

LES TESTS DE TOLERANCE

Etienne CAMEL

Pharmacien, D.E.A. de Biologie Cutanée et Cosmétologie

Expert Toxicologue

(Eurotox Registered Toxicologist)

Directeur Général I.E.C.

(Institut d 'Expertise Clinique, 88 Bd des Belges, 69006 Lyon)

PLAN DE LA PRESENTATION

- Méthodes Alternatives (in vitro)
- Tests Cliniques (chez l'Homme)
- Choix des tests et positionnement dans l'évaluation de la sécurité d'un produit cosmétique
- Résultats (base de données I.E.C.)

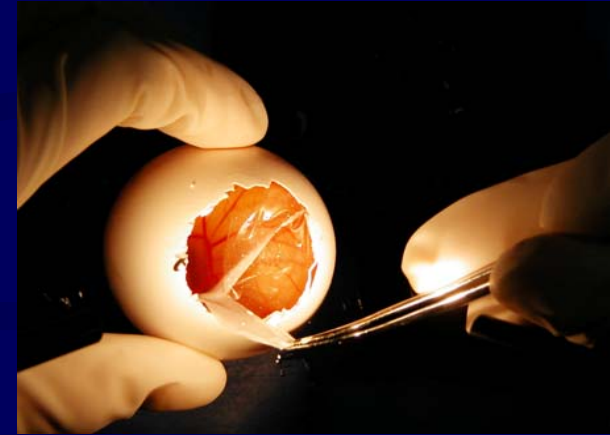
METHODES ALTERNATIVES

méthodes
validées

- corrosivité (TER ; Episkin®, Epiderm®)
- photo-irritation (3T3 NRU)
- irritation primaire cutanée (peaux reconst.)
- irritation primaire oculaire

- **HET CAM (J.O.R.F., 1996) :**

→ Limites : aspect qualitatif
produits colorés / collants



(photo I.E.C.)

- **AGAROSE OVERLAY (J.O.R.F., 1999) :**

(monocouche cellulaire + gel d'agarose + colorant vital)

→ Limites : produits volatils et hydrophobes

- **RELARGAGE DU ROUGE NEUTRE (J.O.R.F., 1999) :**

(contact direct du produit avec la monocouche cellulaire)

→ Limites : produits à propriétés fixantes (interaction / RN)

- **BCOP (Cornée de Veau) :**
(mesure de l'opacité et de la perméabilité de la cornée)



(photos I.E.C.)

→ Très bonne prédictivité
Tous types de produits

Limites : coût et approvisionnement

TESTS CLINIQUES

(S.C.C.N.F.P. 1999)*

- Tests de Compatibilité : *1ère application chez l'Homme*
(Patch Test Simple Unique)
- Tests d'Acceptabilité : *conditions normales d'utilisation*
(Tests d'Usage cutané/oculaire)
- Tests d'ImmunoToxicité (tests de sensibilisation)

* *Scientific Committee for Cosmetic Products and Non-Food Products*

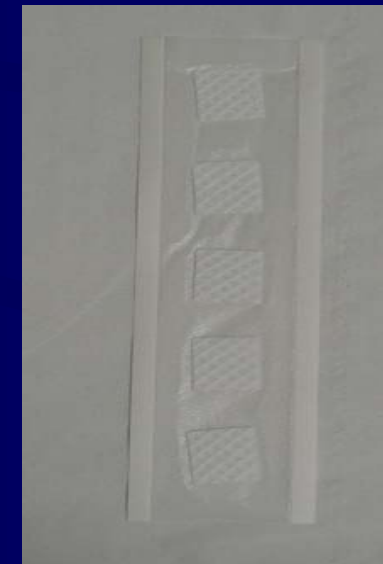
TESTS DE COMPATIBILITE

Patch Test Simple Unique



cupule aluminium

cupule + filtre



Patch Occlusif

Patch Semi-
Occlusif

(photos I.E.C.)

Patch Tests modifiés

- Objectif
 - . produits spécifiques
 - . différentiation de formules proches
- Application unique de 15 à 60 minutes
(« ouvert » / *occlusion* / *semi-occlusion*) :
 - produits de permanente
 - dépilatoires
- Duhring-Chamber test (5 applications / une semaine)
- Patch tests répétés (Human 14-days cumulative irritation).

