

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
Cécile Le Bihan

**Utilisation des
conservateurs en
cosmétique : un
enjeu de Santé
Publique, une
résonance
médiatique**

**Thèse soutenue à Rennes
le 28 juin 2018**

devant le jury composé de :

Jean-Charles CORBEL

Maître de conférences, Rennes 1/ Président
de jury

Pierre-Yves DONNIO

PU-PH, CHU Rennes/Directeur de thèse

Marion FRADIN

Docteur en pharmacie, Nantes/ Examineur

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

ANNEE 2017-2018

PROFESSEURS

			Pharmacien	HDR	Hospitalo-U
1	BOUSTIE	Joël	X	HDR	
2	BURGOT	Gwenola	X	HDR	X
3	DONNIO	Pierre Yves	X	HDR	X
4	FAILI	Ahmad		HDR	
5	FARDEL	Olivier	X	HDR	X
6	FELDEN	Brice	X	HDR	
7	GAMBAROTA	Giulio		HDR	
8	GOUGEON	Anne	X	HDR	
9	LAGENTE	Vincent	X	HDR	
10	LE CORRE	Pascal	X	HDR	X
11	LORANT (BOICHOT)	Elisabeth		HDR	
12	MOREL	Isabelle	X	HDR	X
13	SERGENT	Odile	X	HDR	
14	SPARFEL-BERLIVET	Lydie	X	HDR	
15	TOMASI	Sophie	X	HDR	
16	URIAC	Philippe	X	HDR	
17	VAN DE WEGHE	Pierre		HDR	
18	VERNHET	Laurent	X	HDR	

PROFESSEURS ASSOCIES

			Pharmacien	HDR	Hospitalo-U
1	BUREAU	Loïc	X		
2	DAVOUST	Noëlle	X		

PROFESSEURS EMERITES

			Pharmacien	HDR	Hospitalo-U
1	CILLARD	Josiane	X	HDR	
2	GUILLOUZO	André		HDR	

MAITRES DE CONFERENCES

Pharmacien	HDR	Hospitalo-U
------------	-----	-------------

1	ABASQ-PAOFI	Marie-Laurence			
2	ANINAT	Caroline	X	HDR	
3	AUGAGNEUR	Yoann			
4	BEGRICHE	Karima			
5	BOUSARGHIN	Latifa		HDR	
6	BRANDHONNEUR	Nolwenn			
7	BRUYERE	Arnaud	X		
8	BUNETEL	Laurence	X		
9	CHOLLET-KRUGLER	Marylène	X		
10	COLLIN	Xavier	X		
11	CORBEL	Jean-Charles	X	HDR	
12	DAVID	Michèle	X	HDR	
13	DELALANDE	Olivier			
14	DELMAIL	David			
15	DION	Sarah			
16	DOLLO	Gilles	X	HDR	X
17	GICQUEL	Thomas	X		X
18	GILOT	David		HDR	
19	GOUAULT	Nicolas		HDR	
20	HITTI	Eric			
21	JEAN	Mickaël			
22	JOANNES	Audrey			
23	LECUREUR	Valérie		HDR	
24	LE FERREC	Eric	X		
25	LE GALL-DAVID	Sandrine			
26	LE PABIC	Hélène			
27	LEGOUIN-GARGADENNEC	Béatrice			
28	LOHEZIC-LE DEVEHAT	Françoise	X		
29	MARTIN-CHOULY	Corinne		HDR	
30	MINET	Jacques	X	HDR	
31	NOURY	Fanny			
32	PINEL-MARIE	Marie-Laure			
33	PODECHARD	Normand			
34	POTIN	Sophie	X		X
35	RENAULT	Jacques	X	HDR	
36	ROUILLON	Astrid			

ASSISTANT HOSPITALO-UNIVERSITAIRE (AHU)

Pharmacien	HDR	Hospitalo-U
------------	-----	-------------

1	BACLE	Astrid	X		X
2	BOUVRY	Christelle	X		X

ATER

1	PALAZZO	Claudio		
2	VICTONI	Tatiana	X	

Remerciements

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

A Monsieur Pierre-Yves Donnio, Directeur de thèse,

Vous avez su, par vos enseignements, me faire apprécier la santé publique. Merci de m'avoir donné la possibilité de faire cette thèse et d'avoir encadré ce travail.

A Monsieur Jean-Charles Corbel, Président de thèse,

Je vous remercie d'avoir accepté de présider ma thèse et de prendre le temps de juger ce travail. Merci pour votre disponibilité et votre gentillesse.

A Madame Marion Fradin, Membre du jury,

Merci d'avoir eu la gentillesse d'accepter d'être membre de mon jury. Merci également pour tous ces conseils et encouragements.

Je souhaite également adresser mes remerciements:

A mon père, qui m'a permis de baigner dans le monde de l'officine dès toute petite et qui m'a donné le goût de ce métier passionnant. Merci de m'avoir redonné confiance en moi et d'avoir été là dans les (nombreux) moments de doute.

A ma mère, sur qui je peux absolument toujours compter. Merci pour ta gentillesse, tes conseils et ta précieuse aide dans les périodes de révisions.

Merci à vous deux de m'avoir donné la possibilité de faire des études longues. Merci d'avoir été là dans les moments heureux comme difficiles. Enfin, merci pour vos conseils, votre amour et votre patience. Merci pour tout.

A ma sœur Pauline, une page entière ne serait pas suffisante pour te remercier. Merci pour cette précieuse complicité que nous avons. Merci pour les fous rires, les longues soirées de conversation, les voyages passés ensemble. Merci Moline.

A Mon frère Antoine et Ma belle-sœur Dorothée, merci pour tous ces bons moments passés ensemble. Merci de m'avoir donné d'adorables neveu et nièce qui me comblent de joie à chaque repas de famille.

A mes amis pharmaciens, Titi, Yanna, Mike et Mike, Isa, Arthur, Nico, Guigui et Massiou, merci pour votre précieuse amitié. Je vous remercie tous pour ces nombreuses soirées et week-end passés en votre compagnie. Merci de nous supporter, moi et mon « cancer de la notion ». Mes années d'étude en pharmacie n'auraient pas eu la même saveur sans vous.

A Sofien, merci d'avoir su me motiver pour rédiger cette thèse. Cette année n'aurait pas été la même sans toi.

Liste des abréviations

AFSSaPS : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché

ANSES : **Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail**

ANSM : Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé

BPF : Bonnes Pratiques de Fabrication

CAS : Chemical Abstracts Service

C2DS : Comité pour le Développement Durable en Santé

CE : Communauté Européenne

CEE : Communauté Economique Européenne

CIR : Cosmetic Ingredient Review

CIRC : Centre International de Recherche sur le Cancer

CMR : Cancérogènes, Mutagènes ou toxiques pour la Reproduction

CPNP : Cosmetics Products Notification Portal

CSP : Code de la Santé Publique

CSSC : Comité Scientifique pour la Sécurité des Consommateurs (SCCS en anglais)

DCI : Dénomination Commune Internationale

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

DIP : Dossier d'Information Produit

ECHA : Agence Européenne des produits CHimiques

EINECS : Inventaire européen des produits chimiques commercialisés

FDA : Food and Drug Administration

INC : Institut National de la Consommation

INCI : International Nomenclature for Cosmetic Ingredients

INSERM : Institut National de la Santé Et de la Recherche Médicale

InVS : Institut de Veille Sanitaire

MCIT : méthylchloro-isothiazolinone

MIT : méthylisothiazolinone

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

RC : Règlement Cosmétique

REACH : Registration, Evaluation, Authorisation and restriction of CHemicals

RSPC : Rapport sur la Sécurité des Produits Cosmétiques

UE : Union Européenne

Liste des tableaux et figures

Figure 1 - Dates clés sur l'interdiction des expérimentations animales	20
Figure 2 - Les formes Galéniques en cosmétologie [16]	25
Figure 3 - Evolution des tests sur les animaux en cosmétologie [28]	37
Figure 4 – « Fiches des molécules toxiques à éviter »- Que Choisir - phénoxyéthanol.....	39
Figure 5 - "Fiches des molécules toxiques à éviter"- Que Choisir - MIT et MCIT	41
Figure 6 - "Fiches des molécules toxiques à éviter"- Que Choisir - triclosan.....	42
Figure 7 - Formule Chimique du paraben	56
Figure 8 - Les parabènes et leur correspondance chimique [49]	57
Figure 9 - Exemple de cosmétique sans parabène adapté aux peaux atopiques.....	60
Figure 10 - Exemple de packaging "airless"	74
Figure 11 – Le système D.E.F.I. par Pierre Fabre	75
 Tableau 1 - Définition des cosmétiques [6]	 15
Tableau 2 - caractéristiques du phénoxyéthanol selon l'ECHA	29
Tableau 3 - Caractéristiques des MIT et MCIT selon l'ECHA.....	31
Tableau 4 - Caractéristiques du triclosan selon l'ECHA	32
Tableau 5 - Législation des MIT	54

Table des matières

Professeurs des Universités.....	2
Maîtres de Conférences des Universités.....	3
Remerciements.....	5
Liste des abréviations.....	7
Liste des tableaux et figures.....	9
Table des matières	10
1. Introduction	13
2. Généralités.....	15
2.1 Les cosmétiques	15
2.1.1 Définition des cosmétiques	15
2.1.2 Réglementation.....	16
2.1.2.1 Avant la mise sur le marché.....	18
2.1.2.2 Après la mise sur le marché.....	21
2.1.3 Galénique.....	23
2.1.3.1 Les Constituants d'un produit galénique.....	23
2.1.3.2 Les formes galéniques	24
2.2 Les conservateurs	25
2.2.1 Rôle des conservateurs.....	26
2.2.2 Réglementation.....	28
2.2.3 Les principaux conservateurs utilisés en cosmétique	29
2.2.3.1 Phénoxyéthanol	29
2.2.3.1.1 Structure.....	29
2.2.3.1.2 Utilisations du phénoxyéthanol	30
2.2.3.2 MIT et MCIT	30
2.2.3.2.1 Structure.....	30
2.2.3.2.2 Utilisations des MIT et MCIT	31
2.2.3.3 Triclosan	32
2.2.3.3.1 Structure.....	32
2.2.3.3.2 Utilisation du triclosan.....	32
2.2.3.4 Formaldéhyde	33
2.2.3.4.1 Structure.....	33
2.2.3.4.2 Utilisation du formaldéhyde.....	33

3. Méthodes d'études de l'impact des conservateurs sur la santé	35
3.1 Notions de toxicologies	35
3.1.1 Evaluation de la sécurité d'un produit cosmétique.....	35
3.1.2 Expérimentation animale et méthodes alternatives	36
3.2 Effets de quelques conservateurs sur la santé	38
3.2.1 Effets du phénoxyéthanol sur la santé	38
3.2.2 Effets des MIT et MCIT sur la santé	39
3.2.3 Effets du triclosan	41
3.2.4 Effets du formaldéhyde	42
4. Réactions aux études publiées	44
4.1 Historique.....	44
4.2 Evolution de la réglementation	51
4.2.1 Réglementation du phénoxyéthanol	52
4.2.2 Réglementation des MIT et MCIT.....	53
4.2.3 Réglementation du triclosan.....	54
4.2.4 Réglementation du formaldéhyde.....	55
5. Cas particulier des parabènes	56
5.1 Les parabènes, conservateurs incriminés	56
5.1.1 Qu'est ce qu'un parabène ?	56
5.1.1.1 Définition et structure	56
5.1.1.2 Principaux parabènes utilisés dans l'industrie	56
5.1.1.3 Mécanisme d'action des parabènes	57
5.1.1.4 Où trouve-t-on les parabènes ?.....	58
5.1.1.4.1 Les parabènes naturels.....	58
5.1.1.4.2 Les parabènes en industrie	58
5.1.2 Etudes de la toxicité des parabènes en cosmétologie	59
5.1.2.1 Hypersensibilité et notion d'accumulation cutanée des parabènes	59
5.1.2.2 Effets oestrogéniques et cancer du sein.....	60
5.1.2.3 Fertilité chez l'homme	62
5.1.2.4 Obésité chez l'enfant.....	64
5.1.3 Evolution de la réglementation des parabènes	64
5.1.4 Conclusion sur les parabènes	66
5.2 Le « sans paraben » : principe de précaution ou stratégie marketing ?	67
5.2.1 L'essor du sans parabène ; quelles conséquences pour le consommateur ? ..	67
5.2.2 La mention « sans parabène ajouté »	67
5.2.3 Polémique des parabènes : les réactions des industries cosmétiques	68

5.2.3.1 L'entrée en crise d'un sujet	68
5.2.3.2 La gestion de crise par les industries cosmétiques	69
5.2.4 Alternatives aux conservateurs classiques : avantages et inconvénients	69
5.2.4.1 Extraits naturels et propriétés antimicrobiennes	69
5.2.4.1.1 Huiles essentielles	70
5.2.4.1.2 Extraits naturels	71
5.2.4.1.3 Les huiles végétales.....	72
5.2.4.2 Alternatives à l'utilisation de conservateurs	72
5.2.4.2.1 Jouer sur la formulation du cosmétique.....	72
5.2.4.2.2 Modifier le packaging du cosmétique	73
5.2.4.3 Conclusion sur les alternatives sans conservateurs	75
6. Conclusion	77

1. Introduction

Depuis que l'Homme existe, il a cherché à améliorer son apparence par différents moyens, les cosmétiques en font partie. Ces derniers étaient d'abord très rudimentaires, ils utilisaient tout simplement de l'argile mais ils se sont perfectionnés au fil des siècles.

Dans l'Antiquité, les Egyptiens, qu'ils soient paysans ou pharaons, employaient de nombreux produits cosmétiques pour des raisons esthétiques mais également pour se protéger du climat chaud et sec. Ainsi, le khôl permettait d'agrandir le regard mais aussi de traiter les irritations oculaires et de prévenir les effets secondaires du soleil sur les yeux. Les huiles parfumées servaient à réhydrater la peau et à lui redonner sa souplesse. Onguents, fards à paupières, baumes pour les lèvres ou encore dentifrices étaient déjà utilisés à cette époque.

Les femmes de la Grèce antique abusaient du maquillage, en particulier les courtisanes et les vieilles femmes qui tentaient de retrouver une seconde jeunesse [1].

Les dérivés à base de plomb, telle la céruse, sont restés à la mode pendant longtemps. En effet, de l'Antiquité au XIX^{ème} siècle, le teint de porcelaine était de rigueur pour les femmes et les hommes de la haute société. Pourtant, certains connaissaient les effets nocifs de la céruse dès le XVI^{ème} siècle, mais ce n'est qu'à partir des années 1770 que ses effets toxiques furent reconnus de tous et condamnés [2].

Après une large période où l'artisanat prédominait, commença l'ère industrielle. A cette époque encore, fin XIX^{ème} et début XX^{ème} siècle, on n'était pas trop regardant sur la composition des cosmétiques et on se souciait peu de la toxicité des ingrédients utilisés.

Il faudra attendre le scandale de l'affaire du talc Morhange dans les années 1970 pour voir apparaître les premières lignes de la réglementation des cosmétiques. Ceux-ci doivent désormais faire rêver, mais en toute sécurité [1].

Alors même que les cosmétiques disposent d'une réglementation toute neuve et bien à eux, le public est mis en garde vis-à-vis de certains ingrédients présentés comme perturbateurs endocriniens et susceptibles d'engendrer des cancers tels que le cancer du sein. En effet, en 2004, une polémique éclate concernant les parabènes, suite à une étude publiée par une chercheuse de l'Université de Reading, Philippa Darbre. Cette polémique a encore des conséquences de nos jours [3].

On le voit, les consommateurs sont désormais de plus en plus sensibilisés à la composition des produits cosmétiques, en particulier via les médias.

Il est donc important pour l'équipe officinale de bien connaître la composition des produits cosmétiques qu'elle est amenée à conseiller, et plus particulièrement les ingrédients faisant l'objet de polémiques ou d'idées reçues, afin de répondre aux interrogations des patients. Parmi celles-ci, la question des conservateurs est particulièrement source d'inquiétude pour le grand public.

C'est dans ce contexte que s'inscrit ce travail, se proposant de faire le point sur les conservateurs, et plus particulièrement sur les parabènes.

Après avoir rappelé, dans un premier temps, la définition des cosmétiques, d'un point de vue réglementaire puis galénique, nous ciblerons plus particulièrement les conservateurs en précisant leur rôle, leur réglementation et les principaux conservateurs utilisés en cosmétique.

Dans un second temps, nous évoquerons l'influence des diverses études et publications sur la réglementation des cosmétiques.

Enfin, nous nous intéresserons au cas particulier des parabènes en étudiant les potentiels effets nocifs qu'ils peuvent avoir sur la santé et l'influence des médias sur les consommateurs. Nous terminerons cette thèse en rappelant les différentes alternatives aux conservateurs classiques en cosmétologie, pas toujours sûrs pour la santé.

2. Généralités

2.1 Les cosmétiques

2.1.1 Définition des cosmétiques

La définition du produit cosmétique est commune à l'ensemble des États membres de l'Union Européenne (article 2 du règlement cosmétique CE n°1223/2009) [4]. Elle est retranscrite, en France, dans le Code de la Santé Publique (article L5131-1) [5].

Un produit cosmétique est défini comme « toute substance ou mélange destiné à être mis en contact avec les 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 ».

Si l'on décortique cette définition, on peut distinguer les trois caractères à vérifier (et à cumuler) pour classer son produit en tant que cosmétique : la forme, la zone d'application, la fonction [6] :

Forme	Application	Fonction
• Substance(s) • Mélange de substances	• Épiderme • Système pileux ou capillaire • Ongles • Lèvres • Organes génitaux externes • Dents • Muqueuses buccales	• Nettoyer • Parfumer • Modifier l'aspect • Protéger • Maintenir en bon état • Corriger les odeurs corporelles

Tableau 1 - Définition des cosmétiques [6]

Les produits destinés à être ingérés, inhalés, injectés ou implantés dans l'organisme ne sont donc pas des produits cosmétiques même s'ils revendiquent une action notamment sur la peau, les dents, la muqueuse buccale et/ou les phanères (cheveux, ongles).

De même, un produit cosmétique ne peut pas être présenté comme ayant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines, le produit relevant dans ce cas de la définition du médicament [4].

Cette définition permet donc 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 alimentaire (exemple des chewing-gums contre la mauvaise haleine) ou encore le domaine des biocides (exemple d'une crème solaire anti-moustique) [4].

Fin 2013, la Commission européenne a d'ailleurs publié une Note d'Orientation sur les frontières entre les réglementations sur les cosmétiques et les biocides (Note for Guidance on Borderlines between the legislation for cosmetics and biocides). Ce texte stipule en effet que "il y a des produits qui ont une fonction primaire cosmétique, et qui ont une fonction biocide tout aussi importante. Ces produits seront régis par la réglementation cosmétique en ce qui concerne leur fonction cosmétique, et par la réglementation biocide en ce qui concerne leur fonction biocide".

Par conséquent, une crème solaire anti-moustique est un cosmétique pour son aspect protection solaire, elle est biocide pour son caractère répulsif des moustiques, et donc soumise au règlement cosmétique européen mais également au Règlement CLP (règlement européen n°1272/2008 modifié, définissant les règles en matière de classification, d'étiquetage et d'emballage des produits chimiques), et bien sûr au "Paquet Sécurité des Produits" (ex-DSGP : Directive sur la Sécurité Générale des Produits).

Il en va de même pour un maquillage de fête pour enfants : c'est un cosmétique, comme tous les produits de maquillage ; mais c'est aussi un jouet, ce qui a des implications en termes de marquage CE ; et il doit aussi satisfaire aux exigences du "Paquet Sécurité des Produits" [6].

Il est donc particulièrement important de qualifier correctement son produit pour connaître la ou les réglementations qui s'y appliquent.

2.1.2. Réglementation

Contrairement aux médicaments, la mise sur le marché des produits cosmétiques ne nécessite pas d'Autorisation de Mise sur le Marché (AMM). De plus, à l'origine, les produits cosmétiques n'étaient soumis à aucune réglementation. C'est l'affaire du talc Morhange qui poussa les autorités à légiférer dans ce domaine.

Cette affaire débute au printemps 1972 par la mort inexpiquée de 36 nourrissons et l'intoxication d'une centaine d'autres. Une enquête menée par l'INSERM établit que ces morts sont dues au talc Morhange et à la présence dans celui-ci d'hexachlorophène, un puissant

bactéricide mais également neurotoxique, en concentration excessive suite à une tragique erreur de manipulation [7]

Ce scandale sanitaire a entraîné une prise de conscience de la part des autorités quant à l'existence de lacunes réglementaires concernant la sécurité des chaînes de production des produits cosmétiques et d'hygiène corporelle.

Aussi, en 1975, la France promulgue la loi n°75-604 du 10 juillet 1975 relative à la fabrication, au conditionnement, à l'importation et à la mise sur le marché des produits cosmétiques et d'hygiène corporelle. Il n'est plus concevable qu'un produit cosmétique puisse nuire à la santé humaine. Cette loi prévoit la constitution d'un dossier déposé auprès de l'Etat pour les produits cosmétiques, ainsi qu'un encadrement des établissements fabricant ou important ce type de produits (Code de la santé publique, 1975).

Un an plus tard, la directive de l'Union Européenne 76/768/CEE concernant le rapprochement des législations des États membres relatives aux produits cosmétiques reprend les mesures de la loi française en précisant certains points.

Mais, une directive devant être transposée au niveau du droit national de chaque État Membre, il existait une certaine hétérogénéité dans la réglementation. C'est pourquoi, la directive cosmétique, de nombreuses fois modifiées, 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). Un règlement étant contraignant, il est directement applicable à tous les États Membres, ce qui permet la mise en place d'une réglementation harmonisée, simplifiée au sein de l'Union Européenne. Ainsi, quel que soit l'État 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 responsabilise également les fabricants quant à la non-toxicité des produits qu'ils mettent sur le marché [1].

Aujourd'hui, le marché des produits cosmétiques est donc soumis à la réglementation européenne transposée en droit français :

- le règlement cosmétique : règlement (CE) n°1223/2009 du Parlement européen et du Conseil du 30 novembre 2009 relatif aux produits cosmétiques, applicable depuis le 11 juillet 2013, et l'ensemble des règlements de la Commission Européenne modifiant ses annexes [8]

- Le code de la santé publique (CSP) [9], 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, ainsi que les articles R.5131-1 à R.5131-15 issus du décret n°2015-1417 du 4 novembre 2015 relatif aux produits cosmétiques et aux produits de tatouage et les articles R.5431-1 à R.5431-3.

Cette réglementation doit s'appliquer avant la mise sur le marché des produits cosmétiques. De même, des obligations sont à respecter après leur mise sur le marché.

2.1.2.1 Avant la mise sur le marché

Les produits cosmétiques mis à disposition sur le marché doivent être sûrs pour la santé humaine lorsqu'ils sont utilisés dans des conditions d'utilisation normales ou raisonnablement prévisibles (article 3 du règlement cosmétique) [4]. Ils ne font pas l'objet d'une autorisation préalable à leur mise sur le marché. Aussi, il appartient à la Personne Responsable associée à chaque produit cosmétique de garantir que ses produits satisfont aux exigences du règlement cosmétique ainsi qu'au code de la santé publique et de garantir qu'ils ne présentent aucun risque pour la santé [8].

A cette fin, il convient de respecter plusieurs étapes :

- Etape 1 : déclarer l'ouverture ou l'exploitation de l'établissement qui assure la fabrication ou le conditionnement, même à titre accessoire, de produits cosmétiques auprès de l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (8).
- Etape 2 : désigner une « personne responsable » (article 4 du règlement cosmétique) : c'est la personne physique ou morale vers qui se tourneront les autorités pour demander des informations. Elle garantit pour chaque produit mis sur le marché sa conformité aux obligations du règlement.
- Etape 3 : s'assurer que la composition du produit est conforme au règlement cosmétique et à ses annexes régulièrement mises à jour, notamment pour les restrictions et interdictions de certaines substances.

Les principales règles relatives à la composition des produits cosmétiques sont les suivantes :

- Le choix des ingrédients contenus dans les produits cosmétiques doit être conforme aux annexes II à VI du règlement cosmétique (article 14 du règlement cosmétique).

En effet, afin de garantir leur sécurité d'emploi et de protéger la santé des consommateurs, la réglementation prévoit des listes de :

- substances interdites dans les produits cosmétiques, au nombre de 1328 (annexe II du règlement cosmétique)
 - substances que les produits cosmétiques ne peuvent contenir en dehors des restrictions prévues (annexe III du règlement cosmétique)
 - colorants que peuvent contenir les produits cosmétiques (annexe IV)
 - agents conservateurs admis dans les produits cosmétiques (annexe V)
 - filtres ultraviolets admis dans les produits cosmétiques (annexe VI).
- L'interdiction de substances classées comme CMR, Carcinogènes, Mutagènes ou toxiques pour la reproduction est explicitée par l'article 15 du règlement cosmétique. Il existe des dérogations sous certaines conditions.
 - Les produits cosmétiques peuvent contenir des nanomatériaux (Définition du règlement cosmétique :« un matériau insoluble ou bio-persistant, fabriqué intentionnellement et se caractérisant par une ou plusieurs dimensions externes, ou une structure interne, sur une échelle de 1 à 100 nm »).
- Toutefois, ils doivent faire l'objet d'une notification spécifique à la Commission Européenne (sauf exceptions prévues à l'article 16 du règlement). Lorsque cette dernière émet des doutes sur la sécurité d'un nanomatériau, le Comité scientifique pour la sécurité des consommateurs (CSSC), qui est un comité d'experts indépendants, peut être amené à donner son avis.
- Etape 4 : Réaliser un Dossier d'Information Produit (DIP) : en cas de contrôle des autorités, un DIP doit être tenu à disposition à une adresse située au sein de l'Union Européenne (UE). Cette adresse est mentionnée sur l'étiquetage du produit [10].
- Ce dossier est conservé pendant une période de dix ans à partir de la date à laquelle le dernier lot du produit cosmétique a été mis sur le marché. Il doit contenir :
- Une description du produit,
 - Un rapport sur la sécurité du produit établi conformément à l'annexe 1 du Règlement Cosmétique, et actualisé en tenant compte des informations complémentaires apparues après la mise sur le marché du produit. Le Rapport sur la Sécurité des Produits Cosmétiques (RSPC) est la partie principale du Dossier d'Information Produit (DIP). Il est divisé en deux parties :

- la partie A qui est l'évaluation de la sécurité du produit et a pour but de prouver l'innocuité du produit cosmétique ;
- la partie B qui conclut l'évaluation, explique la méthode scientifique utilisée, les précautions particulières d'emploi et les références de l'évaluateur [10].
- Une description de la méthode de fabrication et une déclaration de conformité aux bonnes pratiques de fabrication, BPF, définies par la norme NF EN ISO 22716 publiée en 2008. Celle-ci encadre les différentes étapes du processus de fabrication (achats, réception, production, contrôle, stockage, expédition).
- Les preuves de l'effet revendiqué, lorsque la nature ou l'effet du produit cosmétique le justifient.
- Les données relatives aux expérimentations animales : si un essai sur l'animal a été effectué, il est nécessaire de faire figurer dans le Dossier d'Information sur le Produit des informations le décrivant [10].

