



CELL ALTERNATIV

Créez. Nous testons.

EVALUATION DE *l'efficacité* approches *in vitro*



Sophie GOLDBLUM
Sophie CATOIRE
Adeline JOSSEAUME

s.goldblum@puressentiel.com
sophie.catoire@cell-alternativ.fr
adeline.josseaume@cell-alternativ.fr

L'efficacité par l'*in vitro*

1

L'efficacité cosmétique par l'*in vitro*

2

L'effet apaisant et les signaux cellulaires

3

L'effet réparateur et la morphologie cutanée



Objectifs de l'étude

1

L'efficacité cosmétique par l'*in vitro*





Les données *in vitro* peuvent-elles justifier une allégation ?



Les allégations cosmétique peuvent être justifiées par des résultats *in vitro*, mais **pas toutes** et **pas seules**.

Règlement (CE) 1223/2009 et le Règlement (UE) n°655/2013 sur les allégations :

- Les preuves doivent être **suffisantes et vérifiables**
- Les méthodes doivent être **pertinentes pour soutenir l'allégation**
- Les tests ***in vitro* seuls** sont acceptables **si l'allégation porte uniquement sur un mécanisme démontrable *in vitro***

✓ « testé in vitro », « démontré sur modèle cellulaire »





Les données *in vitro* peuvent-elles justifier une allégation ?

Type d'allégation	Preuves <i>in vitro</i> seules	Nécessite clinique ?
Mécanisme biologique	✓ Oui	✗ Non
Effet visible sur la peau	✗ Non	✓ Oui
Effet sensoriel	✗ Non	✓ Oui
Action cellulaire	✓ Oui	✗ Non
Réduction de signe visible (rides, taches...)	✗ Non	✓ Oui

Les tests *in vitro* relèvent principalement du critère « éléments probants »



Mécanismes biologiques justifiables *in vitro*:

- Mécanismes liés à la **synthèse** ou **dégradation des protéines de la peau** (ex: collagène)
- Mécanismes liés à la **barrière cutanée** (ex: filaggrine)
- Mécanismes **anti-oxydants** (ex: ROS)
- Mécanismes **anti-pollution** (ex: adhésion des particules fines)
- Mécanismes **anti-inflammatoires** (ex : IL-1 alpha)

Mécanismes biologiques justifiables *in vitro*:



Domaine	Mécanismes mesurables
Anti-âge	collagène ↑, MMPs ↓, élastine ↑
Hydratation (mécanismes)	AQP3 ↑, céramides ↑, filaggrine ↑
Antioxydant	ROS ↓, SOD ↑
Anti-inflammatoire	IL-1α ↓, COX-2 ↓
Éclaircissant	tyrosinase ↓, mélanogénèse ↓
Anti-pollution	adhésion PM ↓, peroxydation ↓
Microbiote	croissance bactérienne modérée ↓

Avantages et limites



Limites

Ne remplacent pas complètement la complexité de la peau humaine,

Ne donnent pas d'information sur la sensorialité,

Ne montrent pas la complétude des effets sur la peau.

Avantages

Ethiques,

Permettent d'explorer les mécanismes d'action au niveau cellulaire,

Complètent les tests cliniques sur volontaires.

Objectifs de l'étude



L'effet apaisant et les signaux cellulaires



Effet apaisant



Au niveau biologique l'effet apaisant se traduit par une **diminution de la réponse inflammatoire cutanée**.

Pour rester conforme, l'allégation doit rester mécanistique, par exemple :

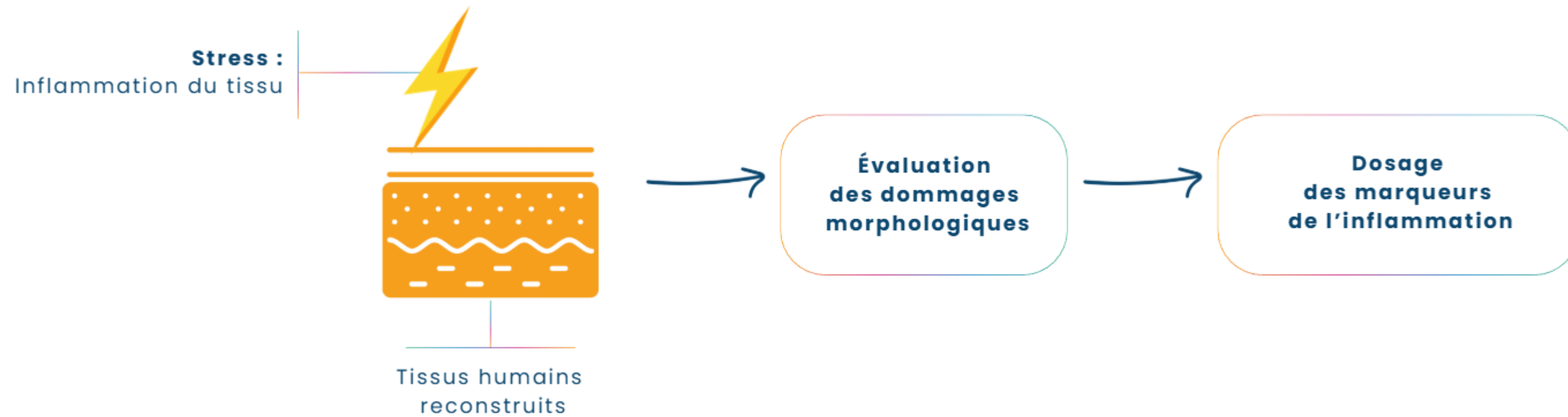
"A une activité apaisante démontrée *in vitro* (réduction des cytokines pro-inflammatoires)"

"Aide à réduire la libération de médiateurs cellulaire de l'inflammation"

"Aide les mécanismes naturels d'atténuation de la réponse inflammatoire cellulaire"



Effet apaisant

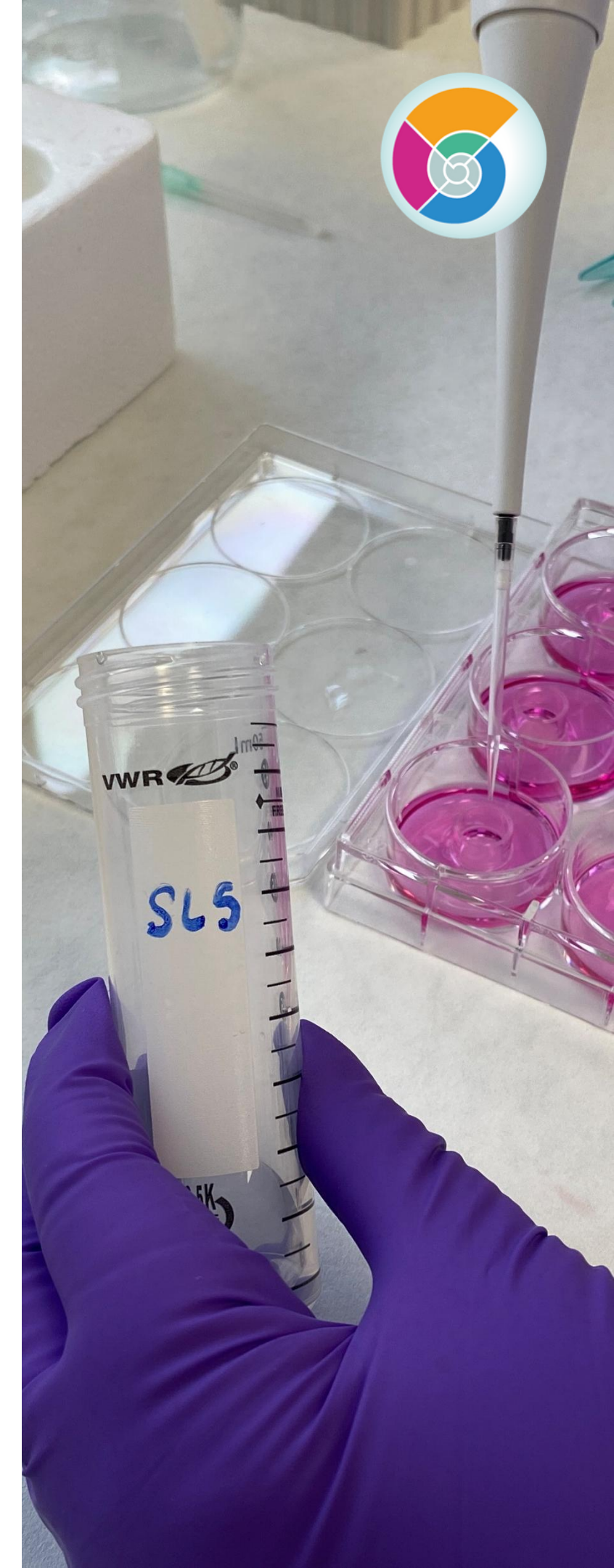


Proposition d'une stratégie :

Choix du stress, durée, mode d'application...

Choix des biomarqueurs: Multiples dosages de 20 cytokines et facteurs de croissance, par ex.

