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

SESSION 2022
Métropole

BREVET DE TECHNICIEN SUPÉRIEUR AGRICOLE
E7-1 ANALYSES ET CONTRÔLES

Option : ANABIOTEC

Durée : 180 minutes

Matériel(s) et document(s) autorisé(s) : **Calculatrice**

Le sujet comporte 20 pages

Les documents et le contexte ont été adaptés pour les besoins de l'épreuve.

SUJET

Produit cosmétique avec un nouvel antioxydant : la phycocyanine

L'entreprise CBIO fabrique des produits cosmétiques bio à base de lait d'ânesse depuis de nombreuses années. Les produits élaborés sont des émulsions composées d'une phase aqueuse et d'une phase grasse. Les catégories d'ingrédients comprennent des excipients ou hydratants tels que la glycine, des agents de texture, des conservateurs ou stabilisants et du parfum.
Les consommateurs sont de plus en plus attentifs au caractère naturel des produits. Pour répondre à cette demande, l'entreprise décide de décliner sa gamme de crèmes hydratantes au lait d'ânesse en produisant une nouvelle crème contenant de l'huile d'argan et un antioxydant d'origine naturelle, la phycocyanine.
La phycocyanine est une protéine pigmentaire, photosynthétique, hydrosoluble, présente chez les cyanobactéries. Elle est extraite d'une cyanobactérie, la spiruline *Arthrospira platensis*. Elle est utilisée pour ses propriétés antioxydantes. Son extraction en solution aqueuse et non en milieu organique, et sa couleur bleue unique en font une molécule d'intérêt grandissant en cosmétologie.
La composition de cette nouvelle crème hydratante est présentée dans le **document 1**.

En tant que technicien ou technicienne au laboratoire contrôle et R&D chez CBIO, vous êtes en charge de :

- Suivre la production de phycocyanine en essai pilote.
- Réaliser le contrôle des matières premières : huile d'argan et lait d'ânesse.
- Contrôler la qualité du produit cosmétique fini d'un point de vue microbiologique ainsi que l'efficacité du conservateur en mettant en œuvre un Challenge test.

PARTIE 1 : Suivi de la production de phycocyanine en essai pilote (9 points)

Pour garantir la qualité de la phycocyanine, CBIO décide de produire la spiruline, d'extraire la phycocyanine et de la purifier sans dégradation de ses propriétés. Pour sa production, on utilise comme biomasse une spiruline, *Arthrospira platensis*, à partir d'une mise en culture selon le procédé décrit dans le **document 2**. Vous êtes en charge du suivi d'un essai pilote.

1.1. Justifier le choix de trois paramètres à suivre pendant la production de spiruline.

1.2. Le **document 3** présente une carte de contrôle du paramètre pH réalisée au cours de l'essai pilote.

1.2.1. Commenter la carte de contrôle.

1.2.2. Proposer, si nécessaire, des actions correctives.

1.3. Le suivi de la culture est réalisé par comptage en cellule de Malassez, sachant que pour une lecture fiable, le nombre de filaments de spiruline ne doit pas dépasser 250 filaments dans le volume total de la cellule (voir **document 4**).

Vous voulez faire un comptage des filaments de spiruline après 16 h de culture.

1.3.1. Déterminer la dilution à réaliser pour obtenir une lecture fiable.

Après comptage, vous obtenez une concentration en spiruline égale à $2{,}2.10^7$ filaments par millilitre.

1.3.2. Justifier votre décision quant à la poursuite ou à l'arrêt de la culture de spiruline.

1.4. Dans le but d'optimiser la production de phycocyanine et d'améliorer sa pureté, on vous demande de comparer deux méthodes d'extraction différentes : la macération à froid et la sonication à 40 kHz. Les résultats de l'étude sont présentés dans le tableau ci-dessous. Afin de comparer ces deux méthodes d'extraction de la phycocyanine, on réalise des mesures sur deux échantillons indépendants de taille 30 (chaque échantillon correspond à une méthode d'extraction de la phycocyanine).

Tableau de comparaison de deux méthodes d'extraction de la phycocyanine :

Méthode d'extraction de la Phycocyanine	Moyenne des quantités extraites (mg/mL)	Écart-type (mg/mL)
Macération	0,606	0,03
Sonication	0,570	0,05

On note :

- $\overline{X_1}$ la variable aléatoire qui à tout échantillon aléatoire simple de taille 30, associe la moyenne des quantités extraites par la méthode d'extraction par macération.

- $\overline{X_2}$ la variable aléatoire qui à tout échantillon aléatoire simple de taille 30, associe la moyenne des quantités extraites par la méthode d'extraction par sonication.

On suppose que les variables $\overline{X_1}$ et $\overline{X_2}$ sont normalement distribuées.
On cherche à savoir, au seuil de risque α = 0,05, si la méthode par macération est celle qui permet d'extraire la plus grande quantité moyenne de phycocyanine.

1.4.1. Choisir un test statistique permettant de comparer les résultats obtenus avec les deux méthodes (**document 5**).

1.4.2. Mettre en œuvre le test choisi et conclure.

PARTIE 2 : Contrôle des matières premières (7 points)

Afin de garantir la qualité de la crème hydratante, vous contrôlez l'huile d'argan et le lait d'ânesse.

