

LES SOUCHES MICROBIENNES *d'intérêt* pour le challenge-test



Antoine NOURY
Laura BOULANDE

anoury@cosmepar.fr
lboulande@cosmepar.fr



LE CONTEXTE

réglementaire



I – Contexte réglementaire du Challenge test

La réglementation sur les produits cosmétiques est issue du **Règlement (CE) n° 1223/2009**

22.12.2009

FR

Journal officiel de l'Union européenne

L 342/79

ANNEXE I

RAPPORT SUR LA SÉCURITÉ DU PRODUIT COSMÉTIQUE

3. Qualité microbiologique

Spécifications microbiologiques de la substance ou du mélange et du produit cosmétique. Une attention particulière est accordée aux produits cosmétiques utilisés sur le contour des yeux, sur les muqueuses en général, sur une peau lésée, chez les enfants de moins de trois ans, chez les personnes âgées et chez les personnes au système immunitaire fragilisé.

Résultats du challenge test pour la conservation.





CHALLENGE TEST

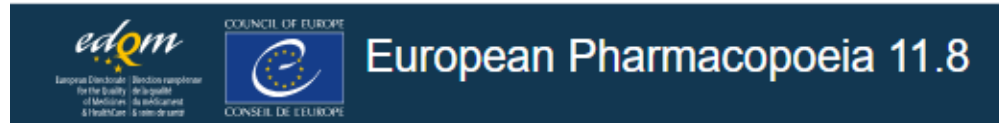
les référentiels





III – Challenge test – Les référentiels

Cosmétiques — Microbiologie — Évaluation de la protection antimicrobienne d'un produit cosmétique (ISO 11930:2019)

