brusotti *et al.*, 2014).

- l'extraction supercritique (le solvant dans ce cas est du dioxyde de carbone à l'état supercritique). Un fluide supercritique peut se définir comme toute substance se trouvant dans des conditions de température et de pression supérieure à sa température critique et à sa pression critique. Ils possèdent certaines propriétés physicochimiques des gaz et d'autres des liquides. Par exemple le CO₂, en conditions normales de pression et de température est retrouvé sous la forme d'un gaz. Lorsqu'il est comprimé à une température d'environ 30°C et sous haute pression, il passe à un état supercritique : il agit comme un fluide avec un pouvoir de solubilisation accru. Les fluides supercritiques ont un pouvoir solvant supérieur à celui des liquides, permettant une plus grande rapidité des extractions et la possibilité de travailler à

des températures peu élevées. Leur excellent pouvoir d'extraction peut être modulé pour sélectionner les composés à extraire en jouant sur la température d'extraction. Certains fluides supercritiques sont inertes chimiquement et empêchent donc la dégradation de la matière première. Le CO₂ est le gaz optimal pour l'extraction en phase supercritique car sa température critique et sa pression critique sont faibles et permettent son utilisation pour l'extraction de produits thermolabiles. De plus, le CO₂ est inerte, non toxique et peu cher. Le CO₂ supercritique est injecté dans la cuve où se trouve le matériau végétal. Il capte les composés actifs de la plante. Cette méthode permet de pallier deux problèmes rencontrés avec les méthodes d'extraction traditionnelles : la chaleur liée à la distillation et l'utilisation de solvants modifiant les structures chimiques des composés extraits (Castioni, Christen and Veuthey, 1995).

Ces méthodes d'extraction sont souvent couplées à des méthodes classiques afin d'en améliorer le rendement.

Cette typologie non exhaustive des méthodes d'extraction et des différents extraits végétaux met en exergue que de nombreux paramètres du mode d'obtention de l'extrait, pas nécessairement qualifiables ou quantifiables, jouent un rôle dans la composition finale de l'extrait. Cela donne une idée de la complexité d'extrapolation d'un extrait végétal à l'autre, même s'il est issu d'une même plante voire d'un même organe.

Voici une liste non exhaustive des types d'extraits végétaux obtenus via les méthodes décrites ci-dessus :

- Les huiles essentielles et essences : ce sont des extraits liquides concentrés hydrophobes obtenus par hydrodistillation (entraînement à la vapeur et/ou à l'eau de certains composés de la plante). La nature d'une huile essentielle varie d'une plante à l'autre. Une huile essentielle est constituée de composés aromatiques volatils (sesquiterpénoïdes, benzénoïdes, phénylpropanoïdes...) naturellement présents dans la plante. Les huiles essentielles peuvent s'accumuler dans différents organes végétaux tels que les fleurs (oranger, rose, lavande) mais aussi les feuilles (citronnelle, eucalyptus, laurier noble) et, bien que cela soit moins habituel, dans des écorces (cannelier, bois de rose, camphrier, santal), des racines (vétiver), des rhizomes (curcuma, gingembre), des fruits secs (anis, badiane, persil), des graines (muscade). Si tous les organes d'une même espèce peuvent renfermer une huile essentielle, la composition de cette dernière (qualitative et

quantitative) peut varier selon sa localisation dans la plante. Les huiles essentielles donnent aux plantes leurs odeurs distinctes, elles les protègent et jouent un rôle dans la pollinisation. Une huile essentielle ne sera considérée comme telle seulement si elle a été isolée par des moyens physiques : hydrodistillation ou expression (également connu sous le nom de pression à froid, utilisée pour les huiles issues d'agrumes) (Baser and Buchbauer, 2010).

- Les hydrolats (ou *hydrosol*, terme anglais) et eaux florales : les eaux florales sont formées durant le processus d'extraction d'une huile essentielle, lorsque le matériau botanique est soumis à une distillation. Alors que l'huile essentielle de la matière végétale est retirée et vendue sous forme d'huile pure, l'eau restante contient encore certains constituants de la matière végétale. Ces eaux florales contiennent des constituants solubles dans l'eau et sont exemptes des substances lipophiles composant les huiles essentielles (hydrocarbures, terpènes, etc.), mais contiennent un mélange original d'ingrédients. A la fin d'une distillation, on retrouvera un liquide en deux phases : la phase huileuse (les huiles essentielles) au-dessus de la phase aqueuse (l'hydrolat) (Catty 2001; NAHA n.d.).

- Les extraits CO₂ supercritique : le CO₂ supercritique permet surtout d'extraire des actifs lipophiles (certains composés aromatiques, phytostérols, caroténoïdes, tocophérols, acides gras). Les extraits obtenus sont très concentrés donc très puissants et sont utilisés à faibles doses dans les cosmétiques (Castioni, Christen and Veuthey, 1995)

- Les macérâts : ce sont des extraits obtenus suite à une macération dans un solvant. Sont distingués plusieurs types de solvants : huiles végétales, eau et/ou glycérine ou alcool. Le choix du solvant est primordial selon les actifs à extraire. Une teinture correspond à un macérât hydroalcoolique (ANSM 2011).

- les concrètes : ce sont des extraits obtenus grâce à un solvant. Suite à l'extraction par solvant à partir d'une plante, on obtient l'extrait en solution. Lorsque le solvant est évaporé par chauffage, on obtient une substance ressemblant à de la cire appelée concrète. Si le matériau botanique d'origine était résineux, la substance obtenue est appelée résinoïde (Baser and Buchbauer, 2010).

- les absolues : une absolue est obtenue à partir d'une concrète en mélangeant cette dernière avec de l'alcool. Les composés se dissolvent dans l'alcool puis l'alcool est évaporé.

On obtient l'absolue : une forme très concentrée de parfum, très coûteuse et surtout utilisée en parfumerie (Baser and Buchbauer, 2010).

- les huiles végétales et beurres : ils correspondent aux corps gras d'origine végétale. Ils sont constitués principalement de triglycérides d'acides gras et d'actifs lipophiles apportant des propriétés antioxydantes, apaisantes, régénérantes... (Caroténoïdes, tocophérols, phytostérols...). Le corps gras peut se retrouver, selon sa composition à l'état liquide (huiles végétales), ou bien pâteux, solide (beurres végétaux) (Gunstone, 2011).

- les extraits en poudre : ils correspondent à des plantes ou parties de plantes qui ont été broyées et réduites en poudre. Ces extraits en poudre peuvent également être obtenus par la concentration d'un macérât ou par le biais du séchage d'un jus de plante ou de fruit (Baser and Buchbauer, 2010).

4.2.3. Difficultés d'évaluation des extraits végétaux et méthodologie généralement utilisée

Les différentes caractéristiques des extraits végétaux rendent l'évaluation de leur sécurité délicate pour le toxicologue. Ces derniers ne peuvent pas être évalués de la même manière que les autres ingrédients cosmétiques qui ont une composition chimique définie et invariable. Du fait de la variabilité de ce mélange complexe, une donnée sur un extrait de plante peut ne pas correspondre à un autre extrait de cette même plante. C'est pourquoi la rédaction de leur profil toxicologique est complexe. Ces extraits disposent rarement de données spécifiques et souvent peu de données sont disponibles dans la littérature. D'autre part, il est difficile de générer de nouvelles données : en effet, le nouveau règlement cosmétique n° 1223/2009 introduit l'interdiction définitive (depuis 2013) de la réalisation de tests *in vivo* sur les animaux et rend ce processus d'évaluation de la sécurité encore plus complexe dans la mesure où tous les *endpoints* toxicologiques (notamment pour des effets systémiques) ne disposent pas encore de méthodes alternatives validées.

Il n'existe de pas de méthodologie officielle pour évaluer ces extraits particuliers. Si des données fournisseur spécifiques sont fournies, (ce qui est rarement le cas), ce sont ces données qu'il faudra utiliser en priorité. Il est reconnu que, pour ces ingrédients particuliers, l'origine et le mode d'obtention sont particulièrement importants. Cela permet d'identifier des usages établis et de baser l'évaluation de la sécurité sur des données existantes.

En l'absence de données, l'évaluateur peut choisir d'avoir la démarche la plus protectrice possible, c'est-à-dire d'appliquer une marge de sécurité forte afin de ne faire courir aucun risque au consommateur. Cependant, cette démarche peut être très limitante en restreignant au maximum la concentration des ingrédients.

Une approche préconisée pour évaluer la sécurité des extraits végétaux est le TTC (*Toxicological Threshold of Concern*) développé la partie 3.2.2.1 (Antignac *et al.*, 2011).

Il est donc nécessaire que des méthodes alternatives soient développées au plus vite et que des méthodologies de recherche de données bibliographiques soient mises en place afin de faciliter l'accès aux données nécessaires pour réaliser un profil toxicologique. La méthodologie développée dans le cadre de cette thèse peut donc non seulement être envisagée comme une aide à l'innovation, mais devrait également permettre de réaliser les profils toxicologiques d'ingrédients déjà existants afin de permettre la réalisation de leur DIP.

5. L'évaluation de la sécurité des extraits végétaux dans les produits cosmétiques : méthodologie et optimisation

5.1. Matériels et méthodes – collecte et organisation des données

Les domaines de la botanique et de la pharmacognosie ont la particularité d'être des domaines ouverts au partage de connaissances. Ainsi, de nombreuses données à travers le monde sont mises en libre accès par des passionnés, des associations ou des institutions. Les premières semaines de mon stage de fin d'études ont notamment contribué à la réalisation d'un document répertoriant et classant le maximum de bases de données (botaniques, toxicologiques, réglementaires...) sur les végétaux. Cette phase de collecte des données a été réalisée en parallèle de leur organisation : Il s'agissait de déterminer pour chaque source de données : de quel type d'information s'agit-il, en quelle quantité (nombre de noms de plantes répertoriés, d'extraits végétaux ou de constituants traités), est-elle en libre accès, à quel moment de l'évaluation faudra-t-il utiliser les informations qu'elle contient ? La réponse à ces questions a permis d'organiser le travail tout au long de ce stage en priorisant les bases de données les plus accessibles et pertinentes pour le projet.

De nombreuses bases de données européennes et mondiales ont été identifiées et analysées. Les données ainsi obtenues sont issues de logiciels, de sites internet, d'ouvrages ou d'institutions. Le tableau 7 ci-après chiffre le nombre de bases de données trouvées et sélectionnées. Les bases de données et informations choisies sont présentées à la suite et sont classées selon leur utilité dans telle ou telle étape nécessaire à l'évaluation de la sécurité des extraits végétaux.

Tableau 7. Bilan du nombre de bases de données passées en revue et sélectionnées pour le projet, classées en fonction de l'étape d'évaluation des extraits végétaux

Type de base de données Quantité	Identification de la plante	Listes réglementaires/historique d'usage	Données toxicologiques sur les extraits végétaux	Données toxicologiques sur les constituants des extraits végétaux
Nombre de bases de données passées en revue	11	19	22	13
Nombre de bases de données sélectionnées	2	10	12	3

A noter qu'il faut faire la différence entre l'évaluation d'un UVCB (*Unknown or Variable composition, Complex reaction products, or Biological materials*) et celle d'un

extrait purifié monoconstituant : ce travail a pour but d'évaluer la toxicité d'extraits de composition partiellement inconnue et non de constituants isolés de plantes qui ne sont plus considérés comme UVCB mais comme monoconstituants avec une pureté plus ou moins proche de 100%.

5.2. Mise en place d'une méthodologie d'évaluation de la sécurité des extraits végétaux

Comme défini par l'ICCR (*International Cooperation on Cosmetics Regulation*), "L'évaluation de sécurité des ingrédients cosmétiques n'est pas une procédure standardisée, mais devrait être réalisée au cas par cas en utilisant les meilleures données scientifiques disponibles. [...] Elle implique une approche individuelle qui commence par des hypothèses prudentes et qui inclut des approches plus sophistiquées [...]" (ICCR, no date). C'est d'autant plus le cas pour les extraits végétaux compte tenu de leurs caractéristiques particulières.

Il existe de nombreux guides pour évaluer les différents produits mis sur le marché. Les guides proposées par la FDA (*Food and Drug Administration*) et le SCCS (*Scientific Committee on Consumer Safety*) pour évaluer les produits cosmétiques contenant des ingrédients chimiquement bien définis, proposent une méthodologie difficilement applicable aux produits végétaux. Des guides sont également disponibles pour l'évaluation des plantes en alimentaire et en phytothérapie (Antignac *et al.*, 2011). Pour les produits cosmétiques contenant des extraits végétaux, le CIR (*Cosmetic Ingredient Review* : Comité d'experts qui évalue la sécurité des ingrédients cosmétiques) propose un arbre de décision pour l'évaluation de la sécurité des produits cosmétiques d'origine botanique (Cosmetic Ingredient Review, 2012).

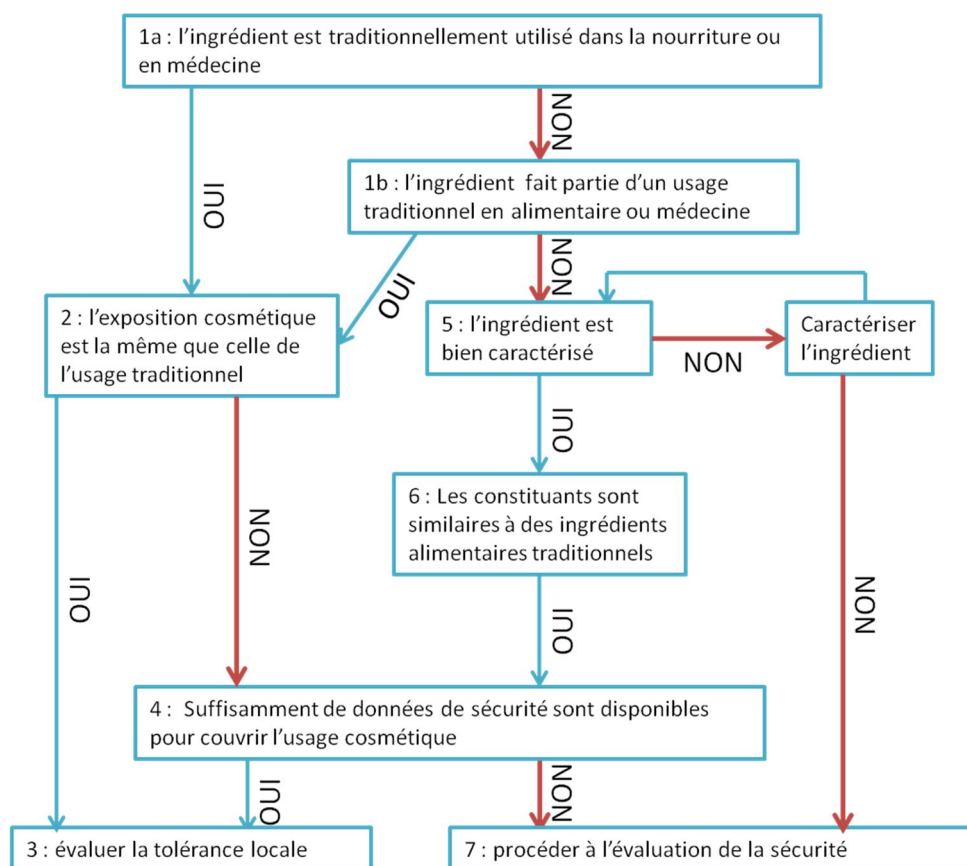


Figure 9. Arbre décisionnel pour l'évaluation de la sécurité des ingrédients cosmétiques d'origine botanique (Cosmetic Ingredient Review, 2012)

Comme vu précédemment, un profil toxicologique des ingrédients des produits cosmétiques est requis par le règlement cosmétique n° 1223/2009. Il est donc important de disposer d'un mode opératoire pour rédiger le profil toxicologique des extraits végétaux. Il n'existe pas d'approche validée pour leur évaluation. Deux approches sont possibles : soit l'ingrédient végétal est évalué dans son ensemble, soit il est évalué en fonction des molécules susceptibles de le composer. En pratique, elles sont réalisées en parallèle. Dans tous les cas, les données fournies spécifiques à l'extrait devront être traitées en priorité. Les données fournisseur requises lors de l'achat d'une matière première, contiennent des spécifications microbiologiques, une fiche de données sécurité (FDS), des données toxicologiques, la composition de la matière première avec la présence ou non d'impuretés ainsi que la liste des allergènes. Au regard de l'interdiction des tests sur les animaux en Europe pour les produits cosmétiques, une étude des données bibliographiques et une extrapolation de ces données à l'extrait évalué est nécessaire si l'industriel souhaite vérifier l'innocuité de son extrait.

L'EFSA (*European Food and Safety Authority*) a élaboré un concept pour l'évaluation des plantes et préparations à base de plantes dans les compléments alimentaires : la présomption de sécurité. En effet, reconnaissant que de plus en plus de craintes émanaient en Europe quant à la sécurité des plantes largement utilisées en alimentaire, l'EFSA a développé un guide qui définit une approche à deux niveaux (European Food Safety Authority, 2014) :

- Niveau A : évaluation de la sécurité sur la base des connaissances disponibles. Cela repose sur le principe que si, au regard de l'évaluateur de la sécurité, suffisamment de données fiables existent, la plante pourra bénéficier au cas par cas d'une « présomption de sécurité », sans avoir à recourir à des tests complémentaires. Pour arriver à cette conclusion, une claire définition de la plante est nécessaire ainsi qu'une mise en évidence d'un historique d'usage sans danger et sans effet indésirable reporté. Cette présomption de sécurité ne pourra bien sûr être établie que si le niveau d'exposition envisagé ne dépasse pas celui reporté sans danger et devra être amplement documentée.

