



**LE RÉSEAU DE CRÉATION
ET D'ACCOMPAGNEMENT PÉDAGOGIQUES**

**Ce document a été mis en ligne par le Canopé de l'académie de Montpellier
pour la Base Nationale des Sujets d'Examens de l'enseignement professionnel.**

Ce fichier numérique ne peut être reproduit, représenté, adapté ou traduit sans autorisation.

BTS MÉTIERS DE L'ESTHÉTIQUE, DE LA COSMÉTIQUE ET DE LA PARFUMERIE

Option C – COSMÉTOLOGIE

CONSEIL ET EXPERTISE SCIENTIFIQUES ET TECHNOLOGIQUES – U5

SESSION 2016

Durée de l'épreuve : 4H00
Coefficient : 4

Matériel autorisé.

Toutes les calculatrices de poche y compris les calculatrices programmables, alphanumériques ou à écran graphique sous réserve que leur fonctionnement soit autonome et qu'il ne soit pas fait usage d'imprimante (Circulaire n°99-186, 16/11/1999).

Tout autre matériel est interdit.

Dès que le sujet vous est remis, assurez-vous qu'il est complet.

Le sujet comporte 24 pages, numérotées de 1/24 à 24/24.

BTS MÉTIERS DE L'ESTHÉTIQUE DE LA COSMÉTIQUE ET DE LA PARFUMERIE	Session 2016
U5-C – Conseil et expertise scientifiques et technologiques	Code : ME5CEXP
	Page : 1/24

Rappel de lot du masque purifiant de la marque *Cos'belle Beauty*.

Le laboratoire *Cos'belle Beauty* est la personne responsable de la mise sur le marché des produits cosmétiques *Cos'belle Beauty* - soin du corps et du visage. La commercialisation de ces produits est essentiellement effectuée pour la grande distribution au sein des enseignes « Caddie-Plus ».

Dernièrement, le laboratoire a dû procéder au rappel du lot X29RT365 de son masque purifiant « Pur Mask » pour non-conformité au standard. En effet, le produit présente :

- un déphasage ;
- une odeur marine très particulière (iode et algue) laissant supposer une contamination microbiologique.

« Caddie-Plus » a par conséquent réalisé une campagne d'information à destination du consommateur sur son site internet et en magasin, de manière à être en conformité avec le Règlement Cosmétique européen C.E: 1223/2009.

Suite à ce rappel, des investigations ont été entreprises pour :

- confirmer et déceler l'origine de la contamination ;
- mettre en œuvre des mesures correctives visant à pallier le déphasage.

En tant que technicien supérieur cosmétologie au laboratoire *Cos'belle Beauty*, vous avez été affecté à cette tâche.

PARTIE 1 – Confirmation de la contamination et recherche de son origine.

(6 points)

Le site de production de *Cos'belle Beauty* a été inspecté en décembre 2014 par l'ANSM qui a conclu que la fabrication est conforme à la norme ISO 22716.

1.1. Préciser l'objet de la norme ISO 22716 s'appliquant à un site de production.

La précision des différents signalements concernant le produit a conduit le laboratoire à mettre immédiatement en place une analyse microbiologique de l'échantillothèque.

Une vérification de la qualité microbiologique du lot est testée (flore mésophile aérobie NF ISO 21149, recherche de pathogène spécifié NF ISO 18415) et une évaluation globale de la protection antimicrobienne (*Challenge Test*) (EN NF ISO 11930.2012) est réalisée.

Les résultats de la recherche microbiologique ont mis en évidence, après enrichissement, des bacilles gram négatif, oxydase positive, à mobilité polaire. Une galerie API 20 NE a donc été ensemencée et incubée 24 h à 37°C.

- 1.2. **Effectuer** la lecture de la galerie et **compléter** la fiche de résultat **document 2c (À RENDRE AVEC LA COPIE)**. **Conclure** quant à l'identification de la souche.
- 1.3. **Analyser** les résultats obtenus à l'issue du *Challenge Test*.
- 1.4. **Conclure et émettre** un avis quant à la pertinence de ce test dans la situation présente.
- 1.5. **Émettre** une hypothèse quant à la source de la contamination du produit par *Burkholderia*.
- 1.6. **Proposer** une démarche afin d'éviter la reproduction de cet incident de fabrication.

PARTIE 2 – Mise en conformité de l'aspect du produit.

(7 points).

Le lot de masque de beauté *Cos'belle Beauty* est rappelé afin de constater et d'identifier la cause du déphasage.

Ce phénomène est effectivement observé dans certains retours mais l'échantillonnage ne met pas en évidence d'instabilité spontanée.

Une épreuve de sédimentation accélérée par centrifugation est par conséquent mise en œuvre sur un échantillon de produit témoin.

Une première épreuve est réalisée.

Le centrifugeur utilisé est une Sorvall ST8R équipée d'un rotor TX150.

Une partie aliquote du témoin, introduite dans un microtube de 2 mL, est soumise à une centrifugation de 3 000 xg (accélération ou *Relative Centrifugal Force* ou *RCF* ou force centrifuge relative) pendant 15 minutes à 20°C.

Aucun déphasage n'est observé.

Une deuxième épreuve est alors réalisée.

Une autre partie aliquote, introduite dans un microtube de 2 mL, est soumise à d'autres conditions de centrifugation : 15 000 x g (RCF) pendant 15 minutes à 35°C.

On observe un déphasage du produit cosmétique.

- 2.1. Vérifier** que le Rotor MT 12 SWINGING BUCKET ROTOR permettra de réaliser cette seconde centrifugation.
- 2.2. Schématiser** le microtube après la seconde centrifugation. **Préciser** la composition de chacune des phases observées.
- 2.3. Proposer** une cause plausible du déphasage observé dans le circuit de distribution.

Parallèlement, l'émulsion est observée en lumière polarisée. On réalise ainsi une photographie représentative de l'ensemble des gouttelettes. L'image est ensuite analysée à l'aide du logiciel ImageJ® qui permet le dénombrement des globules en fonction de leur diamètre. L'analyse de cette image a permis de tracer la courbe de distribution des gouttelettes.

- 2.4. Indiquer** les caractéristiques de la lumière polarisée.
- 2.5. Déterminer** le diamètre moyen de ces gouttelettes et **commenter** la répartition des tailles des globules.

La rupture d'une émulsion trouve son origine dans le phénomène de sédimentation, régi par la loi de Stokes.

- 2.6. Identifier** les facteurs physiques favorisant une instabilité.
- 2.7. Proposer** des moyens permettant d'améliorer la stabilité.
- 2.8. Proposer**, à l'aide de la liste suivante d'ingrédients, une ou plusieurs évolutions de formulation envisageables. **Justifier** chacune des propositions.