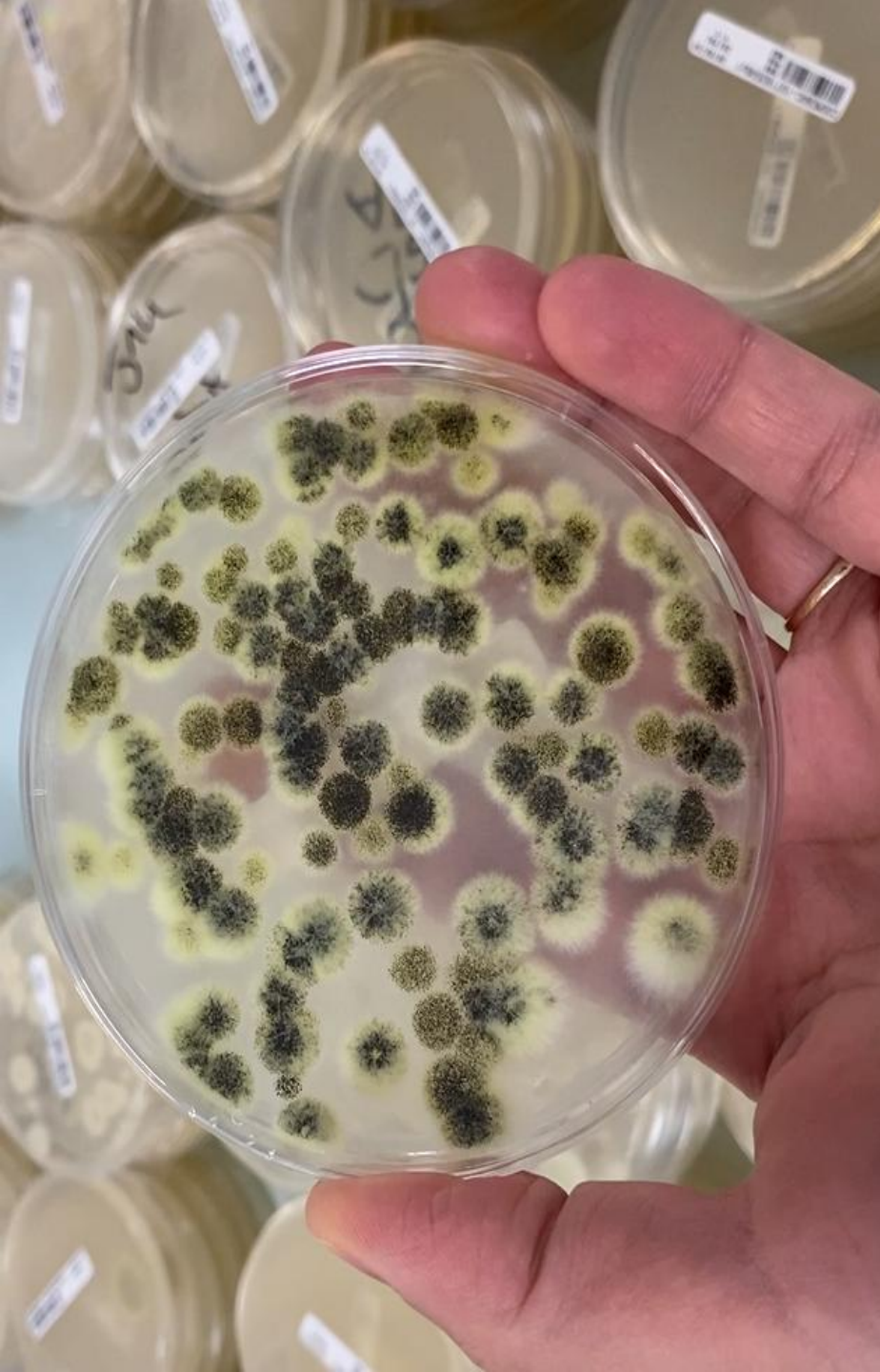


USP–NF/PF

5.3 Souches microbiennes

L'essai doit être conduit en utilisant les souches suivantes comme micro-organismes d'essai²⁾:

- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC®9027™³⁾ (souche équivalente: CIP®82.118™⁴⁾ ou NCIMB®8626™⁵⁾ ou NBRC®13275™⁶⁾ ou KCTC®2513™⁷⁾ ou toute autre souche équivalente issue d'une collection nationale);
- *Staphylococcus aureus* ATCC®6538™ (souche équivalente: CIP®4.83™ ou NCIMB®9518™ ou NBRC®13276™ ou KCTC®3881™ ou NCTC®10788™⁸⁾ ou toute autre souche équivalente issue d'une collection nationale);
- *Escherichia coli* ATCC®8739™ (souche équivalente: CIP®53.126™ ou NCIMB®8545™ ou NBRC®3972™ ou KCTC®2571™ ou NCTC®12923™ ou toute autre souche équivalente issue d'une collection nationale);
- *Candida albicans* ATCC®10231™ (souche équivalente: IP 48.72™⁹⁾ ou NCPF® 3179™¹⁰⁾ ou NBRC®1594™ ou KCTC®7965™ ou toute autre souche équivalente issue d'une collection nationale);
- *Aspergillus brasiliensis* ATCC®16404™ (souche équivalente: IP 1431 ou IMI®149007™¹¹⁾ ou NBRC®9455™ ou KCTC®6196™ ou toute autre souche équivalente issue d'une collection nationale).



Le club

DES CINQ



II – Le club des 5



WANTED
Le fléau doré



Staphylococcus aureus

WANTED
Le hors la loi des eaux



Pseudomonas aeruginosa

WANTED
Le gringo fécal



Escherichia coli

WANTED
La gâchette blanche



Candida albicans

WANTED
Le cavalier noir



Aspergillus brasiliensis

II – Le club des 5



- On ne teste **pas** ces cinq germes **par hasard**
- On teste les **agents pathogènes**
- Choisis par les autorités sanitaires et les comités de normalisation selon **trois raisons principales**





1

La représentativité du spectre biologique

- Prouver que votre système conservateur est capable de tuer une large variété de contaminants potentiels.
- Couvrent quatre grandes familles microbiennes :
 - Bactéries à Gram positif (*S. aureus*)
 - Bactéries à Gram négatif (*P. aeruginosa*, *E. coli*)
 - Levures (*C. albicans*)
 - Moisissures (*A. brasiliensis*)
- L'idée : si votre conservateur fonctionne sur ces représentants "types", on extrapole qu'il sera efficace sur les autres germes de la même famille.