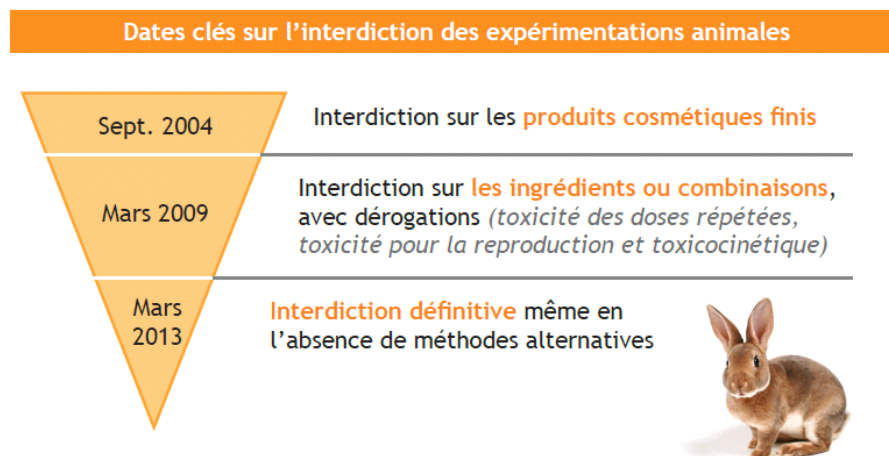


Figure 1 - Dates clés sur l'interdiction des expérimentations animales [10]

- Etape 5 : Notifier à la Commission Européenne un ensemble d'informations sur le produit (catégorie du produit, personne responsable, composition, étiquetage, etc...) par le biais d'un portail informatique commun à l'ensemble des Etats membres, le CPNP (*CosmeticsProducts Notification Portal*). Les centres antipoison ayant accès à ces informations via le portail CPNP, il n'est plus nécessaire de leur communiquer la formule du produit cosmétique [11].

Par ailleurs, les fabricants de produits cosmétiques doivent respecter le règlement REACH (Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals), entré en vigueur le 1er juin 2007 au sein de l'Union Européenne. Ce règlement a pour but de sécuriser la fabrication et l'utilisation des substances chimiques dans l'industrie européenne. Il s'agit de

recenser, d'évaluer et de contrôler les substances chimiques fabriquées, importées, mises sur le marché européen. Fin 2018, plus de 30 000 substances chimiques seront connues et leurs risques potentiels établis ; l'Europe disposera ainsi des moyens juridiques et techniques pour garantir à tous un haut niveau de protection contre les risques liés aux substances chimiques [12]. Le règlement européen REACH transfère des pouvoirs publics à l'industrie la responsabilité de veiller à ce que tous les produits chimiques produits, importés, vendus et utilisés dans l'UE (produits cosmétiques, produits de nettoyage, peintures...) soient sûrs. Il a également pour objet de :

- Promouvoir des méthodes alternatives aux essais sur les animaux ;
- Instaurer un marché unique des produits chimiques;
- Stimuler l'innovation et la compétitivité dans le secteur;
- Établir une Agence européenne des produits chimiques (ECHA) [13]

Les entreprises doivent enregistrer dans une base de données centrale tous les produits chimiques qu'elles fabriquent ou importent en quantités égales ou supérieures à 1 tonne par an (date limite : 1er juin 2018). L'ECHA doit vérifier les informations fournies dans les enregistrements. Cet enregistrement constitue l'élément fondamental du système REACH. Faute d'enregistrement, la substance ne peut être ni manufacturée, ni mise sur le marché européen.

Les entreprises doivent identifier et gérer les risques liés aux substances qu'elles fabriquent et commercialisent dans l'UE. Elles doivent démontrer comment utiliser leurs produits en toute sécurité et informer les utilisateurs de toute mesure de gestion des risques à prendre pour assurer un fonctionnement sécurisé tout au long de la chaîne d'approvisionnement.

Les autorités nationales peuvent restreindre la fabrication ou l'utilisation de certaines substances si elles considèrent que la gestion des risques n'est pas appropriée.

2.1.1.2 Après la mise sur le marché

En complément des règles qui encadrent la fabrication et la commercialisation des produits, les autorités et les fabricants ont mis en place un système de cosmétovigilance.

Celle-ci s'exerce sur l'ensemble des produits cosmétiques après leur mise sur le marché. Elle est encadrée par le règlement cosmétique, notamment l'article 23, et les articles L.5131-5, L.5431-8 et R.5131-6 à R.5131-15 du code de la santé publique (CSP).

En effet, le règlement cosmétique impose la communication des effets indésirables graves survenus suite à l'utilisation de produits cosmétiques. La personne responsable, le distributeur et les professionnels de santé doivent déclarer sans délai à l'ANSM tous les effets indésirables graves dont ils ont connaissance. Selon l'article 2-point p du règlement cosmétique, un effet indésirable grave est "un effet indésirable entraînant une incapacité fonctionnelle temporaire ou permanente, un handicap, une hospitalisation, des anomalies congénitales, un risque vital immédiat ou un décès" [14]. Ils peuvent déclarer également les autres effets indésirables (réactions nocives pour la santé humaine imputables à l'utilisation normale ou raisonnablement prévisible d'un produit cosmétique) dont ils ont connaissance et ceux susceptibles de résulter d'un mésusage (utilisation non conforme à la destination du produit).

Dans ce but, l'ANSM a mis en place des systèmes de recueil de ces signalements et alertes en provenance des utilisateurs, des professionnels de santé et des industriels. Depuis le 13 mars 2017, les professionnels de santé ou les usagers peuvent signaler en quelques clics aux autorités sanitaires tout événement indésirable sur le site signalement-sante.gouv.fr.

Les consommateurs et les professionnels de la beauté, les coiffeurs... peuvent déclarer à l'ANSM tout effet indésirable ainsi que les effets indésirables susceptibles de résulter d'un mésusage [14]. Ces déclarations donnent lieu à des études, puis à la réalisation et au suivi d'actions correctives, en cas de nécessité. En Europe, c'est le CSSC qui se prononce et propose au législateur les nouvelles restrictions. Par ailleurs, en France, la surveillance du marché des produits cosmétiques est assurée par l'ANSM et la Direction Générale de la Concurrence, de la Consommation et de la Répression des Fraudes (DGCCRF) qui mutualisent leurs interventions dans le domaine de l'inspection et des contrôles en laboratoire. Ces contrôles de marché permettent la vérification des obligations applicables prévues par les textes, la vérification des conditions de fabrication et la réalisation de contrôles en laboratoire par les services de l'une et/ou l'autre.

Ces contrôles peuvent aboutir à des recommandations, des rappels à la loi, des demandes de mise en conformité via une lettre d'injonction, des décisions de police sanitaire (DPS) pouvant entraîner la suspension pour une période déterminée ou l'interdiction définitive de produits, et enfin des modifications de la réglementation.

Enfin, l'autorégulation est aussi très présente en cosmétique. Les industriels ayant compris depuis de nombreuses années l'importance de leur image auprès des consommateurs, il arrive souvent qu'ils s'imposent des limites non demandées par le législateur.

Les principales organisations d'industriels dans ce domaine sont américaines et européennes. Aux États-Unis, les industries cosmétiques sont fédérées à travers le PCPC (Personal Care Products Council), en Europe, il s'agit du COLIPA (COmité de Lliaison de la PARfumerie) devenu en 2012 Cosmetics Europe – *The Personal Care Association*.

2.1.3 Galénique

La galénique, qui vient du nom d'un médecin grec Galien (IIe siècle après J.-C.), est la discipline scientifique qui traite des différentes formes que peuvent prendre les produits pharmaceutiques ou cosmétiques.

La forme galénique d'un produit cosmétique correspond donc à l'aspect physique final du produit tel qu'il sera présenté au consommateur lors de son utilisation : baume, crème, gel, pâte, poudre, lait, lotion, mousse, stick...

2.1.3.1 Les Constituants d'un produit galénique

D'un point de vue galénique, un cosmétique est le mélange d'un ou plusieurs actifs avec un ou plusieurs excipients avec un ou plusieurs additifs, le tout contenu dans le conditionnement primaire, parfois associé à un conditionnement secondaire.

1 cosmétique = (1 ou +) actif(s) + (1ou+) excipient(s) +(1ou+) **additif**(s) + conditionnement (emballage) + conditionnement II

e et **ad** = substances auxiliaires.

Les matières premières ne doivent pas être incompatibles pour que le mélange obtenu soit stable (la composition ne doit pas varier jusqu'à sa date de péremption) et homogène (la composition doit être identique quel que soit le lieu de prélèvement au sein du contenant) [1].

- Les Actifs

Ils sont responsables de l'activité cosmétique revendiquée (efficacité, bénéfice, promesse). On peut les classer par type d'efficacité :

- hydratante : urée, acide lactique
- amincissante : caféine, fucus, laminaires
- Antisolaires : filtres
- dépigmentante : acide kojique
- anti-âge : vitamines E et C

Le pourcentage en actifs est généralement de 2 à 3% [15]. Concernant les produits cosmétiques, il n'est pas obligatoire de prouver leur efficacité, par contre, tous doivent démontrer leur absence de toxicité.

- Les Excipients

Un excipient est un ingrédient sans activité cosmétique propre, destiné à la mise en forme galénique d'un actif donné.

En fait, il influence sa biodisponibilité (sa plus ou moins grande pénétration transcutanée) et son action (potentialisation de l'efficacité hydratante, par exemple).

L'excipient a un rôle de diluant (il permet de formuler un cosmétique n'incorporant qu'une faible proportion d'actif). Il joue également un rôle dans l'étalement. L'emploi d'agents filmogènes (excipients facilitant l'étalement) permet d'obtenir des cosmétiques agréables à utiliser.

Ils peuvent être liquides, pâteux, solides ou bien encore gazeux [1]. Ils peuvent être de nature hydrophobe (huiles, cires, acides et alcools gras...), hydrophile (gélifiants) ou amphiphile (tensioactifs) [15]. L'excipient, qui représente une part majoritaire dans le cosmétique (souvent plus de 90%), ne doit être ni toxique, ni irritant, ni allergisant. Il convient qu'il soit inerte vis-à-vis de l'actif, des autres matières premières et du conditionnement. Il devra bien se conserver (ne pas être ranceable, par exemple), être facile à formuler et enfin, il se doit d'être de coût modéré [1].

- Les Additifs

On les appelle aussi adjuvants. Contrairement à l'excipient qui est neutre vis-à-vis des caractères organoleptiques du cosmétique, l'additif est une matière première que l'on ajoute, généralement en faible quantité (<1%), pour améliorer ou modifier certaines propriétés du milieu : couleur, odeur, aspect, saveur.

On distingue les additifs qui vont permettre d'améliorer la conservation (conservateurs antimicrobiens et antioxydants) et ceux qui sont destinés à améliorer les caractères organoleptiques (colorants, aromatisants) [1].

2.1.3.2 Les formes galéniques

De nombreuses formes galéniques sont employées en cosmétologie. On peut les regrouper en 3 catégories :

- les formes aqueuses représentent environ 20% des formes cosmétiques
- les formes anhydres rassemblent environ 20% des produits cosmétiques
- les dispersions dominent sur le marché des cosmétiques, on les retrouve dans environ 60% des produits.

Les dispersions sont formées d'une phase dispersante (= continue, externe) au sein de laquelle se trouve une phase dispersée (= discontinue, interne), fragmentée non miscible à la première, c'est un système multiphasique.

Un des inconvénients de l'emploi des dispersions est leur instabilité. Il est en effet très difficile d'obtenir un équilibre naturel parfait lorsque l'on mélange deux phases non miscibles l'une dans l'autre. Pour cela on retrouvera dans la formulation des composants de base essentiels, piliers de la stabilité des dispersions : les tensioactifs.

Les émulsions représentent la forme galénique la plus utilisée dans le monde de la cosmétologie. On parlera de crèmes ou de laits selon la viscosité.

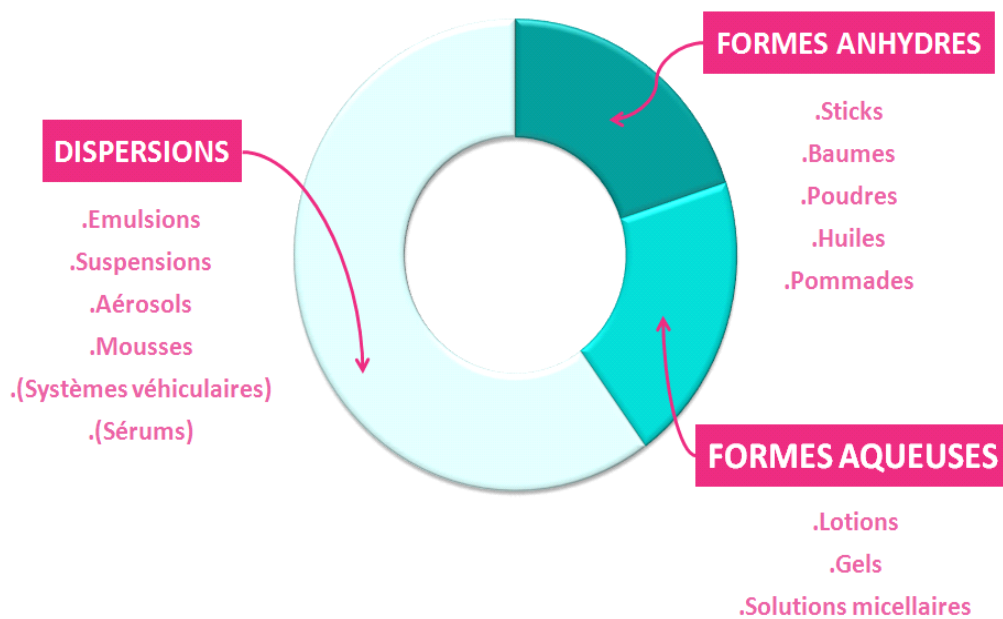


Figure 2 - Les formes Galéniques en cosmétologie [16]

2.2 Les conservateurs

Nous avons vu plus haut que les additifs comprennent, entre autres, des conservateurs antimicrobiens et antioxydants. D'une manière générale, les conservateurs sont des substances qui ont pour but d'augmenter la stabilité des produits cosmétiques. Les conservateurs antimicrobiens empêchent ou limitent la prolifération de micro-organismes, alors que les conservateurs antioxydants permettent d'éviter les phénomènes d'oxydation et de rancissement [1]

L'article 2 (I) du Règlement CE n°1223/2009 du Parlement Européen et du Conseil du 30 novembre 2009 relatif aux produits cosmétiques définit les agents conservateurs comme des « substances qui sont exclusivement ou principalement destinées à empêcher le développement de micro-organismes dans le produit cosmétique ». [4]

Selon cette définition, les antioxydants ne sont pas considérés comme des conservateurs. Nous ferons donc allusion uniquement aux conservateurs antimicrobiens lorsque nous parlerons de conservateurs.

2.2.1 Rôle des conservateurs

Un système de conservation est indispensable dans chaque cosmétique : il met à l'abri des proliférations microbiennes, évitant la détérioration du produit pendant toute sa durée de validité et assurant la sécurité de l'utilisateur.

Ces conservateurs interviennent à plusieurs étapes de la vie du produit cosmétique.

Ils permettent tout d'abord la protection des produits cosmétiques des contaminations pouvant être apportées lors de la production par :

- les matières premières (principes actifs, eau, colorants...)
- les articles de conditionnement
- l'atmosphère des locaux
- le personnel [17]

On parle de contamination primaire où les bactéries du genre *Pseudomonas* sont les plus fréquentes. Cette fréquence s'explique par l'origine hydrique de ces germes. Ils ont également un rôle de protection lors de l'utilisation du produit par le consommateur qui le pollue lors du prélèvement. On parle alors de contamination secondaire, généralement due à des bactéries du genre *Staphylococcus* et à des moisissures [18].

Aux doses employées, les conservateurs ne sont, le plus souvent, pas bactéricides ou fongicides, mais bactériostatiques ou fongistatiques, c'est-à-dire qu'ils ne sont ajoutés que dans le but de limiter la prolifération des micro-organismes [1].

Dans tous les cas, le conservateur doit agir sur les micro-organismes de façon différente selon le conservateur considéré, à un niveau bien déterminé de la structure ou du métabolisme du micro-organisme, appelé site d'action ou cible du conservateur.

L'action peut se situer au niveau de la paroi bactérienne, des membranes, au niveau ribosomal sur la synthèse des protéines, ou au niveau des acides nucléiques et des enzymes associés [19].

Le choix du conservateur (ou mélange de conservateurs) utilisé pour protéger un produit cosmétique se fait selon les critères suivants [15] [18] [20] :

- Spectre d'activité : il doit être le plus large possible (activité vis à vis des bactéries, levures et moisissures). Des mélanges sont souvent utilisés (et vendus tels quels) afin d'atteindre de bons résultats.
- Compatibilité avec le procédé de fabrication, en particulier si une étape de chauffage intervient.
- Solubilité dans l'eau : la phase à protéger en priorité étant la phase aqueuse, car au centre des développements microbiens, le conservateur doit être soluble dans celle-ci à la concentration efficace.
- pH de la formulation : être efficace dans une gamme large de pH. Nombreux sont les conservateurs dont l'activité est liée au pH du milieu. Les phénols et esters de l'acide *p*-hydroxybenzoïque se comportent comme des acides faibles et sont donc moins affectés par le pH. Les conservateurs cationiques sont, quant à eux, plus actifs sous leur forme ionisée.
- Coefficient de partage huile/eau : lorsque la formule à protéger est une émulsion, le conservateur va se partager en fonction de ses solubilités dans la phase aqueuse et la phase lipidique. Afin d'être le plus efficace possible, son coefficient de partage huile/eau doit donc être le plus faible possible.
- Compatibilité avec les autres ingrédients : la présence de certaines matières premières peut abaisser le potentiel antimicrobien des molécules conservatrices. Par exemple certains agents de surface inhiberaient l'activité antimicrobienne par solubilisation micellaire (ex : tensioactifs non-ioniques).
- Compatibilité avec les matériaux de conditionnement : certains matériaux polymériques peuvent adsorber les conservateurs et abaisser ainsi leur concentration effective dans le produit fini.
- sans odeur et sans couleur
- et bien évidemment sécurité.

2.2.2 Réglementation

Comme vu précédemment, on trouve la liste des agents conservateurs admis dans les produits cosmétiques à l'annexe V du Règlement Cosmétique (Annexe 1). Cette annexe énumère 56 conservateurs autorisés dans la formulation cosmétique, leur concentration maximale autorisée dans les préparations prêtes à l'emploi ainsi que d'autres conditions d'emploi et des avertissements. Nous verrons plus loin qu'elle a été modifiée à plusieurs reprises depuis 2009.

Afin de faciliter l'identification des substances, cette liste précise pour chaque conservateur :

- la dénomination commune internationale (DCI) pour les produits pharmaceutiques (OMS, Genève, août 1975)
- la dénomination figurant dans le glossaire des dénominations communes des ingrédients visé à l'article 33 du règlement européen (prise en compte du numéro international INCI).
- le numéro CAS (Chemical Abstracts Service, code de référence appliqué aux substances chimiques, reconnu au niveau international),
- le numéro CE correspondant soit aux numéros de l'Inventaire européen des produits chimiques commercialisés (EINECS), soit aux numéros de la Liste européenne des substances chimiques notifiées (ELINCS), soit au numéro d'enregistrement attribué conformément au règlement (CE) no 1907/2006. (préambule des annexes II à VI)

La dénomination des ingrédients est commune en Europe, aux États-Unis et dans de nombreux autres pays. Le glossaire utilisé est la Nomenclature internationale des ingrédients cosmétiques ou liste INCI (International Nomenclature of Cosmetic Ingredients). Cette standardisation permet de reconnaître facilement les ingrédients dans la plupart des pays.

- les extraits de plante sont donnés sous le nom latin de la plante.
- les noms de molécules et les noms usuels sont donnés en anglais.

Après l'identification des produits, les colonnes suivantes précisent :

- Les conditions : type de produit, parties du corps, concentration maximale dans les préparations prêtes à l'emploi, autres;
- Libellé des conditions d'emploi et des avertissements.

Enfin, on notera que selon les normes européennes, l'étiquetage commun des cosmétiques commence par "INGREDIENTS", puis il est suivi du nom INCI des ingrédients, classés par

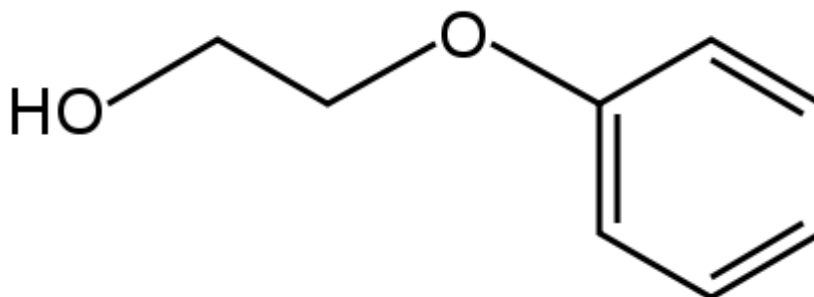
ordre décroissant de quantité dans le produit jusqu'à atteindre la concentration de 1%, et en deçà dans un ordre quelconque. Du fait des faibles doses d'emploi, les conservateurs apparaissent donc le plus souvent en fin de liste [1].

2.2.3 Les principaux conservateurs utilisés en cosmétique

2.2.3.1 Phénoxyéthanol

2.2.3.1.1 Structure

Le 2-phénoxyéthanol est un éther de glycol aromatique dérivé de l'éthylène glycol. Il est directement issu de la distillation du pétrole. Il possède un noyau benzénique et une fonction alcool. Sa formule semi-développée est $C_6H_5O-CH_2-CH_2OH$. On retrouve le phénoxyéthanol à l'état naturel dans le thé vert et la chicorée.



Formule chimique du phénoxyéthanol

Substances chimiques	N°CAS	N°CE	Synonymes	Formes physiques
Phénoxy-2-éthanol <i>C₈H₁₀O₂</i>	122-99-6	204-589-7	Phénoxyéthanol Phénoxytolarosol Phénoxytol 1-Hydroxy-2-phénoxyéthane Éthylène glycol phényléther EGPhE Éther monophénylique de l'éthylène glycol	Liquide huileux incolore

Tableau 2 - caractéristiques du phénoxyéthanol selon l'ECHA

Le phénoxyéthanol est légèrement visqueux, incolore et de faible odeur aromatique. Par ailleurs, il présente une bonne solubilité aqueuse (2,7 g/100 ml à 20°C); la phase aqueuse étant seule sujette à la contamination microbienne. Il est très soluble dans l'alcool, l'éther, l'acétone, le glycérol, le propylène glycol, les solutions de soude et légèrement soluble dans les huiles minérales (CIR, 1990). De plus, il présente une bonne tolérance aux variations de

pH, une compatibilité avec la plupart des matières premières cosmétiques et une grande stabilité [21].

Le phénoxyéthanol a un effet bactéricide avec un mécanisme d'action au niveau de la membrane cellulaire où il provoque une augmentation de la perméabilité aux ions potassium. Il est particulièrement efficace vis-à-vis des bactéries à Gram négatif, dont les *Pseudomonas*. Il présente une activité synergique avec d'autres conservateurs comme les ammoniums quaternaires et les parabènes [22].

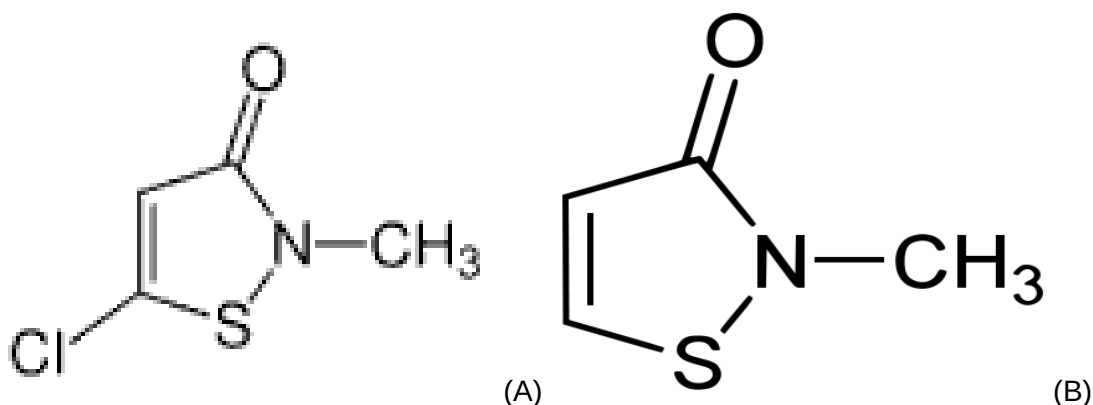
2.2.3.1.2 Utilisations du phénoxyéthanol

Le phénoxyéthanol est utilisé dans plusieurs domaines, en tant que [22] :

- Substance active biocide entrant dans la composition de produits d'entretien ménagers et industriels, de liquides pour systèmes de refroidissement, de produits pour l'industrie mécanique ou métallurgique, de produits pour l'industrie textile, d'agents de conservation à court et long terme pour le stockage de tissus animaux comme un substitut du formaldéhyde ; il est aussi utilisé comme solvant pour peintures, vernis, laques, encres d'imprimerie, colorants...
- Conservateur dans des médicaments à usage humain (vaccins, médicaments administrés par voie cutanée ou rectale : anti sporadique topique, antalgique topique, médicaments cicatrisant des plaies, préparation anti-acnéique...)
- Agent de conservation pour les produits cosmétiques, produits d'hygiène corporelle
- Fixateur de parfums
- Répulsifs d'insectes.