Test du Pli du Coude

- Principe :
 - en « ouvert » / pli du coude / 15 jours
 - flexion - extension bras (1ère / dernière application) + stripping
- Intérêt :
 - utilisations normales et maximalisées
 - en cas de suspicion d'une intolérance
 - comparaison de 2 formules (actif / excipient ; effet dose)
 - influence moindre de facteurs externes/internes
- Limites : données sur les signes physiques essentiellement.

« Soap Chamber Test »

- Principe (Frosh & Kligman, 1979) :
 - 10 sujets pré-sélectionnés (réactifs L.S.S. / Hyd. d'Am.)
 - 5 applications (8% / Duhring chamber ; 24 h. / 6 h.)
 - scorage à J8 (érythème, desquamation, 'craquelures')
- Intérêts : pouvoir discriminant (comparatif / screening)
- Limites :
 - conditions maximales
 - protocole (sélection, applications répétées occlusives)
 - variabilité saisonnière.

Lavages Répétés

- **Principe** (gels douche, nettoyants rincés, shampooings ...) :
 - immersion (1942 : Kooyman et Snyder)
 - lavages répétés (1988 : Lukacovic et al.)
- **Intérêts** :
 - équilibre conditions normales / maximalisées
 - pouvoir discriminant (comparatif / screening)
- **Limites** :
 - méthodologie / nombre sujets réduit / répondeurs
 - variabilité saisonnière.

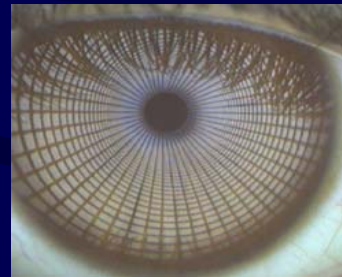
TESTS D'ACCEPTABILITE

Tests d'usage (dermatologique, ophtalmologique)

- Intérêts :
 - conditions normales d'utilisation
 - panel cible
 - signes physiques (irritation) et fonctionnels (inconfort)
 - investigateur (examen clinique / interrogatoire)
 - volontaires (questionnaire / spontané - orienté - dirigé)
 - acceptabilité cosmétique / performances



(Photo I.E.C.)



(Photo Keeler ®)



(Photo Keeler ®)

Tests de non comédogénicité

- Historique :
 - 1941 (Adams et al) ; 1956 (Hambrick et al)
 - 1979 (Kligman et Kwong) ; 1987 (Durupt et Montastier)
 - 1982 (Mills et Kligman) ; 1989 (A.A.D) ; 1995 (Piérard et al)
- Méthodologies :
 - test au cyanoacrylate (Mills et Kligman 1982 ; Piérard et al 1995)
 - fluorescence des protoporphirines (Lucchina et al, 1996)
 - dénombrement des élts rétentionnels et inflammatoires
- Limites : sensibilité / facteurs externes et internes / méthodologie / échelles existantes non adaptées.

Test de « Projection Oculaire »

- Principe :
 - dépôt du produit dilué à 5% sur les 2 coins de l'œil
 - versus eau distillée ou référence
 - scorage intensité et durée des picotements
 - examens ophtalmologiques (avant et après « projection »)
- Limites :
 - subjectivité
 - variabilité inter et intra individuelle
 - aucun test prédictif
 - => contrôle de la méthodologie
 - => bonne connaissance des limites acceptables.

TESTS D'IMMUNOTOXICITE

Méthode des PATCH TESTS

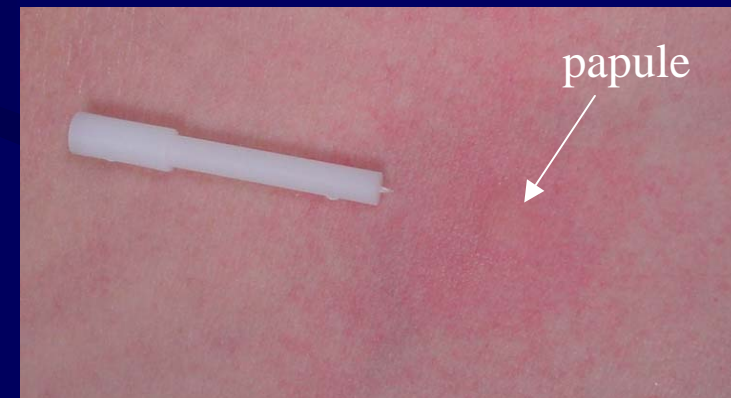
(hypersensibilité de type IV - retardée)



(photos I.E.C.)