2

Leurs origines et caractéristiques spécifiques

→ Chaque microorganisme joue un rôle précis :

« challenger » le système conservateur sur un point faible potentiel



3

Le matériel biologique de référence

- Défini dans les **textes de références**
- On utilise des souches de collection issues de différentes « **bibliothèques** »
- Ce sont des **clones génétiques identiques** utilisés partout dans le monde.
Standardisation du « consommable vivant »

II – Le club des 5



Les bactéries – microorganismes à croissance rapide

II – Le club des 5



Staphylococcus aureus :

Bactérie représentant la famille de coques à coloration de Gram positive (paroi plus épaisse)

Pourquoi on la teste :

Elle représente le risque de contamination par l'utilisateur (contamination manuportée).

Plus de 40 % de porteurs sains dans le monde. Germe pouvant survivre longtemps sur des surfaces inertes.

Expérience Cosmebac :

Emulsion inverse (produits solaires) / eau démaquillante

II – Le club des 5



Pseudomonas aeruginosa ou plutôt *Pseudomonas paraeruginosa* :

Bactérie représentant la famille de bacilles à coloration de Gram négative (paroi moins épaisse).

Pourquoi on la teste :

C'est une bactérie d'origine hydrique (l'eau est l'ingrédient principal de la plupart des cosmétiques).

Naturellement très résistante à de nombreux conservateurs, capable de développer des biofilms et de s'adapter à des milieux pauvres.

Elle est capable d'adapter son métabolisme pour se faire passer pour morte et revenir à la charge plusieurs jours/semaines plus tard.

Expérience Cosmebac :

moussants (shampooing/gel douche) + altération produit

II – Le club des 5



Escherichia coli :

Bactérie représentant la famille de bacilles à coloration de Gram négative (paroi moins épaisse).

Pourquoi on la teste :

Elle représente une contamination liée à un manque d'hygiène (process de fabrication, matières premières brutes telluriques et usage produit).

C'est un standard de la famille des Entérobactéries et la reine des pathogènes en industrie agroalimentaire.

Expérience Cosmebac :

- Très peu faiblesses observées en challenge test
- Pas un « vrai » pathogène en cosmétique

II – Le club des 5



Les champignons – croissance plus lente

II – Le club des 5



Candida albicans (Levure)

Pourquoi on la teste :

Elle est unicellulaire et représente la contamination fongique liée à l'humain (présence au niveau des muqueuses).

Elle teste la capacité du conservateur à agir sur les cellules eucaryotes (plus proches des cellules humaines, donc plus difficiles à cibler sans être toxique).

Expérience Cosmebac :

Altération produits et événements industriels 2025 pour *Candida parapsilosis*, *Candida lusitana*...

II – Le club des 5



Aspergillus brasiliensis anciennement *Aspergillus niger* (moisissure)

Pourquoi on la teste :