- Chlorure de sodium.
- Laureth sulfate de sodium.
- Carboxyméthylcellulose.
- Bentonite.
- Xanthane.
- Diméthicone copolyol.
- C10-30 alkyl acrylate crosspolymer.
- Chlorométhylisothiazolinone.
- Carbonate de calcium.

Le service marketing n'est pas satisfait des nouvelles formulations proposées et demande une poursuite de la recherche.

Le service R&D s'orienterait volontiers vers une émulsion de type Pickering mais le service marketing n'est pas favorable à l'utilisation de nanomatériaux qu'il ne juge pas conforme à l'image de l'entreprise.

2.9. Préciser les caractéristiques communes aux nanomatériaux et **justifier** la réticence du service marketing à l'utilisation de ces nanomatériaux.

Pour convaincre le service marketing de développer cette technique d'émulsion, le service R&D décide de réaliser une courte fiche technique mettant en évidence les avantages/inconvénients :

- d'une émulsion de Pickering sur une émulsion classique ;
- de l'utilisation de la cellulose par rapport aux autres nanomatériaux, notamment dans le contexte de non-conformité que vient de connaître l'entreprise avec son produit « Pur Mask ».

2.10. Concevoir cette fiche technique.

PARTIE 3 – Évaluation du produit modifié.

(7 points).

La formule a finalement été modifiée et le service responsable des tests d'efficacité fait procéder à une évaluation biométrologique du nouveau masque purifiant. Des résultats photographiques sont obtenus.

3.1. Citer les conditions dans lesquelles ces clichés doivent être pris.

3.2. Tracer sur un même graphique les résultats des tests de sébumétrie du produit fini en fonction du temps, pour chaque phototype.

3.3. Analyser les résultats de la sébumétrie, puis les **confronter** aux résultats des tests photographiques et **conclure** quant à l'efficacité de la nouvelle formule.

Le service marketing commande ensuite une évaluation sensorielle de la nouvelle formule de manière à estimer son accueil par le consommateur.

3.4. Citer les types de test utilisés en analyse sensorielle et **en déduire** le test le plus approprié à la situation présente.

3.5. Indiquer le type de panel à sélectionner pour la mise en place du test et **préciser** les critères d'inclusion/exclusion pour ce panel.

DOSSIER TECHNIQUE

Document 1 : Information consommateurs.

Document 2 : Galerie API 20 NE®

Document 3 : Challenge test.

Document 4 : Sécurité microbiologique d'un cosmétique : extrait du magazine Expression Cosmétique (n°9 Juin 2011).

Document 5 : Caractéristiques des contaminations

Document 6 : Rotors, godets adaptable sur le centrifugeur Sorvall ST8R.

Document 7 : Nomogramme de centrifugation.

Document 8 : Loi de Stokes.

Document 9 : Analyse microscopique de l'émulsion composant le produit.

Document 10 : Formule du masque « Pur Mask » *Cos'belle Beauty*.

Document 11 : Les émulsions de Pickering.

Document 12 : Extrait de fiche sur l'actif : cytobiol® (Gattefossé).

Document 13 : Évaluation visuelle de l'efficacité du produit.

Document 14 : Sébumétrie.

DOCUMENT 1 - INFORMATION CONSOMMATEURS

Information consommateurs

Date 30/03/2016

La chaîne de magasin « Caddie-Plus » annonce procéder au rappel du masque purifiant de la marque *Cos'belle Beauty* pour un problème de non-conformité physique, organoleptique et microbiologique.

Cos'belle Beauty purifiant « Pur Mask » 75 ml

Lot X29RT365

EAN : 3596720092306

**DLUO concernée : toutes depuis la nouvelle présentation du produit
avec l'emballage ci-dessous :**



L'ensemble du lot a été retiré de la commercialisation, cependant certains de ces produits ont pu être commercialisés avant la mesure de retrait.

Il est recommandé aux clients ayant fait l'acquisition de ce produit de ne pas l'utiliser et de le ramener à l'accueil du magasin « Caddie-Plus » où il leur sera remboursé.

Le numéro de téléphone suivant est à la disposition des clients qui auraient des questions complémentaires : 0.800.330.330 (numéro vert)

À apposer jusqu'au 28/04/2016.

DOCUMENT 2 - GALERIE API 20 NE®

Document 2a - Fiche technique API 20NE®.

1. Principe.

La galerie API 20 NE se compose de 20 micro-tubes contenant milieux et substrats sous forme déshydratée. Il permet l'identification des bacilles gram (-) non entérobactéries par la réalisation rapide et facile de tests biochimiques miniaturisés. Il y a une partie pour l'auxanogramme et une autre pour le zymogramme (les bactéries cultivent seulement si elles sont capables d'utiliser le substrat correspondant). Les réactions produites durant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

2. Technique.

2.1. Matériel.

- Galerie miniature API 20 NE.
- Pipette pasteur stérile.
- Bec Bunsen.
- Huile de vaseline.
- Eau distillée stérile (ou « *Suspension Medium* » 5 mL).
- Ampoule AUX *Medium*.
- Réactifs :

Chlorure de Fer III, Réactif de Kovacs (ou James), NaOH ou KOH (VP1), Napht-1-ol (VP2), Acide sulfanilique, Naphtyl-1-Amine et poudre de zinc si nécessaire.

2.2. Préparation de la galerie.

- Répartir de l'eau dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Inscrire les références de la souche bactérienne sur la languette latérale de la boîte (+ date et initiales de l'opérateur).
- Déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation.

2.3. Préparation de l'inoculum.

Faire une suspension bactérienne, dans une ampoule de NaCl 0,85 % *Medium* ou dans un tube d'eau distillée stérile, de turbidité égale à celle de l'étalon 0,5 McFarland.

2.4. Inoculation de la galerie.

- Remplir uniquement les tubes des tests (et non les cupules) **NO3** à **PNPG** avec la suspension bactérienne.
- Éviter la formation de bulles.
- Créer une anaérobiose dans les tests **GLU**, **ADH**, **URE** en remplissant leur cupule d'huile de paraffine.
- Transférer 200 µl (4 à 8 gouttes) de la suspension précédente, dans une ampoule AUX *Medium*.
- Homogénéiser.
- Remplir les micro-cupules des tests GLU à PAC.
- **Remplir tubes et cupules** des tests **GLU** à **PAC** en veillant à créer un niveau horizontal ou légèrement convexe, mais jamais concave.
- Refermer la boîte d'incubation et la placer dans l'étuve à 37°C pendant 24 h.