Méthode des PRICK TESTS

(hypersensibilité de type I - immédiate)



Différentes méthodologies

- Schwartz et Peck : 1949
- Draize et al. : 1944/1959
- Shelanski et Shelanski : 1957
- Marzulli et Maibach : 1973 - 1980
- Kligman / test de maximalisation : 1966

H.R.I.P.T. (Human
Repeated Insult Patch test)

Comparaison des différentes méthodes

Test	Nb vol.	Site induction	Nombre applications	Durée (h)	Fréquence	Repos (j)
Schwartz-Peck	200	bras	1	24-72-96	-	10-14
Draize	200	bras ou dos	10	24	3 / semaine	10-14
Draize modifié	200	dos	10	48	continu	14
Shelanski-Shelanski	200	bras	15	24	3 / semaine	14-21
Marzulli-Maibach	50 - 100	bras	10	48-72	3 / semaine	14
Kligman (maximalisation)	25	avant-bras (+ S.L.S.)	5	48	2-3 / semaine	14



(photos I.E.C.)



PHOTO-SENSIBILISATION

Rayonnement solaire + molécule absorbant
la lumière ("chromophore")



photo-irritation : phénomènes "photo-chimiques"
(libération de médiateurs responsables
du processus inflammatoire)

photo-sensibilisation : phénomènes "photo-
immunologiques" (création d'un haptène, puis d'un antigène
complet --> déclenchement de la réaction
d'hypersensibilité retardée)

Patch tests répétés + Expositions solaires

(Kaidbey et Kligman, J.I.D. 1978)

- Photo-irritation :
 - application cutanée unique de 24 heures (dos)
 - U.V.-B&A (0,75 D.E.M.*) et U.V.-A (16-20 J/cm²)
- Photo-sensibilisation :
 - induction
 - phase de repos
 - phase "déclenchante" ("challenge")

* *Dose Erythémateuse Minimale*



(photo I.E.C.)

CHOIX DES TESTS ET POSITIONNEMENT DANS L'ÉVALUATION DE LA SÉCURITÉ

- Réglementaire (+ allégations) / Sécurité
 - Tolérance testée sous contrôle Dermatol. / Ophtalmol.
 - patch test + test d'usage
 - Non comédogène → test de non comédogénicité
 - Hypoallergénique (« formulé pour ... »)
 - test de sensibilisation + absence d'ingrédient R43 / allergènes
 - 'Ne pique pas et n'irrite pas les yeux' (« formulé pour ... »)
 - test de « projection oculaire » + d'usage (contrôle Ophtal.)

→ Recommandations Européennes

(« Understanding the Principles of Safety Evaluation of Finished Cosmetic Products - Jan. 2002, final draft »)

« Suggested Approach For Different Categories of Cosmetic Products »

Product category	Toxicological Endpoints which should be addressed for the finished product						
	Sensit.	Skin irritation	Mucous memb.	Eye irritation	Inhal. safety	Syst. toxicity	Safety-in-use
Skincare products	X or 1	X	•	X		I	X
Face masks	X or 1	X		X		I	X
Bath. shampoo, and shower prep.		X		X		I	X
Deodorants and anti-perspirants	X	X		X		I	X



- Aide à la formulation

- modification d'un ingrédient / du support
- effet dose
- positionnement par rapport à une référence
 - Pli du Coude
 - « Cross-Over », Héli-Visage
 - Patch Tests Répétés

- **Stratégie interne**

- meilleure connaissance du comportement cutané/oculaire

- conditions maximales

- produits spécifiques

- maquillage / solaire → non comédogénicité

- enfants < 3 ans / produits d'hygiène intime (C.O.L.I.P.A., recommandation N° 3, 1996 + 7ème amendt de la Directive)

- peaux « sensibles », sujets jeunes, asiatiques ...

