



<http://portaildoc.univ-lyon1.fr>

Creative commons : Attribution - Pas d'Utilisation Commerciale
- Pas de Modification 4.0 France (CC BY-NC-ND 4.0)



<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.fr>



UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON 1
FACULTE DE PHARMACIE
INSTITUT DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES

THESE n°35

T H E S E

pour le DIPLÔME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

présentée et soutenue publiquement le 18 mars 2025 par

M. VICTOIRE Mathieu
Né le 26 juillet 1997 à Epernay

Revue de la réglementation sur les évaluations cliniques cosmétiques et proposition de protocoles pour des tests d'efficacité

JURY

Président du jury : Pr ARMOIRY Xavier, Professeur des Universités, Pharmacien Praticien Hospitalier

Directeur de thèse : Pr BOLZINGER Marie-Alexandrine, Professeur des Universités

Autres membres du jury :

Dr PETIT Antoine, Pharmacien

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON I

Président de l'Université	Frédéric FLEURY
Président du Conseil Académique et de la Commission Recherche	Hamda BEN HADID
Vice-Président du Conseil d'Administration	Didier REVEL
Vice-Présidente de la Commission Formation	Céline BROCHIER
Vice-Président Relations Hospitalo-Universitaires	Jean François MORNEX
Directeur général des services	Pierre ROLLAND

SECTEUR SANTÉ

Doyen de l'UFR de Médecine Lyon-Est	Gilles RODE
Doyen de l'UFR de Médecine et de Maïeutique Lyon Sud - Charles Mérieux	Philippe PAPAREL
Doyen de l'Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques (ISPB)	Claude DUSSART
Doyen de l'UFR d'Odontologie	Jean-Christophe MAURIN
Directeur de l'Institut des Sciences & Techniques de Réadaptation (ISTR)	Jacques LUAUTÉ
Présidente du Comité de Coordination des Études Médicales	Carole BURILLON

SECTEUR SCIENCES ET TECHNOLOGIE

Directrice de l'UFR Biosciences	Kathrin GIESELER
Directeur de l'UFR Faculté des Sciences	Bruno ANDRIOLETTI
Directeur de l'UFR Sciences & Techniques des Activités Physiques et Sportives (STAPS)	Guillaume BODET
Directeur de Polytech Lyon	Emmanuel PERRIN
Directeur de l'Institut Universitaire de Technologie Lyon 1 (IUT)	Michel MASSENZIO

Directeur de l'Institut des Science Financière & Assurances (ISFA)	Nicolas LEBOISNE
Directeur de l'Observatoire de Lyon	Bruno GUIDERDONI
Directeur de l'Institut National Supérieur du Professorat & de l'Éducation (INSPÉ)	Pierre CHAREYRON
Directrice du Département-composante Génie Électrique & des Procédés (GEP)	Rosaria FERRIGNO
Directrice du Département-composante Informatique	Saida BOUAZAK BRONDEL
Directeur du Département-composante Mécanique	Marc BUFFAT

LISTE DES DEPARTEMENTS PEDAGOGIQUES ISPB

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DE SCIENCES PHYSICO-CHIMIQUES ET PHARMACIE GALENIQUE

- **CHIMIE GENERALE, PHYSIQUE ET MINERALE**
 - Monsieur Raphaël TERREUX (PR)
 - Madame Julie-Anne CHEMELLE (MCU)

- **CHIMIE ANALYTIQUE**
 - Madame Anne DENUZIERE (MCU)
 - Monsieur Lars-Petter JORDHEIM (MCU-HDR)
 - Madame Christelle MACHON (MCU-PH)
 - Monsieur Waël ZEINYE (MCU)

- **PHARMACIE GALENIQUE -COSMETOLOGIE**
 - Madame Marie-Alexandrine BOLZINGER (PR)
 - Madame Stéphanie BRIANCON (PR)
 - Monsieur Fabrice PIROT (PU-PH)
 - Monsieur Eyad AL MOUAZEN (MCU)
 - Madame Sandrine BOURGEOIS (MCU)
 - Madame Danielle CAMPIOL ARRUDA (MCU)
 - Madame Ghania HAMDI-DEGOBERT (MCU-HDR)
 - Monsieur Plamen KIRILOV (MCU)
 - Madame Giovanna LOLLO (MCU)
 - Madame Jacqueline RESENDE DE AZEVEDO (MCU)
 - Monsieur Damien SALMON (MCU-PH)
 - Madame Eloïse THOMAS (MCU)

- **BIOPHYSIQUE**
 - Monsieur Cyril PAILLER-MATTEI (PR)
 - Madame Laurence HEINRICH (MCU)
 - Monsieur David KRYZA (MCU-PH-HDR)
 - Madame Sophie LANCELOT (MCU-PH)
 - Madame Elise LEVIGOUREUX (MCU-PH)

Thibault MASSIAS (ATER)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE PHARMACEUTIQUE DE SANTE PUBLIQUE

- **DROIT DE LA SANTE**
 - Madame Valérie SIRANYAN (PR)
 - Madame Maud CINTRAT (MCU)

- **ECONOMIE DE LA SANTE**
 - Madame Nora FERDJAOUI MOUMJID (MCU-HDR)
 - Monsieur Hans-Martin SPÄTH (MCU-HDR)

- **INFORMATION ET DOCUMENTATION**

Monsieur Pascal BADOR (MCU-HDR)

● **INGENIERIE APPLIQUEE A LA SANTE ET DISPOSITIFS MEDICAUX**

Monsieur Xavier ARMOIRY (PU-PH)

Madame Claire GAILLARD (MCU)

● **QUALITOLOGIE – MANAGEMENT DE LA QUALITE**

Madame Alexandra CLAYER-MONTEMBault (MCU)

Monsieur Vincent GROS (MCU-enseignant contractuel temps partiel)

Madame Audrey JANOLY-DUMENIL (MCU-PH)

Madame Pascale PREYNAT (MCU-enseignant contractuel temps partiel)

● **MATHEMATIQUES – STATISTIQUES**

Madame Claire BARDEL-DANJEAN (MCU-PH-HDR)

Madame Marie-Aimée DRONNE (MCU)

Madame Marie-Paule GUSTIN (MCU-HDR)

● **SANTE PUBLIQUE**

Monsieur Claude DUSSART (PU-PH)

Madame Chloë HERLEDAN (AHU)

Maude BEAUDOIN (ATER)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE SCIENCES DU MEDICAMENT

● **CHIMIE ORGANIQUE**

Monsieur Pascal NEBOIS (PR)

Madame Amanda GARRIDO (MCU)

Madame Christelle MARMINON (MCU)

Madame Sylvie RADIX (MCU-HDR)

Monsieur Luc ROCHEBLAVE (MCU-HDR)

● **CHIMIE THERAPEUTIQUE**

Monsieur Marc LEBORGNE (PR)

Monsieur Thierry LOMBERGET (PR)

Monsieur Laurent ETTOUATI (MCU-HDR)

Monsieur François HALLE (MCU)

Madame Marie-Emmanuelle MILLION (MCU)

● **BOTANIQUE ET PHARMACOGNOSIE**

Madame Marie-Geneviève DIJOUX-FRANCA (PR)

Madame Anne-Emmanuelle HAY DE BETTIGNIES (MCU)

Madame Isabelle KERZAON (MCU)

Monsieur Serge MICHALET (MCU)

● **PHARMACIE CLINIQUE, PHARMACOCINETIQUE ET EVALUATION DU MEDICAMENT**

Madame Christelle CHAUDRAY-MOUCHOUX (PU-PH)

Madame Catherine RIOUFOL (PU-PH)

Madame Magali BOLON-LARGER (MCU-PH)
Monsieur Teddy NOVAIS (MCU-PH)
Madame Florence RANCHON (MCU-PH)
Madame Céline PRUNET-SPANO (MCU)
Madame Delphine HOEGY (PHU)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DE PHARMACOLOGIE, PHYSIOLOGIE ET TOXICOLOGIE

● **TOXICOLOGIE**

Monsieur Jérôme GUITTON (PU-PH)
Madame Léa PAYEN (PU-PH)
Monsieur Bruno FOUILLET (MCU)

● **PHYSIOLOGIE**

Madame Elise BELAIDI (PU)
Madame Kiao Ling LIU (MCU)
Monsieur Ming LO (MCU-HDR)

● **PHARMACOLOGIE**

Monsieur Sylvain GOUTELLE (PU-PH)
Monsieur Michel TOD (PU-PH)
Monsieur Luc ZIMMER (PU-PH)
Monsieur Roger BESANCON (MCU)
Monsieur Laurent BOURGUIGNON (MCU-PH)
Madame Evelyne CHANUT (MCU)
Monsieur Nicola KUCZEWSKI (MCU)
Madame Dominique MARCEL CHATELAIN (MCU-HDR)
Monsieur David BARTHELEMY(AHU)

● **COMMUNICATION**

Monsieur Ronald GUILLOUX (MCU)

● **ENSEIGNANTS CONTRACTUELS TEMPS PARTIEL**

Madame Pauline LOUBERT (MCU-enseignant contractuel temps partiel)
Madame Hortense PRELY (MCU-enseignant contractuel temps partiel)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DES SCIENCES BIOMEDICALES A

● **IMMUNOLOGIE**

Monsieur Guillaume MONNERET (PU-PH)
Madame Morgane GOSSEZ (MCU-PH)
Monsieur Sébastien VIEL (MCU-PH)
Monsieur David GONCALVES (AHU)

● **HEMATOLOGIE ET CYTOLOGIE**

Madame Christine VINCIGUERRA (PU-PH)
Madame Sarah HUET (MCU-PH)
Monsieur Yohann JOURDY (MCU-PH)

● **MICROBIOLOGIE ET MYCOLOGIE FONDAMENTALE ET APPLIQUEE AUX BIOTECHNOLOGIES INDUSTRIELLES**

Monsieur Frédéric LAURENT (PU-PH)
Madame Florence MORFIN (PU-PH)
Madame Veronica RODRIGUEZ-NAVA (PR)
Monsieur Didier BLAHA (MCU-HDR)
Madame Ghislaine DESCOURS (MCU-PH)
Monsieur Alexandre GAYMARD (MCU-PH)
Madame Anne DOLEANS JORDHEIM (MCU-PH-HDR)
Madame Emilie FROBERT (MCU-PH)
Monsieur Jérôme JOSSE (MCU)

● **PARASITOLOGIE, MYCOLOGIE MEDICALE**

Monsieur Philippe LAWTON (PR)
Madame Nathalie ALLIOLI (MCU)
Madame Samira AZZOUZ-MAACHE (MCU-HDR)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DES SCIENCES BIOMEDICALES B

● **BIOCHIMIE – BIOLOGIE MOLECULAIRE - BIOTECHNOLOGIE**

Madame Pascale COHEN (PR)
Madame Caroline MOYRET-LALLE (PR)
Madame Emilie BLOND (MCU-PH)
Monsieur Karim CHIKH (MCU-PH)
Madame Carole FERRARO-PEYRET (MCU-PH-HDR)
Monsieur Anthony FOURIER (MCU-PH)
Monsieur Boyan GRIGOROV (MCU)
Monsieur Alexandre JANIN (MCU-PH)
Monsieur Hubert LINCET (MCU-HDR)
Monsieur Olivier MEURETTE (MCU-HDR)
Madame Angélique MULARONI (MCU)
Madame Stéphanie SENTIS (MCU)
Monsieur Jordan TEOLI (AHU)

● **BIOLOGIE CELLULAIRE**

Madame Bénédicte COUPAT-GOUTALAND (MCU)
Monsieur Michel PELANDAKIS (MCU-HDR)

INSTITUT DE PHARMACIE INDUSTRIELLE DE LYON

Madame Marie-Alexandrine BOLZINGER (PR)
Monsieur Philippe LAWTON (PR)
Madame Sandrine BOURGEOIS (MCU)
Madame Marie-Emmanuelle MILLION (MCU)
Madame Alexandra MONTEMBault (MCU)
Madame Angélique MULARONI (MCU)
Madame Marie-Françoise KLUCKER (MCU-enseignant contractuel temps partiel)

Madame Valérie VOIRON (MCU-enseignant contractuel temps partiel)

PR : Professeur des Universités
PU-PH : Professeur des Universités-Praticien Hospitalier
PHU : Praticien hospitalo-universitaire
MCU : Maître de Conférences des Universités
MCU-PH : Maître de Conférences des Universités-Praticien Hospitalier
HDR : Habilitation à Diriger des Recherches
AHU : Assistant Hospitalier Universitaire
ATER : Attaché temporaire d'enseignement et de recherche



Vhup hq#wghv\$Skdnp dflhqv#

Dx#p rp hq#wghv\$Skdnp dflhqv#

G rfwxuhq#Skdnp dflhqv#

#

Hq#wghv\$Skdnp dflhqv#

Q#kqnhu#fx{#xlpúq#wghv\$Skdnp dflhqv#
d#wghv\$Skdnp dflhqv#
subfsh#xlpúq#wghv\$Skdnp dflhqv#

Q#hufu#q#wghv\$Skdnp dflhqv#
fqvlfqf#hufu#q#wghv\$Skdnp dflhqv#
pdl#xwz#hufu#q#wghv\$Skdnp dflhqv#

Q#hufu#q#wghv\$Skdnp dflhqv#
shwqf#xpdqf#hufu#q#wghv\$Skdnp dflhqv#

Q#hufu#q#wghv\$Skdnp dflhqv#
pqr#d#wghv\$Skdnp dflhqv#
fupbqv#

Q#hufu#q#wghv\$Skdnp dflhqv#
xqgqv#hufu#q#wghv\$Skdnp dflhqv#

Q#hufu#q#wghv\$Skdnp dflhqv#
skdnp dflhqv#

Q#hufu#q#wghv\$Skdnp dflhqv#

Txh#v#kpph#úffngq#wghv\$Skdnp dflhqv#
suphvh#Txh#v#kpph#úffngq#wghv\$Skdnp dflhqv#
fqvlfqf#Txh#v#kpph#úffngq#wghv\$Skdnp dflhqv#

Gdw###

Vljdwuhq#Skdnp dflhqv#

REMERCIEMENTS

A Madame la Professeure Marie-Alexandrine BOLZINGER, je vous remercie chaleureusement pour avoir accepté de diriger ce travail et pour l'énergie que vous avez déployée dans la réalisation de ce projet.

A Monsieur le Professeur Xavier ARMOIRY, je vous remercie de m'avoir fait l'honneur de présider ce jury. Je vous remercie pour la sollicitude et le soutien que vous m'avez apportés depuis mon stage à l'UDMS jusqu'à ce jour.

A Monsieur le Docteur Antoine PETIT, je vous exprime toute ma gratitude pour avoir accepté, sans hésitation, de participer à ce jury.

A ma famille, papa, maman merci pour le soutien indéfectible que vous m'avez apporté tout au long de ma vie, sans vous je ne serais pas là où je suis aujourd'hui. Vous m'avez donné les clés pour réussir, ce travail est aussi le vôtre. A mon frère Antoine, merci pour tout grand frère, tu as été mon modèle et j'espère que tu es fier de moi aujourd'hui. A l'ensemble de ma famille Gounand et Victoire qui me soutient depuis le premier jour. J'ai une pensée particulière pour mon papi et mon grand-père qui ne sont plus là pour célébrer la fin de cette thèse mais restent à jamais gravés dans mon cœur. Je vous aime.

A mes amis de toujours, Antoine, Benoit, Chloé, Mallory, Mayeul, Paul, Paul, Toscan alias la Crème du Comtat, merci pour tous les bons moments que nous avons partagés depuis notre tendre enfance et pour ceux qu'il nous reste à vivre.

A mes amis de longue date, Valentin et Younès, merci pour la joie que vous me donnez depuis la PACES. De Corfou à Tokyo vous êtes dans mon cœur.

A mes amis de fac, Antoine, Antoine, Clémence, Justine, Léo, Louis-Arthur, Marion, Maxime, Naël, Rita, Romain, Rachël, Thomas, Tom, Wassim, Zacharie, merci pour tous ces sourires et ces rigolades que nous avons partagés ensemble.

A mes amis de Master, Alexandra, Camille, Laura, Lina, avec qui j'ai vécu une année extraordinaire. Vous êtes Superbes.

A ma famille parisienne, Anouk, Caroline, Didier, Fanny, Maurane, merci d'être mon rayon de soleil dans la grisaille de la capitale.

Table des matières

Introduction	17
I Réglementation des essais cliniques	18
1.1 Histoire des essais cliniques	18
1.2 Dérive des essais cliniques durant le XX-ème siècle	20
1.3 Evolution de la réglementation des essais cliniques	21
1.4 Evaluation cosmétique	25
1.4.1 Test de sécurité	25
1.4.2 Test de tolérance	29
1.4.3 Test d'efficacité	39
II Biais d'une étude clinique	43
2.1 Biais de sélection	43
2.2 Biais d'information/classement	45
III Proposition de protocole	46
3.1 Construction du protocole	46
3.1.1 L'objectif de l'étude	46
3.1.2 Produit testé et référence produit	46
3.1.3 Procédure du test	48
3.1.4 Gestion et traitement des données	49
3.1.5 Analyse des résultats	50
3.1.6 Matériel et réactifs	52
3.1.7 Information spécifique	52
3.2 Test d'hydratation	56
3.2.1 Propriétés biophysiques de la peau et hydratation	56
3.2.2 Méthodes et appareils de mesure	57
3.2.3 Influence des facteurs	62
3.2.4 Conditions de mesures	67
3.2.5 Conclusion	70
3.3 Test anti-âge	71
3.3.1 Vieillissement cutané	71
3.3.2 Méthodes et appareils de mesures	74
3.3.3 Influence des facteurs	78
3.3.4 Conditions de mesures	82

3.3.5 Conclusion	84
3.4 Test de fermeté	85
3.4.1 Propriétés élastiques de la peau	85
3.4.2 Méthodes et appareils de mesures	86
3.4.3 Influence des facteurs	93
3.4.4 Conditions de mesures	95
3.4.5 Conclusion	98
3.5 Test Anti-séborrhéique	99
3.5.1 Production de sébum	99
3.5.2 Méthodes et appareils de mesures	100
3.5.3 Influence des facteurs	104
3.5.4 Conditions de mesures	106
3.5.5 Conclusion	109
IV Limites	110
Conclusion	114
V Annexes	115
VI Bibliographie	151

Liste des tableaux

Tableau 1 : Méthode de scorage des symptômes induits par une substance sur la membrane chorioallantoïdienne d'un œuf de poule en fonction du temps d'apparition

Tableau 2 : Interprétation du score d'apparition des symptômes en fonction du temps

Tableau 3 : Liste non exhaustive des tests de tolérance *in vitro* et de leurs normes

Tableau 4 : Score International Contact Dermatitis Research Group (ICDRG)

Tableau 5 : Les principaux appareils de mesure et les paramètres mesurés

Tableau 6 : Résumé des caractéristiques du produit

Tableau 7 : Calendrier d'une étude d'hydratation de la peau après application unique sur une journée

Tableau 8 : Calendrier d'une étude d'hydratation de la peau après application répétée sur X journées

Tableau 9 : Valeur de Cornéomètre® (a.u) pour des mesures d'hydratation sur l'avant-bras

Tableau 10 : Comparaison des valeurs minimales et maximales des PIE d'une sonde à chambre fermée et d'une sonde à chambre ouverte.

Tableau 11 : Influence de l'âge sur l'hydratation cutanée au niveau des avant-bras, du front, de la joue et du menton

Tableau 12 : Paramètres calculés à partir des mesures de Cutomètre® et signification

Tableau 13 : Taux d'excrétion de sébum (u.a/min) chez 60 hommes et 100 femmes présentant une peau grasse, répartis en 3 tranches d'âge

Liste des figures

Figure 1 : Flow chart pour le choix des tests de tolérance en fonction des allégations souhaitées.

Figure 2 : Schéma d'un patch test avec les chambres

Figure 3 : Réalisation d'un patch test sur le dos d'un volontaire

Figure 4 : Exemple d'échelle de ride de la patte d'oie

Figure 5 : Zones d'application sur les avants bras

Figure 6 : Echelle de gradation pour la ride de la patte d'oie

Figure 7 : Zones d'application sur les rides de la patte d'oie

Figure 8 : Comportement non linéaire de la peau en 3 phases

Figure 9 : Courbe de la déformation de la peau dans le temps lors d'un essai de succion

Figure 10 : Photo de l'extensomètre LADIES « Large Displacement Extensometer for Skin » développé par l'institut FEMTO-ST

Figure 11 : Zones d'application sur les cuisses

Figure 12 : Représentation de la réflexion spéculaire et diffuse

Figure 13 : Mécanisme d'action du glossymètre

Figure 14 : Images prises avec le Colorface® afin de mesurer la brillance. (a) Eclairage en polarisation parallèle, (b) éclairage en polarisation croisée, (c) soustraction du L^* des deux autres images

Figure 15 : Zones d'application sur le front

Liste des abréviations

UE	Union Européenne
ECVAM	European Center for Validation of Alternative Methods
ESAC	European Center for Validation of Alternative Methods Scientific Advisory Committee
IFSCC	Fédération Internationale des Sociétés de Chimistes Cosméticiens
CSSC	Comité Scientifique Européen pour la Sécurité des Consommateurs
CSP	Code de la Santé Publique
RIPH	Recherches impliquant la personne humaine
PCPC	The Personal Care Products Council
RSPC	Rapport sur la Sécurité du Produit Cosmétique
DIP	Dossier d'Information Produit
ARPP	Autorité de Régulation Professionnelle de la Publicité
ICDRG	International Contact Dermatitis Research Group
COLIP	The European Cosmetic and Parfum Association
ICH	Conseil International sur l'harmonisation
PIE	Perte Insensible en Eau
CCD	Charged Couple Device
OCDE	Organisation de Coopération et de Développement Economiques
NMF	Facteurs naturels d'hydratation
EEMCO	European Expert Group on Efficacy Measurement of Cosmetics and Other Products

Introduction

Le chemin pour la commercialisation d'un produit cosmétique est long et fastidieux. Après une étude marketing des tendances et du marché, les équipes de recherche et développement et de formulation conçoivent le produit et s'assurent que celui-ci est efficace et sécurisé. Après la réalisation des emballages, le produit peut être commercialisé. Toutes ces étapes sont supervisées par les affaires réglementaires qui s'assurent que le produit et les emballages respectent les réglementations en vigueur.

En effet, les cosmétiques sont des produits soumis à une importante réglementation. Ce marché est fortement contrôlé par des instances nationales et internationales mais aussi des guidelines. Ces acteurs ont pour but de garantir l'efficacité et la sécurité de ces produits vis-à-vis des consommateurs.

Pour ce qui est de l'efficacité, les fabricants apposent sur les cosmétiques des allégations qui informent le consommateur sur les effets du produit. Celles-ci doivent être prouvées par des tests d'efficacité réalisables par le fabricant lui-même ou par des sous-traitants spécialisés dans l'évaluation clinique. Il existe à ce jour plus d'une centaine de revendications sur l'ensemble des produits cosmétiques et chacune d'entre elles peut être soutenue grâce à différentes techniques.

Ainsi, il existe nombre de protagonistes susceptibles de réaliser les tests permettant de soutenir les allégations. Il est donc légitime de se demander si la réglementation en vigueur permet de garantir le même niveau de preuve entre des expérimentations identiques mais réalisées par des acteurs différents.

Dans un premier temps, nous étudierons l'histoire et l'évolution des essais cliniques. Puis, nous ferons une revue détaillée des obligations réglementaires sur les tests d'efficacité permettant de soumettre des allégations, ainsi que des biais que l'on peut retrouver dans celles-ci. Enfin nous aborderons le sujet principal de ce travail ; la proposition de protocoles respectant les demandes réglementaires tout en limitant au maximum les biais.

I Réglementation des essais cliniques

1.1 Histoire des essais cliniques

Afin de mieux comprendre la nécessité de réaliser des essais cliniques, plongeons-nous dans l'histoire de ces derniers.

L'histoire des essais cliniques est très ancienne puisqu'on retrouve des témoignages dans « le livre de Daniel », un texte biblique (1). Il décrit des événements datant du VI^{ème} siècle avant Jésus Christ (2). Au chapitre 1 Daniel, ne voulant pas se souiller avec de la nourriture et du vin servis à la cour royale, demande aux généraux qu'ils puissent, lui ainsi que 3 de ses amis, ne manger que des légumes et de l'eau durant 10 jours. Par la suite, il souhaite comparer son état de santé à celui d'une dizaine d'autres jeunes hommes sains, qui ont consommé un régime alimentaire à base de viande et de vin. Daniel cherche à prouver que le régime alimentaire royal est néfaste pour la santé (3). Ce récit peut être assimilé à une étude comparative entre deux groupes de volontaires sains.

En 1025, s'achève l'encyclopédie en cinq volumes, « Le canon de la médecine » dont l'auteur perse Ibn Sina, plus connu sous le nom d'Avicenne, est un philosophe médecin. On retrouve dans cet ouvrage, des principes généraux sur la médecine mais aussi des règles pour des situations du quotidien. Ces livres ont été à la base de l'enseignement médical durant tout le Moyen-Age pour l'Orient et l'Occident. L'auteur met alors l'accent sur l'importance des expérimentations pour prouver l'efficacité des produits. Il précise que lors des essais thérapeutiques, les tests doivent être réalisés avec des produits purs et qu'il est nécessaire d'avoir un grand nombre de volontaires pour pouvoir apprécier l'effet thérapeutique d'un produit et comparer ces effets aux « effets accidentels ». On retrouve ici les principes de robustesse d'un test avec un nombre suffisant de volontaires et celui de comparaison des effets bénéfiques et indésirables d'une substance (4).

Un des premiers récits détaillés d'un essai clinique contrôlé, comparatif entre deux groupes est rapporté en 1747. Au XVIII^{ème} siècle, l'Homme européen maîtrise les voyages maritimes entre les différents continents. La découverte, quelques siècles plus tôt des Amériques, lui a permis de développer ses compétences dans la navigation. Cependant, les navigateurs n'ont pas encore trouvé de solution pour lutter contre les maladies contractées à bord et qui sont plus meurtrières

que les intempéries (5). Le médecin de la Royal Navy, James Lind, est envoyé sur une mission en mer afin de tester différents traitements contre le scorbut. Cette maladie frappe une grande partie des marins et seul le retour sur la terre ferme permet de soigner ces maux. Sa méthodologie est la suivante :

- Isolement des malades afin qu'aucun facteur extérieur n'interagisse avec le traitement ;
- Alimentation identique pour tous les malades de manière à ce que les effets constatés, soient attribués uniquement aux traitements donnés ;
- Détermination de 6 groupes afin de comparer les traitements donnés.

En accord avec ces principes, James Lind, crée 6 groupes de 2 malades. Tous les groupes reçoivent un traitement différent. Après deux semaines de traitement, il note une réelle amélioration pour le groupe traité avec des agrumes. Il en conclut donc que c'est le traitement le plus efficace pour lutter contre le scorbut (1). En dépit de nombreux biais comme le nombre de volontaires, James Lind a posé les bases de l'expérimentation clinique.

Malgré des avancées majeures dans l'expérimentation, la majorité des traitements est basée sur l'empirisme et l'expérience des cliniciens. C'est le cas des saignées. Au XVIIIème siècle, une épidémie de fièvre jaune touche la ville de Philadelphie. Le physicien Benjamin Rush, décide alors de pratiquer sur lui-même la méthode de la saignée. Quelques jours plus tard, le scientifique guéri en conclut que cette méthode est le traitement adéquat (6). Ce genre de pratique est très répandu à cette époque mais des scientifiques doutent de cette méthode. C'est le cas de Pierre-Charles Alexandre Louis qui va introduire en 1830 la méthode numérique. Il est le premier à montrer l'importance des statistiques et des caractéristiques démographiques dans une expérimentation (7). Pour le traitement de la pneumonie, il analyse 77 cas à l'hôpital de la Charité à Paris. Il compare deux groupes de patients. Le premier bénéficie d'une saignée lors des 4 premiers jours et le deuxième lors des 5 derniers. Son analyse statistique retrouve 44% de décès pour le premier groupe et 25% pour le deuxième. Il conclut que le deuxième groupe a un meilleur pourcentage de survie car il a passé le pic de la maladie et que par conséquent la saignée n'est pas un traitement nécessaire (6). De plus, il est le premier à expliquer la nécessité d'avoir des groupes démographiquement semblables pour pouvoir être comparés.

Les essais thérapeutiques se développent et s'améliorent tout au long du XXème siècle. Entre 1946 et 1949 des études cliniques avec des méthodes plus rigoureuses sont entreprises en Angleterre afin de juger de l'efficacité de la streptomycine contre la tuberculose. Dans cette étude, un statisticien, Austin Bradford Hill, contrôle l'ensemble de l'étude. Il instaure trois règles, qui seront par la suite des points essentiels dans un essai contrôlé :

- L'importance des statistiques dans le contrôle des essais, la planification et l'analyse des résultats,
- La randomisation des groupes d'études ainsi que le principe du double aveugle,
- L'utilisation de critères objectifs pour l'évaluation des effets d'un traitement (6).

1.2 Dérive des essais cliniques durant le XXème siècle

La méthodologie des essais cliniques s'est développée pendant plus de 2 millénaires et atteint un niveau de rigueur scientifique très élevé durant le XXème siècle. Cependant un aspect essentiel des essais cliniques est négligé : l'éthique. Ce manque donnera lieu à des dérives qui pousseront les instances à promouvoir des règles.

En 1932, dans la ville de Tuskegee en Alabama, une étude clinique est lancée. Elle s'intitule « L'étude de Tuskegee sur la syphilis non traitée chez le mâle noir ». Cette étude comporte 600 personnes afro-américaines, dont 399 atteintes de syphilis (8). En plus d'un recrutement éthiquement inacceptable, basé sur des critères raciaux, d'autres bases éthiques ont été bafouées. Premièrement, le consentement éclairé des participants n'a pas été recueilli. Ils ignoraient que l'étude portait sur la syphilis. Deuxièmement, l'objectif de cette étude était d'observer l'évolution de la maladie et non pas de la soigner quand cela était possible. Cette « étude » se rapproche donc plus d'une expérience mettant en danger la sécurité des volontaires (9). Cette expérience dure jusqu'en 1972, malgré la découverte de la pénicilline en 1943 comme traitement de la syphilis. Aucun des volontaires ne s'est vu proposer le traitement de référence, même en cas d'extrême nécessité. Cette « étude » ne sera déclarée éthiquement injustifiée qu'en 1972.

C'est au cours de la seconde guerre mondiale que se révéleront les dérives éthiques les plus marquantes. En effet, le parti nazi alors au pouvoir en Allemagne, va débiter des

expérimentations médicales barbares dans les camps de concentration au nom de « l'avancée médicale ». Dans le camp de Ravensbrück, les médecins nazis vont volontairement mutiler violemment des prisonniers afin de créer des infections dans le but de pouvoir tester l'efficacité des sulfamides. Ces expérimentations éthiquement atroces se terminent pour la plupart par la mort ou par l'euthanasie des volontaires par surdosage d'opioïdes (10).

En 1945, la fin de la seconde guerre mondiale permettra de mettre en lumière aux yeux du monde les atrocités qui se sont déroulées dans les camps de concentration. Ces événements seront à l'origine des règles de protection des patients lors des essais cliniques.

1.3 Evolution de la réglementation des essais cliniques

Au lendemain de la seconde Guerre mondiale, le procès de 23 personnes, pour la plupart médecin, s'ouvre à Nuremberg en 1947. Il en découlera *le code de Nuremberg* qui s'apparente au premier texte encadrant les essais cliniques (11). Ce texte international permet de définir les principes déontologiques et moraux lors d'une expérimentation clinique (12). On y retrouve des principes fondamentaux pour le respect de l'éthique. Le consentement volontaire et éclairé du patient doit être recueilli avant le début de toute expérimentation, l'étude doit être justifiée et apporter un bénéfice pour la société en évitant, quand cela est possible, la souffrance physique et psychique. De plus, le sujet doit être protégé contre tout ce qui pourrait nuire à sa santé et il doit être en position de quitter l'étude à n'importe quel moment (12).

On retrouve par la suite la déclaration d'Helsinki, écrite en 1964 par l'association médicale mondiale. Ce texte vise à lister les principes éthiques applicables à la recherche médicale impliquant des êtres humains (13). Ce texte retrace 37 points indissociables qui posent les bases de l'éthique. Des amendements permettent de faire évoluer ce texte.

En France, il émanera de cette déclaration, la loi n°88-1138 du 20 décembre 1988 connue sous le nom de loi HURIET-SERUSCLAT, relative à la protection des personnes qui se prêtent à des recherches biomédicales. Elle sera donc applicable pour les études cosmétiques de recherches biomédicales interventionnelles (14). Cela concerne les biopsies cutanées visant à prouver l'effet de nouveaux actifs sur les critères histologiques et cliniques de la peau (15).

Cette loi permet d'établir un cadre juridique qui s'impose à toutes expérimentations biomédicales contrairement à la déclaration d'Helsinki qui est une injonction morale (16).

Afin d'harmoniser les études cliniques entre les pays, une norme éthique et scientifique est rédigée : *les bonnes pratiques cliniques*. Elles sont écrites par le Conseil International sur l'harmonisation (ICH) et ont pour but de simplifier l'acceptation d'une étude entre pays ayant des autorités réglementaires différentes. Nous les retrouvons dans la norme ICH E6 (R2) Good Clinical Practice et en France, dans la loi n°2004-806 du 09 août 2004 relative à la politique de santé publique (17).

En France, depuis le 06 mars 2012, les recherches impliquant la personne humaine (RIPH) sont encadrées par la loi Jardé. Modifiée en 2016 et 2018, elle fixe le cadre réglementaire des études en fonction du degré d'intervention et des risques encourus, offrant une meilleure protection des personnes participant aux diverses études avec, entre autres, un renforcement de la vigilance, mais ne s'applique qu'aux recherches ayant pour finalité « le développement des connaissances biologiques ou médicales ». La liste de ces recherches est citée dans l'article 1 du R.1121-1 du Code de la Santé Publique (CSP). Cette loi classe les RIPH en 4 catégories (18) :

- Catégorie 1 : Les recherches interventionnelles, dont la prise en charge est inhabituelle. Cela concerne les études sur les médicaments et les actes expérimentaux,
- Catégorie 2 : Les recherches interventionnelles aux risques mineurs comme les études non-médicamenteuses,
- Catégorie 3 : Les recherches non interventionnelles sans risques pour les volontaires. Ce sont les études observationnelles,
- Non RIPH : L'article 2 du R.1121-1 du CSP fait la liste des études organisées et pratiquées sur des personnes mais qui ne peuvent être classées dans les catégories 1, 2 et 3. On y retrouve les expérimentations en sciences humaines, les études sur les pratiques des professionnels de santé, les enquêtes de satisfaction alimentaire et cosmétique, les enquêtes d'évaluation cosmétique (19).

Ainsi, les tests cosmétiques sont exclus de cette loi (20).

La législation des produits cosmétiques est régie par le règlement (CE) n°1223/2009 du parlement européen et du conseil. Composé de 10 chapitres, 40 articles et 10 annexes, ce texte prévoit la réglementation des essais cliniques pour les produits cosmétiques. Ces tests ont pour but de soutenir les allégations des produits. L'article 20 intitulé « Allégation concernant le produit », stipule qu'on ne peut pas attribuer à un produit des caractéristiques qu'il ne possède pas, que ce soit pour la mise sur le marché ou la publicité, afin d'éviter toutes pratiques commerciales déloyales. En effet, les allégations sur la fonction, le contenu et les effets du produit doivent être profitables, intelligibles et dignes de foi afin d'avertir les utilisateurs des caractéristiques et des avantages du produit (21).

Le règlement (UE) n°655/2013 paru le 10 juillet 2013 dans le journal officiel de l'Union Européenne, établit «les critères communs auxquels les allégations relatives aux produits cosmétiques doivent répondre pour être utilisés » afin d'assurer la protection du consommateur contre les allégations trompeuses. Les critères communs aux allégations sont au nombre de 6 :

- Conformité avec la législation

Il n'est pas autorisé de présenter comme allégation des faits ou bénéfices qui ne font que répondre aux conformités de la législation. En effet, le fabricant ne peut tromper l'utilisateur final, en lui faisant croire que le produit possède des caractéristiques spécifiques alors qu'il s'agit d'une obligation législative.

- Véracité

Les allégations peuvent uniquement mentionner les ingrédients présents dans le produit et peuvent faire référence aux propriétés d'un ingrédient uniquement si le produit fini possède lui aussi ces propriétés. De plus, toutes opinions ne peuvent être des allégations sauf si elles rendent compte de faits véritables.

- Éléments probants

Une allégation peut être soutenue si et seulement si elle est fondée sur une évaluation probante qui est réalisée par des méthodes éthiques, modernes et correctement conçues.

- Sincérité

Les allégations d'un produit ne doivent pas dépasser les éléments probants démontrés pour le produit. De plus, si le produit a besoin d'un produit auxiliaire pour développer un effet, le nom du produit auxiliaire doit être indiqué.

- Equité

Les allégations doivent être objectives et ne pas rabaisser la concurrence ou critiquer un ingrédient autorisé par la réglementation. De plus, elles ne peuvent pas créer de confusion avec un produit rival.

- Choix en connaissance de cause

Toutes les allégations doivent être compréhensibles pour le consommateur et doivent lui permettre de choisir en connaissance de cause (22).

Tout comme les allégations se trouvant sur le produit, les allégations publicitaires doivent respecter le Règlement (UE) N°655/2013. L'Autorité de Régulation Professionnelle de la Publicité (ARPP) a présenté le 1^{er} juillet 2019 la version 8 des recommandations des produits cosmétiques. L'ARPP nous rappelle les critères communs aux allégations. De plus, il nous montre que tous les produits doivent s'appuyer sur des preuves tirées de test.

La recommandation nous indique la nature des tests. Les principaux sont les tests objectifs incluant les tests instrumentaux nécessitant des outils de mesure de la performance ou les tests cliniques supervisés par un expert. Mais aussi les tests de satisfaction qui interrogent le consommateur sur sa perception du produit (23).

1.4 Evaluation cosmétique

L'histoire nous permet de comprendre comment doit se dérouler une étude clinique d'un point de vue éthique. D'après les textes réglementaires, 3 types de tests sont à réaliser sur les produits cosmétiques avant la commercialisation : test de sécurité, test de tolérance et test d'efficacité.

1.4.1 Test de sécurité

Comme détaillé dans le chapitre 3, article 10, alinéa 2 du règlement cosmétique n°1223/2009, un produit cosmétique doit être soumis à une évaluation de la sécurité avant commercialisation. Cette évaluation sera réalisée par une personne diplômée et le détail de l'évaluation se trouve dans la partie B de l'Annexe I de ce même règlement (21). Un ensemble de tests est à réaliser afin de constituer le rapport sur la sécurité.

Un des tests parmi les plus importants à réaliser est le test de stabilité. Il permet d'observer le comportement du produit au cours du temps. Il est important de savoir si le produit va garder ses propriétés organoleptiques, physico-chimiques et microbiologiques après commercialisation. Ce test permet d'obtenir des informations importantes comme la période de conservation, les recommandations sur les emballages afin d'éviter des interactions avec la formule et les consignes de stockage et de transport (24). Des associations telles International Federation of Societies of Cosmetics Chemists (IFSCC) et Cosmetics Europe (25) (26) ont publié en 1992 et 2004 des protocoles pour les tests de stabilité cosmétique (27). Depuis, la norme ISO/TR 1881 sortie en 2018 précise les lignes directrices pour la réalisation des essais de stabilité concernant les cosmétiques (24).

Pour le test de stabilité, il existe différentes variantes aux objectifs bien définis :

- Test de stabilité en temps réel et en condition normale d'utilisation,
- Test de stabilité en condition accélérée.

Mais aussi des tests supplémentaires :

- Test de cycles de température,
- Test d'exposition aux UV,
- Test mécanique.