3. Lecture.

Après incubation, la lecture de ces réactions se fait à l'aide des tableaux de lecture et d'identification.

Document 2a - Fiche technique API 20 NE (suite).

TABLEAU DE LECTURE

TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup.)	REACTIONS/ENZYMES	RESULTATS	
				NEGATIF	POSITIF
NO ₃	potassium nitrate	0,136	réduction des Nitrates en nitrites	NIT 1 + NIT 2 / 5 min	
			réduction des Nitrates en azote	incolor	rose-rouge
				Zn / 5 min	
				rose	incolor
				JAMES / immédiat	
TRP	L-tryptophane	0,2	formation d'indole (TRyptophane)	incolor vert pâle / jaune	rose
GLU	D-glucose	1,92	fermentation (GLUcose)	bleu à vert	jaune
ADH	L-arginine	1,92	Arginine DiHydrolase	jaune	orange / rose / rouge
URE	urée	0,76	UREase	jaune	orange / rose / rouge
ESC	esculine citrate de fer	0,56 0,072	hydrolyse (β-glucosidase) (ESCuline)	jaune	gris / marron / noir
GEL	gélatine (origine bovine)	0,6	hydrolyse (protéase) (GELatine)	pas de diffusion du pigment	diffusion du pigment noir
PNPG	4-nitrophényl-βD- galactopyranoside	0,22	β-galactosidase (Para-NitroPhényl-βD- Galactopyranosidase)	incolor	jaune
GLU	D-glucose	1,56	assimilation (GLUcose)	transparence	trouble
ARA	L-arabinose	1,4	assimilation (ARAbinose)	transparence	trouble
MNE	D-mannose	1,4	assimilation (ManNosE)	transparence	trouble
MAN	D-mannitol	1,36	assimilation (MANnitol)	transparence	trouble
NAG	N-acétyl-glucosamine	1,28	assimilation (N-Acétyl-Glucosamine)	transparence	trouble
MAL	D-maltose	1,4	assimilation (MALtose)	transparence	trouble
GNT	potassium gluconate	1,84	assimilation (potassium GlucoNaTe)	transparence	trouble
CAP	acide caprique	0,78	assimilation (acide CAPrique)	transparence	trouble
ADI	acide adipique	1,12	assimilation (acide ADIrique)	transparence	trouble
MLT	acide malique	1,56	assimilation (MaLaTe)	transparence	trouble
CIT	trisodium citrate	2,28	assimilation (trisodium CITrate)	transparence	trouble
PAC	acide phénylacétique	0,8	assimilation (acide PhénylACétique)	transparence	trouble
OX	(voir notice du test oxydase)	-	cytochrome-oxydase	(voir notice du test oxydase)	

- Les quantités indiquées peuvent être ajustées en fonction des titres des matières premières.
- Certaines cupules contiennent des composants d'origine animale notamment peptone bovine/porcine.

Document 2b - Tableau d'identification API 20 NE.

% de réactions positives après 24-48 h à 30°C / % of positive reactions after 24-48 hrs at 30°C /

