Ce document a été mis en ligne par l'organisme FormaV©

Toute reproduction, représentation ou diffusion, même partielle, sans autorisation préalable, est strictement interdite.

Pour en savoir plus sur nos formations disponibles, veuillez visiter :
www.formav.co/explorer

ÉPREUVE E3. UNITÉ U32
Microbiologie et technologies d'analyse

INDUSTRIE COSMÉTIQUE ET MICROORGANISMES

Calculatrice non autorisée

L'industrie cosmétique est confrontée à différents impératifs :

- la réalisation d'émulsions stables entre des composants lipidiques et aqueux au cours de la production de cosmétiques. Certains microorganismes sont capables de produire des substances tensioactives ; ils offrent des voies alternatives aux procédés classiques : on parle alors de biotensioactifs ou de bioémulsifiants.

- l'assurance de l'innocuité des produits distribués selon la réglementation européenne qui impose des critères microbiologiques stricts. L'utilisation de conservateurs est une solution préventive à la contamination du produit.

1 - Production industrielle d'un bioémulsifiant : l'alasan (41 points)

La souche *Acinetobacter radioresistens* KA53 est capable de produire et de sécréter un exopolysaccharide de surface (EPS) à activité bioémulsifiante appelé « alasan », lorsqu'elle est cultivée sur milieu à l'éthanol en bioréacteur fed-batch.

1.1 - Structure bactérienne

Les EPS sont des éléments externes à la paroi bactérienne, composés de nombreuses fibres formant une structure gélifiée.

1.1.1 - Citer un rôle physiologique de ces EPS.

1.1.2 - Quel est le composant caractéristique de la paroi bactérienne ?
Nommer les différentes molécules qui le composent. Préciser leur agencement.

1.1.3 - Le **document 1** présente l'aspect de la souche après coloration à l'encre de Chine.
Analyser le résultat, préciser la nature biochimique de l'élément mis en évidence.

1.2 - Systématique bactérienne

La souche KA53 d'*Acinetobacter radioresistens* est une souche isolée du sol. Son identification a été confirmée par analyse phylogénétique : elle est caractérisée par un % GC de 38 % et son ARN 16S présente 99 % d'homologie avec l'ARN 16S des souches de la même espèce.

1.2.1 - Peut-on affirmer que deux souches de même GC% appartiennent à la même espèce ? Justifier la réponse.

1.2.2 - Depuis les travaux de Karl Woese sur l'ARN 16S, les êtres vivants sont classés en trois grands domaines.

1.2.2.1 - Citer les trois domaines définis par Karl Woese.

1.2.2.2 - Auquel de ces domaines appartient *Acinetobacter* ?

1.2.2.3 - Justifier l'utilisation de l'ARN 16S comme marqueur moléculaire de l'évolution.

1.2.3 - Les souches appartenant à une même espèce génomique doivent avoir un ΔTm (aussi nommé « stabilité thermique des hybrides ») compris entre 1 et 5°C. Exposer le principe de la détermination du ΔTm.

1.3 - Procédé de production

1.3.1 - La culture industrielle d'une souche microbienne implique de nombreux contrôles à différentes étapes de son utilisation, notamment de vérifier, avant mise en culture, ses caractères morphologiques et physiologiques. Une coloration de Gram et un test enzymatique sont réalisés, puis différents milieux sont ensemencés.

1.3.1.1 - Quels sont les caractères permettant d'orienter vers le genre *Acinetobacter*.

1.3.1.2 - Exposer le principe de la recherche des nitrates réductases en précisant le nom et le rôle des réactifs utilisés.

1.3.2 - La culture d'*Acinetobacter radioresistens* dans le but de produire l'alasan, se fait en bioréacteur 15 L (10 L utiles), en procédé fed-batch, et selon les conditions décrites sur le **document 2**.

1.3.2.1 - Analyser la composition du milieu de culture fourni sur le **document 3** en précisant le rôle de chaque constituant. Qualifier ce milieu.

1.3.2.2 - Justifier le choix des valeurs d'agitation et de débit d'air pour cette culture.

1.3.2.3 - Sur la copie, reporter les numéros 1 à 10 du **document 4** et donner les légendes correspondantes.