Pour le test de stabilité en temps réel, le procédé est simple. Les produits sont placés dans les conditions normales de stockage à la température et humidité correspondant à la zone de commercialisation. Des analyses sont menées sur les caractéristiques organoleptiques du produit en vérifiant qu'il n'y a pas de modification de l'aspect ou de l'odeur. Une analyse physico-chimique est aussi réalisée pour vérifier le pH et la viscosité du produit. L'inconvénient ici, est la durée de test. Pour pouvoir montrer que le produit est stable pendant 1 an, il faut 1 an de test. Il est donc nécessaire de réaliser des tests de stabilité accélérés. Pour cela, les produits sont placés dans des environnements avec des températures plus élevées pouvant aller jusqu'à 45°C et des taux d'humidité de 75 à 80% pour accélérer le vieillissement des produits et ainsi réduire la durée des essais à quelques mois (26).

Lorsque les tests de stabilité sont réalisés, on procède aux tests de compatibilité. Ils permettent de garantir l'absence d'interactions entre le produit final et le contenant. Il s'agit par ailleurs, d'une exigence retrouvée dans la norme ISO 22717 relative aux bonnes pratiques de fabrication cosmétique, paragraphe 5.2.4 (28). Ces tests sont réalisés dans les mêmes conditions que les tests de stabilité. Par ailleurs, les aspects liés aux fonctions du conditionnement primaire sont vérifiés. Le fabricant s'assure que le conditionnement est étanche, n'altère pas le produit et le distribue bien. De plus, le produit fini va être soumis à des variations de température et d'humidité dans son contenant final afin de s'assurer qu'il n'y a pas de migration entre le contenant et le contenu et de modifications du produit (27). Le Conseil National de l'Emballage liste la réglementation et les normes de la compatibilité contenant/contenu (29). On y retrouve la recommandation du Comité Scientifique Européen pour la Sécurité des Consommateurs (CSSC) qui préconise de réaliser un essai de stabilité physique.

Un élément important doit être retrouvé dans le Rapport sur la Sécurité du Produit Cosmétique (RSPC). Il s'agit du challenge test. Ce test a pour but de tester l'efficacité de la conservation. La présence de cette expérimentation est obligatoire pour tous les produits cosmétiques susceptibles d'entrer sur le marché. Il n'existe pas de protocole dans le règlement (CE) n°1223/2009 mais de nombreuses normes définissent la manière de réaliser le challenge test (30) :

- La Pharmacopée US – USP51 « preservative challenge testing »,
- La Pharmacopée Européenne 11.5,
- ISO 17516 : 2014 « Limites microbiologiques »,
- ISO 11930 : 2019 « Evaluation de la protection antimicrobienne d'un produit cosmétique » ,
- Norme Française en ISO 20976-2 : 2022 « Exigences et lignes directrices pour la réalisation des tests d'épreuves microbiologiques »,
- The Personal Care Products Council (PCPC) M-6 « Microbiology Guideline », - CSSC « Note d'orientation du CSSC pour les tests d'ingrédients cosmétiques et leur évaluation de sécurité – 12^e révision 2023.

Le principe de cette expérimentation est d'introduire volontairement des souches bactériennes et fongiques dans un produit puis d'observer la décroissance logarithmique du nombre de survivants au cours du temps afin d'apprécier l'efficacité du système de conservation.

Le protocole expérimental issu de la pharmacopée européenne au chapitre 5.1.3 « Efficacy of antimicrobial preservation » impose la contamination volontaire par 4 souches microbiologiques :

- Deux souches bactériennes
 - *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027,
 - *Staphylococcus aureus* ATCC 6538.

- Deux souches fongiques
 - *Candida albicans* ATCC 10231,
 - *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404.

Le produit est ensuite réparti dans des flacons stériles avec une concentration de 10^5 à 10^6 microorganismes par gramme de produit. A noter que chaque flacon contient une souche microbiologique. Il faudra donc un flacon par souche testée.

Les flacons sont alors ensemencés sur des géloses conservées à 22.5°C dans l'obscurité. Des comptages de colonies sont réalisés à J2, J7, J14 et J28, afin de vérifier l'efficacité du système de conservation (29). Il faudra alors comparer le nombre de colonies sur toutes les géloses aux seuils fixés dans la Pharmacopée afin de valider le test. Un témoin est réalisé pour toutes les souches grâce au bouillon LT100 qui va neutraliser les conservateurs.

D'autres tests de contrôle microbiologique sont aussi réalisables comme le test de dénombrement qui consiste à mettre en culture le produit cosmétique et de compter le nombre de colonies de bactéries qui poussent afin d'évaluer la contamination microbienne. Les normes pour les tests de dénombrement sont :

- ISO 21150 : 2015 « Détection d'*Escherichia coli* »,
- ISO 18416 : 2015 « Détection de *Candida albicans* »,
- ISO 221717 : 2015 « Détection de *Pseudomonas aeruginosa* »,
- ISO 18415 : 2017 « Détection des micro-organismes spécifiés et non spécifiés »,

- Norme Française en ISO 21149 : 2017 « Dénombrement et détection des bactéries aérobies mésophiles »,
- Norme Française en ISO 16212 : 2017 « Dénombrement des levures et des moisissures »,
- La pharmacopée Européenne 11.5 chapitre 2.6.36,
- La Pharmacopée US – USP61 « microbiological examination of nonsteril products : microbial enumeration tests »,
- La Pharmacopée US – USP62 « microbiological examination of nonsteril products : Test for specified microorganisms ».

1.4.2 Test de tolérance

Un produit cosmétique peut se comporter comme un antigène au contact de la peau et induire des réactions immunitaires : dermatites de contact. Il est donc possible de tester la tolérance des produits.

Pour cela, il existe de nombreuses alternatives. Il est possible de réaliser plus d'une dizaine de tests sur la tolérance des produits. Dans ce domaine, il n'existe pas de référentiel sur les tests à réaliser pour un produit cosmétique. Les tests seront choisis en fonction du type de produit, de ses conditions d'utilisation, de sa composition et de l'allégation souhaitée (12).

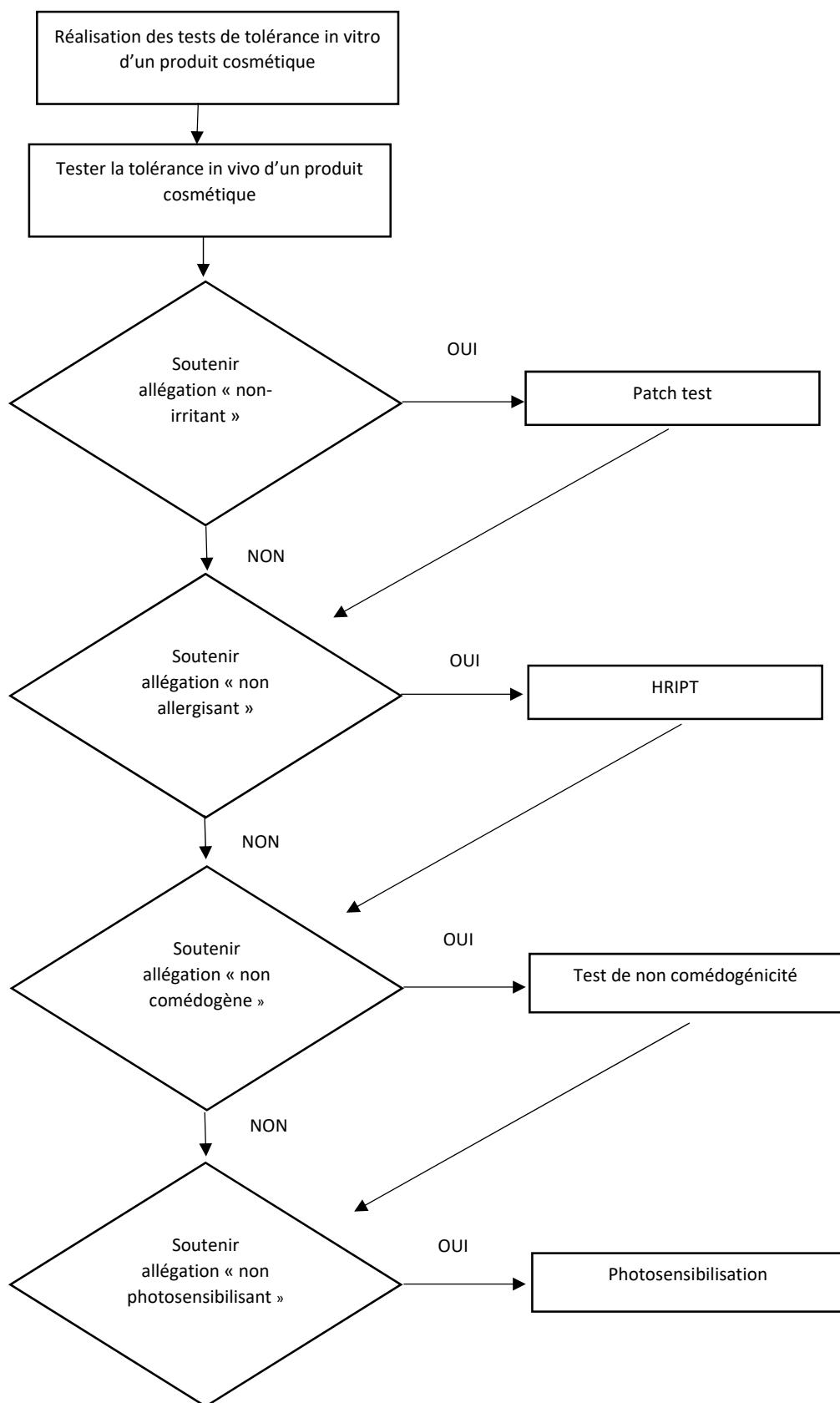


Figure 1 : Flow chart pour le choix des tests de tolérance en fonction des allégations souhaitées (31).

Les tests de tolérance cosmétique peuvent être des tests *in vitro* et *in vivo*. Les méthodes de ces tests sont évaluées par l'European Center for Validation of Alternative Methods (ECVAM) et son comité consultatif scientifique (ESAC). Elles seront par la suite acceptées au niveau réglementaire par l'Organisme de Coopération et de Développement Economique (OCDE). Le Comité Scientifique Européen pour la Sécurité des Consommateurs (CSSC) peut par la suite remettre en question la validation des méthodes et proposer des améliorations à celles-ci (12). Le CSSC vient de publier le 15 mai 2023 la douzième révision de ses Notes of Guidance pour « les lignes directrices pour les tests des ingrédients cosmétiques et l'évaluation de leur sécurité » (32). Dans un premier temps, les tests *in vitro* sont réalisés.

Un des tests *in vitro* réalisable est le test d'irritation cutanée. Il s'agit de la ligne directive n°439 intitulée : « Irritation cutanée *In vitro* : Essai sur épiderme humain reconstruit » du 14 juin 2021. Cette méthode permet de vérifier que la formule n'a pas la capacité de détériorer l'épiderme. Pour cela, un modèle d'épiderme humain est reconstruit de façon tridimensionnelle. Des kératinocytes non transformés sont prélevés sur de l'épiderme humain puis mis en culture pour former un modèle multicouche identique à l'épiderme retrouvé *in vivo*. Le principe est de comparer la viabilité cellulaire entre un modèle d'épiderme qui jouera le rôle de témoin négatif et un modèle exposé aux produits à tester. La viabilité cellulaire est quantifiée grâce au colorant vital MTT qui a la capacité de se transformer en sel de formazan bleu dans les cellules viables. Les produits irritants vont faire chuter la viabilité cellulaire et par conséquent la quantité de sel de formazan. D'un point de vue technique, les produits sont appliqués sur les modèles de peau pour un minimum de 42h à 37°C. Le sel de formazan est alors extrait avec un solvant et quantifié par absorbance ou spectrophotométrie afin de calculer la viabilité cellulaire. Les quantités de produits et les critères d'acceptabilité dépendent du modèle de peau et de la galénique. Toutes ces informations sont précisées dans l'annexe 3 de la directive (33). Un autre test réalisable est l'essai n°442 E de l'OCDE intitulé : « Sensibilisation cutanée *in vitro*. Essai de sensibilisation cutanée *in vitro* portant sur l'événement clé relatif à l'activation des cellules dendritiques dans la voie toxicologique impliquée dans les effets indésirables pour la sensibilisation cutanée » du 4 juillet 2023 (34).

Ce test permet de détecter les produits susceptibles d'induire des réponses allergiques. Le principe de sensibilisation se déroule en 4 étapes :

- Etablissement d'une liaison forte entre l'allergène électrophile et les centres nucléophiles de la peau,
- Changement d'expression génique et inflammation au niveau des kératinocytes induit par la liaison avec l'allergène,
- Activation des cellules du système immunitaire et plus particulièrement les cellules dendritiques par expression de marqueur et production de chimiokines/cytokines,
- Activation des autres cellules du système immunitaire comme les lymphocytes T.

La directive n°442 E de l'OCDE mentionne quatre méthodes pour juger de la sensibilisation d'un produit en mesurant les mécanismes de l'étape d'activation des cellules dendritiques (34) :

- Test d'activation de la lignée cellulaire humaine,
- Test d'activation de la lignée cellulaire U937,
- Essai par gène rapporteur de l'interleukine 8,
- Détection génomique rapide des allergènes pour l'évaluation des sensibilisations cutanées.

L'OCDE a aussi publié deux lignes directrices qui permettent de réaliser des essais complémentaires à la sensibilisation. Ces lignes directrices vont évaluer la première et la deuxième étape. Il s'agit de l'essai de la ligne directrice n°442C du 4 juillet 2023 et intitulé : « Sensibilisation cutanée *in chemico*. Essai portant sur l'événement clé relatif à l'établissement d'une liaison covalente avec les protéines, dans la voie toxicologique impliquée dans les effets indésirables » (35) et l'essai n°442D du 30 juin 2022 intitulé « Sensibilisation cutanée *in vitro*. Méthode d'essai ARE-Nrf é luciférase » (36).

Lorsque le produit nécessite une application proche des yeux, il est pertinent de tester la tolérance oculaire afin de pouvoir soutenir l'allégation « non irritant pour les yeux » ou « ne pique pas les yeux ». Les produits concernés peuvent être des nettoyants, des masques pour visage ou encore des shampoings. Il est possible de tester la tolérance oculaire de manière *in vitro* avec le test HET-CAM. La directive numéro 263 du 11 avril 2023 de l'OCDE stipule que cette méthode a fait l'objet d'étude de validation et est maintenant acceptée dans de nombreux pays. Ce test consiste à appliquer une substance sur la membrane chorioallantoïdienne d'un œuf de poule embryonné au neuvième jour. La membrane est alors inspectée au microscope à 30 secondes, 2 et 5 minutes afin d'observer les saignements, la coagulation et la lyse vasculaire. Le temps de réaction nous permet de calculer un score d'irritation (37).

Effet	Score		
Temps	30 secondes	2 minutes	5 minutes
Saignement	7	5	3
Coagulation	9	7	5
Lyse vasculaire	5	3	1

Tableau 1 : Méthode de scorage des symptômes induits par une substance sur la membrane chorioallantoïdienne d'un œuf de poule en fonction du temps d'apparition (38)

L'addition des scores nous permet de prédire l'effet irritant de la substance.

Score	Interprétation
[0 ; 1[	Non irritant
[1 ; 5[	Légèrement irritant
[5 ; 9[	Modérément irritant
[9 ; 21[	Très irritant

Tableau 2 : Interprétation du score d'apparition des symptômes en fonction du temps (38)

Un produit ayant un score compris entre 9 et 21 ne pourra pas avoir l'allégation « non irritant pour les yeux (39) ». Il existe un autre test qui permet d'évaluer la corrosion oculaire. Il s'agit du test d'opacité et de perméabilité cornéenne bovine (BCOP). Le protocole est décrit dans l'essai n°437 de l'OCDE paru le 4 juillet 2023. Il sera utilisé préférentiellement pour les produits très irritants (40).

In fine, il existe de nombreux tests de tolérance *in vitro* qui permettent de juger dans un premier temps, de l'innocuité des formules. Des organismes comme l'OCDE et ISO mettent à dispositions des normes pour ces tests dont les protocoles sont nombreux et détaillés. Cependant, ces tests ne sont pas obligatoires.

Test	Norme
Test d'irritation cutanée	OCDE n°439 (33)
Test de sensibilisation	OCDE n°442C(35) OCDE n°442D(36) OCDE n°442E (34) OCDE n°497 (41)
Test d'irritation oculaire	OCDE n°263 (37) OCDE n°496 (42)
Test de corrosion oculaire	OCDE n°460(43) OCDE n°437 (40)
Test de corrosion cutanée	OCDE n°431 (44)
Test d'absorption	OCDE n°428 (45)
Test de phototoxicité	OCDE n°432 (46)
Test de génotoxicité	OCDE n°487 (47)
Test de cytotoxicité	ISO 10993-5 (48)

Tableau 3 : Liste non exhaustive des tests de tolérance *in vitro* et de leurs normes (49)

Après validation des tests de tolérance *in vitro*, les formules sont soumises aux tests de tolérance *in vivo*. Comme pour les tests *in vitro* il en existe de nombreux mais, là encore aucun n'est obligatoire. Ils seront réalisés en fonction des allégations souhaitées pour le produit.

Pour évaluer le pouvoir irritant des produits cosmétiques, il est courant de réaliser un test de compatibilité cutanée par le biais d'un patch test. Autrement appelé test épicutané, il est utilisé depuis la fin du XIX^{ème} siècle par les dermatologues afin de trouver les allergènes en cause chez les patients présentant des dermatites de contact. Ce test permet de s'assurer que le produit cosmétique ne va pas induire d'eczémas de contact (50). Il est important de rappeler que les cosmétiques font partie des 4 grandes classes d'allergènes pouvant déclencher cette réponse immunitaire (51).

Présenté le 23 septembre 1895 au 5^{ème} Congrès de la Société allemande de dermatologie par le médecin Joseph Jadassohn, le patch test s'est perpétuellement amélioré durant plus d'un siècle pour devenir un test de référence en dermatologie avec des consensus internationaux (50). Les dernières recommandations apparaissent dans le numéro 406 du 30 juin 2023 de l'OCDE (52) et sont complétée par la norme ISO 10993-10 (53) :

La méthodologie est la suivante :

Des chambres sont préparées. Dans toutes les chambres se trouvent des allergènes dilués dans un véhicule. Le véhicule peut être de la vaseline (le plus utilisé) mais aussi de l'eau, de l'acétone, de l'éthanol, de la méthyléthylcétone ou encore du gel aux capacités hydrophile. Il existe différents types de chambres qui doivent elles-mêmes, ne pas induire de réactions pour ne pas fausser le test. Les matériaux des chambres vont être testés avec le patch test. Il n'y a pas de consensus quant au nombre et au type d'allergène au sein des différentes réglementations (50).

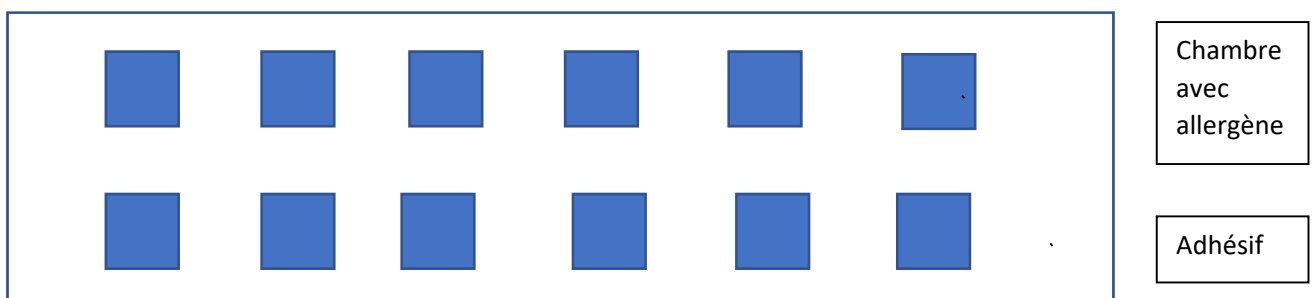


Figure 2 : Schéma d'un patch test avec les chambres

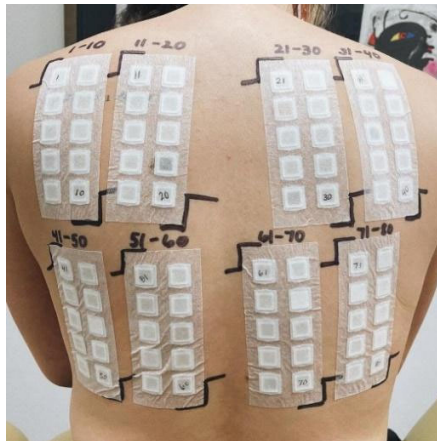


Figure 3 : Réalisation d'un patch test sur le dos d'un volontaire

Par la suite, le patch contenant les chambres avec les allergènes, est positionné dans une zone vaste et dégagée, pourvue d'un minimum de follicules pileux. Par conséquent la zone privilégiée est le haut du dos mais il n'est pas impossible de réaliser ce test en haut de la cuisse ou du bras.

L'interprétation est réalisée par un dermatologue. Les critères d'interprétation ont été standardisés afin d'avoir un test reproductible indépendant du médecin.

Les critères chronologiques :

Le patch est laissé en place pendant 48h, une première lecture est effectuée 30 minutes après le retrait puis une deuxième lecture à 72h et une troisième à 96h.

Les critères morphologiques :

Le dermatologue quantifie la positivité du test selon la cotation établie par l'International Contact Dermatitis Research Group en observant la présence ou non d'érythèmes, d'œdèmes, de vésicules simples ou coalescentes et ou de bulles.

Score	Interprétation	Lésion élémentaire
-	Négatif	Absence de réaction
+ ?	Douteux	Érythème simple
+	Réaction positive faible	Érythème + œdème
++	Réaction fortement positive	Érythème + œdème + vésicules bien visibles
+++	Réaction violemment positive	Érythème + œdème + vésicules coalescentes ou bulles
IR	Réaction d'irritation	Œdème absent, aspect fripé, papules, pustules, hypopion, pétéchies, nécrose

Tableau 4 : Score International Contact Dermatitis Research Group (ICDRG) (54)

Le dermatologue rend son rapport à l'évaluateur de la sécurité qui statue sur la conformité du produit en tenant compte de la conformité va alors dépendre de la gravité du score ainsi que du nombre de volontaires, sujets aux réactions.

En fonction de ces paramètres, soit il déclare le produit conforme et dans ce cas l'allégation « non irritant » peut-être soutenue, le produit présente une bonne tolérance, soit le produit est déclaré non conforme ; il est alors renvoyé en formulation.

L'interprétation des résultats est un exercice difficile qui peut être influencé par de nombreux facteurs. Il est donc courant de réaliser d'autres tests, appelés tests auxiliaires, afin d'affirmer ou d'infirmer la première lecture et d'éviter ainsi les faux positifs ou faux négatifs (55).

Des tests de type HRIPT ("human repeated insulted patch test") peuvent également être réalisés pour évaluer le potentiel allergisant d'un produit. Ils seront utilisés pour soutenir les allégations

« non allergisant ». Bien qu'autorisés, ces tests soulèvent une question éthique. En effet, ce type de test peut induire une sensibilisation à un produit après sa réalisation.

L'HRIPT est réalisé sur un panel de volontaires, il dure 6 semaines et se comprend en 3 phases.

La phase d'induction de 3 semaines durant laquelle 9 applications répétées du produit testé sont réalisées sur la même zone cutanée, au niveau des mêmes sites, pendant 48 heures, sous forme de patch occlusifs et pendant 3 semaines consécutives. Les éventuelles réactions cutanées sont évaluées 30 minutes après le retrait des patchs.

La phase de repos de deux semaines pendant laquelle aucune application n'est réalisée.

La phase de révélation qui consiste en l'application du produit étudié pendant 48 heures avec une interprétation à 30 minutes, 24 heures et 48 heures après le retrait des patchs.

L'interprétation est réalisée grâce au score ICDRG. Une réaction d'allergie de contact est actée lorsque le score est égal ou supérieur à ++ (23).

Il est aussi possible de réaliser des tests d'usage. Ces tests consistent à appliquer le produit dans les conditions normales d'utilisation pendant au moins 2 semaines. Un médecin spécialisé va alors observer l'effet du produit sur l'épiderme, les yeux ou les muqueuses et déterminer si l'application en condition normale d'application a eu un impact. S'il estime que ce n'est pas le cas, l'allégation « testée sous contrôle médical » peut être validée.

Pour les tests de tolérance *in vivo*, les tests de non comédogénicité permettent de soutenir l'allégation « non comédogène ». L'application de produit cosmétique peut avoir pour conséquence le développement de comédons. Certaines études ont démontré l'activité comédogène de certains ingrédients tels que l'huile de noyaux d'abricot, le laurylsulfate de sodium et bien d'autres encore (56). Il est donc pertinent de réaliser un test de non comédogénicité, notamment pour des formules comprenant ces ingrédients. L'étude est simple, après applications répétées durant 28 jours minimum sur une zone du corps, les comédons sont décomptés et comparés à une zone témoin (57).

Il est possible qu'un produit cosmétique interagisse avec le soleil et les rayons UV et déclenche des effets indésirables. Un test de phototoxicité est intéressant à réaliser pour les produits soumis

intrinsèquement aux UV après application comme les produits solaires, le maquillage et les parfums. L'Agence Nationale de Sécurité du Médicament (ANSM) anciennement l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé (AFSSAPS) donne des recommandations pour la réalisation de ce test. A noter que ce test n'est à réaliser que sur le produit fini après réalisation des tests *in vitro* OCDE n°432 et si cela est absolument nécessaire. Le protocole utilise la méthodologie de Kaidbey et Kligman. Dans un premier temps, le produit va être appliqué dans trois zones différentes sur le volontaire. Dans un second temps, deux zones vont être exposées aux UV. Une zone sera exposée aux UVA tandis que l'autre sera exposée aux UVA et aux UVB. La troisième zone ne sera pas exposée et servira de témoin. Les zones sont par la suite observées 15 minutes et 24h après l'arrêt de l'exposition aux UV. Un scoring est alors réalisé sur les zones en jugeant l'intensité de l'érythème, la pigmentation, l'apparition éventuelle de lésion. Si il n'y a pas de différence avec la zone témoin, le produit peut soutenir l'allégation « non-photosensibilisant » ou « non-phototoxique » (58).

1.4.3 Test d'efficacité

Comme vu précédemment, avec le règlement (CE) n°1223/2009 du parlement européen et du conseil du 30 novembre 2009 relatif aux produits cosmétiques, l'article 20 nous précise qu'il est interdit d'attribuer à un produit cosmétique des caractéristiques qu'il ne possède pas. Il est donc nécessaire de réaliser des tests d'efficacité afin de soutenir ces allégations. Ces preuves doivent par ailleurs être présentes dans le Dossier d'Information Produit (DIP). Cependant, cette même réglementation ne nous précise pas la manière dont doivent être réalisées ces tests. Toutefois, des directives écrites par des organismes existent pour leurs exécutions.

Ainsi, Cosmetics Europe, anciennement The European Cosmetic and Parfum Association (COLIPA) est une fédération qui représente des entreprises cosmétiques et qui a pour but de réaliser des recommandations et des procédures appelées Guideline (59). C'est cette même fédération qui publiera en mai 2008 une Guideline sur la réalisation de l'évaluation de l'efficacité des produits cosmétiques (60). Nous retrouvons dans ce document les informations qui doivent figurer dans le protocole et le rapport d'étude. C'est avec cette directive que les entreprises cosmétiques conçoivent les tests et les conclusions qui permettent de répondre aux exigences données par l'article 20 du règlement (CE) n°1223/2009 du parlement européen. Cette directive permet une

harmonisation de la structure des protocoles et des rapports d'études. Pour cette partie, nous nous focaliserons sur les protocoles.

Dans un premier temps, la guideline détaille les principales approches méthodologiques. Il existe deux types d'évaluation :

- Les évaluations *ex vivo* et *in vitro* :
 - *Ex vivo* : L'expérimentation se déroule sur un tissu vivant en entier. Il peut être extrait du vivant ou créé artificiellement. La particularité est que l'on pourra apprécier les effets du produit testé sur l'ensemble des cellules composant le tissu (61).
 - *In vitro* : Pour ce genre d'évaluation, les tests sont réalisés uniquement sur une lignée cellulaire spécifique telle que les mélanocytes ou les kératinocytes. Les cellules sont extraites de la matière biologique, ce qui permet une analyse plus fine à l'échelle de la cellule (61).
- Les évaluations sur des volontaires humains qui regroupent les tests sensoriels et les tests instrumentaux (61).

Pour ce travail, nous n'aborderons que les évaluations sur volontaires.

1.4.3.1 Les tests sensoriels

Ce sont des tests subjectifs qui se basent sur l'appréciation des produits par un panel de volontaires. Ils émettent un avis sur les caractéristiques organoleptiques des produits comme l'odeur, la texture et l'aspect visuel (62). Il existe deux types de tests sensoriels :

- L'autoévaluation.
 - Dans ce cas de figure, les produits sont testés auprès d'utilisateurs habituels de produits, qu'ils soient semblables ou non au produit testé. L'évaluation sera basée sur des critères simples d'appréciation du produit, fixés en amont et le panel recruté sera constitué de consommateurs lambda. C'est ce que l'on appelle un **test consommateur**.
 - Il est aussi possible de faire des auto-évaluations plus précises pour lesquelles le panel aura reçu une formation afin d'affiner sa sensibilité aux critères d'évaluation. Les volontaires du panel auront la capacité de scorer l'amélioration ou non de leurs peaux

grâce à des échelles. Il s'agit **des évaluations sensorielles testées par un panel expert entraîné ou auto-scoring** (60).

- L'évaluation par des professionnels experts
 - L'évaluation de la performance peut être réalisée par un médecin qui, à l'aide d'échelles, va pouvoir scorer l'efficacité d'un produit. Il existe par exemple un scoring de la ride de la patte d'oie. Une échelle de 0 à 4 est établie en fonction de la sévérité de cette ride et le médecin va scorer cette ride avant et après application du produit. Des ouvrages tels que « l'atlas du vieillissement cutané » offre une classification des rides et est utilisé dans de nombreuses spécialités médicales pour évaluer l'effet des traitements sur les rides (63). C'est ce qu'on appelle **un test d'usage sous contrôle médical**.



Pattes d'oie – dynamiques (avec expression) ³

Echelle validée
3. Carruthers A. et al. A validated Grading Scale for Crow's Feet.
Dermatol. Surg. 2008; 34(S2):167-172

Figure 4 : Exemple d'échelle de ride de la patte d'oie (64)

- D'autres professionnels comme des esthéticiennes peuvent aussi être formées aux scores, c'est ce que l'on appelle **les tests d'usage sous contrôle professionnel** (61).

1.4.3.2 Les tests instrumentaux

La peau est caractérisée par de nombreux paramètres physiques comme sa perméabilité, son hydratation, sa fermeté, sa couleur et bien d'autres. Les cosmétiques vont avoir pour rôle d'améliorer ces différents paramètres. Il existe un très large parc instrumental qui permet de mesurer les variations de ces paramètres et de juger de l'efficacité des produits. Ce type de test est réalisé dans des environnements contrôlés, mené par des techniciens formés qui vont réaliser des mesures avant et après application afin d'observer l'effet du produit sur les paramètres de la peau. Le tableau ci-dessous répertorie les principaux appareils et les paramètres qu'ils mesurent selon la plateforme SkinObs.

Appareil de mesure	Paramètre mesuré
<u>Chromamètre® CR400 (Minolta)</u>	Pouvoir démaquillant Ne tache pas les vêtements Résistance aux frottements Erythème
<u>Cornéomètre® CM825 (Courage et Khazaka)</u>	Pouvoir hydratant Pouvoir asséchant Exfoliation
<u>Tewamètre® TM300 (Courage et Khazaka)</u> <u>ou Aquaflux (Biox)</u>	Restructuration barrière cutanée Effet occlusif Vieillesse cutané
<u>VISIA 7® (Canfield) + Logiciel d'analyse d'image FrameScan® (Orion).</u>	Pouvoir matifiant Homogénéité du teint Anticernes Anti-points noirs Antitaches brunes
<u>pH-mètre® pH905 (Courage et Khazaka)</u>	Evaluation du pH Respect du pH cutané Démangeaison
<u>Sébumètre® SM810 (Courage et Khazaka)</u>	Pouvoir matifiant Pouvoir nourrissant Absence de résidus gras
<u>Cutomètre® MPA 580 (Courage et Khazaka)</u>	Evaluation de la fermeté de la peau Evaluation de l'élasticité de la peau Vieillesse de la peau

<u>Visioscan VC® (Courage et Khazaka)</u>	Taille des rides Pouvoir hydratant Restructuration barrière cutanée Exfoliation
<u>DermaTOP-HE²-M (Eotech)</u>	Vieillesse de la peau Taille des rides et des cernes
<u>Glossymeter (Courage et Khazaka)</u>	Pouvoir matifiant Brillance de la peau Anti séborrhéique Homogénéité du teint
<u>ColorFace® (Newtone Technologie)</u>	Brillance de la peau Anti séborrhéique Homogénéité du teint Vieillesse de la peau Rougeur de la peau

Tableau 5 : Les principaux appareils de mesure et les paramètres mesurés (65)

II Biais d'une étude clinique

Un biais se définit par un ensemble de facteurs susceptibles de fausser le résultat final et la conformité du produit (66). Il existe de nombreux biais qui peuvent avoir différents impacts. Ils peuvent rendre une étude concluante alors qu'elle ne le devrait pas. Un produit inefficace se retrouve alors sur le marché, trompant la confiance du consommateur et à long terme se verra disparaître du marché. Ils peuvent aussi désigner un produit comme non efficace à tort. L'industriel devra alors retravailler les caractéristiques de son produit, créant une perte financière et le consommateur sera privé d'un produit potentiellement très performant.

Dans tous les cas, les biais sont délétères pour tous les acteurs que ce soit à court, moyen ou long terme. Il est donc essentiel de les cibler afin de construire des études dépourvues au maximum de biais, jugeant les produits à leurs justes valeurs.

2.1 Biais de sélection

Il est l'un des biais les plus fréquemment retrouvé dans les études cliniques. Il intervient avant le début de l'étude, au moment de la constitution des groupes. En effet, il s'agit d'une erreur systématique qui se produit lorsque les groupes constitués pour l'étude ne sont pas représentatifs de la population étudiée. Il peut intervenir au moment de la constitution des groupes ou durant le suivi des échantillons (67).

Lors de la constitution des groupes, les volontaires sélectionnés peuvent ne pas être représentatifs de la population étudiée. Par exemple, un produit anti-âge ne peut pas être jugé sur ses propriétés intrinsèques par des peaux jeunes dépourvues de rides ou faiblement atteintes. Par conséquent, il est nécessaire de mettre en place des **critères d'inclusion**. Ils permettront de cibler une tranche d'âge et des caractéristiques de peau. En cosmétique, c'est le service marketing, en collaboration avec le service de recherche clinique, qui choisit, en fonction de la cible, les critères d'inclusion. Par exemple, les tests pour produits anti-âge incluent des volontaires, dans une tranche d'âge donnée, présentant des rides à fort grades. Les rides pourront être localisées au niveau de la patte d'oie ou du front en fonction de la zone d'application du produit. Pour des produits hydratants, seront plutôt choisis des sujets présentant une peau sèche à très sèche, avec une tranche d'âge qui varie en fonction de la cible (68).

Malgré une bonne maîtrise de ce biais, par le recrutement de personnes représentatives des utilisateurs du produit, il existe un biais difficilement gérable : le biais de volontariat (68). Les études cosmétiques se déroulent sur des volontaires sains, qui viennent de leur propre chef dans les centres d'évaluation clinique. Par conséquent, ils représentent à eux seuls un groupe, non représentatif de la population. En effet, les volontaires qui acceptent spontanément de participer à ces études n'ont pas les mêmes caractéristiques d'âge ou socio-professionnelles que les personnes qui refusent. Les études cosmétiques étant basées sur le volontariat, ce biais est particulièrement marqué et impossible à contrer.

Lorsqu'une étude nécessite la constitution de 2 groupes, ceux-ci peuvent aussi ne pas être comparables. Malgré une sélection de personnes aux caractéristiques semblables grâce aux critères d'inclusion, il est possible de faire des sous-groupes différents au sein de la sélection. Il

est donc nécessaire de réaliser une répartition aléatoire des volontaires entre les différents groupes. C'est ce que l'on appelle **la randomisation**. Ce processus de tirage au sort permet une répartition égale entre les groupes, ce qui permet de les comparer. Il est recommandé de réaliser la randomisation le plus tard possible avant le début de l'étude, afin d'éviter une non-inclusion d'un volontaire suite au non-respect d'un critère d'inclusion, rendant les deux groupes non comparables (68). Dans les études cliniques cosmétiques, il est rare de constituer deux groupes comparatifs de personnes. Le plus souvent, le volontaire a une zone témoin et une zone d'application qui seront comparées. Pour assurer une comparaison entre ces deux zones, ce sont elles qui sont randomisées.

Le biais de sélection peut aussi intervenir au cours de l'étude. Il se manifeste lorsque les deux groupes ou zones ne sont pas traités de la même façon. Le volontaire peut, inconsciemment ou non, porter plus de soin à la zone traitée et le praticien peut lui aussi, changer son comportement lors de la prise de mesure entre les différentes zones (68). Pour éviter ce biais, il est recommandé de pratiquer **le double aveugle**.

Le double aveugle est une méthode qui implique que ni le volontaire, ni le praticien, ne savent quelle zone reçoit le produit et quelle zone est témoin. Cela permet d'éviter que les participants de l'étude, qu'ils soient volontaires ou praticiens, n'interagissent avec l'étude en favorisant une des deux zones.

2.2 Biais d'information/classement

Contrairement au biais de sélection qui intervient avant le début de l'étude, le biais d'information/classement s'observe durant l'expérimentation. Ce biais intervient lorsque la mesure ou l'observation est erronée.

Ce biais se manifeste lorsque la zone contrôle est considérée avec moins d'attention et de rigueur que la zone traitée. Il s'agit du **biais de suivi**. Comme vu précédemment ce biais peut être classé comme un biais de sélection ou biais d'information, classement. Le moyen de contrer ce biais est le double aveugle.

Les personnes réalisant l'étude peuvent connaître les enjeux mais aussi les facteurs influençant positivement et négativement l'étude. Ils auront par conséquent des comportements

potentiellement différents en fonction des volontaires. C'est ce que l'on appelle le biais de **subjectivité**, de **suspicion** ou encore d'**enquêteur**. La connaissance des zones traitées et non traitées peut pousser l'évaluateur à interpréter les réponses du volontaire au questionnaire par exemple, ou encore de suggérer les réponses à celui-ci.

Dans certaines études, c'est l'avis des volontaires qui est recherché. Il est récupéré via des questionnaires sur l'efficacité du produit ou encore des auto-évaluations. Il est alors possible que les volontaires orientent leurs réponses dans le sens du produit avec l'idée de se conformer aux attentes. C'est ce qu'on appelle le **biais de déclaration**.

Pour résumer, l'ensemble de ces biais peut être limité grâce à la randomisation des groupes, le double aveugle et la standardisation des mesures afin d'être reproductible entre toutes les zones.

III Proposition de protocole

Le but principal de ce travail est de proposer des protocoles expérimentaux qui respectent les attentes réglementaires et qui limitent les biais (66). Ainsi l'objectif est de pouvoir réaliser des tests robustes, avec une forte valeur scientifique, en s'appuyant sur des méthodes classiquement utilisées dans l'évaluation clinique cosmétique. Pour cela, nous allons nous baser sur les recommandations de la guideline Cosmetics Europe intitulée « Guidelines for the evaluation of the efficacy of cosmetics products » (60) qui détaille les éléments à retrouver dans un protocole d'étude.