api 20 NE	V6.0	NO3	TRP	GLU	ADH	URE	ESC	GEL	PNGP	GLUa	ARAa	MNEa	MANa	NAGa	MALa	GNTa	CAPa	ADLa	MLTa	CITa	PACa	OX
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		96	0	0	80	20	1	92	1	99	1	1	89	84	1	97	98	91	98	99	1	98
<i>Pseudomonas fluorescens</i>		27	0	0	80	1	1	99	1	99	71	97	89	85	1	99	99	10	99	99	16	99
<i>Pseudomonas mendocina</i>		100	0	0	94	0	0	0	100	0	0	0	0	0	99	100	0	100	100	0	100	
<i>Pseudomonas putida</i>		3	0	1	88	1	0	0	1	99	56	57	5	2	1	97	99	1	100	99	58	99
<i>Pseudomonas stutzeri</i>		94	0	0	1	1	0	1	0	98	1	10	67	0	75	87	87	1	99	85	1	100
<i>Burkholderia cepacia</i>		89	0	24	1	1	46	79	72	100	75	99	96	99	8	97	99	93	100	99	99	91
<i>Burkholderia pseudomallei</i>		100	0	0	98	0	5	100	0	100	0	99	100	100	0	100	100	99	100	99	94	100
<i>Brevundimonas diminuta/Oligella urethralis</i>		1	0	1	0	1	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	2	1	99	33	0	100
<i>Brevundimonas vesicularis</i>		16	0	0	0	0	98	12	34	72	1	1	3	10	72	1	1	1	40	0	0	98
<i>Comamonas acidovorans</i>		96	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	76	0	0	99	71	89	99	28	83	100
<i>Comamonas testosteroni/Ps.alcaligenes</i>		75	0	0	6	4	0	4	1	11	3	3	4	1	2	42	55	38	87	32	3	98
<i>Chryseomonas luteola</i>		78	0	13	71	1	100	99	98	99	99	99	88	12	76	85	62	1	94	94	1	2
<i>Flavimonas oryzae</i>		0	0	0	0	1	0	11	1	100	99	99	100	0	84	99	88	2	99	99	0	1
<i>Methylobacterium mesophilicum</i>		21	0	0	0	76	0	0	0	21	40	0	0	1	0	7	0	5	75	8	0	99
<i>Ralstonia pickettii</i>		92	0	1	1	3	0	1	0	96	35	1	10	14	0	99	86	62	99	98	16	99
<i>Shewanella putrefaciens</i>		96	0	1	0	1	71	95	0	6	11	0	0	95	10	1	71	1	90	2	0	100
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>		10	0	0	0	1	97	1	90	99	83	75	15	64	95	34	9	3	61	45	1	73
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>		37	1	0	0	0	99	99	87	84	3	95	2	98	99	2	1	0	99	98	0	7
<i>Acinetobacter baumannii/calcoaceticus</i>		2	0	8	0	1	1	1	0	67	70	1	1	1	1	20	98	80	100	99	87	0
<i>Acinetobacter haemolyticus</i>		1	0	14	0	0	0	96	0	1	0	0	0	0	0	0	99	2	99	81	1	0
<i>Acinetobacter junii/johnsonii</i>		1	0	0	0	1	0	0	0	24	8	2	0	0	0	0	99	4	95	70	0	0
<i>Acinetobacter lwoffii</i>		3	0	0	0	2	0	0	0	11	1	0	1	1	0	0	70	20	46	1	36	0
<i>Acinetobacter radioresistens</i>		2	2	0	2	0	0	0	0	19	2	0	0	2	0	0	97	100	2	2	97	0
<i>Aeromonas hydrophila/caviae</i>		99	89	99	78	1	89	97	98	99	80	78	99	99	99	95	84	1	99	37	1	99
<i>Aer.salm.ssp masoucida/achromogenes</i>		100	21	9	0	0	2	99	0	66	0	33	50	2	21	2	0	0	2	0	0	100
<i>Aeromonas salmonicida ssp salmonicida</i>		100	0	57	36	0	100	99	18	84	1	0	96	84	99	99	0	1	99	1	0	100
<i>Aeromonas sobria</i>		100	86	96	86	0	1	99	99	100	12	99	99	99	100	100	93	0	99	81	0	100
<i>Agrobacterium radiobacter</i>		98	0	0	0	85	99	1	99	100	100	100	100	99	99	90	2	0	100	0	1	99
<i>Alcaligenes denitrificans</i>		92	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	86	20	96	99	94	93	100
<i>Alcaligenes faecalis 1</i>		1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	3	77	7	100	97	97	98
<i>Alcaligenes faecalis 2</i>		78	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	99	73	91	100	69	73	100
<i>Alcaligenes xylosoxidans</i>		81	0	0	1	0	0	1	0	99	0	30	1	1	1	100	81	94	99	98	96	100
<i>Bergeyella zoohelcum</i>		0	0	0	0	99	0	74	0	0	0	2	0	0	0	1	0	0	0	0	0	99
<i>Bordetella avium</i>		0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	99	100	100	100	95
<i>Bordetella bronchiseptica</i>		76	0	0	0	96	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	94	85	91	80	100
<i>CDC gr.IV C-2</i>		1	0	0	0	23	0	1	0	1	1	0	1	0	1	89	89	86	99	96	14	98
<i>Chromobacterium violaceum</i>		97	1	99	100	0	0	100	0	100	0	66	10	97	0	100	75	0	100	36	0	97
<i>Chryseobacterium indologenes</i>		20	81	1	0	70	98	99	22	55	12	37	1	0	66	1	0	1	1	12	12	99
<i>Chryseobacterium meningosepticum</i>		0	83	1	0	5	99	95	93	86	1	80	76	70	61	0	0	1	0	25	0	99
<i>Myroides spp</i>		0	1	0	0	0	0	99	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	100
<i>Moraxella lacunata</i>		90	0	0	0	0	0	99	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	1	0	99
<i>Moraxella spp</i>		34	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	1	0	0	1	17	1	0	1	1	99
<i>Ochrobactrum anthropi</i>		80	0	0	0	84	1	0	1	82	75	60	20	75	76	34	34	4	99	47	1	99
<i>Oligella ureolytica</i>		71	0	0	0	99	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	1	95	95	26	96
<i>Psychrobacter phenylpyruvicus</i>		100	0	0	0	95	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	3	1	0	100
<i>Sphingobacterium multivorum</i>		0	0	1	0	95	100	1	99	99	91	99	0	99	99	0	0	0	1	0	0	99
<i>Sphingobacterium spiritivorum</i>		0	0	0	0	1	100	0	100	100	1	99	10	100	100	0	0	0	0	0	0	99
<i>Weeksella virosa/Empedobacter brevis</i>		12	5	0	0	0	1	100	0	1	1	1	0	0	0	1	1	0	3	1	0	98
<i>Pasteurella aerogenes</i>		100	0	97	0	100	0	0	100	99	75	97	1	80	99	97	0	0	95	0	0	77
<i>Pasteurella haemolytica</i>		95	0	2	0	0	2	0	85	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	85
<i>Pasteurella multocida</i>		96	96	1	0	0	0	0	10	1	0	2	1	1	2	1	0	1	1	0	0	86
<i>Pasteurella pneumotropica</i>		100	61	26	0	85	0	0	83	6	1	6	0	6	3	6	0	1	6	0	0	84
<i>Pasteurella spp</i>		96	1	2	2	1	1	1	4	19	1	1	1	1	1	0	1	13	1	0	0	87
<i>Photobacterium damsela</i>		99	0	94	99	99	2	0	11	11	0	6	0	1	6	0	0	63	0	0	0	100
<i>Plesiomonas shigelloides</i>		99	99	98	98	0	0	0	86	94	0	12	0	77	98	99	77	0	94	0	0	99
<i>Vibrio alginolyticus</i>		98	93	93	0	0	65	91	10	76	1	18	75	57	74	76	1	0	99	1	0	99
<i>Vibrio cholerae</i>		99	100	99	0	0	1	99	99	88	0	30	78	75	97	98	1	0	99	97	1	100
<i>Vibrio hollisae</i>		100	100	31	0	0	0	0	3	10	67	68	0	24	1	41	0	0	94	0	0	100
<i>Vibrio metschnikovii</i>		0	50	64	0	0	7	100	50	100	0	71	99	99	99	17	0	99	50	0	0	
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>		99	99	100	1	6	1	98	97	90	81	82	99	51	98	90	0	1	99	21	1	99
<i>Vibrio vulnificus</i>		100	95	95	0	1	95	99	99	9	0	10	9	1	6	28	0	0	95	91	0	100

ANNEXE À RENDRE AVEC LA COPIE.

Document 2c - Résultat après incubation 24 h à 37°C.

Témoins de résultats positifs et négatifs :

Exemple de résultat positif



Exemple de résultat négatif



Résultats obtenus avec la souche isolée sur galerie API 20 NE :



Recopier le tableau ci-dessous dans votre copie et le compléter :

TESTS	NO3	TRP	GLU	ADH	URE	ESC	GEL	PNP	GLU	ARA	MNE	MAN	NAG	MAL	GNT	CAP	ADI	MLT	CIT	PAC	
Résultats																					

DOCUMENT 3 – CHALLENGE TEST.

Document 3a - Critères d'évaluation pour l'essai d'efficacité de la protection antimicrobienne selon la NORME ISO 11930.