2.1. L'huile d'argan peut être la source de fraude de type adultération par ajout d'une huile moins coûteuse telle que l'huile de colza ou de soja.

Dans l'huile d'argan non adultérée, la teneur en acide linolénique (C18:3) n'excède pas 0,3 %. Ce critère permet de déceler une adultération éventuelle.

2.1.1. Argumenter le choix du mode d'analyse en programmation de température pour observer les acides gras en C18 en vous référant au **document 6a**

2.1.2. Justifier, à partir des chromatogrammes présentés dans le **document 6b,** la qualité de l'huile d'argan analysée.

2.1.3. Préciser, au vu des résultats de cette analyse, le devenir de cette huile.

2.2. Afin de ne plus sous-traiter les tests d'adultération du lait d'ânesse, l'entreprise CBIO veut réaliser ce contrôle.

Après recherches documentaires, deux méthodes sont retenues :

- ELISA par compétition : Qualispeed BOV Test (**document 7**).
- Immunodiffusion radiale (**document 8**).

2.2.1. Expliquer, éventuellement à l'aide d'un schéma, le principe de la méthode ELISA par compétition dans le contexte de l'adultération du lait d'ânesse.

2.2.2. Argumenter le choix de la méthode la plus appropriée au besoin de CBIO.

PARTIE 3 : Contrôle qualité du produit fini en fabrication pilote (3 points)

La qualité microbiologique est essentielle pour garantir la sécurité des produits cosmétiques. Le règlement européen sur les cosmétiques (CE 1223/2009) exige que le fabriquant puisse fournir des preuves de la qualité microbiologique des matières premières et des produits finis. Les critères microbiologiques de la crème nouvelle gamme sont présentés dans le **document 10**.

La détermination de la qualité microbiologique comprend généralement :

- l'analyse de la contamination du produit,
- sa robustesse contre la contamination microbiologique, en évaluant l'efficacité du conservateur du produit cosmétique par un Challenge test.

3.1. Le contrôle de la qualité microbiologique de la nouvelle crème contenant la phycocyanine est réalisé sur une fabrication pilote selon les normes suivantes :

- Comptages de microorganismes aérobies mésophiles revivifiables (normes ISO 21149).
- Détection et identification de germes spécifiés ISO 21150 (*Escherichia coli*), ISO 22718 (*Staphylococcus aureus*), ISO 18416 (*Candida albicans*), normes ISO 22717 (*Pseudomonas aeruginosa*).

Les résultats obtenus sur un échantillon sont les suivants :

- Comptages des microorganismes aérobies mésophiles revivifiables (norme ISO 21149)

Dilutions	**10^{-1}**	**10^{-2}**	**10^{-3}**
Boîtes 1	54	3	1
Boîtes 2	48	5	0

3.1.1. Exploiter les résultats précédents, à l'aide des **documents 9 et 10**.

- Détection de *Staphylococcus* coagulase positive selon la norme ISO 22718,

3.1.2. Préciser le test à effectuer pour conclure sur le critère *Staphylococcus* coagulase positive.

Les résultats de détection sont les suivants :

Flore recherchée	Résultat
Pseudomonas aeruginosa	Non Détecté
Escherichia coli	Non Détecté
Staphylococcus coagulase positive	Détecté
Candida albicans	Non Détecté

3.1.3. Argumenter le diagnostic sur la qualité de la crème d'un point de vue microbiologique.

L'efficacité du conservateur, acide sorbique, dans la crème est contrôlée en réalisant un Challenge test (selon la norme NF EN ISO 11930, **document 11**).

3.2. Interpréter les résultats ci-dessous.

Temps d'action des conservateurs présents dans la crème	Nombre d'UFC de *Staphylococcus aureus* par g de crème
0 heure	$4{,}3.10^7$
48 heures	$1{,}1.10^5$
7 jours	$4{,}8.10^3$
14 jours	$1{,}9.10^3$
28 jours	$1{,}3.10^3$

PARTIE 4 : Rapport sur l'étude de faisabilité (1 point)

4. Argumenter, au vu des différents résultats obtenus (production de phycocyanine, contrôle des matières premières, contrôle qualité du produit fini), sur l'éventuelle mise en production de cette nouvelle crème cosmétique dans l'entreprise CBIO.

DOCUMENT 1

Composition de la nouvelle crème hydratante

Ingrédients	%	Catégorie d'ingrédients
Eau	67,8	Phase aqueuse
Glycérine	3	Hydratant
Stéarate de glycérol	12	Épaississant
Alcool cétylique	2,4	Agent de texture
Alcool cétéarylique	2,3	Émulsifiant
Triglyceride caprilique/caprique	4	Émollient (phase grasse)
Lait d'ânesse	4,2	Émollient (phase grasse)
Huile d'argan	2	Base huileuse
Parfum	0,1	Parfum
Acide sorbique	0,2	Conservateur
Phycocyanine	2	Antioxydant

DOCUMENT 2

Production de phycocyanine

La culture en milieu contrôlé de la spiruline s'effectue en photo-bioréacteur de forme cylindrique de trois litres éclairé par des leds émettant à 620 nm. Le milieu de culture est constitué de sels minéraux et d'eau, qui lui apportent tous les éléments nutritifs nécessaires (voir figure 1). Il s'agit d'un milieu riche en carbonate de sodium, peu propice à la croissance d'autres végétaux ou de microorganismes du fait de son pH fortement alcalin.