- Niveau B : si les données disponibles ne sont pas jugées suffisantes pour obtenir une évaluation de la sécurité fiable, cette étape prévoit la génération de nouvelles données toxicologiques par l'industriel.

Une partie de cette approche peut être appliquée aux extraits végétaux dans les produits cosmétiques.

La méthodologie proposée dans cette thèse est le fruit de nombreuses concertations lors de mon stage de fin d'études. Elle est propre à l'évaluation de la sécurité des extraits végétaux et réalisée sur la base d'une revue de la littérature et d'un partage d'expérience avec des industriels. Le mode opératoire adopté pour la réalisation du profil toxicologique d'un extrait végétal comporte quatre étapes (figure 10) :

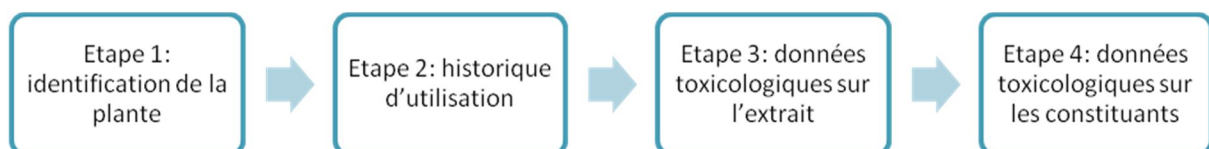


Figure 10. Méthodologie d'évaluation itérative des extraits végétaux

Cette méthodologie consiste tout d'abord à correctement identifier la plante et son extrait afin d'orienter les recherches bibliographiques dans le bon sens. Il s'agit ensuite de

rechercher si la plante a un historique d'utilisation dans d'autres domaines (alimentaire, pharmaceutique), ce qui pourrait permettre, au cas par cas, de présumer de sa sécurité ou de son caractère dangereux. L'étape suivante consiste à rassembler des informations toxicologiques pertinentes le concernant. Enfin si cela s'avère nécessaire (c'est-à-dire que les étapes précédentes ont été peu fructueuses), des données sur les constituants peuvent être recherchées et être ajoutées au profil toxicologique.

La démarche exposée dans cette thèse a pour but d'assister l'évaluateur de la sécurité dans la conclusion sur la toxicité d'un ingrédient cosmétique grâce à une extrapolation des données de la littérature (dans un contexte d'interdiction des tests sur les animaux en Europe pour les produits cosmétiques et dans le but de minimiser le nombre de tests *in vitro* réalisés). La méthodologie proposée a également pour but d'aider à l'innovation cosmétique : suite à la sélection d'un extrait pour son intérêt, la recherche de données sur ce dernier permet d'avoir une vue d'ensemble sur sa toxicité et de savoir s'il est judicieux de poursuivre le développement de ce produit.

5.2.1. Identification de la plante/de l'extrait

Comme pour un ingrédient cosmétique de synthèse, il peut être intéressant d'avoir une vision d'ensemble de l'utilisation de la plante ou de l'extrait en cosmétique en commençant par chercher des informations sur les bases de données internet habituelles utilisées pour l'évaluation de la toxicité des ingrédients cosmétiques « classiques ». Ainsi, il est recommandé de commencer par rechercher des informations dans la base de données *Cosing*, déjà évoquée dans ma première partie (voir figure 2, partie 3) (Commission Européenne, 2012). L'entrée de l'INCI (*International Nomenclature of Cosmetic Ingredients*) (ou du nom botanique si l'INCI est inconnu) de l'extrait dans le moteur de recherche de cette base permet de savoir tout d'abord si cet extrait ou d'autres extraits de cette plante sont déjà utilisés en cosmétique. Si c'est le cas, d'autres informations seront disponibles comme les fonctions en cosmétique de cet extrait, ses numéros CAS ou EC (respectivement numéros d'enregistrement américain ou européen des substances) s'ils existent ainsi que des rapports de certaines instances européennes s'ils sont disponibles. Afin d'obtenir des informations sur le mode d'action, la sécurité, l'usage et la réglementation de l'extrait en question, l'évaluateur peut ensuite lancer une recherche dans la base de données *Cosmetics Info* (voir figure 3 dans la partie 3) (Personal Care Products Council, 2016a).

Avant même de commencer l'évaluation, il est impératif de vérifier que la plante n'est pas soumise à des restrictions ou interdictions réglementaires. Le règlement cosmétique fournit des listes positives et négatives de substances : l'annexe II présente la liste des substances interdites dans les produits cosmétiques et l'annexe III présente la liste des substances restreintes (Commission Européenne, 2014). Normalement ces données sont affichées dans la base de données *Cosing*, mais en l'absence de mises à jour régulières, il convient de consulter manuellement les annexes du règlement cosmétique. Il est également recommandé de vérifier que la plante à partir de laquelle on obtient l'extrait n'appartient pas à la liste de la CITES (Convention sur le commerce international des espèces de faune et de flore sauvages menacées d'extinction) dont j'ai évoqué le fonctionnement dans la partie 4 de cette thèse.

La bonne caractérisation de la plante dont l'extrait est issu est essentielle. Le nom vernaculaire d'une plante n'est pas suffisant étant donné que ce dernier peut prêter à confusion, et qu'il peut varier en fonction des pays et des régions. Une plante est toujours désignée par un binôme en latin, combinant un nom de genre et un nom d'espèce suivis du nom ou diminutif de l'autorité l'ayant décrite. Exemple du laurier sauce : *Laurus nobilis* L. (ce L. correspond à Carl von Linné, qui est le père de cette nomenclature binomiale). Ce nom est éventuellement suivi par un nom de sous-espèce, d'hybride, de variété (var.), de cultivar (cv.). Différentes classifications existent comme la classification de Cronquist (très utilisée mais basée uniquement sur les caractères morphologiques) ou la classification phylogénétique APG IV (*Angiosperm Phylogeny Group*) (pour les angiospermes uniquement, basée sur des critères génétiques). Il existe dans certains cas deux ou plusieurs dénominations latines (synonymes non validés) pour une même plante. Il faut également veiller à obtenir le maximum de renseignements concernant l'origine géographique et les conditions environnementales d'obtention et de production (European Food Safety Authority, 2014).

En guise de rappel, tous les ingrédients cosmétiques sont caractérisés par un nom INCI. Le nom INCI d'un extrait végétal sera, sauf exceptions, construit à partir du nom latin de la plante suivi ou non du type d'extrait. La plupart des documents contenant des informations sur les extraits végétaux (toxicologiques, réglementaires) présentent ces données sous le nom botanique de la plante et non pas sous le nom INCI. Des bases de

données en ligne recensent les noms de plantes, elles listent les noms latins et leurs synonymes en cas de doute lors de la caractérisation de l'extrait à évaluer :

- *The Plant List* : il s'agit d'une collaboration de nombreuses bases de données du monde entier qui disposent aussi de sites internet comme l'IPNI (*the International Plant Name Index*), celles du *Royal Botanical Gardens, Kew and Missouri Botanical Garden* ainsi que des bases de données sud-africaines, australiennes... Le site rassemble 350 699 taxa², cependant sans vraiment de vérification sur l'existence des taxa ni de la conformité de leur nom (Allkin B *et al.*, 2013) ;

- *Catalogue of life*, base de données américaine qui regroupe les noms de 349 839 taxa végétaux (Catalogue of life, 2015).

Une fois la plante caractérisée, il s'agit de correctement identifier l'extrait : de quelle partie de la plante est-il issu, quelle est la technologie qui a été utilisée pour l'obtenir (extraction par solvant, distillation, macération, purification, concentration...) et quels sont les paramètres de ces différentes technologies qui sont susceptibles de modifier la composition finale de l'extrait (exemple : solvant utilisé, température...) (European Food Safety Authority, 2014 ; Antignac *et al.*, 2011).

Le SCCS propose la liste suivante afin d'identifier correctement une substance végétale d'origine naturelle (SCCS, 2015) :

- nom commun ou nom d'usage de la plante,
- nom de la variété, de l'espèce, du genre et de la famille, si plus d'une variété de la même espèce est utilisée, chacune doit être précisée,
- évaluation organoleptique, macroscopique, microscopique,
- descriptions morphologique et anatomique et une photographie de la plante utilisée,
- l'habitat naturel et la distribution géographique de la plante,
- les sources actuelles de cette plante incluant la localisation géographique et si la plante a été cultivée ou est sauvage,
- la description : du processus de préparation : collecte, lavage, séchage, extraction, distillation, distillation destructive, purification, procédures de conservation..., du transport, manipulation, stockage, de la forme commerciale : poudre, solution, suspension..., des éléments caractéristiques de la composition : identification des composants caractéristiques,

² Taxon (pl. taxa): « unité quelconque (genre, famille, espèce...) des classifications des êtres vivants »

des composants toxiques (%). Lors de la caractérisation analytique de la substance, si l'extrait ou l'ingrédient est connu de par son origine ou processus de fabrication pour contenir un constituant à risque, l'industriel peut le rechercher et le doser.

- spécifications physico-chimiques,
- qualité microbiologique incluant les principales levures,
- autre contamination externe,
- conservateurs et autres additifs ajoutés.

Une fois toutes ces données collectées, l'évaluateur peut s'assurer de la matière première dont est issu l'extrait ainsi que de l'innocuité vis-à-vis de sa provenance (pesticides, métaux lourds...).

5.2.2. Historique d'utilisation

Les plantes nouvellement utilisées en cosmétique peuvent l'avoir été précédemment dans d'autres secteurs (alimentaire, pharmaceutique...). Lorsqu'un usage bien établi ou traditionnel a été reconnu (composition, niveau d'exposition), il pourra être assumé qu'à la posologie usuelle ou à la dose d'utilisation traditionnelle, aucun risque n'est attendu, de par le long historique d'utilisation de la plante (Cosmetic Ingredient Review, 2012). Au cas par cas, et en l'absence de données toxicologiques, l'historique d'utilisation pourra être une information utile pour conclure sur la toxicité systémique, la génotoxicité, la carcinogénicité ou la tératogénicité. Ces données ne sont utilisées pour conclure sur la sécurité que si elles sont jugées suffisamment robustes. Cependant, à moins d'un historique d'utilisation topique, ces données permettent rarement de présumer de l'absence de toxicité locale (irritation cutanée, oculaire, sensibilisation, phototoxicité). Ce type de donnée permet également (même sans parvenir à une conclusion) d'avoir une idée du contexte dans lequel cette plante est utilisée et renseigne sur les bases de données dans lesquelles on pourra éventuellement trouver des données. Le tableau 8 ci-dessous présente les réglementations et les informations les plus intéressantes et pertinentes pour l'évaluation des extraits végétaux.

Tableau 8. Sélection des réglementations et informations pertinentes pour l'historique d'utilisation : données issu des domaines Cosmétiques (1), Alimentaires (2), Pharmaceutiques (3)

Source	Description
Cosmetics info (USA) (1)	Si l'extrait à évaluer est disponible dans cette base, l'évaluateur pourra avoir des informations sur le mode d'action, la sécurité, l'usage et la réglementation de cet extrait. Cela donne une idée des données disponibles sur l'extrait http://www.cosmeticsinfo.org/ (Personal Care Products Council, 2016b)
FDA Gras list (USA) (2)	Un panel d'experts de la FDA (food and drug administration) établit une liste des substances ou extraits ajoutés aux aliments qui sont considérés comme sans danger (<i>Generally recognized as safe</i>) https://www.fda.gov/food/ingredientspackaginglabeling/gras/ (FDA Gras List; 2017)
EFSA (Europe) (2)	L'EFSA a publié deux compendium listant des plantes qui ont été reportées comme contenant des substances avec un danger potentiel pour la santé humaine quand elles étaient utilisées dans de la nourriture ou dans des compléments alimentaires. "Compendium of botanicals reported to contain naturally occurring substances of possible concern for human health when used in food and food supplement" Depuis le 5 juillet 2016, il existe une version améliorée sous forme de base de données en ligne: y accéder par ce lien : https://www.efsa.europa.eu/fr/press/news/160705 (EFSA, 2012)
Compléments alimentaires arrêté du 24 juin 2014 (France) (2)	Etablit la liste des plantes, autres que les champignons, autorisées dans les compléments alimentaires et les conditions de leur emploi (Legifrance, 2014)
Plantes en vente libre : décret n°2008-841 (France) (3)	Liste comportant 148 plantes médicinales pouvant être vendues au public hors du circuit pharmaceutique (Legifrance, 2008)
ANSM: pharmacopée listes A et B (France) (3)	L'ANSM (Agence Nationale de la Santé et du Médicament) a publié deux listes concernant la pharmacopée française : Liste A : Plantes médicinales utilisées traditionnellement (ANSM, 2016) Liste B : Plantes médicinales utilisées traditionnellement en l'état ou sous forme de préparation dont les effets indésirables potentiels sont supérieurs au bénéfice attendu (ANSM, 2016b)
Monographies de l'OMS (Monde) (3)	Regroupe les monographies réalisées par les experts de l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) sur les plantes utilisées dans le monde entier en médecine traditionnelle (WHO, 2002)
EMA (Europe) (3)	Le <i>Committee on herbal medicinal products</i> de l'EMA (<i>European Medical Agency</i>) a publié des monographies portant sur l'usage de plantes médicinales à des fins thérapeutiques (EMA, 2017)
ESCOPE (Europe) (3)	L'ESCOPE (<i>European scientific Cooperative on Phytotherapy</i>) est un comité scientifique composé d'experts issus des pays membres Européens qui compte des médecins, des phytothérapeutes, des spécialistes de la pharmacognosie, de la pharmacologie et de la réglementation. Ce comité a publié un livre dans lequel figure des monographies sur l'utilisation thérapeutique des médicaments végétaux (ESCOPE, 2017)
German Commission « E Monographs » (Allemagne) (3)	Monographies allemandes phytothérapeutiques (German Commission, 2017)

Ces informations sont sous forme de listes de noms qui présentent des plantes qui ont un long historique d'utilisation et leurs précautions d'emploi, parfois des doses maximales journalières... Ces données permettent au cas par cas de présumer de la sécurité d'un extrait végétal, notamment pour la sécurité systémique en l'absence d'autres données toxicologiques plus robustes.

5.2.3. Données toxicologiques sur l'extrait

En cosmétique, et ce, à juste titre, un accent particulier est mis sur l'évaluation de la toxicité locale (irritation et corrosion cutanée et oculaire), de la sensibilisation cutanée et, en cas d'absorption UV, de la toxicité photo-induite (phototoxicité). Il est cependant inconcevable de négliger le passage transcutané d'un produit cosmétique appliqué sur la peau. Par exemple on peut avoir le cas d'un ingrédient dans une lotion pour le visage (tout particulièrement s'il est lipophile) qui peut migrer à travers la couche supérieure de la peau jusque dans le derme qui contient du tissu gras et des petits vaisseaux sanguins. A ce stade, cet ingrédient peut facilement pénétrer dans un de ces vaisseaux, rejoindre la circulation sanguine et avoir un effet systémique (Mone, 2014). Ainsi, des données sur la toxicité systémique sont également requises. Il doit découler de ces études une NOAEL (*No Observed Adverse Effects Level* : dose sans effet nocif observé) qui permettra par la suite de calculer le risque de la substance (SCCS 2015 ; Nohynek et al. 2010). Les informations toxicologiques nécessaires pour réaliser un profil toxicologique en accord avec le point A.8 de l'annexe I du règlement cosmétique n° 1223/2009 (Commission Européenne, 2014) ainsi que les méthodes validées pour les réaliser sont listées dans le tableau 5 dans la partie 3 de cette thèse (Kandárová and Letašiová, 2011).

Un profil toxicologique doit être rédigé pour chaque ingrédient cosmétique. Pour rappel, ce profil consiste à rassembler des informations pertinentes sur chaque « *endpoint* » requis par le règlement cosmétique afin de déterminer les dangers de la substance. Les données spécifiques apportées par le fournisseur de matière première sont à traiter en priorité car elles correspondent exactement à l'extrait à évaluer. Pour pouvoir être suffisamment robustes, les tests doivent dans la mesure du possible avoir été réalisés selon les lignes directrices de l'OCDE ou autres protocoles validés et doivent respecter les GLP (*Good Laboratory Practice*).

Si les données sont robustes et suffisantes pour l'*endpoint* en question, des recherches complémentaires dans la bibliographie ne s'avèrent pas nécessaires. Si l'évaluateur le juge nécessaire, des recherches bibliographiques de données sur le profil toxicologique de l'extrait devront être réalisées. Cependant, les données toxicologiques sur un extrait en particulier sont généralement rares et réparties dans divers ouvrages et sites internet.