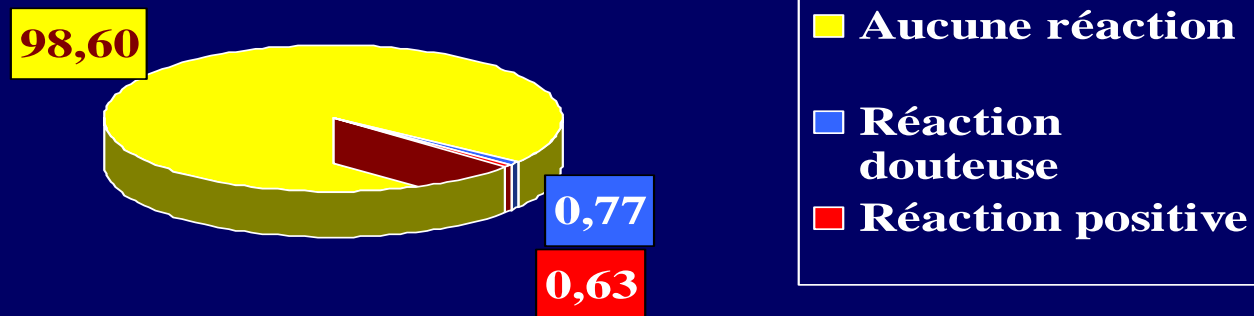
- stratégie commerciale / marketing

RESULTATS

Tests de sensibilisation (n = 3.788)

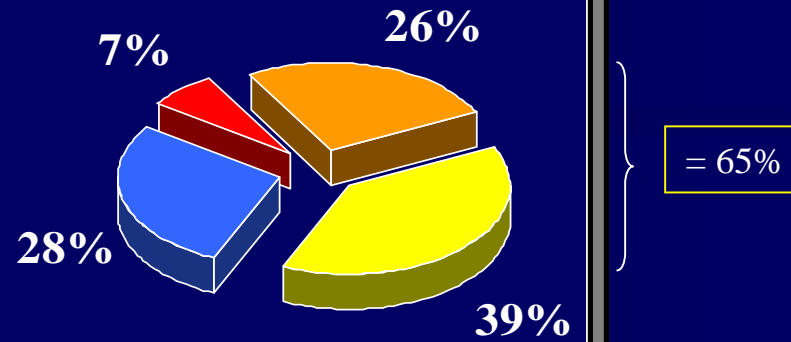
[données internes I.E.C. / H.R.I.P.T., Marzulli & Maibach]

(en % produits)

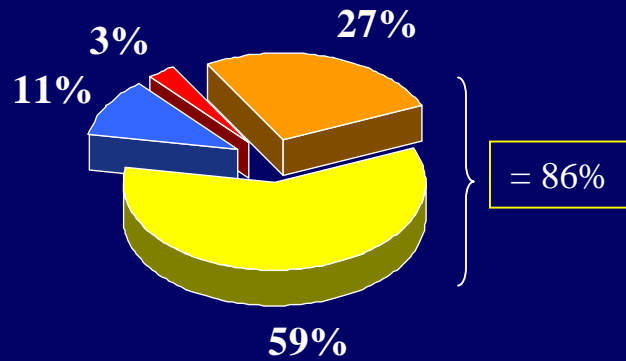


Het Cam (n = 4.600)

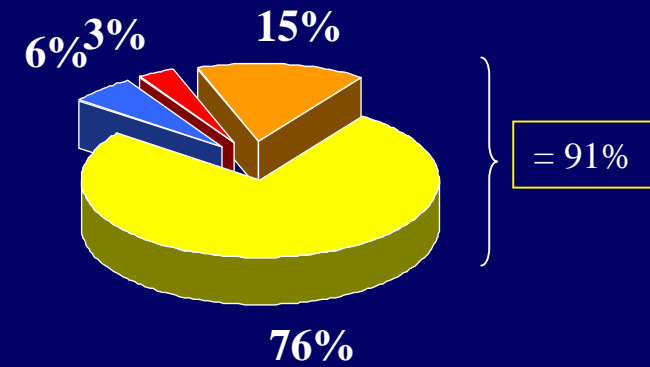
- très bonne tolérance
- bonne tolérance
- assez bonne tolérance
- intolérance



Patch Test (n = 9.100)