$NaHCO_3$	16,8
K_2HPO_4	0,5
$NaNO_3$	2,5
K_2SO_4	1,0
NaCl	1,0
$MgSO_4, 7H_2O$	0,2
$CaCl_2$	0,04
$FeSO_4, 7H_2O$	0,01
EDTA	0,08

Figure 1 : Composition du milieu de culture, en grammes pour un litre d'eau distillée.

(Source : Optimisation de la culture de la spiruline en milieu contrôlé : éclairage et estimation de la biomasse. N'goran Urbain Niangoran, Thèse à l'université de Toulouse, 2017)

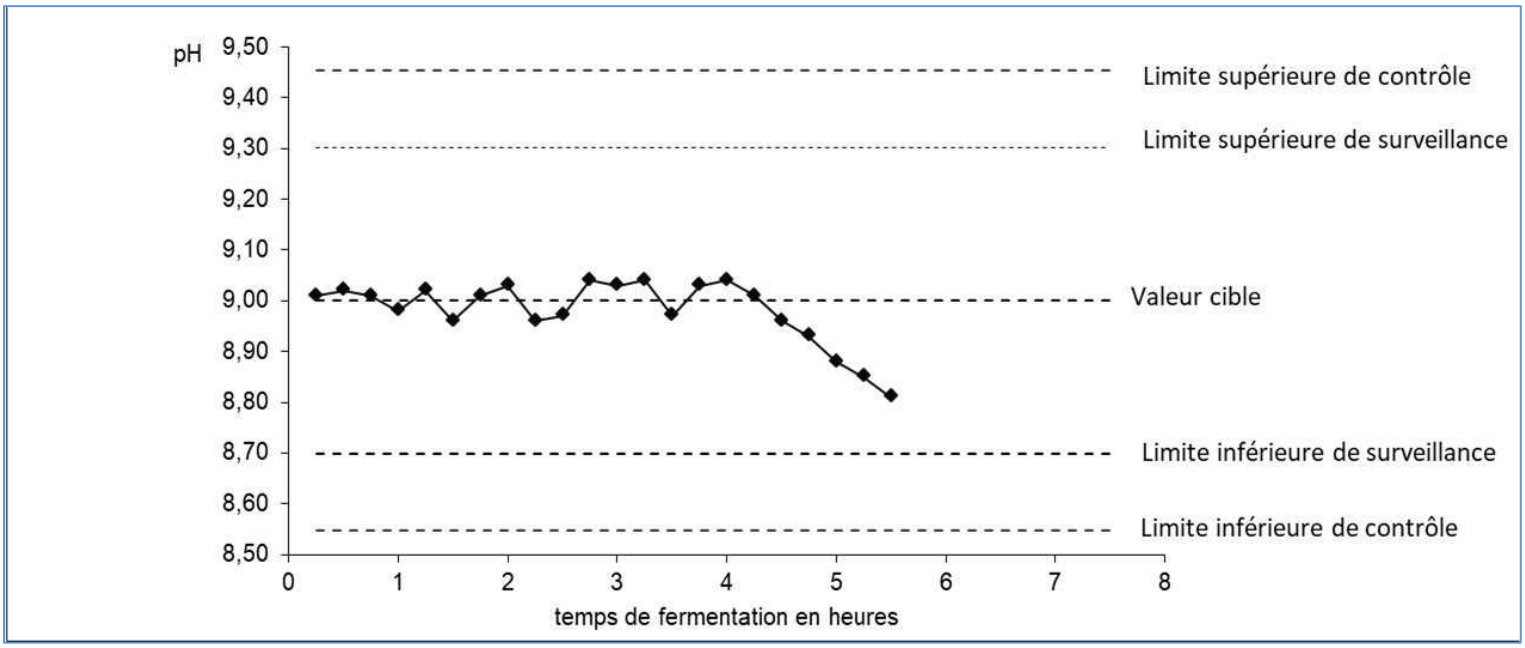
Les conditions de culture sont les suivantes : la concentration initiale en biomasse est de 0,18 g/L. Au cours de la croissance, la température est maintenue à 28°C et le pH est régulé à 9. La durée de la culture est de 17h00. La production de spiruline est arrêtée lorsque sa concentration atteint 2.10^7 filaments par millilitre.

La spiruline est ensuite récupérée par filtration, séchée et broyée.

La poudre de spiruline est ajoutée à de l'eau distillée dans des proportions de 1:25 (m/v) à 4°C. L'extraction de la phycocyanine se fait selon deux méthodes différentes : par simple macération à froid à 4°C pendant 24 heures ou par sonication. Le mélange est centrifugé à 10 000 g pendant 15 minutes à 4°C pour éliminer les débris cellulaires. Le précipité est jeté et l'extrait brut surnageant est recueilli et ajusté à un pH de 7.