3.1 Construction du protocole

3.1.1 L'objectif de l'étude

La première étape dans la rédaction du protocole est de définir clairement l'objectif fixé. Pour cela, celui-ci doit contenir le maximum d'informations et être le plus détaillé possible. Il comporte notamment le but de l'évaluation ainsi que la cible, la méthode, le paramètre utilisé mais aussi des informations sur les produits. Des précisions concernant le temps, les méthodes d'application et les volontaires peuvent être ajoutées pour plus de précision.

Ainsi, l'intitulé d'un test anti-âge pourrait être :

L'évaluation de l'effet anti-âge [d'un produit cosmétique/ de l'association de plusieurs produits cosmétiques] sur [surface de mesure] par [paramètre mesuré] via [appareil de mesure] [après une application unique/ après applications répétées] durant X [jour(s)/ semaine(s)] sur des volontaires adultes [caractéristiques des volontaires].

3.1.2 Produit testé et référence produit

Ensuite doivent être indiquées les caractéristiques et la référence du ou des produits testés. Il est essentiel de retrouver les informations suivantes :

- Type de produit / galénique :
 - Galénique [crème/ lotion/ émulsion/ masque/ poudre / etc.]
 - Zone d'application [visage/ main / corps/ cheveux/ etc.]

- Quantité de produit (si utilisé)
 - quantité subjective [une noisette/ autant que nécessaire]
 - quantité quantifiable [X gouttes/ X grammes]
- Identification produit

Le ou les produits à tester doivent être correctement identifiés avec indiquées pour tous les produits, une date de fabrication et les conditions de stockage. Ces dernières doivent être conformes aux données relatives à la stabilité du produit. Une date limite d'utilisation peut éventuellement être mentionnée pour les besoins de l'essai.

A noter qu'il est impératif pour l'investigateur et / ou le promoteur de garder dans son échantillothèque un exemplaire du produit testé et la référence durant un minimum de 6 mois.

Nom du produit	
Référence/ numéro de lot	
Date de production	
Condition de stockage	
Type de produit / galénique	
Quantité à appliquer	
Emballage primaire	

Tableau 6 : Résumé des caractéristiques du produit

3.1.3 Procédure du test

La procédure définit le lieu de l'étude ainsi que le calendrier. Il n'existe pas de recommandation spécifique pour l'élaboration du calendrier ni les informations que celui-ci doit contenir.

Le calendrier propose un rapide aperçu du déroulement de l'étude, y seront donc placées les grandes étapes ainsi que leurs échéances. Le calendrier peut évoluer en fonction, notamment, du nombre d'applications et de la durée de l'étude.

	Jour 1				
Etapes	T0	T15min	TXheure	TXheure	TXheure
Vérification des critères d'inclusion					
Acclimatation					
Mesure de la PIE					
Application produit par le technicien		(1)			

(1) Après prise de mesure de la PIE

Tableau 7 : Calendrier d'une étude d'hydratation de la peau après application unique sur une journée

	Jour 1		Jour X	
Etapes	T0	T15min	T0	T15min
Vérification des critères d'inclusion				
Acclimatation				
Mesure de la PIE				
Application du produit par le technicien		(1)		
Application du produit à domicile par le volontaire				

(1) Après prise de mesure de la PIE

Tableau 8: Calendrier d'une étude d'hydratation de la peau après application répétée sur X journées

3.1.4 Gestion et traitement des données

Un chapitre concernant les méthodes de collecte des données ainsi que la gestion des données électroniques doit figurer dans le protocole. Une étude clinique génère une grande quantité de données. Elles peuvent concerner le volontaire et ses informations personnelles (âge, type de peau, phototype, etc..) ou encore être collectées durant l'étude (tests instrumentaux, questionnaires, tables d'applications, etc...). Il existe différents moyens de collectes. Ces différentes méthodes ne comportent pas de biais si elles sont correctement réalisées. L'exemple qui suit peut donc être modifié.

Les données collectées sur les différents documents d'études peuvent être de nature électronique ou de nature papiers.

- Concernant les documents papiers, ceux-ci peuvent être remplis par les volontaires ou le technicien au début ou au cours de l'étude. Ils seront par la suite scannés et imprimés. Un dossier physique sera alors constitué et archivé. Un dossier électronique sera lui aussi créé et archivé dans les disques durs.
- Concernant les documents électroniques, les valeurs sur les documents d'études feront l'objet d'une saisie simple par le technicien, puis un archivage électronique et physique. Pour les documents avec des valeurs d'études, il s'agira d'une double saisie par deux techniciens afin d'éviter les erreurs puis ils suivront la même voie d'archivage.

3.1.5 Analyse des résultats

L'objectif de l'étude est de comparer un produit d'investigation à un produit de référence par rapport à l'effet mesuré ou à l'effet du temps. L'étude va donc comparer les valeurs de la zone contrôle, de la zone placebo et de la zone traitée à différents temps en recherchant une différence entre la zone traitée et les deux autres.

Dans un premier temps, il convient de vérifier que les données sont normalement distribuées, elles doivent suivre la loi Normale (69). Nous allons réaliser un test de Shapiro-Wilk au risque de 5%. p doit être inférieur à 0.05.

Dans un deuxième temps, les différences sont analysées. On utilisera un test de Student « t » par paire pour les échantillons indépendants. Le but étant de chercher une différence, il sera réalisé un test bilatéral au risque alpha de 5%.

Deux hypothèses sont formulées.

- Hypothèse nulle H_0 : la valeur moyenne du groupe à différents temps est égale.
- Hypothèse alternative H_1 : la valeur moyenne du groupe à différents temps est différente.

Si les données ne suivent pas la loi Normale, il faudra réaliser un test non paramétrique de Wilcoxon, test bilatéral au risque 5%

- Hypothèse nulle H_0 : il n'y a pas de différence entre les valeurs.
- Hypothèse alternative H_1 : il existe une différence entre les valeurs.

Une première analyse des zones sera réalisée avant l'application du produit afin de vérifier si les zones peuvent être comparées entre elles.

$$m(T0 \text{ traitée}) - m(T0 \text{ contrôle})$$

$$m(T0 \text{ traitée}) - m(T0 \text{ placebo})$$

S'en suivra une deuxième analyse sur l'effet produit entre les deltas obtenus sur les zones

$$\Delta(Txtemps - T0)_{traitee} - \Delta(Txtemps - T0)_{contrôle}$$

$$\Delta(Txtemps - T0)_{traitee} - \Delta(Txtemps - T0)_{placebo}$$

Le logiciel utilisé pour ces calculs doit être précisé dans le protocole.

Certains tests ne donnent pas la possibilité d'avoir plus de deux zones. C'est le cas des études sur la ride de la patte d'oie. Dans ce cas, l'analyse des résultats est légèrement différente.

L'étude va comparer les valeurs de la zone placebo et de la zone traitée à différents temps afin de montrer une différence entre les deux zones

Comme pour l'analyse précédente, un test de Shapiro-Wilk au risque de 5% est réalisé.

Puis un test de Student « t » par paire pour les échantillons indépendants en bilatéral au risque alpha de 5% ou un test de Wilcoxon en bilatéral au risque 5% si les données ne suivent pas la loi Normale. Dans les deux cas, les hypothèses restent les mêmes.

- Hypothèse nulle H0 : la valeur moyenne du groupe à différents temps est égale.
- Hypothèse alternative H1 : la valeur moyenne du groupe à différents temps est différente.

La première analyse sera alors :

$$m(T0_{traitee}) - m(T0_{placebo})$$

La deuxième analyse portera sur l'effet produit entre les deltas obtenus sur les zones

$$\Delta(Txtemps - T0)_{traitee} - \Delta(Txtemps - T0)_{placebo}$$

3.1.6 Matériel et réactifs

Le protocole doit contenir une partie sur la description, la spécification et l'identification de l'équipement dont la référence commerciale. De plus, il est nécessaire d'avoir une description des conditions d'utilisation et de justifier la pertinence de la mesure par rapport à l'objectif initialement fixé au début du protocole.

3.1.7 Information spécifique

3.1.7.1 *Produit testé*

Dans le protocole doit figurer une partie sur les tests de sécurité. Ceux-ci sont réalisés en amont dans les mêmes conditions que celles fixées dans le protocole

3.1.7.2 *Volontaire ; critères d'inclusion et d'exclusion*

Les critères d'inclusion et d'exclusion doivent impérativement être déterminés avant le début de l'expérimentation et avec minutie car ils peuvent être source de biais. Ces critères vont être choisis en fonction de la cible du produit déterminée par le brief marketing, mais aussi en fonction des facteurs endogènes qui peuvent influencer les mesures (70).

3.1.7.3 *Nombre de volontaires*

Il existe différents logiciels qui permettent de calculer la taille de l'échantillon d'un essai clinique comme par exemple, XLSTAT qui est une fonctionnalité de Excel. L'utilisation de ce logiciel implique de connaître le paramètre lié au pourcentage de succès pour les deux groupes ce qui n'est pas toujours quantifiable dans les études cliniques cosmétiques (71). De nombreux sites proposent de calculer le nombre de volontaires comme EasyMedStats mais ils sont davantage utilisés pour des études médicales (72).

Le logiciel G*POWER 3.1.9.7 créé par l'université de Düsseldorf est un outil utilisable pour calculer la taille des échantillons pour les tests d'efficacité cosmétiques. Pour l'usage de ce logiciel, 6 paramètres sont à déterminer :

- Le type d'étude. Dans le cas des essais cliniques pour les produits cosmétiques, deux moyennes de différentes zones qui ne s'influencent pas doivent être comparées. De ce fait, le choix se portera sur le test de comparaison de moyenne de deux groupes indépendants.

- Un test d'équivalence est souhaité, sans savoir si la différence de l'hypothèse H1 sera positive ou négative. Un test bilatéral sera alors préféré à un test unilatéral.
- Le risque alpha. Il s'agit du risque de première espèce qui consiste à rejeter l'hypothèse H0 à tort. Le risque alpha est fixé à 5% comme les recommandations le suggèrent (73).
- La puissance : Il s'agit de la probabilité de rejeter l'absence d'effet injustement. La puissance est de 90% (73).
- L'allocation ratio N2/N1. Ce paramètre est utilisé lorsque plusieurs groupes sont retrouvés durant l'expérimentation. N1 et N2 correspondent au nombre de sujets par groupe. Étant donné que le choix s'est porté sur un nombre identique de sujets par groupe, l'allocation ratio N2/N1 sera égale à 1.
- La taille d'effet ou d de Cohen reste à déterminer. La taille de l'effet permet de quantifier la différence statistique entre deux groupes. Lorsqu'il s'agit d'une différence de moyenne c'est le d de Cohen qui est mesuré et qui correspond à la moyenne du groupe 1 moins la moyenne du groupe 2, divisé par l'écart type de la population des deux groupes :

$$d = \frac{m1 - m2}{\sigma}$$

Le logiciel, propose de choisir entre trois valeurs : 0,2 (petite) ; 0,5 (moyenne) et 0,8 (forte). En choisissant un (d=0,2), cela indique que les moyennes des groupes ont une différence de 0,2 écart-type. Pour que la différence entre deux moyennes soit considérable, le d de Cohen doit être au minimum de 0,2. Plus le d de Cohen choisi est petit, plus l'échantillon doit être conséquent pour obtenir des résultats robustes. En effet, en faisant varier le d de Cohen sur le logiciel G*POWER 3.1.9.7 le nombre de volontaire est de :

- 542 par groupe lorsque d = 0,2
- 88 par groupe lorsque d = 0,5
- 35 par groupe lorsque d = 0,8

3.1.7.4 Méthodologie

Il est nécessaire de limiter au maximum le nombre de biais dans le protocole. Les études seront randomisées en double aveugle et comparatives ; les volontaires seront leur propre zone de contrôle.

Pour les critères d'efficacité adoptés, il faudra démontrer une variation significative de l'effet souhaité entre les zones contrôle, placebo et traitée. Le protocole doit contenir des informations sur la méthode d'application des produits :

- Quantité de produit à appliquer :

La quantité de produit à appliquer est fonction de plusieurs facteurs. Dans un premier temps, de la forme galénique du produit. Les produits de maquillage ne seront pas appliqués en même quantité que les produits de soins. Dans un deuxième temps, les conditions d'application. Certains produits recommandent une application en couche fine ou en couche épaisse. Il est compliqué de faire une recommandation générale sur la quantité de produit à appliquer. Un biais existera donc entre les différents centres. Cependant, afin d'avoir des résultats comparables, il est essentiel de fixer avant le début de l'étude, une quantité à appliquer.

- Fréquence d'application :

Elle va dépendre du protocole de l'étude. Pour des revendications sur une journée, une application unique est nécessaire. Pour les revendications de longues durées, la fréquence va dépendre des conditions d'applications fixées par le fabricant, par exemple, une à deux fois par jour, ou bien quelques fois par semaine en fonction du type de produit.

- Zones d'application

Il convient de définir le nombre de zones. Lorsque cela est possible 3 zones sont à réaliser :

- La zone contrôle : il n'y aura aucune application de produit sur cette zone. Son rôle est de vérifier qu'il y a bien une différence significative avec la zone traitée afin d'attribuer l'amélioration du paramètre au produit et non à un facteur extérieur,
- La zone placebo : application d'un produit ou d'une substance qui n'a aucun effet sur la mesure. Le but ici est de garder le double aveugle,

- La zone traitée : C'est la zone qui va recevoir le produit d'investigation.

La zone contrôle est retirée lorsqu'il n'est pas possible de faire plus de 2 zones.

- Condition d'application

Les conditions d'application dépendent des recommandations fixées par le fabricant. Il est important que l'application soit effectuée par la même personne dans les mêmes conditions. C'est-à-dire avec le même doigt, suivant les mêmes mouvements et avec la même pression. Pour éviter les interactions, l'applicateur porte une protection mécanique comme un doigtier. Exception faite pour les cinétiques sur plusieurs jours, dans ce cas le volontaire s'appliquera le produit à domicile.

3.1.7.5 Chronologie de l'expérimentation et mesure

On trouve dans cette partie une représentation de la chronologie de l'expérimentation depuis l'arrivée du volontaire à sa sortie de l'étude. Ce chapitre peut prendre la forme d'un schéma, d'un tableau ou d'un texte. Il doit détailler l'ensemble des étapes de l'expérimentation de manière à ce qu'elle soit reproductible par l'ensemble des personnes qui suivent les instructions.

3.2 Test d'hydratation

3.2.1 Propriétés biophysiques de la peau et hydratation

Il s'agit d'une des catégories de test les plus réalisées dans les essais cliniques cosmétiques. Un des rôles majeurs de la peau est le maintien de l'équilibre hydrique et d'empêcher la dessiccation. Cet équilibre est essentiel car il permet de garantir les propriétés mécaniques de la peau comme son élasticité, sa flexibilité et sa résistance à la traction et la compression (74) mais aussi son apparence (75). La peau est constituée de 3 couches. La couche la plus profonde est l'hypoderme. Elle est constituée de collagènes, de protéoglycanes et majoritairement d'adipocytes. Le derme se positionne au-dessus. Il s'agit d'un tissu conjonctif qui contient des réseaux vasculaires et nerveux entourés par la matrice extracellulaire constituée de fibres élastiques, de collagènes et de substance fondamentale. Ces couches ont un rôle de soutien structurel mais aussi d'apport de nutriments et de contrôle de la température. La couche la plus superficielle est l'épiderme. Ce tissu épithélial est composé de kératinocytes, de mélanocytes, de cellules de Langerhans et de cellules de Merkel. Les kératinocytes sont les cellules les plus présentes dans l'épithélium et connaissent une migration. En effet, après la formation de la cellule dans la couche basale, le kératinocyte va migrer vers la partie la plus superficielle de l'épiderme en changeant ses propriétés biochimiques et morphologiques. Il s'aplatit alors et une enveloppe cornée apparaît tout autour lorsque le noyau et les organites cytoplasmiques disparaissent par apoptose (76). Le kératinocyte est devenu un cornéocyte et se place sur la partie la plus superficielle de la peau pour former le *stratum corneum* qui aura pour rôle la préservation de la barrière cutanée et par conséquent le contrôle de la perte hydrique.

Le *stratum corneum* est majoritairement constitué par des cornéocytes reliés entre eux par des jonctions appelées desmosomes. Le reste est constitué par une matrice lipidique composée de cholestérols, de céramides et d'acides gras libres, qui comble l'espace intercellulaire. Ces éléments interagissent entre eux et créent une barrière avec l'extérieur tout en laissant passer un flux d'eau. Ce passage de flux s'appelle Perte Insensible en Eau (PIE). Les cornéocytes sont constitués par des filaments de kératines et de la filaggrine qui, lors de la dégradation, produisent un mélange d'acides aminés et de sels dérivés d'acides aminés très soluble dans l'eau appelé facteurs naturels d'hydratation (NMF). En effet, l'accroissement de la concentration d'acides

aminés dans le cornéocytes a pour conséquence une augmentation de la pression osmotique favorisant ainsi l'entrée de l'eau dans les cellules. Il s'agit des deux principaux systèmes de régulation de l'hydratation : le maintien de l'eau dans les cornéocytes grâce aux éléments hygroscopiques et le contrôle du flux d'eau vers l'extérieur grâce à la matrice lipidique (77).

3.2.2 Méthodes et appareils de mesure

L'hydratation de la peau peut être quantifiée en mesurant la teneur d'eau présente dans le *stratum corneum* ou en mesurant la PIE.

Il est possible de mesurer la teneur en eau dans le *stratum corneum* avec des méthodes électriques. En effet, la peau possède des propriétés électriques dépendantes de la teneur en eau qui sont la capacitance, la conductance et l'impédance (78). L'impédance est la mesure de la résistance électrique de la peau. L'eau est un excellent conducteur électrique, un tissu bien hydraté aura donc une résistance faible. Par conséquent, une diminution de l'impédance est corrélée à une augmentation de l'hydratation cutanée (79). La conductance est la mesure de la facilité d'un courant électrique à traverser un matériau. Une augmentation de la conductance traduit donc une augmentation de l'hydratation cutanée (80). La capacitance est la mesure de la capacité d'un matériau à stocker l'énergie sous forme de charge électrique. Elle peut être mesurée grâce à deux électrodes produisant un champ électrique. Le *stratum corneum* possède une capacité diélectrique. L'eau ayant une constante diélectrique 10 fois supérieure aux autres substances présentes dans l'épiderme, la mesure de la capacitance de la peau nous permet de juger de l'hydratation cutanée. Plus la mesure est élevée, plus l'hydratation est importante. La variation se traduit par une unité arbitraire (u.a). Elle est aujourd'hui la technique de référence pour la mesure de l'effet hydratant d'un produit (79).

L'appareil qui permet de mesurer les altérations électriques de la peau et par conséquent son niveau d'hydratation est le Cornéomètre®. C'est un dispositif produit par Courage + Khazaka electronic destiné à mesurer les variations de la constante diélectrique de la couche cornée. Le Cornéomètre® est composé d'un générateur permettant de lire la capacitance et d'une sonde de 0,95 cm² de surface (81) composée d'une lame en verre au contact de la peau afin de canaliser le courant et d'une plaque en or qui va générer un champ électrique (82). Ce champ électrique est

généralisé grâce à deux pistes qui vont alterner un excès et un déficit d'électrons. Il va pénétrer dans l'ensemble de la couche cornée et permettre ainsi de mesurer la variation de la constante diélectrique donnant de ce fait la possibilité d'évaluer l'hydratation de la peau (83). La fréquence émise est faible (entre 45 et 75 Hz) afin d'être plus sensible aux variations de la constante diélectrique du *stratum corneum* (75).

Les deux plaques dans la sonde fonctionnent comme un condensateur. Lorsqu'elles sont alimentées, une plaque produit un excès d'électrons qui va traverser la couche cornée afin de retrouver la plaque en déficit d'électrons. La plaque de détection possède une structure de condensateur inter digité ce qui permet de capter les variations les plus infimes (84). Les milieux avec une forte constante diélectrique comme l'eau vont avoir la capacité de stocker plus d'électrons et par conséquent avoir une capacitance plus élevée que les zones plus sèches (85).

	Mesure sur les avant-bras (U .A)
Très sec	<50
Sec	50 – 60
Suffisamment hydraté	>60

Tableau 9 : Valeur de Cornéomètre® (u.a) pour des mesures d'hydratation sur l'avant-bras(82)

Il est aussi possible d'utiliser des méthodes de conductance pour mesurer l'hydratation cutanée. L'appareil Skicon200 de IBS Co permet de mesurer la facilité d'un matériau à être traversé par un courant électrique (conductance). Le principe est le même que pour le Cornéomètre®. La sonde du Skicon200 est composée de deux pistes qui produisent un champ électrique. La conductance sera alors mesurée en μS . Plus la valeur sera élevée, plus le milieu sera hydraté (86). Le temps de mesure est de seulement 1 seconde et ces mesures sont facilement reproductibles (82). De plus, la conductance permet de mesurer plus profondément l'hydratation cutanée (87). Cependant les méthodes de capacitance sont préférées car la mesure n'est pas influencée par d'éventuels produits qui auraient été appliqués ou par des électrolytes présents sur la peau.

Il est aussi possible de juger de la régulation de l'hydratation cutanée en mesurant le flux d'eau traversant la peau (88). Cette méthode très utilisée, permet de juger la capacité de la peau à empêcher la sécheresse grâce à la matrice lipidique qui régule la perméabilité. Il s'agit des tests de Perte Insensible en Eau (PIE). Ces tests permettent de soutenir l'allégation « hydratant ».

Les tests de PIE ont un fonctionnement simple ; mesurer le flux d'eau ($\text{g/m}^2\text{h}$) que le corps perd, puis appliquer un produit, et mesurer de nouveau la quantité d'eau qui s'évapore afin de voir si le produit joue un rôle sur la peau. Il existe une dizaine de méthodes pour mesurer la PIE (65). Elles se différencient par plusieurs aspects. Tout d'abord, le type de sonde. Nous en retrouvons deux :

- Les sondes à chambre fermée,
- Les sondes à chambre ouverte.

Le premier type de sonde a pour avantage de mesurer des valeurs très élevées contrairement au deuxième type de sonde. De plus, la chambre fermée permet d'éliminer les facteurs extérieurs qui peuvent interagir avec la mesure. Cependant la condition d'utilisation en chambre fermée contrairement à la chambre ouverte, n'a pas la capacité de capter les valeurs basses de PIE (89).

	Valeurs minimum PIE($\text{g/m}^2\text{h}$)	Valeurs maximum PIE($\text{g/m}^2\text{h}$)
Chambre fermée	5,1	214,1
Chambre ouverte	2,3	84,7

Tableau 10 : Comparaison des valeurs minimales et maximales des PIE d'une sonde à chambre fermée et d'une sonde à chambre ouverte.

En ce qui concerne la PIE, elle peut être analysée soit par le calcul du gradient d'évaporation grâce à deux capteurs chargés de mesurer l'humidité et la chaleur, soit par l'analyse de l'évaporation de l'eau via des dizaines de caméras. La deuxième technique donnera une analyse plus précise (90).

Toutes les méthodes, quels que soient le type de sonde ou la méthode d'analyse, ont des avantages et des inconvénients. Nous prendrons ici l'exemple du Tewamètre® (sonde à chambre ouverte) et du Vapomètre® (sonde à chambre fermée).

Le Tewamètre (91) est un dispositif produit par Courage + Khazaka electronic qui suit l'évolution de la PIE en mesurant le flux d'eau (g/m²h) qui émane de la peau afin d'évaluer la fonction barrière

Il est composé de deux parties :

- Un générateur principal doté d'un écran digital permettant de donner une valeur numérique aux mesures,
- Une sonde de forme cylindrique composée de deux parties :
 - le corps, cylindrique, permet de tenir la sonde. Il est équipé d'un interrupteur pour prendre la mesure.
 - la tête, autre cylindre creux, est positionnée perpendiculairement au premier. Cette partie posée sur la peau pour la prise de mesure, est composée de capteurs. Le principe est la mesure du gradient de pression de vapeur d'eau entre deux points distincts de la peau. Les capteurs dans le cylindre, en mesurant la température et l'humidité relative permettent de calculer la PIE (g/m²h).

$$\frac{dm}{dt} = -D \cdot A \cdot \frac{dp}{dx}$$

m : eau transportée (g)

t : temps (h)

A : surface (m²)

D : constante de diffusion (m² s⁻¹)

P : pression de la vapeur atmosphérique (mmHg)

X : distance entre la peau et le point de mesure (m)

Ce dispositif permet ainsi de calculer la PIE avant et après application d'un ou plusieurs produits cosmétiques, de suivre l'évolution de cette valeur et ainsi de constater l'effet du ou des produits sur la barrière cutanée.

Le Vapomètre® (92) est un dispositif produit par Delfin qui permet de mesurer l'évolution de la PIE afin d'évaluer la fonction barrière de la peau.

Il est composé d'un seul élément ; une sonde sans fil à chambre fermée. Il s'agit d'un cylindre composé d'un interrupteur pour prendre les mesures et d'un petit écran numérique. L'augmentation de l'humidité relative permet de calculer le taux d'évaporation ($\text{g/m}^2\text{h}$).

La mesure de l'hydratation cutanée peut aussi être réalisée avec des mesures optiques. Le principe est de mesurer les interactions entre la lumière et la matière afin d'étudier les processus moléculaires. Pour ce faire, il existe différentes méthodes comme la spectroscopie proche infrarouge et la spectroscopie Raman (78).

La spectroscopie proche infrarouge se base sur le principe d'analyse des bandes d'absorption du proche infrarouge de la peau car celles-ci sont liées à la teneur en eau dans l'épiderme. La lumière utilisée couvre des longueurs d'onde allant de 800 nm à 2500 nm et permet de mesurer l'oxygénation des tissus. La mesure par spectroscopie proche infrarouge permet d'obtenir un spectre de réflectance qui met en lumière des bandes d'absorption. Les spectres infrarouges peuvent avoir plusieurs aspects en fonction des paramètres utilisés. Pour les études sur la peau, la réflectance sera privilégiée à la transmittance car il est plus facile de capter la lumière réfléchie que transmise (93). Les bandes d'absorption, dans un spectre de réflectance, caractéristiques de l'eau se situent à 1920 nm et 1450 nm. L'intensité de ces bandes permet de calculer la teneur en eau. Une onde électromagnétique va venir transférer son énergie à la molécule ce qui va augmenter son amplitude de vibration. En mesurant la diminution de l'intensité d'absorption, il est possible de caractériser et quantifier les composants de l'épiderme (78).

Cette méthode a pour avantage d'être plus pénétrante et de donner des informations sur l'hydratation en profondeur. L'inconvénient est que l'analyse des données est plus difficile car la pénétration plus importante rend les bandes d'absorption mesurées plus complexes. De plus, cette méthode détecte les spectres de tous les composés de la peau qui peuvent influencer l'intensité des pics de l'eau (78).

La spectroscopie Raman utilise le principe de spectroscopie vibrationnelle par diffusion inélastique des photons légers pour mesurer l'hydratation cutanée. L'épiderme est stimulé par

laser. En réponse à cette interaction, la matière émet des radiations dont la diffusion Raman. Les photons incidents gagnent de l'énergie au contact de la matière et émettent des radiations, sous forme de nouveaux photons, causées par le changement de niveau d'énergie (94). En observant ces changements d'énergie, il est possible de construire un spectre Raman qui renseigne sur la composition de l'épiderme et quantifie la teneur en eau (75).

Cette méthode donne une analyse de la composition moléculaire et par conséquent la concentration en eau. L'appareil Gen2 de RiverD permet de réaliser cette méthode. Il est composé d'une source laser de 660 nm et de 12 mW de puissance, d'une fibre optique permettant de diriger le laser sur la peau, d'un spectromètre de Raman et d'un détecteur Charged Couple Device (CCD) (78). L'avantage de cette méthode est de permettre une mesure quantitative plus fine de la concentration en eau contrairement aux méthodes électriques. De plus, elle permet de mesurer des concentrations d'autres composants de la peau comme les NMF et de donner une représentation en trois dimensions de la répartition des composants de la peau. L'inconvénient est la complexité des mesures et le coût beaucoup plus important des appareils (75).

3.2.3 Influence des facteurs

3.2.3.1 *Influence des facteurs environnementaux*

L'influence des facteurs environnementaux sur les prises de mesure de PIE et d'hydratation a été très documentée et a permis de faire des recommandations pour ces mesures. L'hydratation de la peau est fortement influencée par les paramètres de température et d'humidité. L'augmentation de ces deux paramètres va avoir pour conséquence une augmentation de l'hydratation et de la PIE. Dans des environnements à fort taux d'humidité, la peau va capter l'humidité et augmenter son hydratation. Cette humidité va aussi réduire les échanges hydriques entre la peau et l'extérieur (95). Les recommandations préconisent donc de réaliser les tests dans des conditions semblables à l'environnement d'utilisation du produit. Il est recommandé de réaliser les mesures à une température de 20 à 22 °C et avec une humidité relative comprise entre 40 et 60% (70) (82). De plus, une exposition prolongée au soleil modifie l'hydratation cutanée. En effet, les rayonnements UVB induisent des modifications dans le rôle de barrière hydrique de la peau induisant une diminution de l'hydratation cutanée (96). Il est également recommandé de

ne pas réaliser les mesures d'hydratation directement sous une source de lumière artificielle car les rayons diffusent de la chaleur et peuvent induire une diminution de l'hydratation (82).

Par ailleurs, la consommation de certains produits induit un changement d'hydratation (97). C'est le cas du tabac, qu'il soit consommé ou présent dans l'environnement. Cette substance a pour conséquence une diminution significative de l'hydratation et une augmentation significative de la PIE (98). De même, l'ingestion d'alcool ou de produits épicés a pour conséquence une augmentation de la température corporelle et par conséquent une diminution de l'hydratation et une augmentation de la PIE.

D'autres produits de consommation ont aussi un impact sur l'évaluation de l'hydratation cutanée. L'exposition de la peau à des produits de nettoyage, des produits de soin ou même simplement à l'eau a une influence sur l'hydratation cutanée. Un simple lavage de la peau entraîne une augmentation de la PIE et une diminution de l'hydratation (99).

Les produits cosmétiques, de types nettoyants à base de tensioactifs anioniques, de savons antimicrobiens, sont responsables d'une diminution de la teneur en eau dans le *stratum corneum* en endommageant la matrice lipidique et en fragilisant la barrière cutanée(79)(101).

A contrario, les crèmes, savons hydratants et laits influencent positivement les valeurs d'hydratation (101).

Il faut donc déterminer une période de « wash-out » pour un certain nombre de produits cosmétiques qui consiste en l'arrêt total de leur utilisation ; cela évite que la rémanence de ces produits influence les mesures. De plus, un simple rinçage à l'eau le jour même est lui aussi prohibé car il engendre une modification de l'hydratation en cas de nettoyage prolongé (102). L'utilisation d'un autre produit est à proscrire pendant une semaine au moins avant le début de l'expérimentation afin que ses effets éventuels se soient dissipés (103).

Pour les mesures, il est important de seulement poser les sondes sur la peau sans appliquer de pression. Il a été prouvé qu'une pression plus importante donne des résultats d'hydratation plus importants (104).

3.2.3.2 Influence des paramètres individuels

- Transpiration

Une sudation, même modérée, peut augmenter les paramètres d'hydratation de la peau. Elle peut être d'origine émotionnelle, physique ou une réponse à des mécanismes thermiques. La maîtrise de ce facteur se fait en instituant une période d'acclimatation dans un environnement contrôlé où la température est comprise entre 20 et 22° C et avec une humidité relative entre 40 et 60%. De plus, il est recommandé un temps d'acclimatation d'au moins 20 minutes pour une élimination de la transpiration (105).

- Âge et localisation anatomique

La tranche d'âge est déterminée en fonction de la cible choisie pour le produit. Pour les tests concernant les adultes, on rappelle que les volontaires sont majeurs. En prenant en compte le fait que l'hydratation de la peau diminue au fil du temps (106), il est préférable de choisir des volontaires dans la même tranche d'âge. En effet, le vieillissement cutané entraîne une diminution des lipides et de l'acide hyaluronique cutané provoquant ainsi une baisse de la fonction barrière et de la capacité de rétention de l'eau. L'âge est aussi à l'origine d'une diminution de l'élastine et du collagène responsable elle aussi d'une diminution de l'hydratation cutanée (107). Si l'on considère le corps dans sa globalité, l'hydratation cutanée diminue avec l'âge. Cependant, selon la région anatomique, l'hydratation cutanée ne suit pas forcément une variation linéaire. Par exemple, l'hydratation des avant-bras et du front augmente de 20 à 40 ans, puis diminue dans le temps. L'hydratation du menton, quant à elle, croît tout au long de la vie (108).

Âge	Valeur hydratation cutanée (u.a) sur les avant-bras	Valeur hydratation cutanée (u.a) sur le front	Valeur hydratation cutanée (u.a) sur la joue	Valeur hydratation cutanée (u.a) sur menton
20 - 29 ans	31	40	45	43
30 - 39 ans	34	44	42	43,5
40 - 49 ans	33	42	41	43,5
50 - 64 ans	30	40	40	44

Tableau 11 : Influence de l'âge sur l'hydratation cutanée au niveau des avant-bras, du front, de la joue et du menton

(108)

- Genre

Le genre n'a aucune influence sur l'hydratation cutanée (109), le choix dépendra donc de la cible choisie pour le produit (110).

- Ethnie

Il n'existe pas de différence entre les peaux des différentes ethnies, le choix sera donc orienté en fonction de la cible choisie. Cependant, le phototype a une influence sur la capacité de régénération de la peau. En effet, après une altération de la fonction barrière de la peau par stripping qui engendre une augmentation de la PIE, les peaux pigmentées mettaient significativement moins de temps à retrouver la PIE initiale. Les peaux pigmentées récupèrent plus rapidement leur fonction barrière qui empêche le flux d'eau de s'échapper de l'épiderme. Il est donc nécessaire de préciser les phototypes demandés (111).

- Type de peau

Il est important que l'ensemble des volontaires aient le même type de peau afin qu'ils puissent être comparés entre eux. Il est donc déconseillé de proposer un test avec tout type de peau mais de choisir un type en fonction de la cible (111).

- Santé de la peau

Les volontaires présentant une dermatite atopique ne peuvent pas participer aux études d'hydratation. Cette pathologie de la peau diminue les valeurs d'hydratation ce qui biaise les résultats (112). Les volontaires avec des lésions cutanées sur le bras ne pourront pas non plus participer aux études pour la même raison.

- Ménopause

La ménopause peut induire des bouffées de chaleurs qui auront pour effet une augmentation de la température de la peau et par conséquent une augmentation des mesures de PIE et des valeurs d'hydratation (82). De plus, lors de la ménopause, la production d'œstrogène par les ovaires s'arrête. Il ne reste plus que le tissu adipeux comme source de production mais en très faible quantité. Cela aura pour conséquence une diminution de l'hydratation cutanée. En effet, les œstrogènes stimulent la production des glycosaminoglycanes qui influencent positivement l'hydratation cutanée (94).

- Grossesse

Les femmes enceintes font partie d'un groupe à risque. En effet, il existe des risques sur la santé du fœtus et de l'embryon lorsque la femme enceinte est exposée à des produits. Depuis 1984, le Comité Consultatif National d'Éthique de France légitime les études sur femmes enceintes uniquement pour les actions thérapeutiques qui favorisent le développement du fœtus. Il faut donc les exclure des études (113).

- Allergie à un produit cosmétique

Afin d'éviter un effet indésirable qui aurait pour conséquence une sortie d'étude, les volontaires en ayant déjà présenté ou ayant des antécédents d'allergie à un produit cosmétique, ne sont pas autorisés à participer à l'étude.

- Les produits cosmétiques

Comme vu précédemment, certains produits cosmétiques influent sur l'hydratation de la peau. Il est donc pertinent d'interdire leur utilisation sur la zone expérimentale durant l'ensemble de la l'expérimentation. Les produits interdits seront les produits mentionnés lors du wash-out. De plus, sont rajoutés à cette liste, l'ensemble des produits cosmétiques contenant des actifs hydratants pour la peau, les exfoliants, les soins, les protections solaires. Le volontaire pourra uniquement s'appliquer des produits de nettoyage neutres sur la zone expérimentale, rincés à l'eau (114).

- Tabac

Comme évoqué précédemment, la consommation active de tabac a un impact sur les résultats avec une augmentation de la valeur de PIE et une diminution de l'hydratation ; il est donc totalement proscrit de consommer du tabac durant l'ensemble du test (98).

- Médicaments

Ne doivent être pris les médicaments qui peuvent modifier la température de la peau et modifier les valeurs d'hydratation comme les vaccins, qui vont créer une réaction immunitaire et augmenter la température ou le paracétamol et les anti-inflammatoires non stéroïdiens qui sont antipyrétiques.

3.2.4 Conditions de mesures

Le nombre de zones est à définir. Il est nécessaire d'avoir au minimum 3 zones :

- La zone contrôle : il n'y aura aucune application de produit sur cette zone. Son rôle est de vérifier qu'il y a bien une différence significative avec la zone traitée afin d'attribuer l'amélioration du paramètre au produit et non à un facteur extérieur,
- La zone placebo : application d'un produit ou d'une substance qui n'a aucun effet sur la mesure. Le but ici est de garder le principe de double aveugle,
- La zone traitée : C'est la zone qui va recevoir le produit d'investigation.

Les recommandations préconisent de déterminer les zones au niveau des avant-bras. C'est un endroit du corps facile d'accès pour le technicien et le volontaire, et assez étendu pour y placer 3 zones. De plus, les valeurs n'y sont pas trop élevées contrairement au front ou aux joues. En effet, les mesures provenant du cornéomètre prises au niveau du visage ont des valeurs comprises entre 40 et 45 u.a alors que les valeurs au niveau des avant-bras sont comprises entre 31 et 35 u.a (108).

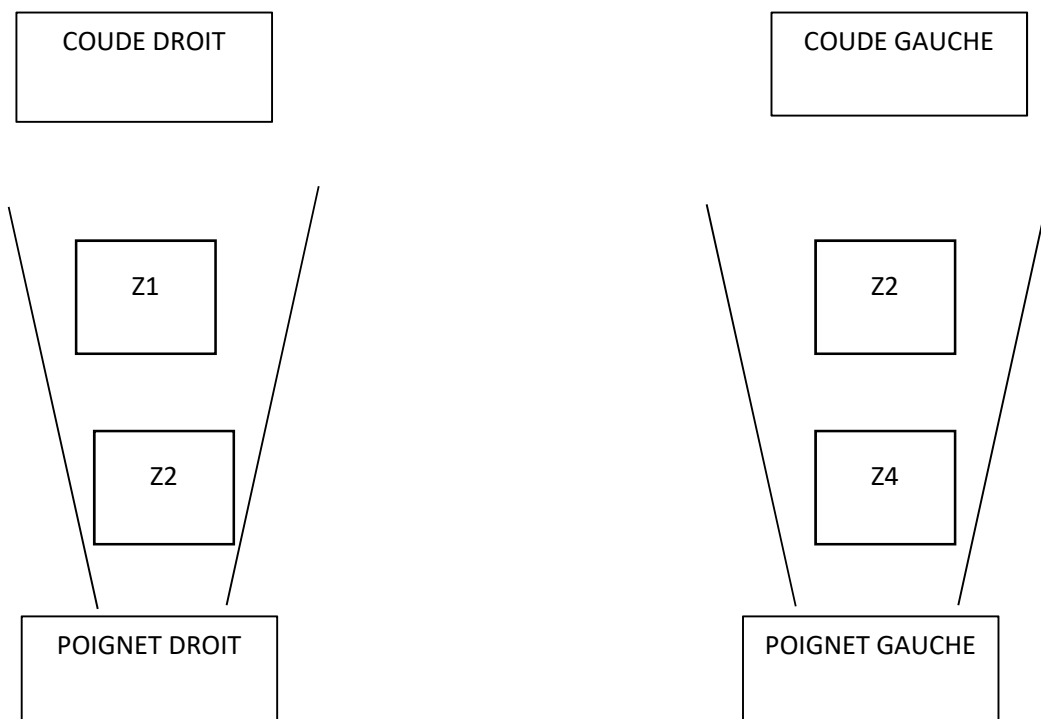


Figure 5 : Zones d'application sur les avant bras

Lors de la randomisation, la zone contrôle, la zone placebo et la zone traitée seront attribuées aux zones Z1, Z2, Z3 et Z4 afin de limiter le biais de sélection. Une de ces quatre zones ne sera pas utilisée durant l'expérimentation. Il n'existe pas de recommandation sur la taille des zones. Il est cependant nécessaire de la préciser dans le protocole. Pour éviter que le produit ne migre sur une autre zone, il est préférable d'éloigner au maximum deux zones sur le même avant-bras. De plus, il faut s'éloigner le plus possible du poignet et de la fosse cubitale car la déshydratation y est statistiquement plus élevée par rapport au reste de l'avant-bras (70). Il existe une différence statistique entre les deux avant-bras. En effet, l'hydratation sur l'avant-bras dominant est inférieure à celle de l'avant-bras dominé, du fait d'une activité plus importante. La randomisation est donc nécessaire pour limiter les biais (115).