2.2.3.2 MIT et MCIT

2.2.3.2.1 Structure



Formule	Nom	Numéro CAS	Numéro CE	Synonymes
C ₄ H ₄ ClNOS (A)	5-chloro-2-méthyl-4-isothiazolin-3-one	26172-55-4	247-500-7	CMIT, MCI, 5-chloro-2-méthyl-2H-isothiazol-3-one
C ₄ H ₅ NOS (B)	2-méthyl-4-isothiazolin-3-one	2682-20-4	222-239-6	MIT, MI, 2-méthyl-2H-isothiazol-3-one
	Mélange de 5-chloro-2-méthyl-4-isothiazolin-3-one et de 2-méthyl-4-isothiazolin-3-one (3:1)	55965-84-9	Non attribué	CMIT/MIT, mélange de 5-chloro-2-méthyl-2H-isothiazol-3-one et de 2-méthyl-2H-isothiazol-3-one, mélange de chlorométhyl- et méthyl-isothiazolone

Tableau 3 - Caractéristiques des MIT et MCIT selon l'ECHA

Les MIT et MCIT sont issus du groupe des thiazolinones.

2.2.3.2.2 Utilisations des MIT et MCIT

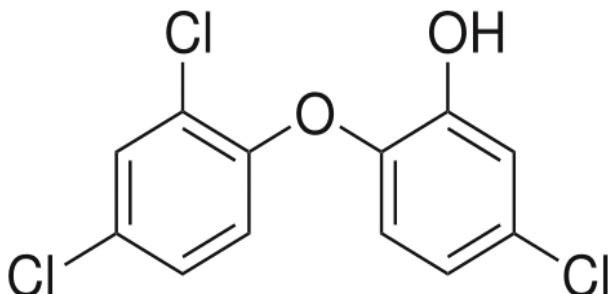
Le méthylisothiazolinone (MIT) et le méthylchloro-isothiazolinone (MCIT) sont de puissants biocides et conservateurs. Ils sont utilisés en particulier en mélange MIT/MCIT dans la proportion de un tiers pour une plus grande efficacité à faible dose.

Le méthylisothiazolinone a été introduit dans les produits cosmétiques en remplacement de certains parabènes jugés dangereux pour la santé. On les trouve dans des produits destinés aux adultes et aux enfants : lingettes, laits corporels, gels douche, soins pour le visage...

2.2.3.3 Triclosan

2.2.3.3.1 Structure

Le triclosan est un composé chimique organochloré de formule brute $C_{12}H_7Cl_3O_2$.



Substances chimiques	N°CAS	N°EINECS	Synonymes	Formes physiques
triclosan $C_{12}H_7Cl_3O_2$	3380-34-5	222-182-2	5-chloro-2-(2,4-dichlorophenoxy)phenol ; <i>2,4,4-trichloro-2-hydroxydiphenyl ether</i>	poudre cristalline blanche

Tableau 4 - Caractéristiques du triclosan selon l'ECHA

Il est utilisé pour ses propriétés antifongiques et antibactériennes à large spectre.

Son activité antibactérienne s'exerce par différents mécanismes : modification de la perméabilité membranaire bactérienne et inhibition de l'activité d'une enzyme intervenant dans la biosynthèse des acides gras de la bactérie [23].

2.2.3.3.2 Utilisation du triclosan

Les sources de triclosan sont exclusivement anthropiques. Le triclosan est utilisé comme conservateur, agent déodorant et biocide. Il entre dans la composition de cosmétiques et produits de soins, de médicaments, d'articles en textile et en plastiques.

D'après le CSSC (2010), en 2006, le triclosan était principalement utilisé dans trois domaines :

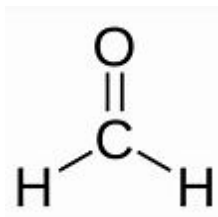
- le traitement des textiles (vêtements, produits de literie) : 5 % ;
- les articles de soin et cosmétiques (savons, dentifrices, bains de bouche, déodorants, parfums) : 85 % ;
- les plastiques, polymères : 10 % (y compris matériaux pour le contact alimentaire)

Les productions et importations européennes de triclosan étaient comprises entre 1 000 et 10 000 tonnes en 2011, d'après l'ECHA. Néanmoins, les récentes sévérations de la réglementation ainsi que l'information croissante des consommateurs de potentiels effets néfastes de cette substance sur la santé, ont entraîné une tendance à la baisse des utilisations du triclosan qui devrait se poursuivre dans les années à venir [24].

2.2.3.4 Formaldéhyde

2.2.3.4.1 Structure

Le formaldéhyde ou méthanal ou aldéhyde formique ou formol (solution aqueuse) est un composé de la famille des aldéhydes, de formule chimique CH_2O .



Il se présente sous forme d'un gaz incolore dégageant une odeur âcre, suffocante. C'est un réactif très inflammable qui peut former des mélanges explosifs avec l'air (en fonction de la température, de la concentration et du milieu).

Il est actif sur de nombreux agents pathogènes (il est bactéricide, fongicide et virucide).

Il agit par création de ponts entre les acides aminés constitutifs des protéines membranaires, ce qui déstabilise de manière irréversible les membranes.

2.2.3.4.2 Utilisation du formaldéhyde

Le formaldéhyde est utilisé comme désinfectant ou biocide (germicide, insecticide, fongicide), comme fixateur de tissus biologiques et comme liant dans des résines. On le retrouve dans les produits de bricolage, d'entretien, dans les revêtements de murs, de sols ou de meubles, dans les plastiques, dans la fumée de tabac... Il entre dans la composition de 5 % des produits chimiques.

Les expositions au formaldéhyde sont à la fois professionnelles et environnementales. Elles se produisent dans plus d'une centaine de milieux professionnels et une grande diversité de secteurs d'activités : vétérinaire, cosmétique, médical, industries, agriculture... Plus de 190 000 travailleurs seraient aujourd'hui exposés au formaldéhyde. Les expositions les plus fortes se trouvent dans les secteurs de la santé (anatomopathologistes), de l'agriculture, de l'industrie

chimique et des pompes funèbres (embaumeurs), mais aussi dans la fabrication du papier ou de certaines résines.

Le formaldéhyde constitue l'un des polluants de l'air des lieux de vie car les sources y sont multiples : produits de construction, ameublement, produits détergents... Il est également émis naturellement lors de tout phénomène de combustion (feux, fumée de cigarette) et lors d'activités anthropiques (cuisson des aliments, poêle à bois). Sa concentration dans l'air des logements est jugée importante en France. Il est recommandé pour la réduire de bien aérer son logement [25].

Les solutions de formaldéhyde à une concentration variant généralement de 30 à 50 % en poids sont utilisées comme agent désinfectant et conservateur dans de nombreuses préparations [26] :

- Produits cosmétiques (shampoings, désinfectants, savons...)
- Produits d'entretien ménagers
- Produits industriels de désinfection et de nettoyage
- Agent antimicrobien dans les fluides de coupe
- Produits à usage médical et paramédical (liquide de Bouin, désinfectant, bactéricide...)
- Produits vétérinaires (bactéricides, virucides, fongicides, conservateurs pour les fourrages ensilés...) ;
- Liquide aseptisant utilisé lors d'embaumements.

Dans le domaine de la cosmétique, on trouve du formaldéhyde dans certains produits cosmétiques de lissage capillaire essentiellement destinés à un usage professionnel. L'utilisation de ces produits prévoit en général des techniques à chaud réalisées à l'aide de plaques en céramique chauffées à des températures très élevées. Or, ces techniques utilisées par les professionnels de la coiffure peuvent entraîner la présence dans l'air ambiant de formaldéhyde en quantité d'autant plus importante que le nombre de lissages est élevé et que l'aération est insuffisante. Les concentrations retrouvées sont souvent supérieures aux limites réglementaires et pourraient atteindre 11,8% [27]. Le formaldéhyde possède également des propriétés de durcisseur, utilisées notamment pour les ongles.

3. Méthodes d'études de l'impact des conservateurs sur la santé

Parmi les substances officiellement répertoriées dans les conservateurs, certains composés ont fait la preuve de leur efficacité et de leur innocuité. D'autres sont plus controversés, associés à des effets indésirables et se révélant parfois irritants, allergisants ou éventuellement dotés d'un potentiel toxique pour l'organisme.

3.1. Notions de toxicologie

3.1.1 Evaluation de la sécurité d'un produit cosmétique

Le règlement cosmétique n°1223/2009 ne précise pas comment mettre en application les notions de sécurité et de toxicologie des produits cosmétiques. En effet, il faut se référer au guide du SCCS.

Avant les années 1960, on considérait qu'un produit cosmétique ne restait qu'en surface du corps humain. C'est pourquoi on a surtout évalué les effets locaux. Aujourd'hui, on sait qu'un passage systémique existe. On a donc mis au point des tests pour évaluer la pénétration cutanée ainsi que la toxicité systémique des substances. Les modèles animaux ont été énormément utilisés pour quantifier la toxicité des ingrédients et des produits cosmétiques mais depuis 2013 en Europe, les expérimentations animales sont totalement interdites. Il a donc fallu trouver des méthodes alternatives en plein essor actuellement.

L'évaluation du risque pour les produits cosmétiques se distingue d'autres produits pour trois raisons :

→ Il n'y a pas d'autorisation de mise sur le marché. Donc l'entière responsabilité de la sécurité des produits revient 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 passe toujours en trois étapes principales :

- Évaluation du danger : On identifie le danger et on évalue la relation dose-réponse.
- Évaluation de l'exposition : A quelle fréquence est-on exposé à la substance ?
- Caractérisation du risque : il s'agit d'évaluer si le risque est maîtrisé pour l'utilisation de la substance.

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 quantifiant leur exposition et les zones corporelles sur lesquelles le produit est appliqué et de la population à laquelle il est destiné. Pour résumer, la notion de 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.

3.1.2 Expérimentation animale et méthodes alternatives

Chaque année, des millions d'animaux dans le monde sont utilisés pour la recherche ou le développement de nouveaux produits chimiques et médicaux. L'éthique animale est un sujet qui fait débat. On s'interroge à la fois sur le bien-être des animaux, mais également sur la fiabilité des tests qu'on leur impose et leur applicabilité à l'Homme. C'est pourquoi, 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. Cependant cette interdiction n'était que partielle : elle concernait tous les effets sur la santé humaine à l'exception de la toxicité des doses répétées, la toxicité pour la reproduction et la toxicocinétique. La Commission européenne a en effet rappelé que le "remplacement total des essais sur les animaux par d'autres méthodes n'était pas encore possible" et qu'elle contribuerait à soutenir la recherche pour trouver des méthodes substitutives. Elle a par conséquent affecté 238 millions d'euros à ces travaux de recherche, entre 2007 et 2011, et indiqué qu'elle poursuivrait ses efforts dans ce domaine. L'interdiction totale d'expérimentation sur les animaux pour les produits cosmétiques vendus en Europe est finalement entrée en vigueur le 11 mars 2013, indépendamment de la disponibilité de méthodes alternatives [28].

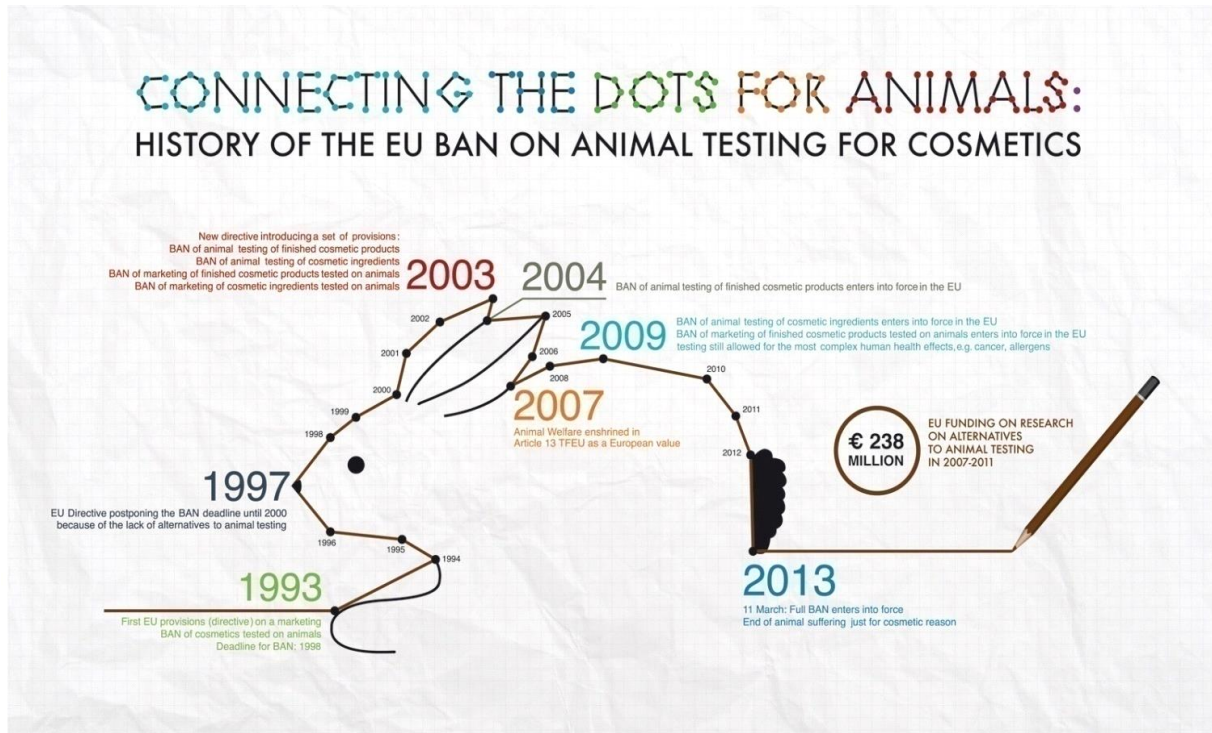


Figure 3 - Evolution des tests sur les animaux en cosmétologie [28]

Mêmes si elles sont insuffisantes, les méthodes alternatives sont d'ores et déjà utilisées en cosmétologie et variées. Il existe des modèles *in silico*, c'est-à-dire via la modélisation mathématique et la simulation informatique, des modèles *in vitro* utilisant des cellules ou des tissus obtenus via des cultures cellulaires, ainsi que des méthodes utilisant des organismes alternatifs ou des méthodes *ex vivo*.

Les méthodes dites *in vitro* consistent à faire se développer dans un milieu de culture des cellules, des tissus ou organes humains particuliers pour étudier leur réponse à la substance testée. La rapidité et le coût moindre de ces méthodes sont leurs principaux avantages. Ces méthodes sont utilisées en routine pour vérifier la toxicité et l'efficacité de certaines substances. De nos jours, tous les types cellulaires humains sont cultivables.

Les méthodes utilisant des organismes alternatifs se sont développées suite aux restrictions quant à l'usage de vertébrés pour l'expérimentation. D'autres espèces vivantes ont alors été utilisées comme les vertébrés inférieurs et les invertébrés. Ces derniers sont largement utilisés pour étudier de nombreux phénomènes (comme le vieillissement cutané, la cicatrisation...). Ils ont pour avantages d'avoir un cycle de vie court, une petite taille et une anatomie simple. Un grand nombre d'invertébrés peuvent être utilisés dans une même expérience, avec des résultats rapidement obtenus. Ces méthodes sont également peu coûteuses.

Les études *ex vivo* 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 [29].

3.2 Effets de quelques conservateurs sur la santé

Comme nous l'avons vu dans la première partie, les conservateurs sont des substances incorporées aux cosmétiques pour en accroître la stabilité grâce à une augmentation de la qualité microbiologique. Ils limitent la prolifération de micro-organismes (bactériens, fongiques) dans les cosmétiques permettant au consommateur d'avoir un produit plus sûr. Pourtant, de nombreux conservateurs sont au centre de polémiques.

Dans cette partie, nous étudierons les effets nocifs suspectés et/ou avérés de certains conservateurs : le phénoxyéthanol, les MIT et MCIT, le triclosan et le formaldéhyde. Les parabènes seront étudiés dans la dernière partie.

3.2.1 Effets du phénoxyéthanol sur la santé

Il existe peu de données sur la potentielle toxicité du 2-phénoxyéthanol chez l'homme. Pourtant, le phénoxyéthanol est une des bêtes noires des consommateurs. En effet, de nombreux articles de presse lui reprochent [30] :

- d'être fortement toxique pour l'Homme, avec des effets qui se traduisent par des stérilités, des anomalies de la durée ou de la régularité des cycles menstruels, des difficultés à concevoir, des avortements spontanés, des dommages pour l'embryon, des malformations congénitales...
- d'avoir une toxicité hépatique (car sa métabolisation passe par le foie) et neurologique. Cette toxicité serait d'autant plus importante chez le fœtus et l'enfant en bas âge. De plus, le phénoxyéthanol étant moins puissant que d'autres conservateurs, sa concentration doit être plus importante dans les cosmétiques pour être efficace.
- Enfin, ce conservateur aurait également un fort pouvoir allergisant et irritant au niveau cutané et oculaire. Il pourrait provoquer eczéma et urticaire chez certains.

L'association UFC-Que choisir fait d'ailleurs figurer ce conservateur sur sa liste des molécules toxiques à éviter du fait de son caractère toxique pour le foie.



Figure 4 – « Fiches des molécules toxiques à éviter »- Que Choisir - phénoxyéthanol

Cependant, voici les conclusions publiées par l'ANSM en 2012, suite à une étude sur l'évaluation du risque lié à l'utilisation du phénoxyéthanol dans les produits cosmétiques [21].

Les études toxicologiques disponibles ont montré que le phénoxyéthanol est absorbé par voie orale et cutanée, il est essentiellement métabolisé par le foie en acide 2-phénoxyacétique et éliminé par les urines.

Ces études ont montré que le phénoxyéthanol présente une faible toxicité aiguë pour l'animal, il n'est ni irritant pour la peau, ni sensibilisant, mais provoque une irritation oculaire modérée à sévère.

Une exposition répétée induit un effet variable selon les espèces : hématotoxicité chez le lapin, hépatotoxicité chez le rat. Il ne semble pas présenter de potentiel génotoxique *in vitro* ou *in vivo*, mais est suspecté d'être toxique pour la reproduction et sur le développement à fortes doses chez l'animal. Toutefois, aucune publication de tels effets systémiques attribuables au phénoxyéthanol, suite à l'utilisation de produits cosmétiques, n'a été rapportée chez l'homme.

À ce jour, et en l'état actuel des connaissances, excepté quelques rares effets indésirables locaux rapportés, il n'existe pas de publication de cas d'effets systémiques attribuables au phénoxyéthanol consécutivement à l'utilisation de produits cosmétiques chez l'Homme.

3.2.2 Effets des MIT et MCIT sur la santé

La MIT, et à un moindre degré la MCIT, sont accusés d'être allergisants. Le mélange méthylchloroisothiazolinone/méthylisothiazolinone (MCI/MI) connu aussi sous le nom commercial de Kathon CG ® a été largement utilisé dans un rapport 3:1 comme agent

conservateur dans les années 70 et a donné lieu à une épidémie de dermatites de contact allergiques en Europe, avec une prévalence variant de 3 à 8 % [31].

Dès 1989, la concentration maximale autorisée en MCI/MI a donc été fixée à 0,0015% en Europe dans les produits cosmétiques. Ces recommandations ont conduit à une réduction du taux de sensibilisation de contact, mais à partir des années 2000, la prévalence de la sensibilisation de contact au MCI/MI a de nouveau augmenté atteignant les 4% en 2011 [32]. Cette augmentation s'explique par la réduction de l'utilisation de conservateurs tels que les parabènes et le formaldéhyde sous la pression des consommateurs, mais aussi parce que le "successeur " du MCI/MI, le méthyldibromoglutaronitrile a été rapidement interdit dans les cosmétiques dès 2008, en raison de son pouvoir sensibilisant et de l'impossibilité de déterminer une concentration "sûre" d'utilisation [33].

Allergène de l'année ! C'est la peu enviable distinction reçue en 2013 par la methylisothiazolinone (MIT). Une société savante de dermatologues américains (American contact dermatitis society) désigne ainsi chaque année l'ingrédient qui a fait le plus de dégâts chez les patients.

En octobre 2014, le MIT a fait l'objet d'un communiqué de la société française de dermatologie s'alarmant d'une augmentation significative de cas de sensibilisation à la molécule ces dernières années (multipliée par trois entre 2010 et 2012). Le MIT est en effet un fort sensibilisant. Plusieurs publications signalent l'apparition, en particulier chez les jeunes enfants, de lésions de type eczéma au niveau du visage ou du siège ou de dermatite de contact chez les esthéticiennes.

Le MCIT, moins allergisant, n'est utilisé qu'en association avec le MIT.

La commission européenne a donc recommandé, en septembre 2014, une interdiction du mélange MIT/MCIT dans les produits sans rinçage ou les laits corporels. La concentration maximale autorisée de MIT pour les produits rincés (shampoings, gel douche) est de 0,0015% (15ppm) Ces mesures sont applicables depuis juillet 2015.

Illustration d'une mesure réglementaire appliquée à l'officine :

En avril 2018, les titulaires d'officine reçoivent un communiqué du laboratoire Pierre Fabre leur demandant de retirer certains produits contenant de la MIT.

« Le règlement (UE) 2017/1224 de la commission du 06 Juillet 2017 modifiant l'annexe V du règlement (CE) no 1223/2009 du Parlement européen et du Conseil relatif aux produits cosmétiques, a modifié les conditions d'utilisation de la méthylisothiazolinone dans les produits cosmétiques rincés.

Dans l'éventualité où vous auriez encore quelques anciens produits en stock (modèles de vente et échantillons) ces produits rincés, contenant plus de 15ppm de méthylisothiazolinone», doivent être retirés de la vente au 27 Avril 2018 »

Le mélange MCIT/MIT figure également parmi les fiches des molécules toxiques à éviter (Que choisir) du fait de leur caractère allergène.

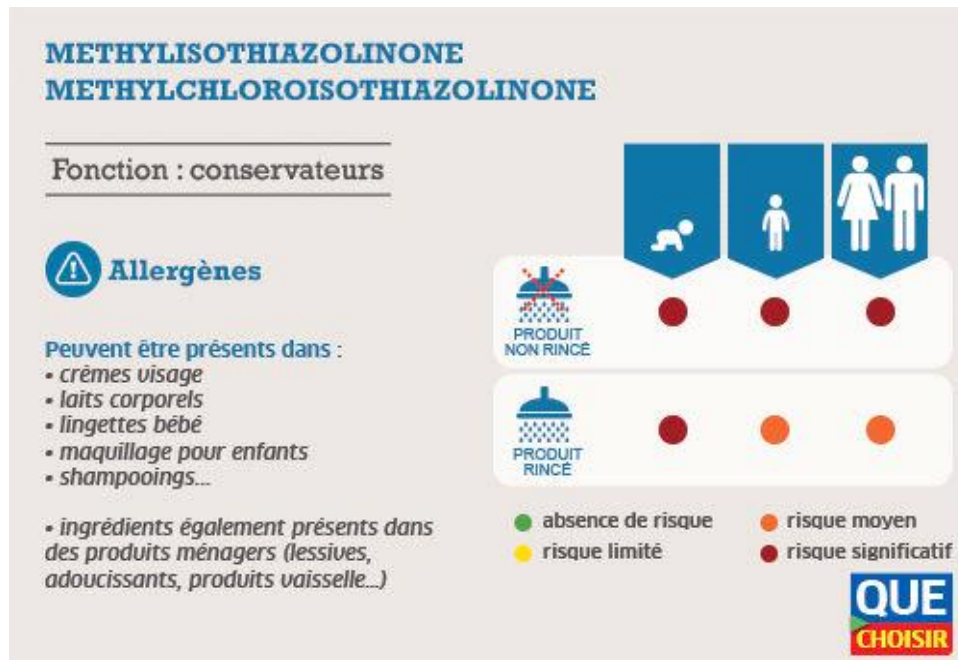


Figure 5 - "Fiches des molécules toxiques à éviter"- Que Choisir - MIT et MCIT

3.2.3 Effets du triclosan

Bien qu'utilisé en application locale, des traces de triclosan sont retrouvées dans les urines, le sang ou le lait maternel, ce qui montre un passage systémique.

Après avoir été utilisé pendant plus de trente ans, apparemment sans problème, dans d'innombrables produits antibactériens et cosmétiques, notamment des savons assainissants, des dentifrices et des déodorants, le triclosan est aujourd'hui mis en cause par de nombreux travaux scientifiques.

Il est notamment suspecté d'agir comme un perturbateur endocrinien, au même titre que les parabènes, les phtalates ou le bisphénol A. En interférant avec le fonctionnement du système hormonal, il favoriserait le développement de certains cancers, de malformations congénitales, altérerait la fertilité humaine, et pourrait avoir un effet sur la croissance des garçons à la suite

d'une exposition maternelle. Les effets néfastes de ce composant ne se limitent pas aux risques de dérégulation de notre système hormonal [34].