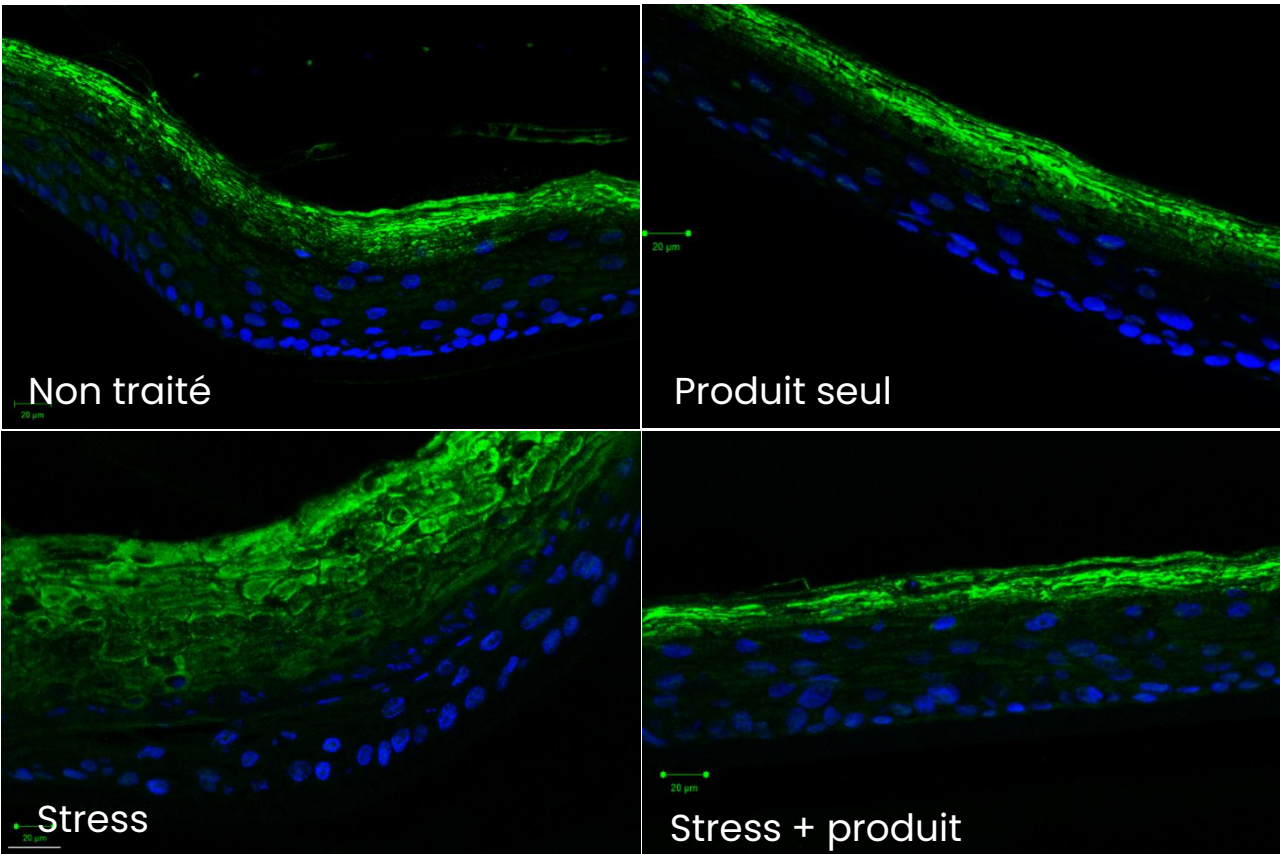
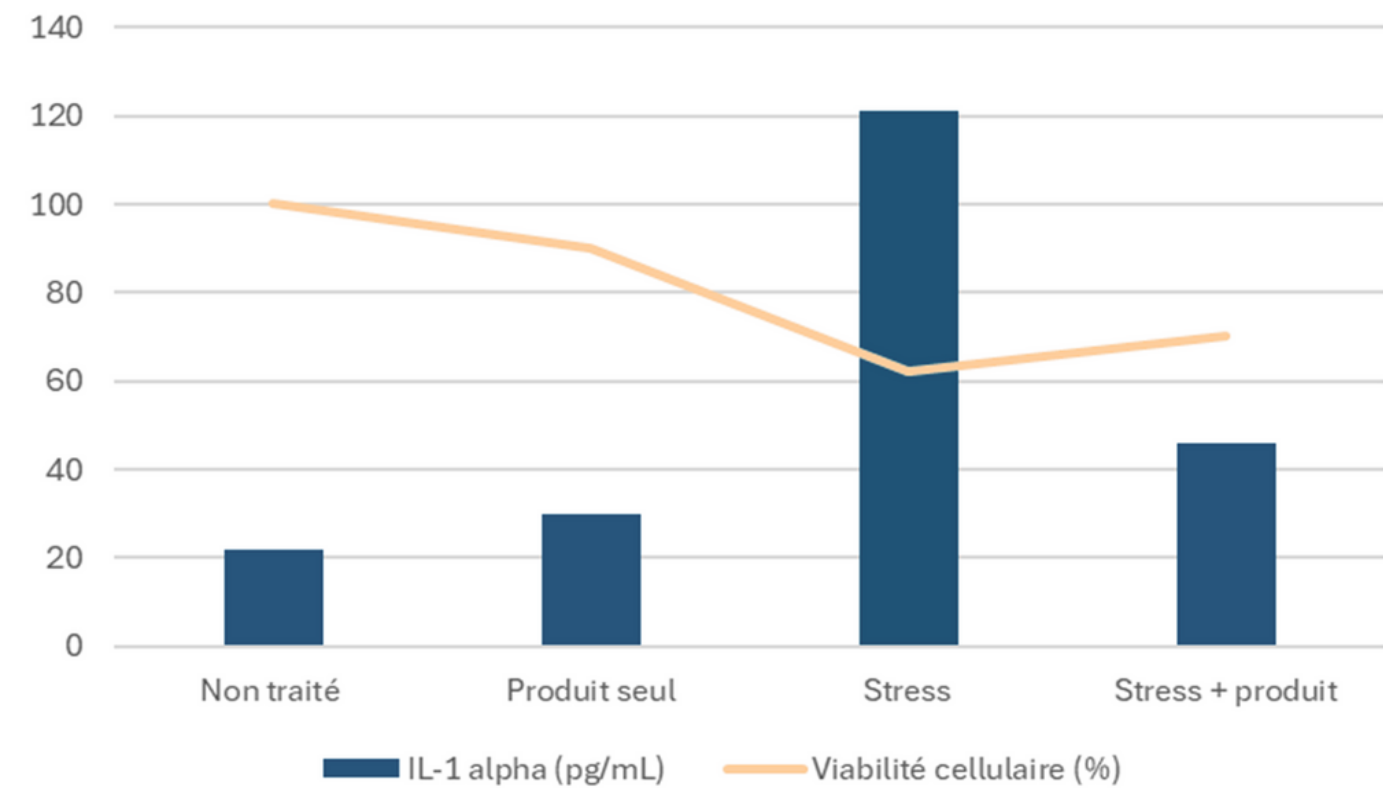
IL-1alpha / IL-1 beta / IL-2 / IL-4 / IL-5 / IL-6 / IL-8 / IL-10 / IL-12 p70 / IL-13 / GM-CSF / GRO / IFN gamma / MCP-1 / MIP-1 alpha / MIP-1 beta / MMP-9 / RANTES / TNF alpha / VEGF



Effet apaisant



Résultats



Immunomarquages de la filaggrine : le stress induit une désorganisation de la structure du tissu, non visible avec le traitement



Objectifs de l'étude

1

2

3

L'effet réparateur et la morphologie cutanée



Effet réparateur



En cosmétique, « réparer » doit être compris comme **réparer la barrière cutanée, améliorer l'intégrité de la peau, ou aider les cellules à restaurer leurs fonctions**, jamais comme réparer une lésion.

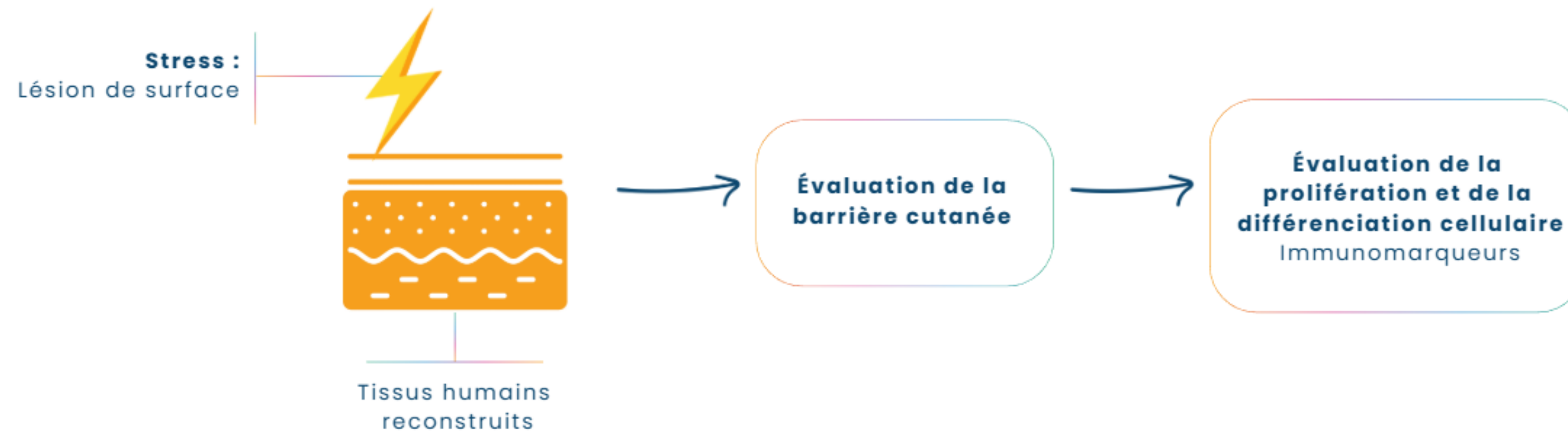
✗ À proscrire : toute notion de guérison, cicatrisation, traitement.

Mécanismes démontrables *in vitro* :

- "Testé *in vitro* – aide à soutenir les mécanismes naturels de réparation cutanée"
- "Contribue aux processus naturels de restauration cellulaire (*modèle *in vitro*)"
- "Aide à restaurer l'équilibre cutané après une agression (*test *in vitro*)"
- "Participe au maintien de l'intégrité cutanée (*activité biologique *in vitro*)"
- "Contribue à restaurer la fonction barrière altérée (modèle cellulaire)"



Effet réparateur



Proposition d'une stratégie :

Formation de **lésions de surface** (SDS, frottements, incisions, brûlures...).

Viabilité cellulaire par cytotoxicité au MTT.

Évaluation de la barrière cutanée et des jonctions serrées par mesure de la **résistance électrique transepithéliale** TEER (à J3 et J7 de traitement).

Immunomarquage avec deux anticorps à J3 et J7 de traitement (prolifération : Ki-67 et différenciation : Filaggrine).



Augmentation de la filaggrine

=

améliore la cohésion de l'épiderme

Augmentation du Ki67

=

favorise le processus de renouvellement cellulaire

Exemple d'une stratégie *in vitro* sur mesure



- 1 Positionnement marché du produit
- 2 Consolidation du dossier réglementaire
- 3 Valorisation commerciale



QUI SOMMES-NOUS ?



UNE AVENTURE HUMAINE, FAMILIALE ET INDÉPENDANTE.

Un laboratoire de santé naturelle.



*Notre raison d'être**
INVENTER UNE SANTÉ
PLUS PURE
PLUS NATURELLE
PLUS EFFICACE

*Inscrite dans les statuts juridiques du Laboratoire Puresentiel conformément à la Loi Pacte.



Notre mission

La Nature a un pouvoir, celui de produire des substances actives d'une puissance unique, **notre mission est de les sélectionner et de les associer pour notre santé et notre bien-être**, et ceci de la façon la plus naturelle, écoresponsable, durable et solidaire possible.



Puressentiel puise dans la nature

CE QU'ELLE A DE MEILLEUR À OFFRIR

Ingrédients d'origine végétale

100%

Purs et naturels

99,5%

Taux de naturalité
de nos formules

0%

Substances
néfastes*

*Sans conservateur, sans paraben, sans phénoxyéthanol, sans P.E.G., sans colorant, sans O.G.M., sans matière première animale² ou issue de la pétrochimie, sans parfum de synthèse, sans gaz propulseur nocif pour l'environnement, sans microbille plastique, sans diméthicone, sans silicone, sans phtalate et ce, depuis toujours !



A person wearing a blue long-sleeved shirt and an orange headscarf is working in a field of tall, dense green grass. The person is positioned in the middle ground, slightly to the left of the center. The grass is very tall and thick, reaching up to the person's chest. The background is filled with more of the same grass, creating a textured, green landscape. The overall scene suggests a rural or agricultural setting.

DES VALEURS FONDATRICES



3 VALEURS ESSENTIELLES

NATUREL

*La préservation de l'environnement,
un engagement naturel pour Puressentiel*

ENGAGEMENT

*La santé et le bien-être de tous
sont au cœur de notre engagement*

PERFORMANCE

*Une entreprise performante
pour des produits à l'efficacité prouvée*

3 Comités Scientifiques
composés d'experts pluridisciplinaires

Prise en charge de la douleur
dans les pathologies
musculo-articulaires

Médecins du sport, Chefs de service
Traumatologie et Rééducation physique

Allergies et pathologies
ORL et bronchiques

Pneumologues, Pneumo-pédiatres
et Allergologues

Environnement Intérieur
et Pathologies Respiratoires

Chefs de service Pneumologie
et Allergologues

3 500

Tests d'analyses et
développement

20

Articles publiés
dans des
publications
scientifiques de
référence dont

10

études cliniques

500

Etudes cliniques
et tests d'efficacité



Brûlures superficielles ?

Soulager et réparer naturellement l'épiderme agressé & fragilisé

- Segment majoritairement dominé par des produits sur base d'huiles issues de la pétrochimie
- Pas de test disponible* pour évaluer l'effet réparateur et cicatrisant d'une peau brûlée



Comment adresser la brûlure ?