Le tableau 9 ci-dessous présente la sélection des bases de données généralement utilisées pour la rédaction du profil toxicologique des extraits végétaux. Il faudra justifier l'utilisation de données issues de la littérature dans la mesure où chaque extrait est différent (justifier pourquoi l'extrapolation a semblé réalisable). De nombreuses données sur les extraits végétaux existent, elles sont sous la forme de livres, de monographies en format PDF, de pages internet... Ces sources de données ont été priorisées en fonction de la facilité de les exploiter : ont été sélectionnées en priorité les monographies en format PDF, libres d'accès et issues d'instances reconnues donc fiables.

Tableau 9. Sélection des bases de données pour la rédaction du profil toxicologique des extraits végétaux

Nom	Description
Rapports du CIR (USA)	Il s'agit d'évaluations de la sécurité des ingrédients cosmétiques par des experts. Le CIR (<i>Cosmetic Ingredient Review</i>) émet notamment des avis sur la sécurité d'emploi de plantes, extraits de plantes ou huiles essentielles, conseille sur des concentrations maximales d'utilisation dans les cosmétiques. Pour des extraits communément utilisés, c'est la base qui fournit le plus d'informations (CIR, 2017).
Opinions du SCCS (Europe)	Le SCCS (<i>Scientific Committee on Consumer Safety</i>) aborde via ces opinions, les questions relatives à la sécurité sur la santé humaine des produits de consommation non alimentaires tels que les cosmétiques, les jouets, les vêtements et les textiles, les produits de soins personnels et des services de consommation (par exemple : tatouage). Des rapports concernant l'utilisation de certaines molécules en cosmétiques sont à disposition de l'évaluateur de la sécurité. Cependant, peu d'extraits végétaux sont évalués (SCCS, 2017).
Guides du conseil de l'Europe (Europe)	Les experts du Conseil de l'Europe fournissent des fiches sur la sécurité d'emploi des plantes et des préparations à base de plantes utilisées comme ingrédients dans les produits cosmétiques. Ils rédigent également des monographies sur des substances actives présentes dans les plantes pour lesquelles aucune réglementation spécifique n'existe. Ci-dessous les ouvrages existants : <ul style="list-style-type: none"> ○ <i>Safety survey on active ingredients used in cosmetics</i> (Council of Europe, 2008)

	<ul style="list-style-type: none"> ○ <i>Plants in cosmetics</i> : <ul style="list-style-type: none"> ○ volume I: <i>plants and plant preparations used as ingredients for cosmetic products</i> (Franco and Silano, 2002) ○ volume II : <i>Plants and Plant Preparations Used as Ingredients for Cosmetic Products</i> (Anton, Patri and Silano, 2001) ○ volume III: <i>potentially harmful components</i> (Council of Europe, 2006)
Bruneton : Plantes toxiques (France)	« Plantes toxiques (3 ^e Éd.) : Végétaux dangereux pour l'homme et les animaux. Volume II : monographies de plantes dangereuses » (Bruneton, 2005)
BHMA (UK)	Le BHMA (<i>British Herbal Medicine Association</i>) publie le <i>British Herbal Compendium</i> , livre en 2 volumes : rassemblant les monographies (résumé des constituants et des propriétés) de 84 plantes (British Herbal Medicine Association, 1992, 2006).
Maria-Lys Balchin: Aromatherapy science: A guide for healthcare professional.	Il s'agit d'un livre thématique sur l'aromathérapie regroupant 68 monographies d'huiles essentielles avec des données sur leur usage, leur toxicité, leur bioactivité, contre-indications et études cliniques (Lis-Balchin, 2006).
Vidal (France)	L'ouvrage édité par Vidal : « Phytothérapie : la santé par les plantes », propose des monographies de plantes médicinales et de leurs usages thérapeutiques : partie de plante utilisée et formes galéniques, toxicité et posologie (Vidal, 2010).
Third Edition of Leung's Encyclopedia of Common Natural Ingredients used in Food, Drugs, and Cosmetics	Cet ouvrage fournit des données sur la composition, la toxicologie, l'usage, la pharmacologie et la biologie de 300 extraits végétaux (Khan and Abourashed, 2010).
Monographies de l'OMS (Monde)	Ce sont des monographies réalisées par les experts de l'OMS (Organisation Mondiale pour la Santé) sur les plantes utilisées dans le monde entier en médecine traditionnelle (WHO, 1999a, 1999b, 2002, 2009).
EMA (Europe)	Le <i>Committee on herbal medicinal products</i> de l'EMA (<i>European Medical Agency</i>) a publié des monographies portant sur l'usage de plantes médicinales à des fins thérapeutiques (EMA, 2017).
AHPA (USA)	Association d'industriels fabriquant des produits à base de plante, l'AHPA (<i>American Herbal Product Association</i>) a publié le « <i>botanical safety handbook</i> » qui contient des informations de sécurité sur plus de 500 espèces de plantes (AHPA, 2013).
EFSA	Les compendiums de l'EFSA mentionnés plus haut ont été mis sous forme de base de données accessible par internet. Il s'agit d'une base de données très complète, avec, pour chaque plante : des données toxicologiques, des données sur la composition. Egalement disponible, une recherche à partir des constituants. Y accéder par ce lien : https://www.efsa.europa.eu/fr/press/news/160705 Cette base de données permet d'avoir un lien entre une plante/partie de plante et les constituants qui ont été retrouvés et effets indésirables reporté sur la plante ou ses constituants en particulier.

On trouve dans ce tableau des noms de bases de données déjà citées dans le tableau 8. En effet, elles présentent des données toxicologiques intéressantes en cosmétique en plus des données sur l'historique d'utilisation des plantes.

D'autres bases de données plus générales peuvent être utilisées. Parfois une simple recherche du nom de l'extrait dans un moteur de recherche classique apportera des informations intéressantes. Des moteurs de recherche de publications scientifiques plus ou moins axés sur la toxicologie peuvent également être utilisés tels que *Toxnet* (U.S. National Library of Medicine, no date b), *NTP (National Toxicology Program)* (U.S. Department of Health and Human Services, no date), *PubMed* (U.S. National Library of Medicine, no date a), *NICNAS* (Australian government, no date)... Ces bases de données ont été précédemment décrites dans ma troisième partie.

5.2.4. Données toxicologiques sur les constituants de l'extrait

Les constituants chimiques végétaux sont issus des métabolismes (primaire et secondaire) de la plante. Près de 40 000 structures sont répertoriées. Elles sont classées en groupes de molécules présentant des similarités. Cette classification est notamment basée sur des considérations structurales (groupes fonctionnels en commun...). Le métabolisme primaire aboutit à des constituants permettant la croissance, le développement comme les glucides, les acides aminés, les protéines et les lipides. Le métabolisme secondaire produit des constituants qui aident la plante à augmenter sa capacité de survie et à surmonter les agressions locales en lui permettant d'interagir avec son environnement. Les molécules bioactives sont principalement issues du métabolisme secondaire (Taiz *et al.*, 2010).

Des substances appartenant à un même groupe sont susceptibles d'avoir des caractéristiques similaires : physico-chimique, toxicologique, biologique, écotoxicologique.

On pourrait s'attendre à voir des plantes proches dans leur taxonomie (« généalogie ») posséder une composition similaire. Cependant, ce n'est pas le cas. En effet, à un moment de l'Evolution, une plante peut avoir développé un métabolite toxique (pour se défendre par exemple) que des proches parents n'auront pas. Ainsi, deux taxa phylogénétiquement proches peuvent avoir des compositions analogues comme totalement différentes. On ne peut donc pas extrapoler la composition de plantes taxonomiquement proches.

Dans le cadre de l'évaluation des dangers d'un extrait végétal, des données sur les constituants sont recherchées si suffisamment peu d'informations sont disponibles sur l'extrait ou bien s'il a été identifié une alerte sur un constituant préoccupant potentiellement présent dans l'extrait à évaluer. Cette étape est rarement réalisée (ou réalisée en complément de l'étape précédente) du fait de la complexité à trouver des informations sur ces constituants ainsi que la problématique de l'extrapolation de la toxicité de plusieurs constituants à celui du mélange (effets synergiques, agonistes, antagonistes...). Grâce aux données de la littérature, on pourra cependant déterminer de quels types de constituants (ou familles de constituants) est constituée la plante et également identifier des constituants préoccupants (CMR, sensibilisants) si disponibles. Une caractérisation analytique de l'extrait peut être réalisée afin d'obtenir un aperçu des constituants majoritaires, de valider l'absence de substances toxiques, d'allergènes, de résidus de pesticides, de métaux lourds, de solvants résiduels (impuretés)... Ainsi la constitution de l'extrait peut être connue et une recherche bibliographique pourra être réalisée sur les constituants principaux.

Certains constituants disposent en effet de données toxicologiques dans la littérature permettant d'évaluer le risque systémique (NOAEL...), il existe des valeurs seuil (normes, réglementations, avis d'experts...). Certains constituants sont connus pour leurs effets sensibilisants ou irritants. Si aucune donnée n'est disponible sur le constituant présent dans l'extrait à évaluer, une approche *read-across* peut être envisagée à partir des données disponibles sur le groupe de molécules similaires ou encore l'utilisation du TTC peut être préconisée (Antignac *et al.*, 2011).

Certains constituants de plantes sont interdits ou restreints dans les produits cosmétiques. La collecte de données sur les constituants de l'extrait consiste donc tout d'abord à répertorier ceux qui sont soumis à des restrictions réglementaires et à vérifier s'ils sont susceptibles d'être présents dans l'extrait à évaluer. Par exemple, les furanocoumarines ont un pouvoir phototoxiques (opinion du SCCS (Commission Européenne, 2005)) et sont par conséquent interdites dans les produits cosmétiques selon l'annexe II du règlement cosmétique n° 1223/2009. Il existe également des limites de concentrations pour certains constituants : en effet, les terpènes (comme le camphre, le menthol, l'eucalyptol) sont autorisés dans les cosmétiques mais en dessous d'une certaine concentration, fixée par l'annexe III du règlement cosmétique n° 1223/2009. D'autres instances peuvent proposer

des recommandations, c'est par exemple le cas de l'AFSSAPS (Desmares and Laurent, 2008) qui préconise d'interdire l'utilisation de ces terpènes dans des produits à destination d'enfants de moins de trois ans et de limiter leur présence dans les produits pour les enfants de 3 à 6 ans.

Le RIFM (*Research Institute for Fragrance Materials*) est une association d'industriels du parfum qui génère et évalue des données scientifiques sur l'évaluation de la sécurité des ingrédients de parfums trouvés dans les produits de beauté et de soin. Il s'agit de la plus exhaustive des bases de données sur les constituants de parfums (plus de 5000). Or, les constituants de parfums sont souvent issus de substances végétales. Cette base de données n'est accessible que sous souscription annuelle payante. Cependant, le RIFM laisse certaines de ses évaluations de la sécurité de constituants de parfums très communément utilisés en libre accès.

Une autre base de données traite des constituants d'extraits végétaux. Il s'agit des bases de données phytochimique et ethnobotanique du docteur Duke (« *Duke's phytochemical and ethnobotanical databases* »). James Duke est un botaniste américain qui a publié de nombreux ouvrages sur la médecine botanique et la phytochimie et qui a rassemblé ses connaissances dans une base de données très complète et libre d'accès. Cette base de données a l'avantage commode de lier : les noms botaniques de plantes avec les constituants principaux retrouvés dans ces plantes ainsi que leur activité biologique et leur éventuelle toxicité.

L'EFSA dispose également depuis juillet 2016 d'un site internet répertoriant les constituants des extraits végétaux, leur toxicité, et dans quelles plantes ils sont présents.

Des données sur les constituants sont également disponibles dans certaines bases déjà citées précédemment dans le tableau 9. Il convient, lors de la réalisation du profil toxicologique de collecter le maximum de données pouvant servir à établir quels sont les dangers de l'extrait.

Il faudra, comme lors de la recherche de données toxicologiques sur l'extrait penser en plus à rechercher dans des moteurs de recherche bibliographiques cités précédemment.

L'obtention de données sur les constituants de l'extrait permet d'avoir une vision plus complète des dangers de l'extrait afin de rendre la conclusion plus pertinente.

5.2.5. Evaluation et gestion du risque

Le profil toxicologique de l'extrait permet de caractériser le danger de l'extrait. Toutes les voies d'absorption toxicologiques importantes sont examinées : cutanée, orale (dans le cas de sticks à lèvres par exemple), par inhalation (dans le cas d'aérosols), ou oculaire (dans le cas d'un produit appliqué autour des yeux).

Si la recherche bibliographique menée a permis de mettre en évidence une NOAEL issue d'études robustes, l'évaluateur, après avoir calculé la dose d'exposition systémique (SED) pourra en déduire la marge de sécurité (MOS) et par conséquent conclure quant à la sécurité de son extrait à l'aide de la formule : $MOS = NOAEL/SED$. Si ce rapport est supérieur à 100, l'extrait pourra être considéré comme sûr pour la santé humaine (SCCS, 2015 ; Nohynek *et al.*, 2010).

Les données sur l'exposition aux produits cosmétiques sont retrouvées dans le guide du *Scientific Committee on Consumer Safety* (SCCS, 2015) qui propose des niveaux d'exposition pour chaque type de produit cosmétique (voir tableau 4, partie 3).

Si aucune NOAEL ne ressort de la recherche bibliographique, et si certains constituants de cet extrait s'avèrent préoccupants, une approche TTC pourra être utilisée par défaut. Cette approche nécessite d'avoir les concentrations des constituants dans l'extrait. Le TTC est pour rappel un concept qui est basé sur l'hypothèse que des seuils d'exposition sûrs pour l'Homme peuvent être identifiés pour des substances, sans déterminer leur profil toxicologique, en estimant leur toxicité sur la base de similarités structurales avec des substances connues (Kroes *et al.*, 2007). Si l'exposition à ce constituant est inférieure à ces seuils théoriques, le risque peut être considéré comme négligeable et acceptable.

Enfin, en dernier recours, si l'évaluateur ne dispose pas d'études lui permettant de sélectionner une NOAEL, il peut conclure au cas par cas sur la base de données qualitatives, en utilisant les autres sources de données sur cet extrait, par exemple l'historique d'utilisation en alimentaire ou en médecine : lorsqu'un usage bien établi ou traditionnel a été reconnu (composition, niveau d'exposition), il pourra être établi qu'à la posologie usuelle ou à la dose d'utilisation traditionnelle, aucun risque n'est attendu au niveau systémique, de par le long historique d'utilisation de la plante. Il s'agit du principe de présomption de

sécurité (SCCS, 2015). Cette démarche devra être dûment étayée et justifiée. Elle n'est pas applicable dans tous les cas. Il faut garder en tête le fait que des plantes utilisées traditionnellement par des populations adaptées peuvent être toxiques pour d'autres communautés. Si les données ne sont pas suffisamment robustes ou si un doute persiste, par principe de précaution, l'ingrédient cosmétique ne peut pas être considéré comme ne présentant pas de danger pour la santé humaine. Si l'ingrédient cosmétique doit être enregistré sous REACH, pour un autre usage que celui cosmétique ou expose des travailleurs, dans ce cas, des tests peuvent être générés (voir annexe 2). Dans le cas où aucun autre usage que celui cosmétique n'est reporté, aucun test sur animaux (attestant des effets systémiques) ne pourra être réalisé et l'ingrédient ne pourra pas être introduit de manière sûre dans un produit cosmétique.

Si aucune donnée toxicologique sur l'usage n'est disponible – ce qui peut être le cas, car dans une optique d'innovation les industriels peuvent aller chercher des plantes tout à fait méconnues – ou si l'évaluateur juge la présomption de sécurité insuffisante, des tests ou des dosages complémentaires pourront toutefois s'avérer nécessaires. C'est également le cas si la plante choisie ou le mode de préparation de l'extrait semblent pouvoir être l'origine de la présence de constituants préoccupants.

En cas d'une substance ou d'un constituant particulièrement préoccupant, il est également possible de mettre en place des mesures de gestion du risque par exemple en diminuant la concentration, en excluant un type de population (ne pas mettre l'allégation « peaux sensibles » en cas de produit potentiellement irritant par exemple...), en préconisant un rinçage du produit après utilisation, en baissant la fréquence d'utilisation...

5.3. Optimisation de l'évaluation des extraits végétaux via un logiciel : le projet SeVe

EcoMundo est l'entreprise qui m'a accueillie pour mon stage de fin d'études. Il s'agit d'une PME dont l'objectif principal est de proposer un accompagnement dans la mise en conformité réglementaire des produits de ses clients : Réglementation cosmétique, Réglementation REACH, Réglementation CLP (*Classification, Labelling, Packaging*), Réglementation biocides... Pour ce faire, EcoMundo a mis en place son propre service informatique interne et par conséquent la création de plusieurs logiciels dont les différents modules permettent de répondre aux exigences réglementaires. *Cosmetic Factory*

(EcoMundo, 2014) est un outil informatique d'évaluation et de décision permettant à l'industriel de gagner en temps et en efficacité dans la rédaction du DIP de son produit cosmétique. Le logiciel a pour objectif de gérer dans le temps la conformité réglementaire d'un produit cosmétique pour sa mise sur le marché. Cet outil permet de connaître les propriétés des substances et les réglementations qui les impactent afin de garantir la sécurité des produits et leur conformité réglementaire aux consommateurs et aux autorités compétentes. La gestion des extraits végétaux étant différente des ingrédients cosmétiques classiques, elle reste problématique, c'est dans ce cadre que le projet SeVe (EcoMundo, no date) a vu le jour. L'inclusion de ces ingrédients complexes dans les produits cosmétiques est associée à des difficultés dans l'évaluation de la sécurité du produit et dans la réalisation du DIP conforme au règlement cosmétique. L'évaluation de la sécurité des extraits végétaux en cosmétique est réalisable « manuellement » mais fastidieuse, impliquant un important travail de bibliographie et une bonne connaissance des multiples sources de données dédiées. L'évaluation de la sécurité des extraits végétaux peut donc être optimisée.