Un autre effet du triclosan serait l'induction de résistances aux biocides et antibiotiques. Ces données issues d'études *in vitro* ont été jugées insuffisantes, en 2006 puis en 2010, par les autorités européennes de santé pour confirmer un tel risque et nécessitent des travaux supplémentaires.

Il aurait également une incidence sur la contraction musculaire, en particulier celle du muscle cardiaque. En effet, la publication en juillet 2012 de Cherednichenko *et al.* (2012) a mis en évidence un effet du triclosan sur le mécanisme de contraction des muscles chez la souris et sur des larves de poisson. Les auteurs estiment que, si ce même effet se retrouvait chez l'homme, la contraction musculaire cardiaque et squelettique serait affaiblie et que cela pourrait présenter un risque pour la santé humaine aux doses d'exposition actuelle. Après analyse de cette étude, l'ANSM considère qu'avant de conforter de telles conclusions une réévaluation du triclosan doit être conduite. En effet, de nombreuses études, menées chez l'Homme, le chien et le singe et rapportées dans l'avis du CSSC, n'ont pas montré d'effet sur l'électrocardiogramme, ni sur la contraction musculaire. [35]

Enfin, il pourrait être un promoteur de tumeur hépatique d'après une étude américaine menée chez la souris, mais la Food and Drug Administration (FDA) a jugé les preuves insuffisantes.

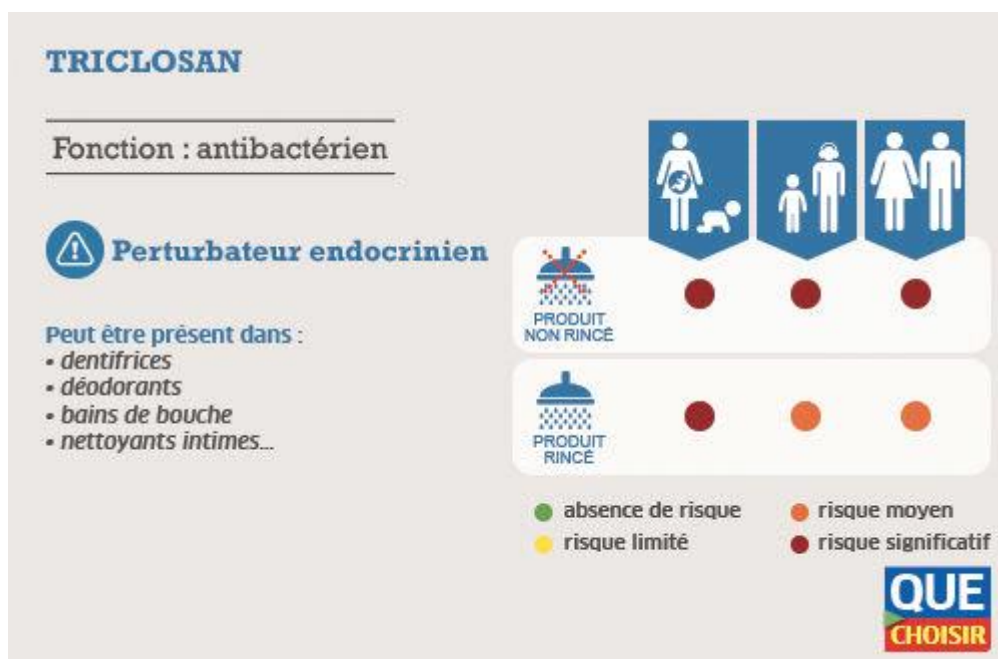


Figure 6 - "Fiches des molécules toxiques à éviter"- Que Choisir - triclosan

3.2.4 Effets du formaldéhyde

Le formaldéhyde est une substance connue pour son potentiel sensibilisant et allergisant.

Ses effets toxiques s'exercent par voie aérienne et localement par exposition directe : exposition des voies respiratoires, des voies oculaires, des oreilles, des organes intestinaux et de la peau.

En juin 2004, le Centre international de recherche sur le cancer (CIRC) a modifié la classification du formaldéhyde le faisant passer de la catégorie « substance probablement cancérogène pour l'homme » (groupe 2A) à « substance cancérogène avérée pour l'homme » (groupe 1) pour les cancers du nasopharynx par inhalation, sur la base d'études épidémiologiques en milieu du travail. Suite à ce classement, l'ANSES a réalisé une série de travaux d'expertise s'intéressant à la population générale et aux travailleurs. Elle a également déposé en 2011, auprès de l'Agence européenne des substances chimiques, une proposition de révision de la classification européenne du formaldéhyde en vue d'un classement cancérogène plus sévère [25].

Depuis 2009, le cancer du nasopharynx est reconnu comme maladie professionnelle (préparation du formol, utilisation dans certains laboratoires, vernissage des parquets, etc), sous réserve d'une exposition de 5 ans liée à certains travaux (préparation du formol, utilisation dans certains laboratoires, vernissage de parquets, travaux d'extinction d'incendies...). Le délai de prise en charge a été fixé à 40 ans.

Les organes touchés par les effets toxiques du formaldéhyde sont :

- certaines muqueuses (nez, gorge, pharynx), les premières touchées lors d'exposition chroniques ou d'exposition temporaires à des taux plus élevés de vapeurs de formaldéhyde, avec risque de cancers des sinus et de la cavité nasale...
- les poumons, avec de possibles crises d'asthme, généralement pour une teneur de l'air dépassant 3 ppm chez les individus normaux,
- la peau : phénomènes d'allergies et sensibilisation de la peau sont possibles (eczéma de contact),
- Les yeux ; avec un caractère irritant du formaldéhyde au-delà de certaines doses.

Il serait également suspecté dans la survenue de leucémies.

En ce qui concerne la nocivité du formaldéhyde dans les produits cosmétiques, il présenterait de nombreux inconvénients : « il est irritant, allergisant et toxique » [1]. Il est interdit dans les aérosols du fait de sa carcinogénicité par inhalation. Tous ces aspects négatifs ont amené à le remplacer par des générateurs ou libérateurs de formol, qui en solution aqueuse libèrent la

molécule de formaldéhyde. Ces précurseurs ont l'avantage de provoquer une moindre irritation, présentent une plus faible toxicité et offrent une plus grande compatibilité avec les autres ingrédients [18]. On constate toutefois des sensibilisations qui justifient d'éviter soigneusement ces générateurs de formol [1].

4. Réactions face aux études publiées

4.1. Historique

S'il est indéniable que les différentes affaires sanitaires qui ont eu lieu en France depuis une quarantaine d'années ont largement influencé la réglementation des produits cosmétiques, on peut également affirmer que les études menées par les médias, les associations de consommateurs ou des scientifiques ont fait pression sur le législateur. Inversement, l'intérêt pour le risque sur la santé publique étant de plus en plus présent dans les débats sociaux et environnementaux, les hommes politiques ont parfois largement répondu à cette préoccupation sociale majeure.

Nous avons déjà évoqué l'affaire du talc Morhange qui a été à l'origine de la réglementation sur les produits cosmétiques en France (loi n°75-604 du 10 juillet 1975, sous Simone Veil, ministre de la Santé), puis en Europe (Directive 76/768/CEE). Pourtant, une affaire similaire avait déjà eu lieu au début des années 50, l'affaire du talc Baumol, sans provoquer de réaction au niveau législatif. L'utilisation de ce talc avait provoqué le décès de plus de 70 nourrissons, sur l'ensemble des enfants en bas âge qui en furent victimes (soit plusieurs centaines), majoritairement dans le sud-Finistère et le Morbihan. Lors de la fabrication des deux lots de talc incriminés, s'était produite accidentellement une contamination par de l'anhydride arsénieux (As_2O_3) [36].

On peut se demander pourquoi cette affaire n'avait pas eu, à l'époque, de conséquence en matière de réglementation :

- moins médiatisée,
- consommateur moins "scolarisé",
- consumérisme peu développé,
- législateur pas encore sensibilisé,
- les hommes politiques plus préoccupés par la reconstruction après-guerre,
- ce drame étant géographiquement localisé, il n'appelait peut-être pas de réponse nationale ? [37]

De nombreux scandales sanitaires sont ensuite venus mettre en cause le rôle de l'Etat et des industriels : l'amiante, le Distilbène, l'hormone de croissance, l'Isoméride..., obligeant l'Etat à réagir.

Faisant suite à « l'affaire du sang contaminé », la loi du 1er juillet 1998 complète le Code de la Santé Publique, dans le but d'intensifier la veille sanitaire et le contrôle des produits de santé. Ont ainsi été créés un Comité National de la Sécurité Sanitaire (CNSS), placé sous la responsabilité du Ministre de la Santé, un Institut de Veille sanitaire (InVS) ainsi que des Agences dont l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé (AFSSaPS), les cosmétiques étant inclus dans les produits de santé. L'industrie cosmétique est concernée au premier chef puisqu'un décret du 23 juin 2000 place les produits cosmétiques sous la responsabilité de l'AFSSaPS qui est dotée d'une Commission de Cosmétologie [38].

Ces différents scandales sanitaires ont donc rendu les hommes politiques plus attentifs aux problèmes de santé au sens large.

Pour preuve, la Charte de l'Environnement mise en place en 2004, est adoptée définitivement le 28 février 2005, par le Parlement réuni en Congrès à Versailles. Elle place désormais les principes du respect de notre environnement au même niveau que les droits de l'Homme et du Citoyen de 1789. La Charte précise que « toute personne a le devoir de préserver l'environnement équilibré et respectueux de sa santé », « de l'améliorer, de prévenir les dommages qu'il pourrait lui infliger et de les réparer le cas échéant ». Enfin, elle institue le Principe de Précaution : même en situation d'incertitude scientifique, si un projet risque d'affecter de manière grave et irréversible l'environnement, les autorités publiques devront prendre des mesures.

Certains industriels entrent alors dans le débat. Pourtant, pour eux, tant qu'il n'y a pas de preuves formelles, il n'y a pas lieu de discuter... L'industrie chimique est pourtant bien placée pour évaluer les substances et, si elles s'avèrent effectivement dangereuses, pour travailler sur leur substitution. Elle ne peut plus se permettre de refuser sa part de responsabilité vis-à-vis de l'environnement [39]. Parfois, elle anticipera même les nouvelles réglementations.

Le 5 janvier 2005, la transposition en droit français du 7ème amendement de la Directive Cosmétique interdira l'utilisation dans les cosmétiques de 500 substances classées comme dangereuses pour l'environnement. Elles sont suspectées de provoquer des cancers, des mutations ou d'être toxiques pour la reproduction. De même, le 11 mars 2005, 26 substances parfumantes susceptibles de provoquer des allergies doivent être clairement identifiées sur les étiquettes des produits cosmétiques au-delà d'un certain seuil (2003/15/CE).

C'est dans cette atmosphère soucieuse de l'environnement et de la santé que les médias vont alors mettre en lumière ce sujet brûlant et jusqu'alors resté dans l'ombre : certains ingrédients composant nos produits de beauté sont parfois douteux.

Nul n'imaginait jusque-là qu'ils pouvaient être néfastes à notre santé. Le développement des cosmétiques biologiques est la conséquence de diverses campagnes médiatiques débutées en 2005 : année charnière [39].

En mars 2005, l'enquête du magazine TV de France 2, Envoyé Spécial, mettant en lumière les conservateurs contenus dans les produits de beauté, a eu l'effet d'une petite bombe sur ce marché.

Françoise Vallet, la reporter d'Envoyé Spécial, auteur de cette enquête sur les cosmétiques, raconte : "Je me suis rendue compte qu'il existait maintenant un marché des cosmétiques bio. Je me suis alors demandée ce qui justifiait cette appellation, et par déduction, j'ai voulu comprendre ce qu'il y avait dans les autres cosmétiques qui se disent " naturels ". Il fallait se poser la question des effets des substances chimiques, et des conséquences d'associer, par exemple, chaque jour un parfum avec un lait pour le corps et un déodorant ! C'est aberrant qu'on ne se pose pas plus la question, et qu'il règne une telle opacité. On a le droit de savoir de quoi est faite une crème au XXI^e siècle ! "

Françoise Vallet a nourri sa réflexion grâce à la lecture d'un ouvrage publié en Allemagne, une dizaine d'années auparavant : " La Vérité sur les cosmétiques " [39].

Traduit en français en 1998, il n'arrivera en France qu'en septembre 2005 suite à ce reportage diffusé sur France 2, où il produira une petite révolution dans le milieu de la Cosmétologie. Rédigé par Rita Stiens, ancienne rédactrice en chef d'un grand magazine féminin allemand, cet ouvrage liste 2000 composants cosmétiques très utilisés, notés selon leur efficacité mais surtout selon leur toxicité, pour la santé et pour l'environnement. Il eut alors un impact, non seulement auprès des fabricants de cosmétiques mais également et surtout auprès des consommatrices et consommateurs de produits de beauté.

En effet, pour la première fois ont été méticuleusement recensées, dans un guide complet accessible à tous, les différentes matières premières et substances utilisées pour la formulation des soins de beauté et d'hygiène. C'est un vrai guide pour mieux savoir ce que l'on achète et ce que l'on utilise, pour distinguer plus clairement les bons des « mauvais » cosmétiques et pouvoir analyser soi-même ce que l'on utilise. L'accent est mis sur les substances que l'on qualifie aujourd'hui de « risquées » comme les parabènes, sels d'aluminium et autres produits chimiques [39].

Ce pavé dans la mare continue de faire des vagues avec les nombreuses enquêtes réalisées par des associations de consommateurs. L'association UFC-Que Choisir (association de consommateurs créée en 1951 et ayant publié sa première revue de tests comparatifs et d'enquêtes en 1961) publie notamment, le 27 avril 2005, un test sur 212 produits gels douches conventionnels intitulé « trop de substances indésirables » qui met en lumière que 95% d'entre eux contiennent des conservateurs, des substances cancérigènes ou perturbateurs endocriniens... Seuls 16% sont estimés satisfaisants par leur composition.

C'est ensuite au tour de Greenpeace de jeter de l'huile sur le feu en éditant la première édition du guide Cosmétox en mai 2005, réédité depuis en février 2006 [39].

Ce petit livre rose fut un outil d'interpellation des consommateurs sur les enjeux concrets de la réforme Reach, et d'alerte sur les insuffisances de la réglementation sur les cosmétiques. « Aucune information sur cette question n'est mentionnée sur l'emballage et le consommateur aujourd'hui n'a d'autre choix que de faire confiance aux fabricants ».

Le guide Cosmétox visait aussi à stimuler la demande et l'offre d'ingrédients de substitution dans le secteur cosmétique, en remplacement des substances préoccupantes pour la santé et l'environnement, en faisant pression sur les autorités publique et législative.

Porté par un succès médiatique et populaire, le guide Cosmétox a joué un rôle primordial car il a stimulé des démarches de substitution dans des entreprises de toutes tailles. Le fameux guide liste les principales marques de cosmétologie et de parfumerie disponibles sur le marché français et les classe en vert, orange et rouge selon les réponses données par les fabricants à Greenpeace sur la constitution synthétique des produits qu'ils commercialisent. Plusieurs analyses viennent compléter et valider ce classement : on découvre entre autres que les produits destinés aux enfants sont ceux qui contiennent les substances les plus controversées [39].

A la même époque, à partir d'une étude scientifique menée par le docteur Philippa Darbre et publiée en 2004 dans la revue *Journal of Applied Toxicology*, la cosmétique traditionnelle est accusée d'utiliser des conservateurs pouvant être dangereux pour la santé. Cette étude reliant cancers et parabènes est à l'origine de ce que l'on peut appeler la "polémique parabènes". Elle a été largement décriée mais jamais confirmée. Les médias ont cependant saisi l'opportunité pour semer un vent de panique et inquiéter les consommateurs. Les grandes marques se mettent alors à surfer sur la vague verte. De ce fait, le consommateur change ses habitudes et veut des produits qui respectent les lois de la nature et contenant le moins possible d'éléments de synthèse.

Ensuite, publications et émissions se multiplient et tous les magazines (scientifiques, économiques, féminins...) y vont de leur plume :

Mme Figaro « Nos crèmes sont-elles dangereuses ? » 04/2005

Agence France Presse « Cosmétiques, un monde pas si enchanté »

Nouvel Observateur « Cosmétiques à l'ère du doute ou comment sauver sa peau » 01/2006 [39]

En septembre 2008, un collectif de médecins, oncologues, chimistes et directeurs d'établissements de santé part en guerre contre les trousseaux de naissance distribués dans les maternités aux jeunes mamans et contenant des cosmétiques que ces scientifiques qualifient alors de « cocktail toxique ». Pour le Pr Dominique Belpomme, oncologue, "des doses très faibles de perturbateurs endocriniens peuvent induire des cancers du sein ou de la prostate 30 ans après". Il fait valoir aussi que la pénétration par voie cutanée est "celle qui entraîne la plus grande perturbation de l'organisme" comparativement aux voies respiratoire ou alimentaire, car "la peau ne sait pas détoxifier".

En novembre de cette même année, un documentaire télévisé « Mâles en péril », diffusé en prime time sur Arte, révèle une enquête à propos des effets de certains composés sur la diminution de fertilité masculine. Et les cosmétiques étaient retrouvés parmi les sources d'exposition étudiées. Les conservateurs utilisés dans ces cosmétiques, et notamment les parabènes et le phénoxyéthanol, sont plus particulièrement pointés du doigt. Depuis quelques années, les parabènes sont accusés de favoriser la survenue de cancers du sein, tandis que le phénoxyéthanol bénéficie de la mauvaise réputation des éthers de glycol [40].

Quelques années plus tard, suite à l'affaire Médiator qui a causé des centaines de morts en France et mis au jour des conflits d'intérêts entre les laboratoires et les autorités, le ministre de la santé Xavier Bertrand décide de renforcer la sécurité sanitaire en substituant l'ANSM (Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé) à l'AFSSaPS (loi du 29 décembre 2011) . Un changement de dénomination qui vise à renforcer "la sécurité sanitaire du médicament et des produits de santé" et s'accompagne également d'un nouveau "mode de gouvernance et d'organisation". Dans le but de rassurer sur l'indépendance des membres qui la composent, l'ANSM publiera en ligne "les déclarations d'intérêts des agents exerçant des fonctions qui le justifient". S'engageant pour une complète transparence, elle s'engage également à la "traçabilité des travaux précédant une prise de décision" et au "partage de l'information avec tous les publics, aussi bien les professionnels de santé que le grand public" [38].

On le voit, suite à toutes ces révélations, le consommateur devient méfiant envers les hommes politiques et les industriels, et exigeant quant à la composition des produits cosmétiques qu'il utilise. Il est donc très friand d'informations dans ce domaine. En février 2016, l'association UFC-Que choisir publie une base de données exclusive sur la composition de 185 produits cosmétiques courants contenant des substances préoccupantes du fait de leur caractère toxique, allergisant, irritant ou perturbateur endocrinien :

« Substances préoccupantes dans 185 produits cosmétiques.

Les consommateurs appelés à passer à l'action ! »

Pour les allergènes on dénombre 62 produits, dont 55 contiennent de la Methylisothiazolinone (MIT), un allergène majeur d'autant plus irritant qu'il est très majoritairement ajouté à des produits non rincés qui resteront en contact prolongé avec la peau.

Même les grandes marques sont à épingle : ces substances sont retrouvées aussi bien dans des produits de grandes marques de fabricants que de distributeurs. Ainsi parmi les 26 produits contenant les tristement célèbres parabènes à longue chaîne, on trouve 3 produits de la marque 'Roc', 2 produits de chez 'L'Oréal', 2 produits 'Carrefour', 2 de chez 'Leclerc', ainsi que chez 17 autres marques courantes. Pire, 8 lingettes pour bébés des marques 'Bébé Cadum', 'Mixa', 'Nivea', 'Pampers', (...) contiennent du phénoxyéthanol, un conservateur toxique pour le foie et le sang ! »

Malgré les alertes répétées des toxicologues et des dermatologues, les fabricants n'ont toujours pas changé leurs pratiques. Dans l'attente cruellement longue d'une réglementation enfin protectrice, l'UFC-Que Choisir recommande aux consommateurs de ne plus acheter les produits contenant ces composés, notamment pour les usages les plus à risques (bébés, enfants, produits non rincés) et compte sur les consommateurs pour être des « veilleurs de marché » en notifiant les produits cosmétiques contenant ces substances au moyen d'un formulaire de signalement.

En février 2017, un an après son action sur les ingrédients indésirables, l'UFC-Que Choisir met à jour son étude et publie une liste de plus de 400 produits cosmétiques dans lesquels des composés toxiques ont été repérés : « Cosmétiques. Des substances indésirables dans 400 produits ! »

"Malheureusement, mis à part quelques rares produits en infraction avec la loi, la présence de ces composés indésirables est légale, à la faveur d'une réglementation laxiste. S'agissant par exemple des allergènes présents dans les parfums, alors qu'au niveau européen les experts du Scientific Committee on Consumer Safety avaient alerté dès 2012 pour trois allergènes particulièrement problématiques, la réglementation ne prévoit leur retrait effectif que pour... 2021 !

Quant aux perturbateurs endocriniens, les projets de définitions proposés par la Commission européenne exigent un niveau de preuve si élevé que, dans la pratique, aucune substance ne se verrait interdite."

En juin 2017, l'association annonce que plus de 1.000 produits figurent désormais dans une liste actualisée par l'UFC-Que Choisir sur des cosmétiques aux substances jugées « indésirables ». Elle a également recensé 23 produits cosmétiques contenant des substances interdites et elle en réclame le « retrait immédiat ».

Suite à ces publications, la DGCCRF a décidé d'ouvrir une enquête. Nous verrons plus loin quelles en ont été les conséquences.

L'association poursuit inlassablement ses tests sur les produits cosmétiques (40.336 produits testés, mise à jour du 2 mai 2018) et annonce :

« Grâce à vos contributions, notre liste des produits cosmétiques renfermant un ou plusieurs ingrédients indésirables s'est enrichie de jour en jour pour atteindre aujourd'hui plusieurs milliers de produits. Retrouvez-les dans nos tableaux désormais classés par 8 grands univers ».

Quant au magazine "60 millions de consommateurs", il publie, en juin 2017, les conseils pour déchiffrer la composition des produits d'hygiène et de soin, et présente une « liste positive » des produits conseillés par la rédaction. Dans ce guide des cosmétiques « sains et sûrs », 150 produits et 77 ingrédients dans six familles de produits (crèmes hydratantes, crèmes solaires, gels douche, dentifrices, déodorants et shampoings) sont ainsi passés au crible par le magazine de l'Institut national de la consommation (INC). Le magazine classe en vert ceux qui ne posent pas de problème, orange ceux qui sont irritants, allergènes ou qui polluent l'environnement, et rouge ceux suspectés d'être perturbateurs endocriniens ou cancérogènes [41].

Par ailleurs, UFC que choisir propose une application smartphone gratuite «quelcosmetic». Il suffit de scanner le code-barres du produit via un smartphone pour voir apparaître sa

notation. Plus de 6000 références ont déjà été évaluées. Financée grâce aux dons des consommateurs, cette application se veut tout à la fois informative et participative.

De même, l'application CLEAN BEAUTY développée par le Laboratoire OFFICINEA, identifie gratuitement près de 85 ingrédients controversés par la communauté scientifique internationale dans tous les produits de beauté et d'hygiène (incluant aussi maquillage, vernis à ongles, teintures capillaires...).

Tous ces événements montrent que les consommateurs souhaitent être informés sur les produits qu'ils utilisent et exigent transparence et réactivité de la part des autorités. Aujourd'hui, de nombreux ingrédients autorisés par le Règlement Cosmétique Européen sont sujets à controverses au sein de la communauté scientifique. Toutes ces remises en cause sont-elles justifiées ? Comment les autorités réagissent-elles et font-elles évoluer la réglementation ?

4.2. Evolution de la réglementation

Comme nous l'avons vu plus haut, en France, dès qu'un produit cosmétique est source de débats, l'ANSM et la DGCCRF contribuent activement aux travaux coordonnés par l'Union Européenne. Elles sont chargées de réaliser des études qui peuvent déboucher sur des actions correctives ou des sanctions, si nécessaire.

Ainsi, au cours de l'année 2016, les contrôles effectués par la DGCCRF ont donné lieu aux sanctions suivantes : 377 avertissements, 188 mesures de police administrative, 79 procès-verbaux et 16 saisies.

Les sociétés ayant mis sur le marché des produits dangereux ont généralement procédé à des retraits volontaires du marché mais, dans 7 cas, des arrêtés préfectoraux ont dû prescrire un retrait-rappel avant destruction. En revanche, l'enquête a mis en évidence que les obligations documentaires, déclaratives et d'étiquetage demeurent négligées par les opérateurs alors qu'elles constituent pourtant l'une des clés pour garantir la qualité des cosmétiques et la sécurité des consommateurs [42].

Suite à la parution dans la presse, en 2017, d'un dossier "substances indésirables", la DGCCRF a réalisé une enquête et ciblé son action sur les produits contenant les conservateurs interdits depuis juillet 2015 (isobutylparabène) et février 2017 (MIT dans les produits sans rinçage). Comme l'UFC-Que Choisir, elle a retrouvé ces conservateurs dans 23 produits, qui ont fait l'objet d'une prescription de retrait immédiat de sa part. D'autres produits sont également concernés, le total atteignant plus de 140 références.

Au niveau européen, c'est le CSSC (Comité scientifique pour la sécurité des consommateurs) qui est chargé de ces études, puis se prononce et propose au législateur les nouvelles restrictions.

Ainsi, depuis la mise en application du RC, l'UE a continuellement adapté ce texte en fonction de l'état des connaissances et fait voter 23 règlements modificatifs (adaptations des annexes au progrès technique).

4.2.1 Réglementation du phénoxyéthanol

Conservateur antimicrobien suspecté d'être un perturbateur endocrinien, le phénoxyéthanol présenterait également un potentiel sensibilisant (urticaire et dermatite). La concentration maximale d'utilisation de cette substance dans les produits cosmétiques est actuellement fixée à 1 % quel que soit l'âge.