1.3.3 - Les résultats de la croissance bactérienne et de la production du bioémulsifiant alasan au cours du procédé sont présentés dans le **document 2**.

1.3.3.1 - En choisissant la représentation graphique la plus pertinente, tracer, sur la même feuille de papier millimétré, les courbes suivantes :
- Courbe de croissance d'*Acinetobacter radioresistens*.
- Évolution de l'activité émulsifiante totale (AET) en fonction du temps.

1.3.3.2 - Délimiter et nommer, sur le graphique précédent, les différentes phases de la croissance.

1.3.3.3 - Définir et estimer les paramètres cinétiques de la croissance : μ_{expo} (ou $Q_{x\,expo}$) et G.

Justifier la démarche et les étapes du raisonnement.

Donnée : Ln 2 = 0,7.

1.3.3.4 - Décrire brièvement la courbe de l'évolution de l'activité émulsifiante en fonction du temps.

Sachant que cette activité est uniquement due à la sécrétion de l'alasan, préciser à quel type de métabolite appartient ce produit. Justifier.

1.3.3.5 - En fonction des conditions d'alimentation en fed-batch données sur le **document 2**, justifier l'emploi de ce procédé dans cette production.

Quelle en est alors la contrainte majeure ?

1.3.3.6 - Déterminer la productivité horaire finale en alasan, exprimée en $\mathbf{U.h^{-1}}$.

1.3.4 - La mise au point de cette production a nécessité des ajustements préalables.

1.3.4.1 - Notamment, la souche d'intérêt a été cultivée dans ce même milieu à différentes températures. Les résultats de cette étude sont présentés dans le **document 5**.

Analyser le document et justifier la température choisie pour la production.
Qualifier la souche vis-à-vis de cette température.

1.3.4.2 - Au cours de la culture, on observe des variations du pH du milieu pouvant avoir des répercussions sur la productivité finale.

Comment pourrait-on réguler ce paramètre ?

Détailler la boucle de régulation mise en jeu.

1.3.4.3 - L'amélioration des souches permet d'augmenter la productivité.

Citer une méthode utilisée pour améliorer les souches d'intérêt industriel.

2 - Prévention des contaminations dans l'industrie cosmétique (19 points)

2.1 - Contrôles des locaux

En production cosmétique, des contaminations peuvent survenir au cours de la production.
Des contrôles réguliers sont donc inscrits dans la démarche HACCP des industries cosmétiques. Ces contrôles regroupent les contrôles des ambiances (air) et des surfaces.

2.1.1 - L'air n'est qu'un milieu de transit pour les microorganismes.
Justifier ce fait et illustrer par des exemples.

2.1.2 - Citer une méthode de contrôle de l'atmosphère d'une pièce, ainsi qu'une méthode de contrôle des surfaces.

2.2 - <u>Rôle des conservateurs dans les cosmétiques</u>

Dans un produit cosmétique peuvent se développer des microorganismes d'altération ou des microorganismes pathogènes pour le consommateur, apportés lors de la fabrication ou de l'utilisation du produit.

2.2.1 - Quelles sont les principales sources de contamination des cosmétiques au cours de leur production ?

2.2.2 - Certains cosmétiques sont des émulsions.

Expliquer le développement possible d'une flore lipolytique dans un tel produit.

Quelle pourrait être la conséquence directe du développement d'une telle flore dans ce cosmétique ?

2.2.3 - Afin d'éviter cette contamination indésirable, des conservateurs sont introduits dans les cosmétiques.

Quels sont les deux principaux rôles d'un additif conservateur en cosmétique ?

2.2.4 - Les contrôles des produits cosmétiques se font à différents niveaux de la chaîne de production. Le **document 6** est un extrait d'une méthode décrivant les modalités d'un de ces contrôles : un « challenge-test » (test de surinfection ou test de contamination artificielle).

2.2.4.1 - Quelle est la finalité d'un challenge-test ?

2.2.4.2 - Préciser l'intérêt d'utiliser un neutralisant dans le diluant du cosmétique et dans la gélose utilisée pour le dénombrement des germes revivifiables après les différents temps de conservation.

2.2.4.3 - Analyser les résultats présentés sur le **document 6**. Conclure.