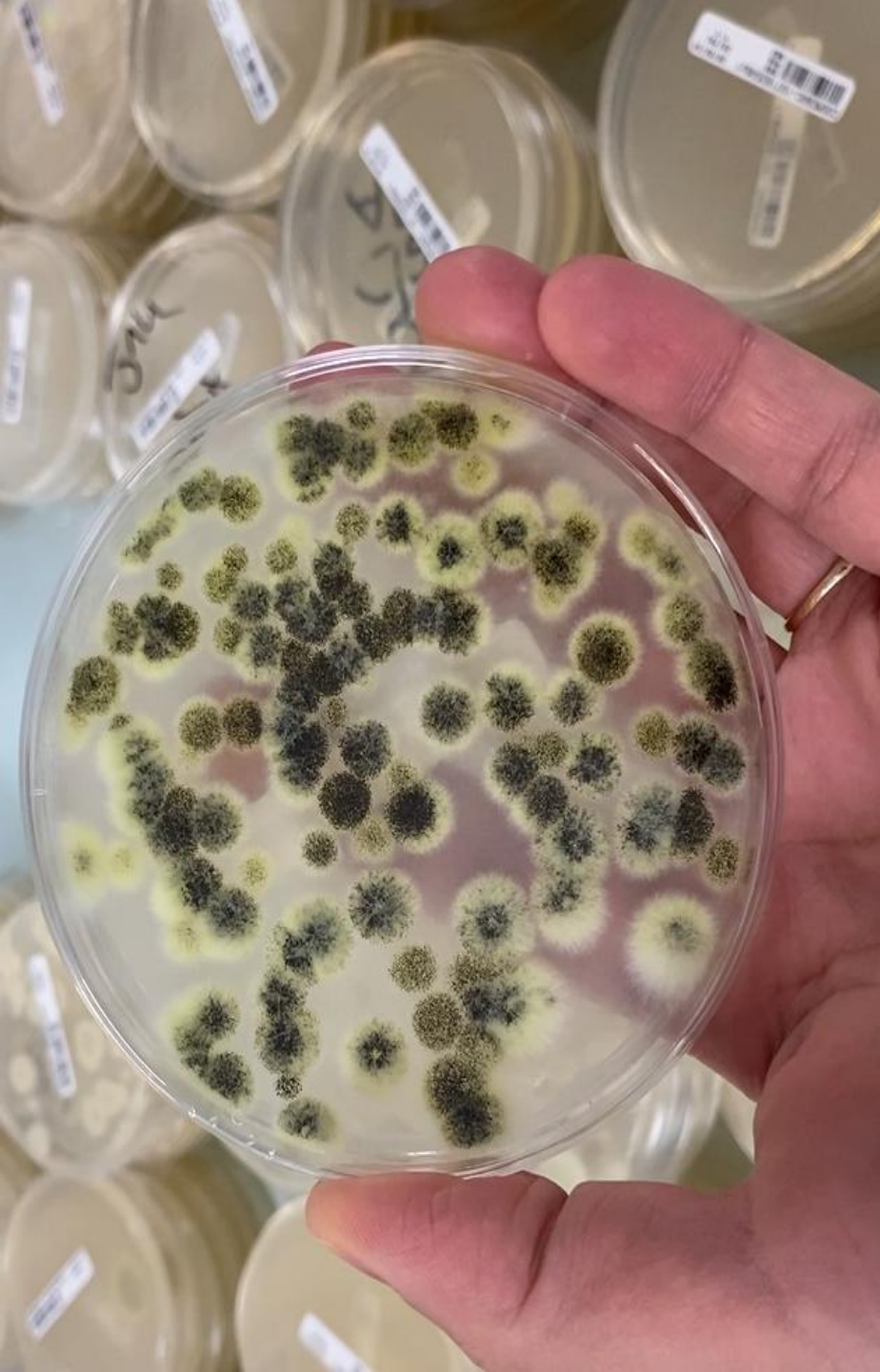
Contaminant environnemental par excellence (spores dans l'air).

Souche qui produit des spores (formes de résistance extrêmement difficiles à détruire).

C'est le test ultime de "durabilité".

Expérience Cosmebac :

Reliquat habituel sur les CT jusqu'à 28 jours + altération produit



STANDARDISATION

robustesse

la norme NF EN 12353



IV – Standardisation / robustesse – norme NF EN 12353



En théorie

Centres de collection = mêmes souches travaillées dans tous les laboratoires



En pratique

Matériel biologique = organismes vivants = comportements variables



Standardisation des pratiques

= **Stabiliser** le matériel biologique

= Garantir la **robustesse** et la **comparabilité** des résultats sur le long terme

INTRODUCTION À

la norme

NF EN 12353:2021



La norme NF EN 12353:2021



Description :

Concerne les conditions de conservation des micro-organismes d'essai utilisés pour la détermination des activités bactéricides et fongicides.



Objectif :

Définir les pratiques microbiologiques pour la conservation et l'entretien des micro-organismes afin de garantir le maintien de leurs caractéristiques biologiques.



Application :

Destinée aux laboratoires, fabricants et organismes de contrôle qualité sur le périmètre microbiologique.



NF EN 12353:2021

principes et exigences





Méthode de conservation et critères de qualité

1

Principe

Cryoconservation des micro-organismes à partir d'un lyophilisa issu d'un centre de collection.





Méthode de conservation et critères de qualité

1

Principe

Cryoconservation des micro-organismes à partir d'un lyophilisat issu d'un centre de collection.

2

Exigences

Traçabilité, documentation et contrôles réguliers des souches pour éviter les dérives ou contamination.





Méthode de conservation et critères de qualité

1

Principe

Cryoconservation des micro-organismes à partir d'un lyophilisat issu d'un centre de collection.