DOCUMENT 3

Carte de contrôle du pH lors de la production de spiruline



DOCUMENT 4

Comptage en cellule de Malassez de la spiruline

Observation microscopique de la spiruline au grossissement 10x10

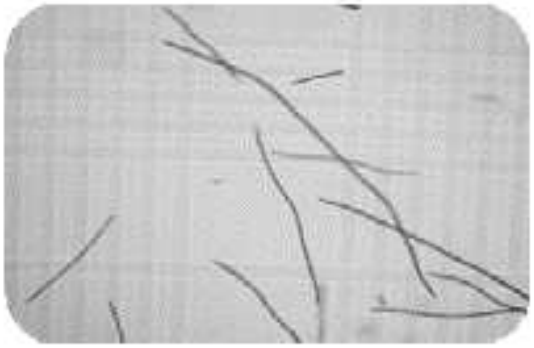
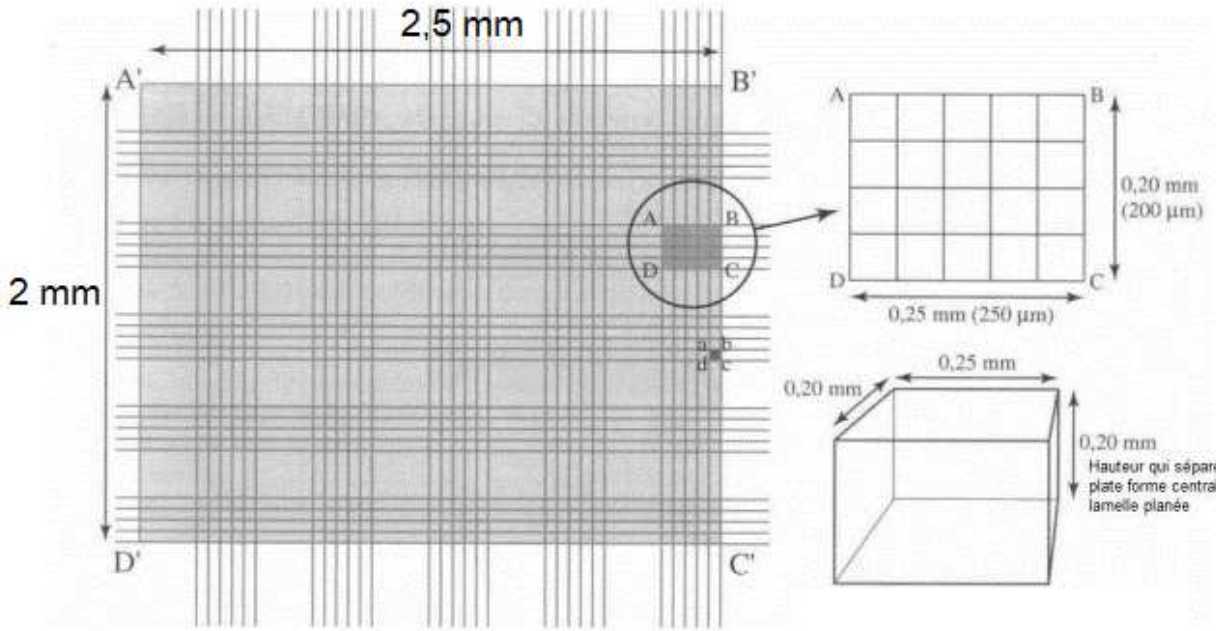


Schéma du quadrillage de la cellule de Malassez



Le quadrillage complet **A'B'C'D' comporte 100 rectangles ABCD (10x10)**.
Chaque rectangle ABCD surmonté de la lamelle formera une unité de comptage d'un volume
$V = l \times L \times h$; **$V = 0,2 \times 0,25 \times 0,2 = 0,01\ mm^3 = 0,01\ \mu L$**
Le volume total du quadrillage de Malassez (grand rectangle A'B'C'D') :
$V_{total} = 2 \times 2,5 \times 0,2 = 1\ mm^3 =$ **$1\ \mu L$** Ou $V_{total} = 100 \times V = 1 \mu L$

DOCUMENT 5

Formulaires et tables statistiques

Document 5a : Tests de comparaison de 2 moyennes de 2 populations

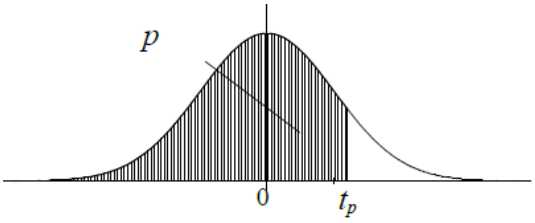
Variance des populations connues	Échantillons indépendants	$U = \frac{\overline{X_1} - \overline{X_2}}{\sqrt{\frac{\sigma_1^2}{n_1} + \frac{\sigma_2^2}{n_2}}}$ U suit la loi normale centrée réduite N (0 ; 1)
Variance des populations inconnues	Échantillons appariés	$T = \frac{\overline{D}}{\frac{S_D}{\sqrt{n-1}}}$ T suit la loi de Student à $n - 1$ ddl
	Échantillons indépendants de taille inférieure à 30	(Variances supposées égales) $T = \frac{\overline{X_1} - \overline{X_2}}{S\sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}$ avec $S^2 = \frac{n_1 S_1^2 + n_2 S_2^2}{n_1 + n_2 - 2}$ T suit la loi de Student à $n_1 + n_2 - 2$ ddl
	Échantillons indépendants de taille supérieure ou égale à 30	$U = \frac{\overline{X_1} - \overline{X_2}}{\sqrt{\frac{S_1^2}{n_1 - 1} + \frac{S_2^2}{n_2 - 1}}}$ U suit la loi normale centrée réduite N (0 ; 1)