Pour l'utilisation du Cornéomètre®, il est recommandé de poser perpendiculairement la sonde sur la peau et d'exercer une légère pression. Les mesures sont à réaliser sur des zones sans poils car ceux-ci peuvent interférer. Elles doivent être espacées de 5 secondes 3 fois. Une moyenne des 3 mesures de capacitance est alors faite(116).

L'utilisation du Tewamètre® et du Vapomètre® est identique à la seule différence que la sonde doit simplement être posée sur la peau puisqu'une pression même légère augmenterait les valeurs de PIE (117).

Pour résumé, la chronologie de l'expérimentation des études d'hydratation et de PIE sera la suivante :

Etape 1 : Vérification des critères d'inclusion et de non-inclusion ainsi que le consentement.

Etape 2 : Acclimatation d'une durée d'au moins 20 minutes dans une pièce dans laquelle la température est comprise entre 20 et 22°C et l'humidité entre 40 et 60 % (118) (82). Bien s'assurer que les parties des avant-bras soient découvertes durant la période d'acclimatation (112).

Allumer l'appareil 15 à 30 minutes avant le début des mesures (durant l'acclimatation) (70).

Etape 3 : Placement des avant-bras sur la table d'examen, les paumes dirigées vers le plafond. Le volontaire devra garder cette position tout au long des mesures sans bouger (70).

Etape 4 : Une première personne détermine 4 zones avec un pochoir en fonction de la surface préalablement déterminée. Il faut préciser à côté de chaque zone s'il s'agit de la Z1, Z2, Z3 ou Z4.

Etape 5 : Une deuxième personne prend les mesures sur les 3 zones.

Etape 6 : La première personne vient appliquer le placebo et le produit d'investigation en fonction de la randomisation. La quantité dépend des tests réalisés en amont. La randomisation est réalisée après l'inclusion du volontaire. L'application se fait avec le doigt équipé d'un doigtier. Elle doit être homogène sur l'ensemble de la zone préalablement délimitée. Cette même personne barre la zone qui n'est pas utilisée

Etape 7 : La deuxième personne qui ne connaît pas l'emplacement du placebo, du produit et de la zone contrôle vient prendre les mesures 30 minutes après l'application (116).

La prise de mesure est très sensible, le volontaire doit donc ne pas parler durant l'expérimentation et ne pas regarder les zones lors de la prise de mesure afin d'éviter un accès de transpiration généré par des émotions qui ferait varier les mesures (118).

Il est nécessaire de faire 3 mesures à 5 secondes d'intervalle. Une moyenne sera alors faite entre ces mesures (70).

Les étapes suivantes dépendent du design de l'étude. Il est possible de faire d'autres mesures la même journée ou d'autres jours. Pour les tests durant 1 journée, les mesures sont à réaliser à 4 et 6 heures. Lorsque l'on souhaite revendiquer un effet hydratant sur plusieurs jours, il est recommandé de réaliser un test d'hydratation par applications répétées. Les volontaires s'appliquent le produit durant 4 semaines puis l'hydratation est testée 8 à 12 heures après la dernière application.

Dans tous les cas, les volontaires devront respecter les mêmes conditions d'acclimatation avant chaque mesure et positionner leurs avant-bras aux mêmes endroits (82). C'est pourquoi des marques sont installées sur la table pour un repositionnement à l'identique.

3.2.5 Conclusion

Il est aujourd'hui possible de mesurer l'hydratation de la peau par de nombreuses méthodes. La méthode de référence utilise le cornéomètre en mesurant les propriétés électriques de la peau. La méthode repose sur le fait que plus l'épiderme est hydraté, plus la capacitance, c'est-à-dire la capacité de stocker de l'énergie, est élevée. Cette méthode se démarque des mesures de l'hydratation par conductance qui peuvent être parasitées par d'autres éléments présents dans et sur l'épiderme.

Il est aussi envisageable d'observer la PIE cutanée qui reflète la perméabilité de l'épiderme. Des mesures plus faibles de PIE montrent que la peau est capable de garder son eau et par conséquent d'être mieux hydratée. Pour cela, des appareils comme le Tewamètre® et le Vapomètre® sont utilisés. L'hydratation peut aussi être mesurée grâce à des méthodes optiques comme la spectroscopie proche infrarouge ou spectroscopie de Raman. Ces techniques utilisent des principes physiques bien plus poussés et ont l'avantage de donner des indications plus précises comme la cartographie de l'hydratation ou la quantification des facteurs de l'hydratation. Cependant elles sont plus chères et moins pratiques à utiliser que les méthodes électriques et de PIE. Malgré une persistance des méthodes de référence, les méthodes continuent d'évoluer. Les études multimodales se multiplient en proposant des mesures de plusieurs facteurs comme l'impédance électrique couplée avec la capacitance, la conductance et la température cutanée. Cela permet d'avoir plus de données et par conséquent des résultats plus précis.

3.3 Test anti-âge

3.3.1 Vieillessement cutané

Le vieillissement cutané est un phénomène naturel qui commence dès l'âge de 25 ans. Il se caractérise par une altération des fonctions de la peau (119). Les causes sont multifactorielles ; elles peuvent être dues à l'environnement comme l'exposition aux rayons UV, le tabac, la pollution, une consommation excessive d'alcool, une carence alimentaire induite par une alimentation déséquilibrée (120) ou à des processus internes comme des carences hormonales, le stress, facteur génétique, le manque de sommeil (121).

D'un point de vue cellulaire, plus l'âge avance, moins les cellules ont la capacité de proliférer. Elles perdent la capacité à répondre aux signaux mitotiques et restent bloquées dans l'interphase. Cela a pour conséquence un non-renouvellement des cellules de l'épiderme. De plus, la signalisation cellulaire avec la tyrosine kinase et les facteurs de croissance GH et IGF-1 diminuent dans le temps ce qui engendre une accélération de l'apoptose. Pour finir, les systèmes de réparation et de protection des cellules diminuent avec l'âge. Les cellules se protègent des radicaux libres, responsables de lésions cellulaires grâce à des mécanismes antioxydants (94). Leur diminution instaure un stress oxydant qui détériore les cellules puis finit par les détruire par apoptose. Par exemple, les radicaux libres vont dépolymériser le collagène, l'élastine et l'acide hyaluronique présents dans les cellules cutanées, ce qui accélèrera leur destruction par apoptose (122). Le vieillissement cellulaire se traduit donc par une diminution de la prolifération de nouvelles cellules et une accélération de leur destruction par apoptose et détérioration de leurs systèmes de défense.

Le derme est composé de différentes couches et de différents éléments. Le derme papillaire est la couche la plus superficielle au contact de la jonction dermo-épidermique. Elle est composée de terminaisons nerveuses, de réseaux microvasculaires. L'épaisseur de base est de 400 µm mais il peut perdre jusqu'à 100 µm au cours de la vie (123). La matrice extracellulaire est composée de fibres de collagène, de fibres élastiques et de fibroblastes dont le rôle est de remodeler les composants matriciels par synthèse et dégradation. La matrice extra fibrillaire est composée de protéoglycanes et glycosaminoglycanes, d'eau et d'acide hyaluronique. C'est ce que l'on appelle

la substance fondamentale (124). La couche inférieure est le derme réticulaire. Il possède lui aussi une matrice extracellulaire mais avec une organisation des fibres de collagène plus ordonnée. C'est le derme qui va permettre à la peau d'être souple, ferme et de reprendre sa forme initiale lors d'une contrainte. Avec le temps, le nombre de fibroblastes diminue, créant une augmentation de la dégradation par rapport à la synthèse. Cette diminution est due à l'absence de télomérase dans les fibroblastes. Plus les divisions cellulaires avancent, plus les extrémités des chromosomes appelées télomères diminuent. L'enzyme télomérase allonge et stabilise les extrémités. Or, les fibroblastes sont dépourvus de cette enzyme ce qui engendre un décroissement permanent de la taille des chromosomes jusqu'à atteindre une taille critique qui va stopper la prolifération cellulaire (94). La perte du nombre de fibroblastes entraîne donc une baisse de la synthèse des composants matriciels qui participent au vieillissement cutané.

La dégradation excessive des fibres de collagène entraîne une perte de la souplesse et de la fermeté de la peau. C'est à partir de ce processus que les rides apparaissent (125). Le collagène est la protéine la plus présente dans la peau. Elle contient des collagènes de type I, III et V qui forment un réseau tridimensionnel. La proportion des fibrilles de collagène n'est pas la même dans tout le derme. Dans la partie papillaire, les fibrilles sont fines, de type I, III et organisées perpendiculairement à la jonction dermo-épidermique. La partie réticulaire possède de grosses fibres de collagène orientées parallèlement à la jonction et avec une proportion de type III plus faible. Le collagène a une structure en triple hélice qui lui permet d'avoir un pouvoir hygroscopique important et de jouer un rôle dans l'hydratation cutanée. En effet, c'est notamment grâce au collagène que l'eau va rester dans la matrice extra fibrillaire et garantir une peau lisse, ferme et forte. A noter que l'acide hyaluronique possède lui aussi la capacité de retenir l'eau et participe donc à l'hydratation cutanée (124). La perte du nombre de fibroblastes entraîne donc une baisse de l'hydratation cutanée qui participe au vieillissement cutané

Le vieillissement cutané se traduit également par une modification de la pigmentation de la peau qui s'accompagne de modifications plus profondes au niveau musculaire, graisseux et matriciel. Ce changement de couleur est aggravé par l'environnement comme les rayonnements UV mais apparaît aussi sur des zones non exposées (126). C'est le rôle des mélanocytes de pigmenter la peau. Cette cellule se situe dans la couche basale de l'épiderme et produit de la mélanine

responsable de la pigmentation de la peau. Structurellement, le mélanocyte est constitué d'un corps cellulaire et de dendrites au contact des kératinocytes. La mélanine est produite dans le corps cellulaire puis stockée dans des vésicules appelées mélanosomes et transportée vers les kératinocytes afin de les pigmenter (127). Les kératinocytes sont, avec les fibroblastes, les cellules cutanées les plus touchées par la sénescence. Cette sénescence entraîne une diminution du nombre de mélanocytes ; il en résulte une peau d'aspect plus pâle. Mais lorsque la sénescence est induite par les UV , la taille de la cellule augmente ainsi que la production de mélanine ce qui produit des taches brunes (128).

On estime qu'en 2050, il y aura environ 2 milliards de personnes âgées de plus de 60 ans sur la Terre (129). Il est donc important pour l'industrie cosmétique de développer ces produits anti-âge afin de répondre à une demande qui sera grandissante.

3.3.2 Méthodes et appareils de mesures

Il existe de nombreuses méthodes et appareils pour tester les produits anti-âge. D'après la plateforme Skinobs il existe plus d'une centaine de tests et d'appareils de mesure pour soutenir l'allégation « Anti-âge » (130). La compréhension du vieillissement cutané nous permet de construire des méthodes pour juger de l'effet anti-âge d'un produit.

L'analyse topographique ou l'analyse du relief de la peau. Pour rappel, le vieillissement cutané a pour conséquence une dégradation excessive de la matrice extracellulaire du derme entraînant une diminution de la souplesse et de la fermeté. Cela engendre comme conséquence une déformation de la structure de la peau et l'apparition de rides.

Les premières techniques utilisées sont des méthodes profilométriques ou d'analyse d'image sur des empreintes de rides en silicone. De nos jours, il est possible d'analyser directement la surface de la peau en s'affranchissant des empreintes. Cela a pour avantage de gagner du temps et de garder plus de volontaires car la prise d'empreinte est souvent polluée par des imperfections (131).

De nombreux appareils comme le DermaTOP (Eotech) ou AEVA-HE (Eotech) utilisent la projection de franges pour étudier la profondeur des rides (132). Cette technique se base sur l'ombre de Moiré. Un réseau de traits est positionné entre un objet et une source lumineuse ce qui va projeter l'ombre des traits sur l'objet. La superposition des traits et de leur ombre va donner un phénomène d'interférence visuel créant des motifs d'ombre et de lumière qui semblent onduler lorsque l'on change d'angle de vue (133). Ici, c'est la peau qui sera l'objet. Une caméra va capter les ombres sous différents angles et pouvoir reconstituer un profil en 3 dimensions pour évaluer les caractéristiques des rides (134). Il s'agit d'une méthode ancienne et encore utilisée mais qui peut être limitée par la brillance de la peau, la performance du logiciel de traitement des images ou encore par la reproductibilité en raison de la difficulté d'obtenir un repositionnement identique entre deux mesures (132).

Il est dorénavant possible d'étudier la topographie des rides en s'affranchissant de la source lumineuse et du réseau de traits. Une caméra UVA haute définition suffit pour décrypter la surface de la peau et notamment la profondeur des rides. Cela permet de suivre l'évolution de la topographie de la peau après application de produit. Cette méthode d'évaluation s'appelle Surface Evaluation of the Living skin (SELS). Elle a été développée par l'Institut de dermatologie expérimentale et le professeur Tronnier à Witten en Allemagne en 1999. En plus d'une simplification de la méthode qui regroupe la source lumineuse et la caméra et supprime le réseau de traits, le SELS présente comme avantage une meilleure reproductibilité car l'appareil est directement positionné sur la peau. En effet, pour les systèmes avec projection de franges, le volontaire se situe à une certaine distance de la caméra et de la source lumineuse. Une légère modification dans le positionnement engendre des variabilités au niveau des mesures (135).

Elle calcule 4 paramètres (136) :

- La douceur de la peau (Se_{sm}) : Ce paramètre est calculé en fonction de la profondeur et de la largeur des rides ;
- Les rides (Se_w) : Déterminées en fonction des proportions des rides horizontales et verticales ;
- La rugosité (Se_r) : L'appareil va analyser le nombre de pixel gris avant et après l'application. Une augmentation des pixels gris signifie que les squames qui apparaissent en blanc ont disparu. La peau est donc moins rugueuse ;
- Les squames (Se_{sc}) : Les pixels blancs vont être analysés. Une diminution de ces pixels signifie moins de squames sur la peau.

Ce sont les 2 premiers paramètres qui vont nous intéresser (Se_{sm} et Se_w). Une diminution significative de ces paramètres est souhaitée pour prouver un effet anti-âge. Les paramètres de rugosité (Se_r) et de squames (Se_{sc}) ne sont pas utilisés pour mesurer le vieillissement cutané. Ils permettent de mesurer la topographie des squames sur la surface de la peau. Ces paramètres sont rattachés à la sécheresse de la surface de la peau.

L'appareil de mesure Visioscan® VC 20 + produit par Courage + Khazaka electronic permet de mesurer la topographie de la peau mais aussi d'autres paramètres comme l'hydratation.

Il est composé de deux parties :

- Un générateur principal relié à un ordinateur pour obtenir un aperçu des images et les mesures,
- Une caméra vidéo UVA haute résolution d'une quinzaine de centimètres équipée d'un interrupteur. Elle est positionnée directement à la perpendiculaire de la peau pour prendre les mesures.

La caméra dispose à ses côtés de deux sources de lumière qui produisent des ultraviolets A avec un pic d'émission à 365nm. La caméra reçoit la lumière émise et réfléchi sur une zone de 6 x 8mm (81) (137). Les UVA produits peuvent être directement réfléchis par la surface de la peau et captés par la caméra. Lorsque la peau est sèche, les UVA rendent les cornéocytes de la couche cornée fluorescents, produisant ainsi de la lumière qui sera reçue par la caméra. Ils peuvent également diffuser plus profondément dans l'épiderme et interagir avec le collagène réticulé en le rendant fluorescent. La fluorescence émise sera elle aussi captée par la caméra. La combinaison de lumière réfléchi et de fluorescence permet de donner une image en noir et blanc de la peau qui sera par la suite analysée permettant d'évaluer les 4 paramètres : la douceur de la peau (Sesm), les rides (Sew), la rugosité (Ser), les squames (Sesc) (136) (137). Les rides apparaîtront sur l'image en gris. Plus le gris sera foncé, plus elles seront prononcées. Le logiciel Visioscan® pourra analyser les gris de l'image et déterminer la profondeur et la largeur des rides (Sesm) ainsi que les proportions (Sew) (139).

Ce dispositif permet ainsi d'observer l'évolution des rides avant et après application d'un ou plusieurs produits cosmétiques afin de constater l'effet du ou des produits.

Le Visioscan® a de nombreux avantages. C'est un appareil avec une caméra extrêmement performante en comparaison des caméras conventionnelles. Le dispositif est petit et très facile à utiliser. Les deux sources de lumière permettent un éclairage homogène avec très peu d'interférences. De plus, contrairement à la projection de franges, les résultats sont donnés immédiatement (140).

Il est aussi possible d'évaluer la quantité de collagène pour prouver un effet anti-âge. Comme vu précédemment, la diminution du taux de collagène est directement corrélée au vieillissement

cutané par diminution de l'hydratation et de la fermeté. Il existe des méthodes non invasives qui permettent de mesurer avec précision la concentration de collagène dermique. Nous pouvons citer le SIAscope® de Medx health (141). Cet appareil a l'avantage de pouvoir mesurer la concentration de mélanine qui est elle aussi un marqueur cutané du vieillissement. Le principe est l'analyse spectrophotométrique inter cutanée. Une lumière allant de 400 à 1000 nm est émise. Elle sera soit absorbée par la mélanine, soit diffusée par le collagène ou réfléchi par les autres tissus. Cet appareil est constitué d'une sonde reliée à un ordinateur. La sonde doit être directement positionnée sur la peau. Elle est composée de diodes électroluminescentes qui produisent de la lumière et de capteurs qui vont capturer la lumière réfléchi. Cette lumière sera alors interprétée par l'ordinateur pour donner une cartographie qui permettra de calculer les concentrations de collagène et de mélanine (142).

Comme évoqué précédemment, la sénescence des fibroblastes entraîne une diminution du taux de collagène dermique. Cela entraîne une diminution de l'hydratation cutanée mais aussi une baisse de la fermeté. De plus, la sénescence des mélanocytes a pour conséquence une hypertrophie lorsqu'elle est induite ou une diminution si elle est intrinsèque. Dans le premier cas elle donnera des taches brunes ou un palissement de la couleur dans le deuxième.

Tous ces paramètres peuvent être mesurés afin de juger du vieillissement cutané mais ne sont pas spécifiques à cette problématique. C'est pourquoi de nombreuses études adoptent l'ensemble de ces méthodologies pour prouver l'effet anti-âge d'un produit (143) (144).

3.3.3 Influence des facteurs

3.3.3.1 *Influence des facteurs environnementaux*

- Produits de consommation

La consommation de certains produits comme le tabac accélère l'apparition des rides (145). Le tabac et la fumée augmentent la synthèse de métalloprotéinases matricielles qui augmentent la dégradation de collagène accentuant l'apparition des rides. Les fumeurs actifs et passifs sont donc exclus de cette étude (146).

Les produits topiques à base d'hormones telles que les œstrogènes et la progestérone sont prohibés car ils diminuent la taille des rides (147) (148). S'ajoute à cette liste, l'ensemble des produits cosmétiques contenant des actifs anti-âge pour la peau, les exfoliants, les soins, la protection solaire, le maquillage.

Afin d'apprécier l'effet anti-âge du produit d'investigation, il est interdit d'utiliser tout produit contenant des actifs anti-âge deux semaines avant le début de l'étude, et durant l'ensemble de l'expérimentation.

Afin d'éviter un effet indésirable qui aurait pour conséquence une sortie d'étude, les volontaires en ayant déjà subi ou ayant une allergie à un produit cosmétique, ne sont pas autorisés à participer à l'étude.

- Exposition au soleil

Les rayons UV causent une accélération de l'apparition des rides par accélération de la peroxydation des lipides cutanés et par augmentation de la sécrétion de métalloprotéinases matricielles (126) responsables de la dégradation des composants matriciels dermiques. L'exposition au soleil endommage aussi l'ADN mitochondrial. La mitochondrie produira ainsi plus de radicaux libres qui vont détériorer la cellule et accroître la diminution des composants tissulaires (94). L'exposition au soleil est donc interdite durant l'étude (145).

3.3.3.2 Influence des paramètres individuels

- Âge

Pour être inclus dans une étude anti-âge qui suit l'évolution des rides, il faut avoir des rides prononcées. Dans un premier temps, il faut déterminer leur localisation. Les produits anti-âge sont principalement destinés au visage, c'est cette zone qui sera ciblée. Il existe plusieurs zones sur le visage sujettes aux rides. Les rides de la patte d'oie (sur la partie extérieure des yeux), la ride du lion (entre les sourcils), le sillon nasogénien (qui part de la commissure des lèvres et remonte verticalement). La localisation des rides de la patte d'oie semble être la meilleure option car elle offre deux zones contrairement à celle de la ride du lion. De plus, les rides de la patte d'oie sont plus marquées que les rides du sillon nasogénien. Dans un second temps, il convient de déterminer la tranche d'âge. En moyenne, l'ensemble des individus de plus de 40 ans a des rides de la patte d'oie marquées (149). L'âge d'inclusion se situera donc entre 40 et 50 ans.

- Genre

Les rides évoluent de la même manière chez les hommes et chez les femmes. Cependant les rides de la patte d'oie paraissent plus prononcées chez les hommes. Cette différence est causée par les variations anatomiques. Les rides d'expression, comme les rides de la patte d'oie, sont plus développées chez les hommes car ils possèdent une couche adipeuse sous cutanée faciale moins développée. De plus, les hommes ont une musculature faciale plus développée responsable de mouvements faciaux plus importants (150). Afin de ne pas avoir une trop grande différence entre les valeurs, il est préférable de choisir une seule cible (151).

- Ethnie

L'apparition des rides de la patte d'oie diffère entre les personnes de différentes origines. Par exemple, une étude a montré que dans la population asiatique, l'apparition des rides est retardée de 10 ans en comparaison avec la population caucasienne. L'apparition des rides débute vers l'âge de 25/ 30 ans pour les personnes caucasiennes avec une évolution linéaire tandis que pour les personnes asiatiques, les rides apparaissent vers 35/40 ans avec une évolution plus rapide (152). De plus, comme vu précédemment, le soleil accélère le vieillissement cutané. Les peaux foncées sont riches en mélanine et sont mieux protégées des agressions du soleil. Les peaux

naturellement pigmentées ont donc tendance à vieillir moins vite grâce à leur protection contre le vieillissement induit par le soleil (94). Pour une homogénéité du panel, les volontaires doivent être de la même ethnie.

- Grade de ride

Il est nécessaire de choisir un grade de ride minimum pour pouvoir constater un effet. Il a été décidé ici pour une échelle de gradation validée pour la ride de la patte d'oie. Celle-ci devant être gradée au-dessus des rides fines c'est-à-dire au-dessus d'un niveau 2 (153).



Figure 6 : Echelle de gradation pour la ride de la patte d'oie (64)

- Ménopause et périménopause

Les carences en hormones dues à la ménopause induisent une accélération du vieillissement cutané et par conséquent une aggravation de la profondeur des rides (148). En effet, la chute du taux d'œstrogènes entraîne une perte de collagène, d'élastine et une augmentation des enzymes de dégradation des composants matriciels dermiques ce qui engendre des rides plus prononcées (154). Par conséquent les femmes en situation de ménopause et périménopause ne peuvent pas participer à ces tests.

- L'alimentation

Une alimentation trop riche en sucre, graisse, en aliments frits ou transformés, produit en quantité plus importante des radicaux libres et des produits de glycation. La glycation se produit lorsque le sucre dans le sang fixe le collagène le rendant ainsi plus rigide, ce qui entraîne une diminution de la souplesse de la peau. Il est aussi possible de limiter le vieillissement cutané en mangeant des aliments riches en antioxydants ayant la capacité de neutraliser les radicaux libres responsables du vieillissement cutané (94).

3.3.4 Conditions de mesures

Les rides de la patte d'oie offrent uniquement 2 zones de mesure.

- La zone placebo : application d'un produit ou d'une substance qui n'a aucun effet sur la mesure. Le but ici est de garder le double aveugle
- La zone traitée : C'est la zone qui reçoit le produit d'investigation

Les zones seront constituées au niveau des rides de la patte d'oie sur la partie extérieure des yeux.

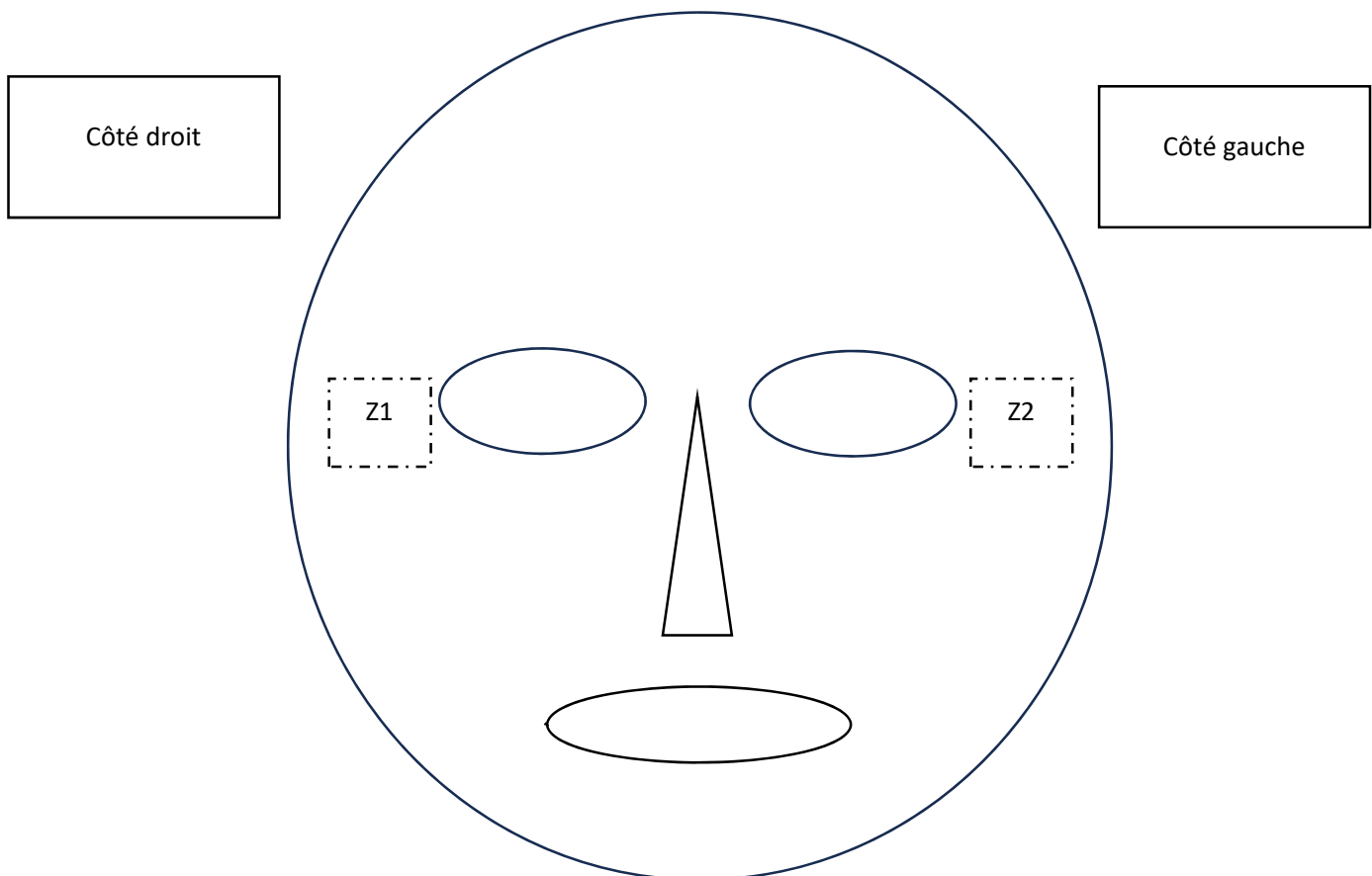


Figure 7 : Zones d'application sur les rides de la patte d'oie

Lors de la randomisation, la zone placebo et la zone traitée seront attribuées aux zones Z1 et Z2 afin de limiter le biais de sélection. Il n'existe pas de recommandation sur la taille des zones. Il est cependant nécessaire de préciser la taille dans le protocole. La mesure doit seulement être prise uniquement au centre des rides de la patte d'oie.

Pour l'utilisation du Visioscan®, il est recommandé de poser perpendiculairement la sonde sur les rides de la patte d'oie et d'exercer une légère pression. Les paramètres mesurés sont la douceur, correspondant à la profondeur et la largeur des rides (Sesm) ainsi que les proportions de rides horizontales et verticales (Sew). Il est attendu une diminution significative de ces deux paramètres pour valider un effet anti-âge. Les mesures doivent être espacées de 5 secondes 3 fois. Une moyenne des mesures de douceur (Sesm) et de rides (Sew) est alors faite.

Pour résumé, la chronologie de l'expérimentation des études anti-âge avec le Visioscan® sera la suivante :

Etape 1 : Vérification des critères d'inclusion, de non-inclusion et du consentement

Etape 2 : Acclimatation d'une durée comprise entre 15 et 30 minutes dans une pièce dans laquelle la température est comprise entre 20 et 22°C et l'humidité entre 40 et 60 % (118).

Mise en marche de l'appareil 15 à 30 minutes avant le début des mesures (durant l'acclimatation) (70).

Etape 3 : Mise en place du volontaire en position allongée afin de limiter les mouvements.

Etape 4 : Une première personne réalise 2 zones avec un pochoir en fonction de la surface préalablement déterminée. Il faut préciser à côté de chaque zone s'il s'agit de la Z1 ou Z2.

Etape 5 : Une deuxième personne prend les mesures sur les 2 zones.

Etape 6 : La première personne applique le placebo et le produit dans les zones en fonction de la randomisation, celle-ci est réalisée après l'inclusion du volontaire. L'application se fait avec le doigt équipé d'un doigtier, elle doit être homogène sur l'ensemble de la zone préalablement délimitée.

Etape 7 : La deuxième personne qui ignore l'emplacement du placebo et du produit prend les mesures 30 minutes après l'application. Lors de la mesure, le volontaire garde l'œil fermé et tourne légèrement la tête afin de faciliter la prise de mesure. Le volontaire doit rester silencieux et avoir le visage détendu afin d'éviter une accentuation des rides. Il est nécessaire de faire 3 mesures de douceur (Se_{sm}) et de rides (Se_w) avec 5 secondes d'intervalle. Une moyenne sera alors faite entre ces mesures.

Le volontaire repart par la suite avec le placebo et le produit d'investigation anonymisés qu'il devra continuer à appliquer selon la fréquence déterminée. Il devra se laver les mains entre l'application des deux produits afin d'éviter les mélanges. Lors de chaque nouvelle visite, le volontaire sera soumis aux mêmes périodes d'acclimatation et aux mêmes conditions environnementales.

3.3.5 Conclusion

Le vieillissement cutané est un phénomène naturel qui est causé par de nombreux facteurs intrinsèques mais aussi influencé par des facteurs environnementaux. Ce phénomène aura de nombreuses conséquences sur les composants, la morphologie et les fonctions de la peau.

Les rides sont un excellent marqueur du vieillissement cutané. Mesurer son évolution avant et après l'application d'un produit cosmétique permet de juger de l'efficacité d'une action anti-âge. Les premières méthodes topographiques appliquent la projection de franges pour mesurer la taille des rides. Cette méthode a longtemps été utilisée sur des empreintes en silicone ou directement sur la peau puis remplacée par des caméras UV plus performantes, plus rapides et plus faciles d'utilisation comme le Visioscan®.

Comme précisé plus haut, le vieillissement cutané engendre de nombreuses conséquences qui ne sont pas spécifiques comme la perte de la fermeté et de l'hydratation par diminution de la concentration de collagène ou le changement de pigmentation par sénescence ou hypertrophie des mélanocytes. Il est de plus en plus courant de trouver dans la littérature des études qui couplent l'hydratation cutanée, avec les propriétés élastiques de la peau, l'étude de la pigmentation et même la topographie. Cette association permet de juger plusieurs conséquences du vieillissement cutané et est utilisée pour les études destinées à la recherche car plus générales.

En effet, il est possible de citer l'étude qui a pour objectif d'évaluer les effets blanchissants, hydratants et anti-âge des soins contenant du bouillon de fermentation de haricots mungo enrichi en sélénium. Cette étude a été réalisée sur 31 femmes, avec un Cornéomètre®, un Tewamètre® et un VISIA®. Ces appareils ont permis respectivement de mesurer la teneur en eau, la perte d'eau transépidermique et la topographie des rides de la patte d'oie. L'ensemble de ces paramètres peut être rattaché au vieillissement cutané. Cette étude montre une augmentation de l'hydratation cutanée, une diminution de la PIE et une diminution des rides de la patte d'oie. Bien que non spécifiques au vieillissement cutané, une augmentation de l'hydratation et une diminution de la PIE, couplées à une diminution des rides, renforcent la conclusion selon laquelle le bouillon de fermentation de haricots mungo enrichi en sélénium a une action sur le vieillissement cutané (143). Il est aussi possible de citer l'étude d'un produit topique contenant un extrait de culture cellulaire de feuille de framboisier ainsi que de la vitamine C et E. Dans cette étude, 50 femmes ont appliqué sur un côté du visage, un sérum durant 2 mois. Différents paramètres liés au vieillissement cutané comme l'élasticité, l'hydratation, la topographie de la peau, ont été mesurés avec un Cutomètre®, un Cornéomètre® et le Visioscan® afin de montrer l'impact du sérum sur le vieillissement cutané. Cette étude a mis en évidence une amélioration de l'élasticité et de l'hydratation, ainsi qu'une diminution de la profondeur des rides démontrant ainsi l'effet anti-âge du produit (144).

Cependant, les études réalisées par les entreprises cosmétiques dans le but de soutenir l'allégation « anti-âge » privilégient l'étude topographique car elle est plus spécifique en ce qui concerne l'évaluation du vieillissement cutané et il est plus rapide et moins onéreux de réaliser une seule étude.

3.4 Test de fermeté

3.4.1 Propriétés élastiques de la peau

La peau est un organe doté de propriétés mécaniques complexes, qui lui confère des capacités de résistance, d'élasticité et de souplesse. La peau suit un modèle d'élasticité non linéaire. Lorsqu'elle est soumise à une contrainte, la déformation augmente mais pas de façon proportionnelle. La phase 1 est une forte déformation en réponse à une faible contrainte. Elle correspond à la réorientation de l'élastine dans le derme. En phase 2, le collagène se déforme montrant la résistance et la rigidité de la peau. La peau se stabilise par la suite en phase 3 (155).

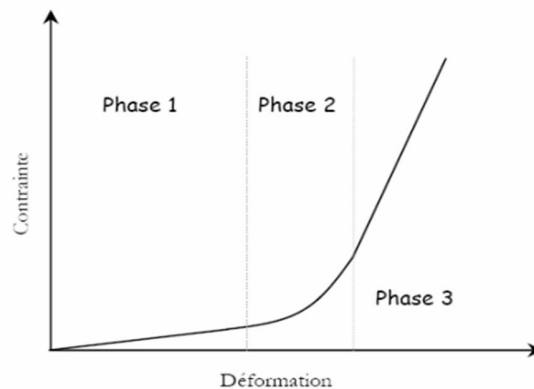


Figure 8 : Comportement non linéaire de la peau en 3 phases (155)

La peau possède aussi des caractéristiques viscoélastiques (156). Elle résiste aux forces d'écoulement, se déforme sous la contrainte puis revient à son état d'origine. Cette viscosité est liée à l'acide hyaluronique et l'eau se trouvant dans le réseau de fibres élastiques présent dans le derme. De plus, nous retrouvons une pré-tension naturelle de la peau qui lui permet de rester tendue. Pour finir, la peau possède des caractéristiques anisotropes c'est-à-dire qu'elle change de caractéristique en fonction de l'orientation de la contrainte (155).

Tout comme l'apparition des rides, la diminution des propriétés biomécaniques de la peau est un processus du vieillissement cutané. C'est le déficit en collagène, en acide hyaluronique et en fibres élastiques qui va induire une diminution de ces propriétés à savoir une diminution de la fermeté, de la résistance et de l'élasticité de la peau (157). La mesure des paramètres biomécaniques est donc importante pour juger de certaines caractéristiques de la peau.

3.4.2 Méthodes et appareils de mesures

Les méthodes d'analyse biomécanique *in vivo* de la peau peuvent être de deux natures. L'application d'un chargement perpendiculaire à la peau avec la succion et l'indentation. L'application d'une contrainte avec l'extensométrie et la torsion.

La succion consiste en l'aspiration de la peau par pression négative. La peau est aspirée dans la sonde et un système de mesure optique sans contact détermine en unité de mesure, la hauteur de peau aspirée puis son retour à l'état basal (147).