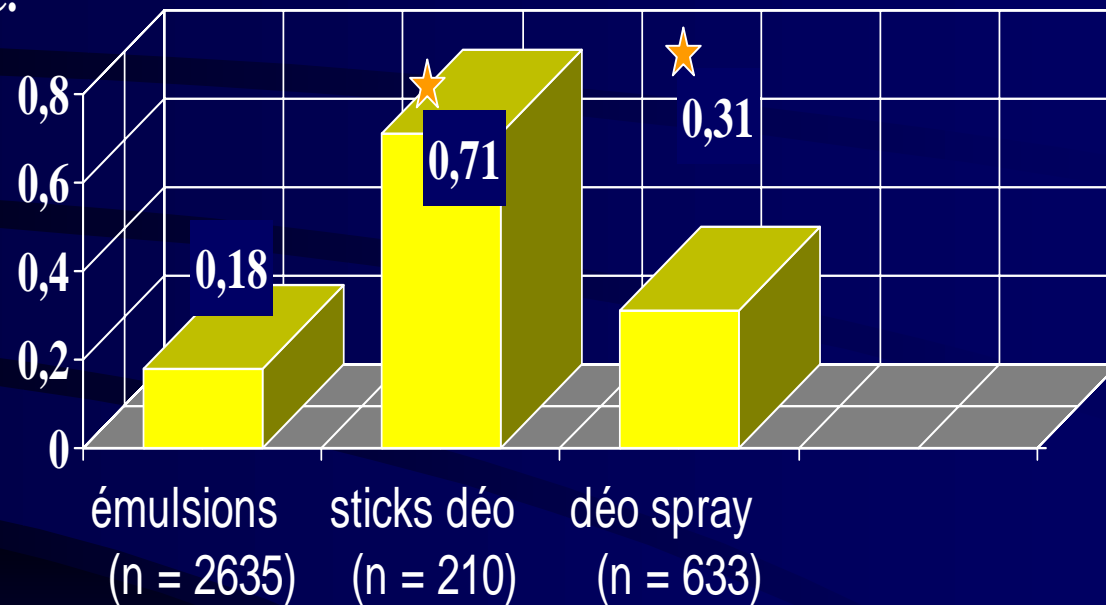
Test d'Usage (n = 5.700)



ANALYSE DES INDICES D'IRRITATION

(Patch Test / produits jugés « bien tolérés »)

I.P.C.



★ $P < 0,05$ (Tests Friedman / Wilcoxon)

POSITIONNEMENT DES PRODUITS

(Test d 'Usage, n = 5.700)

	Très Bonne Tolérance	Bonne Tolérance	Intolérance
Autobronzants	3%	76%	11%
Fonds de teint	4%	83%	10%
Crèmes jour	12%	79%	4%
Soins corps	28%	67%	2%