2.2.5 - Le choix et la concentration du conservateur ajouté dans le cosmétique sont fondamentaux. Des tests *in vitro* de détermination de la CMI de certains vis-à-vis de souches bactériennes de référence apportent des éléments de réponse.

2.2.5.1 - Donner la signification et la définition de la CMI d'un conservateur.

2.2.5.2 - **Le document 7** présente le protocole et les résultats d'une détermination *in vitro* de la CMI du PHBM (parahydroxybenzoate de méthyle, E218) vis-à-vis de différents contaminants possibles des cosmétiques (*Micrococcus luteus*, *Pseudomonas aeruginosa, Bacillus licheniformis*).

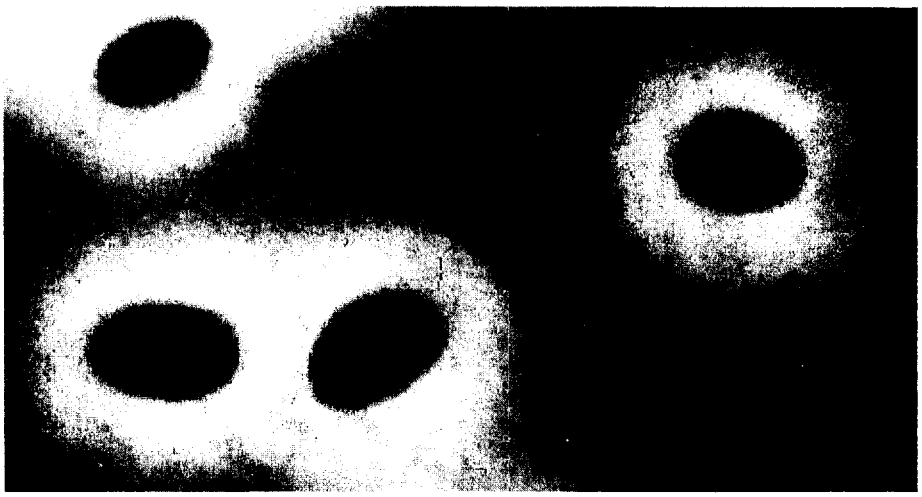
Analyser ces résultats : déterminer la CMI du PHBM vis-à-vis de chacune de ces souche.

2.2.5.3 - **Le document 8** présente la formulation d'une crème cosmétique hydratante contenant du parahydroxybenzoate de méthyle comme conservateur.

En analysant la composition de cette crème cosmétique, préciser si le conservateur sera efficace sur chacune des flores précédemment étudiées. Justifier la réponse.

DOCUMENT 1 :

RÉSULTAT DE LA COLORATION À L'ENCRE DE CHINE DE LA SOUCHE *ACINETOBACTER RADIORESISTENS* KA53



1 µm

DOCUMENT 2 :

PRODUCTION DU BIOÉMULSIFIANT « ALASAN » EN BIORÉACTEUR FED-BATCH, PAR *ACINETOBACTER RADIORESISTENS* KA53

Conditions de production

Milieu	à l'éthanol (cf **document n°3**)
Volume initial du milieu	4,5 L
Inoculum	0,5 L d'une préculture de 24 h à 30°C en milieu de même composition
Alimentation en milieu	aucune alimentation jusqu'à 30 h ; puis ajout de milieu selon le tableau ci-dessous (colonne « volume de culture »)
Volume final du mélange	10 L
Agitation	500 rpm
Débit d'air	1 VVM (Volume d'air par Volume de milieu et par Minute)
Température	30°C
pH initial	7,0 (non régulé au cours de la fermentation)
Temps de fermentation	100 h

Suivi opacimétrique de la croissance et évolution de l'activité émulsifiante

Temps (h)	A_{600nm}	Ln A_{600nm}	Activité émulsifiante volumique* (U/L)	Volume de culture (L)	Activité émulsifiante totale AET (U)
0	0,01	-4,61	2	5,0	10
8	0,14	-2,00	5	5,0	25
16	1,49	0,40	12	5,0	60
24	9,97	2,30	19	5,0	95
28	14,15	2,65	23	5,0	115
32	18,17	2,90	36	5,5	198
40	21,12	3,05	58	6,1	351
48	22,20	3,10	85	6,6	565
56	22,20	3,10	128	6,6	851
64	24,05	3,18	135	7,4	1001
72	25,28	3,23	194	9,1	1762
88	29,96	3,40	240	8,9	2138
100	34,12	3,53	271	10,0	2710

* Activité émulsifiante volumique : elle est mesurée au cours de la réalisation d'une émulsion hydrocarbures-eau, par un photomètre de Klett-Summerson. Une unité d'activité émulsifiante par L (U/L) est définie comme la quantité de bioémulsifiant qui permet d'atteindre 100 unités Klett dans le mélange testé.