Document 5b : Valeurs critiques de la distribution de la loi normale centrée réduite

	Seuil pour un test unilatéral							
	0,25	0,15	0,1	0,05	0,025	0,01	0,005	0,0005
	Seuil pour un test bilatéral							
	0,5	0,3	0,2	0,1	0,05	0,02	0,01	0,001
Z	0,6745	1,0364	1,2816	1,6449	1,9600	2,3263	2,5758	3,2906

Document 5c : Valeurs critiques de la distribution d'une loi de Student à k degrés de liberté

T est une variable aléatoire de loi de Student à *k* degrés de liberté.
Pour chaque valeur de *p*, le tableau donne la valeur de t_p telle que $P(T \leq t_p) = p$.



	0,90	0,95	0,975	0,99	0,995	0,999	0,9995
1	3,08	6,31	12,71	31,82	63,66	318,29	636,58
2	1,89	2,92	4,30	6,96	9,92	22,33	31,60
3	1,64	2,35	3,18	4,54	5,84	10,21	12,92
4	1,53	2,13	2,78	3,75	4,60	7,17	8,61
5	1,48	2,02	2,57	3,36	4,03	5,89	6,87
6	1,44	1,94	2,45	3,14	3,71	5,21	5,96
7	1,41	1,89	2,36	3,00	3,50	4,79	5,41
8	1,40	1,86	2,31	2,90	3,36	4,50	5,04
9	1,38	1,83	2,26	2,82	3,25	4,30	4,78
10	1,37	1,81	2,23	2,76	3,17	4,14	4,59
11	1,36	1,80	2,20	2,72	3,11	4,02	4,44
12	1,36	1,78	2,18	2,68	3,05	3,93	4,32
13	1,35	1,77	2,16	2,65	3,01	3,85	4,22
14	1,35	1,76	2,14	2,62	2,98	3,79	4,14
15	1,34	1,75	2,13	2,60	2,95	3,73	4,07
16	1,34	1,75	2,12	2,58	2,92	3,69	4,01
17	1,33	1,74	2,11	2,57	2,90	3,65	3,97
18	1,33	1,73	2,10	2,55	2,88	3,61	3,92
19	1,33	1,73	2,09	2,54	2,86	3,58	3,88
20	1,33	1,72	2,09	2,53	2,85	3,55	3,85
21	1,32	1,72	2,08	2,52	2,83	3,53	3,82
22	1,32	1,72	2,07	2,51	2,82	3,50	3,79
23	1,32	1,71	2,07	2,50	2,81	3,48	3,77
24	1,32	1,71	2,06	2,49	2,80	3,47	3,75
25	1,32	1,71	2,06	2,49	2,79	3,45	3,73
26	1,31	1,71	2,06	2,48	2,78	3,43	3,71
27	1,31	1,70	2,05	2,47	2,77	3,42	3,69
28	1,31	1,70	2,05	2,47	2,76	3,41	3,67
29	1,31	1,70	2,05	2,46	2,76	3,40	3,66
30	1,31	1,70	2,04	2,46	2,75	3,39	3,65
35	1,31	1,69	2,03	2,44	2,72	3,34	3,59
40	1,30	1,68	2,02	2,42	2,70	3,31	3,55
45	1,30	1,68	2,01	2,41	2,69	3,28	3,52
50	1,30	1,68	2,01	2,40	2,68	3,26	3,50
60	1,30	1,67	2,00	2,39	2,66	3,23	3,46
80	1,29	1,66	1,99	2,37	2,64	3,20	3,42
100	1,29	1,66	1,98	2,36	2,63	3,17	3,39
200	1,29	1,65	1,97	2,35	2,60	3,13	3,34
500	1,28	1,65	1,96	2,33	2,59	3,11	3,31
1 000	1,28	1,65	1,96	2,33	2,58	3,10	3,30
10 000	1,28	1,65	1,96	2,33	2,58	3,09	3,29

DOCUMENT 6

Document 6a : Caractéristiques opératoires de l'analyse réalisée en chromatographie en phase gazeuse

(Document élaboré pour les besoins de l'épreuve)