SeVe est un projet dont le but principal est d'optimiser l'évaluation de la sécurité des extraits végétaux dans les produits cosmétiques. Dans un deuxième temps, le logiciel pourra également se prêter à l'évaluation d'extraits végétaux dans d'autres types de produits. La réalisation de ce projet consiste tout d'abord à élaborer une base de données la plus exhaustive possible sur les noms botaniques des plantes existantes, les constituants ainsi qu'à collecter des données toxicologiques, les réglementations spécifiques ainsi que les historiques d'utilisation. En second lieu, ces données seront organisées dans un logiciel avec diverses fonctionnalités permettant d'extrapoler des données pour des extraits végétaux pour lesquels peu ou pas de données spécifiques du fournisseur sont disponibles. Ce logiciel sera une aide à l'évaluateur pour conclure quant à la sécurité de ses extraits végétaux et permettra aussi d'accompagner l'innovation en cosmétique par la recherche de nouveaux actifs.

D'autres projets visant à faciliter l'évaluation de la sécurité des extraits végétaux voient le jour. NCS-TOX (UNITIS, 2013) est un projet qui vise à réaliser un inventaire des constituants chimiques de plantes et à définir leurs profils toxicologiques (à l'aide de données bibliographiques et de modèles *in silico* (QSAR par exemple)) pour réaliser le profil toxicologique de la plante en fonction de sa composition. Ce projet se base sur le postulat qu'il existe un nombre restreint de voies de biosynthèses chez les plantes et donc un nombre

restreint de substances, retrouvées dans les plantes dans des combinaisons et concentrations variées. Après une analyse de la composition de l'extrait, la plupart des constituants identifiés, cette démarche permettra de conclure quant à la toxicité de l'extrait à partir des constituants qui le composent. Le projet SeVe est lui une démarche bibliographique, et propose de rassembler un maximum de données disponibles pour élaborer un outil qui permettra d'orienter et d'aider l'évaluateur dans sa démarche d'évaluation de la sécurité de l'extrait. Depuis ses débuts, SeVe se veut être un projet ouvert et participatif. Il a d'ailleurs été publiquement présenté le 18 novembre 2015 lors du Congrès Parfums & Cosmétiques – Enjeux réglementaires de la *Cosmetic Valley* à Chartres en partenariat avec le laboratoire de produits cosmétiques Nuxe. Suite à de nombreuses concertations avec des industriels du domaine, SeVe a été élaboré en accord avec le concept de l'EFSA pour l'évaluation des plantes et préparations à base de plantes dans les compléments alimentaires : la présomption de sécurité. La démarche en quatre étapes exposée plus haut sera une base pour le fonctionnement de ce logiciel. L'évaluateur pourrait évaluer son extrait de manière itérative grâce aux données présentées au fur et à mesure par le logiciel.

La première étape consiste donc à bien identifier la plante et l'extrait à évaluer. La plupart des documents recensés dans cette thèse contenant des informations intéressantes utilisent les noms botaniques et non les noms INCI. Sauf exception, le nom INCI de l'extrait végétal contient systématiquement le nom botanique de la plante dont il est issu (exemples : *Acacia catechu* seed extract, *Echinacea purpurea* root extract...). Pour le bon fonctionnement du logiciel, il fallait permettre un lien informatique entre le nom botanique et le nom INCI de l'extrait. A cet effet, il était nécessaire d'avoir des listes quasi-exhaustives de noms de plantes (c'est-à-dire une liste qui contiendrait toutes les plantes déjà utilisées en cosmétiques et celles qui pourront l'être dans l'avenir) afin d'avoir les noms botaniques validés et leurs synonymes. Une fois ce lien créé, tous les documents liés au nom botanique contenu dans le nom INCI vont pouvoir être mis à disposition de l'évaluateur.

L'entrée du nom INCI dans le moteur de recherche du logiciel donnerait accès à une fiche matière première optimisée pour les extraits végétaux, présentant des informations remplies automatiquement par le logiciel comme le nom botanique, le nom de genre et d'espèce et permettant de rentrer manuellement différentes autres données sur la plante et l'extrait : par exemple, le pays de culture et de récolte, s'il s'agit d'une plante sauvage ou

cultivée, quelles sont les conditions de culture, quel est le moment de récolte (saison et stade de croissance de la plante), les conditions de stockage, puis la partie de plante choisie, le type d'extrait et le mode d'obtention de cet extrait avec les différents paramètres influant sur sa composition. Les informations présentées dans cette fiche matière première seront reprises dans les étapes suivantes afin de réaliser une recherche la plus pertinente de données toxicologiques ou sur l'usage.

Toutes les informations concernant les extraits végétaux (monographies en format PDF, bases de données internet, listes de plantes...) ont été téléchargées dans un même document Excel lors de mon stage, dans le but final de les importer dans la base de données du logiciel.

Suite à des discussions avec l'équipe informatique, il semblait laborieux d'extraire des données de manière systématique à partir de PDF. Nous avons donc envisagé d'importer toutes ces monographies en base et de structurer le logiciel de manière à ce qu'elles soient présentées au bon moment à l'évaluateur pour que ce dernier puisse sélectionner l'information qui l'intéresse et l'insérer dans son profil toxicologique via un copier/coller. Un moteur de recherche avancé permettrait de rechercher le plus précisément possible dans tous les PDF importés en base des informations sur l'extrait à évaluer. Ce genre de moteur est appelé moteur de recherche en texte intégral (« *full text* ») et consiste à examiner tous les mots de chaque document enregistré et à essayer de les faire correspondre à ceux fournis par l'utilisateur. Cet outil de recherche perfectionné pourra retrouver les documents présentant des données sur la même plante, la même partie de plante, extraite de la même manière que l'extrait à évaluer.

Le projet SeVe tel que présenté au départ proposait la possibilité de déterminer, à partir des données sur les extraits végétaux similaires (déterminés grâce à un score de similarité) et la polarité du solvant, la présence ou non de certains constituants végétaux dans l'extrait à évaluer via un score de probabilité d'extraction. Lors d'une recherche bibliographique, il est en effet nécessaire de hiérarchiser les données en fonction de leur pertinence. Les données toxicologiques spécifiques étant généralement rares pour les extraits végétaux, la réalisation d'un score de similarité entre les extraits d'une même plante pouvait permettre, si l'évaluateur le jugeait correct d'extrapoler des données.

Le premier score proposé permettait de déterminer la similarité entre extraits végétaux, afin de savoir si l'extrapolation des données était pertinente. Ce score était réalisé

sur des extraits de mêmes plantes (de même nom botanique), avec un point accordé si la partie de plante était la même, un point si le mode d'extraction était le même et un troisième point si le solvant était le même. Un score de similarité de 3 était donc le maximum et correspond à deux extraits « similaires » issus d'une même partie de plante, extraits de la même manière.

Le score de probabilité d'extraction était basé sur la polarité du solvant et des substances extraites : il s'agissait de trouver quels constituants contient la plante d'où est issu l'extrait ; puis de regarder quelle est la polarité de ces constituants et du solvant choisi pour l'extraction. Un solvant polaire entraîne des constituants polaires et inversement. Un simple calcul aurait permis l'obtention de la probabilité entre 0 et 1 que ce constituant soit dans l'extrait. Ainsi, grâce à ce score, l'évaluateur peut savoir si son extrait est plus ou moins susceptible de contenir tel ou tel constituant. Même si la probabilité que le constituant soit dans l'extrait est très faible, si ce dernier est préoccupant, l'évaluateur peut choisir de l'inclure dans son profil toxicologique dans une démarche conservatrice. Ces scores fonctionnent uniquement pour les extractions par solvant. Or comme l'avons vu dans la partie 4 de cette thèse, de nombreuses autres techniques d'extraction existent, avec d'autres paramètres (comme la température, la pression, la durée de l'extraction...) pouvant faire varier la composition de l'extrait final. Il nous a semblé très ardu de générer un score pour chacun de ces paramètres et encore plus complexe de gérer le cas où plusieurs paramètres auraient une influence. Il est donc délicat d'appliquer ces scores à d'autres types d'extraits que ceux par solvant. C'est pourquoi ils ont été transformés au cours du projet en moteur de recherche élaboré, permettant de retrouver des documents en fonction de leur pertinence.

Une fois la plante et l'extrait caractérisés grâce à la fiche matière première décrite plus haut, le logiciel, grâce à un moteur de recherche poussé présente à l'évaluateur les informations concernant l'historique d'utilisation, la toxicologie de l'extrait et celle des constituants susceptibles d'être présents dans cet extrait et leurs toxicités respectives. Pour ce faire, les données rentrées dans la fiche matière première seront utilisées pour faire une recherche bibliographique sur l'extrait le plus proche possible. Ainsi, lors de la rédaction de son profil toxicologique, l'évaluateur se verra proposer les différents documents susceptibles de contenir l'information qu'il recherche. SeVe permettrait également, grâce à sa base de données complète, d'émettre une alerte sur telle ou telle plante si cette dernière est connue

pour contenir un constituant soumis à une restriction réglementaire ou à une recommandation de grandes instances (Annexes règlement cosmétique, SCCS, ANSM...) ou si ces constituants présentent une menace pour la santé humaine (Classification CLP, Classe de Cramer, potentiels génotoxiques, irritants, sensibilisants...). Ces alertes peuvent être soit automatiques (provenant du logiciel), soit provenir de l'utilisateur qui choisit d'insérer tel ou tel constituant dont il soupçonne la présence dans son extrait car il le sait dangereux.

SeVe est toujours en cours de développement au sein d'EcoMundo. Il prendra la forme d'un module du logiciel *Cosmetic Factory* et permettra de gérer l'évaluation de la sécurité des extraits végétaux complexes au sein de ce logiciel en générant un profil toxicologique récapitulant les informations sur l'extrait végétal. Cet outil logiciel permettrait à l'évaluateur, sans se substituer à son opinion, d'être guidé dans une évaluation optimisée de la sécurité de son extrait végétal en se voyant proposer, étape par étape les éléments adéquats dont il pourrait avoir besoin pour arriver à rédiger une conclusion quant à la sécurité de son extrait. Il s'agit d'une aide à la décision du toxicologue avec pour but de proposer à la fin de l'évaluation une fiche récapitulative rassemblant et classant toutes les informations sélectionnées par l'évaluateur.

Mon stage de fin d'études a permis de construire les bases nécessaires au travail informatique qui va suivre. La suite du projet consiste à développer l'outil dans les années à venir : une fois les spécifications du logiciel correctement rédigées et validées, l'équipe informatique pourra importer tous les documents et bases de données sélectionnés au cours du stage dans la base de données du logiciel. Il s'agira également de mettre en place le moteur de recherche avancé qui permettra de sélectionner de manière pertinente les informations téléchargées dans la base de données du logiciel. Suivra une phase de tests pour valider l'outil. Plusieurs extraits seront testés pour déterminer quelles modifications pourraient l'améliorer. L'outil, tel qu'il a été pensé permettra l'optimisation de l'évaluation des extraits végétaux dans les produits cosmétiques en présentant à l'évaluateur la bonne information au moment adéquat. Il contribuera au renfort de la sécurité d'utilisation des cosmétiques "naturels", à base d'extraits végétaux pour les consommateurs. La base de données associée au logiciel sera améliorée en continu, avec une capitalisation des données au cours des évaluations.

6. Application de cette méthodologie avec l'exemple de deux extraits végétaux

6.1. *Citrus aurantium* Dulcis peel oil expressed

6.1.1. Identification de l'extrait et de la plante

Le nom INCI de cet extrait nous apporte différentes informations : la plante et la partie de plante d'où est issu cet extrait ainsi que le type d'extrait. Il est conseillé de commencer la recherche dans la base de données en ligne : *The Plant List*. La recherche du nom scientifique de la plante « *Citrus aurantium* dulcis » dans le moteur de recherche *The Plant List* n'aboutit pas à une liste de noms avec cette appellation. Le nom *Citrus aurantium* L. correspond à l'oranger amer et non à l'oranger. La recherche de ce nom dans la base de données *Cosing* (Cosing, 2017) nous donne de plus amples informations :

Ce nom INCI caractérise en effet un extrait de *Citrus sinensis* (synonyme de *Citrus aurantium* L. var. *dulcis* L.) plus particulièrement une huile essentielle obtenue par expression à partir de l'écorce d'orange. *Cosing* permet également d'avoir les numéros CAS et EC de la substance et les fonctions de cette huile essentielle en cosmétique (fonction parfumante).

L'appellation INCI de cet extrait incluant le nom botanique « *Citrus aurantium* » serait donc une confusion due à un certain nombre de synonymes pour le genre *Citrus*.

Une recherche rapide dans la base de données *Catalogue of life* (Catalogue of life, 2010) nous permet de vérifier que ce nom botanique est bien un nom scientifique accepté et de prendre connaissance des synonymes existants. On peut y trouver les informations suivantes :

Famille	Rutaceae
Genre	Citrus
Nom botanique	<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck
Noms communs/noms d'usage	Orange, Orange douce

Le nom de variété n'est pas précisé dans le nom INCI. On peut parfois avoir à faire à des huiles essentielles de variétés spécifiques ou bien à ce qu'on appelle une « communelle » (assemblage de plusieurs lots d'huiles essentielles d'une même plante mais

d'origines différentes, ou de variétés différentes...). Si plus d'une variété de la même espèce est utilisée, chacune doit être précisée.

Il est également recommandé de détailler l'habitat naturel et la distribution géographique de la plante, les sources actuelles de cette plante et si la plante a été cultivée ou est sauvage. Il faut aussi décrire le processus de préparation, les procédures de conservation, les conditions de transport, de manipulation, de stockage... Les spécifications physicochimiques de l'extrait et la qualité microbiologique sont des données également réclamées.

L'espèce *Citrus sinensis* se décline en de nombreuses variétés (Navel, Jaffa, Valencia), cultivées dans le monde entier : Etats-Unis, Brésil, pays méditerranéens, Chine... L'huile essentielle peut être obtenue de manière variée : expression à froid ou distillation à la vapeur (Khan and Abourashed, 2010). Pour cette même espèce, on pourra ainsi observer une variété de compositions d'huiles essentielles.

Lors de cette première partie de recherche d'informations sur la plante et l'extrait, il est également important de rechercher d'éventuelles restrictions ou interdictions réglementaires. D'après *Cosing*, cet extrait n'est pas inclus dans aucune annexe du règlement cosmétique. Cette plante n'est pas non plus retrouvée dans la liste du CITES.

6.1.2. Recherche d'un historique d'usage

Une fois la plante bien caractérisée, une recherche dans la base de données *Cosmetics Info* (Cosmetics Info, 2017) permet d'avoir une vision d'ensemble des usages, de la sécurité et des sources de données qu'on peut avoir sur cet extrait. On retrouve ici des informations générales sur l'extrait, sur sa sécurité ainsi que des liens à partir desquels on pourra retrouver des informations sur cet extrait. *Cosmetics Info* regroupe des informations sur un certain nombre d'ingrédients obtenus à partir de l'orange douce (jus, fruit, écorce, graine...). L'extrait évalué est utilisé en tant que parfum et dans des soins pour la peau.

Cosmetics info indique que les huiles essentielles et extraits d'oranger doux sont sur la liste GRAS (*generally recognized as safe*) et sont donc reconnus par la FDA comme non dangereux pour un usage dans l'alimentation humaine.

L'outil Excel dans lequel j'ai regroupé un certain nombre de listes de noms de plantes me permet, lors de la saisie du nom botanique de la plante de trouver les bases de données

contenant des informations sur cette plante. La recherche se fait à la fois à partir du nom botanique, de synonymes fréquents mais aussi à partir du nom commun pour avoir un maximum de résultats.