Micro-organismes	TAUX DE REDUCTION LOGARITHMIQUE REQUIS							
	Bactéries			<i>C.albicans</i>			<i>A.brasiliensis</i>	
Temps de prélèvement	T7	T14	T28	T7	T14	T28	T14	T28
Critères A	≥ 3	≥ 3 et PA	≥ 3 et PA	≥ 1	≥ 1 et PA	≥ 1 et PA	≥ 0	≥ 1
Critères B	Non réalisé	≥ 3	≥ 3 et PA	Non réalisé	≥ 1	≥ 1 et PA	≥ 0	≥ 0 et PA

Dans cet essai, une plage d'écart de 0,5 log est acceptable (par rapport aux critères prédéfinis)

PA : Pas d'augmentation de la population par rapport au temps précédent

Rx = 0 lorsque $\lg N_0 = \lg N_x$ (pas d'augmentation par rapport au nombre initial)

- **Critères A :** la formulation est protégée contre la prolifération microbienne pouvant présenter un risque potentiel pour l'utilisateur et aucun autre facteur n'est pris en compte
- **Critères B :** le niveau de protection est acceptable si l'analyse du risque (ISO 29621) démontre l'existence de facteurs de maîtrise non liés à la formulation (ex : conditionnement type pompe) indiquant que le risque microbiologique est acceptable pour le produit cosmétique.
- **Si ni critères A ni critères B :** la formulation ne satisfait pas aux exigences de l'essai d'efficacité de la protection antimicrobienne. Le statut du produit ne doit être évalué que sur la base de l'évaluation du risque microbiologique (ex : un produit en monodoses peut être considéré comme présentant un risque microbiologique acceptable à condition que sa qualité microbiologique soit assurée au moment de la mise sur le marché) ISO 29621

Document 3b - Tableau de résultats de l'essai mené sur le produit « Pur Mask ».

Résultats du challenge test sur le Masque Cos'belle Beauty					
Germes contaminants	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Aspergillus brasiliensis</i>
	Densité de germes cultivables/g de produit cosmétique				
Temps initial	$5,8 \cdot 10^7$	$5,6 \cdot 10^7$	$5,7 \cdot 10^7$	$5,8 \cdot 10^6$	$5,4 \cdot 10^6$
Temps 7 jours	$3,9 \cdot 10^4$	$4,7 \cdot 10^3$	$4,2 \cdot 10^4$	$3,4 \cdot 10^4$	
Temps 14 jours	$2,1 \cdot 10^3$	$3,4 \cdot 10^2$	$4,1 \cdot 10^2$	$2,3 \cdot 10^3$	$2,1 \cdot 10^4$
Temps 28 jours	$1,2 \cdot 10^2$	$2,8 \cdot 10^2$	$3,9 \cdot 10^2$	$1,9 \cdot 10^3$	$1,5 \cdot 10^2$

S'assurer de la sécurité micro

Le Règlement (CE) No 1223/2009 du Parlement Européen et du Conseil du 30 novembre 2009, dans son annexe 1 relative à l'évaluation de la sécurité d'un produit cosmétique, confirme l'importance de la qualité microbiologique du produit. Son évaluation, menée par un toxicologue avisé, est donc indispensable.



Le Règlement demande, en particulier, d'évaluer les spécifications microbiologiques des ingrédients et du produit cosmétique, au regard de l'utilisation du produit, notamment pour le contour des yeux, les muqueuses, les peaux lésées, les enfants de moins de trois ans, les personnes âgées et les personnes au système immunitaire fragilisé.

Il demande, en outre, d'évaluer les « résultats du challenge test pour la conservation ».

Ces deux exigences sont à considérer séparément puisqu'elles font appel à deux concepts très différents l'un de l'autre. Le premier est propre à chaque lot d'ingrédient ou de produit. Il dépend de toute la chaîne de production et détermine le niveau de contamination acceptable lors de la libération industrielle de ce lot. Le second, par contre, n'est lié qu'à la conception de la formule du produit. Il dépend essentiellement de la capacité à reproduire en routine cette formule et il détermine la capacité du produit à maîtriser sa flore de contamination endogène et à résister à d'éventuelles contaminations exogènes.

► L'évaluation des spécifications microbiologiques

Un produit cosmétique est destiné à être appliqué sur une peau saine et non lésée. La peau est une barrière naturelle principalement physique

biologique d'un cosmétique

mais aussi biologique puisqu'il existe, à sa surface, une flore commensale abondante (en moyenne 106 individus par mm²) qui joue un rôle protecteur par simple compétition vis-à-vis des ressources de l'écosystème local. Il n'y a donc pas de nécessité à ce qu'un produit appliqué sur la peau soit stérile. Il ne doit toutefois pas perturber l'équilibre existant (apport massif d'une flore exogène), ni être le vecteur de certaines espèces spécifiquement connues pour leur pouvoir pathogène cutané (appelés germes spécifiés dans la norme NF ISO 18415, par exemple).

Le fabricant doit donc s'assurer, par tous les moyens de maîtrise qu'il juge nécessaire, que la flore totale contenue dans son produit ne dépasse pas un certain niveau et que son produit ne contient pas, à un niveau raisonnablement

détectable, de germe spécifié. L'évaluateur de la sécurité doit donc évaluer la pertinence de ces choix.

Selon la norme EN NF ISO 22716, décrivant les Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF) cosmétiques, le fabricant doit procéder à une analyse de risque globale depuis les matières premières jusqu'au produit conditionné dans son emballage final, tenant compte des facteurs environnementaux de production (hygiène des locaux, du matériel, du personnel...) et du risque pour l'utilisateur (population ciblée, zone d'application, durée de contact...).

Mais cette norme donne des principes généraux et n'est pas suffisamment technique pour servir de support à la justification des moyens de maîtrise mis en œuvre. En juillet 2010, la norme NF ISO 29621 a été publiée. Elle

décrit une méthodologie et des clés permettant de conduire cette analyse de risque. Ce texte permet d'évaluer, de manière pragmatique, l'opportunité et le niveau des contrôles microbiologiques à réaliser sur le produit et éventuellement ses ingrédients.

L'évaluateur de la sécurité devra donc pouvoir juger de la pertinence des solutions mises en place et il devra donc avoir accès à un résumé de cette analyse de risque qui précise les moyens de prévention (hygiène, formation, contrôles environnementaux...) et les moyens de contrôle (contrôle de l'Aw, du pH de la contamination des matières premières, des vrac et des produits).

DOCUMENT 5 – CARACTERISTIQUES DES CONTAMINATIONS.