En 2008, le comité pour le développement durable en santé (C2DS) a attiré l'attention de l'ANSM sur la toxicité de certaines substances entrant dans la composition d'échantillons de produits cosmétiques destinés aux bébés et distribués dans les maternités en post-partum. L'ANSM a alors rendu public en 2009 un rapport d'évaluation concernant la majorité des substances incriminées par le C2DS.

En ce qui concerne le phénoxyéthanol, la Commission de cosmétologie a jugé nécessaire de mener une évaluation du risque en raison de divergences entre les données disponibles selon les sources. Un rapport spécifique de l'évaluation du risque, lié à l'utilisation du phénoxyéthanol dans les produits cosmétiques, a donc été publié en mai 2012 par l'ANSM.

Le rapport souligne que, tenant compte des expositions cumulées aux produits cosmétiques destinés aux adultes, la Commission de cosmétologie de l'Agence n'a pas jugé nécessaire de recommander une modification de la valeur de la concentration maximale en phénoxyéthanol autorisée (1 %) pour les produits destinés aux adultes.

En revanche, pour les produits destinés aux enfants de moins de trois ans, et compte tenu des expositions cumulées, l'ANSM recommande :

- de ne plus utiliser de phénoxyéthanol dans les produits cosmétiques destinés au siège car il est suspecté d'être toxique au niveau du développement et de la reproduction ;
 - une restriction de la teneur maximale en phénoxyéthanol à 0,4 % (au lieu de 1 % actuellement) pour tous les autres produits destinés aux enfants de moins de 3 ans.
- Cette question a été portée par l'ANSM au niveau de la Commission européenne afin qu'une position commune soit adoptée. Dans l'attente de cette prise de position, les produits cosmétiques qui contiennent jusqu'à 1% de phénoxyéthanol ne sont pas

interdits et restent disponibles sur le marché français. L'ANSM précise qu'à ce jour elle n'a recensé aucun signalement de cosmétovigilance en lien avec cette substance [21].

Par la suite, le Comité Scientifique européen pour la Sécurité des Consommateurs (CSSC) a considéré, dans son avis final sur le phénoxyéthanol du 6 octobre 2016, que le phénoxyéthanol utilisé à 1% en tant que conservateur dans les produits cosmétiques est sûr pour la santé, quel que soit le groupe d'âge [43].

4.2.2. Réglementation des MIT et MCIT

Rarement un ingrédient largement présent dans des produits de grande consommation aura fait l'objet d'autant d'alertes de la part du corps médical. La méthylisothiazolinone (MIT) et sa proche parente, la méthylchloroisothiazolinone (MCIT), se sont généralisées dans les produits cosmétiques depuis une quinzaine d'années. Les industriels se sont mis à utiliser ces conservateurs notamment en remplacement des parabènes dont certains seraient perturbateurs endocriniens. Très vite, les dermatologues et allergologues constatent que de nombreux utilisateurs sont allergiques à ces composés. À maintes reprises et partout dans le monde, ils alertent sur la dangerosité de ces conservateurs. De l'élection de la MIT comme « allergène de l'année 2013 » par une association d'allergologues américains aux communiqués publiés par les sociétés savantes françaises, les signaux d'alarmes clignotent en tous sens. Même les experts mandatés par la Commission européenne confirment : en mars 2014, le Comité scientifique pour la sécurité des consommateurs (CSSC), juge qu'il n'existe aucune concentration de MIT sûre dans les produits non rincés, les plus à risque [44].

La Commission européenne a donc recommandé, en septembre 2014, une interdiction du mélange MIT/MCIT dans les produits sans rinçage ou les laits corporels. Elle autorise une concentration maximale à 0,0015 % dans un mélange à 1/3, pour les produits rincés (shampooing, gel douche...).

Puis, devant la hausse des allergies induites par la MIT, les dermo-allergologues et associations de consommateurs n'ont cessé de demander un durcissement de la législation.

On retrouvera dans le tableau ci-dessous les différentes modifications apportées à l'annexe V du Règlement cosmétique européen, concernant la MIT et le mélange MIT/MCIT.

Règlement (UE) Annexe V	MIT (ligne 57)	Mélange MIT/MCIT (1:3) (ligne 39)
N° 1223/2009 (applicable 11.07.2013)	0,01 %	0,0015 %
N° 1003/2014 (applicable 16.07.2015)		Interdit dans produits sans rinçage 0.0015 % dans produits à rincer
N° 1198/2016 (applicable 12.02.2017)	Interdit dans produits sans rinçage 0,01 % dans produits à rincer	
N° 1224/2017 (applicable 27.01.2018)	Interdit dans produits sans rinçage 0,0015 % dans produits à rincer	

Tableau 5 - Législation des MIT

4.2.3. Réglementation du triclosan

En ce qui concerne le triclosan, qui est accusé d'induire des résistances aux biocides et antibiotiques, d'être un cancérigène hépatique et un perturbateur endocrinien, et d'avoir un effet musculaire, les preuves ont été jugées insuffisantes.

Toutes ces déclarations ont conduit la Commission européenne à demander au Comité scientifique pour la sécurité des consommateurs (CSSC), de réévaluer ce produit.

Le CSSC a considéré que "l'utilisation continue du triclosan comme agent conservateur à la concentration maximale actuellement fixée à 0,3 % pour tous les produits cosmétiques n'était pas sans risque pour les consommateurs, en raison de l'importance de l'exposition cumulée".

La réglementation concernant le triclosan a donc été revue et désormais, l'utilisation du triclosan en tant que conservateur est limitée à une concentration maximale :

- de 0,3 % pour les dentifrices, les savons pour les mains, les gels-douche pour le corps, les déodorants sous forme de stick, les poudres pour le visage et les produits anticernes (avis du CSSC en 2009)
- de 0,3 % pour les produits de manucure (avis du CSSC en 2011)
- de 0,2 % dans les solutions de bain de bouche (avis du CSSC en 2011)
- de 0 % (interdiction) dans les sprays, et depuis le 30 octobre 2014, dans les produits de rasage en raison des microcoupures qui augmentent le risque de passage systémique.

Reste que certains fabricants, sentant le vent tourner, ont déjà pris les devants et supprimé le triclosan de leurs formulations. En effet, sur les 66 produits cosmétiques analysés dans le cadre d'une étude réalisée pour Que choisir en 2013 sur les perturbateurs endocriniens, le triclosan n'a été retrouvé que dans un dentifrice (Colgate total) et un stick déodorant (Bionsen) [45] [46].

4.2.4. Réglementation du formaldéhyde

L'usage du formaldéhyde dans les produits cosmétiques est très réglementé. Cette substance est autorisée de manière restreinte dans les durcisseurs d'ongles, et en tant que conservateur à de faibles concentrations. Le formaldéhyde a été récemment introduit à de fortes concentrations dans certains produits de lissage pour cheveux. Ces produits ne respectent pas les réglementations internationales en vigueur, présentent un risque avéré pour les consommateurs et les coiffeurs, et ne devraient donc pas être commercialisés. Ils ont d'ailleurs fait l'objet de mesures de police sanitaire de la part de différentes autorités réglementaires internationales.

Actuellement, il est référencé à l'annexe III du règlement cosmétique européen (Liste des substances que les produits cosmétiques ne peuvent contenir en dehors des restrictions prévues) pour son utilisation dans les produits pour durcir les ongles. La concentration maximale en aldéhyde formique est de 5%. Il est précisé que, dans ces produits, le formaldéhyde est utilisé "à des fins autres qu'inhiber le développement de micro-organismes dans le produit. Cette fin doit ressortir de la présentation du produit". La mention "contient du formaldéhyde" doit apparaître si la concentration est supérieure à 0.05%

D'autre part, il est référencé à l'annexe V du règlement cosmétique européen (liste des agents conservateurs admis dans les produits cosmétiques) : concentration maximale de 0,1% dans les produits bucco-dentaires et 0,2% dans les autres produits, ne pas utiliser dans les aérosols.

5. Cas particulier des parabènes

5.1 Les parabènes, conservateurs incriminés

5.1.1 Qu'est ce qu'un parabène ?

5.1.1.1 Définition et structure

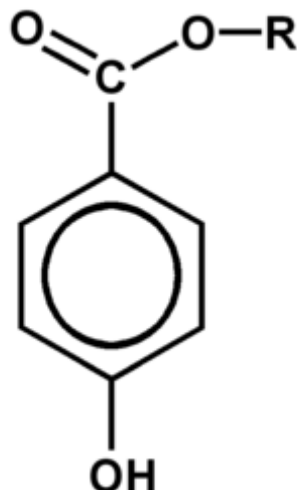


Figure 7 - Formule Chimique du parabène

Le terme « parabène » (ou paraben en anglais) ne désigne pas une molécule organique spécifique mais un ensemble de molécules qui sont des esters de l'acide parahydroxybenzoïque. Ils sont issus de la condensation de l'acide parahydroxybenzoïque avec un alcool. Les parabènes diffèrent les uns des autres selon la nature du groupe alkyle R. (voir illustration ci-dessus). Les parabènes possèdent des fonctions antibactériennes. Celles-ci augmentent selon la longueur de la chaîne carbonée de l'alcool estérifié [47] [48].

5.1.1.2 Principaux parabènes utilisés dans l'industrie

Les parabènes sont utilisés depuis les années 20. Ce sont les conservateurs les plus utilisés au niveau mondial. Ils sont en effet très présents dans de nombreux produits cosmétiques mais aussi dans les médicaments et dans l'alimentation.

Les parabènes utilisés dans l'industrie sont :

- * le méthylparabène ou 4-hydroxybenzoate de méthyle (E218) et son sel de sodium (E219) ;
- * l'éthylparabène ou 4-hydroxybenzoate d'éthyle (E214) et son sel de sodium (E215) ;

- * le propylparabène ou 4-hydroxybenzoate de propyle(E216) et son sel de sodium (E217) ;
- * l'isopropylparabène ; (interdit en cosmétologie depuis 2014)
- * l'isobutylparabène ; (interdit en cosmétologie depuis 2014)
- * le benzylparabène. (interdit en cosmétologie depuis 2014)

Les plus utilisés sont le méthylparabène et le propylparabène du fait de leur plus grande solubilité et parce qu'ils possèdent un effet synergique. Cela permet donc de diminuer leur dose respective tout en ayant la même efficacité. Une diminution des concentrations permet de diminuer les effets indésirables tels que les réactions de sensibilisation [47] [48].

	Nom de la molécule	N° CAS
R1 = CH ₃	méthylparaben	99-76-3
R2 = CH ₂ -CH ₃	éthylparaben	120-47-8
R3 = CH ₂ -CH ₂ -CH ₃	propylparaben	94-13-3
R4 = CH-(CH ₃) ₂	isopropylparaben	4191-73-5
R5 = CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₃	butylparaben	94-26-8
R6 = CH ₂ -CH-(CH ₃) ₂	isobutylparaben	4247-02-3
R7 = CH ₂ -C ₆ H ₅	benzylparaben	94-18-8

Figure 8 - Les parabènes et leur correspondance chimique [49]

5.1.1.3 Mécanisme d'action des parabènes

Actifs sur les levures, les moisissures et les bactéries, ils sont souvent associés entre eux. Leur mécanisme d'action n'est pas entièrement élucidé mais l'hypothèse la plus développée est leur capacité à inhiber le transport à travers la membrane et à inhiber les fonctions mitochondriales. Plus la longueur de la chaîne alkyl augmente, plus l'activité antimicrobienne est importante, mais leur solubilité diminue. Les parabènes sont plus actifs sur les bactéries Gram positif que celles Gram négatif. L'association la plus souvent rencontrée est méthylparabène avec le propylparabène [50].

L'avantage des parabènes est qu'ils ont une excellente stabilité chimique à un pH compris entre 4,5 et 7,5. Ils n'ont aucune odeur, aucun goût et ne produisent pas de décoloration. Ils sont très stables à hautes températures, sans perte significative de leur qualité antimicrobienne. Ils sont bien tolérés et, comme nous le verrons plus tard, ils ont une faible toxicité générale. En revanche, leur activité est faible contre certaines bactéries,

particulièrement le genre *Pseudomonas*, bactérie fréquemment retrouvée en contamination primaire [40].

5.1.1.4 Où trouve-t-on les parabènes ?

Les parabènes sont des conservateurs que l'on peut qualifier d'ubiquitaires car ils sont présents dans les aliments, les médicaments et dans plus de 80% des cosmétiques, et ce, depuis la première moitié du 20ème siècle.

5.1.1.4.1 Les parabènes naturels

Même si la plupart des parabènes actuellement utilisés sont issus de la synthèse, on retrouve les parabènes à l'état naturel dans de nombreux fruits et légumes, tels que les mûres, les carottes, les olives, les oignons, les myrtilles, les fruits de la passion. La présence de méthylparabène dans la vanille a par exemple été démontrée [51].

Ils existent aussi naturellement dans le corps humain et plus particulièrement dans celui de la femme comme précurseur du Coenzyme Q10.

5.1.1.4.2 Les parabènes en industrie

Les parabènes ont une activité antibactérienne et antimycosique, leur synthèse est facile et peu coûteuse. C'est pourquoi on les retrouve dans de nombreux domaines comme l'alimentation, l'industrie pharmaceutique et les cosmétiques.

En ce qui concerne leur présence dans les médicaments, l'ANSM a identifié une liste de 400 médicaments contenant des parabènes dont 306 contiennent du propylparabène. Le propylparabène est en effet le principal parabène utilisé dans les médicaments. Les bénéfices engendrés par la prise de médicaments sont supérieurs (à court terme) aux risques potentiels de l'exposition aux parabènes. Ces substances continuent à être utilisées pour la conservation des médicaments à des concentrations très faibles [49] [52].

L'industrie alimentaire utilise les parabènes comme conservateurs pour de nombreux produits, tels que les sauces salades, sauces épicées, pâtisseries, moutardes, œufs de

poisson, conserves de poisson, crèmes, gelées, produits lactés surgelés, jus de fruits, mayonnaises, sirops, viandes hachées, jambons...

On trouve également fréquemment des parabènes dans des produits industriels : vernis, colles, adhésifs, cirages, conservateurs des produits du tabac, certains produits ménagers comme les lessives [49].

5.1.2 Etudes de la toxicité des parabènes en cosmétologie

La concentration maximale de chaque parabène dans un produit cosmétique est limitée à 0,4% et la concentration totale de tous les parabènes ne peut dépasser 0,8% du total des ingrédients [4]. Malgré cette réglementation stricte, les parabènes continuent à faire peur.

En effet, pourtant utilisés depuis les années 20 sans problème notoire, les parabènes sont sous les feux des projecteurs depuis la publication d'une étude du Dr Philippa Darbre, en 2004. Ces affirmations ont entraîné de nombreuses études et la mobilisation des associations de consommateurs.

5.1.2.1 Hypersensibilité et notion d'accumulation cutanée des parabènes

Rappelons d'abord la différence entre les dermatites dites d'irritation et les dermites allergiques.

Une dermatite d'irritation apparaît quelques minutes après l'application du produit et se limite à la surface de contact avec le produit. Son évolution est rapide, il s'agit d'une pathologie bénigne.

La dermatite allergique, quant à elle, survient après de nombreuses applications. Les associations de consommateurs se sont alors questionnées sur les effets nocifs de l'accumulation des parabènes au niveau cutané suite à des applications répétées de produits en contenant. Quels arguments avancent-ils ?

→ Lorsque l'on applique une crème contenant des parabènes, ils ne subissent pas de premier passage hépatique. Il n'y a pas de métabolisation et de détoxification par les estérases du foie.

→ Les parabènes sont peu hydrosolubles, ils sont donc retenus dans la peau où les estérases cutanées deviennent saturées [40].

Cependant, selon l'ANSM, les parabènes représentent un faible pouvoir allergisant. Les cas d'allergies rapportés les concernant, sont le plus souvent dus à l'application de topiques médicamenteux et non de cosmétiques. Cette différence s'explique facilement : les topiques médicamenteux sont appliqués sur une peau lésée et sont souvent plus concentrés en parabènes que les cosmétiques, qui sont eux appliqués sur une peau saine.

Les parabènes présentent donc une sécurité d'emploi lorsqu'ils sont appliqués sur une peau saine. Par contre, nous pouvons nous interroger sur le risque d'allergie lié à l'utilisation de cosmétiques contenant des parabènes sur une peau atopique et lésée. C'est pourquoi beaucoup de marques de cosmétiques, spécifiques pour ce type de peau, revendiquent l'absence de parabènes dans leur formulation. Exemple avec la gamme Exomega de la marque Aderma (laboratoire Pierre Fabre) [40] [48].



Figure 9 - Exemple de cosmétique sans parabène adapté aux peaux atopiques

5.1.2.2 Effets oestrogéniques et cancer du sein

La polémique sur la corrélation entre l'utilisation de produits contenant des parabènes et l'augmentation de la fréquence de cancer du sein commence en 2004. Cette année-là, le professeur Philippa Darbre et son équipe publient une étude qui émet l'hypothèse d'une relation entre la présence de parabènes dans le tissu mammaire, l'activité œstrogénique de ces derniers, démontrée in vivo et in vitro, et l'induction du cancer du sein (Annexe 2).

Dans cette étude de 2004, l'équipe étudie 20 biopsies de tumeurs du sein. Les résultats montrent la présence de parabènes dans 18 de ces 20 tumeurs. Les parabènes retrouvés sont sous forme d'esters, non métabolisés. Dans les parabènes détectés, le méthylparabène représente 63%. Les autres parabènes détectés étaient l'éthylparabène, le propylparabène, le butylparabène et l'isobutylparabène. De plus, ces chercheurs ont remarqué une incidence élevée de cancers du sein dans le quadrant supéroexterne. Cette localisation coïncide avec le lieu d'application des déodorants et/ou antitranspirants (Annexe 2).

On suspecte alors les parabènes d'être des perturbateurs endocriniens. Les études in vitro ont montré que les parabènes peuvent se lier aux récepteurs œstrogéniques, activer les gènes contrôlés par ce même récepteur et de stimuler la croissance cellulaire. Ils mimeraient donc l'activité des estrogènes en se fixant à leurs récepteurs. La structure des parabènes montre une certaine similitude avec celle du 17-bêta-œstradiol ou estradiol. La modélisation moléculaire a pu montrer que ce sont surtout les parabènes à longue chaîne qui peuvent se fixer aux récepteurs œstrogéniques. [53] [54]

Cependant, dans la majorité des études in vitro, les parabènes ont une activité œstrogénique mais avec une affinité inférieure à celle de l'œstradiol naturel. Il faut des concentrations de parabènes 105 à 107 plus importantes que celles du 17-bêta-œstradiol pour induire une prolifération similaire. [40] [48]

De plus, les études réalisées par l'équipe de Philippa Darbre ont été critiquées par la communauté scientifique en raison de différentes limites méthodologiques. Que peut-on reprocher à cette étude ?

- Seuls les parabènes ont été recherchés. Aucune autre substance n'a été dosée.
- L'absence de tissu témoin pose aussi problème. En effet, la comparaison des concentrations retrouvées dans les biopsies tumorales avec celles de tissus mammaires sains, aurait été intéressante.
- Il n'y a aucune comparaison entre les concentrations de parabènes présentes dans les tissus adjacents aux tumeurs étudiées. La teneur en parabènes de la tumeur aurait-elle été plus élevée que celle des tissus adjacents à la tumeur ?
- D'autres données essentielles à l'analyse de l'étude manquent comme l'âge des patientes, l'historique médicamenteux (utilisation éventuelle de médicaments contenant des parabènes), l'utilisation de déodorant...
- Enfin, l'échantillonnage est aussi très faible et est donc peu significatif.

Face à la polémique découlant de cette étude, d'autres études ont été réalisées.

Deux études épidémiologiques concernant l'emploi de déodorants et anti-transpirants et le risque associé de cancer du sein, chez les femmes, donnent des résultats différents.

L'étude de Mirick et al. (Annex 3) 2002 porte sur la relation entre déodorants/antitranspirants et la survenue de cancer. L'étude a été réalisée chez des femmes de 20 à 74 ans, avec un groupe de patientes ayant eu un cancer du sein (n=813) et un groupe contrôle (n=793). Les patientes ont été interrogées sur le type de produit utilisé, le mode d'épilation des aisselles, et si le produit est appliqué dans l'heure qui suit l'épilation. L'étude montre que le risque de cancer du sein n'est augmenté ni pour les patientes qui utilisent des déodorants ou anti-transpirants, ni pour les femmes qui se rasent les aisselles - après l'application du déodorant moins d'une heure après le rasage des aisselles. Ces deux derniers cas ont été étudiés dans l'hypothèse où la toxicité éventuelle des produits serait augmentée par la peau endommagée (microcoupures dues au rasage).

De telles différences de résultats entre ces deux études interrogent sur les limites de celles-ci et montrent que d'autres études seraient nécessaires. Les recherches mériteraient d'être plus poussées, avec une analyse de la composition des produits utilisés, la fréquence d'utilisation des produits et la notion de dose d'exposition.

Dans une synthèse publiée dans le Bulletin du Cancer en 2008, les auteurs se sont intéressés à l'utilisation de déodorants/anti-transpirants et le risque de cancer du sein. Ils concluent que : « L'hypothèse du rôle joué localement par les parabènes dans l'augmentation du risque de cancer du sein n'est pas d'actualité et les articles relatifs à cette question n'ont pas été retenus par les experts (...). En effet, les parabènes ne sont généralement pas présents dans les déodorants/anti-transpirants disponibles sur le marché: la question d'un lien éventuel entre la survenue de cancer du sein et la présence de parabènes dans les déodorants/antitranspirants ne se pose donc pas dans le cadre de l'analyse menée, ici, par le groupe de réflexion. » [55] [56].

5.1.2.3 Fertilité chez l'homme

Le risque de cancer du sein associé à l'utilisation de produits contenant des parabènes n'est pas la seule crainte des consommateurs. En effet, depuis plusieurs années, des doutes planent quant à l'éventuel impact des parabènes sur la fertilité masculine [23] [57] [58]

Une des premières études s'intéressant à ce sujet fut celle d'Oishi en 2002. Cette étude consistait à administrer du propyl et butylparabène à des rats mâles par voie orale et sous-cutanée.

Pendant quatre semaines, on a administré par voie orale du propylparabène à différentes doses (concentrations de 0%, 0,01 %, 0, 1% et 1%) à de jeunes rats mâles. Les résultats montrent une diminution de la production spermatique journalière dans les testicules, chez tous les groupes ayant reçu des doses. Aux doses les plus élevées, une altération de la spermatogenèse et des concentrations plus faibles en testostérone, ont été également observées.

Suite à ces résultats, le propylparabène (E216) ainsi que son sel sodique (E217) ont été supprimés de la liste des conservateurs autorisés dans l'alimentation (Directive 2006/52/CE du Parlement européen).

En ce qui concerne le butylparabène, les études menées par Oishi sur le même mode opératoire ont également mis en évidence une diminution de la production de spermatozoïdes.

Mais d'après un communiqué de l'Afssaps (aujourd'hui ANSM), les études d'Oishi ne sont pas recevables. « Une étude expérimentale complémentaire, réalisée selon les bonnes pratiques de laboratoires qui permettent d'assurer un bon niveau de qualité des données ainsi qu'une recevabilité réglementaire des données a été publiée récemment avec le butylparabène et conclut à l'absence d'observation d'effets testiculaires chez le rat juvénile. »

En 2002, une autre étude met le doigt sur l'exposition aux parabènes durant la grossesse. Cette étude consiste à observer les effets de l'exposition maternelle au butylparabène pendant la gestation et la lactation (du 6ème jour gestationnel au 20ème jour postnatal) sur le développement et le système reproducteur mâle de jeunes rats. Le butylparabène a été injecté en sous-cutané à la dose de 100 mg/kg/j ou 200 mg/kg/j. Au 49ème jour postnatal, il est observé une diminution du poids des testicules, des vésicules séminales, des glandes prostatiques et une réduction de la production et de la mobilité prostatique pour les 2 doses d'exposition.

En 2011, une étude portant sur les parabènes et la fertilité masculine est menée. Réalisée chez l'homme, cette étude ne montrait pas d'association entre les concentrations de parabènes urinaires et les taux d'hormones ou la qualité du sperme. Cependant cette étude présente de nombreuses limites comme la variabilité intra-individuelle de l'exposition et la taille d'échantillon faible [57] [59].

Les études épidémiologiques disponibles à ce jour sont encore trop peu nombreuses pour permettre de conclure sur l'impact des parabènes sur la santé chez l'homme.

5.1.2.4 Obésité chez l'enfant

Les parabènes sont également suspectés d'être un facteur prédictif de l'obésité chez l'enfant. En septembre 2014, une étude coordonnée par l'Université de Grenoble et l'équipe d'épidémiologie environnementale de l'Inserm, a suivi 520 couples mère-fils français, pendant la grossesse et jusqu'aux 3 ans de l'enfant de la cohorte EDEN (cohorte de femmes enceintes : étude des déterminants pré et post-nataux du développement et de la santé des enfants).

Cette étude a montré que 95 % des femmes avait été exposées à des parabènes au cours de la grossesse. Il a été observé que les concentrations urinaires de parabènes (méthylparabène, propylparabène, butylparabène, éthylparabène) chez la femme enceinte étaient associées à un poids plus élevé à la naissance et aux 3 ans de l'enfant.

D'autres études ont montré qu'une prise de poids rapide dans les premières années de vie pourrait être associée à un risque d'obésité plus important plus tard dans la vie. L'exposition prénatale aux parabènes pourrait alors se traduire par une probabilité plus forte d'être en surpoids à l'âge adulte. Néanmoins, ces résultats doivent être confirmés par d'autres études épidémiologiques.