2

Exigences

Traçabilité, documentation et contrôles réguliers des souches pour éviter les dérives ou contamination.

3

Impact

Assure l'harmonisation et la fiabilité des tests d'efficacité contribuant à la validation des produits cosmétiques et implicitement à la sécurité sanitaire publique.





GESTION DES SOUCHES

les étapes clés



Les étapes clés



1 Sélection des souches de référence

2 Préparation du stock à -70°C

3 Constitution du stock à 4°C

4 Préparation des cultures de travail



Les étapes clés



1 Sélection des souches de référence

→ Choisir des souches conformes aux normes internationales pour assurer la pertinence des tests microbiologiques.

ex: *Staphylococcus aureus* ATCC6538 ou CIP4,83 ou autre équivalence

2 Préparation du stock à -70°C

3 Constitution du stock à 4°C

4 Préparation des cultures de travail



Les étapes clés



1 Sélection des souches de référence

→ Choisir des souches conformes aux normes internationales pour assurer la pertinence des tests microbiologiques.

ex: *Staphylococcus aureus* ATCC6538 ou CIP4,83 ou autre équivalence

2 Préparation du stock à -70°C

→ Préparer une suspension d'un micro-organisme à l'aide d'un milieu cryoprotecteur puis la répartir en cryotubes et cryobilles pour le maintien en congélation.

3 Constitution du stock à 4°C

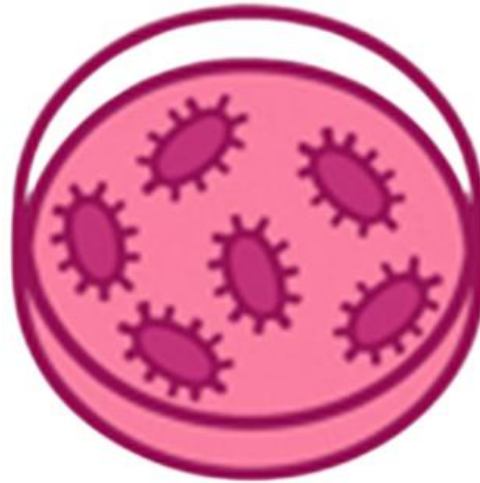
4 Préparation des cultures de travail



Préparation du stock à -70°C



Matériel microbien « pur » :



Boite de Petri
avec bactéries



Préparation du stock à -70°C



Inondation :



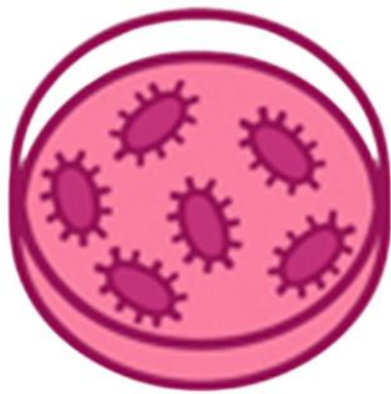
Boite de Petri
avec bactéries



Préparation du stock à -70°C



Répartition de la suspension en cryotubes et cryobilles :



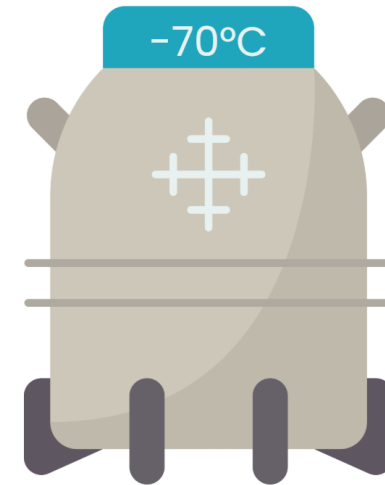
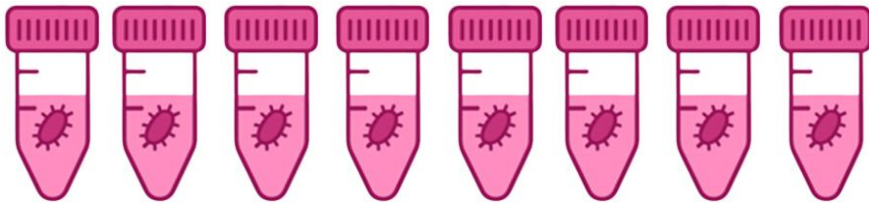
Boîte de Petri
avec bactéries