Brûlure mineure de 1^{er} degré :

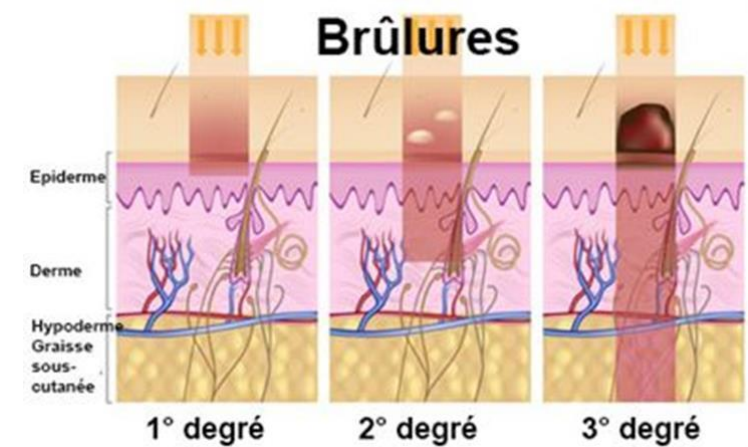
Atteinte superficielle de l'épiderme
Lésions érythémateuses (coup de soleil, rougeur)
Douleurs

1

Soulager, apaiser, rafraîchir

Avis experts :

Adresser les deux pathologies
→ Apport effet apaisant / rafraichissant ET effet réparateur



Superficielle

Destruction de l'épiderme
Atteinte de la membrane basale
Lésions érythémateuses
Cloques
Douleurs intenses

1

Soulager, apaiser, rafraîchir

2

Protéger, reconstruire, cicatriser

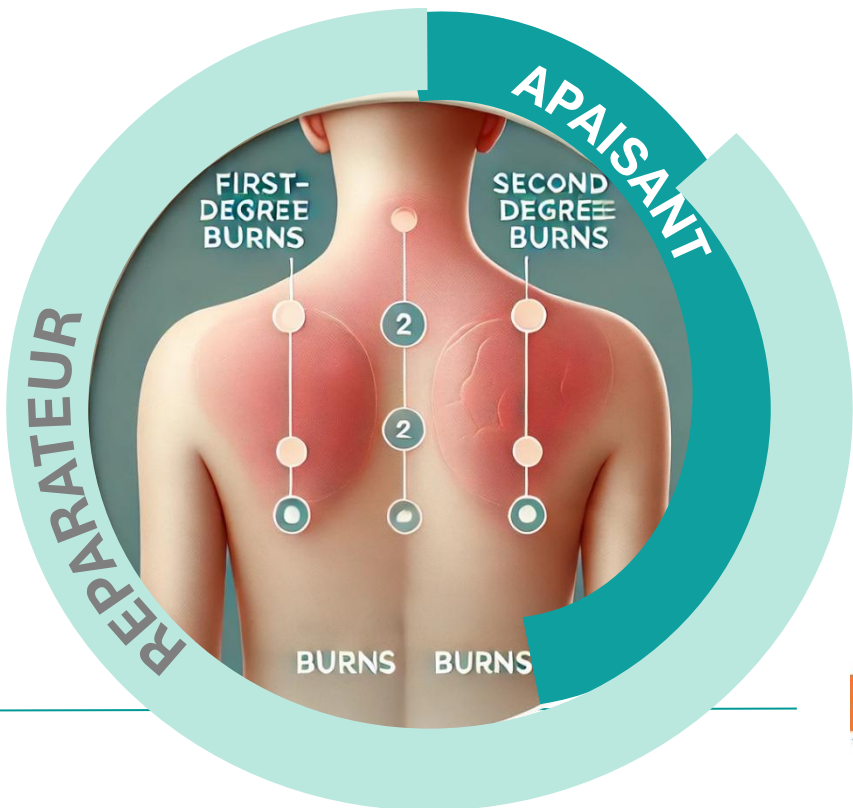
Appliquer en couche épaisse

Brûlure 2^{ème} degré :

Profonde

Destruction de l'épiderme
Atteinte du derme
Lésions profondes
Cloques pâles
Anesthésie partielle

Voir un médecin



Une synergie phyto-aroma

ANTI-MICROBIENNE

ANTI-INFLAMMATOIRE & ANTALGIQUE

CICATRISANT & REPARATEUR

APAISANT & RAFRAICHISSANT

Huiles Essentielles BIO
Extraits de plantes
Huile végétale BIO
Vitamine

SANS SUBSTANCE MÉDICAMENTEUSE

95% NATUREL !



0% HUILE MINÉRALE,
PARFUM DE SYNTHÈSE,
COLORANT, PARABÈNE



BRÛLURES SUPERFICIELLES

✓ EFFET RAFRAICHISSANT, CALMANT, APAISANT, HYDRATANT, NOURISSANT

- TESTS D'USAGE
- Efficacité & Tolérance approuvée sous contrôle dermatologique
- Panel peaux sensibles 100% mais impossibilité de d'avoir un panel avec des brûlures superficielles (uniquement peaux saines)

✓ EFFET HYDRATANT

- CORNEOMETRIE
- Evaluation de l'hydratation des couches superficielles d'une peau saine

✗ EFFET REPARATEUR, CICATRISANT d'une peau agressée et fragilisée

Nécessité d'évaluer l'efficacité sur peau brûlée → MODELE VITRO



Le modèle VITRO et ses avantages

- ✓ MISE EN EVIDENCE DE L'EFFET REPARATEUR DE LA FONCTION BARRIERE DE L'EPIDERME
- ✓ MISE EN EVIDENCE DE LA REGENERATION CELLULAIRE
- ✓ MISE EN EVIDENCE DE L'ABAISSMENT DE LA PROPAGATION DE LA BRULURE

**SUR DES BRÛLURES THERMIQUES DU
1^{er} ET 2nd DEGRE**





CELL ALTERNATIV

Créez. Nous testons.

EVALUATION D'UN

effet réparateur

APRÈS BRÛLURE SUPERFICIELLE

MISE AU POINT DE LA METHODE

Objectifs de l'étude



1

Définition des besoins de Puressentiel

2

Mise au point de la brûlure et des paramètres d'application

3

Choix des points de mesures pertinents





Définition des besoins de Puresentiel

- Méthode d'évaluation *in vitro* pour évaluer un effet réparateur sur brûlure thermique, impossible avec des volontaires
- Produit cosmétique, donc évaluation sur l'épiderme uniquement
- Besoin d'allégations claires et parlantes aux consommateurs

Brûlure superficielle de second degré : présence de cloques, parois épaisses, douleur.



Utilisation du modèle AlternaSkin®

Epiderme humain reconstruit chez Cell Alternativ

Composé de kératinocytes primaires humains, principal type cellulaire de l'épiderme

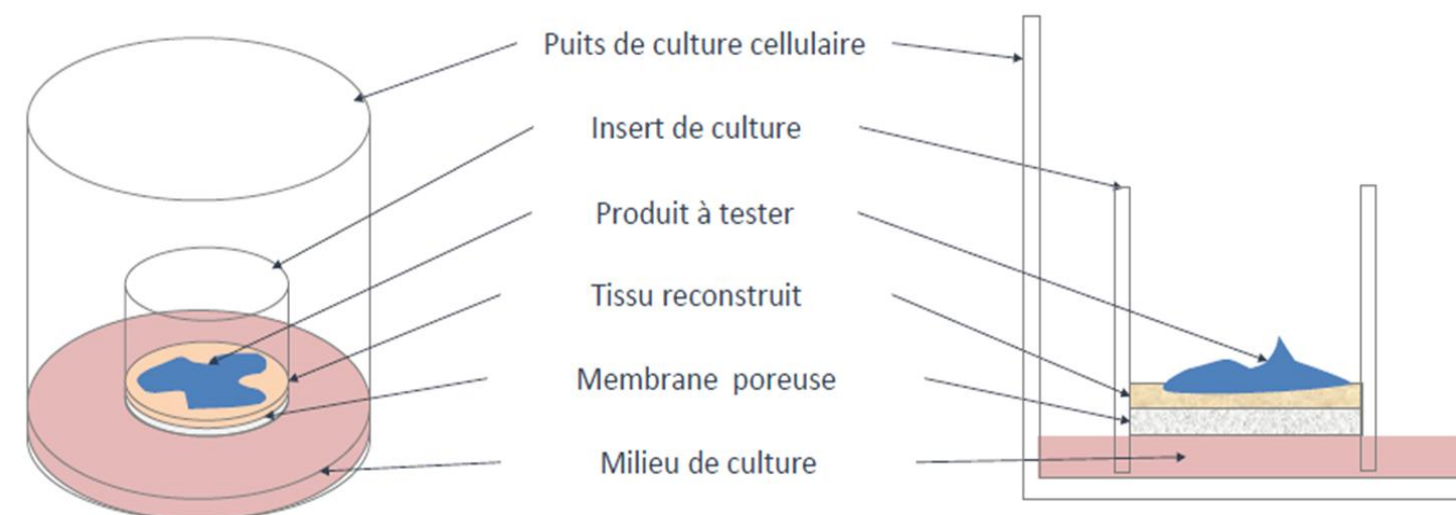


Stratum corneum

Stratum granulosum

Stratum spinosum

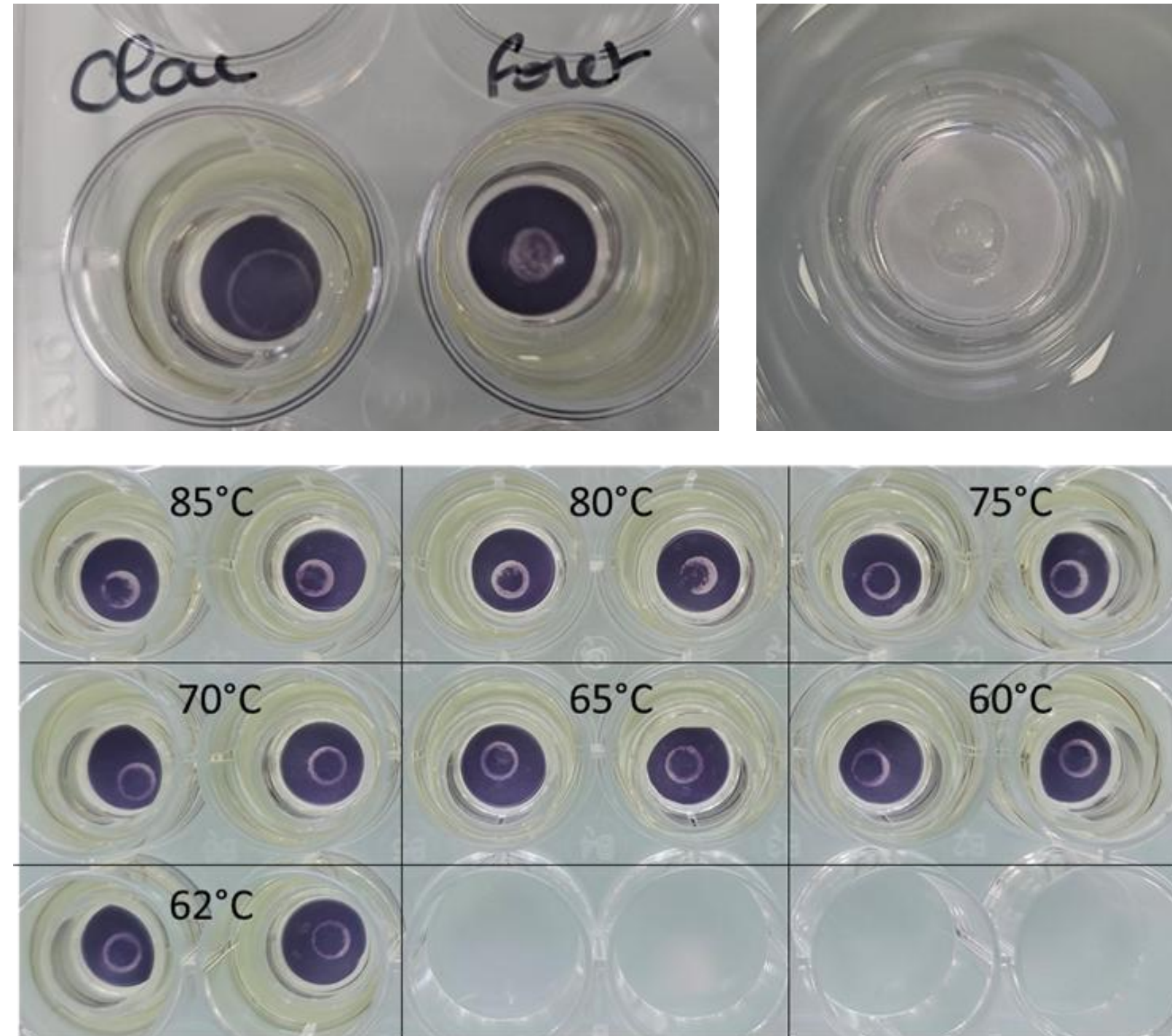
Stratum basale



Mise au point de la brûlure



- Choix de l'instrument,
- Détermination de la température optimale.