Cette méthode d'évaluation donne ainsi la courbe ci-dessous de déformation de l'épiderme en fonction du temps de laquelle on pourra déduire plusieurs paramètres (158) :

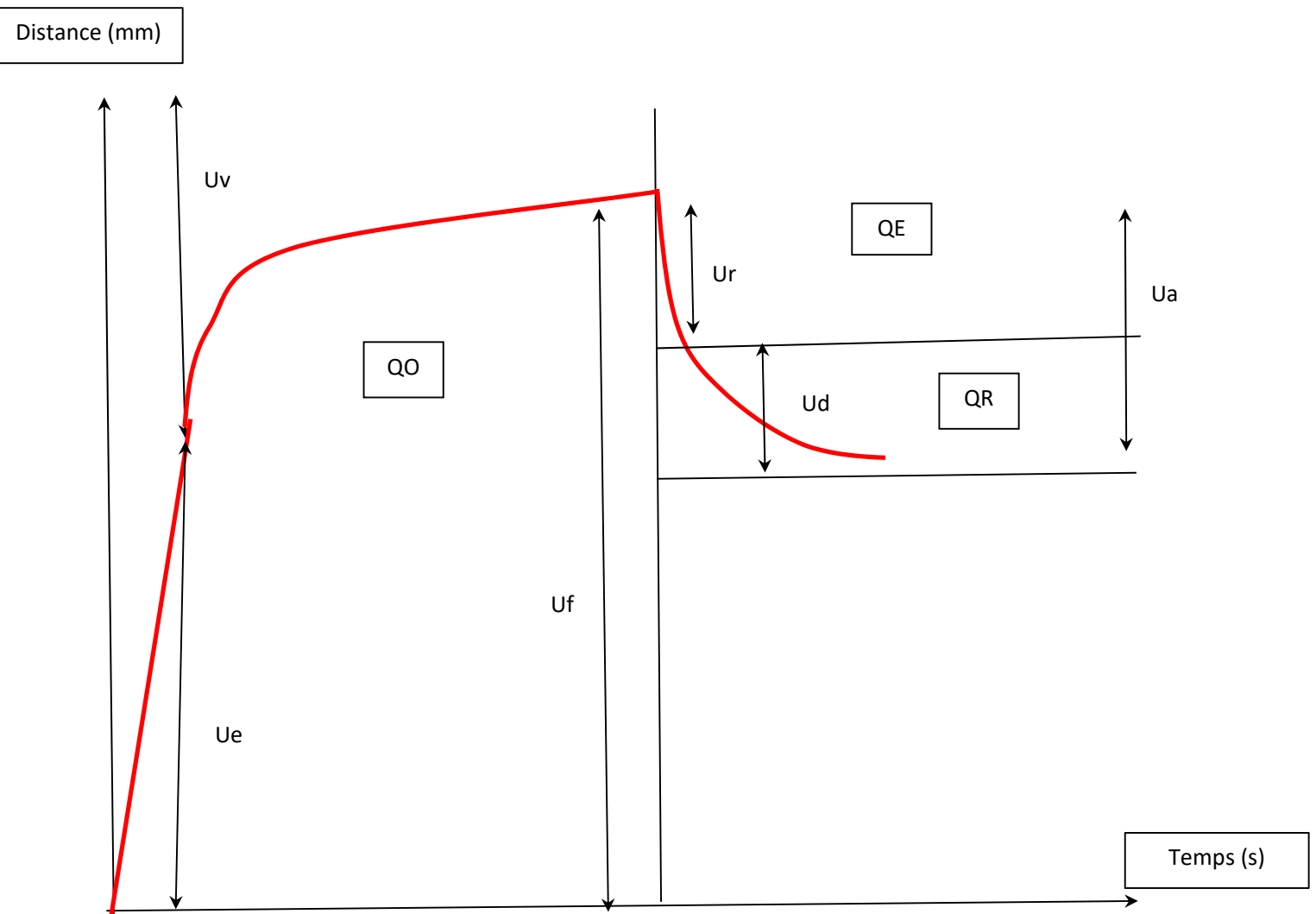


Figure 9 : Courbe de la déformation de la peau dans le temps lors d'un essai de succion (158)

Les paramètres mesurés sont :

- U_e : correspond la distance parcourue immédiatement par la peau au début de l'essai, c'est la déformation élastique. U_e augmente en fonction de la souplesse de la peau,
- U_v : correspond à la déformation visqueuse qui suit le soulèvement immédiat (U_e) jusqu'à la fin de l'aspiration,
- U_f : correspond à la distance totale parcourue par la peau lors de l'aspiration, il s'agit de la déformation totale. C'est la somme de la déformation élastique (U_e) et de la déformation visqueuse (U_v). U_f diminue en fonction de la fermeté de la peau
- U_r : correspond au relâchement de la peau après arrêt de l'aspiration. C'est la recouvrance immédiate La peau sera élastique si ce paramètre augmente,
- U_d : correspond à la fin du relâchement de la peau. Elle fait suite à la recouvrance immédiate et se nomme la recouvrance retardée,
- U_a : correspond à la distance parcourue au maximum de l'aspiration jusqu'à la fin de la relaxation lorsque l'essai est terminé. C'est la recouvrance totale.

Les tests de succion peuvent être réalisés par le Cutomètre®. Le Cutomètre® Double MPA 580 (147) est un dispositif produit par Courage + Khazaka electronic. Le Cutomètre® est composé de deux parties :

- Un générateur principal relié à un ordinateur pour l’aperçu des courbes et l’obtention des mesures.
- Une sonde d’une quinzaine de centimètres. Cette sonde contient en son centre un cylindre creux appelé chambre de succion. C’est ici que la peau remonte lors de l’aspiration. Des capteurs optiques se situent dans la paroi du cylindre. Ils émettent et réceptionnent la lumière. Lorsque la peau est aspirée, elle coupe le faisceau de lumière ce qui permet de calculer la distance parcourue par la peau. La sonde est positionnée directement à la perpendiculaire de la peau pour prendre les mesures. Il existe des chambres de succion de 2, 4, 6 et 8 mm pouvant exercer une pression négative de 10 à 50kPa dans un intervalle de temps allant de 0,1 à 60 secondes. En jouant avec le diamètre et la pression négative, il est possible de mesurer la fermeté et l’élasticité aux différentes couches de la peau. Pour un diamètre élevé avec une forte pression, ce sont les paramètres de l’hypoderme qui sont mesurés. A contrario, ce sont les paramètres du *stratum corneum* qui sont mesurés avec une chambre de succion à faible diamètre et à faible pression (159).

Le Cutomètre® mesure 14 paramètres permettant d’évaluer la fermeté et l’élasticité de la peau.

Paramètres calculés	Signification
$R0 = U_f(\text{mm})$	Déformation de la peau suite à la succion
$R1 = U_f - U_a (\text{mm})$	Rétractation immédiate
$R2 = U_a / U_f$	Élasticité globale
$R3$ amplitude maximale (mm)	Récupération élastique
$R4$ amplitude minimale (mm)	Récupération élastique
$R5 = U_r / U_e$	Fonction élastique

$R6 = Uv/Ue$	Indice de Viscoélasticité
$R7 = Ur/Uf$	Elasticité biologique
$R8 = Ua(mm)$	Récupération de déformation
$R9 = R3-R0 (mm)$	L'effet de fatigue lors des essais répétés
Q0	Zone de récupération maximale
$Q1 = QE/Q0$	Récupération totale
$Q2 = QR/Q0$	Récupération visqueuse
$Q3 = (QE+QR)/Q0$	Récupération Viscoélastique

Tableau 12 : Paramètres calculés à partir des mesures de Cutomètre ®et signification

Grâce à ces valeurs, 14 paramètres (160) peuvent être calculés. L'un d'eux permet de juger de la fermeté de la peau. Il s'agit de la distance de la peau lors de l'aspiration R0 (Uf). Pour attester d'une amélioration de la fermeté, il faut que ce paramètre Uf diminue de manière significative (161). La mesure de ce paramètre est fréquemment utilisée pour tester l'efficacité des formulations cosmétiques (161) (162). Il est le reflet du comportement passif de la peau. Cette méthode peut être influencée par l'épaisseur de la peau (164). R1, R2, R5, R6, R7 permettent de juger de l'élasticité de la peau. Des études s'affranchissent de certains paramètres pour tester l'élasticité. Il est possible de voir une amélioration de l'élasticité en observant seulement les paramètres d'élasticité brute (R2), d'élasticité nette (R5) et de la récupération élastique (R7) (165) (166). L'élasticité brute (R2) permet plus de juger de l'élasticité de la partie superficielle de la peau. L'élasticité nette (R5) reflète l'élasticité de la partie interne de la peau (167). R3, R4, R9, Q0, Q1, Q2, Q3 sont des paramètres utilisés pour juger de la fatigue de la peau lors des tests d'aspiration répétée (164). Il s'agit du même test mais avec 4 répétitions du cycle comprenant 2 secondes d'aspiration et 2 secondes de repos (158).

Cet appareil a la capacité de fournir de nombreuses valeurs. Une seule nous intéresse pour la fermeté. Les autres seront utilisées pour l'élasticité. Nous nous intéresserons donc à la capacité

de la peau à résister à l'aspiration (Uf). Moins la peau remontera dans le cylindre à cause de la pression négative, plus elle sera ferme.

Ce dispositif permet ainsi de calculer l'évolution de la fermeté avant et après application d'un ou plusieurs produits cosmétiques afin de suivre l'évolution de celle-ci et de constater l'effet du ou des produits.

Il est aussi possible de réaliser des essais de succion avec le Dermaflex. Comme le Cutomètre®, ce dispositif utilise un système optique susceptible de mesurer la distance parcourue par la peau lors de la succion. Il est composé d'une chambre de succion plus importante de 10 mm et pouvant exercer une dépression allant jusqu'à 50 kPa durant 60 secondes. Contrairement au Cutomètre®, il n'existe qu'un diamètre de sonde pour cet appareil. Comme vu précédemment, plus le diamètre est important, plus les caractéristiques des couches profondes sont mesurées. Ce dispositif ne sera donc pas utilisé pour mesurer les couches superficielles de la peau (168). Dans la catégorie application d'un chargement, la deuxième méthode est l'indentation qui permet de mesurer la dureté d'un matériel. Cela consiste à placer une charge au niveau de la peau et de mesurer l'enfoncement de celle-ci. Le module d'élasticité sera alors mesuré en fonction des proportions de la charge et de la profondeur de la déformation. Ce sont les fibres élastiques parallèles au derme qui vont amortir les chocs. Par conséquent, lorsque la peau a une diminution de sa capacité à amortir les chocs à cause de la diminution des fibres élastiques, la profondeur de la déformation sera plus importante. La charge peut être appliquée physiquement avec un indenteur ou sans contact avec un flux d'air (159). Lorsqu'un indenteur est utilisé, l'étude doit être réalisée sur une zone où la peau est épaisse afin que le tissu sous-cutané et les os n'interagissent pas dans la mesure (168).

La déformation de la peau peut aussi être provoquée sans contact par un flux d'air. Le dispositif Dynaskin® de EoTech France utilise ce principe. Un flux d'air est projeté perpendiculairement sur la peau, créant ainsi une déformation. Le volume de la dépression va être mesuré grâce à la projection de frange puis modélisé en trois dimensions. Une faible déformation de la peau sera le reflet d'une peau ferme (169).

Il est aussi possible d'appliquer une contrainte avec l'extensomètre et la torsion. L'extensomètre permet de réaliser des tests de traction (170). Cela consiste à placer deux patins sur la surface de la peau grâce à des bandes adhésives et de les déplacer dans des directions opposées afin d'appliquer une traction et de mesurer l'anisotropie et la raideur de la peau. Cette technique peut être couplée avec des techniques d'imagerie afin d'avoir des représentations des couches de la peau lors de l'extension (171).

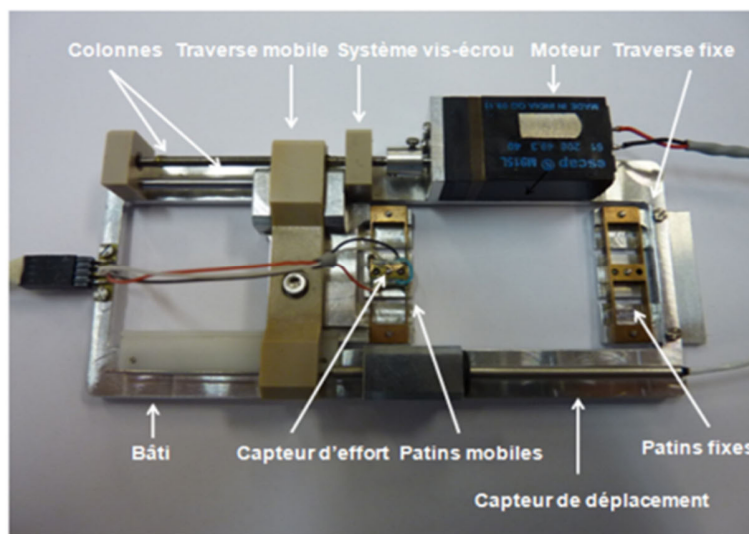


Figure 10 : Photo de l'extensomètre LADIES « Large Displacement Extensometer for Skin » développé par l'institut FEMTO-ST (159)

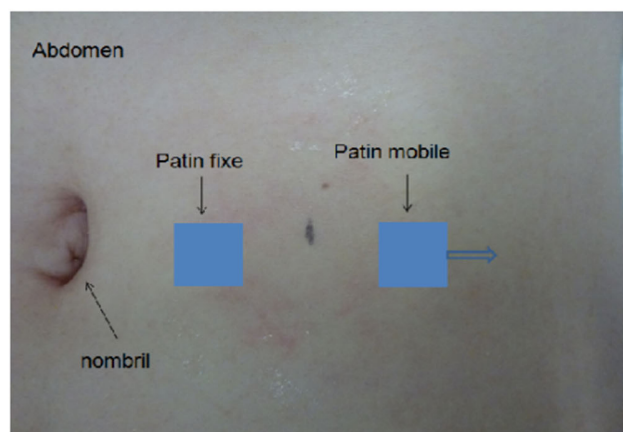


Figure 11 : Schéma de positionnement de l'extensomètre sur le volontaire (159).

Pour les essais de torsion, une sonde circulaire est placée sur la peau du volontaire. Cette sonde est composée d'un disque central et d'un disque périphérique collés à la peau. Les disques entament un mouvement de rotation contraire afin de provoquer une torsion à la peau. L'angle de rotation correspond à la déformation. Cette méthode permet de mesurer les mêmes paramètres U_e , U_v , U_f , U_r , U_d et U_a retrouvés lors des essais de succion. Pour ce dispositif, la force appliquée par les anneaux peut aller de 4 à 57 mN.m, le diamètre de l'anneau varie de 18 à 25 mm et la largeur de la peau varie de 1, 3 ou 5 mm. Il sera choisi des valeurs importantes de force et de diamètre pour la mesure de la fermeté des couches profondes de la peau. Le Dermal Torque Meter est un appareil qui permet de réaliser les essais de torsion pour évaluer la fermeté et l'élasticité (159).

Le balistomètre, quant à lui, s'utilise de la manière suivante : on laisse tomber un poids sur la peau. Grâce aux capacités mécaniques de la peau, le poids va rebondir. Le principe du balistomètre est de mesurer les rebondissements successifs du poids (172). Lorsque le poids est lâché, il apporte avec lui de l'énergie cinétique. A tous les rebonds, de l'énergie va être perdue jusqu'à l'immobilisation du poids. Plus la peau est élastique, plus elle aura la capacité de restituer de l'énergie au poids et par conséquent plus nombreux seront les rebonds. L'inconvénient de cette méthode est qu'elle utilise un principe dynamique ce qui engendre des difficultés dans l'interprétation des résultats (157). Les paramètres calculés seront la profondeur de pénétration, la hauteur de l'objet par rapport à la peau avant d'être lâché, le taux d'amortissement de l'énergie et le coefficient de restitution. Plus le coefficient de restitution est élevé, plus la peau est élastique (94).

La fermeté de la peau est directement corrélée à la quantité de collagène présente dans le derme. Une diminution entraîne par conséquent une baisse de celle-ci. La quantification du collagène est donc une technique pour juger de la fermeté de la peau. Comme détaillé dans la partie 3.3.2, le SIAscope® (Medx health) est un appareil capable de quantifier le collagène par spectrophotométrie et est utilisé dans les études dont le but est de soutenir l'allégation raffermissant.

3.4.3 Influence des facteurs

3.4.3.1 Influence des facteurs environnementaux

- Produits de consommation

Le tabac et sa fumée sont des facteurs externes responsables de la baisse de la fermeté de la peau par augmentation de la dégradation de la matrice extracellulaire et par conséquent une diminution des paramètres d'élasticité et de fermeté de la peau (145) (146).

Les produits topiques à base d'hormones sont interdits durant l'expérimentation car ils augmentent la fermeté (148).

- Utilisation de produits cosmétiques

Afin d'apprécier l'effet raffermissant du produit d'investigation, il est interdit d'utiliser tout produit ayant des effets raffermissants, 2 semaines avant le début de l'étude, et durant l'ensemble de l'expérimentation.

- Exposition au soleil

L'exposition au soleil est interdite durant l'étude pour cause d'accélération de la vieillesse cutanée et de baisse de la fermeté de la peau (145) (173).

3.4.3.2 Influence des paramètres individuels

- Âge

Pour être inclus dans une étude de fermeté, il faut avoir un déficit dans ce domaine. En moyenne le relâchement cutané débute vers 30 ans et continue tout au long de la vie (119). Nous prendrons un intervalle avec de la marge et l'âge d'inclusion sera donc inclus entre 40 et 50 ans.

- Type de peau

Il est important que l'ensemble des volontaires aient le même type de peau afin qu'ils puissent être comparés entre eux. Il est donc déconseillé de proposer un test avec tout type de peau mais de choisir un type en fonction de la cible.

- Genre et ethnie

Ces deux paramètres n'ont aucune influence sur les variations de la fermeté (174).

- Ménopause et périménopause

Les carences en hormones dues à la ménopause induisent une accélération du vieillissement cutané et par conséquent une diminution de la fermeté. Les femmes dans cette situation sont donc exclues (77).

- La musculation

La mesure est réalisée sur le quadriceps. Une augmentation de la masse musculaire peut influencer positivement les mesures (155). Il est donc souhaité pour le volontaire, qu'il ne pratique pas la musculation ou le sport à trop grande fréquence.

- L'alimentation

Un changement de poids peut influencer les mesures en positif et en négatif, il est donc demandé au volontaire, dans les limites du possible, d'avoir une alimentation saine afin d'éviter les variations de poids. L'Indice de Masse Corporelle ne peut pas être considéré comme un critère d'inclusion ou de suivi car il n'influence pas les caractéristiques biophysiques de la peau (160).

3.4.4 Conditions de mesures

Pour cette expérimentation, il est possible d'avoir uniquement deux zones de mesure. Une sur chaque cuisse. European Expert Group on Efficacy Measurement of Cosmetics and Other Products (EEMCO) est un groupe d'experts européens qui travaille et donne des recommandations sur les techniques et la réalisation des mesures des tests d'efficacité cosmétiques. L'EEMCO ne recommande pas de site anatomique pour les mesures de Cutomètre®(160). La cuisse est souvent choisie car il s'agit d'une zone vaste, peu soumise aux facteurs environnementaux. De plus, le paramètre Uf n'est statistiquement pas différent entre la peau du visage, de l'avant-bras et de la cuisse (175). Pour éviter la migration des produits, ils seront appliqués sur une zone large de la cuisse et la mesure sera réalisée au milieu du quadriceps.

- La zone placebo : application d'un produit ou d'une substance qui n'a aucun effet sur la mesure. Le but ici est de garder le double aveugle
- La zone traitée : C'est la zone qui va recevoir le produit d'investigation

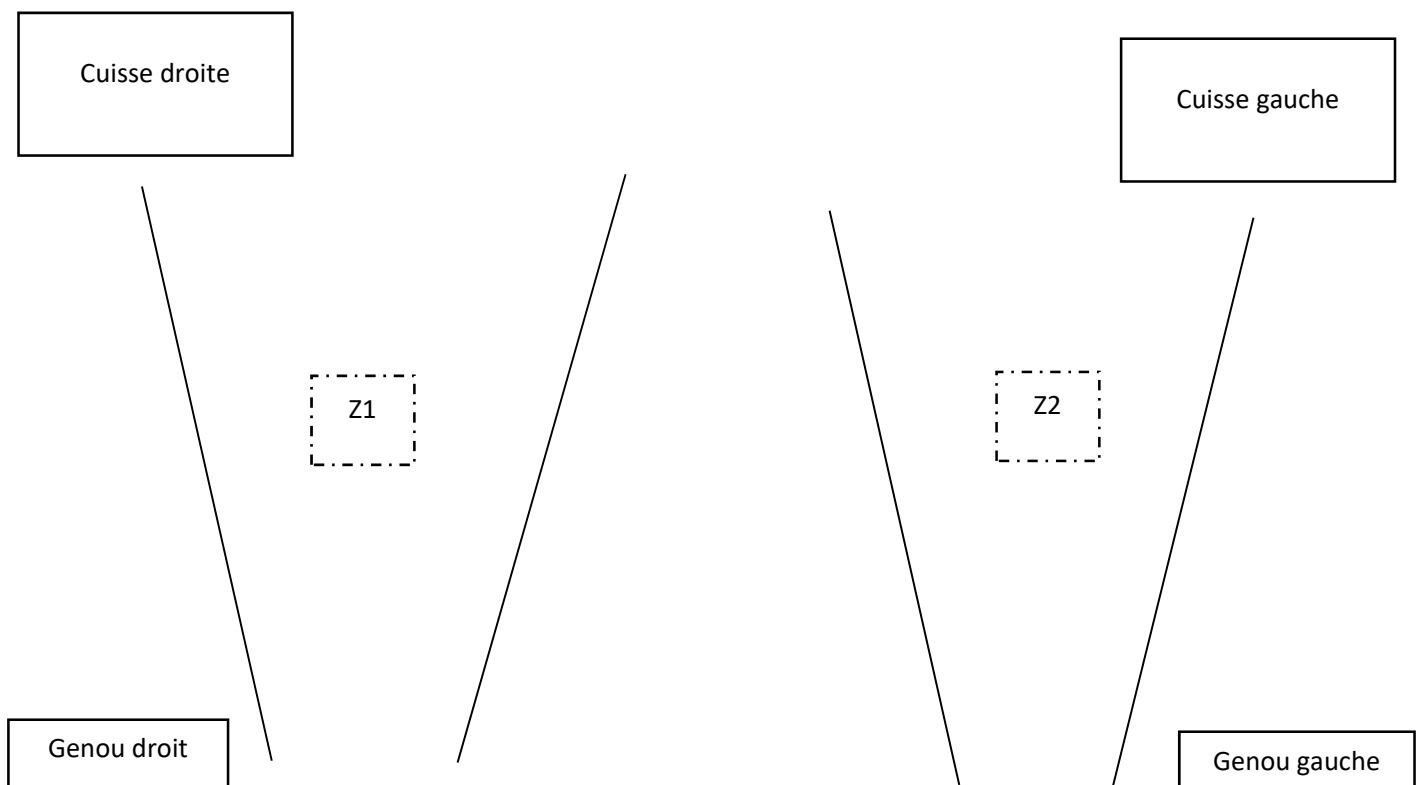


Figure 11 : Zones d'application sur les cuisses

Lors de la randomisation, la zone placebo et la zone traitée sont attribuées au zone Z1 et Z2 afin de limiter le biais de sélection. Il n'existe pas de recommandation sur la taille des zones. Il est cependant nécessaire de préciser la taille dans le protocole. Il convient de réaliser 3 mesures puis faire une moyenne de celles-ci.

Pour l'utilisation du Cutomètre®, il est recommandé de poser perpendiculairement la sonde sur la peau et d'exercer une légère pression. Le paramètre mesuré est la distance totale parcourue par la peau lors de l'aspiration (Uf). Il est attendu une diminution significative de ce paramètre pour valider un effet raffermissant. Les mesures sont à réaliser sur des zones sans poils afin d'éviter les interférences. Il est nécessaire de réaliser 3 mesures de succion. Une mesure prend 4 secondes.

La chronologie de l'expérimentation est la suivante :

Etape 1 : Vérification des critères d'inclusion et de non-inclusion ainsi que du consentement.

Etape 2 : Acclimatation d'une durée comprise entre 15 et 30 minutes dans une pièce dans laquelle la température est comprise entre 20 et 22°C et l'humidité entre 40 et 60 % (118).

Mise en marche de l'appareil 15 à 30 minutes avant le début des mesures (durant l'acclimatation) (70).

Etape 3 : Mise en place du volontaire en position allongée sur le dos sur un lit.

Etape 4 : Une première personne réalise 2 zones avec un pochoir en fonction de la surface préalablement déterminée. Il faut préciser à côté de chaque zone s'il s'agit de la Z1 ou Z2.

Etape 5 : Une deuxième personne prend les mesures sur les 2 zones. L'aspiration de l'appareil est réglée sur 30 kPa. La sonde choisie est de 2 mm pour mesurer la fermeté du *stratum corneum*. Des sondes plus grosses permettent de mesurer des couches plus profondes. Les cosmétiques agissant sur la partie superficielle, une sonde de 2 mm semble être la plus adaptée. Une pression de 30 kPa est réalisée par la sonde durant 2 secondes puis un temps de relaxation de 2 secondes.

Etape 6 : La première personne applique, le placebo et le produit dans les zones, en fonction de la randomisation, celle-ci étant réalisée après l'inclusion du volontaire. L'application se fait avec

le doigt équipé d'un doigtier. L'application doit être homogène sur l'ensemble de la zone préalablement délimitée.

Etape 7 : La deuxième personne qui ignore l'emplacement du placebo et du produit prend les mesures 30 minutes après l'application du produit. Lors de la mesure, le volontaire ne bouge pas afin de ne pas gêner la mesure. 3 mesures de 4 secondes sont réalisées avant de faire une moyenne des valeurs du paramètre U_f .

Le volontaire repart par la suite avec le placebo et le produit d'investigation anonymisés qu'il devra continuer à appliquer selon la fréquence déterminée. Il devra se laver les mains entre l'application des deux produits afin d'éviter les mélanges. Lors de chaque nouvelle visite, le volontaire sera soumis aux mêmes périodes d'acclimatations et aux mêmes conditions environnementales.

3.4.5 Conclusion

La peau possède des caractéristiques élastiques, viscoélastiques, de pré-tension et d'anisotropie. Cela lui donne des capacités de souplesse, de résistance et d'élasticité. L'origine de ces capacités se trouve dans la composition des couches de la peau. L'élastine dans le derme a la capacité de se déformer et apporte de la souplesse et de l'élasticité. Le collagène quant à lui, apporte de la rigidité et de la résistance. L'acide hyaluronique et l'eau permettent à la peau de se déformer. Lorsque les composants de la peau diminuent, notamment à cause de l'âge, les propriétés et les capacités comme la fermeté diminuent. L'industrie cosmétique développe et commercialise des produits afin de renforcer la fermeté et soutenir l'allégation « raffermissant ».

Pour juger de cet effet, de nombreuses méthodes ont été développées. Les premières mesurent directement les propriétés biomécaniques de la peau. Les tests de succion, d'indentation, d'extensométrie et de torsion permettent de suivre l'évolution de la fermeté de la peau. Tous ces tests ont permis de développer des méthodes et des appareils qui ont tous des avantages et des inconvénients différents. La technique de référence fait appel au Cutomètre® qui réalise des tests de succion. Cette technique a pour avantage d'être très bien documentée et de pouvoir mesurer la fermeté des différentes couches de la peau en jouant sur la pression et le diamètre de la sonde.

Cependant, malgré une grande efficacité de ces méthodes, de nouvelles technologies voient le jour. La fermeté de la peau est directement corrélée à sa composition. Les méthodes les plus récentes quantifient ces composants pour démontrer un effet raffermissant. De plus, il est fréquent de retrouver dans la littérature des études qui couplent les méthodes afin d'avoir des résultats plus précis. Cette association de techniques rend les résultats plus représentatifs, comme cette étude menée afin de montrer l'efficacité d'un sérum à facteur de croissance sur la fermeté de la peau et où deux techniques ont été réalisées : l'utilisation du Cutomètre® pour juger la fermeté de la peau d'un point de vue biomécanique et l'utilisation d'ultrasons pour mesurer la fermeté d'un point de vue structurel. En effet, l'objectif de cette étude est de mettre en évidence l'effet restructurant du sérum sur le collagène et l'élastine aboutissant *in fine* à une amélioration des paramètres biomécaniques de la peau. Après 12 semaines de traitement, les ultrasons ont montré une augmentation significative de la densité du derme et le Cutomètre®

une amélioration significative de la fermeté. Ce test permet de montrer l'action du produit sur la structure de la peau qui engendre une amélioration de la fermeté (176).

3.5 Test Anti-séborrhéique

3.5.1 Production de sébum

Afin de maintenir l'équilibre de la peau, celle-ci va produire du sébum. Il s'agit d'un liquide jaune clair composé en grande partie par des lipides non polaires. On y retrouve environ 30% de triglycérides, 25% d'acide oléique et de cétyl palmitate, 15% de squalène et 5% de cholestérol. Il est composé également de débris cellulaires (177). Il est produit par la sécrétion holocrine des sébocytes, se trouvant dans le derme au niveau des glandes sébacées. La sécrétion se fait à travers le canal sébacé jusqu'à la partie du follicule pileux dans le derme puis remonte jusqu'à la partie superficielle de l'épiderme. Ce liquide a un rôle de protection car il permet l'imperméabilisation de l'épiderme, la thermorégulation, et la photoprotection. Il produit aussi des cytokines anti-inflammatoires, des chimiokines et des interleukines pour lutter contre les facteurs extérieurs comme la pollution et les agents pathogènes (178). La production de sébum est influencée par des facteurs intrinsèques comme l'âge, la production d'hormones et des facteurs génétiques mais aussi des facteurs environnementaux tels que l'alimentation, les produits de consommation, la pollution, l'humidité et la chaleur. Ces points seront détaillés par la suite.

Les zones les plus productives de sébum sont le front, le nez et le menton (la zone T du visage), le dos et le haut de la poitrine. Un flux excessif de sébum correspond à une production de 150 à 400 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ de sébum en 3 heures et est appelé séborrhée. Ce phénomène a pour conséquence une peau brillante et grasse ainsi qu'une augmentation des comédons (179).

La séborrhée est aussi à l'origine de pathologie. Elle est une des quatre causes de l'acné vulgaire. C'est une pathologie courante qui touche environ 85% des adolescents et se positionne à la seconde place derrière les dermatites (atopique et de contact) dans les affections dermatologiques (180). Il est donc intéressant de développer des produits cosmétiques capables de réguler le sébum.

3.5.2 Méthodes et appareils de mesures

Les premières méthodes de prélèvement du sébum sur le visage ont été réalisées avec une matière absorbante positionnée pendant 3 heures sur le front afin de collecter les sécrétions puis de les extraire avec un solvant organique comme l'hexane ou l'éther. Bien que simple et reproductible, cette méthode est longue. Il apparaît par la suite le Sébumètre® qui permet de quantifier le sébum, il permet d'exploiter la capacité du sébum à rendre un élément plus transparent quand il rentre en contact avec lui. La quantité de sébum est proportionnelle à la transparence, plus elle est élevée, plus la transparence est élevée.

Le Sébumètre® est composé d'un élément translucide destiné à recueillir le sébum. Cet élément est alors introduit entre une source de lumière et un récepteur photoélectrique. Plus la lumière réceptionnée sera forte, plus la quantité de sébum sera élevée (181). C'est ce qu'on appelle la méthode photométrique . Elle est la plus utilisée (182) .

Il existe différents types de Sébumètre® notamment, les patchs adhésifs Sebutape destinés à récupérer le sébum grâce à une bande adhésive composée d'un film en polymère microporeux. Son efficacité est optimale lorsque la peau est riche en sébum. Il a été développé par la suite des systèmes non adhésifs comme le Sebuflux qui sont plus rapides et évitent l'effet occlusif retrouvé avec les Sébumètres® adhésifs qui favorisent les faux positifs. Nous retrouvons dans cette catégorie le Sébumètre® SM 815 que nous allons détailler (183).

Le Sébumètre® SM 815 (183) est un dispositif fabriqué par Courage + Khazaka electronic destiné à mesurer la masse surfacique de sébum (mg/cm^2) à la surface de la peau .

Il est composé de deux parties :

- Un générateur principal relié à un ordinateur permettant d'obtenir un aperçu des images et des mesures.
- Une sonde qui se présente sous la forme d'une cassette d'environ 10 centimètres. Elle contient un ruban mat de 0,1 mm d'épaisseur qui devient transparent au contact du sébum. Un petit embout se situe à une extrémité et expose une surface de 64 mm^2 de ruban. Un piston se trouve sur le côté de la sonde permettant de défiler le ruban au fil des mesures (184).

Après la mise en contact du ruban pendant 30 secondes avec la zone à analyser, la cassette est passée dans le lecteur afin de calculer la masse surfacique de sébum par photométrie de la tache. Le ruban est traversé par de la lumière qui est mesurée par un capteur photoélectrique. L'avantage de cette méthode est sa simplicité d'utilisation, sa reproductibilité et sa rapidité. L'inconvénient est le caractère éphémère de la cassette qui doit être changée lorsque l'ensemble du ruban a été utilisé (181) .

Il est aussi possible de mesurer la masse de Sébum. Notamment avec l'appareil Sebumscale® de chez Delfin Technologie. C'est un appareil portable d'une dizaine de centimètres qui possède à son extrémité une microbalance équipée d'un capteur en cristal de quartz dont la fréquence varie au contact du sébum, ce qui permet de mesurer en $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ la masse surfacique de sébum (185). Cet appareil à l'avantage d'avoir un temps de mesure de 20 secondes seulement mais a l'inconvénient de ne pas pouvoir mesurer des masses surfaciques trop importantes (186).

La présence de sébum augmente la brillance de la peau. Il est donc possible de suivre l'évolution de la production de sébum en analysant ce paramètre. Le Skin-Glossymètre GL 200 fabriqué par Courage + Khazaka electronic est un appareil mesurant la brillance de la peau. Il est composé d'une sonde de 13cm comportant une source lumineuse LED, 2 miroirs et 2 récepteurs. La source lumineuse éclaire un miroir avec un angle de 60° qui réfléchit la lumière vers la peau. Une partie des rayons est directement réfléchi par la peau dans toutes les directions. C'est ce que l'on appelle la réflexion diffuse. Elle est captée par le premier récepteur. L'autre partie est réfléchi dans une seule direction. C'est la réflexion spéculaire. Elle est recueillie par un miroir qui par la suite la renvoie vers le deuxième capteur. L'avantage de ce dispositif est sa capacité à capter la réflexion spéculaire qui est normalement perdue ce qui rend les mesures très précises. De plus, il est facile à manier et rapide à utiliser (187).

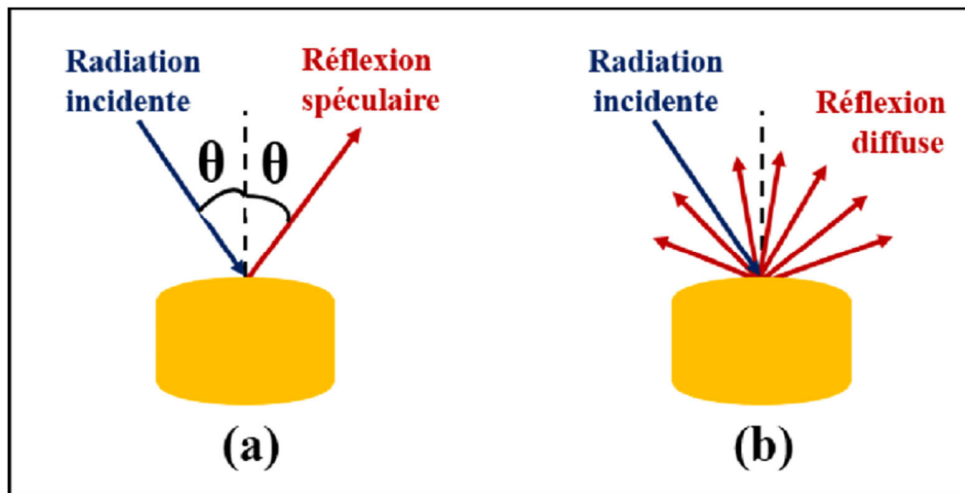


Figure 12 : Représentation de la réflexion spéculaire et diffuse (188)

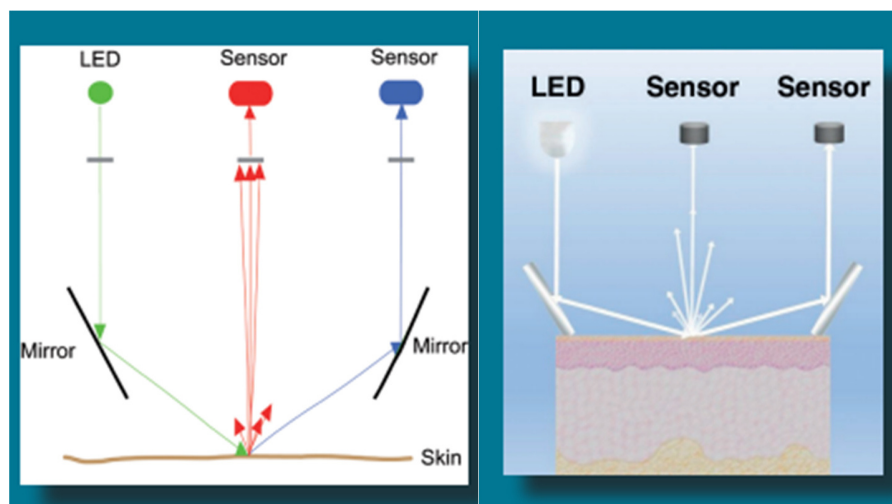


Figure 13: Mécanisme d'action du glossymètre (187)

Enfin, des méthodes d'analyse d'images ont été développées pour évaluer l'apparence de la peau. Il existe de nombreux appareils comme par exemple le Colorface® de chez Newton Quima Life Science (189). Ce dispositif a la capacité de photographier le visage de face et à 45° sur la droite et sur la gauche avec différents éclairages :

- La lumière diffuse représentant la vision normale,
- La polarisation croisée qui en supprimant la réflexion spéculaire permet d'obtenir les données de couleur,
- La polarisation parallèle capte la réflexion spéculaire,
- Un mélange entre les polarisations pour observer le relief.

Grâce à l'acquisition des images, le Colorface® a la capacité de mesurer de nombreux paramètres comme la couleur, la rugosité, la texture, la brillance, les pores et bien d'autres.

Dans notre cas, c'est la brillance qui est mesurée. Pour cela, deux images sont capturées avec un éclairage à polarisation parallèle et un éclairage à polarisation croisée. C'est le paramètre L^* correspondant à la clarté qui est mesuré. Ses valeurs sont comprises entre 0, qui correspond au noir, et 100 correspond au blanc (190). Pour tous les pixels, la soustraction du L^* de l'image à polarisation parallèle au L^* de l'image à polarisation croisée permet de calculer les différents types de brillance. Cette soustraction du paramètre L^* entre ces deux photos permet de générer une troisième photo en noir et blanc. L'appareil détermine alors la brillance ou la matité des pixels. Les pixels avec un L^* élevé apparaissent en blanc et sont classés comme brillants. Ceux avec un L^* bas apparaissent noirs et sont classés comme mats. Le nombre de pixels brillants correspond aux zones de luminosité, la moyenne de l'intensité des pixels brillants indique la brillance spéculaire et la différence entre l'intensité moyenne des pixels brillants et mats donne la brillance contrastée. Une diminution des zones de luminosité, de la brillance spéculaire et de la brillance contrastée permet de montrer une diminution globale de la brillance qui est attendue pour pouvoir soutenir l'allégation « anti-séborrhéique » (191).

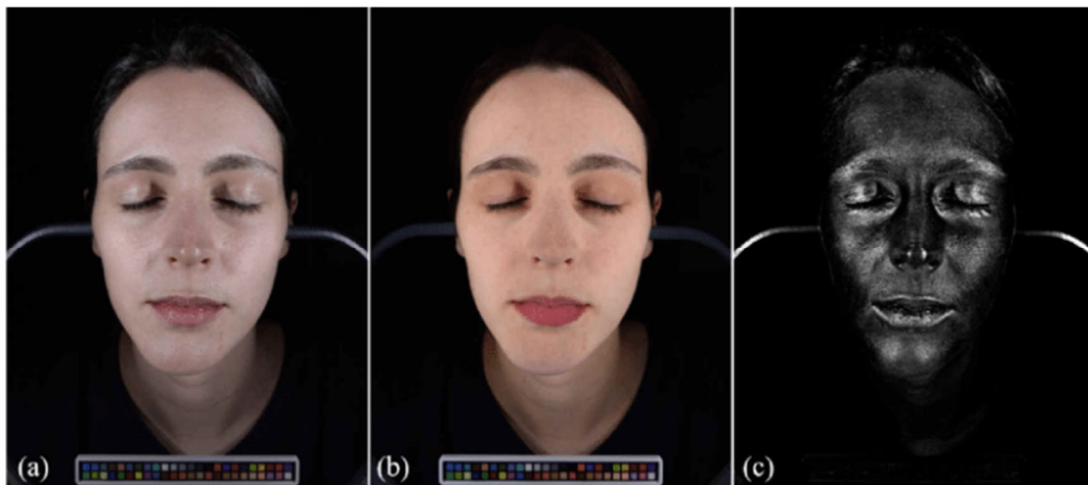


Figure 14 : Images prises avec le Colorface® afin de mesurer la brillance. (a) Eclairage en polarisation parallèle, (b) éclairage en polarisation croisée, (c) soustraction du L^ des deux autres images (192)*

3.5.3 Influence des facteurs

3.5.3.1 *Influence des facteurs environnementaux*

- Produits de consommation

La production de sébum est influencée par l'alimentation et plus particulièrement l'alimentation occidentale. Les glucides à indice glycémique élevé, les produits laitiers et les acides gras saturés ont tendance à augmenter la production de sébum. Il est donc demandé aux volontaires de garder la même alimentation 2 semaines avant le début de l'étude et tout au long de l'expérimentation (193).