Adapté de « Alasan, a new Bioemulsifier from Acinetobacter radioresistens », S.Navon-veneza, applied and Environnemental Microbiology, Sep 1995, p 3240-3244.

DOCUMENT 3 :

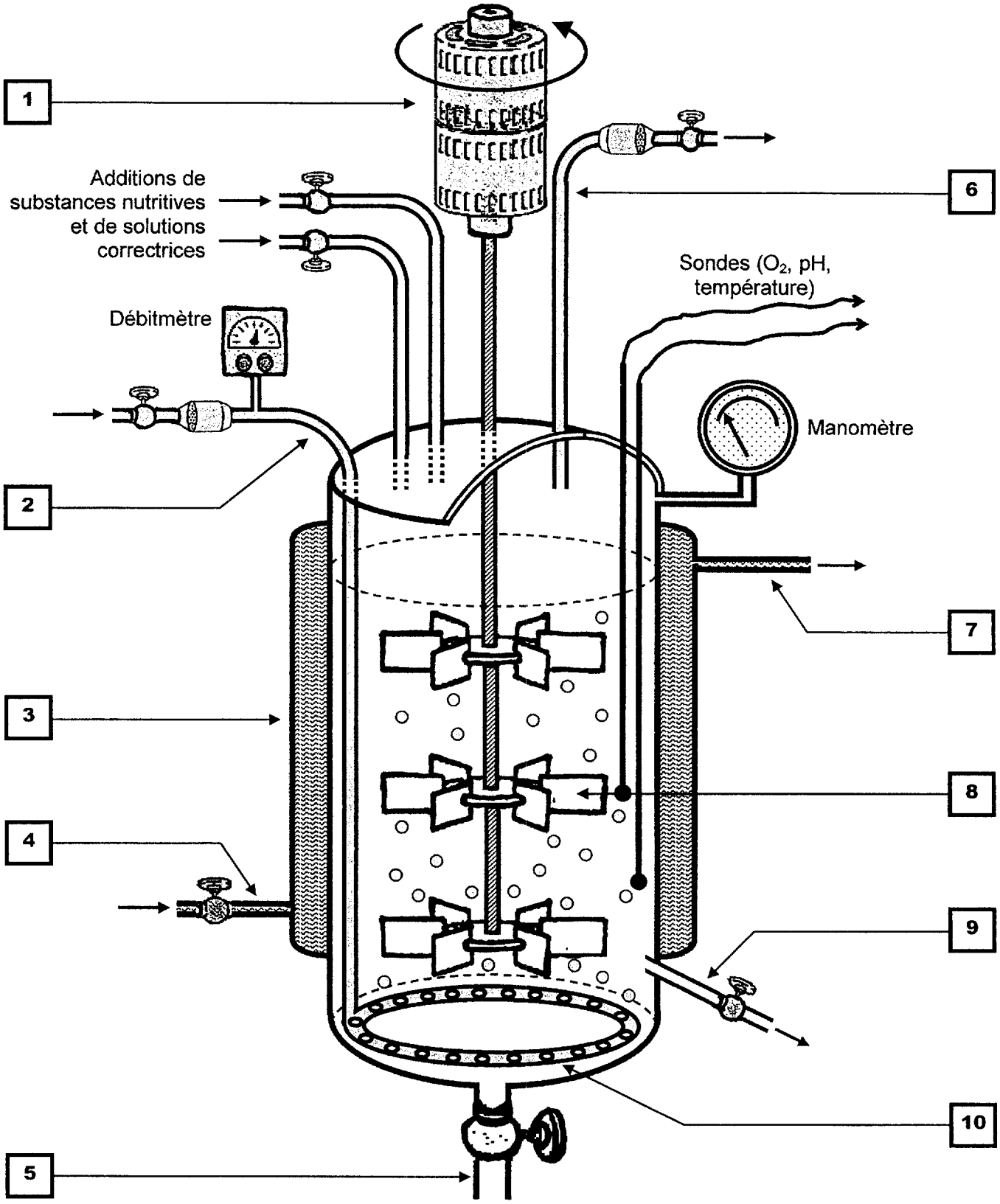
COMPOSITION DU MILIEU POUR LA CULTURE FED-BATCH D'*ACINETOBACTER RADIORESISTENS* KA53