Origine de la contamination	Micro-organismes contaminants
Eau	<i>Pseudomonas, Alcaligenes, Burkholderia, Rosltonia, Vibrio, Aeromonas, Legionella</i>
Végétal	<i>lactobacilles, Acidovorax</i>
Air / Sol	<i>Bacillus, Clostridium, Arthrobacter, Paenibacillus, moisissures</i>
Environnement (eau, sol, végétal)	<i>Listeria, Acetobacter, levures</i>
Animal / Humain	<i>Brevibacterium, lactobacilles, corynébactéries, entérobactéries, Campylobacter, Bacteroides, Micrococcus, Staphylococcus, entérocoques, streptocoques, Neisseria, levures</i>

<http://www.acmpharma.com/index.php/fr/acmpharma/acmpharma>

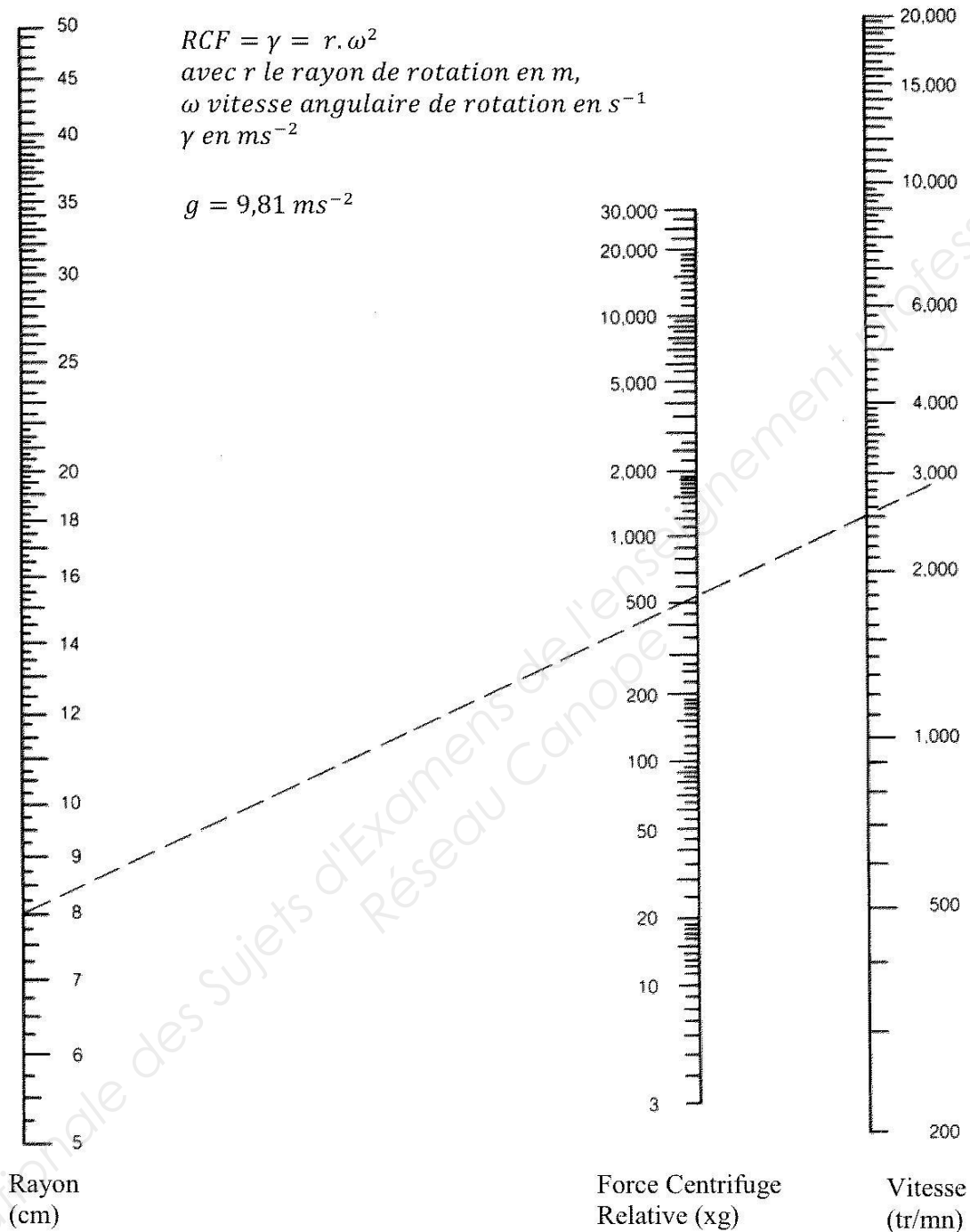
DOCUMENT 6 – ROTOR ADAPTABLE SUR LE CENTRIFUGEUR SORVALL ST8R.

Rotors for Research Applications

Thermo Scientific Rotor	Description	Stand-out Features	Performance	
			VENTILATED	REFRIGERATED
MT-12 Swinging Bucket Rotor				
	Design capable of spinning up to 12 x 1.5/2 mL microtubes and filtration columns, ideal for small-volume research applications.	Individual swinging bucket rotors for centralized pellets within tubes.	13,000 rpm 16,438 x g	13,000 rpm 16,438 x g

Cat. No.	Description	Rotor Capacity (places x volume, mL)	Max Tube Dimensions (O x L, mm)	Max Speed (rpm)		Max RCF (x g)	
				VENTILATED	REFRIGERATED		
Versatile Swinging Bucket Rotors							
 75005600	MT-12 Swinging Bucket Rotor, 90°, R _{max} 87 mm	12 x 2	11 x 50	13,000	16,438	13,000	16,438

DOCUMENT 7 – NOMOGRAMME DE CENTRIFUGATION.



Exemple :

Pour trouver l'accélération en g d'un point distant de 8 cm de l'axe de rotation, tournant à 2500 tr/mn :

- Tracer un trait sur l'abaque en reliant le point marqué « 8 » sur l'échelle de gauche (rayon) au point marqué « 2500 » sur l'échelle de droite (tr/mn).
- L'intersection avec l'échelle centrale donne directement la valeur de l'accélération centrifuge ; ici 500 xg

DOCUMENT 8 – LOI DE STOKES.

$$v = \frac{2r^2 g \Delta(\rho)}{9\eta}$$

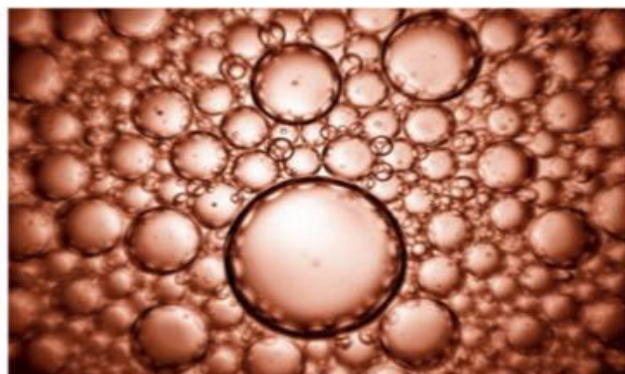
avec

$$\Delta(\rho) = \rho_p - \rho_f$$

- v : vitesse de sédimentation des gouttelettes en m.s⁻¹ ;
- r : rayon moyen des gouttelettes en m ;
- g : intensité de la pesanteur en N.kg⁻¹ ou en m.s⁻² ;
- η : viscosité de la phase dispersante en Pa.s ;
- ρ_p : masse volumique des gouttelettes en kg.m⁻³ ;
- ρ_f : masse volumique du fluide en kg.m⁻³.