- Utilisation de produits cosmétiques

Il est interdit d'utiliser des produits ayant des effets sur la production ou l'aspect du sébum 2 semaines avant le début de l'étude, et durant l'ensemble de l'expérimentation.

- Saison et heure

La production de sébum est fortement influencée par la saison. Une augmentation de 1°C de la température cutanée engendre +10% de production de sébum. La production est donc plus importante en été et au printemps. De plus, la production est à son maximum entre 12h et 14h. Les études sont donc à réaliser le matin en évitant les périodes chaudes et en respectant le temps d'acclimatation (194).

- Pollution et tabac

Ces deux facteurs produisent des composants générant des radicaux libres au niveau cutané ce qui a pour conséquence une augmentation de la production de sébum (195).

3.5.3.2 Influence des paramètres individuels

- Âge

La production de sébum varie en quantité tout au long de la vie. Cette variation est due aux changements de production des hormones androgènes. Le pic est atteint entre 15 et 35 ans. Chez les hommes, la production d'hormones diminue progressivement aux alentours de 45 ans tandis que pour les femmes une chute brutale survient à la ménopause (196). L'âge d'inclusion sera donc compris entre 18 et 35 ans pour les hommes et les femmes.

- Genre

Des différences de production de sébum sont retrouvées entre les hommes et les femmes. En effet, les hommes, quel que soit l'âge, ont des valeurs en sébum significativement supérieures à celle des femmes. Les études ne seront donc pas mixtes (196).

	20-25 ans	26-30 ans	31-35ans
Femme	1,05	0,95	0,95
Homme	1,87	1,59	1,67

Tableau 13 : Taux d'excrétion de sébum (u.a/min) chez 60 hommes et 100 femmes présentant une peau grasse, répartis en 3 tranches d'âge (197)

- Ethnie

Les sujets africains et afro-américains présentent une production plus importante de sébum par comparaison aux sujets caucasiens et asiatiques. Il est donc préférable de séparer les ethnies dans ce genre d'étude afin d'avoir un groupe homogène (196).

- Type de peau

Il est essentiel de recruter des volontaires avec des peaux grasses ou mixtes à grasses afin d'apprécier l'effet du produit.

3.5.4 Conditions de mesures

La zone de mesure sera sur la zone T du visage et plus précisément sur le front. En effet, pour les mesures, le visage est plus accessible que le dos et le décolleté. Puis la zone du front offre 2 zones de mesure contrairement au nez et au menton.

- La zone placebo : application d'un produit ou d'une substance qui n'a aucun effet sur la mesure. Le but ici est de garder le double aveugle
- La zone traitée : C'est la zone qui reçoit le produit d'investigation.

Les zones sont localisées au niveau de la zone T et plus précisément au niveau du front.

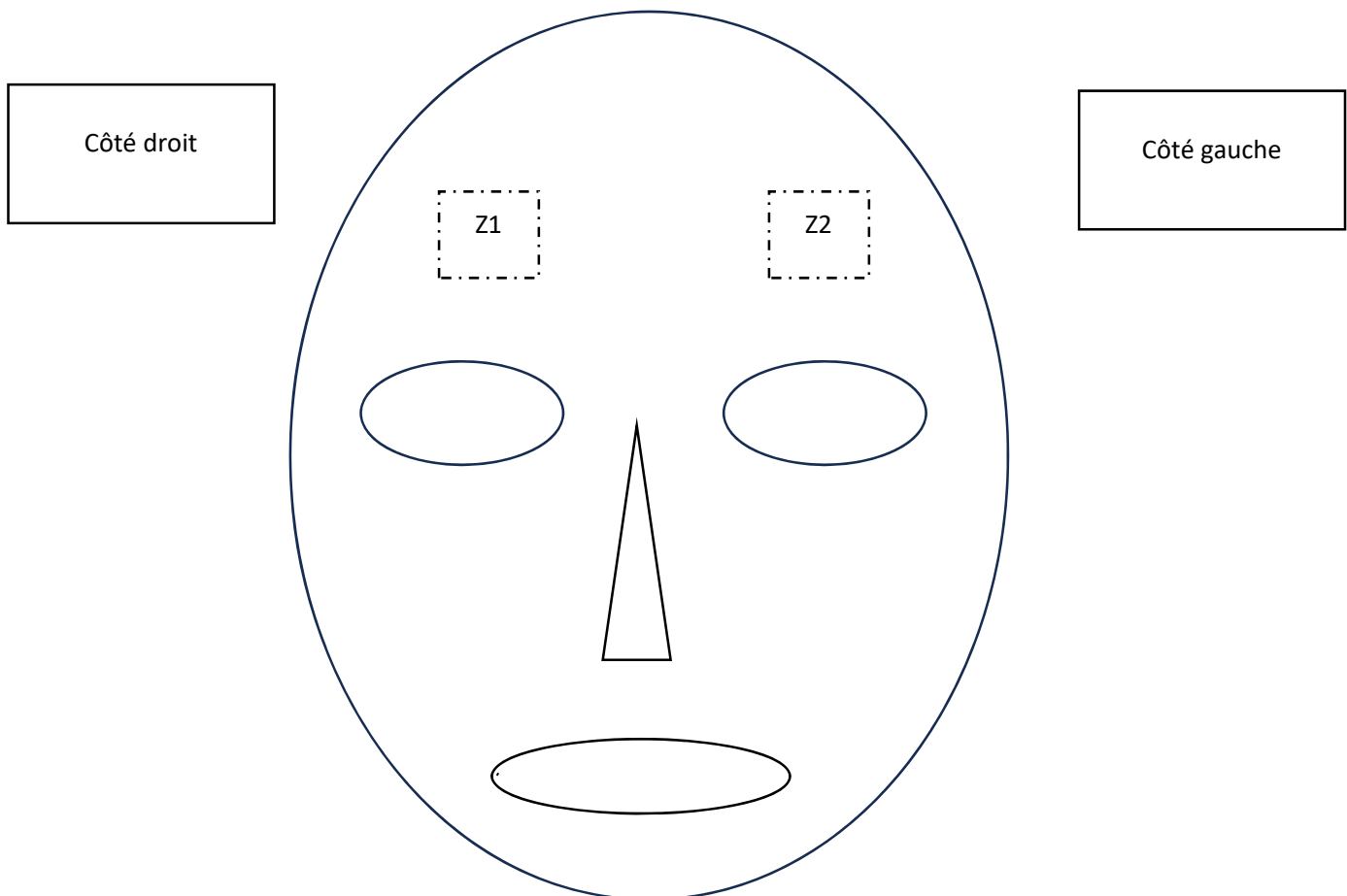


Figure 15 : Zones d'application sur le front

Lors de la randomisation, la zone placebo et la zone traitée sont attribuées aux zones Z1 et Z2 afin de limiter le biais de sélection. Il n'existe pas de recommandation sur la taille des zones. Il est cependant nécessaire de la préciser dans le protocole.

Pour l'utilisation du Sébumètre®, il est recommandé de poser perpendiculairement la sonde sur la peau, d'exercer une pression modérée et de prendre 3 mesures de masse surfacique de sébum, espacées de 30 secondes.

Chronologie de l'examen et des mesures.

Etape 1 : Vérification des critères d'inclusion et de non-inclusion ainsi que du consentement

Etape 2 : Acclimatation d'une durée comprise entre 15 et 30 minutes dans une pièce ou dans laquelle la température est comprise entre 20 et 22°C et l'humidité entre 40 et 60 % (53).

Mise en marche de l'appareil 15 à 30 minutes avant le début des mesures (durant l'acclimatation) (70).

Etape 3 : Mise en place du volontaire en position allongée afin de limiter les mouvements.

Etape 4 : Une première personne réalise 2 zones avec un pochoir en fonction de la surface préalablement déterminée. Il faut préciser à côté de chaque zone s'il s'agit de Z1 ou Z2.

Etape 5 : Une deuxième personne prend les mesures sur les 2 zones. Un ruban mat est positionné sur la zone de prélèvement durant 30 secondes. Les lipides imprègnent alors le ruban et le rendent plus transparent ; il est alors traversé par une lumière. Le capteur photoélectrique placé de l'autre côté reçoit la lumière qui a traversé le ruban et le convertit en teneur de sébum. Il est attendu une diminution significative de la teneur en sébum (183).

Etape 6 : La première personne applique, le placebo et le produit dans les zones en fonction de la randomisation qui est réalisée après l'inclusion du volontaire. L'application se fait avec le doigt équipé d'un doigtier. Elle doit être homogène sur l'ensemble de la zone préalablement délimitée. Cette même personne barre la zone qui n'est pas utilisée.

Etape 7 : La deuxième personne qui ignore l'emplacement du placebo et du produit, prend les mesures 30 minutes après l'application. Lors de la mesure, le volontaire garde l'œil fermé, il doit

rester silencieux et avoir le visage détendu. Une mesure correspond à un positionnement statique de la sonde durant 30 secondes. Il est nécessaire de faire 3 mesures. Une moyenne sera alors faite entre les 3 mesures réalisées sur la zone contrôle et sur les 3 mesures réalisées sur la zone traitée. Ces moyennes de masse surfacique de sébum seront alors comparées entre elles.

Le volontaire repart par la suite avec le placebo et le produit d'investigation anonymisés qu'il devra continuer à appliquer selon la fréquence déterminée. Il devra se laver les mains entre l'application des deux produits afin d'éviter les mélanges. Lors de chaque nouvelle visite, le volontaire sera soumis aux mêmes périodes d'acclimatations et aux mêmes conditions environnementales.

3.5.5 Conclusion

La glande sébacée a la capacité de produire un liquide lipophile appelé sébum. Ce composé est bénéfique pour la peau car il permet d'imperméabiliser l'épiderme, de réguler la température et de protéger la peau des agressions causées par les rayons du soleil. Cependant la séborrhée, qui correspond à une production excessive de sébum, a des conséquences sur la santé puisqu'elle est l'une des causes de l'acné, mais aussi sur le plan esthétique puisqu'elle rend la peau grasse et brillante. Il est donc primordial de concevoir des produits cosmétiques qui soutiennent l'allégation « anti-séborrhéique ».

Pour soutenir cette allégation, plusieurs méthodes ont été développées. La plus ancienne, et encore utilisée aujourd'hui pour sa simplicité et son faible coût, consiste à prélever du sébum à l'aide d'une matière absorbante et à mesurer la lumière qui la traverse. En effet, le sébum a la capacité de rendre des matières plus translucides quand il est au contact de celles-ci. La transparence est proportionnelle à la quantité de sébum, ce qui permet de le quantifier. L'appareil en capacité de réaliser cette mesure est le Sébumètre® qui est l'appareil de référence pour la quantification du sébum. Il est aussi possible de quantifier directement le sébum avec des microbalances. Cependant cette méthode se révèle être plus limitée sur les mesures. Le sébum a aussi la capacité de rendre la peau brillante. L'analyse de ce paramètre permet de juger de la quantité de sébum car plus la brillance est élevée plus le sébum est présent. Pour cela, le glossymètre a été développé ainsi que plus récemment des techniques d'analyse d'image qui mesurent la brillance de la peau. Cette méthode est fiable et performante mais bien moins répandue que les méthodes plus anciennes car elle est plus coûteuse, l'appareil de mesure est plus encombrant, non mobile et nécessite une salle spéciale sans interférence lumineuse. Le sébumètre reste donc la méthode de référence pour sa simplicité, son efficacité et son prix.

De plus, la production de sébum est fortement influencée par des facteurs intrinsèques et extrinsèques. Les critères d'inclusion pour ce type d'étude doivent être rigoureusement préparés et prennent en compte l'alimentation, la saison mais aussi l'âge, le genre et l'ethnie.

IV Limites

L'objectif de ce travail est de proposer des protocoles qui limitent au maximum les biais afin de présenter des expérimentations ayant un haut niveau scientifique. Malheureusement, la théorie est parfois difficile à appliquer.

La première difficulté rencontrée concerne la constitution du panel. Il est toujours complexe d'éviter les biais de sélection tout en obtenant des groupes représentatifs de la population. En effet, afin de limiter au maximum le biais de sélection, il convient d'établir des critères d'inclusion et d'exclusion rigoureux et donc restrictifs. En affinant au maximum ces critères, les résultats sont optimisés mais l'échantillon analysé devient moins représentatif de la population cible. Prenons l'exemple du test anti-âge. En interdisant une exposition excessive au soleil, mesure nécessaire pour apprécier l'effet du produit, l'échantillon est rendu moins représentatif de la population.

Autre difficulté, les études cliniques cosmétiques sont entièrement basées sur le volontariat de sujets sains. Alors que les études cliniques médicamenteuses sont basées sur le volontariat mais avec des personnes porteuses de pathologies, souvent recrutées par les médecins traitants ou hospitalier, les personnes participant aux études cliniques cosmétiques se présentent d'elles même. C'est ce que l'on appelle le biais de volontariat

De plus, les expérimentations nécessitent une certaine disponibilité du volontaire, ce qui constitue un frein pour les volontaires ayant une activité professionnelle. Ainsi, sont composés des groupes de personnes, en majorité sans activité, et par conséquent non représentatifs de la population. Ce problème est connu et entre dans la catégorie des biais des travailleurs en bonne santé.

Par ailleurs, une autre des difficultés rencontrées est le nombre de volontaires. Afin de le déterminer, il convient de rassembler un certain nombre de données préalables à l'étude comme la prévalence ainsi que la moyenne et les écarts types. Il est par exemple difficile de trouver la prévalence d'un certain grade de ride au niveau de la patte d'oie chez les femmes et les hommes se trouvant dans la tranche d'âge 40/ 65 ans ainsi que la moyenne et l'écart type. Par conséquent, il est réalisé dans ce cas une approximation de la taille d'effet de Cohen. Cette solution n'engendre pas un grand biais statistique mais reste une source d'approximation.

Le nombre de volontaires à inclure varie d'une trentaine pour les tests les moins robustes, à plusieurs centaines pour les tests statistiquement solides. Le bon sens voudrait que les études soient composées d'une centaine de volontaires pour obtenir des résultats très significatifs. Il est cependant difficile d'inclure un nombre aussi important de sujets. Comme mentionné en amont, les évaluations cliniques cosmétiques sont réalisées sur des personnes saines et volontaires. Une insuffisance d'information sur ces tests auprès du public, rend la liste des volontaires disponibles peu développée. De plus, les tests requièrent souvent des spécificités telles qu'un type de peau, un phototype, une ethnie, un âge ou un grade de peau (fermeté, ride de la patte d'oie...), ce qui réduit d'autant le nombre de volontaires potentiels. Dans la mesure du possible, l'expérimentation doit être réalisée sur un panel d'au moins 20 volontaires. Ce chiffre correspond au nombre minimal dans les conditions de validité des tests paramétriques. Il est possible de réaliser le test avec moins de 20 volontaires. Il faudra alors utiliser un test non paramétrique qui est statistiquement moins puissant (198).

La deuxième difficulté rencontrée concerne le respect du double aveugle. Afin de respecter ce principe, il est impératif que le praticien et le volontaire ignorent la nature du produit appliqué : placebo ou produit expérimental. Cependant, il est compliqué de concevoir pour toutes les expérimentations un produit placebo, avec les mêmes caractéristiques organoleptiques et qui ne possède aucun effet susceptible d'influencer les mesures. De plus, l'organisation des études avec deux praticiens qui préparent, appliquent et prennent les mesures est un défi logistique parfois compliqué à relever.

La troisième difficulté rencontrée concerne les prises de mesure.

La peau est un organe vivant qui peut rendre des résultats très différents entre deux mesures, tout comme les appareils de mesure malgré un haut niveau de technologie. En théorie, nous préconisons de faire une moyenne sur un certain nombre de mesures déterminées. Mais en pratique, l'une d'elle peut être aberrante. La moyenne sera alors faussée, rendant de mauvais résultats. Il est possible de supprimer cette valeur et de recommencer la mesure. Cependant, cette pratique engendre un biais de subjectivité de la part de la personne qui opère car elle va prendre la décision de supprimer un ou plusieurs mauvais résultats. Il faudrait donc calculer

statistiquement l'intervalle des valeurs acceptables pour avoir une moyenne non faussée, et reprendre les mesures uniquement quand elles sont en dehors des bornes de l'intervalle.

La question de l'observance se pose lors des tests aux cinétiques longues, lorsque les volontaires doivent appliquer le produit d'investigation et le placebo à leur domicile. Au-delà, d'un oubli qui reste une source de biais pour toutes les études cliniques, l'éventualité d'un mélange du placebo et du produit testé occasionné par d'un mauvais nettoyage des mains n'est pas à exclure. De même pour une inversion de zone. Ces risques sont malheureusement existants lors des expérimentations avec plusieurs produits à appliquer hors laboratoire.

Pour le protocole des produits raffermissants au niveau des cuisses, plusieurs difficultés sont rencontrées. Il est demandé comme critère d'inclusion, un manque de fermeté à ce niveau. Cependant, la localisation de ce type de zone varie entre deux volontaires. Elle peut se situer sur la partie antérieure, centrale ou extérieure de la cuisse. Il est donc compliqué de faire un protocole avec une zone précise. Ce problème peut être évité si le technicien en charge de l'expérimentation, précise sur les cahiers d'observations de tous les volontaires, la zone d'application et de mesure. En revanche, un souci de reproductibilité va être rencontré. Même si le technicien marque la zone dans les documents d'étude, il est compliqué de la repositionner avec une grande précision. Les mesures peuvent potentiellement être prises à deux endroits différents en fonction du jour, rendant la comparaison moins fiable.

Les protocoles proposés lors de ce travail, l'ont été pour une zone déterminée et sans précision de la galénique du produit d'expérimentation. Il est possible de réaliser un test d'hydratation sur les jambes ou le front mais aussi un test anti séborrhéique dans le dos. Dans ce cas, des modifications seront à faire dans les protocoles d'études en fonction de la zone choisie comme par exemple la position du volontaire lors des mesures ou les produits prohibés avant et pendant l'étude. De plus, ces protocoles sont conçus pour des produits d'investigation qui s'appliquent jusqu'à pénétration complète. Des modifications sont à prévoir avec des produits à émulsionner ou à rincer mais aussi des produits à appliquer en couche mince ou épaisse.

CONCLUSIONS GENERALES *à intégrer dans la thèse

THESE SOUTENUE PAR M. VICTOIRE Mathieu

La revue de la réglementation cosmétique nous a permis de nous rendre compte que malgré l'obligation de réaliser des tests d'efficacité pour soutenir les allégations d'un produit, il n'existe que très peu d'indications sur la réalisation technique des tests. Il faut se renseigner auprès des fédérations et des groupes de travail pour trouver des "guidelines" sur les tests. Ces guidelines nous permettent de comprendre les informations que doit contenir un protocole de test d'efficacité cosmétique. Cependant, les indications qui y sont retrouvées ne sont pas assez nombreuses et développées. Ce manque de précision a pour conséquence de laisser une trop grande liberté de décision aux centres d'évaluation cliniques cosmétiques, ce qui engendre des disparités pour le même test, réalisé à deux endroits différents. Ce travail a ainsi ciblé les biais que peut comporter une étude clinique et propose en conséquence, des protocoles avec une forte valeur scientifique. L'objectif est de créer des documents utilisables par les différents centres afin que le lieu de réalisation des tests n'induisse pas de différence sur les résultats. Il convient d'obtenir une harmonisation des pratiques.

Ce travail propose quatre protocoles pouvant soutenir quatre allégations pour un produit cosmétique : Hydratant, anti-ride, anti-séborrhéique et raffermissant. Dans un premier temps, une revue des différentes méthodes et appareils a été réalisée pour montrer l'étendue des techniques utilisables et choisir la plus pertinente. Par la suite, les facteurs extrinsèques et intrinsèques pouvant influencer les mesures ont été détaillés afin de préparer les critères d'inclusion et d'exclusion. Pour finir, les conditions de mesure avec les zones et la chronologie ont été décrites.

La construction des quatre protocoles a été identique. Après une analyse des biais potentiels dans une étude clinique, un protocole a été créé en conséquence en partant des exigences demandées par la réglementation et des recommandations des guidelines.

Pour conclure, ces travaux ont permis la création de quatre protocoles d'évaluation de l'efficacité d'un produit cosmétiques respectant la réglementation et minimisant les biais mais aussi la mise en lumière de la difficulté de réaliser des expérimentations sans biais.

Le Président de la thèse,

Nom : Pr ARMOIRY Xavier

Vu et permis d'imprimer, Lyon, le

Vu, le Directeur de l'Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Faculté de Pharmacie

24 FEV. 2025

P/O Le Directeur et par délégation
Le Directeur adjoint
Lars Petter JORDHEIM

Signature :



Pour le Président de l'Université Claude Bernard Lyon 1,

Annexe 1 : Protocole : Hydratation d'un ou plusieurs produits d'investigation par la mesure de la PIE

Protocole : Hydratation d'un ou plusieurs produits d'investigation par la mesure de la PIE

1 INFORMATION GENERALE

I Objectif

L'évaluation de l'effet hydratant [d'un produit cosmétique/ de l'association de plusieurs produits cosmétiques] sur la barrière cutanée par la mesure de la perte insensible en eau via un [(Tewamètre®/ Vapomètre®)] [après une application unique/ après applications répétées] durant X [heure(s)/ jour(s)] sur des volontaires adultes [féminin/masculin]

II Caractéristiques produit[s]

Nom du produit	
Référence/ numéro de lot	
Date de production	
Condition de stockage	
Type de produit / galénique	
Quantité à appliquer	
Emballage primaire	

Un échantillon sera conservé durant 6 mois minimum.

III Procédure du test

L'expérimentation se déroule au [adresse de l'expérimentation]

Le calendrier de l'étude sera le suivant :

	Jour 1				
Etapas	T0	T15min	TXheure	TXheure	TXheure
Vérification des critères d'inclusion					
Acclimatation					
Mesure de la PIE					
Application du produit par le technicien		(1)			

(1) Après prise de mesure de la PIE

Ou

	Jour 1		Jour X	
Etapas	T0	T15min	T0	T15min
Vérification des critères d'inclusion				
Acclimatation				
Mesure de la PIE				
Application du produit par le technicien		(1)		
Application du produit à domicile par le volontaire				

(2) Après prise de mesure de la PIE

IV Gestion et traitement des données

Les données collectées sur les différents documents d'étude peuvent être de nature électronique ou de nature papier.

- Pour les documents papiers, ils peuvent être remplis par les volontaires ou le technicien au début ou au cours de l'étude. Ils seront par la suite scannés et imprimés. Un dossier physique sera alors constitué et archivé. Un dossier électronique sera lui aussi créé et archivé dans les disques durs
- Pour les documents électroniques, les valeurs sur les documents d'étude auront une saisie simple par le technicien, puis un archivage électronique et physique. Pour les documents avec des valeurs d'étude, ils auront une double saisie par deux techniciens afin d'éviter les erreurs puis ils suivront le même chemin d'archivage.

Pour s'assurer que les valeurs suivent une loi Normale, un test de Shapiro-Wilk au risque de 5% (p doit être inférieur à 0.05) est réalisé.

Si les valeurs suivent une loi Normale, un test de Student « t » par paire pour les échantillons indépendants sera fait en bilatéral au risque alpha de 5%.

On définira deux hypothèses :

- Hypothèse nulle H0 : la valeur moyenne du groupe à différents temps est égale
- Hypothèse alternative H1 : la valeur moyenne du groupe à différents temps est différente

Si les données ne suivent pas la loi Normale, un test non paramétrique de Wilcoxon sera fait test bilatéral au risque 5%

- Hypothèse nulle H0 : il n'y a pas de différence entre les valeurs
- Hypothèse alternative H1 : il existe une différence entre les valeurs

Seront réalisées :

Une première analyse entre les zones avant l'application du produit afin d'apprécier si les zones peuvent être comparées entre elles.

$$m(T0 \text{ traitée}) - m(T0 \text{ contrôle})$$

$$m(T0 \text{ traitée}) - m(T0 \text{ placebo})$$

Une deuxième analyse sur l'effet produit entre les deltas obtenus sur les zones.

$$\Delta(Tx \text{ temps} - T0)_{\text{traitée}} - \Delta(Tx \text{ temps} - T0)_{\text{contrôle}}$$

$$\Delta(Tx \text{ temps} - T0)_{\text{traitée}} - \Delta(Tx \text{ temps} - T0)_{\text{placebo}}$$

Le logiciel utilisé pour ces calculs est [nom du logiciel]

V Matériel et réactifs

Le TEWAMETRE® est un dispositif produit par Courage + Khazaka electronic [référence :] qui va mesurer l'évolution de la PIE afin d'évaluer la fonction barrière de la peau.

Il est composé de deux parties :

- Un générateur principal doté d'un écran digital qui va permettre de donner une valeur numérique aux mesures.
- Une sonde de forme cylindrique composée de deux parties :
 - o le corps, cylindrique, permet de tenir la sonde. Il est équipé d'un interrupteur pour prendre la mesure.
 - o la tête, autre cylindre creux, est positionnée perpendiculairement au premier. Cette partie posée sur la peau pour la prise de mesure, est composée de capteurs. Le principe est la mesure du gradient de pression de vapeur d'eau entre deux points distincts de la peau. Les capteurs dans le cylindre, en mesurant la température et l'humidité relative permettent de calculer la PIE (g/m²h).

Le principe est de mesurer le gradient de pression de vapeur d'eau entre deux points distincts de la peau. Les capteurs dans le cylindre vont mesurer la température et l'humidité relative afin de calculer la PIE (g/m²h).

$$\frac{dm}{dt} = -D \cdot A \cdot \frac{dp}{dx}$$

m eau transportée (g)

t temps (h)

A surface (m²)

D constante de diffusion (m²s⁻¹)

p pression de la vapeur atmosphérique (mmHg)

x distance entre la peau et le point de mesure (m)

Ce dispositif nous permet ainsi de calculer la PIE avant et après application d'un ou plusieurs produits cosmétiques afin de suivre l'évolution de cette valeur et de constater l'effet du ou des produits sur la barrière cutanée.

Il est conseillé de travailler dans une salle à température ambiante (20 à 22°C) et avec une humidité comprise entre 40 à 60 %. Une période d'acclimatation de 15 minutes est recommandée.

ou

Le VAPOMETRE® est un dispositif produit par Delfin [référence :] qui va mesurer l'évolution de la PIE afin d'évaluer la fonction barrière de la peau.

Il est composé d'un seul élément ; une sonde sans fil à chambre fermée. Il s'agit d'un cylindre composé d'un bouton permettant de prendre les mesures et d'un petit écran numérique.

L'augmentation de l'humidité relative va permettre de calculer le taux d'évaporation (g/m²h).

Ce dispositif nous permet ainsi de calculer la PIE avant et après application d'un ou plusieurs produits cosmétiques afin de suivre l'évolution de cette valeur et de constater l'effet du ou des produits sur la barrière cutanée.

Il est conseillé de travailler dans une salle à température ambiante (20 à 22°C) et avec une humidité comprise entre 40 à 60 %. Une période d'acclimatation de 15 minutes est recommandée.

2 INFORMATION SPECIFIQUE

I Test de sécurité

Les tests de sécurité sur le[s] produit[s] d'investigation ont bien été faits dans les mêmes conditions que celles du protocole.

II Les volontaires

2.1 Critères d'inclusion

- Personne ayant donné son accord et signé le consentement
- Âge [18 à 65 ans]
- Genre [Femme/Homme]
- Phototype [I/II/III/IV/V/VI]
- Type de peau [Mixte/Sèche/Normale/Grasse]

2.2 Critères d'exclusion

- Volontaire présentant des blessures sur les avant-bras
- Volontaire présentant des lésions de dermatite atopique au niveau des avant-bras
- Tabagisme actif
- Volontaire étant en situation de ménopause
- Volontaire ayant des bouffées de chaleur
- Femmes enceintes ou allaitantes
- Volontaire ayant déjà rencontré des situations d'allergie et d'effet indésirable suite à l'exposition à un produit cosmétique
- Volontaire qui s'est lavé les avant-bras le matin de l'expérimentation (eau interdite)
- Volontaire qui a utilisé des nettoyeurs à base de tensioactifs anioniques, des savons antimicrobiens et des savons hydratants durant la semaine précédant l'expérimentation
- Consommation d'alcool ou de nourriture épicée avant le début de l'étude
- Volontaire qui s'est exposé au soleil

Produits interdits durant l'expérimentation

- Tabac
- Alcool ; nourriture épicée
- Paracétamol
- Anti-inflammatoires non-stéroïdiens
- Exposition au soleil
- Exfoliation

III Nombre de volontaire

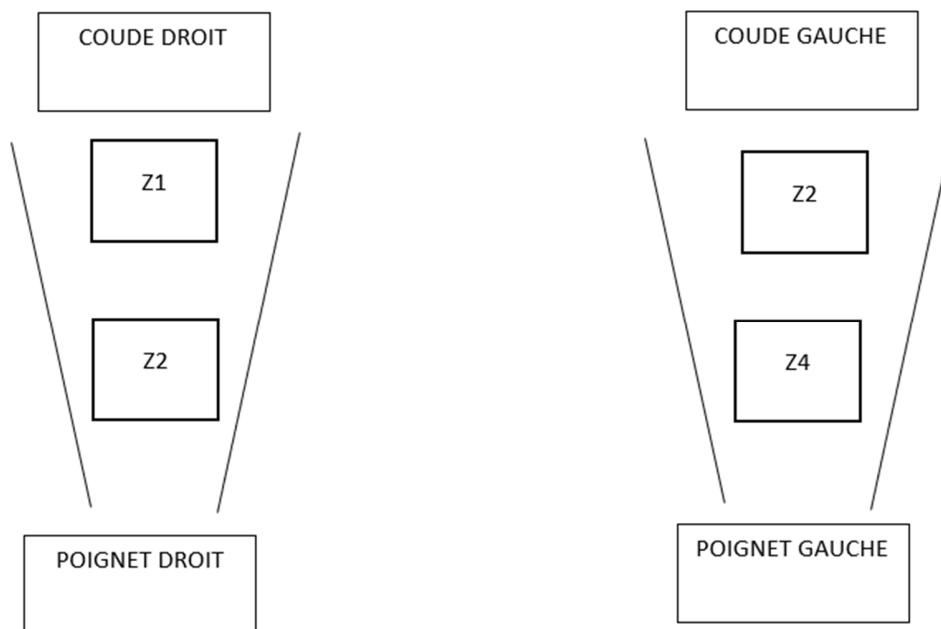
D'après le logiciel G*POWER 3.1.9.7, pour un risque alpha à 5% et une puissance de 90%, le nombre de volontaires dépendra de la taille d'effet moyenne. Il sera de :

- 542 lorsque $d = 0,2$
- 88 lorsque $d = 0,5$
- 35 lorsque $d = 0,8$

IV Méthodologie

- Quantité de produit à appliquer : [en fonction de l'expérimentation]
- Fréquence d'application : [en fonction du design]
- Zones d'application :

3 zones sont à déterminer sur les 4 emplacements des deux avant bras comme représenté ci-dessous. La zone contrôle, la zone placebo et la zone traitée. Elles seront déterminées après randomisation par [mettre logiciel de randomisation]



- Taille des zones :
- Conditions d'application : Application par le même technicien, dans les mêmes conditions. Si pas de recommandation de la part de l'industriel, l'application est réalisée avec un

doigtier placé sur l'index ou le majeur, par répétition de mouvement circulaire jusqu'à pénétration du produit. C'est une étude comparative en double aveugle dans laquelle le volontaire est utilisé pour sa propre zone contrôle.

- Paramètre évalué et méthode d'évaluation : PIE significativement plus basse entre la zone traitée et les zones contrôle et placebo. Pour cela, prise de mesure de la PIE sur les différentes zones à différents moments.

Déroulé de l'étude :

Etape 1 : Vérification des critères d'inclusion et de non-inclusion ainsi que le consentement.

Etape 2 : Acclimatation d'une durée d'au moins 20 minutes dans une pièce dans laquelle la température est comprise entre 20 et 22°C et l'humidité entre 40 et 60 %. Bien s'assurer que les parties des avant bras soient découvertes durant la période d'acclimatation.

Allumer l'appareil 15 à 30 minutes avant le début des mesures (durant l'acclimatation).

Etape 3 : Placement des avant bras sur la table d'examen, les paumes dirigées vers le plafond. Le volontaire devra garder cette position tout au long des mesures sans bouger.

Etape 4 : Une première personne détermine 4 zones avec un pochoir en fonction de la surface préalablement déterminée. Il faut préciser à côté de chaque zone s'il s'agit de la Z1, Z2, Z3 ou Z4.

Etape 5 : Une deuxième personne prend les mesures sur les 3 zones.

Etape 6 : La première personne vient appliquer le placebo et le produit d'investigation en fonction de la randomisation. La quantité dépend des tests réalisés en amont. La randomisation est réalisée après l'inclusion du volontaire. L'application se fait avec le doigt équipé d'un doigtier. Elle doit être homogène sur l'ensemble de la zone préalablement délimitée. Cette même personne barre la zone qui n'est pas utilisée

Etape 7 : La deuxième personne qui ne connaît pas l'emplacement du placebo, du produit et de la zone contrôle vient prendre les mesures 30 minutes après l'application.

La prise de mesure est très sensible, le volontaire doit donc ne pas parler durant l'expérimentation et ne pas regarder les zones lors de la prise de mesure afin d'éviter un accès de transpiration généré par des émotions qui ferait varier les mesures.

Il est nécessaire de faire 3 mesures à 5 secondes d'intervalle. Une moyenne sera alors faite entre ces mesures.

Toutes nouvelles mesures devront respecter les étapes 2,3 et 7.

Annexe 2 : Protocole : Efficacité anti-ride d'un ou plusieurs produits d'investigation par la mesure topographique des rides

Protocole : Efficacité anti-ride d'un ou plusieurs produits d'investigation par la mesure topographique des rides

1 INFORMATION GENERALE

I Objectif

L'évaluation de l'effet anti-âge [d'un produit cosmétique/ de l'association de plusieurs produits cosmétiques] sur les rides de la patte d'oie par la mesure des paramètres de la douceur de la peau (Se_{sm}) et des rides (Se_w) via une caméra UVA haute définition [après une application unique/ après applications répétées] durant X [jour(s)/ semaine(s)] sur des volontaires adultes [féminin/masculin] .

II Caractéristiques produit[s]

Nom du produit	
Référence/ numéro de lot	
Date de production	
Condition de stockage	
Type de produit / galénique	
Quantité à appliquer	
Emballage primaire	

Un échantillon sera conservé durant 6 mois minimum.

III Procédure du test

L'expérimentation se déroule au [adresse de l'expérimentation]

Le calendrier de l'étude sera le suivant :

	Jour 1		Jour X	
Etapas	T0	T15min	T0	T15min
Vérification des critères d'inclusion				
Acclimatation				
Prise de mesure des paramètres Se_{sm} et Se_w				
Application du produit par le technicien				
Application du produit à domicile par le volontaire				

IV Gestion et traitement des données

Les données collectées sur les différents documents d'étude peuvent être de nature électronique ou de nature papier.

- Pour les documents papiers, ils peuvent être remplis par les volontaires ou le technicien au début ou au cours de l'étude. Ils seront par la suite scannés et imprimés. Un dossier physique sera alors constitué et archivé. Un dossier électronique sera lui aussi créé et archivé dans les disques durs
- Pour les documents électroniques, les valeurs sur les documents d'étude auront une saisie simple par le technicien, puis un archivage électronique et physique. Pour les documents avec des valeurs d'étude, ils auront une double saisie par deux techniciens afin d'éviter les erreurs puis ils suivront le même chemin d'archivage.

Pour s'assurer que les valeurs suivent une loi Normale, un test de Shapiro-Wilk au risque de 5% (p doit être inférieur à 0.05) est réalisé.

Si les valeurs suivent une loi Normale, un test de Student « t » par paire pour les échantillons indépendants sera fait en bilatéral au risque alpha de 5%.

On définira deux hypothèses.

- Hypothèse nulle H0 : la valeur moyenne du groupe à différents temps est égale
- Hypothèse alternative H1 : la valeur moyenne du groupe à différents temps est différente

Si les données ne suivent pas la loi Normale, un test non paramétrique de Wilcoxon sera fait test bilatéral au risque 5%

- Hypothèse nulle H0 : il n'y a pas de différence entre les valeurs
- Hypothèse alternative H1 : il existe une différence entre les valeurs

Seront réalisées :

Une première analyse entre les zones avant l'application du produit afin d'apprécier si les zones peuvent être comparées entre elles.

$$m(T0 \text{ traitée}) - m(T0 \text{ placebo})$$

Une deuxième analyse sur l'effet produit entre les deltas obtenus sur les zones.

$$\Delta(Tx \text{ temps} - T0)_{\text{traitée}} - \Delta(Tx \text{ temps} - T0)_{\text{placebo}}$$

Le logiciel utilisé pour ces calculs est [nom du logiciel]

V Matériel et réactifs

Le Visioscan® VC 20 plus est un dispositif produit par Courage + Khazaka electronic [référence :] qui va mesurer la topographie de la peau mais aussi d'autres paramètres comme l'hydratation.

Il est composé de deux parties :

- Un générateur principal relié à un ordinateur pour avoir un aperçu des images et avoir les mesures.
- Une caméra d'une quinzaine de centimètres équipée d'un bouton permettant les mesures. La caméra est une caméra vidéo UVA haute résolution. Elle est positionnée directement à la perpendiculaire de la peau pour prendre les mesures.

Le principe est la mesure de 4 paramètres qui sont la douceur de la peau (Se_{sm}), la rugosité de la peau (Se_r), les squames (Se_{sc}) et les rides (Se_w).

Pour la rugosité de la peau (Se_r) et les squames (Se_{sc}), la caméra analyse le nombre de pixel blancs et gris. Les pixels blancs représentent les squames de la peau, les imperfections.

Pour la douceur de la peau (Se_{sm}) et les rides (Se_w), la caméra calcule la profondeur, la largeur et la proportion des rides. Ce sont ces deux paramètres qui nous intéressent : nous cherchons une diminution afin de prouver un effet anti-âge.

Ce dispositif nous permet ainsi d'observer l'évolution des rides avant et après application d'un ou plusieurs produits cosmétiques afin de constater l'effet du ou des produits.

Il est conseillé de travailler dans une salle à température ambiante (20 à 22°C) et avec une humidité comprise entre 40 à 60 %. Une période d'acclimatation de 15 minutes est recommandée.

.

2 INFORMATION SPECIFIQUE

I Test de sécurité

Les tests de sécurité sur le[s] produit[s] d'investigation ont bien été faits dans les mêmes conditions que celles du protocole.