Constituants	Quantité
Éthanol	5,0 mL
Urée	1,8 g
Na_2HPO_4	13,7 g
KH_2PO_4	7,3 g
$MgSO_4$, 7 H_2O	0,4 g
Solution ionique*	1,0 mL
H_2O désionisée	**qsp 1 L**

* La solution ionique comprend, pour 10 mL, les éléments suivants :
$CaCl_2$, $2H_2O$ (3,68 mg), $CuSO_4$, 5 H_2O (6,24 mg), $FeSO_2$, 7 H_2O (6,04 mg), $MnSO_4$, 4 H_2O (5,94 mg), $ZnSO_4$, 7 H_2O (4,22 mg), $CoCl_2$, 6 H_2O (7,88 mg), Na_2MoO_4 (6,96 mg)

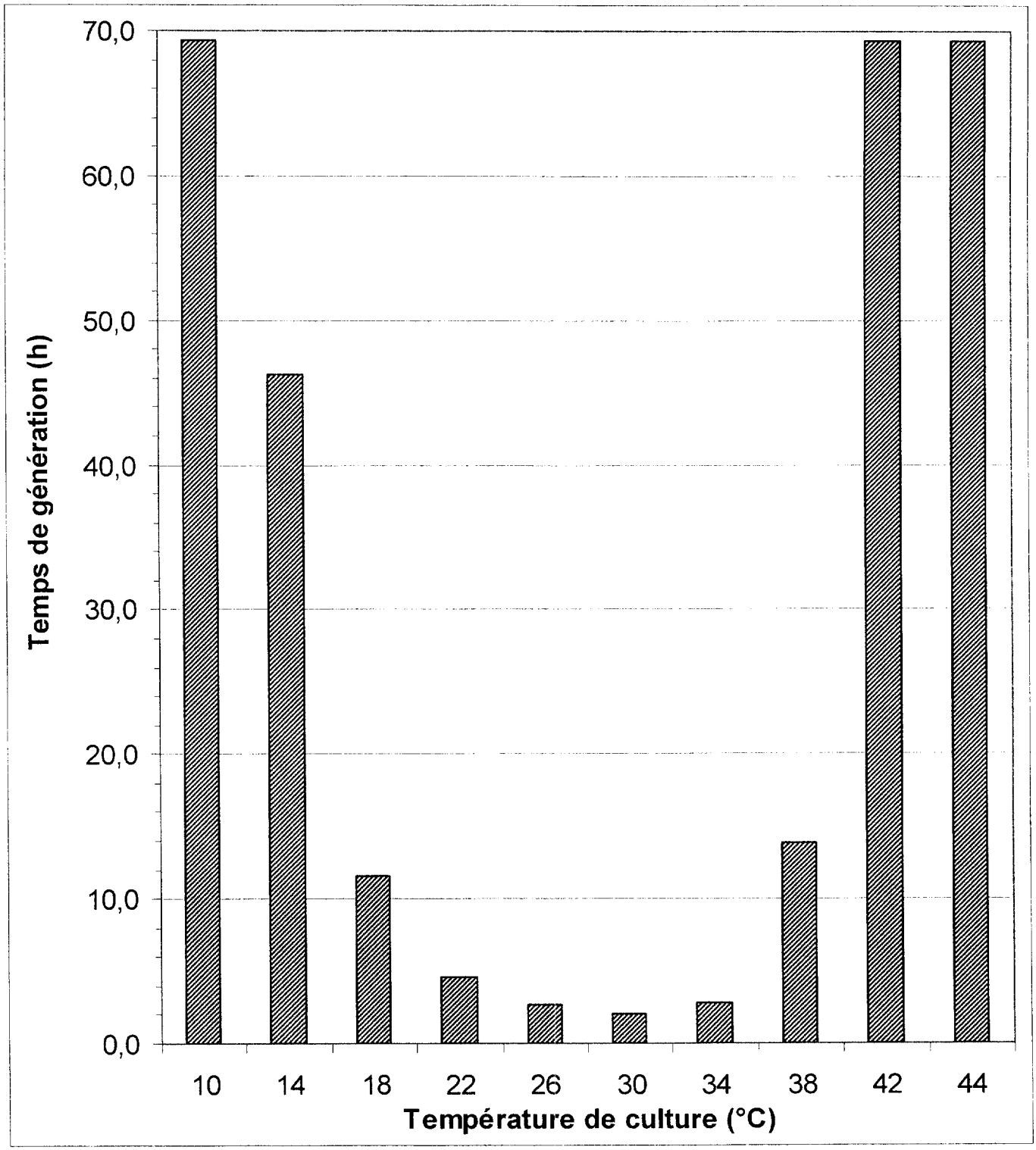
DOCUMENT 4 :