Nous avons ici l'exemple d'un ingrédient avec un très long historique d'utilisation, très bien établi. Des données concernant l'extrait de *Citrus sinensis* sont retrouvées dans les listes suivantes :

- la liste des plantes autorisées dans les compléments alimentaires : l'annexe 1 de l'arrêté du 24 juin 2014 (Legifrance, 2014) dresse la liste des plantes autorisées dans les compléments alimentaires. L'oranger doux (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) fait partie de cette liste.
- cette plante fait partie de la pharmacopée française, liste A (ANSM, 2011) : plantes médicinales utilisées traditionnellement (dont l'utilisation n'a pas induit de problèmes de toxicité, contrairement à la liste B de la pharmacopée)
- selon le décret n°2008-841 (la liste des plantes médicinales inscrites à la pharmacopée autorisées à la vente du public (Legifrance, 2008)), le péricarpe dit « écorce » ou « zeste » peut être vendu sous forme de poudre au grand public, sans avoir besoin de passer par le circuit pharmaceutique
- cet extrait est utilisé dans la médecine chinoise et est ainsi inclus dans la pharmacopée chinoise (Chinese Pharmacopoeia, 2017).
- d'après les monographies allemandes de plantes médicinales (German Commission, 2017), l'huile essentielle d'écorce d'orange est utilisée en cas de perte d'appétit à un dosage journalier de 10 à 15 grammes.
- Le CIR (*Cosmetic Ingredients Review*) a publié en 2014 un rapport évaluant la sécurité des huiles essentielles d'écorce des espèces du genre *Citrus* (Bergfeld *et al.*, 2014). Selon ce rapport, l'huile d'écorce de *Citrus aurantium* dulcis est largement utilisée dans les produits cosmétiques, jusqu'à une concentration de 29%.

Ainsi, on retrouve facilement de nombreuses données d'usage en médecine traditionnelle, dans les domaines alimentaire, pharmaceutique et cosmétique pour cet extrait. L'orange est un produit de consommation courante. Le très long historique d'usage ainsi que l'utilisation fréquente/journalière de cet extrait pourra nous permettre d'appliquer le principe de présomption de sécurité quant à l'innocuité systémique et à long terme de ce

produit (les tests pour vérifier cette innocuité n'ayant toujours pas de méthodes alternatives substitutives). L'exposition journalière liée aux usages en alimentaire occasionneraient une exposition bien plus importante que celle liée aux produits cosmétiques, ces derniers ne provoquant qu'une exposition via la voie cutanée (Bergfeld *et al.*, 2014).

6.1.3. Evaluation de la toxicité de l'extrait

L'historique d'usage étant rassurant quant à la toxicité systémique, il est maintenant important d'obtenir des données de toxicité aiguë et locale.

L'encyclopédie Leung (Khan and Abourashed, 2010) sur les ingrédients naturels fournit des informations à la fois botaniques, concernant l'origine, la composition chimique, la pharmacologie, les usages ainsi que la toxicologie sur des plantes communément utilisées. On y apprend que les huiles des espèces du genre Citrus sont généralement considérées comme non-irritantes et non-sensibilisantes pour l'Homme même si le limonène contenu dans ces huiles a été mis en cause dans l'apparition de dermatites chez l'Homme. Il a été reporté que l'huile essentielle d'orange douce a été responsable de la promotion de la formation d'une tumeur sur la peau de souris. Cependant, son constituant majeur le d-limonène est connu pour son activité anti-cancérogène. L'ingestion de grandes quantités d'écorces d'oranges a conduit à des coliques intestinales, des convulsions voire la mort chez l'enfant.

Le rapport du CIR (Bergfeld *et al.*, 2014) fait un état des lieux des connaissances en toxicologie pour les huiles essentielles d'écorce du genre Citrus. Les données présentes dans le rapport du CIR nous permettent de dresser le profil toxicologique pour certains *endpoints* sur cet extrait, repris dans le tableau ci-dessous.

Tableau 10. Profil toxicologique à partir de données issues de la littérature de l'extrait végétal *Citrus aurantium dulcis peel oil expressed* (Bergfeld *et al.*, 2014)

Toxicité aiguë	Par voie cutanée. LD50>5000 mg/kg chez le lapin (femelles, <i>New Zealand</i>) : un patch occlusif contenant la substance a été appliqué sur la peau de 10 lapins pendant 24h. Observation de rougeurs modérées sur tous les animaux, œdème léger sur 3/10 animaux et œdème modéré sur 5/10 animaux.
Irritation/Corrosion cutanée	Substance testée pure chez le lapin (3 mâles) (OCDE 404), patch semi-occlusif pendant 4h. Substance irritante pour la peau.
Irritation/Corrosion oculaire	Substance testée pure chez le lapin (3 mâles, <i>New Zealand</i>) (OCDE 405). Non irritant et non corrosif.
Sensibilisation	-Substance testée (concentration inconnue) sur 100 volontaires (technique Marzulli-Maibach), réaction cutanées mais pas de sensibilisation. -Substance testée à 2% sur 200 volontaires. 3 réactions positives sur 200.
Phototoxicité	-Substance testée pure sur 6 souris et 2 cochons d'Inde. Irradiation 30 minutes après l'exposition. Pas de phototoxicité observée. -Substance (non modifiée et déterpénée) testée à 1% sur 5 volontaires (femmes). Observation de réactions phototoxiques (3/5 sujets après 24h et 2/5 sujets après 72h) à 1%. Pas de réactions observées à des concentrations <0.1% -Substance testée à 3.16% avec le test 3T3 NRU (OCDE 432). Potentiellement phototoxique.
Mutagenicité/Génotoxicité	-Test de mutation réverse (OCDE 471), sur les souches <i>S. typhimurium</i> (TA98, TA100, TA1535, TA1537) et <i>E. coli</i> (WP2uvrA), avec et sans activation métabolique. Non mutagène (1-5000µg/plaques), mais observation de cytotoxicité. -Test de mutation génique sur cellules de lymphome de souris (L5178Y TK) (OCDE 476), avec et sans activation métabolique. Non mutagène (40-100µg/ml). -Essai d'aberration chromosomique sur fibroblastes de poumons de hamster (OCDE 473), avec et sans activation métabolique. Pas d'induction d'aberrations chromosomiques par la substance, non clastogénique.
Cancérogénicité	Observation d'une activité pro-tumorale quand exposition cutanée de souris à 80% après exposition à un agent promoteur (DMBA). Sans induction, la substance (80%) n'avait pas d'activité tumorale.
Toxicité à dose répétée	Les experts du CIR s'appuient sur le long historique d'usage et notamment le statut GRAS (FDA, 2017) en alimentation pour l'Homme pour conclure quant à la sécurité systémique de cet extrait
Reprotoxicité	Pas d'études trouvées dans la littérature
Absorption cutanée	Non définie dans le rapport. Par défaut, on prendra donc une valeur de 50%.

6.1.4. Recherche et évaluation de la toxicité des constituants de l'extrait

Certaines bases de données donnent des informations quant aux constituants fréquemment rencontrés dans l'extrait évalué. La caractérisation analytique de l'extrait permet également à l'industriel de savoir quels constituants sont présents.

L'encyclopédie Leung (Khan and Abourashed, 2010) reporte que l'écorce d'orange douce contient 1.5 à 2 % de composés volatiles, de nombreux flavonoïdes incluant des flavones, des vitamines, de la limonine, des coumarines, des acides phénoliques. L'huile essentielle d'orange douce contient 90% ou plus de d-limonène et 1.2 à 2.5% d'aldéhydes.

Les annexes I et II du 48ème amendement des standards IFRA donne une liste des constituants de plantes et les niveaux qu'ils atteignent généralement dans tel ou tel extrait de plante. Concernant l'extrait étudié ici, voici les constituants fréquemment retrouvés ainsi que leurs niveaux :

-carvone : 1% dans l'huile d'écorce d'orange déterpénée.

-citral : 7% dans l'huile d'écorce d'orange déterpénée, 0.15% dans l'huile d'écorce d'orange, 0.1% dans l'extrait d'écorce d'orange

- p-Mentha-1,8-dien-7-al : 1.5% dans l'huile d'écorce d'orange déterpénée.

On retrouve également dans le rapport du CIR des données sur les constituants : Les espèces de ce genre sont connues pour contenir des furanocoumarines, composés phototoxiques qui ne doivent pas être présentes à plus de 1mg/kg dans les produits de protection solaire ou les produits de bronzage (Commission Européenne, 2014). Il existe des modes opératoires standards de l'IFRA pour les huiles essentielles contenant des furanocoumarines. La Commission Européenne précise que ce constituant devra être inclus à la liste des ingrédients à partir du moment où sa concentration dépasse 0.001% dans les produits sans rinçage et 0.01% dans les produits avec rinçage. Le CIR conclut dans son rapport que les huiles essentielles du genre Citrus sont sans danger pour un usage cosmétique à condition qu'elles ne contiennent pas plus de 0.0015% de 5-methoxypsoralène. L'IFRA propose également un standard pour les huiles essentielles contenant du D-limonène préconisant que le niveau de peroxydes ne devrait pas dépasser 20 mmol/L.

Cosing liste également les constituants majoritaires généralement retrouvés dans cette huile essentielle (dont le D-limonène (majoritaire à plus de 90%), le décanaldéhyde, le méthyl anthranilate, le linalool et le terpinéol). Le méthyl anthranilate est un constituant phototoxique qui fait l'objet d'une opinion du SCCS (SCCS, 2011) qui considère acceptable la dose de 0.1% de méthyl anthranilate dans les produits sans rinçage (0.2% dans les produits avec rinçage). Le SCCS considère que ce constituant ne doit pas être présent dans les produits solaires. Ce constituant étant une amine secondaire (sujet à nitrosation), le SCCS rajoute qu'il ne doit pas être utilisé en combinaison avec des substances nitrosantes présentes à plus de 50 ppb (partie par milliard).

6.1.5. Conclusion générale sur la sécurité d'utilisation de cet ingrédient en cosmétique

Les rapports du CIR sont généralement très complets et présentent des données robustes, sélectionnées et évaluées par des experts. La majorité des *endpoints* toxicologiques requis sont complétés grâce à ce rapport. La LD50 (>5000 mg/kg) observée nous permet de conclure quant à une non-toxicité aiguë. Cet extrait est par ailleurs reconnu par la FDA comme GRAS (*Generally recognized as safe*) (FDA, 2017) en alimentation humaine. On peut s'attendre à ce que l'utilisation de cet extrait dans les produits alimentaires (donc par voie orale) amène à une plus grande exposition systémique que l'utilisation en cosmétiques (exposition par voie cutanée principalement). Cette huile essentielle n'a pas démontré d'effets mutagènes ou génotoxiques. Les experts du CIR concluent que l'observation d'effets pro-tumoraux pourrait être due à l'agent promoteur et l'irritation cutanée répétée due aux concentrations élevées. Or cet extrait devrait être utilisé à une concentration ne provoquant pas d'irritation cutanée. La toxicité locale de cette substance est, elle plus préoccupante. Des réactions cutanées ont en effet été observées dans des études *in vivo* suite à l'application de la substance pure. Elle n'est pas sensibilisante, mais un potentiel phototoxique a été décelé suite à des études *in vitro* et chez l'Homme jusqu'à une concentration de 1%. En effet, beaucoup d'espèces du genre *Citrus* contiennent des agents photoactifs dans leur écorce. Les extraits qui ont été débarrassés de leurs furanocoumarines n'induisent pas de telles réactions. Le potentiel phototoxique de cet extrait est également dû à la possible présence de méthyl anthranilate. Les recommandations du SCCS pour ce constituant doivent être appliquées. Il conviendra dans tous les cas de ne pas utiliser cet extrait dans des produits solaires.

Nous avons grâce à la littérature des données sur les toxicités locale et systémique à long terme ainsi que les constituants préoccupants qui risquent d'être présents dans l'extrait et d'occasionner ces toxicités. Il devient donc possible de rechercher grâce à des méthodes analytiques si ces constituants sont bien absents de l'extrait ou présent en dessous des niveaux préoccupants pour s'assurer de la non-toxicité de l'extrait et de sa possible utilisation dans un produit cosmétique de manière sûre.

6.2. *Scutellaria baicalensis* root extract

6.2.1. Identification de l'extrait et de la plante

L'extrait à identifier est un extrait de racine de la plante *Scutellaria baicalensis*. Une première recherche dans *Cosing* (Commission Européenne, 2012) nous informe quant à ses identifiants numériques : son numéro CAS 94279-99-9 et son numéro EC 304-845-9. Cette plante est utilisée en cosmétique pour ses fonctions astringente, apaisante et humectante. Cet extrait n'est inclus dans aucune annexe du règlement cosmétique. Cette plante n'est pas non plus retrouvée dans la liste du CITES.

Une recherche rapide sur la base de données *The plant List* (The Plant List, 2017) nous informe que le nom botanique complet et validé de cette plante est *Scutellaria baicalensis* Georgi.

La recherche du nom botanique dans *Catalogue of Life* (Catalogue of Life, 2000) nous informe quant à la classification botanique :

Famille	Lamiaceae
Genre	Scutellaria
Nom botanique	<i>Scutellaria baicalensis</i> Georgi
Noms communs/noms d'usage	Scutellaire du Baïkal, <i>Baical skullcap</i>

Cette plante est retrouvée en Corée, en Chine, au Japon en Mongolie ainsi qu'en Russie (WHO, 2002).

6.2.2. Recherche d'un historique d'usage

L'extrait évalué est inclus dans la liste A de la pharmacopée française des plantes médicinales utilisées traditionnellement (dont l'utilisation n'a pas induit de problèmes de toxicité, contrairement à la liste B de la pharmacopée)

Scutellaria baicalensis est une plante incluse dans la liste des plantes autorisées dans les compléments alimentaires (annexe 1 de l'arrêté du 24 juin 2014 (Legifrance, 2014))

La racine de cette plante est présente dans les pharmacopées chinoise, coréenne et japonaise. Une monographie de l'OMS est également disponible. Il est reporté une posologie quotidienne de 3 à 9 grammes de racine séchée en infusion ou décoction (WHO, 2002 ; Chinese Pharmacopoeia, 2017). La racine est utilisée en médecine traditionnelle pour traiter notamment des diarrhées, l'hypertension, les hémorragies, l'insomnie, les inflammations et les infections respiratoires.

Cette première recherche permet difficilement d'avoir une idée de la toxicité ou de l'innocuité de cet extrait, il va donc être nécessaire d'examiner attentivement les données en toxicité de l'extrait et des constituants disponibles.

6.2.3. Evaluation de la toxicité de l'extrait

Contrairement au premier extrait évalué qui disposait d'un rapport complet du CIR rapportant les résultats de nombreux endpoints, nous ne disposons pas pour cet extrait-ci d'un nombre de données aussi important nous permettant d'avoir un aperçu global de sa toxicité. C'est pourquoi une recherche sur des bases de données internet plus larges (*Toxnet, Pubmed...*) a été réalisée.

Tableau 11. Profil toxicologique à partir de données issues de la littérature de l'extrait végétal *Scutellaria baicalensis* root extract

Toxicité aiguë	Par voie orale. Administration d'un extrait à 70% dans du méthanol à des souris. Pas de toxicité observée, LD50>2000mg/kg. Chez des lapins, l'administration orale d'une décoction aqueuse de cet extrait (10 000mg/kg mc) a causé une sédation mais pas la mort. Par voie subcutanée. Administration d'un extrait alcoolique à des souris. LD50 = 6000mg/kg mc. (WHO, 2002)
Irritation/Corrosion cutanée	Substance testée pure chez 6 lapins (OCDE 404), sous patch semi occlusif pendant 24h. Substance non irritante pour la peau (échelle de Draize) (Kim <i>et al.</i> , 2013).
Irritation/Corrosion oculaire	Substance introduite à 0.1% dans le sac conjonctival de rats, avec ou sans rinçage. Substance modérément irritante pour l'œil (échelle de Draize) (Kang <i>et al.</i> , 2012).
Sensibilisation	Substance testée pure selon la méthode de Buehler (OCDE 406) chez le cochon d'Inde. Substance non sensibilisante, observation d'effets anti-allergiques (Kim <i>et al.</i> , 2013).
Phototoxicité	Pas d'études trouvées dans la littérature

Mutagénicité/Génotoxicité	<p>Test de mutation reverse sur les souches <i>S. typhimurium</i> TA98 et TA100. Non mutagène (40 mg/plaques)</p> <p>Administration intrapéritonéale de 4000 mg/kg mc (10 à 40 fois la quantité utilisée chez l'Homme) chez la souris. Observation de mutagénicité.</p> <p>(WHO, 2002).</p>
Cancérogénicité	Pas d'études trouvées dans la littérature
Toxicité à dose répétée	<p>Extrait aqueux (4000 à 5000 mg/kg mc) administré par voie orale à des chiens 3 fois par jour pendant 8 semaines. Aucune toxicité observée (Burnett <i>et al.</i>, 2007).</p> <p>Une substance contenant 62.5% de baicaline et autres constituants de la racine <i>S. baicalensis</i> a été administrée à des souris pendant 13 semaines à des doses allant de 0 à 500 mg/kg mc/jour. Pas de toxicité observée et bonne tolérance de la substance (Lee <i>et al.</i>, 2014).</p> <p>Un inconfort gastrointestinal et des diarrhées sont associés à l'administration orale de cet extrait chez l'Homme (WHO, 2002). De sérieux effets hépatotoxiques (effets aigus et interactions avec certains médicaments) ont été observés chez l'Homme lors de la prise orale de cet extrait (Nudrat and Naira, 2016)</p>
Reprotoxicité	<p>L'administration intragastrique quotidienne d'un extrait de racine à 500 mg/kg mc à des rats à partir du 13 jour de gestation n'a pas permis l'observation d'effets tératogènes ou abortifs.</p> <p>En revanche, l'administration intragastrique à 250 mg/kg mc, 12 490 mg/kg mc et 24 980 mg/kg mc à des rates du 8 au 18 jour de leur gestation a amené à l'observation d'effets tératogènes aux 2 doses les plus élevées (Kim, 1993).</p>
Absorption cutanée	Non définie dans le rapport. Par défaut, on prendra donc une valeur de 50%.