5.1.3 Evolution de la réglementation des parabènes

Nous l'avons déjà évoqué, la polémique concernant les parabènes remonte à 2004, suite à la publication de l'étude de Philippa Darbre faisant état d'un lien possible entre l'utilisation de produits cosmétiques contenant des parabènes et le développement de cancers du sein. Fort discutée par la communauté scientifique, cette étude a eu un retentissement important auprès des consommateurs inquiets, et a mené à une réévaluation en profondeur de la toxicité des parabènes.

L'Union Européenne a donc demandé des études complémentaires. Fin 2005, arrivent les conclusions de ces évaluations : "la commission de cosmétologie s'est prononcée favorablement à la poursuite de l'utilisation, aux conditions prévues par la réglementation actuelle, de 4 des 5 parabènes les plus couramment utilisés (méthyl-, éthyl-, propyl- et butylparabènes). Pour l'isobutylparabène, la commission de cosmétologie s'est montrée favorable à la poursuite de l'utilisation de ce conservateur dans les produits cosmétiques, sous réserve

que des études complémentaires soient réalisées permettant de confirmer l'absence de risque, aux conditions d'utilisation dans les produits cosmétiques

Dans l'annexe V du règlement (CE) n° 1223/2009, l'entrée 12 reprend donc les mêmes conditions d'utilisation qu'en 1976 : concentration maximale de 0,4 % pour un ester et de 0,8 % pour les mélanges d'esters en relation avec les parabènes utilisés comme agents conservateurs dans les produits cosmétiques et désignés sous le nom chimique d'«acide 4-hydroxybenzoïque, ses sels et esters». Utilisés aux concentrations maximales autorisées, les parabènes sont considérés comme sans danger par le CSSC.

En décembre 2010, en réponse à la décision unilatérale du Danemark d'interdire le butylparabène et le propylparabène dans les produits cosmétiques destinés aux enfants de moins de trois ans, en raison de leur potentielle activité endocrinienne, le CSSC adopte un avis sur les parabènes, suivi d'une clarification en octobre 2011. Le CSSC confirme l'innocuité du méthylparabène et de l'éthylparabène aux concentrations maximales autorisées. Par contre, ses conclusions au sujet du propylparabène et du butylparabène, conclusions formulées dans ces mêmes avis, sont remises en question par une étude des autorités françaises (étude menée par Vincent Gazin, responsable de l'unité de toxicologie de l'AFSSAPS) ; c'est la raison pour laquelle une évaluation des risques additionnelle pour ces deux substances est adoptée par le CSSC en mai 2013.

Parallèlement, le 3 mai 2011 en France, une proposition de loi visant à interdire les parabènes a été adoptée en première lecture par l'Assemblée Nationale. Depuis, la procédure de vote de la loi n'a pas avancé. Cette loi présentait un article unique : " La fabrication, l'importation, la vente ou l'offre de produits contenant des phtalates, des parabènes ou des alkylphénols sont interdites". D'après les discussions des parlementaires et les connaissances scientifiques de l'époque, nous pouvons considérer que cette loi avait été proposée (pour les parabènes) à titre préventif. Aussi, l'interdiction totale de tous ces produits semblait poser plusieurs problèmes, tant au niveau scientifique qu'industriel.

Par la suite, devant l'inquiétude croissante des consommateurs sur l'effet hormonal des parabènes, la Commission Européenne décide d'interdire l'utilisation de 5 parabènes comme conservateurs dans les produits cosmétiques : isopropyl-, isobutyl-, phényl-, benzyl- et pentymparabène (règlement UE n°358/2014) et de les ajouter à l'annexe II (substances interdites dans les produits cosmétiques). Elle n'a pas invoqué une dangerosité avérée, mais plutôt " l'absence de données nécessaires à leur réévaluation". D'après un responsable de la Commission, cette décision "reflète l'état des lieux dans l'industrie, qui a largement cessé

d'utiliser " ces conservateurs. Ces parabènes à chaîne longue n'étaient pas parmi les plus utilisés.

Quelques mois plus tard, le règlement (UE) n°1004/2014 fait suite à l'évaluation additionnelle réalisée par le CSSC. L'utilisation des propyl- et butylparabènes est maintenue mais en réduisant à 0,14% (en acide) la somme de leurs concentrations individuelles, qu'ils soient utilisés seuls ou en mélange (0,19% en esters). Ces deux esters sont interdits dans les produits sans rinçage destinés à être appliqués sur la zone de siège des enfants de moins de 3 ans, en raison d'un risque élevé de pénétration cutanée sur une peau irritée ou sous occlusion et de l'immaturité du système immunitaire des enfants.

L'application de ces nouvelles normes pour le propylparabène et le butylparabène a débuté le 16 avril 2015.

Le CSSC a confirmé en 2014, l'innocuité des méthyl- et éthylparabènes dans les produits cosmétiques lorsqu'ils sont utilisés dans les limites des concentrations autorisées : soit 0,4% pour un ester, 0,8% pour un mélange d'esters.

On constate donc que, suite aux différentes études réalisées sur la toxicité des parabènes, la législation a peu évolué, ce qui tendrait à montrer que ce sont des conservateurs relativement sûrs. "Les parabènes restent selon nous les conservateurs antimicrobiens les plus sûrs et les plus efficaces." [1]

5.1.4 Conclusion sur les parabènes

De part leurs propriétés physico-chimiques et leurs activités antimicrobiennes, la famille des parabènes est très utilisée comme conservateurs dans plusieurs domaines. L'usage courant de ces substances depuis près d'une centaine d'années, leur faible pouvoir allergisant et les conclusions rassurantes sur leur toxicité, confortent l'idée de sûreté et d'efficacité.

Les données plus récentes sur la voie cutanée montrent une pénétration des parabènes au travers de la peau et une rétention dans la couche cornée plus ou moins importante selon la longueur de la chaîne alkyl.

Leur dégradation est parfois incomplète, peut-être à cause d'une saturation des estérases cutanées et la question du devenir de ces esters non métabolisés dans la circulation sanguine n'est pas encore élucidée.

Malgré les nombreux biais que présente l'étude de P. Darbre, beaucoup d'interrogations demeurent mais nous pouvons conclure qu'en l'état actuel des données, il n'existe pas de lien

entre parabènes et cancer du sein. En effet, même si les parabènes possèdent des propriétés œstrogéniques, elles sont faibles. Elles sont peut être à l'origine des effets sur la reproduction masculine. Mais les études sur le sujet sont peu nombreuses et ces données sont à confirmer. Ainsi, nous pouvons conclure que l'utilisation de cosmétiques contenant des parabènes n'entraîne pas de risque.

5.2 Le « sans parabène » : principe de précaution ou stratégie marketing ?



« Sans parabène », « no paraben », « paraben free » : des notions à la mode que les industriels utilisent comme argument de vente. Mais chaque produit qui vante une formule « 0 % » est tout de même obligé de trouver un substitut, et les substituts peuvent parfois s'avérer dangereux.

5.2.1 L'essor du sans parabène ; quelles conséquences pour le consommateur ?

En raison des doutes quant à leur innocuité comme conservateurs, les consommateurs ne veulent plus de parabène dans leurs produits cosmétiques. Les marques développent alors de plus en plus des gammes « sans parabène » alors que ces conservateurs sont, comme nous avons pu le voir, sûrs d'un point de vue toxicologique. [60]

De plus, la mention « sans parabène » ne signifie pas « sans conservateur ». Pour pallier le retrait des parabènes, certains industriels ont ajouté du méthylisothiazolinone (MIT) ou du méthylchloroisothiazolinone (MCIT) par exemple. Ces conservateurs antimicrobiens longtemps utilisés dans les années 1970-1980 avaient été écartés dans les années 1990 du fait de leur caractère allergisant. C'est aussi le cas également de l'alcool, un ingrédient très utilisé par l'industrie cosmétique qui l'introduit, actuellement, en quantité plus ou moins importante, dans une grande variété de produits cosmétiques.

5.2.2 La mention « sans parabène ajouté »

La mention « sans parabène » ou « non conservé au parabène », ne signifie pas toujours que le produit ne contient aucune trace de parabène. En effet, cette formule signifie qu'aucun parabène n'a été ajouté à la formule pour assurer la conservation du produit fini mais

elle admet qu'un ou plusieurs ingrédients peuvent eux avoir été conservés avec des parabènes, d'où de possibles traces de parabènes dans le produit fini.

5.2.3 Polémique des parabènes : les réactions des industries cosmétiques

5.2.3.1 L'entrée en crise d'un sujet

En 2003, la britannique Philippa Darbe établit la relation entre les parabènes contenus dans les déodorants et l'incidence des cancers du seins. Même si à cette époque l'expérience doit encore être confirmée, cette étude met le feu aux poudres et les médias s'emparent de l'affaire.

En effet, le 3 mars 2005, France 2 diffuse le reportage « d'envoyé spécial » sur les parabènes et leur dangerosité. Ces conservateurs deviennent alors la bête noire des consommateurs. A partir de ce moment, les blogs sur le sujet se multiplient, les forums de discussions analysent les composants des produits cosmétiques. Les vidéos de l'émission sont d'ailleurs toujours disponibles sur internet.

La presse s'empare également de l'affaire et de nombreuses parutions posent la question de la dangerosité des cosmétiques : « Nos crèmes sont-elles dangereuses ? » par Mme Figaro, « cosmétiques l'envers du décor », par Que choisir, et « Comment sauver sa peau » par le Nouvel Observateur.

Les médias sont en effet de plus en plus nombreux, variés, libres et concurrentiels (télévision, internet, radio). La recherche du « buzz » ou du « scoop » est primordial pour faire vendre. Pourquoi ce sujet passionne-t-il autant ?

Le sujet sur les parabènes réunit plusieurs caractéristiques qui permettent d'en faire un phénomène médiatique de crise. (Emmanuel Tran Thann Tam 1996) [61]

- Le sujet est concret et peut toucher le grand public dans son quotidien.
- Il y a des victimes innocentes.
- L'entreprise, la marque, le produit est connu.
- Des doutes subsistent sur l'origine du problème.
- Des informations contradictoires circulent.

5.2.3.2 La gestion de crise par les industries cosmétiques

Au-delà de l'entrée en crise d'un sujet, la gestion de la crise pendant un événement est primordiale. Cela passe par une bonne communication : le terrain médiatique doit être occupé, il faut répondre aux questions et rester maître des informations qui circulent. Parfois, les industriels ne réussissent pas à parler d'une seule et même voix laissant ainsi le champ libre aux médias de s'emparer de l'affaire.



Une crise a un impact sur l'image de marque et peut dégrader la confiance qu'en ont les usagers de santé et les consommateurs. Le domaine de la santé véhicule une obligation intrinsèque de qualité et de transparence. C'est pourquoi sa résonance médiatique est extrême et immédiate et peut vite se transformer en scandale sanitaire.

Mais que quel que soit le secteur, la méthode d'une gestion de crise reste identique. Pour restaurer l'image de l'industriel incriminé, la première chose est de réagir vite et de faire preuve de transparence. Cacher des éléments ou nier la situation sont des motifs de surmédiation. En général l'industriel crée une cellule de crise, choisit un porte-parole pour dialoguer avec les médias. La difficulté pour le porte-parole est de devoir s'adresser simultanément aux médias, aux institutions et aux associations de consommateurs tout en étant convainquant et rassurant [61] [62].

5.2.4 Alternatives aux conservateurs classiques : avantages et inconvénients

5.2.4.1 Extraits naturels et propriétés antimicrobiennes

Parmi les extraits naturels possédant un pouvoir antimicrobien, on distingue les huiles essentielles, les extraits naturels et certaines huiles végétales. Ils sont tous obtenus à partir de matières premières végétales mais ils diffèrent de par leurs méthodes d'extraction et par la forme finale (liquide, poudre, pâte...).

La plupart des végétaux développent au cours de leur croissance des mécanismes de défense contre les attaques environnementales. Ils produisent alors des molécules les rendant résistants à ces phénomènes, notamment des molécules antibactériennes et antifongiques. Il existe un certain nombre, assez restreint, de conservateurs autorisés par la législation européenne d'origine naturelle.

Nous verrons dans cette partie, les alternatives dites naturelles aux conservateurs synthétiques. Nous mettrons en relief les avantages d'une telle méthode de conservation ainsi que les inconvénients. Car tout ce qui est « naturel » n'est pas forcément bon.

5.2.4.1.1. Huiles essentielles

5.2.4.1.1.1 Généralités

Les huiles essentielles sont utilisées depuis des centaines d'années pour leurs propriétés odorantes. Ces dernières années, leurs propriétés antimicrobiennes et antifongiques ont été le centre d'intérêt d'un grand nombre d'études. Aujourd'hui, les industriels de la cosmétique s'y intéressent et les utilisent de plus en plus pour remplacer les conservateurs de synthèse.

Les huiles essentielles peuvent être constituées de plusieurs dizaines, voire centaines de constituants. Les molécules responsables de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles sont principalement des hydrocarbures (terpènes), des alcools, particulièrement des phénols, des esters, des acides, des aldéhydes ou encore des cétones. Les phénols (thymol, eugénol) ont un excellent potentiel antibactérien ainsi qu'un large spectre d'activité. De tels composés sont par exemple présents dans l'huile essentielle de thym [15] [17].

5.2.4.1.1.2 Mode d'obtention

Les huiles essentielles peuvent être obtenues de différentes manières. Soit à partir de matières premières végétales par distillation à l'eau ou à la vapeur d'eau, soit à partir des fruits par des procédés mécaniques. Leur extraction peut également se faire par pyrogénéation de certaines écorces ou bois, c'est ce que l'on appelle la distillation sèche. Toutes ces techniques ont en commun de ne jamais utiliser de solvants organiques ou produits chimiques [15] [17].

5.2.4.1.1.3 Mode d'action antibactérien des huiles essentielles

Les huiles essentielles ont deux modes d'action antimicrobien différents. Elles peuvent soit inhiber la multiplication cellulaire microbienne et ainsi avoir un effet microbiostatique. Soit entraîner la mort des micro-organismes et avoir un effet microbiocide. Le mode d'action précis des huiles essentielles est assez flou mais il viendrait principalement des composés phénoliques. En attaquant la paroi cellulaire, ces molécules augmentent la perméabilité et provoquent alors une perte du matériel cellulaire [15] [17].

5.2.4.1.1.4 Limite à l'utilisation des huiles essentielles comme conservateurs

L'utilisation des huiles essentielles comme conservateurs pose cependant un certain nombre de problèmes.

En effet, Elles peuvent avoir une odeur marquée, parfois problématique pour une utilisation cosmétique. Mais la plus grosse difficulté dans l'utilisation des huiles essentielles comme conservateurs reste la présence d'allergènes pouvant être sources de réactions cutanées, type eczéma, voire d'allergies de contact. Nous l'avons dit, les huiles essentielles sont composées d'un vrai mélange de molécules variées comprenant en particulier des terpènes (hydrocarbures non aromatiques) et des composés oxygénés (alcools, aldéhydes, cétones, esters). Par exemple, le linalol présent dans l'huile essentielle de lavande et le cinnamaldéhyde de la cannelle sont des allergènes naturels.

Notons également que dans certains cas, l'emploi des huiles essentielles est limité, notamment chez les personnes dont la peau est sensible, chez les femmes enceintes et les enfants, les asthmatiques et les épileptiques [15] [17] [20].

5.2.4.1.1. Extraits naturels

Avec la diminution de l'utilisation des matières premières animales, la consommation en extraits végétaux par l'industrie cosmétique ne cesse de croître chaque année.

5.2.4.1.2.1 Modes d'obtention des conservateurs d'extrait naturel

Le végétal, généralement haché ou broyé, est mélangé avec un solvant qui a la capacité de solubiliser les métabolites d'intérêts. Une fois les débris végétaux éliminés, le solvant est retiré. L'extrait se présente alors sous la forme d'une pâte plus ou moins visqueuse ou d'un solide.

5.2.4.1.2.1 Limites à l'utilisation des extraits naturels dans la conservation des cosmétiques

Un certain nombre d'extraits végétaux ont été étudiés pour leurs propriétés antimicrobiennes et sont aujourd'hui présents sur le marché de la cosmétique, tels que l'extrait de pépin de pamplemousse et l'extrait de lichen. Cette utilisation en cosmétologie reste pourtant

anecdotique. Les extraits naturels présentent une grande complexité chimique actuellement peu connue [17].

Autre problème, les extraits contiennent de nombreuses molécules colorées. Parmi celles-ci, figurent les flavonoïdes (jaunes à orangés), les anthocyanes (bleus, violet, rouges), les tannins (marrons à bruns) et la chlorophylle. L'incorporation d'un extrait végétal contenant de telles molécules dans un produit cosmétique génère une coloration souvent peu esthétique et limitant le domaine d'application [15] [17].

5.2.4.1.3. Les huiles végétales

Les huiles végétales, grâce à leur activité anti-oxydante, sont également des extraits naturels utilisés dans la conservation des produits cosmétiques. Elles sont obtenues par un procédé mécanique traditionnel de pression, appliqué à des graines ou fruits issus de plantes oléagineuses. La pression dite « à froid » donne une huile qualifiée de vierge.

Enfin, malgré les idées reçues, ce n'est pas parce qu'un produit est dit 100% naturel qu'il ne peut pas être source de sensibilisation et dermatite allergique de contact.

5.2.4.2. Alternatives à l'utilisation de conservateurs

5.2.4.2.1 Jouer sur la formulation du cosmétique

5.2.4.2.1.1 Quantité d'eau libre présente dans la formule

Afin de se multiplier, les microorganismes doivent être en présence d'eau en quantité suffisante. La quantité d'eau nécessaire à cette croissance microbienne correspond à la quantité « d'eau libre », présente dans la formule. Généralement, une diminution de l'eau libre entraîne un net ralentissement de la croissance microbienne. En effet, afin de survivre et de se développer, les microorganismes doivent maintenir un état de turgescence à l'intérieur de la cellule.

Chaque espèce de microorganisme étant spécifique, la valeur minimale de l'eau libre nécessaire pour qu'une multiplication cellulaire puisse avoir lieu varie. Par exemple, les levures et moisissures peuvent se développer avec une quantité d'eau libre plus faible que les bactéries.

La diminution de la quantité d'eau libre dans une formulation cosmétique permet une protection contre la multiplication des microorganismes sans pour autant détruire une population contaminante, comme peuvent le faire des conservateurs microbicides. Si des microorganismes sont introduits dans le produit au moment de la fabrication ils resteront présents dans le produit fini. Un produit cosmétique qui serait uniquement conservé selon le facteur activité de l'eau doit donc être fabriqué dans des conditions de fabrication strictes et être conditionnés dans un packaging approprié.

Certaines matières premières ont une influence sur la valeur de l'eau libre. Les humectants, tels que le glycérol, propylène glycol, et sorbitol et autres matériaux hydrosolubles diminuent la valeur de l'eau libre grâce à la formation de liaisons hydrogènes avec les molécules d'eau. Les hydrocolloïdes utilisés pour augmenter la viscosité permettent d'abaisser la valeur de l'eau libre. En effet, ces agents texturants forment un réseau tridimensionnel qui limite la mobilité des molécules d'eau dans le milieu [15] [17].

5.2.4.2.1.2 Utiliser le pH pour limiter la prolifération bactérienne

Tout microorganisme possède un pH de croissance optimum. Les pH de croissance se situent généralement entre 5 et 8. D'une manière générale, les bactéries se développent mieux dans des milieux proches de la neutralité alors que les levures et moisissures ont un pH de croissance optimum se situant entre 4 et 6. Ainsi, plus le pH du milieu dans lequel se trouvent les cellules bactériennes s'éloigne de leur pH optimal de développement, plus les microorganismes se trouvent dans des conditions de stress défavorables. Cependant, la majorité des produits cosmétiques ont un pH qui se situe entre 5 et 8, il est donc difficile d'utiliser ce paramètre pour limiter la croissance microbienne au sein du produit fini.

5.2.4.2.2 Modifier le packaging du cosmétique

Lorsque l'on élabore la formulation d'un cosmétique, le choix du packaging est à prendre en compte dès le début car il peut avoir un impact positif ou négatif sur la conservation du produit. En effet, moins le produit n'a de contact avec l'extérieur, moins il sera contaminé lors de son utilisation. Par exemple, les crèmes en pot nécessitent une concentration importante de conservateurs car elles sont soumises à une contamination secondaire.

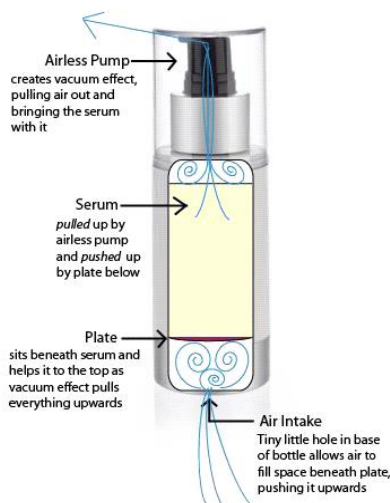


Figure 10 - Exemple de packaging "airless"

Des packagings spécifiques ont été élaborés afin d'optimiser la protection des produits finis. Les plus répandus sont les pompes « airless » conçues selon un procédé bloquant l'entrée d'oxygène et d'eau dans le contenant où se trouve le produit et limitant au maximum les contacts directs entre le consommateur et la formulation lors du prélèvement. Pour cela, ces pompes possèdent une valve de non-retour du produit. Il faut cependant noter que ces packagings élaborés ont un coût supérieur aux packagings classiques, la répercussion se faisant sur le prix du produit fini.

Les laboratoires dermatologiques Avène® ont développé un dispositif de fermeture permettant de conserver une formule stérile absolument intacte durant toute la durée de l'utilisation du produit. Ce dispositif assure l'absence de rétrocontamination (aucun volume mort et aucun passage d'air). Le système se compose de 4 pièces dont une membrane souple qui se soulève lorsque l'on exerce une pression sur le tube et revient en place lorsque l'on relâche la pression. Les pièces sont fabriquées au millimètre près, ce qui assure une parfaite cohésion et étanchéité de l'ensemble. Enfin, le capot s'ajuste parfaitement sur la capsule (pas d'espace libre entre les deux) et sa fermeture est assurée par un clip d'invulnérabilité qui n'est retiré qu'au moment de la première utilisation du tube. La fabrication et le conditionnement de ces produits ne sont pas sans contrainte. En effet, le procédé industriel appliqué est dérivé de la fabrication des médicaments injectables et se fait donc en milieu complètement stérile. Ce système de fabrication est nommé ETS (Extreme Tolerance System). On comprend donc que cela implique un coût de production et de packaging important, qui se répercute sur le prix du produit fini.

COSMETIQUE STERILE

Effacité assurée et Sécurité garantie

- **Un procédé unique en dermo-cosmétique : la stérilisation tout au long de la fabrication.**

La stérilisation intégrale du matériel de production.

La stérilisation brevetée des formules.

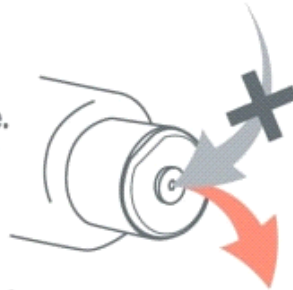
Le conditionnement en bloc stérile.

- **Un système de fermeture breveté parfaitement hermétique.**

D.E.F.I. DISPOSITIF EXCLUSIF FORMULE INTACTE

Interdisant aux bactéries de contaminer les formules.

Assurant le maintien de la stérilité tout au long de l'utilisation.



- **Une sélection rigoureuse et limitée aux ingrédients essentiels.**

Résultats : cette association unique au monde, issue de la Recherche Pierre Fabre, vous garantit un soin :

- qui reste stérile et protégé tout au long de l'utilisation

- formulé sans paraben, sans conservateur et sans substance à fonction de conservateur.

Les soins **COSMETIQUE STERILE** ne contiennent donc que les actifs essentiels pour votre peau.

Figure 11 – Le système D.E.F.I. par Pierre Fabre

4.2.4.3. Conclusion sur les alternatives sans conservateurs

La notion « sans conservateur » mentionnée sur un certain nombre de cosmétiques peut signifier plusieurs choses.

Soit il ne contient en effet pas de conservateurs, mais il est alors non commercialisable car non stérile. Sa durée de vie est très limitée.

Soit le cosmétique est stérile et conditionné dans un emballage qui le préserve de toute contamination par l'utilisateur. Il ne contient effectivement pas de conservateur. On peut citer pour exemple les laboratoires Pierre Fabre qui ont apporté une solution très intéressante dans ce domaine avec le système DEFI (Dispositif Exclusif Formule Intacte). Au-delà de la stratégie commerciale et marketing, le système DEFI qualifie la fermeture brevetée de tubes, permettant une parfaite protection des formules stériles.

Enfin, un cosmétique peut se dire « sans conservateur » s'il est conservé par des substances non listées sur l'annexe V. Le terme « sans conservateur » doit donc se lire de la manière suivante : « sans conservateur visé par le règlement ». L'alcool ou les huiles essentielles

peuvent avoir des propriétés antiseptiques, certains humectants tel que l'éthylhexylglycérine, qui se lient à l'eau et diminuent la disponibilité de celle-ci vis-à-vis des micro-organismes sont également utilisés.

De nombreux extraits naturels possèdent des propriétés antimicrobiennes. Cependant, ne faisant pas partie de la liste des 56 conservateurs autorisés, ils ne peuvent pas être utilisés et étiquetés comme conservateurs. Néanmoins, le rejet des conservateurs de synthèse par les consommateurs depuis la polémique sur les parabènes conduit progressivement à une augmentation de leur utilisation.

6. Conclusion

Nous avons vu que les conservateurs sont indispensables pour assurer la stabilité microbiologique des produits cosmétiques, mais trouver un conservateur "idéal" avec risque zéro pour le consommateur reste très difficile.