SCHÉMA D'UN BIORÉACTEUR 15 L



DOCUMENT 5 :

VARIATION DU TEMPS DE GÉNÉRATION D'*ACINETOBACTER RADIORESISTENS* KA53 À DIFFÉRENTES TEMPÉRATURES



DOCUMENT 6 :

CONTRÔLE *IN SITU* D'UN PRODUIT COSMÉTIQUE - CHALLENGE TEST

Principe général de la méthode

Le challenge-test consiste en la contamination artificielle du produit cosmétique par un inoculum déterminé de microorganismes tests, et au suivi de l'évolution de la population viable dans le produit contaminé par dénombrement des germes revivifiables dans des échantillons prélevés à intervalles de temps donnés.
Les microorganismes tests doivent représenter les organismes contaminants les plus vraisemblables durant l'utilisation et doivent être choisis parmi les bactéries Gram positives et Gram négatives, les levures et les moisissures. Pour les préparations à application locale, comme les cosmétiques, quatre microorganismes tests sont préconisés : *Pseudomonas aeruginosa* CIP 82.118 (ATCC 9027), *Staphylococcus aureus* CIP 4.83 (ATCC 6538), *Candida albicans* IP 48.72 (ATCC 10231) et *Aspergillus niger* IP 1431.83 (ATCC 16404).

Pour chaque microorganisme, un récipient de produit à examiner est ensemencé afin d'obtenir un inoculum de 10^5 à 10^6 germes viables par mL ou par g de préparation. Le volume de l'inoculum introduit ne doit pas dépasser 1% du volume du produit.

Le produit est ensuite maintenu à 20-25°C et des dénombrements sont réalisés après 2, 7, 14 et 28 jours de conservation. Pour ces dénombrements, il faut utiliser un diluant et des géloses permettant la neutralisation du système de conservation.

Critères d'acceptation

Pour les préparations à application locale, les critères recommandés d'efficacité du conservateur sont donnés dans le tableau ci-dessous en termes de réductions logarithmiques du nombre de microorganismes viables par rapport à la valeur obtenue pour l'inoculum de départ.

	Réduction logarithmique			
	2 jours	7 jours	14 jours	28 jours
Bactéries	2 log	3 log	P.A.U.[(1)]	P.A.U.
Fungi	ND [(2)]	ND	2 log	P.A.U.

