

Thème 2 – Chapitre 2 – Activité 4

CHALLENGE TEST OU TEST D'EFFICACITÉ DES CONSERVATEURS D'UN PRODUIT COSMÉTIQUE

Eléments de réponse



QUESTIONS PRÉLIMINAIRES

1. *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* sont des bactéries. Ces micro-organismes appartiennent au règne des Eubactéries et au domaine *Bacteria*. *Candida albicans* (levure) et *Aspergillus niger* (moisissure) sont des champignons microscopiques ; ces micro-organismes appartiennent au règne des *Fungi* et au domaine *Eucarya* ou des Eucaryotes.
2. Ces différents micro-organismes peuvent contaminer le produit cosmétique lors de son utilisation par le consommateur, car certaines de ces espèces composent la flore commensale de l'homme (*E. coli* bactérie commensale du tube digestif) ; d'autres peuvent être retrouvés dans la flore transitoire cutanée (*Pseudomonas aeruginosa* ; *Candida albicans* ; *E. coli* et *Staphylococcus aureus* portage sain) et les spores d'*Aspergillus niger* sont des contaminants de l'air des locaux.

QUESTIONS

1. $N_t = [(C_i \times V_i) / m_c] \text{ en UFC.g}^{-1}$ de lait démaquillant, avec :

C _i	concentration initiale de la suspension bactérienne en UFC.mL ⁻¹
V _i	volume de suspension bactérienne initiale introduit dans le lait démaquillant
m _c	masse de lait démaquillant

Niveau de contamination théorique de « EC » à J₀ :
 $N_t = [(5.10^7 \times 200.10^{-3}) / 20] = 5.10^5 \text{ UFC.g}^{-1}$ de lait démaquillant.
2. $N = N_t \times V \times \text{dilution en UFC / boîte de GTS}$ avec $V = 1 \text{ mL}$ car dénombrement dans la masse.

Dilutions décimales de « EC » à J ₀	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}
Nombre d'UFC attendues par boîte de GTS	5.10^4	5.10^3	5.10^2	5.10^1	5.10^0
3. « EC » est dilué en PWT car ce diluant contient des tensio-actifs (lécithine et tween 80) dont le rôle est de neutraliser l'action antimicrobienne des conservateurs et de permettre ainsi aux bactéries présentes dans le lait démaquillant de se multiplier sur GTS au cours du dénombrement.
- 4.1. Le nombre de colonies par boîte doit être supérieur à 300 ce qui rend les GTS correspondant aux dilutions 10^{-1} et 10^{-2} de « EC » indénombrables.
- 4.2. Pour calculer N₀ on utilisera les boîtes de GTS correspondant aux dilutions 10^{-3} et 10^{-4} , car elles contiennent entre 10 et 300 colonies car une boîte par dilution.

4.3.

Concentration initiale N_0 en UFC.g^{-1} de lait démaquillant contaminé « EC » :

$$N_0 = \sum \frac{\text{nombre de colonies dans les boites retenues}}{(V \times 1,1 \times d)}$$

avec :

V	volume déposé par boite en mL
d	plus faible dilution retenue

$$\text{soit } N_0 = \sum \frac{(237 + 32)}{(1 \times 1,1 \times 10^{-3})} = 2,4 \cdot 10^5 \text{ UFC.g}^{-1} \text{ de lait démaquillant.}$$

4.4.

Le N_0 déterminé expérimentalement est environ deux fois plus faible que le N_t calculé en 1.

4.5.

L'absorbance mesurée à 600 nm correspond à l'intensité du trouble de la suspension bactérienne ; N_0 étant plus faible que N_t , on peut émettre les hypothèses suivantes :

- de nombreuses bactéries étaient mortes dans la suspension initiale ; elles donnaient un trouble mais n'ont pas cultivé sur les GTS ;
- sur GTS on dénombre des UFC ; les bactéries dans la suspension initiale n'étaient pas toutes isolées mais groupées par 2 ou 3.

6.1.