Nous pouvons dire qu'il s'agit d'un enjeu de santé publique car les cosmétiques sont largement et quotidiennement utilisés par l'ensemble de la population, et nous savons que certains d'entre eux peuvent avoir des effets néfastes sur la santé. Dans le but de sensibiliser la population à ce problème, les médias sont largement intervenus en invoquant les effets nocifs de certains conservateurs. Ces publications ont eu des conséquences mitigées. On peut dire que certaines ont été bénéfiques car d'une part, les consommateurs sont maintenant plus exigeants sur la qualité des produits qu'ils utilisent, et d'autre part, les autorités sanitaires ont été amenées à réévaluer la toxicité de certains conservateurs et parfois à modifier la législation les concernant.

Par contre, certaines affirmations n'étaient pas scientifiquement fondées et ont pourtant entraîné des changements de formules de la part de l'industrie cosmétique.

En effet, la polémique sur les parabènes a entraîné leur substitution par des conservateurs plus nocifs, tels que la MIT ou les générateurs de formol. De même, on voit se multiplier les produits cosmétiques renfermant de l'alcool, des huiles essentielles, des substances naturelles... qui ne sont pas nécessairement plus intéressants.

Parmi toutes ces informations contradictoires, le pharmacien se doit d'être critique et de les vérifier auprès des autorités sanitaires compétentes officielles. C'est ce que recommande la zététique : "penser avec ordre et méthode, en tenant à distance dogmes, préjugés et idées reçues".

NOM et Prénom :LE BIHAN Cécile.....

TITRE DE LA THESE

.....UTILISATION DES CONSERVATEURS EN COSMETIQUE :
.....UN ENJEU DE SANTE PUBLIQUE,
.....UNE RESONANCE MEDIATIQUE.....
.....

12 JUIN 2018

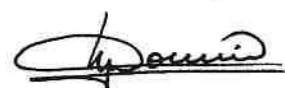
Rennes, le 23 mai 2018

Le Président de thèse :



Jean-Charles CORBEL

Le Directeur de thèse :



Pierre-Yves DONNIO

VU et Permis d'imprimer

Le Président de l'Université de Rennes1.



D.ALIS

Bibliographie

- [1] C. Couteau et L. Coiffard, La formulation cosmétique à l'usage des professionnels et des amateurs, Les Editions Le Moniteur des Pharmacies, Collection Pro-Officina, 2014.
- [2] C. Lanoe, «Céruse et cosmétiques sous l'Ancien Régime, XVIe-XVIIIe siècles,» *Documents pour l'histoire des techniques*, pp. 21-34, 12 Janvier 2003.
- [3] C. Couteau et L. Coiffard, Les produits cosmétiques à l'officine : comprendre leur composition pour bien les conseiller, Editions Le moniteur des pharmacies. Collection PRO-OFFICINA, 2017.
- [4] *Règlement (CE) n°1223/2009 du Parlement européen et du Conseil du 30 novembre 2009 relatif aux produits cosmétiques*, <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/?uri=celex%3A32009R1223>, 2009 Annexe 1.
- [5] *Code de la santé publique, article L5131-1*, <https://www.legifrance.gouv.fr/affichCodeArticle.do?idArticle=LEGIARTI000023385246&cidTexte=LEGITEXT000006072665&dateTexte=20110419>.
- [6] F. Bourrust, «Cosmétiques : ça bouge aux frontières !,» L'observatoire des Cosmétiques, [En ligne]. Available: <http://www.cosmed.fr/images/presse/observatoire%20des%20cosmetique%2009%2004.pdf>.
- [7] Martin-Bouyer et e. al., «Outbreak of accidental hexachlorophene poisoning in France,» *Lancet*, 1, vol. 1, n° 18263, pp. 91-95, 1982.
- [8] ANSM, «Surveillance du marché des produits cosmétiques, Réglementation des produits cosmétiques,» [En ligne]. Available: [http://ansm.sante.fr/Activites/Surveillance-du-marche-des-produits-cosmetiques/Reglementation-des-produits-cosmetiques/\(offset\)/3](http://ansm.sante.fr/Activites/Surveillance-du-marche-des-produits-cosmetiques/Reglementation-des-produits-cosmetiques/(offset)/3).
- [9] «Code de la santé publique,» [En ligne]. Available: <https://www.legifrance.gouv.fr>.
- [10] Ecomundo, «Comment réaliser le Dossier d'Information sur le Produit cosmétique,» [En ligne]. Available: <https://www.ecomundo.eu/fr/blog/comment-realiser-dossier-information-produit>.
- [11] X. Fernandez, T. Michel et A. Kerdudo, «Analyse des principes actifs et substances réglementées en cosmétique,» *Les Techniques de l'ingénieur*, vol. J3 300, Mai 2015.
- [12] Ministère de la transition écologique et solidaire, «la réglementation REACH,» 2017:. [En ligne]. Available: <https://www.ecologique-solidaire.gouv.fr/reglementation-reach>.
- [13] A. E. d. P. C. (ECHA), «Comment l'Union européenne réglemente les produits chimiques,» [En ligne]. Available: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/?uri=LEGISSUM%3AI21282>.

- [14] ANSM, «La cosmétovigilance,» [En ligne]. Available: [http://ansm.sante.fr/Declarer-un-effet-indesirable/Cosmetovigilance/Cosmetovigilance/\(offset\)/0](http://ansm.sante.fr/Declarer-un-effet-indesirable/Cosmetovigilance/Cosmetovigilance/(offset)/0).
- [15] A. Kerdudo, «Optimisation de la conservation des cosmétiques : impact de la formulation, recherche de nouveaux conservateurs naturels, encapsulation,» Université Nice Sophia Antipolis, Archive ouverte HAL, Nice, 2014.
- [16] Cosmeticofficine, «les formes galéniques,» [En ligne]. Available: <http://www.cosmeticofficine.com/produits-cosmetiques/les-formes-galeniques/>.
- [17] X. Fernandez, F. Merck et A. Kerdudo, «Conservateurs pour cosmétiques, Généralités et conservateurs antimicrobiens,» *Les Techniques de l'ingénieur*, 2012.
- [18] J. Mussard, «Les parabens, des conservateurs omniprésents : un risque pour la santé ?,» 2006. [En ligne]. Available: archive.bu.univ-nantes.fr/pollux/fichiers/.../38ebdef9-4ee8-46ec-912c-2a6562ec9d1a.
- [19] M. Martini et M. Seiller, «Actifs et additifs en cosmétique,» *technique et documentation Lavoisier*, 1999.
- [20] E. Gimenez-Arnau, «À la recherche d'un conservateur idéal : la nature versus les molécules de synthèse ? Le point de vue du chimiste,» n° 155, pp. 210-211, 2015.
- [21] ANSM, «Evaluation du risque lié à l'utilisation du phénoxyéthanol dans les produits cosmétiques,» [En ligne]. Available: http://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/0b46fedc079e8bb174a40b7b6f16d04c.pdf.
- [22] ANSES, «Avis de l'Anses relatif à "une demande d'avis sur le risque sanitaire lié à la consommation d'oeufs de truites et de leurs éventuels produits dérivés (tarama...) contaminés en phénoxyéthanol",» Saisine n°2015-SA-0150.
- [23] Le Moniteur des Pharmacies, «Ces ingrédients qui créent la polémique,» Cahier 2 du n°3105, 2015.
- [24] Ineris, «Données technico-économiques sur les substances chimiques en France : Triclosan, DRC-14-136881-07001A,» 2014.
- [25] ANSES, «Evaluation des risques sanitaires liés à la présence de formaldéhyde,» [En ligne]. Available: <https://www.anses.fr/fr/content/evaluation-des-risques-sanitaires-li%C3%A9s-%C3%A0-la-pr%C3%A9sence-de-formald%C3%A9hyde>.
- [26] Institut de Veille Sanitaire, «Exposition professionnelle au formaldéhyde et effets sur la santé,» 2007. [En ligne]. Available: <http://invs.santepubliquefrance.fr/publications/2007>.
- [27] ANSM, «Avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé relatif aux risques sanitaires d'exposition au formaldéhyde contenu dans certains produits cosmétiques de lissage capillaire,» 2010.

- [28] European Commission, «Ban on animal testing,» [En ligne]. Available: http://ec.europa.eu/growth/sectors/cosmetics/animal-testing_fr.
- [29] Y. Le Roux, Optimisation de l'évaluation de la sécurité des extraits végétaux dans les produits cosmétiques : mise au point préliminaire, outils et cas pratiques, Rennes, 2017.
- [30] Consoglobe, «Faut-il avoir peur du phénoxyéthanol ?,» 2013. [En ligne]. Available: <https://www.consoglobe.com/phenoxyethanol-cg>.
- [31] J. Fewings et T. Menné, «An update for the risk assessment for methylchloroisothiazolinone/methylisothiazolinone (MCI/MI) with focus on rinse-off products,» *Contact Dermatitis*, n° 141, pp. 1-13, 1999.
- [32] J. Geier, H. Lessmann et A. e. a. Schnuch, «Recent increase in allergic reactions to methylchloroisothiazolinone/methylisothiazolinone : is methylisothiazolinone the culprit ?,» *Contact Dermatitis* , n° 16, pp. 334-341, 2012.
- [33] F. Giordano-Labadie, «Méthylisothiazolinone : un allergène émergent,» *Revue française d'allergologie*, n° 154, pp. 311-314, 2014.
- [34] UFC-Que Choisir, «les fiches des produits toxiques à éviter,» 12 03 2018. [En ligne]. Available: <https://www.quechoisir.org/decryptage-produits-cosmetiques-les-fiches-des-molecules-toxiques-a-eviter-n2019/#triclosan>.
- [35] ANSM, «Utilisation du triclosan en tant que conservateur dans les produits cosmétiques : les évolutions en cours au niveau européen- Point d'information au 01/10/2012,» 2012.
- [36] A. Le Douget, Enquête sur le scandale de la poudre Baumol (1951-1959) : La première catastrophe sanitaire française, Le Douget Editions, 2016.
- [37] F. Canorel, «Hexachlorophène : d'une crise sanitaire à la cosmétovigilance,» 2007.
- [38] C. Coiffard et C. Couteau, «De l'influence de scandales sanitaires sur la réglementation des produits cosmétiques; Scandals and cosmetic products regulation,» *Médecine & Droit*, vol. 2017, n° 1143, pp. 51-55, 2017.
- [39] C. Baures, S. Bedda, E. Garderes, L. Moreau et M. Raulot, «Les cosmétiques biologiques à la loupe « Entrez dans l'univers des controverses actuelles, des labels et de la réglementation,» [En ligne]. Available: http://www.agrobiosciences.org/IMG/pdf/Dossier_cosmetiques_biologiques.
- [40] Y. Cohen et C. Gleitz, Les conservateurs dans les produits cosmétiques : cas des parabens et du phénoxyéthanol. Et que penser des produits cosmétiques "biologiques" ?, HAL-archives-ouvertes, 2016.
- [41] Le Monde, «« 60 millions de consommateurs » publie une liste de cosmétiques « sûrs »,» 08 06 2017. [En ligne]. Available: <http://www.lemonde.fr/planete/article/2017/06/08/60->

millions-de-consommateurs-publie-une-liste-de-cosmetiques-sains-et-surs_5140511_3244.html#eWSyCxViH8xIZgWf.99.

- [42] DGCCRF, «Contrôle des produits cosmétiques 2016,» 2016. [En ligne]. Available: [economie.gouv.fr/dgccrf/contrôle des produits cosmétiques](http://economie.gouv.fr/dgccrf/contrôle%20des%20produits%20cosmétiques).
- [43] European Commission, «Opinion on phenoxyethanol,» 06 10 2016. [En ligne]. Available: http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/consumer_safety/docs/sccs_o_195.pdf.
- [44] UFC-Que choisir, «Cosmétiques et produits ménagers : la MIT, un conservateur à bannir,» 17 01 2014. [En ligne]. Available: <https://www.quechoisir.org/actualite-cosmetiques-et-produits-menagers-la-mit-un-conservateur-a-bannir-n10471/>.
- [45] UFC-Que Choisir, «Cosmétiques et perturbateurs endocriniens : 66 produits analysés,» 26 03 2013. [En ligne]. Available: <https://www.quechoisir.org/enquete-cosmetiques-et-perturbateurs-endocriniens-66-produits-analyses-n4839>.
- [46] UFC-Que Choisir, «Produits de rasage : interdiction du triclosan,» [En ligne]. Available: <https://www.quechoisir.org/actualite-produits-de-rasage-interdiction-du-triclosan-n8273/>.
- [47] ANSM, «Médicaments et Parabènes - Point d'information,» [En ligne]. Available: <http://ansm.sante.fr/S-informer/Points-d-information-Points-d-information/Medicaments-et-Parabenes-Point-d-information>.
- [48] Eduscol, «Les parabènes au quotidien,» [En ligne]. Available: <http://culturesciences.chimie.ens.fr/content/les-parabenes-au-quotidien-862>.
- [49] Consoglobe, «Parabens, attention aux étiquettes !,» [En ligne]. Available: <https://www.consoglobe.com/parabens-attention-aux-etiquettes-cg>.
- [50] cancer-environnement, «Les Parabènes,» [En ligne]. Available: <http://www.cancer-environnement.fr/420-Parabenes.ce.aspx>.
- [51] S. Zhang et C. Mueller, «Comparative analysis of volatiles in traditionally cured Bourbon and Ugandan vanilla bean (*Vanilla planifolia*) extracts,» *Agric Food Chem.*, vol. 60, n° 142, pp. 10433-44, 2012.
- [52] Benkimoun, «Des parabènes présents dans 400 médicaments,» [En ligne]. Available: http://www.lemonde.fr/planete/article/2011/05/23/des-parabenes-presents-dans-400-medicaments_1525948_3244.html.
- [53] Le Moniteur, «Effet oestrogénique des parabènes n°3105,» 2015.
- [54] M. Namer, E. Luporsi, J. Gligorov, F. Lokiec et M. Spielmann, «The use of deodorants/antiperspirants does not constitute a risk factor for breast cancer,» *Bull Cancer*, vol. 95, n° 19, pp. :871-80, 2008.

- [55] Darbre et al., «Concentrations of parabens in human breast tumors,» *Annexe 2*, 2004.
- [56] Inserm, «Parabènes,» [En ligne]. Available: http://www.ipubli.inserm.fr/bitstream/handle/10608/222/Chapitre_57.html#ref-c57-bib3.
- [57] J. Meeker, T. Yang, X. Ye, A. Calafat et R. Hauser, «Urinary Concentrations of Parabens and Serum Hormone Levels, Semen Quality Parameters, and Sperm DNA Damage,» *Environmental Health Perspectives*, 2010.
- [58] M. Colinon, «Parabens: existe-t-il un risque pour la fertilité masculine?,» [En ligne]. Available: [https://www.topsante.com/medecine/environnement-et-sante/parabene-tout-savoir/ou-se-cachent-les-parabens-10247/\(page\)/5](https://www.topsante.com/medecine/environnement-et-sante/parabene-tout-savoir/ou-se-cachent-les-parabens-10247/(page)/5).
- [59] N. Abdou, «L'usage des produits cosmétiques controversés pendant la grossesse et la lactation : revue de la bibliographie. Gynécologie et obstétrique,» 2016.
- [60] Que choisir, «Produits cosmétiques - Les fiches des molécules toxiques à éviter,» [En ligne]. Available: <https://www.quechoisir.org/decryptage-produits-cosmetiques-les-fiches-des-molecules-toxiques-a-eviter-n2019/>.
- [61] Com&health, «Pas d'impasse sur la communication de crise !,» [En ligne]. Available: <http://www.comandhealth.com/pas-dimpasse-sur-la-communication-de-crise/>.
- [62] V. Agnolutto, «Marketing Et Communication De Crise : Zoom Sur L'Industrie Cosmetique,» M2C Paris : Contribution de Recherche.

Annexe 1

Annexe V du règlement (CE) n°1223/2009 du Parlement européen et du Conseil du 30 novembre 2009 relatif aux produits cosmétiques, applicable depuis le 11 juillet 2013 :

"Liste des agents conservateurs admis dans les produits cosmétiques".

Annexe 2 : Darbe et al ; « Concentrations of parabens in human breast tumors »2004.

Concentrations of Parabens in Human Breast Tumours

P. D. Darbre,^{1,*} A. Aljarrah,² W. R. Miller,² N. G. Coldham,³ M. J. Sauer⁴ and G. S. Pope¹

¹ Division of Cell and Molecular Biology, School of Animal and Microbial Sciences, University of Reading, Reading RG6 6AJ, UK

² The Edinburgh Breast Unit Research Group, Paderewski Building, Western General Hospital, Edinburgh EH4 2XU, UK

³ Department of Bacterial Diseases, Veterinary Laboratories Agency, Weybridge, New Haw, Addlestone, Surrey KT15 3NB, UK

⁴ Department of TSE Molecular Biology, Veterinary Laboratories Agency, Weybridge, New Haw, Addlestone, Surrey KT15 3NB, UK

Key words: parabens; xenoestrogens; oestrogenic activity; HPLC–MS–MS; human breast cancer; preservatives; cosmetics.

Parabens are used as preservatives in many thousands of cosmetic, food and pharmaceutical products to which the human population is exposed. Although recent reports of the oestrogenic properties of parabens have challenged current concepts of their toxicity in these consumer products, the question remains as to whether any of the parabens can accumulate intact in the body from the long-term, low-dose levels to which humans are exposed. Initial studies reported here show that parabens can be extracted from human breast tissue and detected by thin-layer chromatography. More detailed studies enabled identification and measurement of mean concentrations of individual parabens in samples of 20 human breast tumours by high-pressure liquid chromatography followed by tandem mass spectrometry. The mean concentration of parabens in these 20 human breast tumours was found to be $20.6 \pm 4.2 \text{ ng g}^{-1}$ tissue. Comparison of individual parabens showed that methylparaben was present at the highest level (with a mean value of $12.8 \pm 2.2 \text{ ng g}^{-1}$ tissue) and represents 62% of the total paraben recovered in the extractions. These studies demonstrate that parabens can be found intact in the human breast and this should open the way technically for more detailed information to be obtained on body burdens of parabens and in particular whether body burdens are different in cancer from those in normal tissues. Copyright © 2004 John Wiley & Sons, Ltd.

INTRODUCTION

The alkyl esters of *p*-hydroxybenzoic acid (parabens) are used widely as preservatives in many thousands of cosmetic, food and pharmaceutical products (Elder, 1984). These simple esters have proved to be very effective antimicrobial agents, with antimicrobial activity increasing with the length of the alkyl grouping from methyl to *n*-butyl (Murrell & Vincent, 1950), and it is the simplicity and effectiveness of these compounds that have resulted in their widespread use. As such, the human population is exposed to parabens from a wide variety of sources on a daily basis. Parabens are permitted as preservatives in food up to 0.1% and the average daily intake of parabens from food by adult humans was estimated in 1984 to be 4–6 mg kg⁻¹ (Elder, 1984). In cosmetics, parabens are permitted in concentrations of up to 1% (Elder, 1984). In 1984, it was estimated that parabens were used in 13 200 different cosmetic formulations (Elder, 1984) and a more recent

* Correspondence to: Dr. P. D. Darbre, Division of Cell and Molecular Biology, School of Animal and Microbial Sciences, University of Reading, PO Box 228, Whiteknights, Reading RG6 6AJ, UK.
E-mail: p.d.darbre@reading.ac.uk
Contract/grant sponsor: Seedcorn Fund of the Veterinary Laboratories Agency.

Copyright © 2004 John Wiley & Sons, Ltd.

Copyright © 2004 John Wiley & Sons, Ltd.

survey of 215 cosmetic products found that parabens were used in 99% of leave-on products and in 77% of rinse-off cosmetics (Rastogi *et al.*, 1995).

Animal studies have shown that parabens are rapidly absorbed, metabolized and excreted. Parabens are quickly absorbed from the gastrointestinal tract and from blood, hydrolysed to *p*-hydroxybenzoic acid, conjugated and the conjugate excreted in the urine (Jones *et al.*, 1956; Heim *et al.*, 1957; Tsukamoto & Terada, 1960, 1962, 1964; Derache & Gourdon, 1963; Phillips *et al.*, 1978; Kiwada *et al.*, 1979). Parabens also can be absorbed rapidly through intact skin (Whitworth & Jun, 1973; Fischmeister *et al.*, 1975; Komatsu & Suzuki, 1979) and this can be influenced by the presence of penetration enhancers found in cosmetic preparations (Kitagawa *et al.*, 1997). However, the presence of

carboxylesterases in skin and subcutaneous fatty tissues results in varying hydrolysis to *p*-hydroxybenzoic acid (Lobemeier *et al.*, 1996) and this can also influence absorption (Bando *et al.*, 1997). However, the question remains as to whether any of the parabens can enter the body intact from the long-term, low-dose levels to which humans are exposed. Parabens have a high oil/water partition coefficient and water solubility decreases with increase in ester chain length (Elder, 1984). Therefore, if any parabens do enter the human body intact, they may be able to accumulate in fatty components of body tissues in a similar manner to that of other lipophilic

Received 23 June 2003 24, 5–13 (2004)

Revised 7 October 2003

Accepted 8 October 2003

pollutants that are known to bioaccumulate (Dobson *et al.*, 1989; Dobson, 1993; Sonawane, 1995; Hardell *et al.*, 1996; Guttus *et al.*, 1998; Stellman *et al.*, 1998, 2000; Darbre, 1998).

Most studies have indicated that parabens are not mutagenic (Elder, 1984), but there are reports that they can cause chromosomal aberrations (Ishidate *et al.*, 1978), particularly in the co-presence of polychlorinated biphenyls (Matsuoka *et al.*, 1979), and subcutaneous administration of methylparaben has been reported to cause mammary adenocarcinomas in rats (Mason *et al.*, 1971). At a cellular level, parabens have been shown capable of disrupting cellular function through inhibiting secretion of lysosomal enzymes (Bairati *et al.*, 1994) and causing mitochondrial dysfunction (Nakagawa & Maldeus, 1998). However, the recent discovery that parabens possess oestrogenic activity has challenged the concepts of their toxicity in new ways. Because parabens can bind to oestrogen receptors, they may be able to mediate unwanted effects at much lower concentrations and more specifically than through nonreceptor mediated mechanisms.

The oestrogenic activity of parabens was first reported in 1998 (Routledge *et al.*, 1998). Since then, parabens have been shown to bind to oestrogen receptors from different sources, including rodent uterus (Routledge *et al.*, 1998; Blair *et al.*, 2000; Fang *et al.*, 2001) and MCF7 human breast cancer cells (Byford *et al.*, 2002;

Darbre *et al.*, 2002, 2003). They have been shown to regulate oestrogen-responsive reporter gene expression in yeast cells (Routledge *et al.*, 1998; Jin-Sung *et al.*, 2000; Nishihara *et al.*, 2000) and in human breast cancer cells (Byford *et al.*, 2002; Darbre *et al.*, 2002, 2003), and expression of the endogenous oestrogen-regulated genes pS2 (Byford *et al.*, 2002) and progesterone receptor (Okubo *et al.*, 2001) in breast cancer cells. Parabens can increase the growth of MCF7 human breast cancer cells (Okubo *et al.*, 2001; Byford *et al.*, 2002; Darbre *et al.*, 2002, 2003), which can be blocked with the antioestrogen ICI 162 780 (faslodex) (Byford *et al.*, 2002; Darbre *et al.*, 2002, 2003), demonstrating the growth effects to be oestrogen-receptor-mediated. Their oestrogenic activity has been demonstrated also in animal models *in vivo* in fish (Pedersen *et al.*, 2000) and in increasing uterine weight in immature rats (Routledge *et al.*, 1998) and immature mice (Darbre *et al.*, 2002, 2003). In line with other environmental oestrogens, butylparaben has been shown also to be able to alter reproductive function in male rats, including reduction in sperm counts (Oishi, 2001). In general, the oestrogenic and antimicrobial activities of the parabens increase with the length and branching of the alkyl ester (Darbre *et al.*, 2002, 2003).

Because oestrogen is known to influence the incidence of breast cancer (Lipworth, 1995) and ablation of oestrogen action remains the preferred treatment for hormonesensitive breast tumours (Miller, 1996), the presence of oestrogenic chemicals in the breast area could potentially influence both the incidence and treatment of breast cancer. Parabens are used as preservatives in a range of cosmetics applied to the underarm and breast area and it has been suggested that regular application of such oestrogenic chemicals could influence breast cancer development (Darbre, 2001, 2003; Harvey, 2003). However, the outstanding question remains as to whether parabens can enter and accumulate in the human breast. Previous studies have identified other environmental oestrogenic chemicals that can accumulate in fatty tissue of the breast (Dobson, 1993; Hardell *et al.*, 1996; Guttus *et al.*, 1998; Stellman *et al.*, 1998, 2000). This study has

aimed to investigate whether parabens also can be detected in human breast tissue, using available breast tumour material. Initial experiments enabled the extraction of total parabens from human breast tissue to be visualized by thin-layer chromatography. More detailed studies enabled identification and measurement of individual parabens in human breast tumour samples by high-pressure liquid chromatography (HPLC) followed by tandem mass spectrometry (MS/MS).

MATERIALS AND METHODS

Human breast tumour material

Samples of human breast tumour material were collected at the Edinburgh Breast Unit and stored in liquid nitrogen.

Chemical standards

Methylparaben, ethylparaben, *n*-propylparaben, *n*butylparaben and benzylparaben were purchased from Sigma (Poole, UK). Isobutylparaben was a gift from Nipa Laboratories (Mid-Glamorgan, UK). All compounds were made as stock solutions of 0.1 M in ethanol.