Mise au point des paramètres d'application



- Choix d'un contrôle positif,
- Temps de traitement,
- Quantité de produit à appliquer.

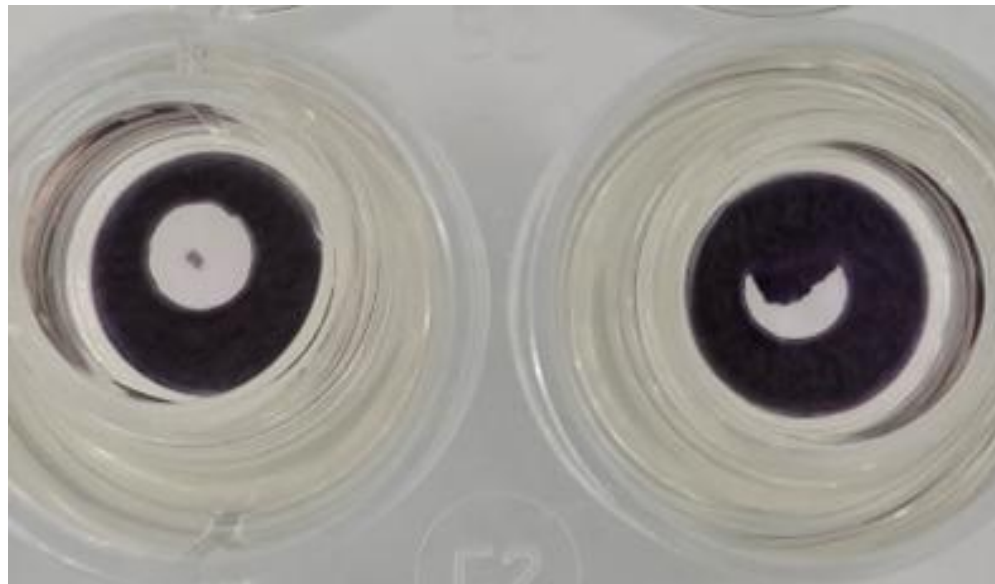
Tests réalisés à l'aide d'une **crème réparatrice** pour brûlures superficielles commercialisée.

Traitement **mimant l'utilisation réelle** :

- Début du traitement 15min après brûlure,
- Traitement répété sur plusieurs jours.

Quantité à appliquer → **compromis** entre **utilisation réelle** et **risque de cytotoxicité**