[(1)] P.A.U. = pas d'augmentation ultérieure
[(2)] ND = non déterminé

Résultats

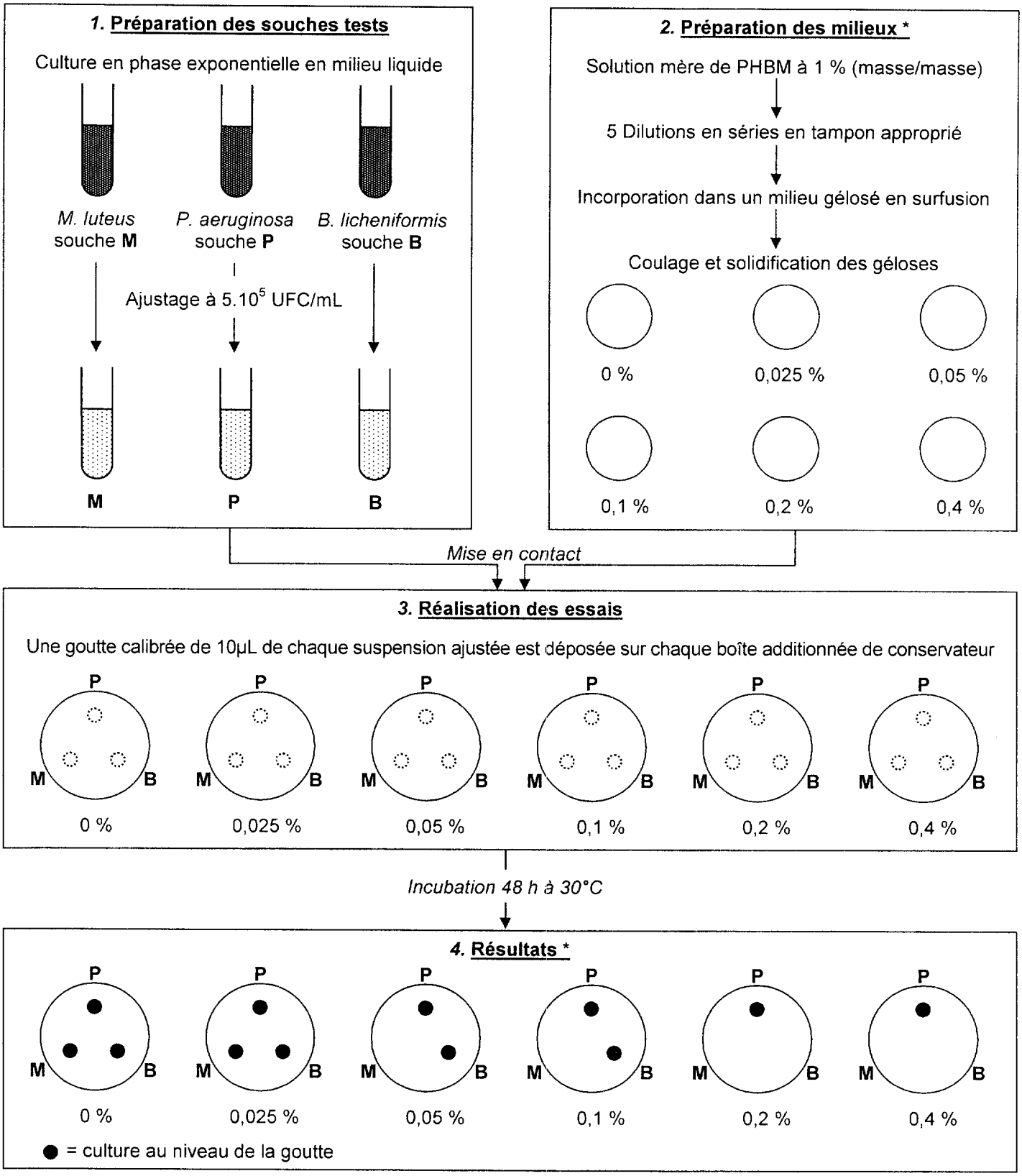
Souches tests	Résultats des dénombrements des germes revivifiables (UFC/g)				
	J_0 [(3)]	J_2	J_7	J_{14}	J_{28}
Pseudomonas aeruginosa	$8,0.10^5$	$1,5.10^3$	$6,0.10^2$	$5,8.10^2$	$9,7.10^2$
Staphylococcus aureus	$8,0.10^5$	$3,2.10^3$	$4,7.10^2$	$4,5.10^2$	$4,5.10^2$
Candida albicans	$8,0.10^5$	ND	ND	$7,8.10^2$	$5,1.10^1$
Aspergillus niger	$8,0.10^5$	ND	ND	$5,3.10^2$	$3,8.10^1$

[(3)] J_0 = jour d'initiation du challenge-test (dénombrement de l'inoculum de départ)

DOCUMENT 7 :