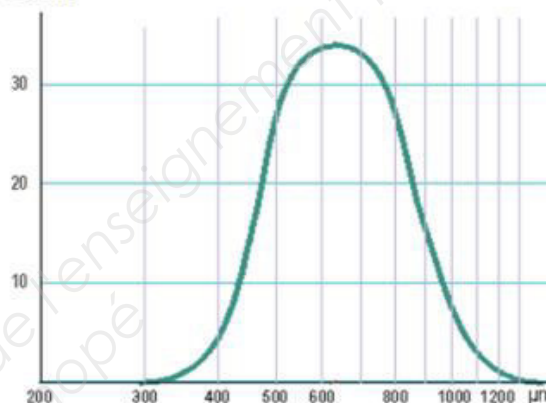
DOCUMENT 9 – ANALYSE MICROSCOPIQUE DE L'ÉMULSION COMPOSANT LE PRODUIT.

500 μm



Observation au microscope optique.

% volume



Distribution du volume des gouttelettes au sein de l'émulsion en fonction de leur diamètre (μm).

DOCUMENT 10 – FORMULE DU MASQUE « PUR MASK » COS'BELLE BEAUTY.

Phase	Ingrédient	INCI	fournisseur	%
A	Emulium delta	Cetyl alcohol (and) glyceryl stearate (and) PEG-75 stearate (and) ceteth-20 (and) steareth-20	Gattefossé	7,00
	Lipocire A	C10-18 triglycerides	Gattefossé	4,00
	Xiameter PMX-200 silicon	Dimethicone	Xiameter	4,00
	MOD	Octyldodecyl myristate	Gattefossé	2,00
	Labrafac cc	Caprylic/capric triglyceride	Gattefossé	4,00
B	Eau déminéralisée	Aqua	/	QSP 100
	Glycerin	Glycerin	/	13,00
C	Kaolin	Kaolin	BASF	10,00
	Unipure White LC 981 HLC	Titanium dioxide (and) hydrogenated lecithin	Sensient	5,00
D	Orgasol 2002 D.NAT.COS.extra	Nylon-12	Atofina	0,50
E	Dry-flo PLUS	Aluminum starch octenylsuccinate	Akzo nobel	2,50
	DMDM hydantoin	DMDM hydantoin	/	0,30
	Cytobiol™ Iris A ²	Propanediol (and) aqua (and) Alcohol (and) Iris Florentina Root Extract (and) Zinc Sulfate (and) Retinyl Palmitate	Gattefossé	4,00
	5 α Avocuta ®	Butyl Avocadate	Expanscience	1,00
	Parfum ARX/34516	Parfum	Aromax	0,20

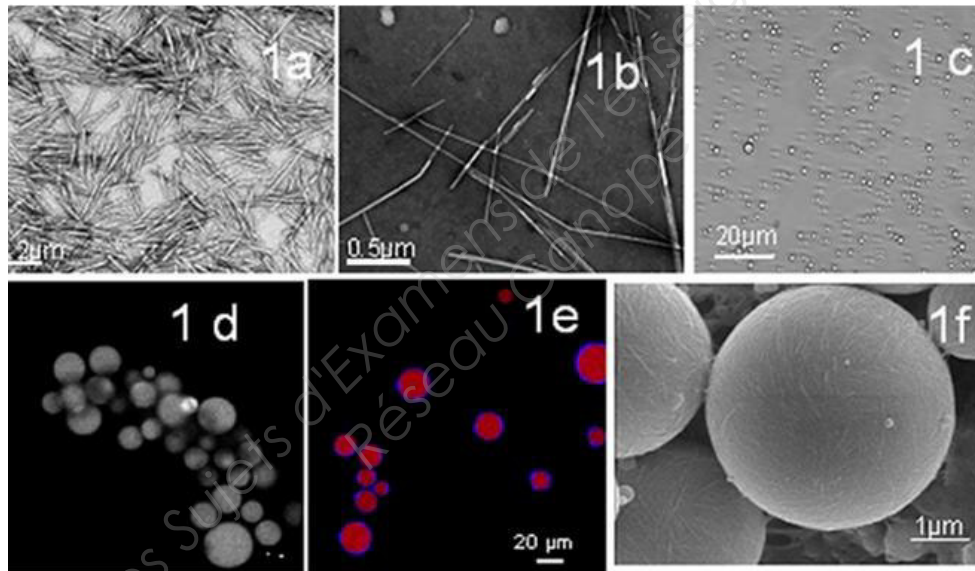
DOCUMENT 11 - LES ÉMULSIONS DE PICKERING.

Document 11a - Des émulsions stabilisées, sans tensio-actifs.

Publié le 04/05/2011 - Mis à jour le 31/05/2013.

<http://www.inra.fr/Entreprises-Monde-agricole/Resultats-innovation-transfert/Toutes-les-actualites/Des-emulsions-stabilisees-sans-tensio-actifs>

Les émulsions ont progressivement envahi notre quotidien : aliments, produits cosmétiques, lubrifiants, médicaments, ... Elles sont partout ! Ces mélanges « huile » dans « eau » ont une fâcheuse tendance à se déstabiliser au cours du temps, d'où le recours fréquent à des tensio-actifs pour les préserver. Ces derniers sont souvent montrés du doigt en raison de leur empreinte négative sur l'environnement. Une alternative écologique est proposée par les chercheurs de l'Inra de Nantes : utiliser des cristaux issus de ressources végétales, comme la cellulose, pour stabiliser les mélanges. Ces émulsions dites de Pickering, ouvrent des champs applicatifs inexplorés à ce jour.



Nanocristaux de cellulose obtenus par hydrolyse ménagée de duvets de coton (1a) ou de cladophora (algue) (1b) ; émulsion formée à partir de microcristaux de cellulose en microscopie optique (1c) ; image en microscopie confocale à balayage laser avec marquage de la phase hydrophobe au *bodipy* (1d) et double marquage *bodipy* et calcofluor spécifique de la cellulose (1e) et microscopie électronique à balayage (1f).