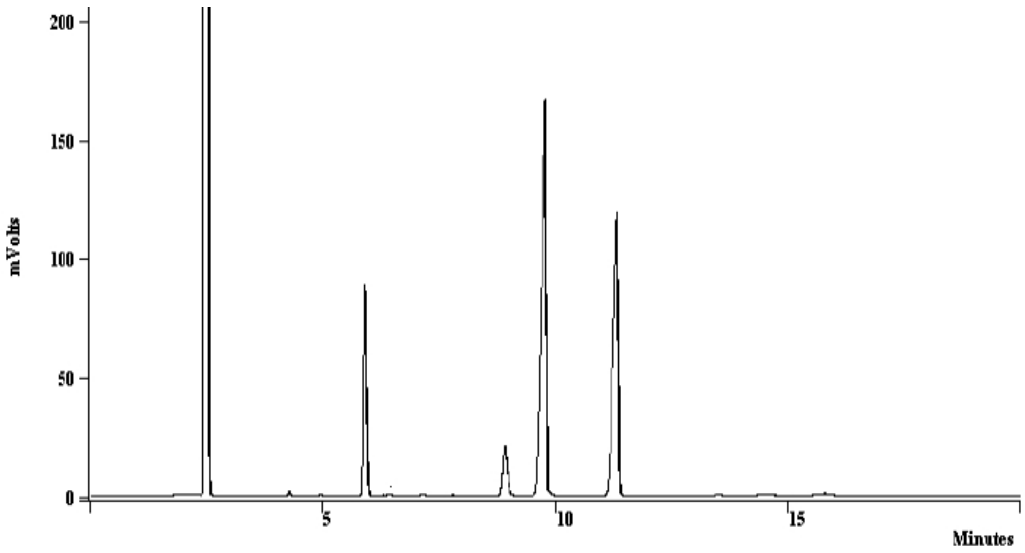
La détermination de la composition en acide gras totaux des huiles a été réalisée en préparant les esters méthyliques. Ils ont ensuite été analysés par chromatographie en phase gazeuse (CPG). Le mode d'analyse se fait en programmation de température

Détecteur	Ionisation de flamme (FID)
Type de colonne	Capillaire permabond FFAP
Longueur de la colonne	30 m
Diamètre interne	0,25 mm
Épaisseur de film	0,25 µm
Température du four	Température initiale : 120°C puis augmentation de 4°C par minute jusqu'à 200°C
Température de l'injecteur	220°C
Température du détecteur	220°C
Gaz vecteur	Hélium à 1,2 mL/min
Volume de l'injection	1 µL

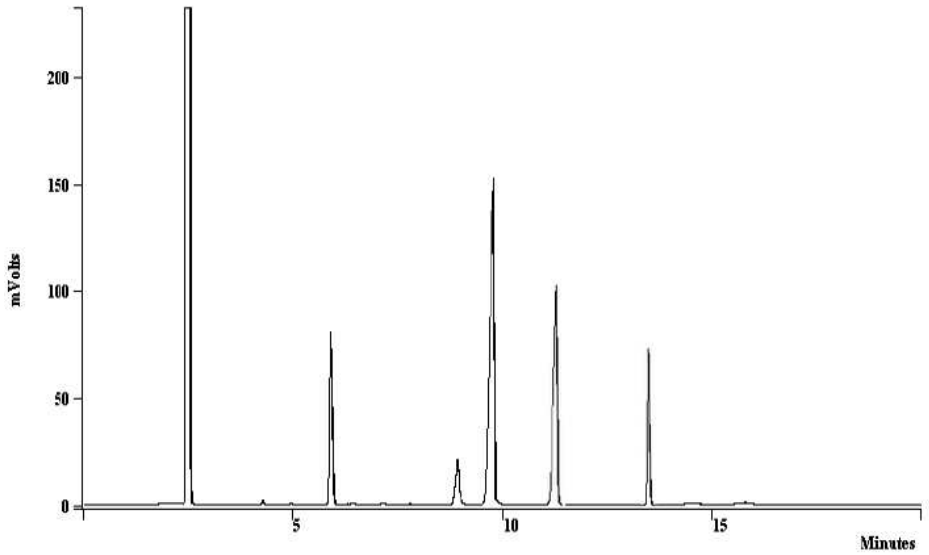
<u>Document 6b</u> : Chromatogrammes

(Obtenus selon les conditions d'analyse présentées dans le document 6a)

Temps de rétention en minutes	Acides gras		% en acides gras totaux attendu dans l'huile d'argan
4,29	C14:0	Acide myristique	11,5 à 15,0
5,89	C16:0	Acide stéarique	4,3 à 7,2
9,70	C18:1	Acide oléique	43,0 à 49,1
11,19	C18:2	Acide linoléique	29,3 à 36,0
13,40	C18:3	Acide linolénique	< 0,3
14,45	C20:0	Acide arachidique	< 0,5
15,70	C20:1	Acide gadoléique	< 0,5



<u>Figure a</u> : Profil type de l'huile d'argan



<u>Figure b</u> : Chromatogramme obtenu à partir de l'huile analysée

DOCUMENT 7

Protocole méthode ELISA compétition : QualiSpeed BOV Test

COMPOSITION DU KIT

Le kit QualiSpeed BOV Test de recherche d'adultération par du lait de vache du lait d'ânesse est composé des éléments suivants :

- 8 puits coatés avec un sérum spécifique du lait de vache (lactoglobuline)
  - 1 puits servira au témoin négatif
  - 1 puits servira au témoin positif
- 1 flacon de réactif Traceur (conjugué enzymatique lyophilisé, à reconstituer avec 1 mL d'eau distillée). Stabilité à + 4 °C jusqu'à péremption du kit (28 jours à + 4 °C après reconstitution)
- 1 flacon du réactif d'Ellman (à reconstituer avec 2 mL d'eau distillée). Stabilité à + 4 °C jusqu'à péremption du kit (4 jours à + 4 °C à l'abri de la lumière (sous emballage aluminium) après reconstitution)
- 1 flacon témoin positif (lactoglobuline bovine) : Conservation à + 4 °C
- 1 flacon témoin négatif : Conservation à + 4 °C

Remarque : tous les réactifs et les échantillons doivent être amenés à température ambiante avant la réalisation du test afin d'obtenir une lecture optimisée du résultat.