6.2.4. Recherche et évaluation de la toxicité des constituants de l'extrait

La majorité des composés actifs de cet extrait sont des flavonoïdes incluant la baicaline (14 à 75%), la baicaléine (jusqu'à 5%), la wogonine (0.7%) et les wogonosides (4%) (WHO, 2002 ; Zhao *et al.*, 2016).

D'après le compendium de l'EFSA, la wogonine s'est révélée toxique pour le cœur après une administration à long terme de 120 mg/kg mc à des rats (EFSA, 2012).

D'après une étude de toxicité aiguë de 14 jours chez le rat sur une substance contenant 60% de baicaline, aucune toxicité particulière n'a pu être observée, la LD 50 étant supérieure à 5000 mg/kg mc. De même, l'innocuité de la substance a pu être observée dans une étude de toxicité répétée de 26 semaines, avec une absence d'effets toxiques et une NOAEL supérieure à 2000 mg/kg mc/jour. La substance a également été testée sur des rats pendant 3 mois avec une NOAEL de 1000 mg/kg mc/jour (Lee *et al.*, 2013). Ces différentes

études montrent que la substance majoritaire présente dans l'extrait à évaluer est sans danger systémique.

6.2.5. Conclusion générale sur la sécurité d'utilisation de cet ingrédient en cosmétique

Les données trouvées dans la littérature que ce soit sur l'extrait ou sur son constituant principal amènent à présumer de la non-toxicité systémique et locale de la substance.

La substance étant cependant classée comme modérément irritante pour l'œil, on évitera de l'utiliser dans des produits à destination du contour de l'œil. Compte tenu de l'observation d'effets tératogènes et mutagènes et du manque de données, il est contre-indiqué d'utiliser cet extrait durant la grossesse, l'allaitement ou pour les enfants de moins de 12 ans (WHO, 2002). L'incertitude concernant le potentiel mutagène de cet extrait pourrait être clarifiée par la réalisation de tests *in vitro* notamment les deux recommandés par le SCCS : l'essai de mutation reverse (sur bactéries) OCDE 471 et l'essai des micronoyaux sur cellules de mammifères OCDE 487. La littérature étant pauvre en données concernant la toxicité locale, on peut envisager de réaliser les tests *in vitro* existants et validés pour l'étude de la toxicité oculaire et cutanée afin d'avoir une connaissance précise de la toxicité locale de l'extrait en question.

7. Conclusion

Les cosmétiques étant utilisés massivement et quotidiennement, l'exposition à ces produits est constante et notable. Leur innocuité et sécurité d'usage apparaît donc primordiale. Cependant plusieurs scandales sanitaires et de nombreuses années d'expérience auront été nécessaires pour parvenir au règlement cosmétique européen n° 1223/2009 tel qu'on le connaît aujourd'hui. Ce règlement promulgue une plus grande sécurité concernant l'usage des produits cosmétiques. Une évaluation de la sécurité de chaque ingrédient est ainsi requise pour commercialiser un produit cosmétique. Le profil toxicologique est complété soit grâce à des données présentes dans la littérature, soit avec des données générées par le fabricant sur sa propre substance. Une particularité du nouveau règlement cosmétique européen est qu'il interdit tout test *in vivo*, depuis 2013. Des méthodes alternatives à ces tests voient progressivement le jour. Il peut s'agir de méthodes *in vitro*, *ex vivo*, sur organismes alternatifs (non-vertébrés) ou encore *in silico*. Cependant, il existe toujours un besoin d'améliorer ces méthodes et d'en développer de nouvelles pour l'étude de certains effets toxiques. Leur mise au point et leur validation peut prendre des années, plusieurs sont toujours en phase de recherche ou en phase de validation.

En parallèle de ces évolutions réglementaires, apparaît depuis quelques années un attrait grandissant pour les produits naturels, biologiques, associés systématiquement à une absence de risques. L'origine naturelle d'un produit n'est cependant en aucun cas garante de son innocuité. L'évaluation de la sécurité requise par le règlement cosmétique européen n° 1223/2009 concerne tous les ingrédients, qu'importe leur origine. Néanmoins, contrairement aux ingrédients de synthèse la plupart du temps chimiquement bien définis, les extraits végétaux sont des substances particulières et complexes dont la composition qualitative et quantitative dépend de paramètres multiples. L'évaluation de leur sécurité est un processus long et délicat étant donné leurs compositions variables et le peu d'informations disponibles. Actuellement, la collecte d'informations est très chronophage et demande une bonne connaissance des multiples sources de données dédiées. L'interdiction de l'expérimentation animale peut être vue comme un frein à l'innovation du fait que des méthodes alternatives n'aient pas encore été développées pour toutes les données requises. Il est important, dans ce contexte d'avoir une méthodologie éprouvée ainsi que des outils pour pouvoir réaliser une évaluation de la sécurité optimale de ces extraits végétaux.

L'objet de cette thèse était de présenter le travail réalisé au cours de mon stage de fin d'études : la mise en place d'un logiciel visant à optimiser l'évaluation de la sécurité des extraits végétaux : SeVe. Dans cette optique, en parallèle d'une collecte de bases de données, une méthodologie a été mise en place. Elle constitue la base de fonctionnement du futur logiciel. Quatre étapes entrent en jeu dans la méthodologie admise : (i) identification de l'extrait, (ii) inventaire des historiques d'usage de la plante et de l'extrait (permet de conclure au cas par cas quant à une éventuelle présomption de sécurité ou bien de soulever des inquiétudes quant à des dangers relevés), (iii) collecte de données sur les dangers de l'extrait dans la littérature, et (vi) réunion des données sur les constituants (majoritaires, actifs ou préoccupants) présents dans l'extrait .

La démarche présentée a pour but d'aider à l'évaluation de la toxicité des extraits végétaux. Dans l'idéal, elle permet de réaliser le profil toxicologique de l'extrait végétal et de conclure quant à sa toxicité et à un usage sûr à une concentration donnée ou non. Ça n'est malheureusement pas toujours le cas. Cette démarche peut s'avérer inefficace pour certains paramètres à évaluer, ou pour certains extraits végétaux pour lesquels dans tous les cas aucune donnée n'est disponible dans la littérature. Il peut alors s'avérer nécessaire d'envisager de réaliser des tests. Dans de nombreux cas, la démarche détaillée dans cette thèse permet d'avoir une idée globale de l'usage et de la toxicité de la plante et de la localisation des informations pertinentes. Elle permet au cas par cas de conclure quant à une non-toxicité de l'extrait (au moins pour certains *endpoints*) et de dresser la liste des données manquantes et des éventuels tests à réaliser (si toutefois ces tests sont permis par la réglementation européenne). Cela permet ainsi à l'industriel d'économiser temps et argent sur certains tests qui sont déjà présents dans la littérature. Dans un autre cas de figure, l'application de cette méthodologie peut soulever des inquiétudes quant à une toxicité relevée dans la littérature ou quant à la présence potentielle de constituants préoccupants. Dans une optique d'innovation, cette démarche pourrait être utile lors du screening de nouveaux extraits que l'industriel souhaite utiliser dans ses produits pour prendre connaissance des alertes qui auraient auparavant été relevées pour ces substances. Cela permet alors de s'arrêter suffisamment tôt dans le développement d'un nouvel actif ou au contraire de se rassurer quant à l'absence d'alertes toxicologiques.

Les exemples pris à la fin de cette thèse mettent en exergue que la mise en pratique de cette méthodologie est une démarche qui reste complexe et chronophage et que chaque extrait végétal est particulier et doit être évalué au cas par cas. Certains extraits sont relativement bien connus et disposeront d'évaluations de la sécurité réalisées par des instances ou comités d'experts. Pour d'autres extraits, il faudra envisager une recherche plus poussée dans la littérature scientifique. Il existe bien sûr le cas où ce sont des extraits pour lesquels aucune donnée n'est disponible. L'évaluateur se doit de trouver les données les plus pertinentes et robustes pour son extrait et ne pas conclure de manière trop hâtive. Un manque de donnée n'équivaut pas à une absence de danger. L'évaluateur doit, si nécessaire, par mesure de précaution limiter la concentration de l'extrait dans les produits cosmétiques, limiter l'accès des produits contenant cet extrait à certaines tranches de la population ou bien s'assurer que les constituants préoccupants sont bien absents ou ont pu être séparés de l'extrait. La méthodologie est bien sûr perfectible, et est applicable au cas par cas. Les bases de données répertoriées évolueront et seront complétées au cours des évaluations. La méthodologie détaillée et éprouvée dans cette thèse a pour objectif d'augmenter la qualité des évaluations de la sécurité malgré les contraintes réglementaires (interdiction des expérimentations *in vivo*) et techniques (absence de tests satisfaisants pour évaluer la toxicité systémique) afin d'assurer la meilleure sécurité d'emploi des cosmétiques pour les consommateurs. Le logiciel SeVe est quant à lui toujours en cours de développement.

Permis d'imprimer

FACULTÉ DE PHARMACIE



n° 4

NOM et Prénom : LE ROUX YANNA

TITRE DE LA THESE

OPTIMISATION DE L'EVALUATION DE LA SECURITE DES EXTRAITS VEGETAUX DANS LES PRODUITS
COSMETIQUES : MISE AU POINT PRELIMINAIRE, OUTILS ET CAS PRATIQUES.

25 SEP. 2017

Rennes, le 15/09/17

Le Président de thèse :

Le Directeur de thèse : DELMAY (Dr. Y.)

VU et Permis d'imprimer

Le Président de l'Université de Rennes1.

D.ALIS

Available at: <http://www.ahpa.org/Resources/BotanicalSafetyHandbook.aspx> (Accessed: 27 June 2017).

Allkin B., Nic Lughadha E., Paton A., Magill B., M. C. (2013) *The Plant List*. Available at: <http://www.theplantlist.org/>.

ANSM (2011) *Pharmacopée française*. 11e edn. Available at: <http://ansm.sante.fr/Mediatheque/Publications/Pharmacopée-française-Plan-Preambule-index> (Accessed: 30 July 2017).

ANSM (2014) 'Réglementation des produits cosmétiques : questions/réponses', pp. 1–5.

Antignac, E., Nohynek, G. J., Re, T., Clouzeau, J. and Toutain, H. (2011) 'Safety of botanical ingredients in personal care products/cosmetics.', *Food and chemical toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*. doi: 10.1016/j.fct.2010.11.022.

Anton, R., Patri, F. and Silano, V. (2001) *Plants in cosmetics: plants and plant preparations used as ingredients for cosmetic products - volume 2 (2001)*. Edited by Council of Europe.

Association Antidote. (no date) *Méthodes alternatives en toxicologie*. Available at: <http://antidote-europe.org/methodes-alternatives-recherche-animale/toxicologie/> (Accessed: 5 March 2017).

Australian government (no date) *Home - NICNAS*. Available at: <https://www.nicnas.gov.au/> (Accessed: 27 June 2017).

Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., Jahurul, M. H. A., Ghafoor, K., Norulaini, N. A. N. and Omar, A. K. M. (2013) 'Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials : A review', *Journal of Food Engineering*. Elsevier Ltd, 117. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014.

Bailey J.E. (1995) *FDA Response to CTFA Requests Regarding Harmonization of Ingredient Names (Color Additives, Denatured Alcohol, and Plant Extracts)*, *Food and drugs administration*. Available at: <http://www.fda.gov/Cosmetics/Labeling/IngredientNames/ucm075032.htm>.

Balls, M. (1994) 'Replacement of animal procedures: alternatives in research, education and testing.', *Laboratory animals*, 28(1994), pp. 193–211. doi: 10.1258/002367794780681714.

Balls, M., Amcoff, P., Bremer, S., Casati, S., Coecke, S., Combes, R., Corvi, R., Curren, R., Eskes, C., Gribaldo, L., Halder, M., Hartung, T., Hoffmann, S., Schechtman, L., Scott, L., Spielmann, H., Stokes, W., Wagner, D. and Zuang, V. (2006) 'The principles of weight of evidence validation of test methods and testing strategies', *Alternatives to Laboratory Animals*, 34(6), pp. 603–620.

Baser, K. H. C. and Buchbauer, G. (2010) *Handbook of Essential Oils Science, Technology, and Applications*, *CRC Press*. doi: 10.1201/9781420063165-c3.

Batista, R. and Oliveira, M. (2010) 'Plant natural variability may affect safety assessment

data', *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. doi: 10.1016/j.yrtph.2010.08.019.

Bergfeld, W. F., Belsito, D. V., Hill, R. A., Klaassen, C. D., Liebler, D. C., Marks, J. G., Shank, R. C., Slaga, T. J. and Snyder, P. W. (2014) 'Safety Assessment of Citrus-Derived Peel Oils as Used in Cosmetics', *CIR (Cosmetic Ingredients Review)*. Available at: <http://www.cir-safety.org/sites/default/files/cpeelo092014FR.pdf> (Accessed: 2 September 2017).

BERPC (2008) 'FAQ (REACH) Les substances : définitions , utilisations , et exemptions', (*Bureau d'évaluation des risques des produits et agents chimiques*).

British Herbal Medicine Association (1992) *British Herbal Compendium Vol 1*. Edited by P. Bradley.

British Herbal Medicine Association (2006) *British Herbal Compendium Vol 2*. Edited by P. Bradley.

Bruneton, J. (2005) *Plantes toxiques (3^e Éd.): Végétaux dangereux pour l'homme et les animaux*. Edited by Lavoisier.

Brusotti, G., Cesari, I., Dentamaro, A., Caccialanza, G. and Massolini, G. (2014) 'Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis Isolation and characterization of bioactive compounds from plant resources: The role of analysis in the ethnopharmacological approach', *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. Elsevier B.V., 87. doi: 10.1016/j.jpba.2013.03.007.

Burnett, B. P., Silva, S., Mesches, M. H., Wilson, S. and Jia, Q. (2007) 'Safety evaluation of a combination, defined extract of *Scutellaria baicalensis* and *Acacia catechu*', *Journal of Food Biochemistry*, 31(6), pp. 797–825. doi: 10.1111/j.1745-4514.2007.00142.x.

Canorel, F. (2007) 'Hexachlorophene D'une crise sanitaire à la cosmétovigilance'.

Castioni, P., Christen, P. et and Veuthey, J.-L. (1995) 'L'extraction en phase supercritique des substances d'origine végétale', *archive ouverte UNIGE*, 23(3), pp. 95–106.

Catalogue of life (2010) *Catalogue of Life - 2010 Annual Checklist : Citrus sinensis (L.) Osbeck*. Available at: <http://www.catalogueoflife.org/annual-checklist/2010/details/species/id/7042627> (Accessed: 9 September 2017).

Catalogue of life (2015) *The Catalogue of Life*. Available at: <http://www.catalogueoflife.org/annual-checklist/2016/browse/classification/kingdom/Plantae/fossil/0/match/1/page/1/sort/direction/asc//direction/asc>.

Catalogue of Life (2000) *Catalogue of Life : Scutellaria baicalensis Georgi*. Species 2000. Available at: <http://www.catalogueoflife.org/col/details/species/id/1f134bf544d7873368a8cef2658e9869> (Accessed: 9 September 2017).

Catty, S. (2001) *Hydrosols : the next aromatherapy*. Healing Arts Press.

ChemIDplus (2017) *ChemIDplus - 122-99 - QCDWFXQBSFUVSP-UHFFFAOYSA-N - Phenoxyethanol [NF] - Similar structures search, synonyms, formulas, resource links, and other chemical information.* Available at: <https://chem.nlm.nih.gov/chemidplus/rn/startswith/122-99> (Accessed: 4 June 2017).

Chinese Pharmacopoeia (2017) *Chinese Pharmacopoeia.* Available at: <http://wp.chp.org.cn/front/chpint/en/> (Accessed: 6 September 2017).

CIR (2017) *Ingredients | Cosmetic Ingredient Review.* Available at: <http://www.cir-safety.org/ingredients> (Accessed: 25 June 2017).

CITES (1973) 'Convention sur le commerce international des espèces de faune et de flore sauvages menacées d'extinction', p. 17.

Code de la santé publique (1975) *Loi 75-604 1975-07-10 art. 2 JORF 11 juillet 1975.* Available at: <https://www.legifrance.gouv.fr/affichCode.do?idSectionTA=LEGISCTA000006155266&cidTexte=LEGITEXT000006072665&dateTexte=19930104> (Accessed: 1 February 2017).

Code de la santé publique (1998) *LOI no 98-535 du 1er juillet 1998 relative au renforcement de la veille sanitaire et du contrôle de la sécurité sanitaire des produits destinés à l'homme | Legifrance.* Available at: <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000000573437&categorieLien=id> (Accessed: 1 February 2017).

Code de la santé publique (2000) *Décret n°2000-569 du 23 juin 2000 relatif aux produits cosmétiques et modifiant le code de la santé publique (deuxième partie : Décrets en Conseil d'Etat) | Legifrance.* Available at: <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000000400538> (Accessed: 1 February 2017).