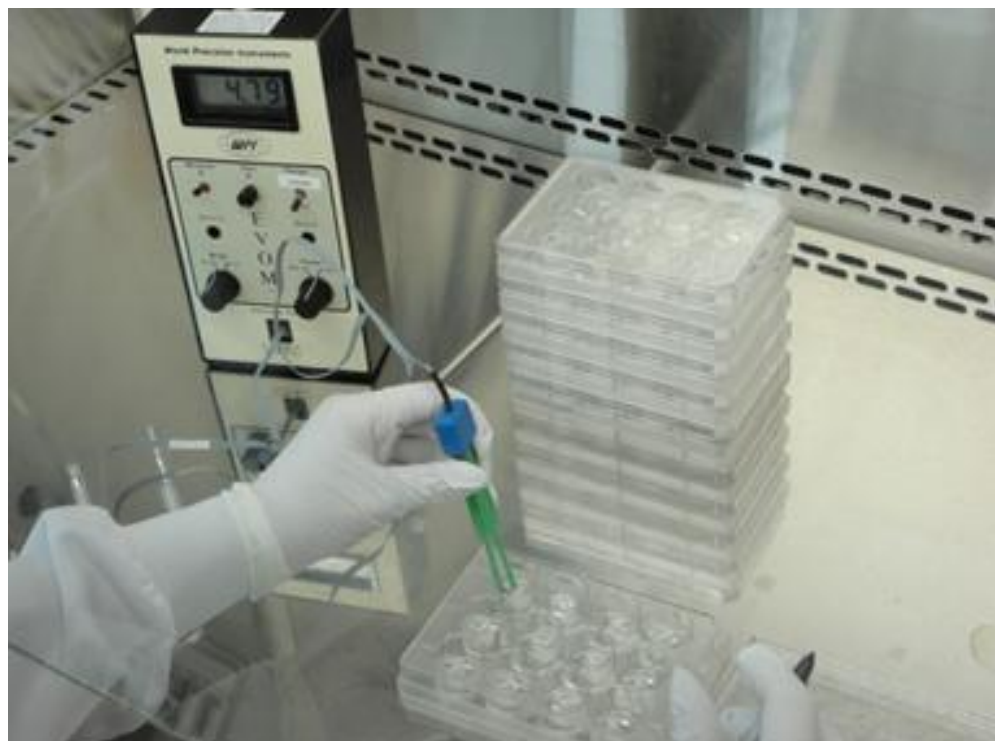
Détermination des points de mesure



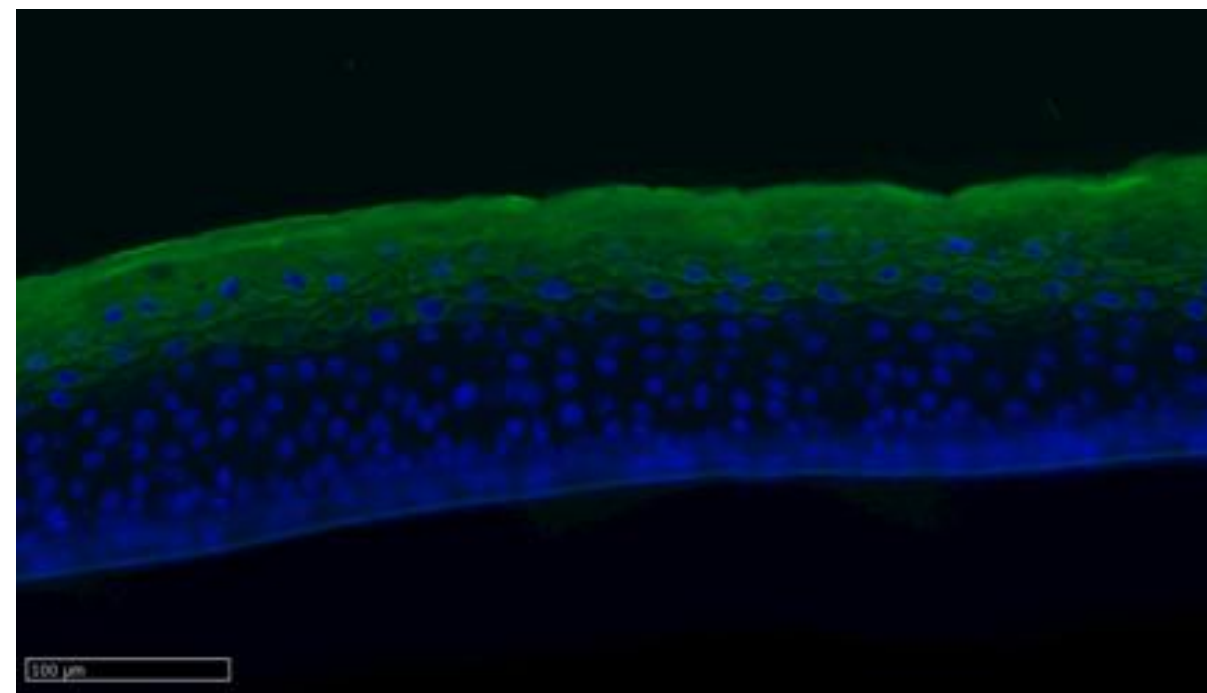
Test de
prolifération
cellulaire
au MTT



Etude morphologique
par coloration
Hématoxyline éosine



Evaluation de la
fonction barrière par
mesure électrique
trans épithéliale

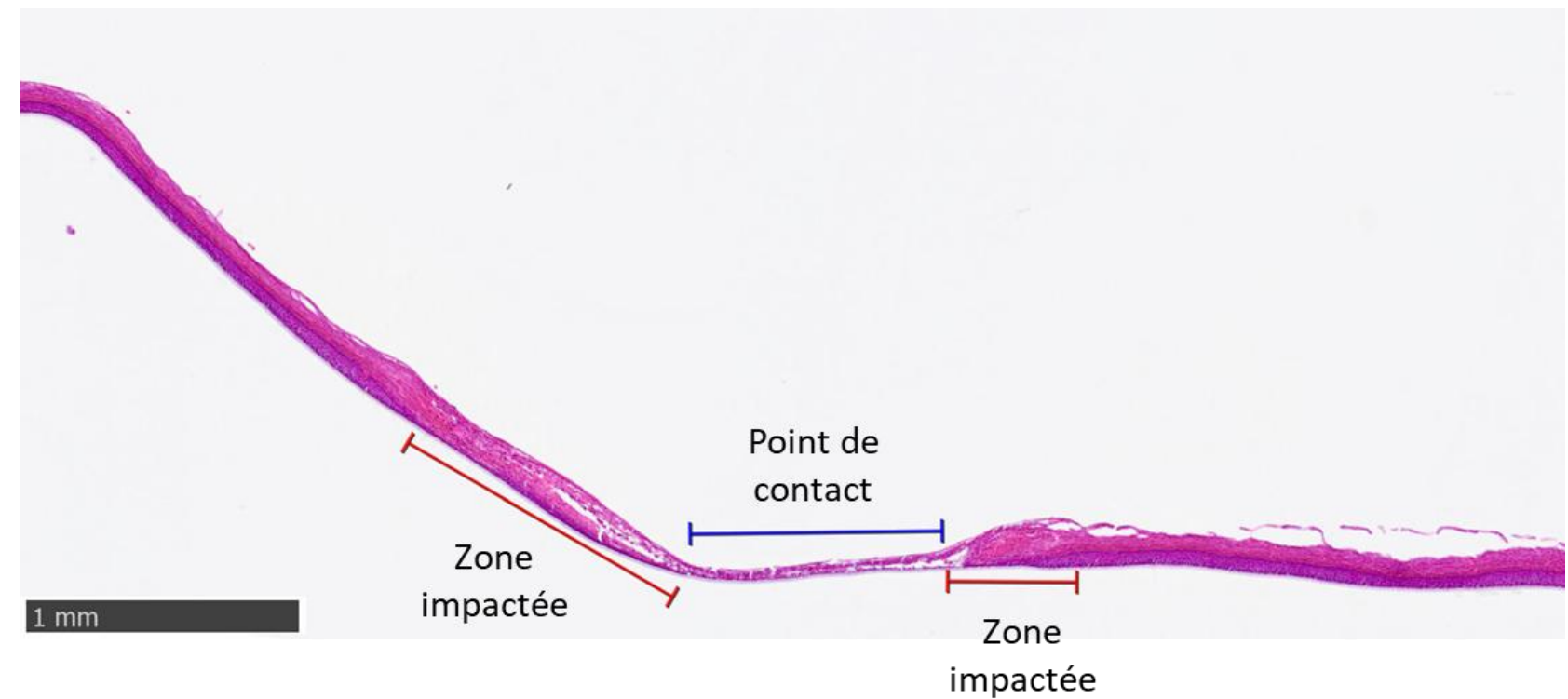
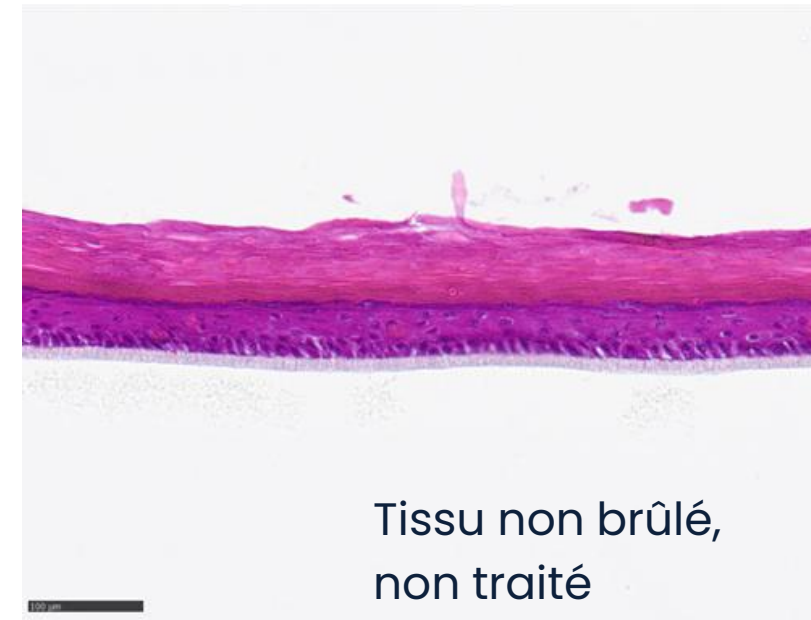


Immunomarquage de
la filaggrine, protéine
impliquée dans la
formation du *stratum*
corneum de l'épiderme

Détermination des points de mesure



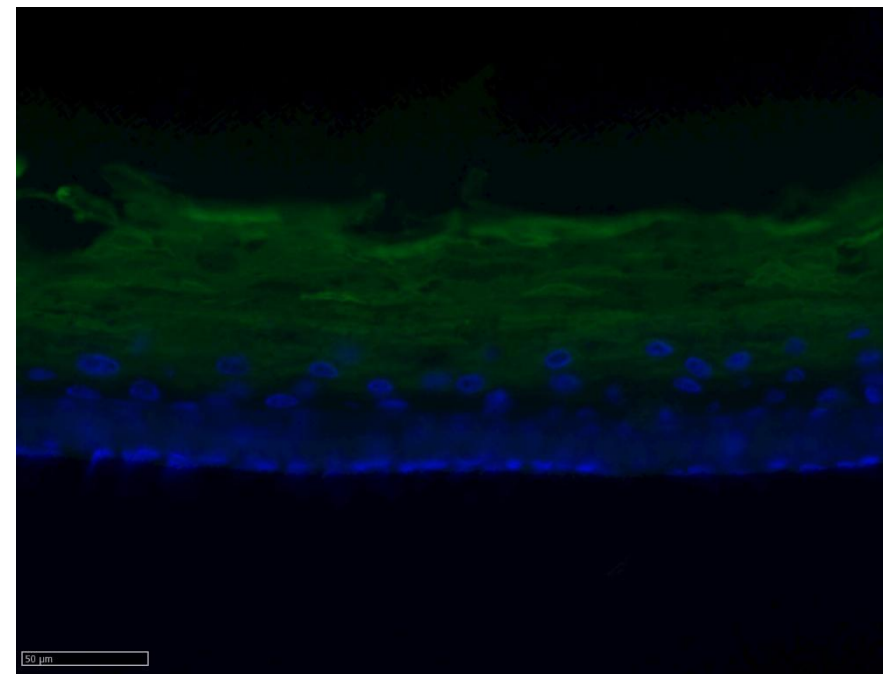
Zone d'intérêt à étudier :
→ brûlure mais aussi zone périphérique



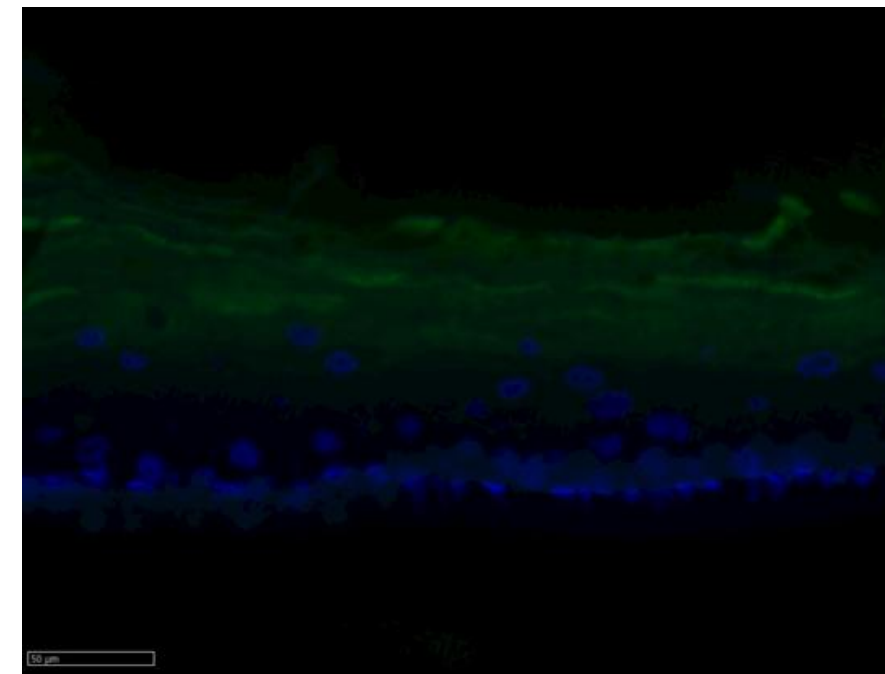
Détermination des points de mesure



Stratum corneum
Stratum granulosum
Stratum spinosum
Stratum basale



Tissu non brûlé, non traité



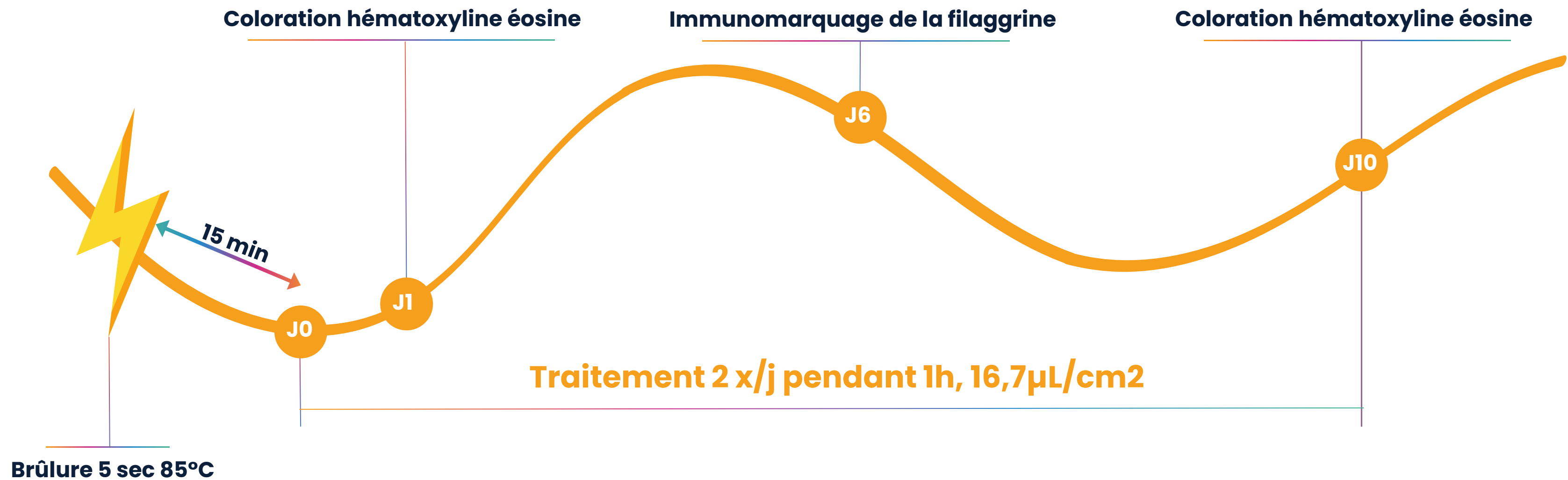
Tissu brûlé, non traité



La filaggrine est une protéine impliquée dans la formation de la couche cornée → rôle clé dans la fonction barrière de l'épiderme.



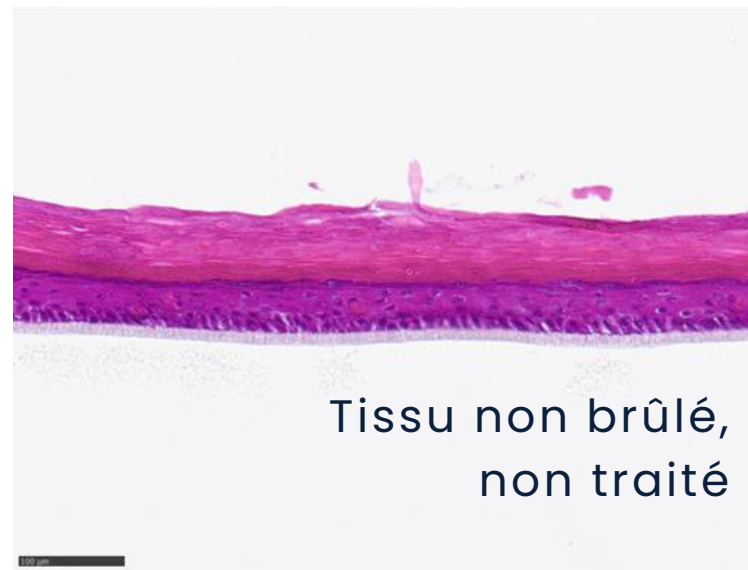
Méthode validée pour l'évaluation de la formulation naturelle pour brûlures Laboratoire Puressentiel®