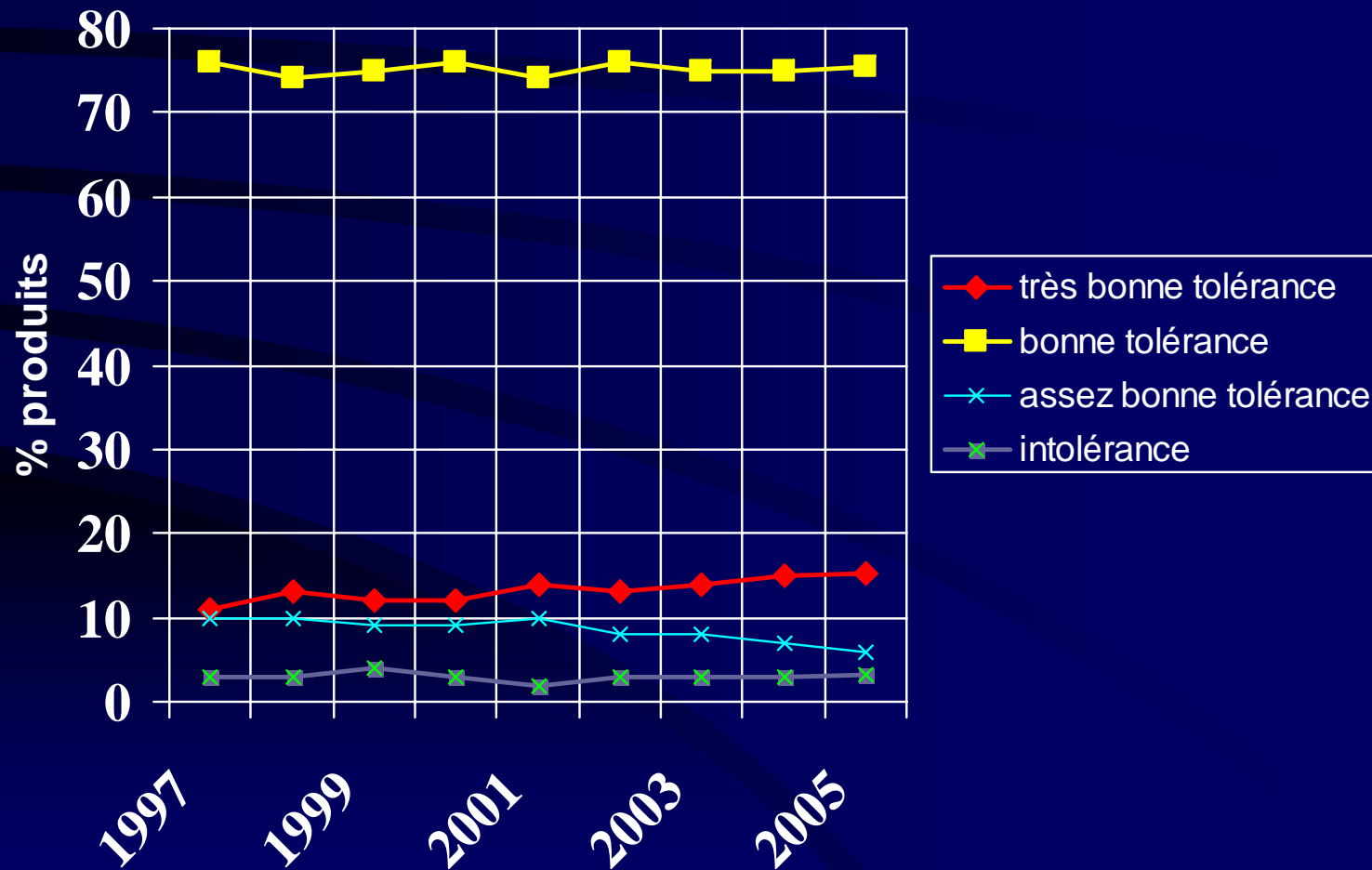
ANALYSE DES FREQUENCES DE REACTIONS

(Test d'Usage / produits jugés « bien tolérés »)

Produits	% moyen de réactions		
Total produits (n = 5.700)	17,8% ($\pm 6,5$)		
	<i>Inconfort</i>	<i>Irritation</i>	<i>Autres</i>
	11,2%	3,4%	3,2%
Edt, VAO, Bains Moussants	8 à 11%		
Crèmes de Jour	16%		
« Whitening »	24%		
Anti-rides	20%		
→ Lotions Toutes Peaux	24%		
Exfoliants, Nettoyants Visage	26 à 29%		
Masques Soins	27%		
→ Lotions Peaux Grasses	34%		

Evolution sur 9 ans

(test d'usage ; n = 5.700)



PANELS 'ASIE' : BASE DE DONNEES I.E.C. (fichier volontaires, sexe féminin)

(I.E.C. France : n = 5.204 ; Korea : 947 ; Singapore : 2.648 ; Japan : 976)

Peau du Visage	France (Lyon)	Korea (Suwon)	Singapore (Singapore)	Japan (Tokyo)
Normale	5%	28%	15%	24%
Grasse	9%	16%	14%	5%
Mixte Grasse	24%	3%	42%	23%
Sèche	22%	50%	12%	27%
Mixte Sèche	40%	3%	17%	21%