Coiffard, L. and Couteau, C. (2017) 'De l'influence de scandales sanitaires sur la réglementation des produits cosmétiques', *Médecine & Droit.* doi: 10.1016/j.meddro.2016.12.001.

Commission Européenne (1993) *Directive Européenne n°93-35 du 14 juin 1993 DU CONSEIL MODIFIANT, POUR LA 6ÈME FOIS, LA DIRECTIVE 7678 CEE CONCERNANT LE RAPPROCHEMENT DES LEGISLATIONS DES ETATS MEMBRES RELATIVES AUX PRODUITS COSMETIQUES | Legifrance.* Available at: <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000000887958&categorieLien=id> (Accessed: 1 February 2017).

Commission Européenne (2005) 'SCIENTIFIC COMMITTEE ON CONSUMER PRODUCTS SCCP Opinion on Furocoumarins in cosmetic products', (December).

Commission Européenne (2012) *Cosing.* Available at: http://ec.europa.eu/environment/nature/invasivealien/index_en.htm.

Commission Européenne (2014) 'Règlement (CE) N°1223/2009 du 30 novembre 2009 relatif

aux produits cosmétiques', 39.

Convention on Biological Diversity United Nations (2010) 'Nagoya Protocol - Access To Genetic Resources and the Fair and Equitable Sharing of', pp. 1–25.

Cosing (2017) *Cosing - CITRUS AURANTIUM DULCIS PEEL OIL EXPRESSED*. Available at: http://ec.europa.eu/growth/tools-databases/cosing/index.cfm?fuseaction=search.details_v2&id=82156 (Accessed: 9 September 2017).

Cosmetic Ingredient Review (2012) 'Decision tree for the safety assessment of botanical cosmetic ingredients'. Available at: [http://www.cir-safety.org/sites/default/files/Botanical Decision Tree CIR June 2012 2.pdf](http://www.cir-safety.org/sites/default/files/Botanical%20Decision%20Tree%20CIR%20June%202012%202.pdf).

Cosmetics Info (2017) *Citrus Aurantium Dulcis (Orange) Peel Oil | Cosmetics Info*. Available at: <http://www.cosmeticsinfo.org/ingredient/citrus-aurantium-dulcis-orange-peel-oil> (Accessed: 9 September 2017).

Council of Europe (2006) *Plants used in cosmetics - Volume III: Potentially harmful components*. Edited by Council of Europe.

Council of Europe (2008) *Safety survey on active ingredients used in cosmetics*. Edited by C. of E. Publishing.

Cramer, G. M., Ford, R. A. and Hall, R. L. (1976) 'Estimation of toxic hazard—A decision tree approach', *Food and Cosmetics Toxicology*, 16(3), pp. 255–276. doi: 10.1016/S0015-6264(76)80522-6.

Desmares, C. and Laurent, A. (2008) 'Produits cosmétiques à base de terpénoides : camphre , eucalyptol , menthol. Recommandations à l'attention des fabricants et responsables de la mise sur le marché', *AFSSAPS*, 33.

Doke, S. K. and Dhawale, S. C. (2015) 'Alternatives to animal testing: A review.', *Saudi pharmaceutical journal : SPJ : the official publication of the Saudi Pharmaceutical Society*. King Saud University, 23(3), pp. 223–9. doi: 10.1016/j.jsps.2013.11.002.

ECHA (2015) 'Read-Across Assessment Framework (RAAF)', p. 38. doi: 10.2823/546436.

ECHA (2016a) *Identification des substances et attribution d'une appellation dans le cadre de REACH*. doi: 10.2823/34252.

ECHA (2016b) 'Règlement CE N°1907/2006 du parlement européen et du conseil : REACH', pp. 1–505.

EcoMundo (2014) *Cosmetic Factory*. Available at: <https://www.ecomundo.eu/fr/logiciels/cosmetic-factory>.

EcoMundo (no date) *SeVe, le 1er logiciel pour l'évaluation de sécurité des extraits végétaux | EcoMundo*. Available at: <https://www.ecomundo.eu/fr/logiciels/extraits-vegetaux-module-cosmetopee> (Accessed: 2 September 2017).

EFEO/IFRA (2015) 'Directives relatives à l'identification de substances et à la similitude des substances naturelles complexes (SNC) en vertu des règlements REACH et CLP', *Fédération européenne des huiles essentielles/Association internationale des matières premières pour la parfumerie*.

EFSA (2012) 'Compendium of botanicals reported to contain naturally occurring substances of possible concern for human health when used in food and food supplements.', *European Food Safety Authority Journal*, 10(5), pp. 2663–2723. doi: 10.2903/j.efsa.2012.2663.

EMA (2017) *European Medicines Agency - Find medicine - Herbal medicines for human use*. Available at: http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/landing/herbal_search.jsp&mid=WC0b01ac058001fa1d (Accessed: 25 June 2017).

ESCOP (2017) *ESCOP - European Scientific Cooperative on Phytotherapy*. Available at: <http://escop.com/> (Accessed: 25 June 2017).

European Commission (2013) 'Guideline on borderline products. Manual on the scope of application of the cosmetics regulation (EC) No 1223/2009 (Art. 2(1)(a))', 2009(1).

European Food Safety Authority (2014) 'Scientific Opinion on a Qualified Presumption of Safety (QPS) approach for the safety assessment of botanicals and botanical preparations 1', *EFSA Journal*, 12. doi: 10.2903/j.efsa.2014.3593.

FDA (2017) 'PART 182 -- SUBSTANCES GENERALLY RECOGNIZED AS SAFE', *CFR - Code of Federal Regulations Title 21*. Available at: <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?fr=182.20&SearchTerm=orange> (Accessed: 6 September 2017).

Franco, P. and Silano, V. (2002) *Plants in cosmetics : Volume I: plants and plant preparations used as ingredients for cosmetic products*. Edited by Council of Europe. doi: 978-92-871-4703-5.

FRANCOPA (2009) 'Etat des lieux des methodes alternatives dans le domaine de l' experimentation animale en france', p. 102.

German Commission (2017) *List of German Commission E Monographs (Phytotherapy)*. Available at: <http://buecher.heilpflanzen-welt.de/BGA-Commission-E-Monographs/> (Accessed: 25 June 2017).

Guerrini, A. (1989) 'The Ethics of Animal Experimentation in the 17th century England-Newlands.pdf'.

Gunstone, F. D. (2011) *Vegetable oils in food technology composition, properties and uses*. Wiley-Blackwell. Available at: https://books.google.fr/books?hl=fr&lr=&id=lnk2tdo8_P4C&oi=fnd&pg=PR11&dq=vegetable+oil+composition&ots=2ZFer7cN_Q&sig=W1Lc17oHokR8fVVFqH76dqNUkKw#v=onepage&q=vegetable+oil+composition&f=false (Accessed: 30 July 2017).

Harrigan, G. G., Glenn, K. C. and Ridley, W. P. (2010) 'Assessing the natural variability in crop composition', *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 58. doi: 10.1016/j.yrtph.2010.08.023.

ICCR (no date) *International Cooperation on Cosmetics Regulation*. Available at: <http://www.iccrnet.org/> (Accessed: 7 February 2017).

JORF (2015) *Arrêté du 25 février 2015 relatif à la qualification professionnelle des évaluateurs de la sécurité des produits cosmétiques pour la santé humaine | Legifrance*. Available at: <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000030361676&categorieLien=id> (Accessed: 31 August 2017).

Kandárová, H. and Letašiová, S. (2011) 'Alternative methods in toxicology : pre-validated and validated methods', 4. doi: 10.2478/v10102-011-0018-6.

Kang, B. H., Bae, W., Kim, S. N., Kim, A. R., Jung, K. M., Kim, E. J. and Lee, J. H. (2012) 'Cosmetic Composition for Inhibiting Hair Loss and Enhanced Hair Growth'. Available at: <https://www.google.com/patents/US20130089632> (Accessed: 9 September 2017).

Khan, I. and Abourashed, E. (2010) *LEUNG'S ENCYCLOPEDIA OF COMMON NATURAL INGREDIENTS*. Wiley.

Kim, S.-H. (1993) 'Teratogenicity study of Scutellariae Radix in rats', 7(3), pp. 73–79.

Kim, T. W., Song, I. B., Lee, H. K., Kim, M. S., Ham, S. H., Cho, J. H., Lim, J. H. and Yun, H. I. (2013) 'Assessment of dermal safety of scutellaria baicalensis aqueous extract topical application on skin hypersensitivity', *Planta Medica*, 79(11), pp. 959–962. doi: 10.1055/s-0032-1328714.

Klimisch, H.-J., Andreae, M. and Tillmann, U. (1997) 'A Systematic Approach for Evaluating the Quality of Experimental Toxicological and Ecotoxicological Data', *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 25(1), pp. 1–5. doi: 10.1006/rtph.1996.1076.

Kroes, R., Renwick, A. ., Cheeseman, M., Kleiner, J., Mangelsdorf, I., Piersma, A., Schilter, B., Schlatter, J., van Schothorst, F., Vos, J. . and Würtzen, G. (2004) 'Structure-based thresholds of toxicological concern (TTC): guidance for application to substances present at low levels in the diet', *Food and Chemical Toxicology*, 42(1), pp. 65–83. doi: 10.1016/j.fct.2003.08.006.

Kroes, R., Renwick, A. G., Feron, V., Galli, C. L., Gibney, M., Greim, H., Guy, R. H., Lhuguenot, J. C. and van de Sandt, J. J. M. (2007) 'Application of the threshold of toxicological concern (TTC) to the safety evaluation of cosmetic ingredients', *Food and Chemical Toxicology*, 45(12), pp. 2533–2562. doi: 10.1016/j.fct.2007.06.021.

Lee, M.-Y., Seo, C.-S., Kim, Y.-B., Shin, I.-S. and Shin, H.-K. (2014) 'Non-clinical safety assessment of Hwangryunhaedok-tang: 13-week toxicity in Crl:CD Sprague Dawley rats', *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. Elsevier Inc., 68(3), pp. 378–386. doi: 10.1016/j.yrtph.2014.01.008.

Lee, Y. C., Hyun, E., Yimam, M., Brownell, L. and Jia, Q. (2013) 'Acute and 26-Week Repeated Oral Dose Toxicity Study of UP446, a Combination of Scutellaria Extract and Acacia Extract in Rats', *Food and Nutrition Sciences*, 4, pp. 14–27. doi: 10.4236/fns.2013.47A003.

Legifrance (2008) *Décret n° 2008-841 du 22 août 2008 relatif à la vente au public des plantes médicinales inscrites à la Pharmacopée et modifiant l'article D. 4211-11 du code de la santé publique*. Available at: <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000019375944&categorieLien=id> (Accessed: 25 June 2017).

Legifrance (2014) 'Arrêté du 24 juin 2014 établissant la liste des plantes, autres que les champignons, autorisées dans les compléments alimentaires et les conditions de leur emploi'.

Lis-Balchin, M. (2006) *Aromatherapy science: a guide for healthcare professionals*. Pharmaceutical Press. Available at: https://books.google.fr/books/about/Aromatherapy_Science.html?id=rGQps9fQX1YC&redir_esc=y (Accessed: 21 May 2017).

'LISTE A DES PLANTES MÉDICINALES' (no date). Available at: http://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/79bb73c47e33895bc274ba006a3150b0.pdf (Accessed: 25 June 2017).

'LISTE B DES PLANTES MÉDICINALES' (no date). Available at: http://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/ff9e38ade00fb57be297f25b380bd3a5.pdf (Accessed: 25 June 2017).

Luque de Castro, M. D. and García-Ayuso, L. E. (1998) 'Soxhlet extraction of solid materials: An outdated technique with a promising innovative future', *Analytica Chimica Acta*, 369(1–2), pp. 1–10. doi: 10.1016/S0003-2670(98)00233-5.

Luque de Castro, M. D. and Priego-Capote, F. (2010) 'Soxhlet extraction: Past and present panacea', *Journal of Chromatography A*. Elsevier B.V., 1217(16), pp. 2383–2389. doi: 10.1016/j.chroma.2009.11.027.

Mone, G. (2014) 'New Models in Cosmetics Replacing Animal Testing', (4), pp. 20–22. doi: 10.1145/2581925.

Munro, I. C., Ford, R. A., Kennepohl, E. and Sprenger, J. G. (1996) 'Correlation of structural class with no-observed-effect levels: A proposal for establishing a threshold of concern', *Food and Chemical Toxicology*, 34(9), pp. 829–867. doi: 10.1016/S0278-6915(96)00049-X.

NAHA (no date) *Exploring aromatherapy, what are essential oil? ...* Available at: <https://naha.org/explore-aromatherapy/about-aromatherapy/what-are-essential-oils/>.

Nardello-rataj, V. and Bonté, F. (2008) 'Chimie et cosmétiques Une longue histoire ponctuée d'innovations', pp. 323–325.

Nohynek, G. J., Antignac, E., Re, T. and Toutain, H. (2010) 'Safety assessment of personal care

products / cosmetics and their ingredients', *Toxicology and Applied Pharmacology*. Elsevier Inc., 243. doi: 10.1016/j.taap.2009.12.001.

Nudrat, F. and Naira, N. (2016) 'Toxic Effects as a Result of Herbal Medicine Intake Toxic Effects as a Result of Herbal Medicine Intake', 3. Available at: <http://www.intechopen.com/books/toxicology-new-aspects-to-this-scientific-conundrum> (Accessed: 9 September 2017).

Nutrition, C. for F. S. and A. (no date) 'Generally Recognized as Safe (GRAS)'. Center for Food Safety and Applied Nutrition. Available at: <https://www.fda.gov/food/ingredientspackaginglabeling/gras/> (Accessed: 18 June 2017).

Observatoire des cosmétiques (2016) *Allergènes "étiquetables" - L'Observatoire des Cosmétiques*. Available at: <http://www.observatoiredescosmetiques.com/pro/actualite/lexique-cosmetique/allergenes-etiquetables-483> (Accessed: 19 July 2017).

OCDE (1997) *OCDE 471 Lignes directrices pour les essais de produits chimiques / Effets sur la santé Essai n° 471: Essai de mutation réverse sur des bactéries*. OECD Pub.

OCDE (2003) 'THE WORKING PARTY ON CHEMICALS , PESTICIDES AND BIOTECHNOLOGY', (44).

OCDE (2004a) *Essai n° 432: Essai de phototoxicité in vitro 3T3 NRU*. OECD Pub.

OCDE (2004b) *Test No. 428: Skin Absorption: In Vitro Method*. OECD Publishing (OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4). doi: 10.1787/9789264071087-en.

OCDE (2012a) *Essai n° 460 : Méthode d'essai de diffusion de fluorescéine pour identifier les substances corrosives et fortement irritantes pour l'œil*. OECD Publishing.

OCDE (2012b) 'The Adverse Outcome Pathway for Skin Sensitisation Initiated by Covalent Binding to Proteins', *OECD environment, health and safety publications*, 33(MAY 2012), pp. 1–16. doi: Series on Testing and Assessment No.168.

OCDE (2013a) *Essai n° 437 : Méthode d'essai d'opacité et de perméabilité de la cornée bovine pour l'identification des produits chimiques i) provoquant des lésions oculaires graves ou ii) ne relevant d'aucune classification pour irritation oculaire ou lésion oculaire*. Éditions OCDE (Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques, Section 4). doi: 10.1787/9789264203853-fr.

OCDE (2013b) *Essai n° 438 : Méthode d'essai sur oeil de poulet isolé pour l'identification des produits chimiques i) provoquant des lésions oculaires graves et ii) ne relevant d'aucune classification pour irritation oculaire ou lésion oculaire grave*. OECD Publishing.

OCDE (2015a) *Essai n° 430 : Corrosion cutanée in vitro : Essai de résistance électrique transcutanée (RET)*. Éditions OCDE (Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques, Section 4). doi: 10.1787/9789264242746-fr.

OCDE (2015b) *Essai n° 435 : Méthode d'essai in vitro sur membrane d'étanchéité pour la*

corrosion cutanée. Éditions OCDE (Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques, Section 4). doi: 10.1787/9789264242814-fr.

OCDE (2015c) *Essai n° 439 : Irritation cutanée in vitro: essai sur épiderme humain reconstitué*. Éditions OCDE (Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques, Section 4). doi: 10.1787/9789264242999-fr.

OCDE (2016a) *Essai n° 431 : Corrosion cutanée in vitro : Essai sur modèle de peau humaine*. Éditions OCDE (Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques, Section 4). doi: 10.1787/9789264264625-fr.

OCDE (2016b) *Essai n° 473: Essai d'aberration Chromosomique In Vitro chez les Mammifères*. Éditions OCDE (Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques, Section 4). doi: 10.1787/9789264264656-fr.

OCDE (2016c) *Essai n° 476 : Essais in vitro de mutation génique sur cellules de mammifères utilisant les gènes Hprt et xpvt*. Éditions OCDE (Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques, Section 4). doi: 10.1787/9789264264816-fr.

OCDE (2016d) *Essai n° 487 : Essai in vitro de micronoyaux sur cellules de mammifères*. Éditions OCDE (Lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques, Section 4). doi: 10.1787/9789264264878-fr.