Résultats obtenus



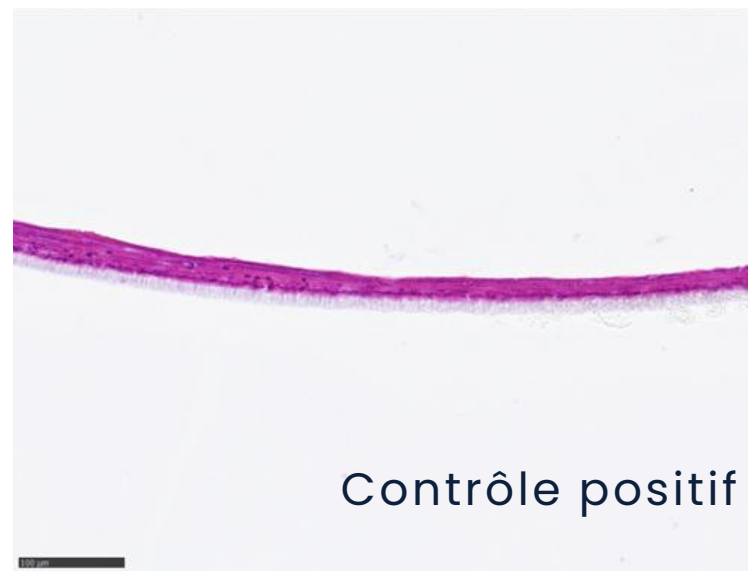
Coloration hématoxyline éosine :
morphologie des tissus brûlés



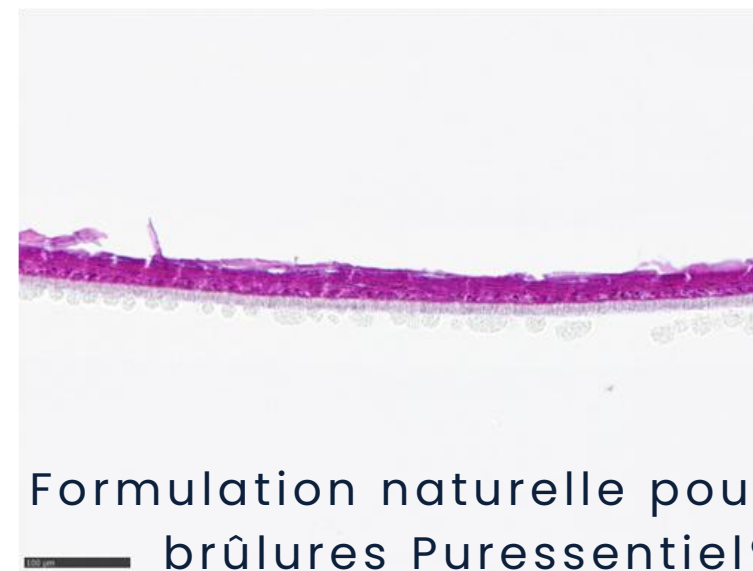
Tissu non brûlé,
non traité



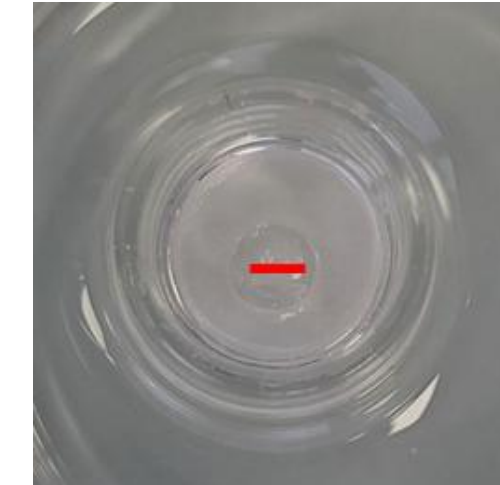
Tissu brûlé,
non traité



Contrôle positif



Formulation naturelle pour
brûlures PuresSENTIEL®

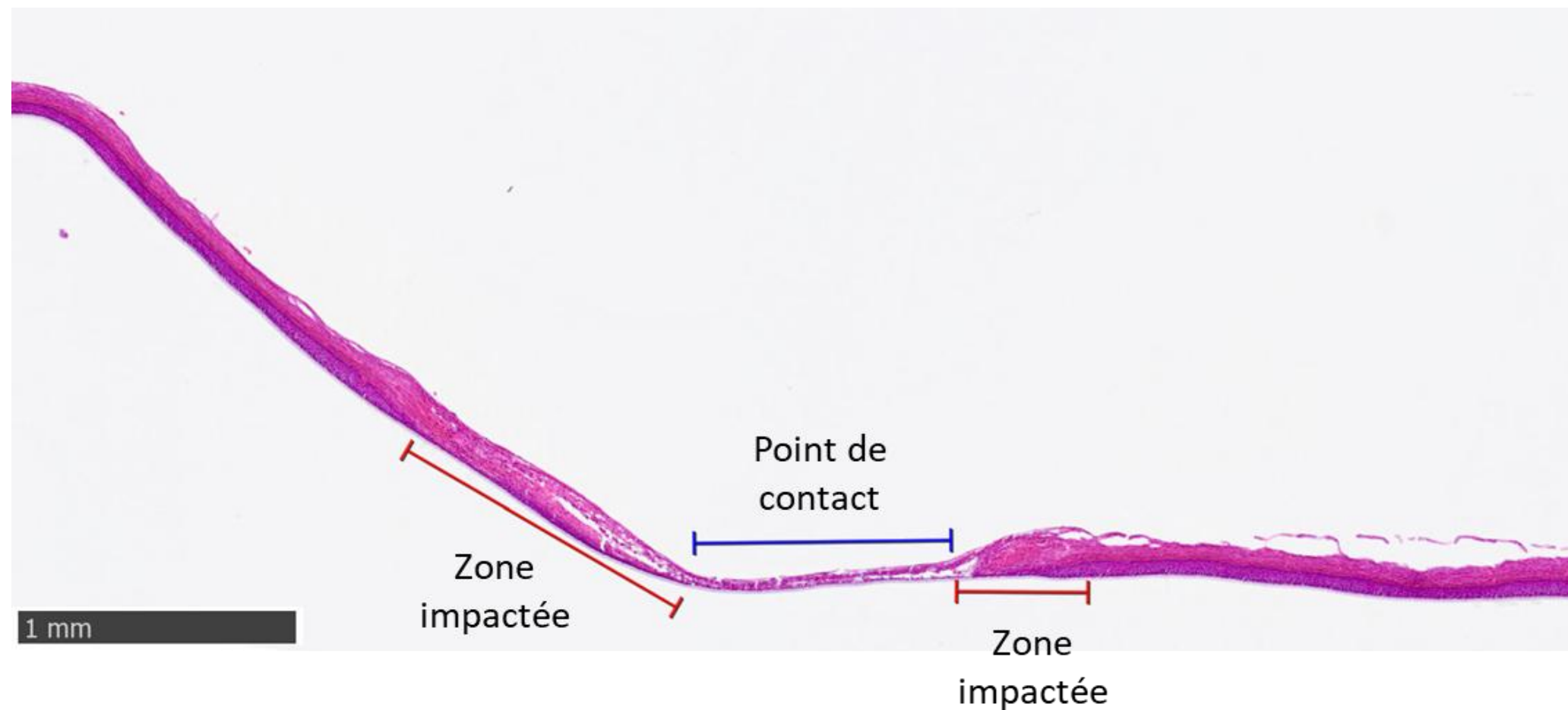
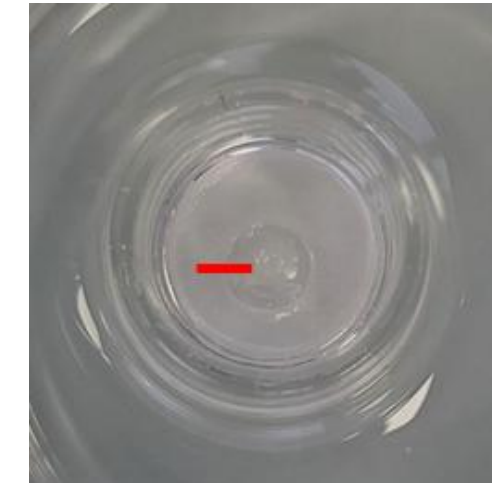


Réparation et régénération
de l'épiderme visible suite
au traitement avec la
formulation naturelle pour
brûlures Laboratoire
PuresSENTIEL®

Résultats obtenus



Coloration hématoxyline éosine :
morphologie des tissus brûlés en périphérie de la brûlure

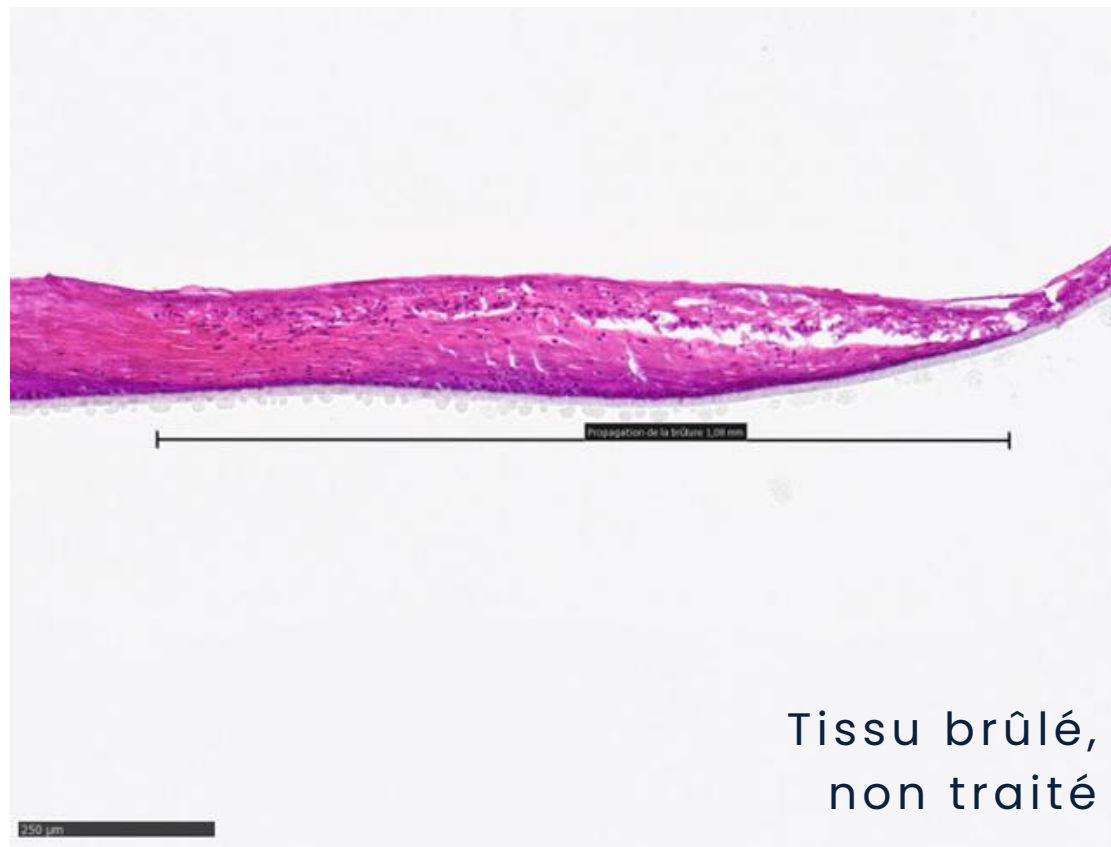
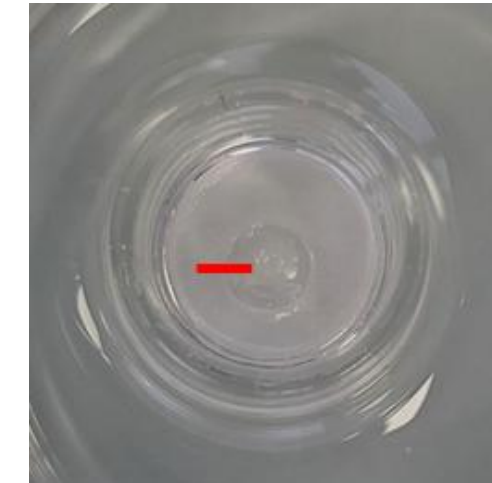


La brûlure a également des effets néfastes autour du point de contact avec l'instrument : analyse quantitative de la propagation de cet effet.