PRINCIPE

Ce test rapide ELISA est basé sur une réaction immunologique par compétition et permet de détecter qualitativement l'absence ou la présence de lait adultérant.
Les échantillons (témoin positif, témoin négatif et échantillons à tester) sont déposés dans des puits coatés aux anticorps monoclonaux, puis mis en compétition avec le conjugué « Traceur ».
En cas d'absence d'adultération dans le lait à tester, seul le conjugué est fixé au fond du puits et alors révélé par une coloration jaune lors de l'ajout du réactif d'Ellman.

I. PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

Échantillon de lait : aucun traitement de l'échantillon de lait n'est nécessaire pour réaliser le dosage.

DOCUMENT 7 (suite et fin)

II. MODE OPÉRATOIRE

- Sortir du réfrigérateur le nombre adéquat de puits (1 puits par témoin et par échantillon)
- Reconstituer les réactifs Traceur et ELLMAN
- Laver les puits 3 fois avec 300 µL d'eau distillée ou délicatement à l'aide d'une pissette.
  Bien éliminer l'eau au dernier rinçage en secouant fortement
- Déposer 1 goutte (50 µL) par puits du témoin positif, du témoin négatif et de chaque échantillon à tester (lait ou fromage)
- Déposer 2 gouttes (100 µL) du réactif Traceur dans tous les puits
- Effectuer une homogénéisation douce des puits en appliquant un mouvement circulaire de la plaque sur la paillasse
- Attendre 5 minutes au minimum. Vider le contenu des puits
- Laver les puits 3 fois avec 300 µL d'eau distillée ou délicatement à l'aide d'une pissette.
  Bien éliminer l'eau au dernier rinçage en secouant fortement
- Déposer 4 gouttes (200 µL) du réactif d'ELLMAN dans tous les puits
- Incuber à température ambiante entre 5 et 10 minutes pour les échantillons de lait
  (Un temps supérieur permet une lecture plus facile)
  Incuber à température ambiante entre 20 et 30 minutes pour les échantillons de fromage

III. LECTURE ET INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Témoin positif (présence de lait de vache) = Pas de coloration
Témoin négatif (pur lait d'ânesse) = Coloration jaune

Couleur des puits	**Adultération**
Pas de coloration	Teneur en lait de vache comprise entre 0,5 % et 100 %
Coloration jaune – Peu intense	Teneur en lait de vache comprise entre 0,2 % et 0,5 %
Coloration jaune – Intense	Teneur en lait de vache < 0,2 % (échantillon pur)

Prix : 85 € pour une barrette de 8 puits

DOCUMENT 8

Protocole Immunodiffusion radiale (Mancini)

I - PRINCIPE

L'échantillon (lait) à analyser est déposé dans des cupules creusées dans une couche de gélose contenant un antisérum spécifique du lait de vache. Au fur et à mesure de la diffusion, les constituants du lait de vache reconnus par l'antisérum sont précipités. Le diamètre de ce précipité est proportionnel à la quantité de lait de vache présent dans l'échantillon.

II - DOMAINE D'APPLICATION

La méthode s'applique au lait d'ânesse cru ou chauffé (jusqu'à + 60 °C pendant moins de 30 secondes), frais ou conservé par congélation ou addition de bichromate de potassium ou de chlorure mercurique.

III - PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

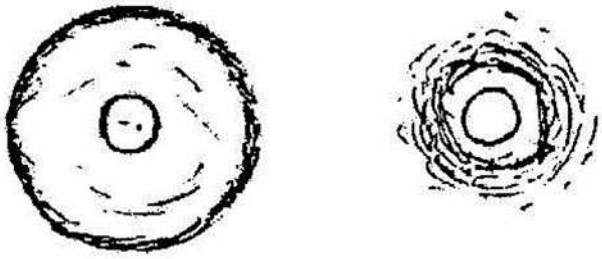
– Pour environ 5 mL de lait, ajouter deux gouttes de présure concentrée, incuber 15 minutes à + 37 °C et centrifuger 10 minutes à 3 000 tr/min (Il est préférable d'utiliser une présure d'origine animale autre que bovine).
  Il est possible de remplacer l'adjonction de présure concentrée en la remplaçant par l'ajout de 50 µL d'acide acétique glacial pour 1 mL de lait.
  On obtient 3 phases : une couche de matières grasses, une couche intermédiaire opalescente qui contient le lactosérum et le culot de caséines.

– Prélever soigneusement 0,5 mL du lactosérum en évitant d'entraîner les matières grasses et le conserver si nécessaire à + 4 °C ou au congélateur pour un stockage de plus longue durée.

Remarque : la méthode s'applique également au lait entier à condition qu'il soit très frais (absence de grumeaux pouvant obturer l'aiguille de la micro-seringue), sinon le faire centrifuger.

Il est cependant déconseillé d'utiliser du lait entier lorsque l'on veut colorer les boîtes, car le lavage est alors imparfait et une auréole colorée persiste.

Un examen attentif permet cependant de différencier cette auréole d'un précipité spécifique (contours nets).