La formulation d'émulsion permet de moduler la texture des produits de notre quotidien dans des domaines d'applications aussi variés que l'agroalimentaire, la cosmétique, la lubrification, la synthèse chimique ou bien encore le domaine médical. Une émulsion est constituée par la dispersion de deux liquides non miscibles, qui sur des échelles de temps variables, finissent irrémédiablement par se séparer, ... à moins de faire intervenir un troisième élément, un composant stabilisant ayant une affinité pour chacune des phases et venant se positionner à l'interface.

Classiquement, ce rôle est assuré par des agents tensioactifs. Inconvénient majeur : il faut une grande quantité de surfactants pour maintenir la stabilité de l'interface du fait des dynamiques rapides de sorption/désorption à l'interface.

Les émulsions de Pickering : des émulsions atypiques.

Dans le cas des émulsions de Pickering, la stabilité est assurée par la présence de particules solides fortement ancrées à l'interface. Les matériaux obtenus sont beaucoup plus stables que leurs homologues classiques, stabilisées par des molécules tensioactives, et possèdent une plus grande élasticité interfaciale. Ces propriétés macroscopiques peuvent se comprendre par la modification de la nature de l'interface. Dans le cas classique des émulsions stabilisées par des molécules tensioactives, les interfaces sont « liquides » tandis que pour les émulsions de Pickering, la présence des particules rend l'interface « solide » et très robuste. Ces systèmes connaissent actuellement un regain d'intérêt, notamment pour des raisons écologiques, afin de limiter le recours aux tensioactifs de synthèse.

Les nanocristaux de cellulose, des stabilisants efficaces.

Les chercheurs de l'Unité « Biopolymères, Interactions Assemblages » (BIA) de l'Inra de Nantes-Angers, ont mis en évidence la possibilité de fabriquer des émulsions de Pickering en utilisant comme élément stabilisant des nanocristaux de polysaccharides issus de ressources végétales, comme de la cellulose non modifiée (brevet déposé). Ces cristaux aux morphologies variées sont obtenus soit à partir d'hydrolyse ménagée de structures naturelles (coton, parois d'algues, cellulose bactérienne) soit à partir de chaînes de polysaccharides isolées puis recristallisées (valorisation de résidus de tissus par exemple). Les différentes méthodes de préparation des cristaux testées ont permis de démontrer que les caractéristiques de surface des cristaux étaient déterminantes dans la stabilité de l'émulsion et que celle-ci pouvait être modulée par la charge de surface des cristaux. Les études de stabilité menées ont démontré que les émulsions résistaient à de grandes déformations mécaniques et étaient stables sur des grandes gammes de température (- 20°C à 80°C) et de temps (au moins un an).

Document 11b - Émulsions de Pickering stabilisées par des nanoparticules issues de la biomasse.

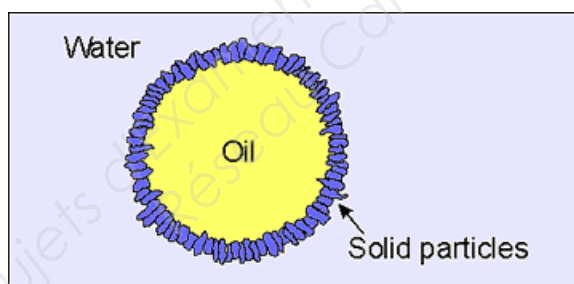
Publié le 27/08/2015 - Mis à jour le 04/09/2015.

<http://www.angers-nantes.inra.fr/Toutes-les-actualites/BIO PICK>.

La biomasse lignocellulosique est la ressource renouvelable et biodégradable la plus abondante sur le globe. Elle présente également tout un panel de fonctionnalités par assemblage de différentes molécules et est susceptible de présenter des propriétés interfaciales naturelles.

Le projet BIOPICK propose de développer des nouvelles techniques de préparation de particules à partir du bois aux échelles micro et nanométriques pour l'obtention de particules présentant des propriétés pour stabiliser les interfaces eau / huile sous forme d'émulsions eau dans huile, huile dans eau et multiples. Le bois constituera un modèle. C'est un challenge qui permettra de viser des applications nouvelles et/ou de plus haute valeur ajoutée telles que les préparations cosmétiques. Ce projet vise à remplacer des tensioactifs qui sont généralement relargués dans l'environnement, par des particules elles-mêmes issues de la biomasse biodégradable. Il s'agit ici d'initier une chaîne globale plus respectueuse de l'environnement. Outre les critères scientifiques et technologiques, une évaluation de l'impact environnemental pourra orienter les choix de particules. L'équipe « Assemblages Nanostructurés » de l'unité BIA élabore des matériaux / assemblages composés de biopolymères essentiellement polysaccharidiques, en les structurant aux échelles nano et microscopiques. Depuis 2010 elle a mis en évidence la stabilisation d'émulsions de Pickering par les nano-cristaux de polysaccharides natifs. L'équipe caractérisera ces particules à l'interface eau-huile pour la génération d'émulsions.

Document 11c - Schématisation du principe des émulsions de Pickering.



DOCUMENT 12 - EXTRAIT DE FICHE SUR L'ACTIF : CYTOBIOL® (GATTEFOSSE).

Ingrédients /
CYTOBIOL™ IRIS A²

CARTE D'IDENTITE

NOM : Cytobiol™ Iris A²

FONCTION : Actif multi-perfecteur de qualité de peau

DESCRIPTION : Liquide jaune

INCI : *Propanediol (and) Water (and) Alcohol (and) Iris Florentina Root Extract (and) Zinc Sulfate (and) Retinyl Palmitate*

Approuvé Chine

DOSE RECOMMANDEE : 5%

EFFICACITÉ PROUVÉE

Une étude clinique complète combinant mesures instrumentales, scoring dermatologique et auto-évaluation a été menée sur un panel de 17 femmes de 20 à 44 ans présentant une peau mixte à grasse + une tendance acnéique + des pores dilatés. La formule testée contenait 5% de **Cytobiol™ Iris A²** et a été appliquée 2 fois par jour. Les mesures ont été effectuées à J₀ et après 28 jours d'application.

DOCUMENT13 – ÉVALUATION VISUELLE DE L'EFFICACITÉ DU PRODUIT.



DOCUMENT 14 – SEBUMÉTRIE.

Tableau montrant la moyenne du taux de sébum (en μg de sébum / cm^2 de peau) réalisé sur différents phototypes (avec un échantillon de 5 personnes par phototype).

Temps T en jour	Phototype II	Phototype III	Phototype IV	Phototype V
T 0	62	73	80	56
T 7	59	70	45	47
T 14	57	54	44	34
T 28	53	48	47	30
T 56	52	43	35	32
T 84	49	40	33	37
T 112	52	39	33	33