Résultats obtenus



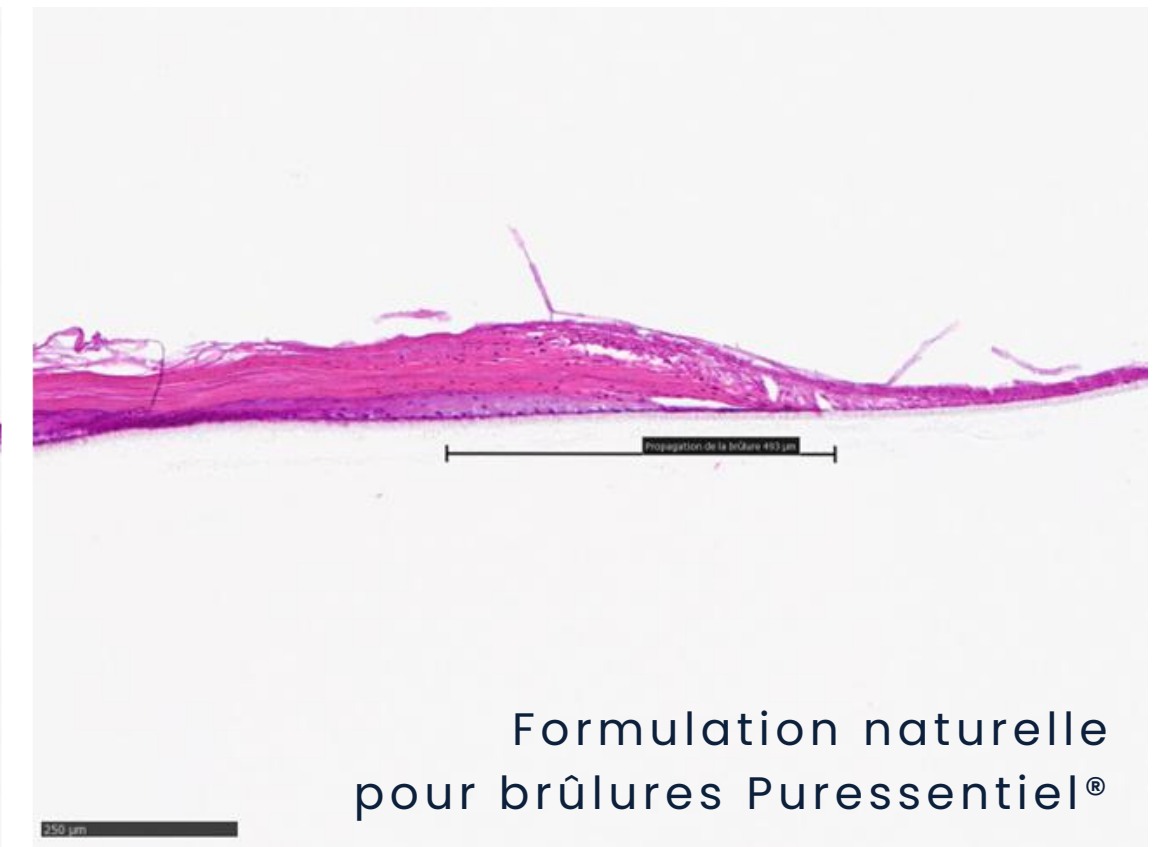
Coloration hématoxyline éosine :
morphologie des tissus brûlés en périphérie de la brûlure



Tissu brûlé,
non traité



Contrôle positif

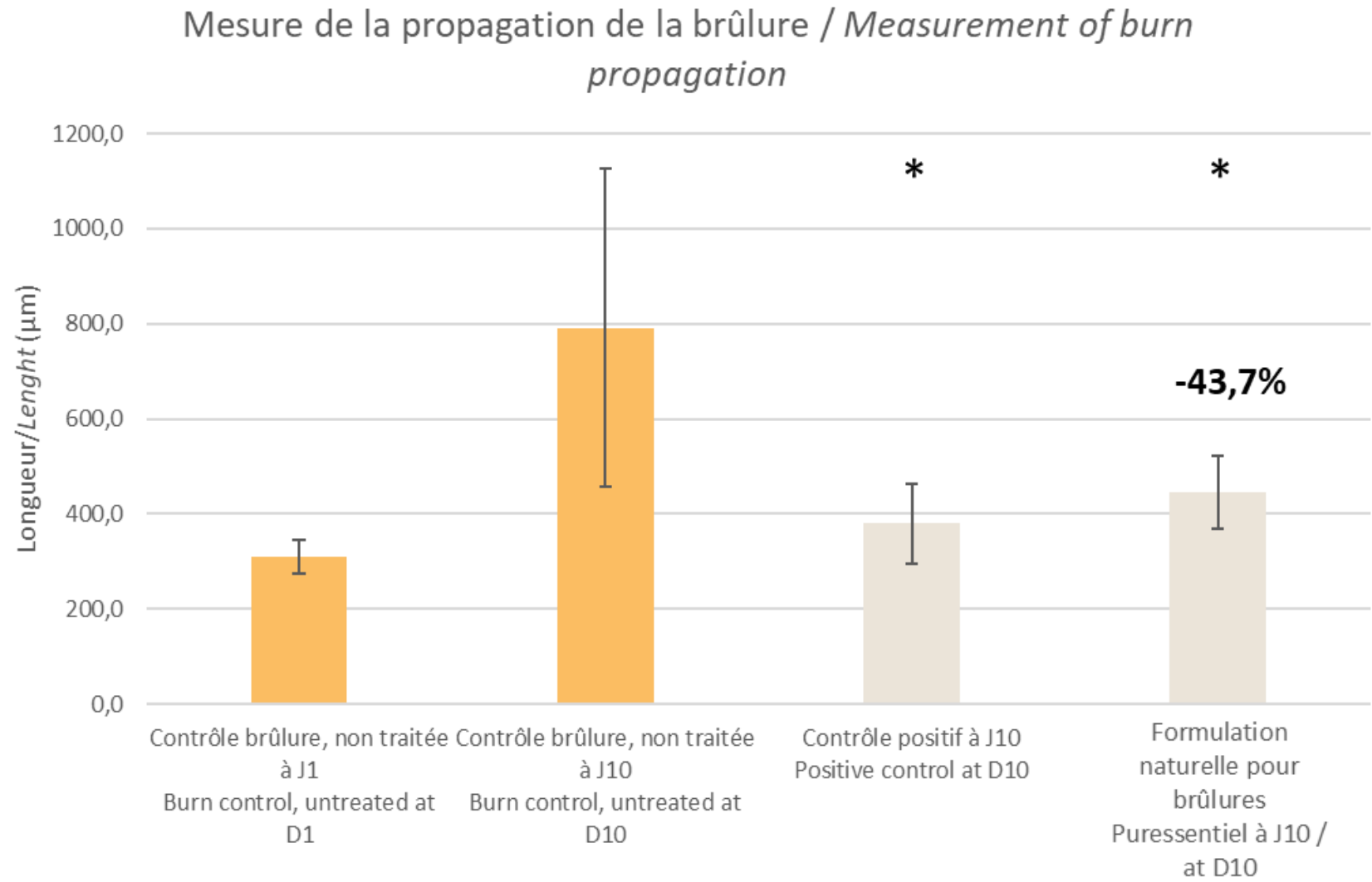
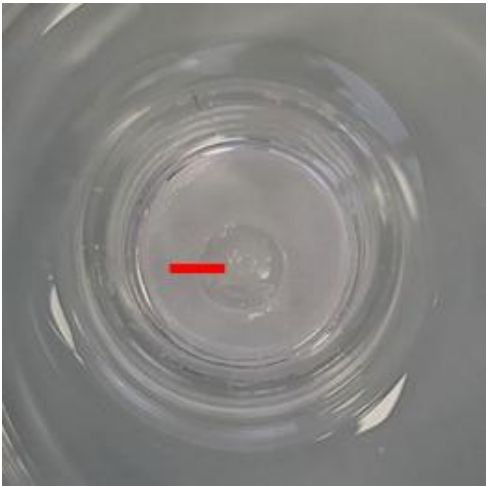


Formulation naturelle
pour brûlures PuresSENTIEL®

Résultats obtenus



Coloration hématoxyline éosine :
morphologie des tissus brûlés en périphérie de la brûlure



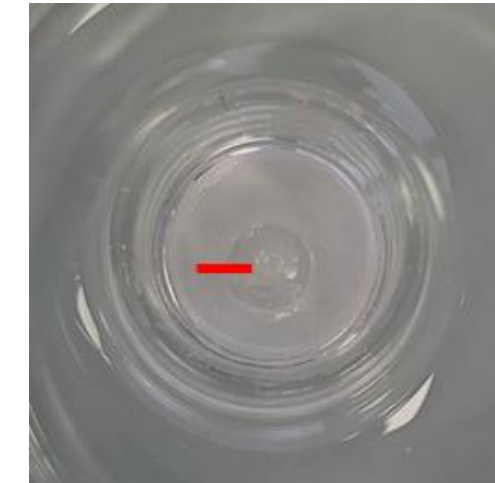
Diminution de **43,7%** de l'effet de propagation de la brûlure avec formulation naturelle pour brûlures Laboratoire Puresentiel®

*Différence significative par comparaison au contrôle brûlure thermique non traitée à J10 (test de Dunett, $p < 0,05$)