Parlement Européen (2008) 'RÈGLEMENT (CE) N° 1272/2008 DU PARLEMENT EUROPÉEN ET DU CONSEIL du 16 décembre 2008 relatif à la classification, à l'étiquetage et à l'emballage des substances et des mélanges'. Available at: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/PDF/?uri=CELEX:32008R1272&from=FR> (Accessed: 26 August 2017).

Parlement Européen, U. (2010) 'Directive 2010/63/UE du Parlement Européen et du Conseil du 22 Septembre 2010 relative à la protection des animaux utilisés à des fins scientifiques', *Journal officiel de l'Union Européenne*, 2009, pp. 33–79.

Patlewicz, G., Jeliaskova, N., Safford, R. J., Worth, A. P. and Aleksiev, B. (2008) 'An evaluation of the implementation of the Cramer classification scheme in the Toxtree software', *SAR and QSAR in Environmental Research*, 19(5–6), pp. 495–524. doi: 10.1080/10629360802083871.

Pauwels, M. and Rogiers, V. (2004) 'Safety evaluation of cosmetics in the EU: Reality and challenges for the toxicologist', *Toxicology Letters*, 151(1), pp. 7–17. doi: 10.1016/j.toxlet.2004.01.026.

Pauwels, M. and Rogiers, V. (2010) 'Human health safety evaluation of cosmetics in the EU: a legally imposed challenge to science.', *Toxicology and applied pharmacology*. Elsevier Inc., 243(2), pp. 260–274. doi: 10.1016/j.taap.2009.12.007.

Personal Care Product Council (2016) *Botanicals: cross reference of latin binomials and common names*. Available at: <http://www.personalcarecouncil.org/botanicals-cross-reference-latin-binomials-and-common-names>.

Personal Care Products Council (2010) *What is INCI? | Personal Care Products Council*.

Available at: <http://www.personalcarecouncil.org/public/what-inci> (Accessed: 26 August 2017).

Personal Care Products Council (2016a) *Cosmetics info*.

Personal Care Products Council (2016b) *Cosmetics info*. Available at: <http://www.cosmeticsinfo.org/ingredient-alphabetical>.

Politano, V. T. and Api, A. M. (2008) 'The Research Institute for Fragrance Materials' human repeated insult patch test protocol', *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 52(1), pp. 35–38. doi: 10.1016/j.yrtph.2007.11.004.

Pradesh, U. (2013) 'Benefits of herbal extracts in cosmetics: a review', 4(10), pp. 3746–3760. doi: 10.13040/IJPSR.0975-8232.4(10).3746-60.

Quantin, P., Thélu, A., Catoire, S. and Ficheux, H. (2015) 'Perspectives and strategies of alternative methods used in the risk assessment of personal care products', *Annales Pharmaceutiques Françaises*. Elsevier Masson SAS, 73(6), pp. 422–435. doi: 10.1016/j.pharma.2015.06.002.

Ranganatha, N. and Kuppast, I. J. (2012) 'A review on alternatives to animale testing methods in drug development', 4.

Ranjitha, J. and Vijiyalakshmi, S. (2014) 'Facile methods for the extraction of essential oil from the plant', *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 5(4), pp. 1107–1115. doi: 10.13040/IJPSR.0975-8232.5(4).1107-15.

SCCS (2011) 'Opinion on methyl-N-methylantranilate'. Available at: https://ec.europa.eu/health/scientific_committees/consumer_safety/docs/sccs_o_075.pdf (Accessed: 3 October 2017).

SCCS (2015) 'The SCCS notes of guidance for the testing of cosmetics ingredients and their safety assessment', 9th revision.

SCCS (2017) *All opinions / Scientific Committees*. Available at: http://ec.europa.eu/health/dyna/opinion/index.cfm?query_source=PUBLICHEALTH&searchstring=&sc-opinions-only=false&op=Search&swlang=en&form_build_id=form-lpmh475dfG1a6KnpXxQnlkq8DKIUR7VQvzPD6i9D60I&form_id=nexteuropa_europa_search_search_form (Accessed: 25 June 2017).

Schmidt, B. M. (2012) 'Responsible use of medicinal plants for cosmetics', *HortScience*, 47(8), pp. 985–991.

Struessmann (2008) 'REACH update : specifics for natural', *Cosmetics and toiletries*. Available at: <http://www.cosmeticsandtoiletries.com/regulatory/reach/17385739.html>.

Taiz, L., Zeiger, E., Møller, I. M. and Murphy, A. (2010) *Plant physiology and development*. Available at: <https://global.oup.com/ushe/product/plant-physiology-and-development-9781605352558?cc=fr&lang=en> (Accessed: 6 July 2017).

Teixeira do Amaral, R., Ansell, J., Aptula, N., Ashikaga, T., Chaudhry, Q., Hirose, A., Jaworska, J., Kojima, H., Lafranconi, M., Matthews, E., Milstein, S., Roesler, C., Verma, R., Worth, A. and Yourick, J. (2014) 'In silico approaches for safety assessment of cosmetic ingredients', *Report for the international cooperation on cosmetic regulation*, p. 51. Available at: <http://www.iccrnet.org/topics/>.

The Plant List (2017) *Scutellaria baicalensis Georgi* — *The Plant List*. Available at: <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/kew-188938> (Accessed: 9 September 2017).

U.S. Department of Health and Human Services (no date) *Home - National Toxicology Program*. Available at: <https://ntp.niehs.nih.gov/> (Accessed: 27 June 2017).

U.S. National Library of Medicine (no date a) *Home - PubMed - NCBI*. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/> (Accessed: 27 June 2017).

U.S. National Library of Medicine (no date b) *TOXNET*. Available at: <https://toxnet.nlm.nih.gov/> (Accessed: 27 June 2017).

UNITIS (2013) 'A new hope for plant extracts', *Expression cosmétique N°19*.

Vidal (2010) *Phytothérapie la santé par les plantes*. Sélection du Reader's Digest. Available at: <https://www.leslibraires.fr/livre/1188839-phytotherapie-vidal-la-sante-par-les-plantes-universite-de-paris-nord-diplomes-universitair--selection-du-reader-s-digest> (Accessed: 27 June 2017).

WHO (1999a) 'WHO monographs on selected medicinal plants volume 1', 1.

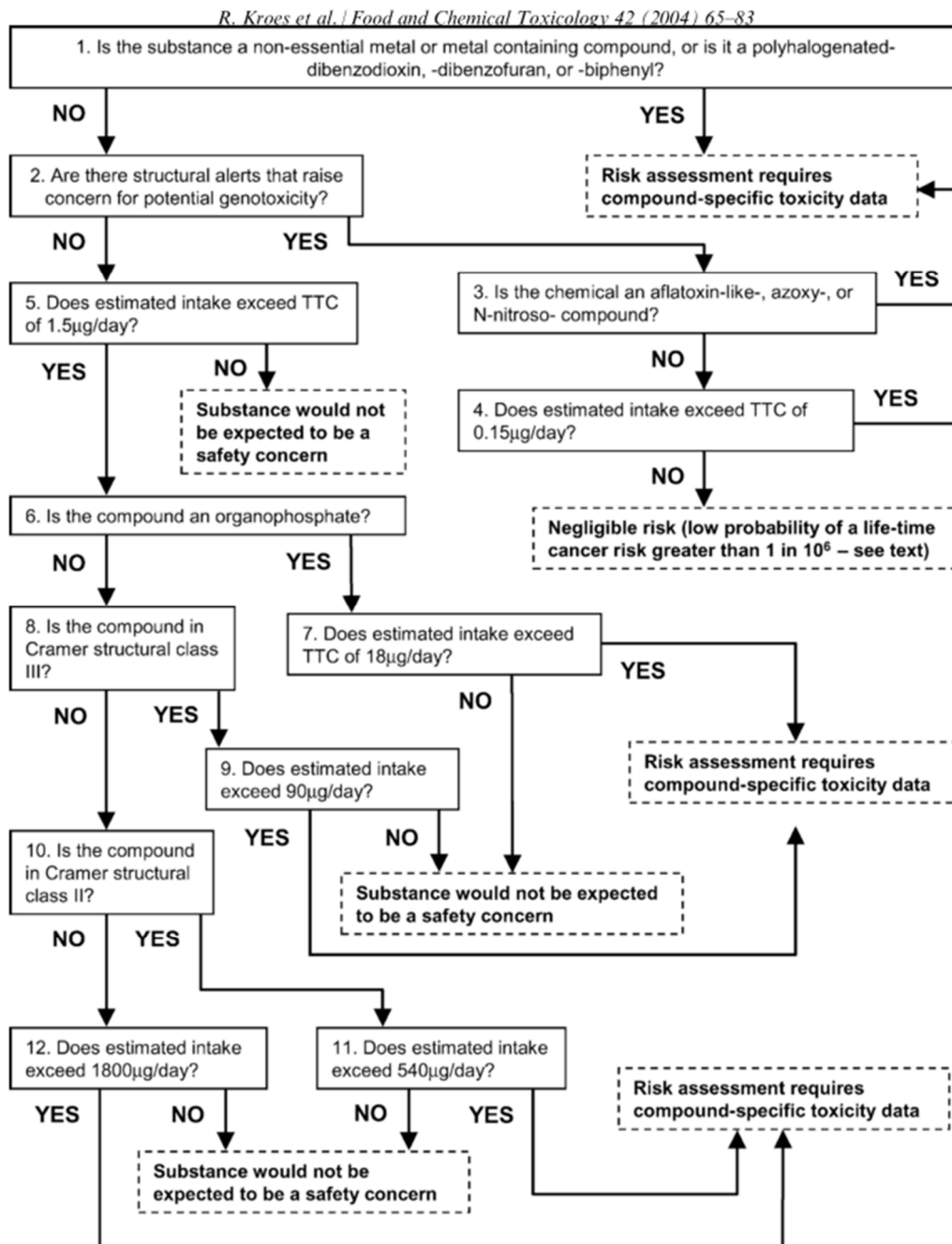
WHO (1999b) 'WHO monographs on selected medicinal plants Volume 2', 1(March).

WHO (2002) *WHO monographs on selected medicinal plants Volume 3*. World Health Organization. Available at: <http://apps.who.int/medicinedocs/fr/d/Js2200e/> (Accessed: 25 June 2017).

WHO (2009) *WHO monographs on selected medicinal plants volume 4*.

Zhao, Q., Chen, X.-Y. and Martin, C. (2016) 'Scutellaria baicalensis, the golden herb from the garden of Chinese medicinal plants.', *Science bulletin*. Springer, 61(18), pp. 1391–1398. doi: 10.1007/s11434-016-1136-5.

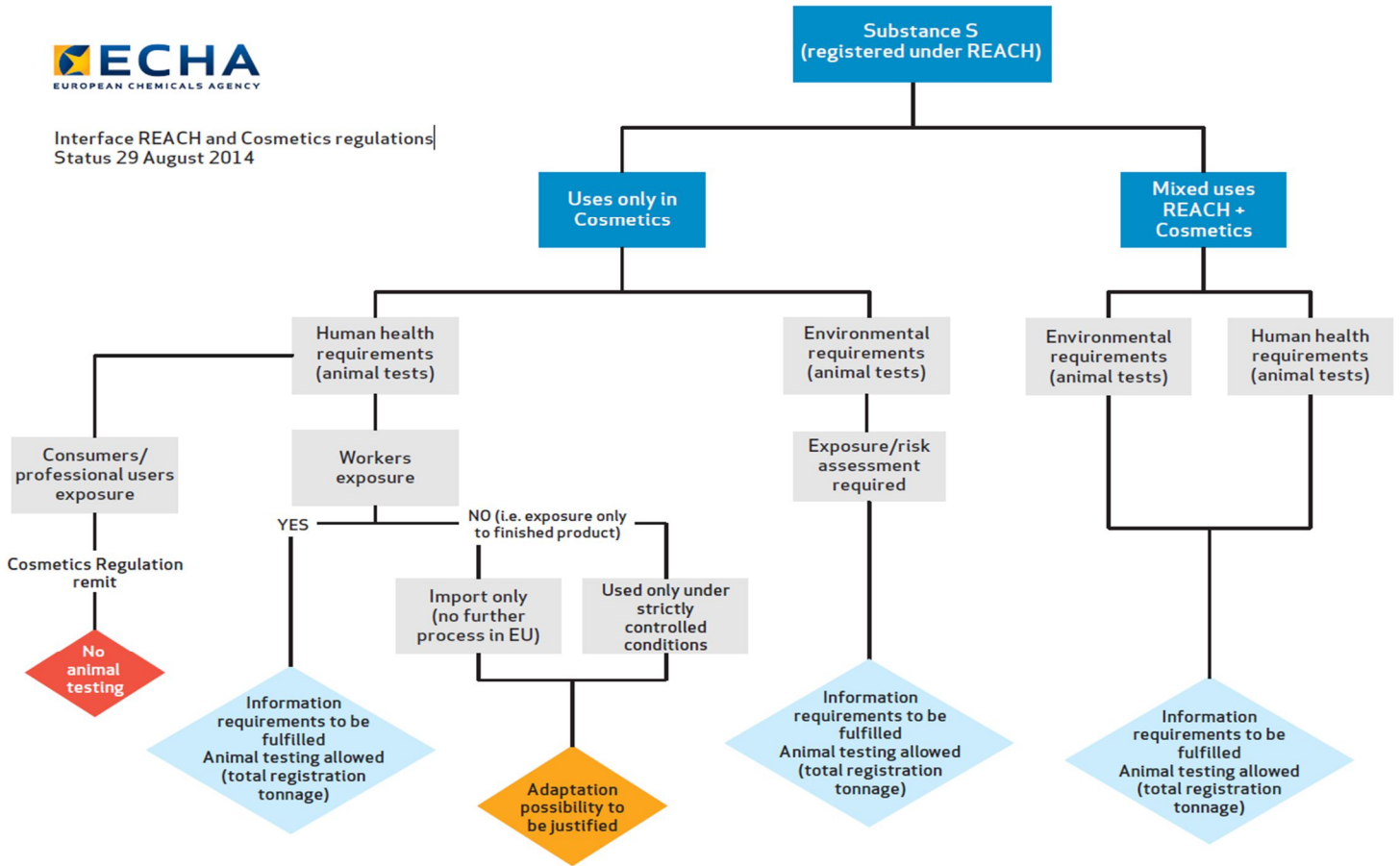
Annexe 1 : Arbre de décision pour les composés de faible masse moléculaire pour lesquels peu de données toxicologiques sont disponibles, présentant différents seuils de préoccupation toxicologique liés à différentes caractéristiques structurales (Kroes *et al.*, 2007).



Annexe 2 : Interface entre le règlement REACH et le règlement cosmétique à propos de l'expérimentation animale (Commission Européenne, 2014)



Interface REACH and Cosmetics regulations
Status 29 August 2014



LE ROUX, Yanna.- Optimisation de l'évaluation de la sécurité des extraits végétaux dans les produits cosmétiques : mise au point préliminaire, outils et cas pratiques.

125 feuilles., 10 figures., 11 tableaux., 30 cm.- Thèse : Pharmacie ; Rennes 1; 2017 ; N° .

Résumé français

Dans le cadre de la nouvelle réglementation cosmétique européenne 1223/2009, une meilleure sécurité et qualité des matières premières et produits cosmétiques sont requises. Alors que les tests sur les animaux sont interdits, et que les méthodes alternatives tardent à apparaître, l'évaluation de la sécurité se complexifie, et plus particulièrement pour les extraits végétaux. Ces derniers représentent une source inépuisable d'innovation en cosmétique. Ils sont de plus grandement plébiscités par les consommateurs qui associent souvent à tort les notions de « naturel » et d'innocuité. Cependant, la caractérisation et donc l'évaluation des extraits est complexe du fait de l'impossibilité de les standardiser. En effet, leur composition peut varier en fonction de la partie de plante utilisée, des conditions géographiques et environnementales, du mode d'extraction... Les informations toxicologiques des fournisseurs sont très souvent lacunaires et les données disponibles dans la littérature ne les complètent pas toujours. L'objet de cette thèse est de proposer une méthodologie ainsi que les bases de données pertinentes afin de faciliter l'évaluation de la sécurité des extraits végétaux.

Résumé anglais

The new European cosmetic regulation 1223/2009 requires better safety and quality of raw materials and cosmetic products. Tests on animals are now forbidden for cosmetics, and sufficient alternative methods are lacking, making the safety assessment of vegetal extracts increasingly complex. Vegetal extracts are an endless source of innovation in cosmetics. Besides, they have a great success among consumers who often believe that natural products are inherently safe. However, with the impossibility to standardize vegetal extracts, appear real difficulties in assessing their safety. As a matter of fact, their composition might vary according to the part of plant used, geographical, environmental and extraction conditions... The supplier's toxicological data are frequently incomplete and available information in the literature is not sufficient. The purpose of this thesis is to propose a methodology as well as relevant databases to optimize the vegetal extracts' safety assessment.

Rubrique de classement : Toxicologie

Mots-clés : Cosmétique, extraits végétaux, évaluation de la sécurité, toxicologie, logiciel.

Mots-clés anglais MeSH : Cosmetic, vegetal extract, safety assessment, toxicology, software.

JURY : Présidente : Mme. Isabelle Morel

Assesseurs : M. David Delmail [directeur de thèse]

M. Thomas Léopold [membre du jury]