II Les volontaires

2.1 Critères d'inclusion

- Personne ayant donné son accord et signé le consentement
- Âge [40 à 50 ans]
- Genre [Femme/Homme]
- Ethnie [Africain/ Asiatique/ Caucasien/ Indien]
- Type de peau [Mixte/Sèche/Normale/Grasse]
- Grade de ride

2.2 Critères d'exclusion

- Volontaire présentant des lésions sur la zone des rides de la patte d'oie
- Volontaire présentant des lésions de dermatites atopiques au niveau du visage
- Tabagisme actif et passif
- Femmes enceintes ou allaitantes
- Volontaire ayant déjà rencontré des situations d'allergie et d'effet indésirable suite à l'exposition à un produit cosmétique
- Volontaire qui s'est exposé au soleil
- Volontaire qui a utilisé des produits avec des actifs anti-âge durant les 2 semaines précédant l'expérimentation
- Volontaire en situation de ménopause ou péri ménopause

Produits interdits durant l'expérimentation

- Tabac
- Exposition au soleil
- Produit cosmétique avec des effets anti-âge
- Le maquillage au niveau des yeux
- Produits topiques à base d'hormone

III Nombre de volontaire

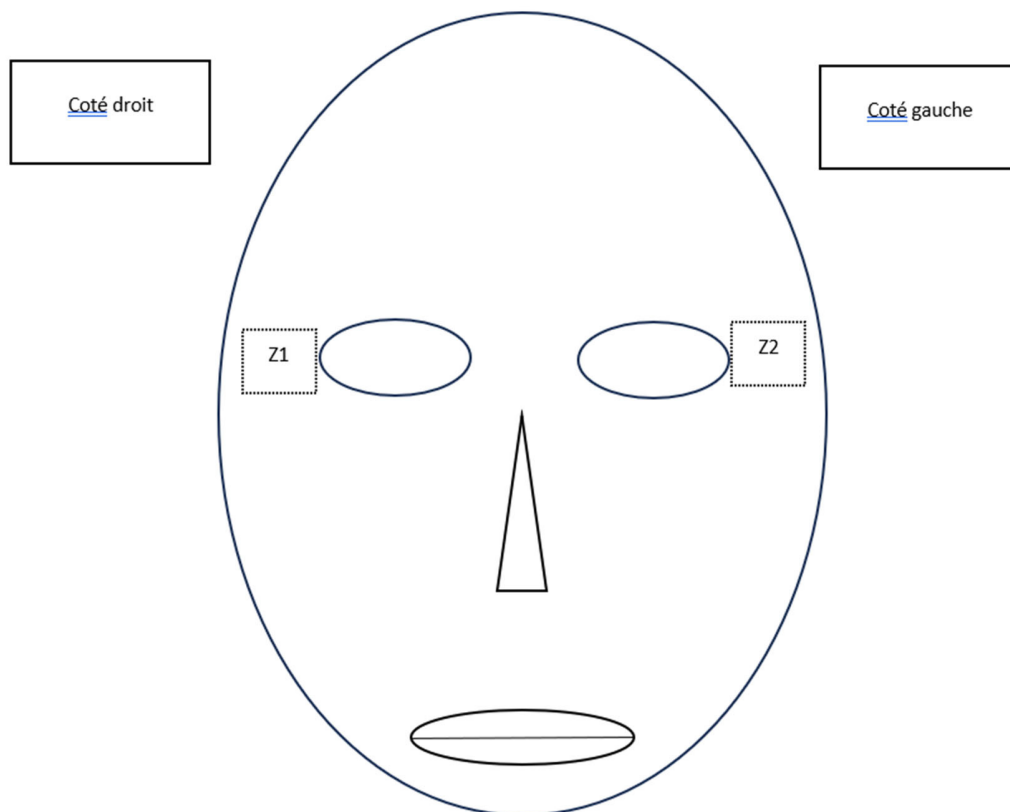
D'après le logiciel G*POWER 3.1.9.7, pour un risque alpha à 5% et une puissance de 90%, le nombre de volontaires dépendra de la taille d'effet moyenne. Il sera de :

- 542 lorsque $d = 0,2$
- 88 lorsque $d = 0,5$
- 35 lorsque $d = 0,8$

IV Méthodologie

- Quantité de produit à appliquer : [en fonction de l'expérimentation]
- Fréquence d'application : [en fonction du design]
- Zones d'applications :

2 zones sont à déterminer sur la partie extérieure des yeux comme représenté ci-dessous. La zone placebo et la zone traitée. Elles seront déterminées après randomisation par [mettre logiciel de randomisation]



- Taille des zones :

- Condition d'application : Application par le même technicien, dans les mêmes conditions. Si pas de recommandation de la part de l'industriel, l'application est réalisée avec un doigtier placé sur l'index ou le majeur, par répétition de mouvements circulaires jusqu'à pénétration du produit. C'est une étude comparative en double aveugle dans laquelle le volontaire est utilisé pour sa propre zone contrôle.
- Paramètre évalué et méthode d'évaluation: la douceur de la peau (Se_{sm}) et les rides (Se_w) significativement plus basse entre la zone traitée et la zone placebo. Pour cela, est réalisée une prise de mesure de la douceur de la peau (Se_{sm}) et les rides (Se_w) sur les différentes zones à différents moments.

Déroulé de l'étude :

Etape 1 : Vérification des critères d'inclusion, de non-inclusion et du consentement

Etape 2 : Acclimatation d'une durée comprise entre 15 et 30 minutes dans une pièce dans laquelle la température est comprise entre 20 et 22°C et l'humidité entre 40 et 60 %.

Mise en marche de l'appareil 15 à 30 minutes avant le début des mesures (durant l'acclimatation).

Etape 3 : Mise en place du volontaire en position allongée afin de limiter les mouvements.

Etape 4 : Une première personne réalise 2 zones avec un pochoir en fonction de la surface préalablement déterminée. Il faut préciser à côté de chaque zone s'il s'agit de la Z1 ou Z2.

Etape 5 : Une deuxième personne prend les mesures sur les 2 zones.

Etape 6 : La première personne applique le placebo et le produit dans les zones en fonction de la randomisation, celle-ci est réalisée après l'inclusion du volontaire. L'application se fait avec le doigt équipé d'un doigtier, elle doit être homogène sur l'ensemble de la zone préalablement délimitée.

Etape 7 : La deuxième personne qui ignore l'emplacement du placebo et du produit prend les mesures 30 minutes après l'application. Lors de la mesure, le volontaire garde l'œil fermé et tourne légèrement la tête afin de faciliter la prise de mesure. Le volontaire doit rester silencieux et avoir le visage détendu afin d'éviter une accentuation des rides. Il est nécessaire de faire 3 mesures de douceur (Se_{sm}) et de rides (Se_w) avec 5 secondes d'intervalle. Une moyenne sera alors faite entre ces mesures.

Le volontaire repart par la suite avec le placebo et le produit d'investigation anonymisés qu'il devra continuer à appliquer selon la fréquence déterminée. Il devra se laver les mains entre l'application des deux produits afin d'éviter les mélanges. Lors de chaque nouvelle visite, le volontaire sera soumis aux mêmes périodes d'acclimations et conditions environnementales.

Annexe 3 : Protocole : Efficacité raffermissant d'un ou plusieurs produits d'investigation par la mesure de la fermeté de la peau

Protocole : Efficacité raffermissant d'un ou plusieurs produits d'investigation par la mesure de la fermeté de la peau

1 INFORMATION GENERALE

I Objectif

L'évaluation de l'effet raffermissant [d'un produit cosmétique/ de l'association de plusieurs produits cosmétiques] sur les cuisses par mesure de la distance parcourue par la peau (Uf) après aspiration [après une application unique/ après applications répétées] durant X [jour(s)/ semaine(s)] sur des volontaires adultes [féminin/masculin]

II Caractéristiques produit[s]

Nom du produit	
Référence/ numéro de lot	
Date de production	
Condition de stockage	
Type de produit / galénique	
Quantité à appliquer	
Emballage primaire	

Un échantillon sera conservé durant 6 mois minimum.

III Procédure du test

L'expérimentation se déroule au [adresse de l'expérimentation]

Le calendrier de l'étude sera le suivant :

	Jour 1		Jour X	
Etapas	T0	T15min	T0	T15min
Vérification des critères d'inclusion				
Acclimatation				
Prise de mesure du paramètre Uf				
Application du produit par le technicien				
Application du produit à domicile par le volontaire				

IV Gestion et traitement des données

Les données collectées sur les différents documents d'étude peuvent être de nature électronique ou de nature papier.

- Pour les documents papiers, ils peuvent être remplis par les volontaires ou le technicien au début ou au cours de l'étude. Ils seront par la suite scannés et imprimés. Un dossier physique sera alors constitué et archivé. Un dossier électronique sera lui aussi créé et archivé dans les disques durs
- Pour les documents électroniques, les valeurs sur les documents d'étude auront une saisie simple par le technicien, puis un archivage électronique et physique. Pour les documents avec des valeurs d'étude, ils auront une double saisie par deux techniciens afin d'éviter les erreurs puis ils suivront le même chemin d'archivage.

Pour s'assurer que les valeurs suivent une loi Normale, un test de Shapiro-Wilk au risque de 5% (p doit être inférieur à 0.05) est réalisé.

Si les valeurs suivent une loi Normale, un test de Student « t » par paire pour les échantillons indépendants sera fait en bilatéral au risque alpha de 5%.

On définira deux hypothèses.

- Hypothèse nulle H0 : la valeur moyenne du groupe à différents temps est égale
- Hypothèse alternative H1 : la valeur moyenne du groupe à différents temps est différente

Si les données ne suivent pas la loi Normale, un test non paramétrique de Wilcoxon sera fait test bilatéral au risque 5%

- Hypothèse nulle H0 : il n'y a pas de différence entre les valeurs
- Hypothèse alternative H1 : il existe une différence entre les valeurs

Seront réalisées :

Une première analyse entre les zones avant l'application du produit afin d'apprécier si les zones peuvent être comparées entre elles.

$$m(T0 \text{ traitée}) - m(T0 \text{ placebo})$$

Une deuxième analyse sur l'effet produit à travers les deltas obtenus entre les zones.

$$\Delta(Tx \text{ temps} - T0)_{\text{traitée}} - \Delta(Tx \text{ temps} - T0)_{\text{placebo}}$$

Le logiciel utilisé pour ces calculs est [nom du logiciel]

V Matériel et réactifs

Le Cutomètre® Double MPA 580 est un dispositif produit par Courage + Khazaka electronic [référence :] qui mesure la fermeté et l'élasticité de la peau après une aspiration de celle-ci.

Il est composé de deux parties :

- Un générateur principal relié à un ordinateur qui permet d'avoir un aperçu des courbes et d'obtenir les mesures.
- Une sonde d'une quinzaine de centimètres. Cette sonde contient en son centre un cylindre creux. C'est ici que la peau va remonter lors de l'aspiration. Des capteurs optiques se situent dans la paroi du cylindre. Ils émettent et réceptionnent la lumière. Lorsque la peau est aspirée, elle coupe le faisceau de lumière ce qui permet de calculer la distance parcourue par la peau. Elle est positionnée directement à la perpendiculaire de la peau lors de la mesure. Afin de mesurer les paramètres du *stratum corneum*, une sonde de 2mm est choisie.

Cet appareil est capable de fournir de nombreuses valeurs. Une seule nous intéresse pour la fermeté. Les autres seront utilisées pour l'élasticité. Nous nous intéresserons donc à la capacité de la peau à résister à l'aspiration (Uf). Moins la peau remontera dans le cylindre à cause de la pression négative, plus elle sera ferme.

Ce dispositif nous permet ainsi de calculer l'évolution des fermetés avant et après application d'un ou plusieurs produits cosmétiques afin de constater l'effet du ou des produits.

Il est conseillé de travailler dans une salle à température ambiante (20 à 22°C) et avec une humidité comprise entre 40 à 60 %. Une période d'acclimatation de 15 minutes est recommandée.

2 INFORMATION SPECIFIQUE

I Test de sécurité

Les tests de sécurité sur le[s] produit[s] d'investigation ont bien été faits dans les mêmes conditions que celles du protocole.

II Les volontaires

2.1 Critères d'inclusion

- Personne ayant donné son accord et signé le consentement
- Âge [40 à 65 ans]
- Genre [Femme/Homme]
- Ethnie [Africain/ Asiatique/ Caucasien/ Indien]
- Type de peau [Mixte/Sèche/Normale/Grasse]

2.2 Critères d'exclusion

- Volontaire présentant des lésions sur les cuisses
- Volontaire présentant des lésions de dermatite atopique au niveau des cuisses
- Tabagisme actif et passif
- Femmes enceintes ou allaitantes
- Volontaire ayant déjà rencontré des situations d'allergie et d'effet indésirable suite à l'exposition à un produit cosmétique
- Volontaire qui s'est exposé au soleil
- Volontaire qui a utilisé des produits avec des actifs raffermissants durant les 2 semaines précédant l'expérimentation
- Volontaire en situation de ménopause ou péri ménopause

Produits interdits durant l'expérimentation

- Tabac
- Exposition au soleil
- Produit cosmétique avec des effets raffermissants
- Produit topique à base d'hormone

III Nombre de volontaire

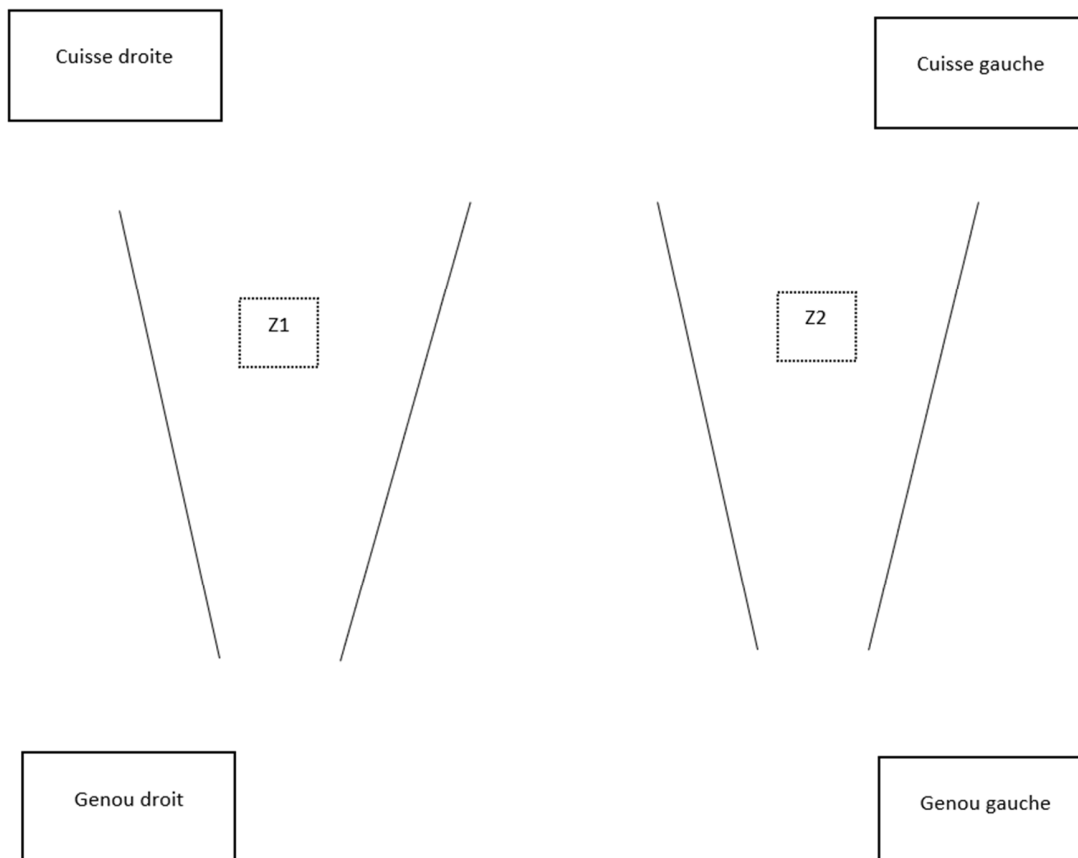
D'après le logiciel G*POWER 3.1.9.7, pour un risque alpha à 5% et une puissance de 90%, le nombre de volontaires dépendra de la taille d'effet moyenne. Il sera de :

- 542 lorsque $d = 0,2$
- 88 lorsque $d = 0,5$
- 35 lorsque $d = 0,8$

IV Méthodologie

- Quantité de produit à appliquer : [en fonction de l'expérimentation]
- Fréquence d'application : [en fonction du design]
- Zones d'application :

2 zones sont à déterminer sur la partie intérieure des cuisses comme représenté ci-dessous. La zone placebo et la zone traitée. Elles seront déterminées après randomisation par [mettre logiciel de randomisation]



- Taille des zones :
- Conditions d'application : Application par le même technicien, dans les mêmes conditions. Si pas de recommandation de la part de l'industriel, l'application est réalisée avec un doigtier placé sur l'index ou le majeur, par répétition de mouvements circulaires jusqu'à pénétration du produit. C'est une étude comparative en double aveugle où le volontaire est utilisé pour sa propre zone contrôle.
- Paramètre évalué et méthode d'évaluation : Aspiration de la peau (Uf) significativement plus bas entre la zone traitée et la zones placebo. Pour cela, est réalisée une prise de mesure de l'aspiration de la peau (Uf) sur les différentes zones à différents moments.

Déroulé de l'étude :

Etape 1 : Vérification des critères d'inclusion et de non-inclusion ainsi que du consentement.

Etape 2 : Acclimatation d'une durée comprise entre 15 et 30 minutes dans une pièce dans laquelle la température est comprise entre 20 et 22°C et l'humidité entre 40 et 60 %.

Mise en marche de l'appareil 15 à 30 minutes avant le début des mesures (durant l'acclimatation) (70)

Etape 3 : Mise en place du volontaire en position allongée sur le dos sur un lit.

Etape 4 : Une première personne réalise 2 zones avec un pochoir en fonction de la surface préalablement déterminée. Il faut préciser à côté de chaque zone s'il s'agit de la Z1 ou Z2.

Etape 5 : Une deuxième personne prend les mesures sur les 2 zones. L'aspiration de l'appareil est réglée sur 30kPa. La sonde choisie est de 2mm pour mesurer la fermeté du *stratum corneum*. Des sondes plus grosses permettent de mesurer des couches plus profondes. Les cosmétiques agissant sur la partie superficielle, une sonde de 2mm semble être la plus adaptée. Une pression de 30kPa est réalisée par la sonde durant 2 secondes puis un temps de relaxation de 2 secondes.

Etape 6 : La première personne applique, le placebo et le produit dans les zones, en fonction de la randomisation, celle-ci étant réalisée après l'inclusion du volontaire. L'application se fait avec le doigt équipé d'un doigtier. L'application doit être homogène sur l'ensemble de la zone préalablement délimitée.

Etape 7 : La deuxième personne qui ignore l'emplacement du placebo et du produit prend les mesures 30 minutes après l'application du produit. Lors de la mesure, le volontaire ne bouge pas afin de ne pas gêner la mesure. 3 mesures de 4 secondes sont réalisées avant de faire une moyenne des valeurs du paramètre U_f .

Le volontaire repart par la suite avec le placebo et le produit d'investigation anonymisés qu'il devra continuer à appliquer selon la fréquence déterminée. Il devra se laver les mains entre l'application des deux produits afin d'éviter les mélanges. Lors de chaque nouvelle visite, le volontaire sera soumis aux mêmes périodes d'acclimatations et aux mêmes conditions environnementales.

Annexe 4 : Protocole : Efficacité anti séborrhéique d'un ou plusieurs produits d'investigation par la mesure de la masse surfacique de sébum

Protocole : Efficacité anti séborrhéique d'un ou plusieurs produits d'investigation par la mesure de la masse surfacique de sébum

1 INFORMATION GENERALE

I Objectif

L'évaluation de l'effet sebo régulateur [d'un produit cosmétique/ de l'association de plusieurs produits cosmétiques] sur le front par la mesure de la masse surfacique ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) via la photométrie sur les taches de sébum [après une application unique/ après applications répétées] durant X [heure(s)/ jour(s)] sur des volontaires adultes [féminin/masculin] .

II Caractéristiques produit[s]

Nom du produit	
Référence/ numéro de lot	
Date de production	
Condition de stockage	
Type de produit / galénique	
Quantité à appliquer	
Emballage primaire	

Un échantillon sera conservé durant 6 mois minimum.

III Procédure du test

L'expérimentation se déroule au [adresse de l'expérimentation]

Le calendrier de l'étude sera le suivant :

	Jour 1				
Etapes	T0	T15min	TXheure	TXheure	TXheure
Vérification des critères d'inclusion					
Acclimatation					
Mesure de la masse surfacique					
Application produit		(1)			

(1) Après prise de mesure de la masse surfacique

	Jour 1		Jour X	
Etapes	T0	T15min	T0	T15min
Vérification des critères d'inclusion				
Acclimatation				
Mesure de la masse surfacique				
Application produit				

L'application du produit se fait après prise de mesure de la PIE

IV Gestion et traitement des données

Les données collectées sur les différents documents d'étude peuvent être de nature électronique ou de nature papier.

- Pour les documents papiers, ils peuvent être remplis par les volontaires ou le technicien au début ou au cours de l'étude. Ils seront par la suite scannés et imprimés. Un dossier physique sera alors constitué et archivé. Un dossier électronique sera lui aussi créé et archivé dans les disques durs
- Pour les documents électroniques, les valeurs sur les documents d'étude feront l'objet d'une saisie simple par le technicien, puis un archivage électronique et physique. Pour les documents avec des valeurs d'étude, ils nécessiteront une double saisie par deux techniciens afin d'éviter les erreurs puis ils suivront le même chemin d'archivage.

Pour s'assurer que les valeurs suivent une loi Normale, un test de Shapiro-Wilk au risque de 5% (p doit être inférieur à 0.05) est réalisé.

Si les valeurs suivent une loi Normale, un test de Student « t » par paire pour les échantillons indépendants sera fait en bilatéral au risque alpha de 5%.

On définira deux hypothèses.

- Hypothèse nulle H0 : la valeur moyenne du groupe à différents temps est égale
- Hypothèse alternative H1 : la valeur moyenne du groupe à différents temps est différente

Si les données ne suivent pas la loi Normale, un test non paramétrique de Wilcoxon sera fait test bilatéral au risque 5%

- Hypothèse nulle H0 : il n'y a pas de différence entre les valeurs
- Hypothèse alternative H1 : il existe une différence entre les valeurs

Seront réalisées :

Une première analyse entre les zones avant l'application du produit afin d'apprécier si les zones peuvent être comparées entre elles.

$$m(T0 \text{ traitée}) - m(T0 \text{ placebo})$$

Une deuxième analyse sur l'effet produit entre les deltas obtenus sur les zones.

$$\Delta(Tx \text{ temps} - T0)_{\text{traitée}} - \Delta(Tx \text{ temps} - T0)_{\text{placebo}}$$

Le logiciel utilisé pour ces calculs est [nom du logiciel]

V Matériel et réactifs

Le Sébumètre® SM 815 est un dispositif fabriqué par Courage + Khazaka electronic [référence :] qui va mesurer la masse surfacique de sébum à la surface de la peau .

Il est composé de deux parties :

- Un générateur principal relié à un ordinateur pour avoir un aperçu des images et avoir les mesures.
- Une sonde qui se présente sous la forme d'une cassette d'environ 10 centimètres. Elle contient un ruban mat de 0,1 mm d'épaisseur qui devient transparent au contact du sébum. Un petit embout se situe à une extrémité et expose une surface de 64 mm² de ruban. Un piston se trouve sur le côté de la sonde permettant de défiler le ruban au fil des mesures .

Après la mise en contact du ruban avec la zone à analyser, la cassette est passée dans le générateur afin de calculer la masse surfacique ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) de sébum par photométrie de la tache.

Ce dispositif nous permet ainsi de calculer l'évolution de la fabrication de sébum avant et après application d'un ou plusieurs produits cosmétique afin de suivre l'évolution de celle-ci et de constater l'effet du ou des produits.

Il est conseillé de travailler dans une salle à température ambiante (20 à 22°C) et avec une humidité comprise entre 40 à 60 %. Une période d'acclimatation de 15 minutes est recommandée .

2 INFORMATION SPECIFIQUE

I Test de sécurité

Les tests de sécurité sur le[s] produit[s] d'investigation ont bien été faits dans les mêmes conditions que celles du protocole.

II Les volontaires

2.1 Critères d'inclusion

- Personne ayant donné son accord et signé le consentement
- Âge [18 à 35 ans]
- Genre [Femme/Homme]
- Ethnie [Africain/ Asiatique/ Caucasien/ Indien]
- Type de peau : [Mixte à grasse /Grasse]

2.2 Critères d'exclusion

- Volontaire présentant des lésions sur la zone du front
- Volontaire présentant des lésions de dermatite atopique au niveau du visage
- Femmes enceintes ou allaitantes
- Volontaire ayant déjà rencontré des situations d'allergie et d'effet indésirable suite à l'exposition à un produit cosmétique
- Volontaire qui a utilisé des produits avec des actifs anti-séborrhéiques durant les 2 semaines précédant l'expérimentation
- Volontaire en situation de ménopause ou péri ménopause
- Volontaire fortement exposé à la pollution ou la cigarette

Produits interdits durant l'expérimentation

- Produit cosmétique avec des effets anti-âge
- Le maquillage au niveau du visage
- Changement d'alimentation

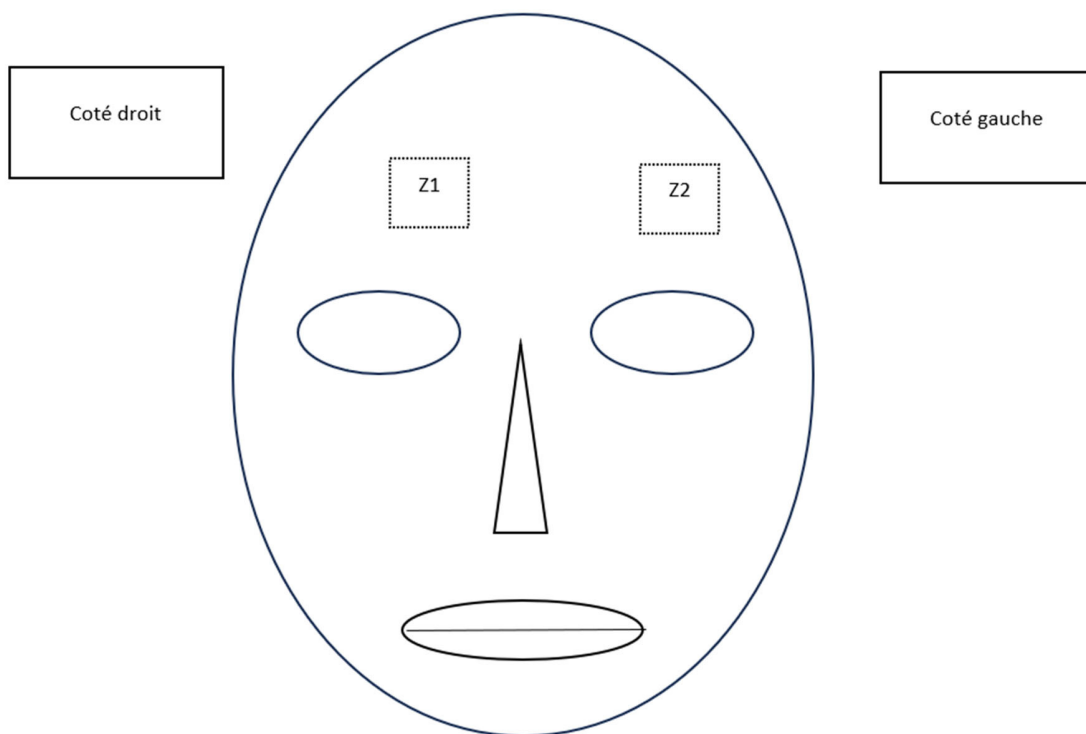
III Nombre de volontaire

D'après le logiciel G*POWER 3.1.9.7, pour un risque alpha à 5% et une puissance de 90%, le nombre de volontaires dépendra de la taille d'effet moyenne. Il sera de :

- 542 lorsque $d = 0,2$
- 88 lorsque $d = 0,5$
- 35 lorsque $d = 0,8$

IV Méthodologie

- Quantité de produit à appliquer : [en fonction de l'expérimentation]
- Fréquence d'application : [en fonction du design]
- Zones d'application :



2

zones sont à déterminer sur la partie extérieure du front comme représenté ci-dessous. La zone placebo et la zone traitée. Elles seront déterminées après randomisation par [mettre logiciel de randomisation]

- Taille des zones :

- Conditions d'application : Application par le même technicien, dans les mêmes conditions. Si pas de recommandation de la part de l'industriel, l'application est réalisée avec un doigtier placé sur l'index ou le majeur, par répétition de mouvements circulaires jusqu'à pénétration du produit. C'est une étude comparative en double aveugle où le volontaire est utilisé pour sa propre zone contrôle.
- Paramètre évalué et méthode d'évaluation: la masse surfacique de sébum ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) significativement plus basse entre la zone traitée et la zones placebo. Pour cela, prise de mesure de la masse surfacique de sébum ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) sur les différentes zones à différents moments.

Déroulé de l'étude :

Etape 1 : Vérification des critères d'inclusion et de non-inclusion ainsi que du consentement

Etape 2 : Acclimatation d'une durée comprise entre 15 et 30 minutes dans une pièce ou dans laquelle la température est comprise entre 20 et 22°C et l'humidité entre 40 et 60 % .

Mise en marche de l'appareil 15 à 30 minutes avant le début des mesures (durant l'acclimatation).

Etape 3 : Mise en place du volontaire en position allongée afin de limiter les mouvements.

Etape 4 : Une première personne réalise 2 zones avec un pochoir en fonction de la surface préalablement déterminée. Il faut préciser à côté de chaque zone s'il s'agit de Z1 ou Z2.

Etape 5 : Une deuxième personne prend les mesures sur les 2 zones. Un ruban mat est positionné sur la zone de prélèvement durant 30 secondes. Les lipides imprègnent alors le ruban et le rendent plus transparent.

Etape 6 : La première personne applique, le placebo et le produit dans les zones en fonction de la randomisation qui est réalisée après l'inclusion du volontaire. L'application se fait avec le doigt équipé d'un doigtier. Elle doit être homogène sur l'ensemble de la zone préalablement délimitée. Cette même personne barre la zone qui n'est pas utilisée.

Etape 7 : La deuxième personne qui ignore l'emplacement du placebo et du produit, prend les mesures 30 minutes après l'application. Lors de la mesure, le volontaire garde l'œil fermé, il doit rester silencieux et avoir le visage détendu. Une mesure correspond à un positionnement statique de la sonde durant 30 secondes. Il est nécessaire de faire 3 mesures. Une moyenne sera alors

faite entre les 3 mesures réalisées sur la zone contrôle et sur les 3 mesures réalisées sur la zone traitée. Ces moyennes de masse surfacique de sébum seront alors comparées entre elles.

Le volontaire repart par la suite avec le placebo et le produit d'investigation anonymisés qu'il devra continuer à appliquer selon la fréquence déterminée. Il devra se laver les mains entre l'application des deux produits afin d'éviter les mélanges. Lors de chaque nouvelle visite, le volontaire sera soumis aux mêmes périodes d'acclimatations et aux mêmes conditions environnementales.

VI Bibliographie

1. Maya Prabhu. Les six expériences historiques qui ont ouvert la voie à la recherche clinique moderne. [En ligne]. 2022 [cité 3 nov 2023]. Disponible: <https://www.gavi.org/fr/vaccineswork/6-experiences-historiques-ouvert-voie-recherche-clinique-moderne>
2. André Paul. Livre de Daniel. [En ligne]. 2022 [cité 3 nov 2023]. Disponible : <https://www.universalis.fr/encyclopedie/livre-de-daniel/>
3. Bible Hub. Daniel 1. [En ligne]. 2011 [cité 3 nov 2023]. Disponible: <https://biblehub.com/niv/daniel/1.htm>
4. Futura Science. 1025 : le Canon de la médecine d'Avicenne Futura. [En ligne]. 2019 [cité 3 nov 2023]. Disponible : <https://www.futura-sciences.com/sante/dossiers/medecine-plus-grandes-decouvertes-medecine-1830/page/5/>
5. Académie de Toulouse. Le Scorbut [En ligne]. 2021 [cité 3 nov 2023]. Disponible: https://pedagogie.actoulouse.fr/svt/sites/svt.disciplines.actoulouse.fr/files/fichiers/ap/lind_et_le_scorbut.pdf
6. Best M, Neuhauser D. Pierre Charles Alexandre Louis: Master of the spirit of mathematical clinical science. Qual Saf Health Care. 2005;14(6):462-4.
7. Pierre-Charles-Alexandre Louis : un pionnier de la médecine fondée sur les preuves. [En ligne]. 2012 [cité 3 nov 2023]. Disponible: <https://www.edimark.fr/revues/la-lettre-du-cardiologue/451-janvier-2012/pierre-charles-alexandre-louis-un-pionnier-de-la-medecine-fondee-sur-les-preuves>
8. CDC. Chronologie de l'étude sur la syphilis non traitée à Tuskegee. [En ligne]. 2024 [cité 5 oct 2024]. Disponible: <https://www.cdc.gov/tuskegee/timeline.htm>
9. Tuskegee University. About the USPHS syphilis study. [En ligne]. 2023 [cité 3 nov 2023]. Disponible : <https://www.tuskegee.edu/about-us/centers-of-excellence/bioethics-center/about-the-usphs-syphilis-study>
10. Peeters N. Les femmes du camp de Ravensbrück victimes de l'expérimentation médicale nazie. Fondation Auschwitz. 2021
11. Philippe Amiel. Des cobayes et des hommes. [En ligne]. 2011 [cité 3 nov 2023]. Disponible : <https://philippeamiel.fr/DocsCobayes/CobayesBiblio.pdf>
12. Kasum A. Environnement réglementaire et qualité des essais cliniques cosmétiques en France [Thèse d'exercice]. Bordeaux, France : U.F.R des sciences pharmaceutique; 2016.
13. WMA - The World Medical Association-Déclaration d'Helsinki de l'AMM – Principes éthiques applicables à la recherche médicale impliquant des êtres humains. [En ligne]. 2014 [cité 3 nov 2023]. Disponible : <https://www.wma.net/fr/policies-post/declaration-dhelsinki-de-lamm-principes-ethiques-applicables-a-la-recherche-medecine-impliquant-des-etres-humains/>

14. Loi n° 88-1138 du 20 décembre 1988 relative à la protection des personnes qui se prêtent à des recherches biomédicales.
15. AFSSAPS. Pratique des biopsies cutanées dans le cadre des essais cliniques en cosmétologie : recommandations aux promoteurs de recherches biomédicales et aux prestataires de services : Saint Denis: AFSSAPS;2011.
16. Jaillon P, Demarez JP. L'histoire de la genèse de la loi Huriet-Sérusclat de décembre 1988 - Loi sur la protection des personnes qui se prêtent à des recherches biomédicales. Med Sci. 2008;24(3):323-7.
17. Good Clinical Practice. ICH harmonised guideline integrated addendum to ICH E6 (R1):Guideline for Good Clinical Practice ICH E- (R2). [En ligne]. 2018 [cité 3 nov 2023]. Disponible : <https://ichgcp.net/fr/home>
18. DGS. Loi Jarde et règlement européen essais cliniques. [En ligne]. 2019 [cité 5 mai 2024]. Disponible:<https://cncpp.fr/wpcontent/uploads/2020/03/Loi%20Jarde%20et%20reglement%20europeen%20essais%20cliniques%20oct%202019.pdf>
19. Inserm. GuideQualifCEEI. [En ligne]. 2021[cité 5 mai 2024]. Disponible : https://comite-ethique.cnrs.fr/wp-content/uploads/2021/05/Inserm_GuideQualifCEEI_2021mai.pdf
20. Inserm pro. Conduire une recherche clinique [En ligne]. 2019 [cité 3 nov 2023]. Disponible sur: <https://pro.inserm.fr/rubriques/support-a-la-recherche/conduire-une-recherche-clinique>
21. Règlement (CE) no 1223/2009 du Parlement européen et du Conseil du 30 novembre 2009 relatif aux produits cosmétiques.
22. Règlement (UE) no 655/2013 de la Commission du 10 juillet 2013 établissant les critères communs auxquels les allégations relatives aux produits cosmétiques doivent répondre pour pouvoir être utilisées Texte présentant de l'intérêt pour l'EEE.
23. ARPP. Recommandation Produits cosmétiques V8. [En ligne]. 2019 [cité 19 janv 2024]. Disponible : <https://www.arpp.org/nous-consulter/regles/regles-de-deontologie/recommandation-produits-cosmetiques-v8/>
24. ISO Online Browsing Platform (OBP). Cosmétiques — Lignes directrices relatives aux essais de stabilité des produits cosmétiques [En ligne]. 2018 [cité 3 nov 2023]. Disponible : <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:tr:18811:ed-1:v1:fr>
25. Cosmetics Europe. Guidelines on Stability Testing of Cosmetics CE. [En ligne]. 2004 [cité 26 mai 2024]. Disponible : https://www.cosmeticseurope.eu/files/5914/6407/8121/Guidelines_on_Stability_Testing_of_Cosmetics_CE-CTFA_-_2004.pdf
26. IFSCC monograph. The fundamentals of stability testing. Weymouth, England: Micelle Press; 1992. 23 p.
27. Kirkbride L, Humphries L, Kozielska P, Curtis H. Designing a Suitable Stability Protocol in the Face of a Changing Retail Landscape. Cosmetics. 2021;8(3):64.