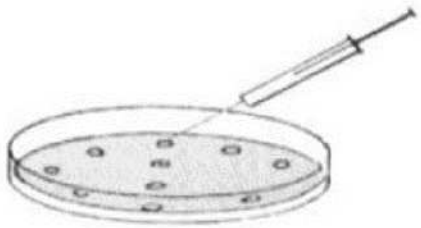


SPÉCIFIQUE NON SPÉCIFIQUE

DOCUMENT 8 (suite et fin)

IV - MODE OPÉRATOIRE

– Déposer à l'aide d'une micro seringue 10 µL de l'échantillon à analyser dans l'une des cupules d'une boite de titrage.



– Dans chaque boîte de titrage, les trois échantillons de la gamme sont déposés dans trois cupules respectives. Utiliser le 0 % de la gamme pour obtenir une autre concentration (par exemple : 5 % peut être obtenu par dilution 1/2 de l'échantillon 10 % avec l'échantillon 0 %).

– POUR UNE LECTURE PRÉCISE : incuber 24 heures dans une étuve à + 37 °C

– POUR UNE LECTURE RAPIDE : incuber 3 heures à + 45 °C
(**ATTENTION** : la relation diamètre des précipités sur la teneur en lait de vache n'étant pas linéaire à des teneurs supérieures à 10 %, ces échantillons doivent être réanalysés à + 37 °C pendant 24 heures pour obtenir un résultat précis.)

– Puis recouvrir la gélose d'acide acétique à 2 % pendant 5 minutes

– Vider l'acide acétique et rincer une fois avec de l'eau distillée

– Examiner la boîte en lumière oblique.

V - LECTURE DES RÉSULTATS

– La mesure des diamètres des précipités peut s'effectuer avec ou sans coloration, avec un double décimètre gradué au demi-millimètre ou mieux avec une loupe équipée d'un micromètre.

– En portant sur le graphique les diamètres mesurés pour la gamme-étalon, on obtient une courbe de référence. En reportant les diamètres trouvés pour chaque échantillon sur cette courbe, on détermine le pourcentage de lait de vache présent dans le lait d'ânesse.

VI - SENSIBILITÉ

La technique décrite permet de mettre en évidence 1 % de lait de vache dans le lait d'ânesse.

Il est possible d'augmenter cette sensibilité en rechargeant les cupules après 30 minutes à 1 heure de diffusion à température du laboratoire (sans couvercle) avec 10 µL d'échantillon. Recharger de même la gamme-étalon.

Prix : 58 € pour un kit de 30 boîtes de Pétri

DOCUMENT 9

Expression des résultats de numération en milieu solide

Données : $$N = \frac{\sum C}{V \times (n_1 + 0{,}1 \times n_2) \times d}$$

$\sum C$ est la somme des colonies comptées sur toutes les boîtes retenues de deux dilutions successives et dont au moins une contient au moins 10 colonies

V est le volume de l'inoculum appliqué à chaque boîte en mL

n_1 est le nombre de boîtes retenues à la première dilution

n_2 est le nombre de boîtes retenues à la deuxième dilution

d est la dilution correspondant à la première dilution retenue

DOCUMENT 10

Critères microbiologiques d'une crème cosmétique

La prise d'essai minimale est de 1g.

Spécifications quantitatives		**Références normes ISO**
Nombre total de microorganismes aérobies mésophiles revivifiables (UFC/g).	Catégorie du produit : $<10^3$ UFC / g	ISO 21149
Spécifications qualitatives		
Pseudomonas aeruginosa	Non détectable dans un échantillon de produit de 1 g.	ISO 22717
Staphylococcus coagulase +	Non détectable dans un échantillon de produit de 1 g.	ISO 22718
Candida albicans	Non détectable dans un échantillon de produit de 1 g.	ISO 18416
Escherichia coli	Non détectable dans un échantillon de produit de 1 g.	ISO 21150

DOCUMENT 11

Protocole Challenge test

Afin de mesurer l'effet du conservateur, une masse déterminée de crème est contaminée par un millilitre de suspension bactérienne à $2{,}5.10^9$ bactéries/mL. L'évolution de la concentration de bactéries viables résiduelles au cours du temps est suivie. On considère que le conservateur est efficace s'il y a une réduction de la concentration bactérienne d'un facteur 100 en 48 heures, d'un facteur 1000 en 7 jours et pas d'augmentation de la concentration entre 7 et 28 jours.

1) Préparation de l'inoculum.

5 mL de culture de *Staphylococcus aureus* en bouillon trypticase soja contenant $5{,}0.10^8$ bactéries/mL sont centrifugés. Le culot récupéré est mis en suspension en diluant stérile. Cette suspension S1 est à nouveau centrifugée, le culot alors récupéré est dispersé dans 1 mL de diluant. Cette suspension finale est appelée S2.

2) Contamination de la crème.

La totalité de la suspension S2 est mélangée au contenu d'un pot de 50 g de la crème.

3) Prélèvements du cosmétique.

Les prélèvements de la crème pour le dénombrement des micro-organismes sont effectués après différents temps d'action des conservateurs :

t = 0 heure, t = 48 heures, t = 7 jours, t = 14 jours, t = 28 jours.

4) Dénombrement des *Staphylococcus aureus*

Le dénombrement des microorganismes est réalisé par ensemencement de géloses Baird Parker incubées 48 heures à 37°C.

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.