Les boites de GTS sélectionnées pour le calcul de la concentration N_j de chaque épreuve du Challenge test doivent contenir entre 10 et 300 colonies et sont surlignées en jaune ci-dessous :

Dilutions décimales de « EC »	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}
Nombre d'UFC comptées par boite de GTS pour le test à J_2	ND	123	17	0	0
Nombre d'UFC comptées par boite de GTS pour le test à J_7	88	16	2	0	0
Nombre d'UFC comptées par boite de GTS pour le test à J_{14}	21	3	0	0	0
Nombre d'UFC comptées par boite de GTS pour le test à J_{28}	0	0	0	0	0

6.2.

Niveau de contamination résiduel du lait démaquillant contaminé :

$$N_2 = \sum \frac{\text{nombre de colonies dans les boites retenues}}{(V \times 1,1 \times d)}$$

avec :

V	volume déposé par boite en mL
d	la plus faible dilution retenue

$$N_2 = \sum \frac{(123 + 17)}{(1 \times 1,1 \times 10^{-2})} = 1,3 \cdot 10^4 \text{ UFC.g}^{-1} \text{ de lait démaquillant.}$$

En appliquant la même formule de calcul, on trouve :

- . $N_7 = 9,5 \cdot 10^2 \text{ UFC.g}^{-1}$ de lait démaquillant ;
- . $N_{14} = 2,2 \cdot 10^2 \text{ UFC.g}^{-1}$ de lait démaquillant ;
- . $N_{28} < 1 \text{ UFC.g}^{-1}$ de lait démaquillant.

7.1.

Le micro-organisme utilisé comme contaminant du lait démaquillant dans le Challenge test réalisé est une bactérie de l'espèce *Staphylococcus aureus* ; on utilisera donc les critères d'acceptation des bactéries pour l'interprétation.

7.2.

Les critères d'acceptation A imposent des réductions logarithmiques de la population bactérienne dès J_2 alors que les critères d'acceptation B n'en imposent qu'à J_{14} ; de plus le taux de réduction logarithmique exigé à J_{14} pour les critères d'acceptation A (cinq réductions logarithmiques soit une réduction de 10^5 de la population bactérienne par rapport à J_0) est plus élevé que celui exigé pour les critères d'acceptation B (trois réductions logarithmiques soit une réduction de 10^3 de la population bactérienne par rapport à J_0). C'est pour toutes ces raisons que l'on peut conclure que les critères d'acceptation A sont plus exigeants que les critères d'acceptation B.

7.3.1.

Jour	Réduction logarithmique
J_2	$R_{\log(J2)} = \log(N_0) - \log(N_{J2})$ soit $R_{\log(J2)} = \log(2,4 \cdot 10^5) - \log(1,3 \cdot 10^4) = (5,4 - 4,1) = 1,3$
J_7	$R_{\log(J7)} = \log(N_0) - \log(N_{J7})$ soit $R_{\log(J7)} = \log(2,4 \cdot 10^5) - \log(9,5 \cdot 10^2) = (5,4 - 3,0) = 2,4$
J_{14}	$R_{\log(J14)} = \log(N_0) - \log(N_{J14})$ soit $R_{\log(J14)} = \log(2,4 \cdot 10^5) - \log(2,2 \cdot 10^2) = (5,4 - 2,3) = 3,1$
J_{28}	$R_{\log(J28)} = \log(N_0) - \log(N_{J28})$ soit $R_{\log(J28)} = \log(2,4 \cdot 10^5) - \log(1) = (5,4 - 0) = 5,4$

7.3.2.

Les conservateurs utilisés dans ce lait démaquillant ne permettent pas d'atteindre les critères d'acceptation A, puisque les taux de réduction logarithmiques exigés par ces critères ne sont atteints ni à J_2 , ni à J_7 ni à J_{14} ; seul le critère NR à J_{28} est atteint. Par contre les conservateurs utilisés dans ce lait démaquillant permettent d'atteindre les critères d'acceptation B puisque en J_2 , en J_7 et en J_{14} on obtient des réductions logarithmiques supérieures à celles des critères B et qu'en J_{28} on atteint également le critère NR. Les conservateurs utilisés dans ce lait démaquillant sont donc efficaces pour les critères d'acceptation B.