Extraction of parabens from human breast material and analysis by thin-layer chromatography

All glassware was pre-washed in 0.1 M NaOH and extractions were performed using sterile polycarbonate tubes (Falcon). Samples of human breast tissue (1 g) were chopped finely with a sterile razor and homogenized in 5 ml of hexane using a hand-homogenizer. Samples were left in a sealed polycarbonate tube with mixing for 1 h and then spun at 1500 rpm in a bench centrifuge at room temperature for 2 min. The supernatant was placed in a sterile polycarbonate tube, 5 ml of 0.1 M potassium bicarbonate was added and the tube was inverted 40 times by hand. The mixture was spun at 1500 rpm at room temperature for 2 min to separate the phases. The upper yellow hexane layer containing phenolic compounds was placed

in a new sterile polycarbonate tube, 5 ml of 0.1 M potassium carbonate was added and again the tube was inverted 40 times by hand. The mixture was spun at 1500 rpm at room temperature for 2 min to separate the phases. The lower aqueous layer containing the phenols as potassium salts was taken into a new sterile polycarbonate tube and acidified by the addition of 300 μ l of concentrated hydrochloric acid to give a pH in the 1–3 range (checked with pH paper). The free phenolic compounds released on acidification were extracted into 5 ml of diethyl ether by inverting the tube by hand 40 times (Pope *et al.*, 1990). The mixture was spun at 1500 rpm at room temperature for 2 min to separate the phases. The upper ether layer was removed and evaporated to dryness under nitrogen overnight in a fume hood.

The extract was taken up in 50 μ l of ethanol and aliquots were run against paraben standards (50–400 ng per track) on thin-layer chromatography plates (DC-Alufolien Kieselgel 60 F254, Merck; ca. 6 cm wide $\times$ 8 cm high) using a solvent of 5% (v/v) ethanol–95% (v/v) chloroform. Parabens were visualized under ultraviolet light. For quantitation, the image under ultraviolet light was captured digitally and relative levels of bands were analysed by image analysis using the software packages Transform 3.4 (Fortner) and Origin 6.0.

IV. Extraction of parabens from human breast tumour material and analysis by HPLCMS/MS

Samples of human breast tumour material (0.25 g) were chopped finely with a sterile razor and homogenized in a mixture of 6.25 ml of ethanol and 6.25 ml of acetone. This mixture was left with periodic shaking overnight in a sealed glass Corex tube. The next day, the mixture was spun at 2500 rpm for 10 min on a bench centrifuge at room temperature. The supernatant was removed to a clean Corex tube. The pellet was re-extracted with a further 1.5 ml of ethanol and 1.5 ml of acetone, spun and the two supernatants pooled. The total supernatant was dried under nitrogen at room temperature. To the residue was added 6 ml of 70% (v/v) aqueous methanol; the mixture was vortexed and then incubated overnight at -20 °C. The next day, the mixture was spun at 3200 rpm

for 20 min at 4 °C and the supernatant was removed to a clean Corex tube. The pellet was re-extracted with a further 1 ml of 70% (v/v) aqueous methanol by vortexing and spun again at 3200 rpm for 20 min at 4 °C. The two supernatants were pooled and dried under nitrogen for analysis by HPLCMS/MS.

The extracts were dissolved in HPLC mobile phase (0.25 ml) and the paraben concentration determined by HPLCMS/MS. Samples (20 μ l) of the final extracts were chromatographed on a Hypersil Elite C18 column (150 $\times$ 2.1 mm; 5 μ m) at a flow rate of 0.3 ml min⁻¹ and eluted with a linear binary gradient of 15 mM ammonium acetate pH 4.5 (A) and acetonitrile (B) ($t = 0$ min A 70%, $t = 15$ min A 40%, $t = 16$ min A 70%, $t = 25$ min next injection). The HPLC retention times for the paraben standards are provided in Table 1. The parabens were detected with a Sciex API 2000 triple quadrupole mass spectrometer equipped with a heated nebulizer probe operated in the negative ion mode. Optimal setting of the instrument for detection by mass reaction monitoring (MRM) was established empirically by infusion of paraben standards (1 μ g ml⁻¹). The mass transitions selected for MRM detection utilized the fragmentation of the deprotonated molecular ion and are listed in Table 1. Chromatographic peaks corresponding to individual parabens were detected automatically and the mass of analyte calculated after interpolation from calibration curves prepared over the working range 1–300 ng ml⁻¹ using the Analyst™ (PE Biosystems) software package.

Extractions were performed in groups such that each group of two to five tumour extractions had one blank extraction carried out alongside, with all procedures identical except for the omission of tumour material. However, analysis by HPLCMS/MS was carried out for all samples on the same day sequentially. Final paraben concentrations were calculated by subtraction of the values obtained from the corresponding blank extraction. Because the blank values showed variation, statistical analysis was performed using the paired *t*-test method (Snedecor & Cochran, 1980).

RESULTS

V. Extraction of parabens from breast tissue and detection by thin-layer chromatography

In initial exploratory experiments it was possible to detect parabens in human breast tissue using the extraction procedures described in the Materials and Methods section, followed by thin-layer chromatography against paraben standards. Aliquots (10–400 ng) of methylparaben, ethylparaben, *n*-propylparaben, *n*-butylparaben and isobutylparaben were run on thin-layer plates and could be detected under ultraviolet light. Under these conditions all the paraben standards ran to the same position, which was, on average, 0.47 ± 0.03 of the distance to the solvent front. Extracts of human breast tissue contained compounds visible under ultraviolet light at the same relative position as the paraben standards. From rough comparison by eye of the relative levels of paraben standards, it was estimated over six separate extractions that the samples contained in the region of 10–50 ng paraben per g breast tissue. Figure 1 shows the results of one experiment in which three aliquots (97, 194 and 388 ng) of *n*-butylparaben standards were run on thin-layer plates alongside the extract of 1 g of breast tissue. The relative intensities of the resulting bands under ultraviolet light were subjected to image analysis and plotted as a standard curve shown in Fig. 1. The relative intensity of the paraben band extracted from 1 g of tissue was 11 730, which corresponded to 47.1 ng paraben g⁻¹ tissue. It was on the basis of these preliminary results that we then proceeded to more detailed identification of individual parabens by HPLCMS/MS

Analyte	HPLC retention time (min)	Mass transition (Q1–Q3; m/z) for MRM detection
Methylparaben	4.6	151.1–92.1
Ethylparaben	7.3	165.1–92.1
<i>n</i> -Propylparaben	10.6	179.1–92.1
Isobutylparaben	13.4	193.1–92.1
<i>n</i> -Butylparaben	13.7	193.1–92.1
Benzylparaben	14.0	227.3–92.1

human breast tumours and extracts were analysed by HPLCMS/MS against paraben standards as described in the Materials and Methods section. Chromatographic peaks due to methylparaben, ethylparaben, *n*-propylparaben, *n*-butylparaben and isobutylparaben were seen in breast tumour extracts and were well resolved from one another. No peaks due to benzylparaben at its retention time of 14.0 min were seen in any of the tumour extracts. A typical chromatogram is shown in Fig. 2.

ng paraben per g breast tissue. Figure 1 shows the results of one experiment in which three aliquots (97, 194 and 388 ng) of *n*-butylparaben standards were run on thin-layer plates alongside the extract of 1 g of breast tissue. The relative intensities of the resulting bands under ultraviolet light were subjected to image analysis and plotted as a standard curve shown in Fig. 1. The relative intensity of the paraben band extracted from 1 g of tissue was 11 730, which corresponded to 47.1 ng paraben g⁻¹ tissue.

It was on the basis of these preliminary results that we then proceeded to more detailed identification of individual parabens by HPLCMS/MS

VI. Extraction of parabens from human breast tumours and analysis by HPLCMS/MS

Retention times and mass transition for MRM detection for the six paraben standards are shown in Table 1.

Parabens were extracted from a sample of each of 20

At a practical level, extractions were performed in small groups such that each group contained between two and five tumour samples together with one blank extraction. The blank extraction was performed with all procedures identical, except for the omission of tumour

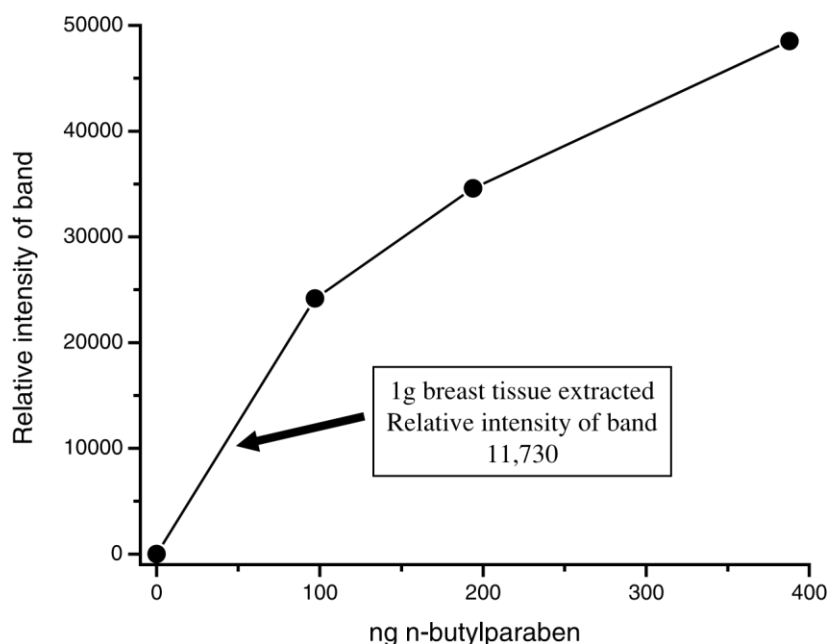


Figure 1. Detection of parabens from human breast tissue by thin-layer chromatography. Three aliquots of n-butylparaben (97, 194 and 388 ng) were run as standards on thin-layer plates alongside the extract of 1 g of breast tissue, and the relative intensities of the resulting bands under ultraviolet light were subjected to image analysis. The relative intensities of the bands for the three aliquots of nbutylparaben were plotted as a standard curve as shown. The relative intensity of the paraben band extracted from 1 g of tissue was 11 730, which calculated to an equivalent of 47.1 ng of paraben.

material. The concentrations of parabens in the 20 tumours as measured by HPLCMS/MS were corrected by subtraction of the corresponding blank value. Results are shown in Table 2. Because the blank values showed variation, the statistical significance of the mean corrected concentrations of each paraben in the 20 tumour extracts was tested by the paired *t*-test method, thus enabling the confidence limits of these mean values to be calculated (Table 3).

The reasons for the blank values for parabens, and their variation, are not clear. The MS data indicated that the blank values were genuinely parabens and not other contaminating compounds. The blank values did not come from the HPLCMS/MS procedure because blanks through the equipment were entirely negative. The blank values came from the extraction procedure itself. In a series of 30 blanks carried out on individual parts of the extraction procedure, it was not possible to identify any one specific reagent or procedure contributing to the blank value. However, when blank values were subtracted from the corresponding tumour extract values, 18/20 tumour extractions showed

values of total paraben above the blank values. Values for total paraben present in the 20 tumour samples were 0–54.5 ng g⁻¹ tissue, with an overall mean value of 20.6 ng g⁻¹. Methylparaben was present at the highest level, with an average value of 12.8 ± 2.2 ng g⁻¹ tissue. This represented 62% of the total paraben recovered in the extraction. Benzylparaben was not detected in any tumour extract.

Estimates of recovery of parabens from the extraction procedure were made by spiking samples with benzylparaben, because this was the only paraben not detected in any blank or tumour extract. Analysis by HPLCMS/MS of three extraction blank samples, each spiked with 200 ng of benzylparaben, gave an average recovery of this paraben of 48.5% ± 4.8%.

DISCUSSION

Mean concentrations of each of six parabens in extracts of 20 human breast tumours (in the range 0–12.8 ng g⁻¹ tissue; Table 3) have been measured with acceptable confidence. The reasons for the analytical blank values for parabens in these studies have not been identified definitively but probably relate to the ubiquitous use of parabens

as preservatives even in laboratory detergents and personal care products of the operators. Analogous problems have been encountered with the measurement of phthalate esters because of their common use as plasticizers and their ubiquitous dispersal as impurities in solvents, water, glassware and many items of clinical and analytical laboratory equipment (Lopez-Aviva *et al.*, 1990; Leung & Giang, 1993; Colon *et al.*, 2000). More recent work in these laboratories (unpublished) has shown that immersion of all glassware in 1.0 M aqueous sodium hydroxide, followed by copious rinsing with double-distilled water, prior to use of this glassware in tissue extraction greatly reduces the blank values of paraben concentrations as measured by HPLCMS/MS. This addition to the analytical procedure is therefore recommended for use in further studies on paraben concentrations in tissues.

The total mean paraben level was found to be of the order of 20 ng g⁻¹ tissue. This adds parabens to the list of environmental oestrogenic chemicals that can be found to accumulate in the human breast and already includes polychlorinated biphenyls (PCBs) and organochlorine pesticides (OCPs) (Dobson, 1993, Hardell *et al.*, 1996; Guttes *et al.*, 1998; Stellman *et al.*, 1998, 2000). Comparisons between the relative levels of parabens and other pollutants are not easy because several factors have to be

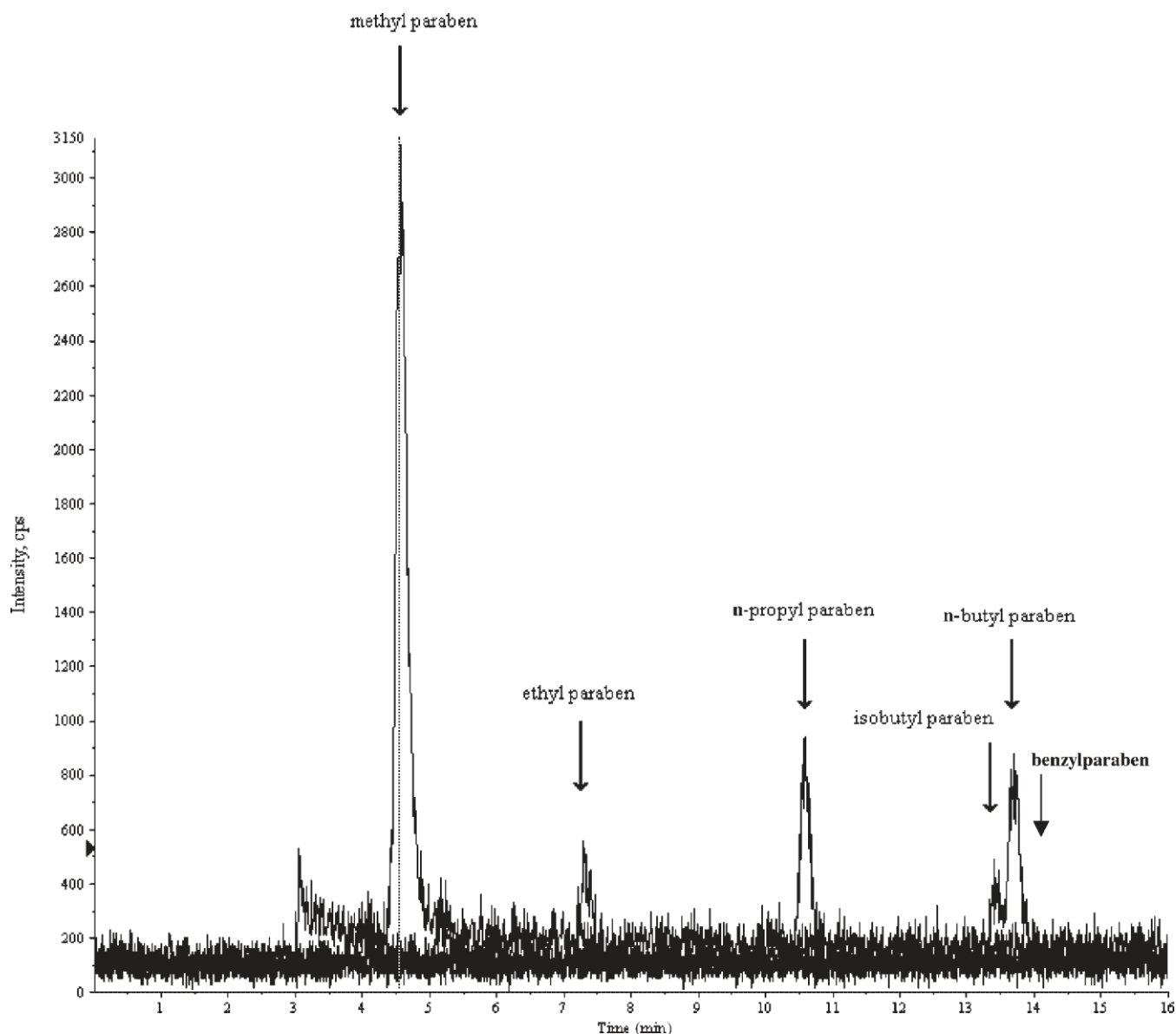


Figure 2. The HPLC/MS chromatograms for methylparaben, ethylparaben, n-propylparaben, isobutylparaben and n-butylparaben in a human breast tumour extract. Tumour tissue was extracted as described in the text, chromatographed on a Hypersil Elite HPLC column and detected by tandem mass spectrometry in the mass reaction monitoring mode. The annotated arrows indicate the identity of the peaks evident in the chromatograms. Benzylparaben was not seen.

taken into account, including the source of tissue used and the number of isomers or congeners. Most studies of bioaccumulation of pollutant chemicals are carried out by using serum or urine and studies using breast adipose tissue are few. Furthermore, for parabens there are only six commonly used forms whereas for PCBs there are 209 congeners. Studies of breast adipose tissue from women in Long Island, New York, without breast cancer showed a mean body burden for 14 PCB congeners of 267 ng g⁻¹ and for seven OCPs of 707.5 ng g⁻¹ (Stellman *et al.*, 1998). However, Table 4 shows

that levels in breast tissue of individual pesticide residues and PCB congeners vary substantially. Although knowledge of total body burdens of these compounds is far from complete, the accumulation of parabens in breast tissue does fall within the broad range of these other compounds.

In the present study, paraben concentrations measured in tumours were unequivocally of the esters themselves.

This demonstrates that at least a proportion of the parabens present in cosmetic, food and pharmaceutical products can be absorbed and retained in human body tissues without

hydrolysis by tissue esterases to the common metabolite *p*-hydroxybenzoic acid. These results complement earlier studies in which there was evidence that the oestrogenic properties of these parabens in culture of human breast cancer cells were also due to the esters themselves and not to a common metabolite (Byford *et al.*, 2002; Darbre *et al.*, 2002, 2003). However, these studies cannot identify either the source of the parabens or whether they entered the human

body by an oral or by a topical route. Nor can they identify whether the parabens entered the human breast by a systemic route or through non-systemic mechanisms involving simply local absorption and diffusion from chemical overload of topical preparations applied to the breast area. Recent evaluation of parabens in uterotrophic assays has shown them to give oestrogenic responses in immature

Table 3—Confidence limits of mean concentrations (ng g⁻¹) of parabens in the 20 human breast tumours of Table 2

Tumour minus blank	Mean	Confidence limit
Benzylparaben	0.0	0.0–0.0 (95%)
Isobutylparaben	0.9	0.1–1.7 (90%)
n-Butylparaben	2.3	0.3–4.3 (95%)
n-Propylparaben	2.6	0.7–4.5 (95%)
Ethylparaben	2.0	1.0–3.0 (95%)
Methylparaben	12.8	8.2–17.4 (95%)
Total paraben	20.6	11.8–29.4 (95%)

rodent uterus only when administered subcutaneously or topically but not orally (Routledge *et al.*, 1998; Hossaini *et al.*, 2000; Darbre *et al.*, 2002, 2003), which suggests that skin penetration may be an important route for entry to the body.

A major issue in studies of accumulation of environmental pollutants in body tissues is whether the levels reached could be sufficiently high to exert any biological action. In four of the 20 tumours, total paraben concentration was more than twice the average level and, allowing for a 50% recovery of parabens through the analytical procedure, the corrected average level of parabens was ca. 100 ng g⁻¹ tissue. This concentration may be compared with the level (ca. 150 ng ml⁻¹; 10⁻⁶M) in culture medium at which *n*-propylparaben, *n*-butylparaben and isobutylparaben stimulated growth of oestrogen-dependent MCF7 human breast cancer cells (Okubo *et al.*, 2001; Byford *et al.*, 2002; Darbre *et al.*, 2002, 2003). It is therefore not inconceivable that the levels of parabens measured in this study could exert oestrogenic effects on epithelial cells in the human breast. Although in rodent uterotrophic assays the levels of parabens were administered at a higher range of 0.1–10 mg g⁻¹ body weight (Routledge *et al.*, 1998, Darbre *et al.*, 2002, 2003), these studies did not incorporate any measurements of paraben levels reached in the uterus at the time of response, which prevents assessment of the concentrations needed for physiological response.

It is interesting that the paraben detected in greatest amounts was methylparaben. This may reflect the more widespread use of methylparaben in consumer products (Rastogi *et al.*, 1995). Alternatively, it may reflect the greater ability of methylparaben to be absorbed into body tissues and to resist hydrolysis by esterases of human skin and subcutaneous fat tissue (Lobemeier *et al.*, 1996). By contrast, benzylparaben was not found in any of the 20 breast tumours and this may similarly be attributed to its less frequent use in consumer products.

These measurements of paraben concentrations in breast tumours open the way technically to more detailed determinations of paraben levels in human body tissues. This study used 20 breast tumour samples because of the availability of the material. However, it will now be important to measure levels in corresponding normal tissue to determine whether there is any difference between normal and cancer tissues. Larger studies also are needed to give more representative values for body burdens in different tissues and across the human population. A main problem with human breast tumour samples is the varied infiltration of the tumour with fatty tissue and blood vessels and it will be important in future work therefore to have more precise histological information on the tumours in order especially to be able to relate results to fatty versus non-fatty tissue. It would be informative to ascertain whether there are any gradients in the accumulation of parabens across the human breast from axilla to sternum in case the topical application of cosmetic at one place influences the levels of parabens detectable. It will also be important to know whether there is any difference between levels detectable in breast tumours compared with adjacent non-tumour material in order to

Table 4—Summary of mean concentrations (ng g⁻¹) of individual pesticide residues and PCB congeners in human breast adipose tissue from control and breast cancer patients from two published studies

Pesticide or PCB	Control	Breast cancer	Control	Breast cancer
HCB	206	343	16	18
βHCH	72	84	16	20
Oxychlordan			39	46
trans-Nonachlor			40	51
p,p'-DDE	450	838	374	419
o,p'-DDD			13	16
p,p'-DDT	24	30	12	12
PCB 74			27	30
PCB 99			14	19
PCB 118	58	85	24	30
PCB 138	176	241	22	29
PCB 146			7	9
PCB 153	437	664	63	76
PCB 156	61	64	9	11
PCB 167			1	2
PCB 170	229	259	11	14
PCB 172			2	2
PCB 178			3	4
PCB 180	258	400	34	42
PCB 183			4	6
PCB 187			13	16
Reference	Guttes et al. (1998)	Guttes et al. (1998)	Stellman et al. (2000)	Stellman et al. (2000)
Location	Hesse, Germany	Hesse, Germany	New York, USA	New York, USA
Number of samples	n = 20	n = 45	n = 323	n = 232

determine whether higher levels of paraben accumulation might be present in the tumours. Such information, taken together with that of concentrations in tissues of endogenous steroid

hormones and other xenoestrogens, should enable assessment to be made of the impact of these weakly oestrogenic parabens on human health, and whether paraben accumulation from currently permitted levels in cosmetics, foods and pharmaceuticals remains acceptable.

Le Bihan Cécile – Utilisation des conservateurs en cosmétique : un enjeu de santé publique, une résonance médiatique.

83 feuilles, 11 illustrations, 5 tableaux.- Thèse : Pharmacie ; Rennes 1; 2018 ; N° .

Résumé français

Les cosmétiques sont des produits utilisés depuis des millénaires cependant, leur réglementation est assez récente. C'est l'affaire du talc Morhange qui poussa les autorités à légiférer dans ce domaine. En 1975, la France promulgue alors la loi 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. Il n'est plus concevable qu'un produit cosmétique puisse nuire à la santé humaine. Il existait cependant une hétérogénéité dans la réglementation. C'est pourquoi, la directive cosmétique sera finalement transformée en un texte unique : le règlement cosmétique européen n° 1223/2009. Malgré cette réglementation, les consommateurs doutent de l'innocuité des cosmétiques et en particulier de leurs conservateurs. Dans cette thèse, nous étudions l'effet que peuvent avoir les médias sur les consommateurs et les autorités publiques. L'émission d'envoyé spécial en 2005, le livre de Rita Stiens et le guide Cosmétox de GreenPeace sont des exemples de l'influence que peuvent avoir les médias sur l'opinion publique. Mais c'est sans aucun doute l'étude de Philippa Darbre qui eu l'effet le plus déterminant. Cette étude reliant cancers et parabènes est à l'origine de ce que l'on peut appeler la "polémique parabènes". Elle a été largement décriée mais jamais confirmée. Les médias ont cependant saisi l'opportunité pour semer un vent de panique et inquiéter les consommateurs. Dans cette thèse, nous étudions les effets nocifs suspectés et/ou avérés de certains conservateurs : le phénoxyéthanol, les MIT et MCIT, le triclosan et le formaldéhyde. Les parabènes seront étudiés dans la dernière partie. En effet, les parabènes sont au centre de multiples débats. On leur reproche d'avoir un rôle dans les cancers du sein, dans la fertilité masculine et même sur l'obésité infantile. Cependant, ces accusations ne sont pas toujours vérifiées. Cependant, les industriels profitent de cette mauvaise réputation des parabènes. Les produits « sans parabène » sont de plus en plus nombreux. Malheureusement, cette dénomination n'est pas sans risque. Un produit cosmétique ayant besoin de conservateurs, les industriels ont remplacé les parabènes par les MIT, plus toxiques. Enfin, dans cette thèse nous faisons le point sur les différentes alternatives à la conservation. Qu'il s'agisse du packaging ou des huiles essentielles, ces méthodes ne sont pas toujours sûres pour la santé.

Rubrique de classement : Santé Publique

Mots-clés : Cosmétiques, conservateurs, média, parabène

Mots-clés anglais MeSH : Cosmetics, preservatives, media, paraben

Président : Monsieur Jean-Charles Corbel

Directeur de thèse : Mr Donnio Pierre-Yves

Membre du jury : Mme Fradin Marion