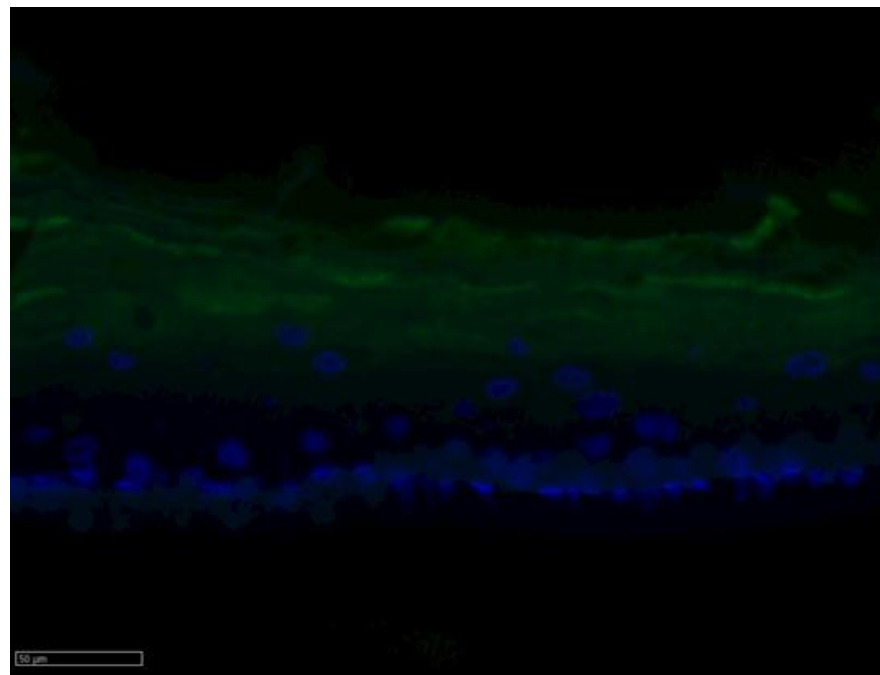
Résultats obtenus



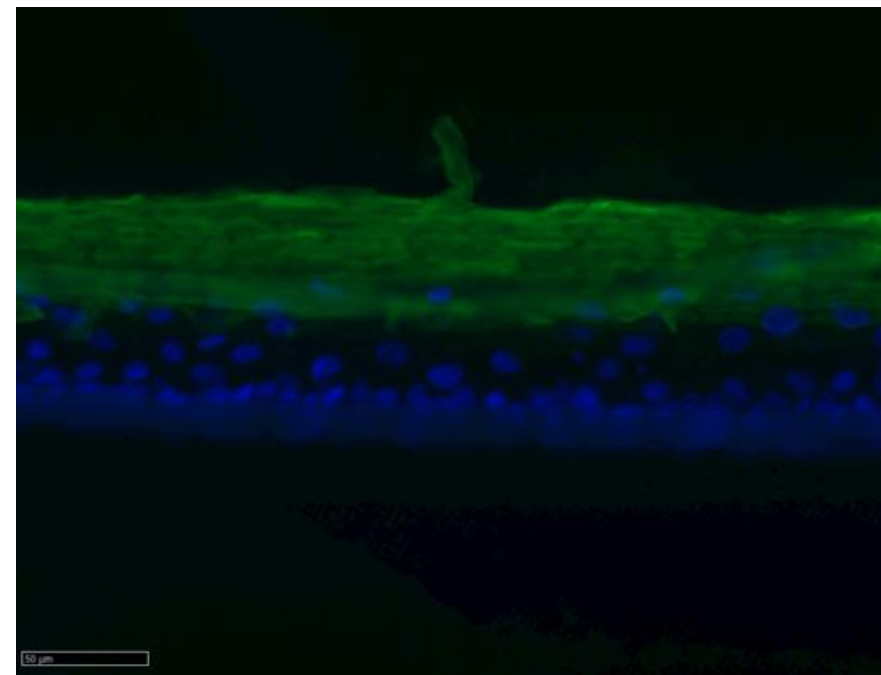
Immunomarquage de la filaggrine :
morphologie des tissus en périphérie de la brûlure



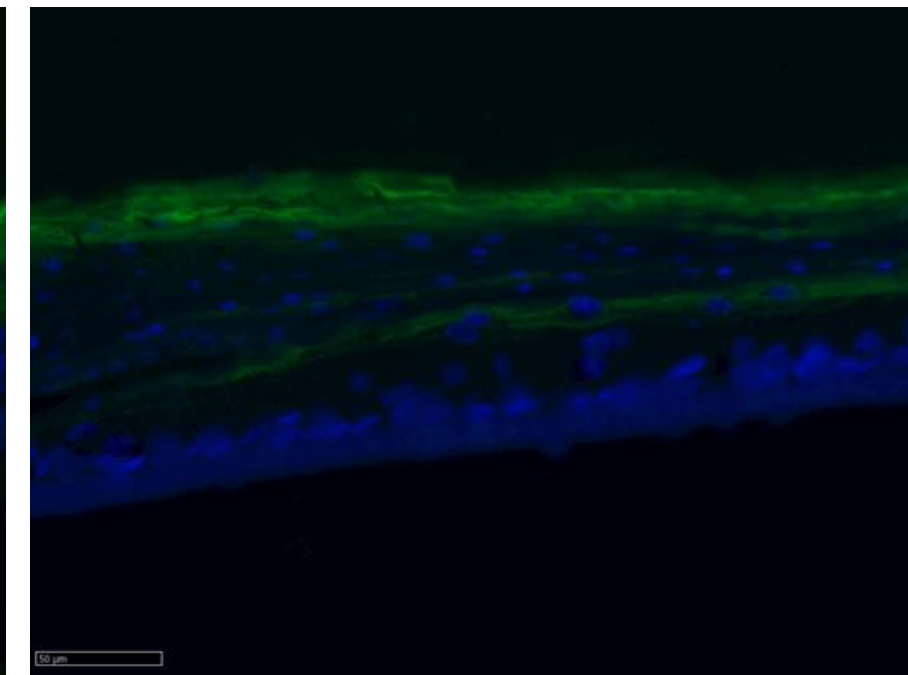
Stratum corneum
Stratum granulosum
Stratum spinosum
Stratum basale



Tissu brûlé, non traité



Contrôle positif



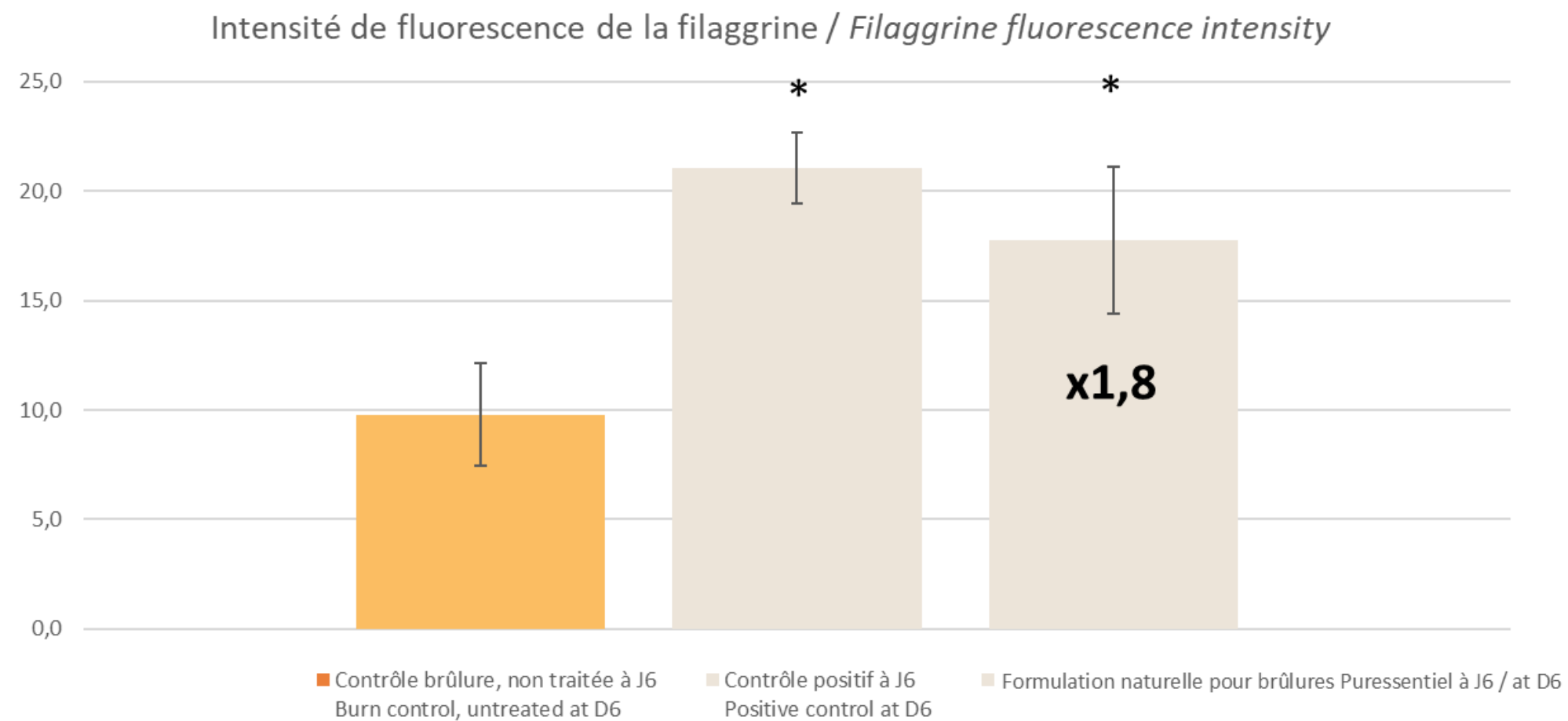
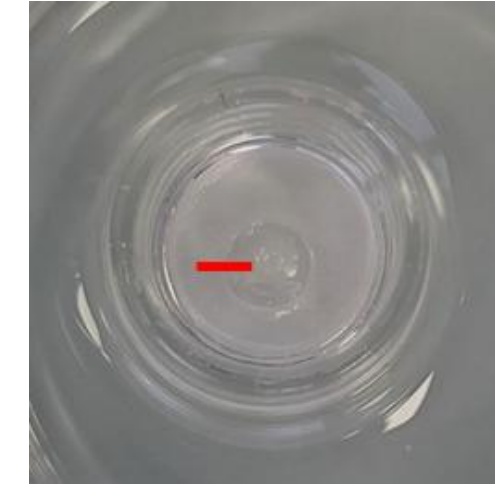
**Formulation naturelle pour
brûlures Laboratoire
PuresSENTIEL®**

La filaggrine est une protéine impliquée dans la formation de la couche cornée → rôle clé dans la fonction barrière de l'épiderme.

Résultats obtenus



Immunomarquage de la filaggrine :
morphologie des tissus en périphérie de la brûlure



Restauration de la
fonction barrière de
l'épiderme.

*Différence significative par comparaison au contrôle brûlure thermique non traitée à J6 (test de Dunett, $p < 0,05$)

Conclusion

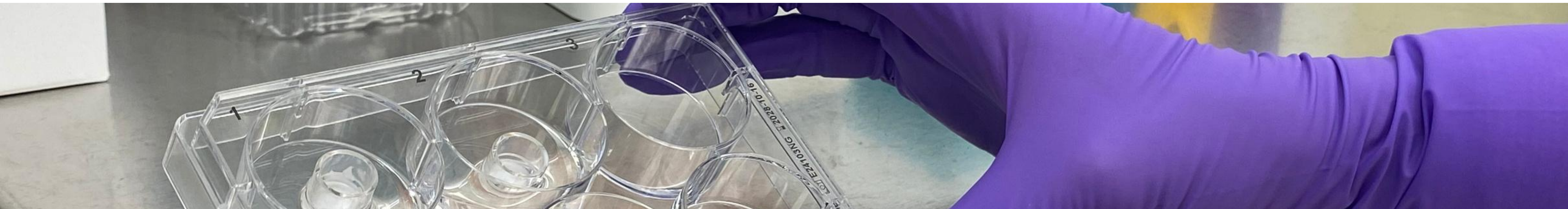


Une nouvelle méthode *in vitro* adaptée pour l'évaluation d'un effet réparateur sur brûlures superficielles du second degré.

Effet de la formulation naturelle pour brûlures Laboratoire Puressentiel® :

- Reconstruction de la zone brûlée,
- Diminution de 43,7% de la propagation de la brûlure sur le tissu environnant,
- Augmentation de 1,8 fois la quantité de filaggrine contenue dans les épidermes,
- Restauration de la fonction barrière de l'épiderme.

Effets similaires au produit commercialisé.



Et voilà !



MERCI POUR VOTRE ATTENTION !

des questions ?



1 seul colis pour tous les échantillons



Tests en France



Réactivité



Expertise



Simon CATROUX
Sophie CATOIRE
Mélanie LE JEUNE
Lisa DENIS-BOUAZZA

scatroux@cosmepar.fr
sophie.catoire@cell-alternativ.fr
mlejeune@cosmepar.fr
adv@cosmepar.fr