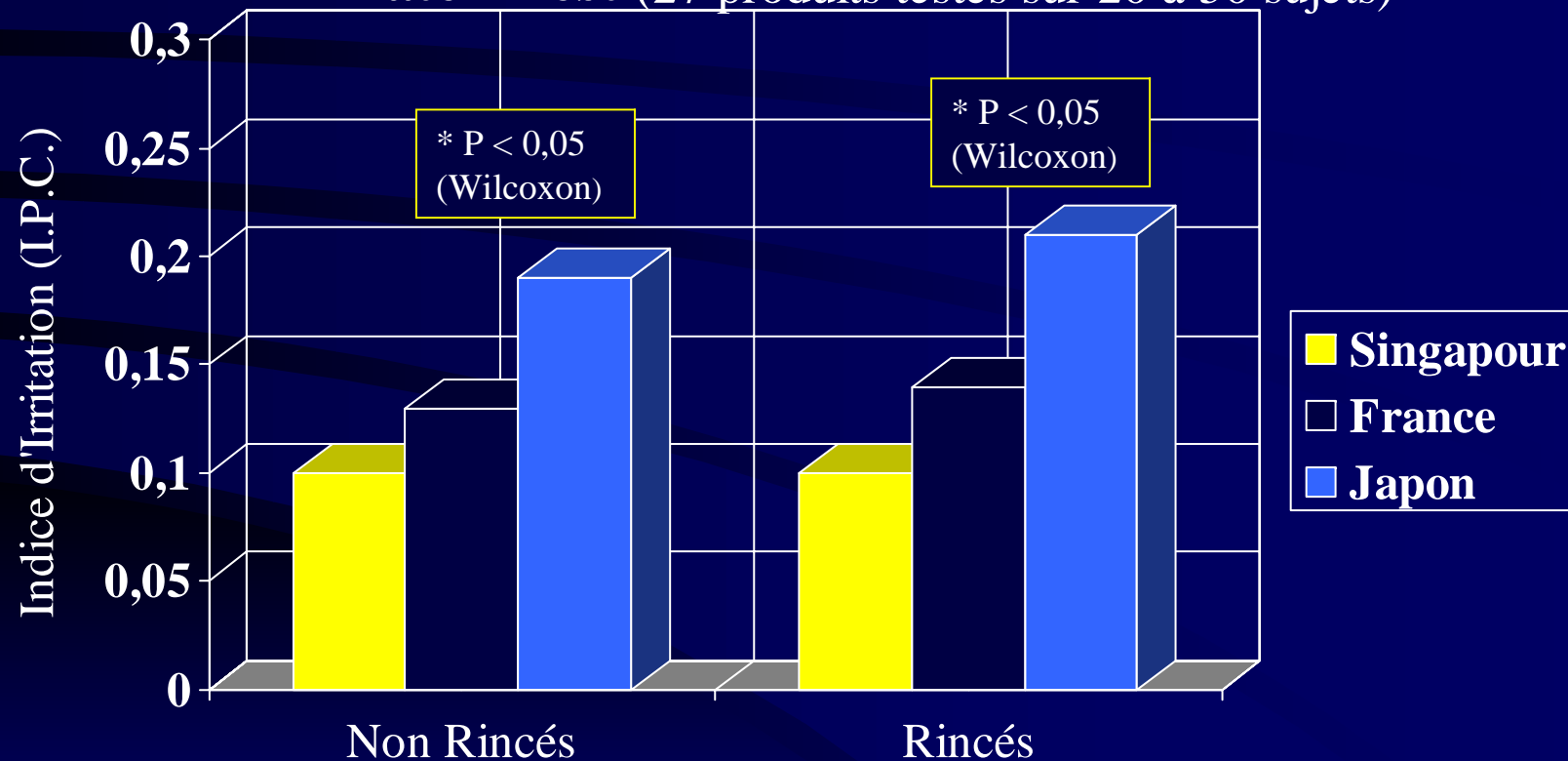
Sensibilité de la Peau (visage)

	France (Lyon)	Korea (Suwon)	Singapore (Singapore)	Japan (Tokyo)
Sensibilité subjective	34% (40% : 36-45 ans)	21% (30% : 46-55 ans)	42% (48% : 36-45 ans)	41% (48% : 18-25 ans)
Sensibilité à l'acide lactique*	12%	65%	5%	40%

* *Stinging Test (acide lactique)*

Comparaisons Panels Caucasiens / Panels Asiatiques

Patch Test (27 produits testés sur 20 à 50 sujets)



Tests d'Usage : Caucasiens / Asiatiques

- Produits de Maquillage :
 - *mieux tolérés par les femmes japonaises*
- Produits Nettoyants / Démaquillants :
 - *aussi bien tolérés (meilleure acceptabilité cutanée par les femmes japonaises)*
- Produits de Soins :
 - *variabilité importante produits / saisons*
 - *Japon : inconfort / sérum / crèmes de base*
 - *Singapour (Asie Sud Est) : comédogénicité*

CONCLUSION

- Existence de nombreux tests :
 - pertinents
 - adaptés
 - prédictivité faible (entre tests)
 - connaître leurs limites
 - pratiqués dans des conditions contrôlées
 - intégrés dans un ensemble de données
 - . catégorie cosmétologique, formule qualitative et quantitative,
 - . degré d'innovation,
 - . profil toxicologique général des ingrédients, structure chimique,
 - . niveau d'exposition, conditions normales d'utilisation ...

=> permettent de s'assurer de la, a priori, bonne tolérance d'un produit, avant sa mise sur le marché, « lorsqu'il est appliqué dans les conditions normales ou raisonnablement prévisibles d'utilisation »

(art. 2, Directive Cosmétique 93/35/CE)