28. ISO. Good Manufacturing Practice (GMP). [En ligne]. 2007 [cité 2 juin 2024]. Disponible : https://biotec.ac-dijon.fr/IMG/pdf/Bonnes_pratiques_de_fabrication_des_produits_esth.pdf
29. Siri B. Compatibilité contenant contenu. Paris : Conseil National de l'Emballage; 2017.
30. Smahane B. Vers d'innovants conservateurs naturels pour la cosmétique : Applications du challenge test et évaluation de leurs activités biologiques [Thèse de doctorat]. Fès, Maroc : Université Sidi Mohammed Ben Abdellah; 2017
31. Plateforme des tests cliniques - Skinobs [En ligne]. [cité 4 juin 2024]. Disponible : <https://www.skinobs.com/c/search.php?ec=IkIkX1RZVD0zJkIkX1JFVj0zMTkmSWRfUkVWPTMyMCZJZF9SRVY9MzQ3JkIkX1JFVj0zNTAmSWRfUkVWPTM3OCZJZF9SRVY9MzgwJkIkX1JFVI9PUkIHSU49JTdDJTdDMzE5JTdDJTdDMzlwJTdDJTdDMzQ3JTdDJTdDMzUwJTdDJTdDMzc4JTdDJTdDMzgwJTdDJTdIlg%3D%3D>
32. Public Health. SCCS Notes of guidance for testing of cosmetic ingredients and their safety evaluation - 12th revision [En ligne]. 2023 [cité 1 juin 2024]. Disponible : https://health.ec.europa.eu/publications/sccs-notes-guidance-testing-cosmetic-ingredients-and-their-safety-evaluation-12th-revision_en
33. OECD. Essai n° 439 : Irritation cutanée *in vitro*: essai sur épiderme humain reconstitué [En ligne]. 2021 [cité 1 juin 2024]. Disponible : https://www.oecd-ilibrary.org/environment/essai-n-439-irritation-cutanee-in-vitro-essai-sur-epiderme-humain-reconstitue_9789264242999-fr
34. OECD Essai n° 442E: Sensibilisation cutanée *in vitro*: Essai de sensibilisation cutanée *in vitro* portant sur l'événement clé relatif à l'activation des cellules dendritiques dans la voie toxicologique impliquée dans les effets indésirables pour la sensibilisation cutanée [En ligne]. 2021 [cité 1 juin 2024]. Disponible : <https://www.oecd.org/fr/env/essai-n-442e-sensibilisation-cutanee-in-vitro-9789264276505-fr.htm>
35. OECD. Essai n° 442C: Sensibilisation cutanée *in chemico*: Essai portant sur l'événement clé relatif à l'établissement d'une liaison covalente avec les protéines, dans la voie toxicologique impliquée dans les effets indésirables [En ligne]. 2024 [cité 1 juin 2024]. Disponible : https://www.oecd-ilibrary.org/environment/essai-n-442c-sensibilisation-cutanee-in-chemico_9789264229723-fr
36. OECD. Essai n° 442D: Sensibilisation cutanée *in vitro*: Méthode d'essai ARE-Nrf2 luciférase [En ligne]. 2022 [cité 1 juin 2024]. Disponible : https://www.oecd-ilibrary.org/environment/essai-n-442d-sensibilisation-cutanee-in-vitro_9789264229778-fr
37. OECD. Second Edition - Guidance Document on Integrated Approaches to Testing and Assessment (IATA) for Serious Eye Damage and Eye Irritation [En ligne]. 2019 [cité 8 juin 2024]. Disponible sur: https://www.oecd-ilibrary.org/environment/second-edition-guidance-document-on-integrated-approaches-to-testing-and-assessment-iata-for-serious-eye-damage-and-eye-irritation_84b83321-en
38. Sahu RK, Singh B, Saraf SA, Kaithwas G, Kishor K. Photochemical toxicity of drugs intended for ocular use. *Archive d'hygiène industrielle et de toxicologie*. 2014;65(2):157-67.
39. ICCVAM. Hen's Egg Test - Chorioallantoic Membrane (HET-CAM) Test Method [En ligne]. 2010 [cité 24 janv 2024]. Disponible : <https://ntp.niehs.nih.gov/sites/default/files/iccvam/docs/protocols/ivocular-hetcam.pdf>

40. OECD. Test No. 437: Bovine Corneal Opacity and Permeability Test Method for Identifying Ocular Corrosives and Severe Irritants [En ligne]. 2009 [cité 1 juin 2024]. Disponible : https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-437-bovine-corneal-opacity-and-permeability-test-method-for-identifying-ocular-corrosives-and-severe-irritants_9789264076303-en
41. OECD. Ligne directrice n° 497 : Approches définies pour la sensibilisation cutanée [En ligne]. 2023 [cité 1 juin 2024]. Disponible : https://www.oecd-ilibrary.org/environment/ligne-directrice-n-497-approches-definies-pour-la-sensibilisation-cutanee_383d0478-fr
42. OECD. Essai n° 496 : Méthode d'essai macro-moléculaire *in vitro* pour l'identification de produits chimiques provoquant des lésions oculaires graves et les produits chimiques ne relevant d'aucune classification pour irritation oculaire ou lésions oculaires graves [En ligne]. 2023 [cité 1 juin 2024]. Disponible : https://www.oecd-ilibrary.org/environment/essai-n-496-methode-d-essai-macro-moleculaire-in-vitro-pour-l-identification-de-produits-chimiques-provoquant-des-lesions-oculaires-graves-et-les-produits-chimiques-ne-relevant-d-aucune-classification-pour-irritation-oculaire-ou-lesions-oculaires-grave_e6373855-fr
43. OECD. Essai n° 460 : Méthode d'essai de diffusion de fluorescéine pour identifier les substances corrosives et fortement irritantes pour l'œil [En ligne]. 2023 [cité 1 juin 2024]. Disponible : <https://www.oecd.org/fr/securitechimique/essai-n-460-methode-d-essai-de-diffusion-de-fluoresceine-pour-identifier-les-substances-corrosives-et-fortement-irritantes-9789264185692-fr.htm>
44. OECD. Essai n° 431 : Corrosion cutanée *in vitro* : Essai sur modèle de peau humaine [En ligne]. 2019 [cité 1 juin 2024]. Disponible : https://www.oecd-ilibrary.org/environment/essai-n-431-corrosion-cutanee-in-vitro-essai-sur-modele-de-peau-humaine_9789264264625-fr
45. OECD. Essai n° 428: Absorption cutanée : méthode *in vitro* [En ligne]. 2004 [cité 1 juin 2024]. Disponible : https://www.oecd-ilibrary.org/fr/environment/essai-n-428-absorption-cutanee-methode-in-vitro_9789264071094-fr
46. OECD. Essai n° 432: Essai de phototoxicité *in vitro* [En ligne]. 2019 [cité 1 juin 2024]. Disponible : https://www.oecd-ilibrary.org/fr/environment/essai-n-432-essai-de-phototoxicite-in-vitro-3t3-nru_9789264071179-fr
47. OECD. Essai n° 487 : Essai *in vitro* de micronoyaux sur cellules de mammifères [En ligne]. 2023 [cité 1 juin 2024]. Disponible : https://www.oecd-ilibrary.org/fr/environment/essai-n-487-essai-in-vitro-de-micronoyaux-sur-cellules-de-mammiferes_9789264264878-fr
48. ISO. ISO 10993-5:2009 Evaluation biologique des dispositifs médicaux [En ligne]. 2009 [cité 1 juin 2024]. Disponible: <https://www.iso.org/fr/standard/36406.html>
49. Jean François Narbonne. Les tests cellulaires. [En ligne]. 2017 [cité 1 juin 2024]. Disponible : https://www.istegroup.com/wp-content/uploads/2017/07/183_Les_tests_cellulaires_tdm.pdf
50. Duarte IAG, Tanaka GM, Suzuki NM, Lazzarini R, Lopes AS de A, Volpini BMF, et al. Patch test standard series recommended by the Brazilian Contact Dermatitis Study Group during the 2006-2011 period. *An Bras Dermatol*. 2013;88(6):1015-8.

51. HCL. Eczéma (dermatite de contact). [En ligne]. 2023 [cité 3 nov 2023]. Disponible : <https://www.chu-lyon.fr/eczema-dermatite-de-contact>
52. OECD. Test No. 406: Skin Sensitisation [En ligne]. 2022 [cité 8 juin 2024]. Disponible : https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-406-skin-sensitisation_9789264070660-en;jsessionid=RPLt2rYfEDCEJ8eMuhd7Huiyb17ZsO8AghEe8SLk.ip-10-240-5-152
53. AFNOR. NF EN ISO 10993-10. [En ligne]. 2013 [cité 1 juin 2024]. Disponible : <https://www.boutique.afnor.org/fr-fr/norme/nf-en-iso-1099310/evaluation-biologique-des-dispositifs-medicaux-partie-10-essais-dirritation/fa183842/1409>
54. Jasly K, Goyal S, Ashwini PK, Kanthraj GR, Chethana SG, Ranugha S. Three-part scoring system (tripartite) for teledermatology versus International Contact Dermatitis Research Group criteria to interpret patch test readings: A comparative, observational study. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 2024;90(5):575-580.
55. Fonacier L. A Practical Guide to Patch Testing. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2015;3(5):669-75.
56. Fulton JE, Pay SR, Fulton JE. Comedogenicity of current therapeutic products, cosmetics, and ingredients in the rabbit ear. *J Am Acad Dermatol*. 1984;10(1):96-105.
57. Waranuch N, Wisutthathum S, Tuanthai S, Kittikun P, Grandmottet F, Tay F, et al. Safety assessment on comedogenicity of dermatological products containing d-alpha tocopheryl acetate in Asian subjects: A double-blind randomized controlled trial. *Contemp Clin Trials Commun*. 2021;23:100834.
58. AFSSAPS. Test clinique final de sécurité photo-toxique (tcfs pt) d'un produit cosmétique : Recommandations aux promoteurs de recherche et aux prestataire de service. Saint Denis: AFSSAPS; 2009.
59. CosmeticObs. COLIPA. [En ligne]. 2012 [cité 3 nov 2023]. Disponible: <https://cosmeticobs.com/,articles,lexique-cosmetique-5,colipa-36>
60. Cosmetics Europe. Guidelines for the Evaluation of the Efficacy of Cosmetic Products. [En ligne]. 2008 [cité 3 nov 2023]. Disponible : https://www.cosmeticseurope.eu/files/4214/6407/6830/Guidelines_for_the_Evaluation_of_the_Efficacy_of_Cosmetic_Products_-_2008.pdf
61. QIMA Life Sciences. Differences Between *Ex Vivo* & *In Vitro* Models. [En ligne]. 2023 [cité 3 nov 2023]. Disponible : <https://qima-lifesciences.com/en/ex-vivo-vs-in-vitro/>
62. Société Chimique de France (SCF). L'Actualité Chimique, le journal de la SCF. [En ligne]. 2008 [cité 3 nov 2023]. Disponible : <https://new.societechimiquedefrance.fr/numero/n323-324-octobre-novembre-2008/>
63. VG Librairies. Atlas du vieillissement cutané [En ligne]. 2007 [cité 25 janv 2024]. Disponible : <https://www.vg-librairies.fr/specialites-medicales/4597-atlas-du-vieillissement-cutane-tome-1.html>
64. Carruthers A, Carruthers J, Hardas B, Kaur M, Goertelmeyer R, Jones D, et al. A validated grading scale for crow's feet. *Dermatol Surgery*. 2008;34 Suppl 2:S173-178.
65. Skinobs - Plateforme de tests cliniques [En ligne]. [cité 3 nov 2023]. Disponible : <https://skinobs.com/clinical.php>

66. Les biais - Interprétation des essais cliniques [En ligne]. 2009 [cité 3 nov 2023]. Disponible : <http://www.txrating.org/spc/polycop/biais.htm>
67. EUPATI. Statistiques et essais cliniques : biais. [En ligne]. 2015 [cité 3 nov 2023]. Disponible : <https://toolbox.eupati.eu/resources/statistiques-et-essais-cliniques-biais/?lang=fr>
68. Recherche clinique et épidémiologique - Biais de sélection. [En ligne]. 2020 [cité 3 nov 2023]. Disponible : https://fad.univ-lorraine.fr/pluginfile.php/23863/mod_resource/content/2/co/Biais_Selection_1.html
69. DATAtab. t-Test, khi-deux, ANOVA, Régression, Corrélation. [En ligne]. 2023 [cité 3 nov 2023]. Disponible : <https://datatab.fr/tutorial/test-of-normality>
70. du Plessis J, Stefaniak A, Eloff F, John S, Agner T, Chou TC, et al. International guidelines for the *in vivo* assessment of skin properties in non-clinical settings: Part 2. transepidermal water loss and skin hydration. *Skin Res Technol*. 2013;19(3):265-78.
71. XLSTAT. Taille d'échantillon et puissance pour un essai clinique dans Excel. [En ligne]. 2024 [cité 28 mai 2024]. Disponible : <https://help.xlstat.com/fr/6382-taille-dechantillon-et-puissance-pour-un-essai>
72. EasyMedStat. Calculateur de taille d'échantillon [En ligne]. 2024 [cité 28 mai 2024]. Disponible : <https://www.easymedstat.com/fr/calculateur-taille-echantillon>
73. Société Française de Médecine d'Urgence - SFMU . Calcul d'effectif pour un essai clinique [En ligne]. 2015 [cité 28 mai 2024]. Disponible: <https://www.sfm.org/fr/vie-professionnelle/outils-professionnels/ebm/calcul-effectif>
74. Biggs LC, Kim CS, Miroschnikova YA, Wickström SA. Mechanical Forces in the Skin: Roles in Tissue Architecture, Stability, and Function. *J Invest Dermatol*. 2020;140(2):284-90.
75. Vyumvuhore R. Validation et implémentation des descripteurs de l'hydratation et des propriétés mécaniques du stratum corneum *ex vivo* et *in vivo* [Thèse de doctorat]. Paris, France : Université Paris 11; 2013.
76. Prost-Squarcioni C. Histologie de la peau et des follicules pileux. *Med Sci*. 2006;22(2):131-7.
77. Hatta I, Nakazawa H, Ohta N, Uchino T, Yanase K. Stratum Corneum Function: A Structural Study with Dynamic Synchrotron X-ray Diffraction Experiments. *J Oleo Sci*. 2021;70(9):1181-99.
78. Gidado IM, Qassem M, Triantis IF, Kyriacou PA. Review of Advances in the Measurement of Skin Hydration Based on Sensing of Optical and Electrical Tissue Properties. *Sensors*. 2022;22(19):7151.
79. Lu F, Wang C, Zhao R, Du L, Fang Z, Guo X, et al. Review of Stratum Corneum Impedance Measurement in Non-Invasive Penetration Application. *Biosensors*. 2018;8(2):31.
80. Zhang Q, Murawsky M, LaCount T, Kasting GB, Li SK. Transepidermal water loss and skin conductance as barrier integrity tests. *Toxicol in Vitro*. 2018;51:129-35.
81. Hashmi F, Wright C, Nester C, Lam S. The reliability of non-invasive biophysical outcome measures for evaluating normal and hyperkeratotic foot skin. *J Foot Ankle Res*. 2015;8:28.

82. Courage + Khazaka Electronic. Information and Operating Instructions for the CORNEOMETER CM 825. [En ligne]. 2000 [cité 11 mai 2024]. Disponible : <http://www.iproweb.fr/test/0%20-%20MATOS%20GUILLAUME/COURAGE%20+%20KHAZAKA%20-%20CORNEOMETER%20CM825/MANUAL.pdf>
83. Courage + Khazaka Electronic. Corneometer® CM 825 [En ligne]. 2024 [cité 29 janv 2024]. Disponible : <https://www.courage-khazaka.de/en/scientific-products/all-products/probe-systems?view=article&id=183:corneometer-d-2&catid=16:alle-produkte>
84. Todorov A, Torah R, Wagih M, Ardern-Jones MR, Beeby SP. Electromagnetic Sensing Techniques for Monitoring Atopic Dermatitis—Current Practices and Possible Advancements: A Review. *Sensors*. 2023;23(8):3935.
85. Fluhr JW, Elsner P, Berardesca E, Maibach HI. *Bioengineering of the Skin: Water and the Stratum Corneum*, 2nd Edition. CRC Press; 2004. 440 p.
86. Clarys P, Clijisen R, Taeymans J, Barel A. Hydration measurements of the stratum corneum: comparison between the capacitance method (digital version of the Corneometer CM 825 (R)) and the impedance method (Skicon-200EX (R)). *Technologie Skin Res*. 2011;18:316-23.
87. Voegeli R, Cherel M, Schoop R, Rawlings AV. A comprehensive comparison of facial skin hydration based on capacitance and conductance measurements in Chinese women. *Int J Cosmet Sci*. 2022;44(6):703-18.
88. Duplan H, Nocera T. Hydratation cutanée et produits hydratants. *Ann Dermatol Vénéréologie*. 2018;145(5):376-84.
89. Steiner M, Aikman-Green S, Prescott GJ, Dick FD. Side-by-side comparison of an open-chamber (TM 300) and a closed-chamber (Vapometer™) transepidermal water loss meter. *Technologie Skin Res*. 2011;17(3):366-72.
90. Barel AO, Clarys P. Study of the stratum corneum barrier function by transepidermal water loss measurements: comparison between two commercial instruments: Evaporimeter and Tewameter. *Skin Pharmacol*. 1995;8(4):186-95.
91. Courage + Khazaka Electronic. Tewameter® TM 300. [En ligne]. 2023 [cité 3 nov 2023]. Disponible : <https://www.courage-khazaka.de/en/scientific-products/efficacy-tests/in-vitro?catid=16&id=172&view=article>
92. Delfin Technologies. VapoMeter - TEWL Meter [En ligne]. 2023 [cité 3 nov 2023]. Disponible : <https://delfintech.com/products/vapometer/>
93. Brucker. Reflectance Infrared (FT-IR) Spectroscopy [En ligne]. 2024 [cité 28 sept 2024]. Disponible : <https://www.bruker.com/fr/products-and-solutions/infrared-and-raman/ft-ir-routine-spectrometer/what-is-ft-ir-spectroscopy/reflectance-infrared-spectroscopy.html>
94. Thomas M. *Peau sèche et vieillissement cutané: clinique, facteurs aggravants et réponses cosmétiques [Thèse d'exercice]*. Nancy, France: Université de Lorraine; 2020.

95. Goad N, Gawkrödger D j. Ambient humidity and the skin: the impact of air humidity in healthy and diseased states. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2016;30(8):1285-94.
96. Hugo Pacagnelli Infante V, Melo MO, Maia Campos PMBG. Impacts of sun protection and skin care habits in the biophysical and morphological properties of young men skin. *J Cosmet Dermatol*. 2022;21(10):5073-80.
97. Muizzuddin N, MARENUS K, VALLON P, Maes D. Effect of cigarette smoke on skin. *J Soc Cosmet Chem*. 1997;48 (1):235-242.
98. Yazdanparast T, Hassanzadeh H, Nasrollahi SA, Seyedmehdi SM, Jamaati H, Naimian A, et al. Cigarettes Smoking and Skin: A Comparison Study of the Biophysical Properties of Skin in Smokers and Non-Smokers. *Tanaffos*. 2019;18(2):163-8.
99. Voegeli D. The effect of washing and drying practices on skin barrier function. *J Wound Ostomy Cont Nurs*. 2008;35(1):84-90.
100. Tupker RA, Pinnagoda J, Coenraads PJ, Nater JP. The influence of repeated exposure to surfactants on the human skin as determined by transepidermal water loss and visual scoring. *Contact Dermatitis*. 1989;20(2):108-14.
101. De Paepe K, Houben E, Adam R, Wiesemann F, Rogiers V. Validation of the VapoMeter, a closed unventilated chamber system to assess transepidermal water loss vs. the open chamber Tewameter. *Skin Res Technol*. 2005;11(1):61-9.
102. Kezic S, Nielsen JB. Absorption of chemicals through compromised skin. *Int Arch Occup Environ Health*. 2009;82(6):677-88.
103. Berardesca E, Maibach HI. Sodium-lauryl-sulphate-induced cutaneous irritation. Comparison of white and Hispanic subjects. *Contact Dermatitis*. 1988;19(2):136-40.
104. Clarys P, Clijsen R, Barel AO. Influence of probe application pressure on *in vitro* and *in vivo* capacitance (Corneometer CM 825®) and conductance (Skicon 200 EX®) measurements. *Skin Res Technol*. 2011;17(4):445-50.
105. Pinnagoda J, Tupker RA, Coenraads PJ, Nater JP. Transepidermal water loss with and without sweat gland inactivation. *Contact Dermatitis*. 1989;21(1):16-22.
106. Routledge & CRC Press. Handbook of Non-Invasive Methods and the Skin. [En ligne]. 2006[cité 3 nov 2023]. Disponible: <https://www.routledge.com/Handbook-of-Non-Invasive-Methods-and-the-Skin/Serup-Jemec-Grove/p/book/9780849314377>
107. Camilion JV, Khanna S, Anasseri S, Laney C, Mayrovitz HN. Physiological, Pathological, and Circadian Factors Impacting Skin Hydration. *Cureus*. 2022;14(8):27-66.
108. Yao Pan, Xue Ma, Jinfeng Zhao, Shiyu Yan. The Interaction of Age and Anatomical Region Influenced Skin Biophysical Characteristics of Chinese Women. *Clinical Cosmetic and Investigational Dermatology*. 2020;13:911-926
109. Van der Valk PG, Nater JP, Bleumink E. Skin irritancy of surfactants as assessed by water vapor loss measurements. *J Invest Dermatol*. 1984;82(3):291-3.

110. Darlenski R, Sassning S, Tsankov N, Fluhr JW. Non-invasive *in vivo* methods for investigation of the skin barrier physical properties. *Eur J Pharm Biopharm* 2009;72(2):295-303.
111. Reed JT, Ghadially R, Elias PM. Skin type, but neither race nor gender, influence epidermal permeability barrier function. *Arch Dermatol*. 1995;131(10):1134-8.
112. Proksch E, Brandner JM, Jensen JM. The skin: an indispensable barrier. *Exp Dermatol*. 2008;17(12):1063-72.
113. Angéla NC. La recherche clinique chez la femme enceinte: enjeux et perspective [Mémoire master 2]. Lille, France : Université de Lille; 2019.
114. Maul JT, Maul LV, Kägi M, Cheng P, Anzengruber F, von Laue M, et al. Skin Recovery After Discontinuation of Long-Term Moisturizer Application: A Split-Face Comparison Pilot Study. *Dermatol Ther*. 2020;10(6):1371-82.
115. Treffel P, Panisset F, Faivre B, Agache P. Hydration, transepidermal water loss, pH and skin surface parameters: correlations and variations between dominant and non-dominant forearms. *Br J Dermatol*. 1994;130(3):325-8.
116. Berardesca E, European Group for Efficacy Measurements on Cosmetics and Other Topical Products (EEMCO). EEMCO guidance for the assessment of stratum corneum hydration: electrical methods. *Skin Res Technol*. 1997;3(2):126-32.
117. Rogiers V, EEMCO Group. EEMCO guidance for the assessment of transepidermal water loss in cosmetic sciences. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol*. 2001;14(2):117-28.
118. Pinnagoda J, Tupker RA, Coenraads PJ, Nater JP. Transepidermal water loss with and without sweat gland inactivation. *Contact Dermatitis*. 1989;21(1):16-22.
119. Rorteau J, Chevalier FP, Fromy B, Lamartine J. [Functional integrity of aging skin, from cutaneous biology to anti-aging strategies]. *Med Sci*. 2020;36(12):1155-62.
120. Bolke L, Schlippe G, Gerß J, Voss W. A Collagen Supplement Improves Skin Hydration, Elasticity, Roughness, and Density: Results of a Randomized, Placebo-Controlled, Blind Study. *Nutrients*. 2019;11(10):2494.
121. Bolognia JL, Braverman IM, Rousseau ME, Sarrel PM. Skin changes in menopause. *Maturitas*. 1989;11(4):295-304.
122. Montagnat-Rentier C. Vieillissement de la peau et les produits cosmétiques anti-âge actuels en pharmacie: la réglementation, leur composition, leur efficacité et l'attente des clients [Thèse d'exercice]. Grenoble, France : Faculté de Pharmacie de Grenoble; 2014.
123. Rippa AL, Kalabusheva EP, Vorotelyak EA. Regeneration of Dermis: Scarring and Cells Involved. *Cells*. 2019;8(6):607.
124. Démarchez M. Biologie de la peau. [En ligne] 2011 [cité 5 mai 2024]. Disponible : <https://biologiedelapeau.fr/spip.php?article27>

125. Castelo-Branco C, Duran M, González-Merlo J. Skin collagen changes related to age and hormone replacement therapy. *Maturitas*. 1992;15(2):113-9.
126. Boismal F, Serror K, Dobos G, Zuelgaray E, Bensussan A, Michel L. Vieillissement cutané - Physiopathologie et thérapies innovantes. *Med Sci*. 2020;36(12):1163-72.
127. Mort RL, Jackson IJ, Patton EE. The melanocyte lineage in development and disease. *Dev Camb Engl*. 2015;142(4):620-32.
128. Kim JC, Park TJ, Kang HY. Skin-Aging Pigmentation: Who Is the Real Enemy? *Cells*. 2022;11(16):2541.
129. Chaudhary M, Khan A, Gupta M. Skin Ageing: Pathophysiology and Current Market Treatment Approaches. *Curr Aging Sci*. 2020;13(1):22-30.
130. Skinobs. Plateforme des tests cliniques [En ligne]. 2024 [cité 5 mai 2024]. Disponible : <https://www.skinobs.com/c/search.php?ec=IkIkX1RZVD01JkIkX1JFVj00MSZJZF9SRVY9MjI1JkIkX1JFVj0yNjcmSWRfUkVWPTI2OCZJZF9SRVZft1JJR0IOPSU3QyU3QzQxJTdDJTdDMjI1JTdDJTdDMjY3JTdDJTdDMjY4JTdDJTdDlG%3D%3D>
131. Lévêque JL. EEMCO guidance for the assessment of skin topography. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2006;12(2):103-14.
132. Shaiek A, Monot M, Rubert V, Cornillon C, Vicic M, Flament F, et al. In vitro and *in vivo* validation of a new three-dimensional fringe projection-based device (AEVA-HE) dedicated to skin surface mapping. *Skin Res Technol*. 2023;29(2):e13209.
133. Leandry I. Adaptation de la méthode de projection de franges pour la mesure du relief de grands objets et pour la modélisation anthropométrique: application à l'étude de flotteurs sous pression et ay suivi de pathologie de l'abdomen. [Thèse de doctorat]. Poitiers, France: Université de Poitiers;2012.
134. Laboratoire Cosderma. DERMATOP®. [En ligne]. 2024 [cité 5 mai 2024]. Disponible : <https://cosderma.com/lequipement-de-cosderma/dermatop.html>
135. Tronnier H, Wiebusch M, Heinrich U, Stute R. Surface evaluation of living skin. *Adv Exp Med Biol*. 1999;455:507-16.
136. Pena Ferreira MR, Costa PC, Bahia FM. Efficacy of anti-wrinkle products in skin surface appearance: a comparative study using non-invasive methods. *Skin Res Technol*. 2010;16(4):444-9.
137. Stettler H, Crowther J, Boxshall A, Bielfeldt S, Lu B, de Salvo R, et al. Biophysical and Subject-Baed Assessment of the Effects of Topical Moisturizer Usage on Xerotic Skin—Part II: Visioscan® VC 20plus Imaging. *Cosmetics*. 2022;9(1):5.
138. Waqas MK, Khan BA, Akhtar N, Chowdhry F, Khan H, Bakhsh S, et al. Fabrication of Tamarindus indica seeds extract loaded-cream for photo-aged skin: Visioscan® studies. *Postepy Dermatol Alergol*. 2017;34(4):339-45.
139. Sanabria-de la Torre R, Ceres-Muñoz M, Pretel-Lara C, Montero-Vílchez T, Arias-Santiago S. Microtopography and Barrier Function in Healthy Skin: Differences between Forearm, Cheek and Palm. *Cosmetics*. 2024;11(1):5.

140. Courage + Khazaka Electronic. Visioscan VC 98 and The Software SELS. [En ligne]. 2005[cité 12 mai 2024]. Disponible: https://www.cosmeticsonline.com.br/produtos/arquivos/A42_instructions_vc98_sels_fw.pdf
141. Medx Health. SIAScope [En ligne]. 2024 [cité 6 janvier 2025]. Disponible: <https://www.medxhealth.com/fr/>
142. Banov D, Carvalho M, Schwartz S, Frumento R. A randomized, double-blind, controlled study evaluating the effects of two facial serums on skin aging. *Skin Res Technol*. 2023;29(11):e13522.
143. Wei K, Guo C, Zhu J, Wei Y, Wu M, Huang X, et al. The Whitening, Moisturizing, Anti-aging Activities, and Skincare Evaluation of Selenium-Enriched Mung Bean Fermentation Broth. *Front Nutr*. 2022;9:837168.
144. Rattanawiwatpong P, Wanitphakdeedecha R, Bumrungrert A, Maiprasert M. Anti-aging and brightening effects of a topical treatment containing vitamin C, vitamin E, and raspberry leaf cell culture extract: A split-face, randomized controlled trial. *J Cosmet Dermatol*. 2020;19(3):671-6.
145. Souyoul SA, Saussy KP, Lupo MP. Nutraceuticals: A Review. *Dermatol Ther*. 2018;8(1):5-16.
146. Morita A. Tobacco smoke causes premature skin aging. *J Dermatol Sci*. 2007;48(3):169-75.
147. Courage + Khazaka Electronic. Cutometer® Dual MPA 580. [En ligne]. 2023 [cité 3 nov 2023]. Disponible: <https://www.courage-khazaka.de/en/scientific-products/all-products?view=article&id=266&catid=16>
148. Schmidt JB, Binder M, Demschik G, Bieglmayer C, Reiner A. Treatment of skin aging with topical estrogens. *Int J Dermatol*. 1996;35(9):669-74.
149. Patel BC, Malhotra R. Mid Forehead Brow Lift. [En ligne]. 2023 [cité 3 nov 2023]. Disponible: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK535452/>
150. Keaney T. Male aesthetics. *Skin Ther Lett*. 2015;20(2):5-7.
151. Flament F, Abric A, Amar D. Gender-related differences in the facial aging of Chinese subjects and their relations with perceived ages. *Skin Res Technol*. 2020;26(6):905-13.
152. Nouveau-Richard S, Yang Z, Mac-Mary S, Li L, Bastien P, Tardy I, et al. Skin ageing: a comparison between Chinese and European populations. A pilot study. *J Dermatol Sci*. 2005;40(3):187-93.
153. Lephart ED, Naftolin F. Menopause and the Skin: Old Favorites and New Innovations in Cosmeceuticals for Estrogen-Deficient Skin. *Dermatol Ther*. 2020;11(1):53-69.
154. Tran HV. Caractérisation des propriétés mécaniques de la peau humaine *in vivo* via l'IRM [Thèse de doctorat]. Compiègne, France: Université de Technologie de Compiègne; 2007.
155. Constantin MM, Bucur S, Serban ED, Olteanu R, Bratu OG, Constantin T. Measurement of skin viscoelasticity: A non-invasive approach in allergic contact dermatitis. *Exp Ther Med*. 2020;20(6):184.
156. Pensalfini M, Rotach M, Hopf R, Bielicki A, Santoprete R, Mazza E. How cosmetic tightening products modulate the biomechanics and morphology of human skin. *Acta Biomater*. 2020;115:299-316.

157. Abbas DB, Lavin CV, Fahy EJ, Griffin M, Guardino N, King M, et al. Standardizing Dimensionless Cutometer® Parameters to Determine *In Vivo* Elasticity of Human Skin. *Adv Wound Care*. 2022;11(6):297-310.
158. Remache D. Contribution à l'étude expérimentale et numérique du comportement hyperélastique et anisotrope de la peau humaine [Thèse de doctorat]. Besançon, France : Université de Franche Comté; 2013.
159. Monteiro Rodrigues L, Fluhr JW, the EEMCO Group. EEMCO Guidance for the *in vivo* Assessment of Biomechanical Properties of the Human Skin and Its Annexes: Revisiting Instrumentation and Test Modes. *Skin Pharmacol Physiol*. 2019;33(1):44-60.
160. Henning SM, Guzman JB, Thames G, Yang J, Tseng CH, Heber D, et al. Avocado Consumption Increased Skin Elasticity and Firmness in Women - A Pilot Study. *J Cosmet Dermatol*. 2022;21(9):4028-34.
161. Mosquera T, Peña S, Álvarez P, Noriega P. Changes in Skin Elasticity and Firmness Caused by Cosmetic Formulas Elaborated with Essential Oils of *Aristeguietia glutinosa* (matico) and *Ocotea quixos* (ishpingo). *A Statistical Analysis. Cosmetics*. 2020;7(4):95.
162. Kazimierska K, Erkiert-Polguj A, Kalinowska-Lis U. The Efficacy of a Cosmetic Preparation Containing Sheep Colostrum on Mature Skin: A Randomized Placebo-Controlled Double-Blind Study. *Appl Sci*. 2024;14(7):2862.
163. Rampazzo S, Ferrari M, Sotgiu MA, Piu G, Solinas MG, Usai N, et al. Objective Non-Invasive Bio-Parametric Evaluation of Regenerated Skin: A Comparison of Two Acellular Dermal Substitutes. *Life*. 2024;14(1):121.
164. Pu SY, Huang YL, Pu CM, Kang YN, Hoang KD, Chen KH, et al. Effects of Oral Collagen for Skin Anti-Aging: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients*. 2023;15(9):2080.
165. Saewan N, Jimtaisong A, Panyachariwat N, Chaiwut P. *In Vitro* and *In Vivo* Anti-Aging Effect of Coffee Berry Nanoliposomes. *Molecules*. 2023;28(19):6830.
166. Lee YI, Lee SG, Jung I, Suk J, Baeg C, Han SY, et al. Topical Application of Peptide Nucleic Acid Antisense Oligonucleotide for MMP-1 and Its Potential Anti-Aging Properties. *J Clin Med*. 2023;12(7):2472.
167. Frédéric O. Etude *in vivo* du comportement mécanique du derme par une méthode élastographique haute résolution : applications à l'exploration d'anomalies du tissu élastique (syndrome de marfan) [Thèse de doctorat]. Tours, France : Ecole doctorale Santé, Sciences, technologies ; 2009.
168. Bacqueville D, Maret A, Noizet M, Duprat L, Coutanceau C, Georgescu V, et al. Efficacy of a Dermocosmetic Serum Combining Bakuchiol and Vanilla Tahitensis Extract to Prevent Skin Photoaging *in vitro* and to Improve Clinical Outcomes for Naturally Aged Skin. *Clin Cosmet Investig Dermatol*. 2020;13:359-70.
169. Lafrance H. Modelisation du comportement viscoélastique d'équivalents cutanés cultivés *in vitro* [Thèse de doctorat]. Montréal, Canada : Ecole Polytechnique de Montréal; 1997.

170. Ammam I, Guillermin A, Ouillon L, Luc Perrot J, Zahouani H, Vargiolu R. Caractérisation des propriétés viscoélastiques sous-cutanées : application à la dermatologie. 15ème colloque national en calcul des structures, Université Polytechnique Hauts-de-France [UPHF], 2022, Hyères-les-Palmiers, France.
171. Dia-Stron. BLS780 Balistometer [En ligne]. 2023 [cité 26 mai 2024]. Disponible: <https://www.diastron.com/app/uploads/2018/06/Dia-Stron-BLS780-Brochure-V2.pdf>
172. Blackstone BN, Wilgus TA, Roy S, Wulff BC, Powell HM. Skin Biomechanics and miRNA Expression Following Chronic UVB Irradiation. *Adv Wound Care*. 2020;9(3):79-89.
173. Firooz A, Sadr B, Babakoochi S, Sarraf-Yazdy M, Fanian F, Kazerouni-Timsar A, et al. Variation of Biophysical Parameters of the Skin with Age, Gender, and Body Region. *Sci World J*. 2012;2012:386936.
174. Rosado C, Antunes F, Barbosa R, Fernando R, Monteiro Rodrigues L. Cutiscan® - A new system of biomechanical evaluation of the skin *in vivo* - comparative study of use depending on the anatomical site: Cutiscan®. *J Biomed Biopharm Res*. 2015;12(1):49-57.
175. Barone F, Sameer B, Wondin F. Clinical Evidence of Dermal and Epidermal Restructuring from a Biologically Active Growth Factor Serum for Skin Rejuvenation. *J Drugs Dermatol*. 2019;18(3):290-295.
176. Downing DT, Strauss JS, Pochi PE. Variability in the Chemical Composition of Human Skin Surface Lipids*. *J Invest Dermatol*. 1969;53(5):322-7.
177. Lovászi M, Szegedi A, Zouboulis CC, Törőcsik D. Sebaceous-immunobiology is orchestrated by sebum lipids. *Dermatoendocrinol*. 2017;9(1):e1375636.
178. Géhin C, Tokarska J, Fowler SJ, Barran PE, Trivedi DK. No skin off your back: the sampling and extraction of sebum for metabolomics. *Metabolomics*. 2023;19(4):21.
179. Xu H, Li H. Acne, the Skin Microbiome, and Antibiotic Treatment. *Am J Clin Dermatol*. 2019;20(3):335-44.
180. Pande SY, Misri R. Sebumeter. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 2005;71:444.
181. Piérard GE, Piérard-Franchimont C, Marks R, Paye M, Rogiers V. EEMCO guidance for the *in vivo* assessment of skin greasiness. The EEMCO Group. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol*. 2000;13(6):372-89.
182. Courage + Khazaka Electronic. Sebumeter® SM 815. [En ligne]. 2023 [cité 3 nov 2023]. Disponible: <https://courage-khazaka.de/en/scientific-products/efficacy-tests/in-vitro?view=article&id=151:sebumeter-d-2&catid=16:alle-produkte>
183. Kawam A. Device and method for simple visual measurement of the amount of sebum present on human skin [En ligne]. 1992. [cité 13 mai 2024]. Disponible: <https://patents.google.com/patent/US5094248A/en>
184. Timudom T, Chaiyasut C, Sivamaruthi BS, Tiampasook P, Nacapunchai D. Anti-Sebum Efficacy of *Phyllanthus emblica* L. (Embllica) Toner on Facial Skin. *Appl Sci*. 2020;10(22):8193.
185. Ernoult J. Mesure de la production sébacée chez le chien : comparaison de deux méthodes [Thèse d'exercice]. Toulouse, France: Université Paul Sabatier; 2021.

186. Courage-Khazaka. Brochure_Glossymeter [En ligne]. 2024 [cité 13 mai 2024]. Disponible : https://www.couragekhazaka.com/images/Downloads/Brochures/Wissenschaftlich/Brochure_Glossymeter.pdf
187. Yanguì A. Etude des propriétés optiques et structurales des matériaux hybrides organiques-inorganiques à base de Plomb: émission de lumière blanche [Thèse de doctorat]. Paris, France: Université Paris-Saclay; 2016.
188. Newton. Imagerie innovante [En ligne]. 2024[cité 27 mai 2024]. Disponible: <https://newtone.fr/innovate-imaging>
189. Weatherall IL, Coombs BD. Skin color measurements in terms of CIELAB color space values. *J Invest Dermatol*. 1992;99(4):468-73.
190. Marin Q, Honda T, Nakajima H, Okano Y, Cherel M, Prestat-Marquis E. Analysis of correlation and construction of a predictive model of skin transparency using parameters from digital images of the face. *Skin Res Technol*. 2022;28(4):582-95.
191. Gevaux L. 3D-hyperspectral imaging and optical analysis of skin for the human face [Thèse de doctorat] Lyon, France : Université de Lyon; 2019.
192. Melnik BC. Linking diet to acne metabolomics, inflammation, and comedogenesis: an update. *Clin Cosmet Investig Dermatol*. 2015;8:371-88.
193. Williams M, Cunliffe WJ, Williamson B, Forster RA, Cotterill JA, Edwards JC. The effect of local temperature changes on sebum excretion rate and forehead surface lipid composition. *Br J Dermatol*. 1973;88(3):257-62.
194. Hou X, Wei Z, Zouboulis CC, Ju Q. Aging in the sebaceous gland. *Front Cell Dev Biol*. 2022;10:909694.
195. Sakuma TH, Maibach HI. Oily skin: an overview. *Skin Pharmacol Physiol*. 2012;25(5):227-35.
196. Liu Y, Jiang W, Tang Y, Zhang Q, Zhen Y, Wang X, et al. An optimal method for quantifying the facial sebum level and characterizing facial sebum features. *Skin Res Technol*. 2023;29(9):e13454.
197. Help Center. Guide de choix de test statistique XLSTAT Centre d'aide [En ligne]. 2023 [cité 9 nov 2023]. Disponible : <https://help.xlstat.com/fr/6443-which-statistical-test-should-you-use>

L'ISPB - Faculté de Pharmacie de Lyon et l'Université Claude Bernard Lyon 1 n'entendent donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les thèses ; ces opinions sont considérées comme propres à leurs auteurs.

L'ISPB - Faculté de Pharmacie de Lyon est engagé dans une démarche de lutte contre le plagiat. De ce fait, une sensibilisation des étudiants et encadrants des thèses a été réalisée avec notamment l'incitation à l'utilisation d'une méthode de recherche de similitudes.

VICTOIRE Mathieu

Revue de la réglementation sur les évaluations cliniques cosmétiques et proposition de protocoles pour des tests d'efficacité

Th. D. Pharm., Lyon 1, 2025, 100 p.

RESUME

Les cosmétiques sont des produits fortement réglementés par le Code de la Santé Publique et le règlement cosmétique. De ce fait, toutes les allégations doivent être validées par l'expérimentation.

L'objectif de ce travail est notamment, de proposer une revue de la réglementation cosmétique afin de comprendre comment un test d'efficacité clinique doit être construit et de proposer des protocoles d'efficacité qui limitent au maximum les biais tout en respectant la réglementation.

Nous avons dans un premier temps, introduit le sujet avec l'histoire et l'analyse de la réglementation cosmétique puis nous avons abordé le décryptage de la réglementation des essais cliniques.

Nous avons ensuite ciblé les principaux biais susceptibles d'être dans un essai clinique afin de construire au mieux les protocoles expérimentaux.

Enfin, la dernière partie de ce travail s'est attachée à présenter 4 protocoles permettant de soutenir une allégation tout en respectant la réglementation et en limitant les biais

MOTS CLES

Evaluation clinique
Produits cosmétiques
Réglementation
Protocole

JURY

Mme BOLZINGER Marie-Alexandrine, Professeur des Universités
M ARMOIRY Xavier, Professeur des Universités
M PETIT Antoine, Pharmacien

DATE DE SOUTENANCE

18 mars 2025

CONTACT

marie.bolzinger@univ-lyon1.fr