DÉTERMINATION *IN VITRO* DE LA CMI DU PHBM VIS-À-VIS DE DIFFÉRENTES SOUCHES BACTÉRIENNES CONTAMINANTES

Méthode de dilution du conservateur en milieu solide



** les concentrations de PHBM données sont des concentrations finales dans la gélose (en masse/masse)*

DOCUMENT 8 :

FORMULATION D'UNE CRÈME COSMÉTIQUE

Pour un lot de formulation de 500 g

	Composants	Quantité (g)
PHASE LIPOPHILE	Cutina MD	55,0
	Eumulgade F	15,0
	Eutanol G	40,0
	Huile de maïs	35,0
	Huile de vaseline	25,0
	Lanoléine	15,0
PHASE HYDROPHILE	Propylène-glycol	5,0
	Végétol lierre	5,0
	Essence de lavande	2,5
	PHBM (E218)	1,0
	Eau distillée	301,5 (qsp 500 g)

Remarque : **une fois l'émulsion réalisée et stabilisée, l'ensemble des composants se répartit de façon homogène dans le produit final.**

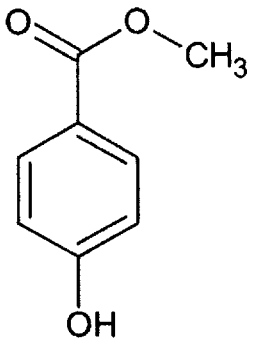
Le PHBM (parahydroxybenzoate de méthyle)

Le PHBM (parahydroxybenzoate de méthyle, appelé aussi méthyl-paraben) est un conservateur couramment utilisé en cosmétique, et faisant partie des « parabens ».
Sa codification européenne, parmi les additifs, est « E218 ».

Les parabens sont un groupe d'agents chimiques largement utilisés comme conservateurs dans les industries cosmétique et pharmaceutique. Ces composés, et les sels qui en dérivent, sont principalement utilisés pour leur propriété antibactérienne et antifongique.
On les retrouve dans des shampooings, des crèmes hydratantes, des gels lavant ou nettoyant, du dentifrice, et même certains médicaments.

Tous les parabens utilisés dans les produits commerciaux sont produits par synthèse chimique, bien que certains soient identiques à ceux trouvés dans la nature (comme le PHBM naturellement produit par l'airelle).

Formule : $C_8H_8O_3$



Copyright © 2026 FormaV. Tous droits réservés.

Ce document a été élaboré par FormaV© avec le plus grand soin afin d'accompagner chaque apprenant vers la réussite de ses examens. Son contenu (textes, graphiques, méthodologies, tableaux, exercices, concepts, mises en forme) constitue une œuvre protégée par le droit d'auteur.

Toute copie, partage, reproduction, diffusion ou mise à disposition, même partielle, gratuite ou payante, est strictement interdite sans accord préalable et écrit de FormaV©, conformément aux articles L.111-1 et suivants du Code de la propriété intellectuelle. Dans une logique anti-plagiat, FormaV© se réserve le droit de vérifier toute utilisation illicite, y compris sur les plateformes en ligne ou sites tiers.

En utilisant ce document, vous vous engagez à respecter ces règles et à préserver l'intégrité du travail fourni. La consultation de ce document est strictement personnelle.

Merci de respecter le travail accompli afin de permettre la création continue de ressources pédagogiques fiables et accessibles.

Copyright © 2026 FormaV. Tous droits réservés.

Ce document a été élaboré par FormaV© avec le plus grand soin afin d'accompagner chaque apprenant vers la réussite de ses examens. Son contenu (textes, graphiques, méthodologies, tableaux, exercices, concepts, mises en forme) constitue une œuvre protégée par le droit d'auteur.

Toute copie, partage, reproduction, diffusion ou mise à disposition, même partielle, gratuite ou payante, est strictement interdite sans accord préalable et écrit de FormaV©, conformément aux articles L.111-1 et suivants du Code de la propriété intellectuelle. Dans une logique anti-plagiat, FormaV© se réserve le droit de vérifier toute utilisation illicite, y compris sur les plateformes en ligne ou sites tiers.

En utilisant ce document, vous vous engagez à respecter ces règles et à préserver l'intégrité du travail fourni. La consultation de ce document est strictement personnelle.

Merci de respecter le travail accompli afin de permettre la création continue de ressources pédagogiques fiables et accessibles.