Préparation du stock à -70°C

Mise en souchier :



Sélection et préparation des souches



1 Sélection des souches de référence

- Choisir des souches conformes aux normes européennes pour assurer la pertinence des tests microbiologiques.
ex: *Staphylococcus aureus* ATCC6538 ou CIP4,83 ou autre équivalence

2 Préparation du stock à -70°C

- Préparer une suspension homogène d'un micro-organisme à l'aide d'un milieu cryoprotecteur puis la répartir en cryotubes et cryobilles pour le maintien en congélation.

3 Constitution du stock à 4°C

- Préparer des cultures de travail mères à partir des cryotubes ou cryobilles issus du stock à -70°C.

4 Préparation des cultures de travail

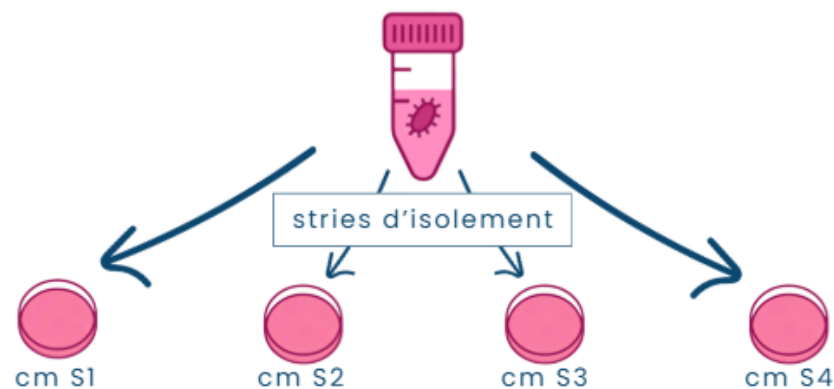


Sélection et préparation des souches



SEMAINE 0

mercredi



jeudi



Cryotube



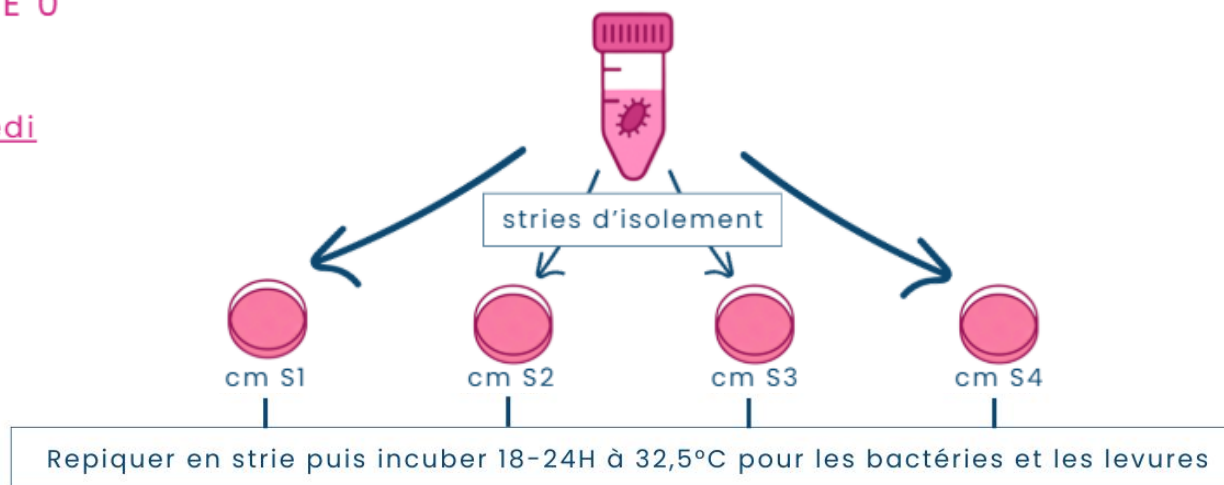
Culture mère Semaine X

Sélection et préparation des souches



SEMAINE 0

mercredi



jeudi



Cryotube



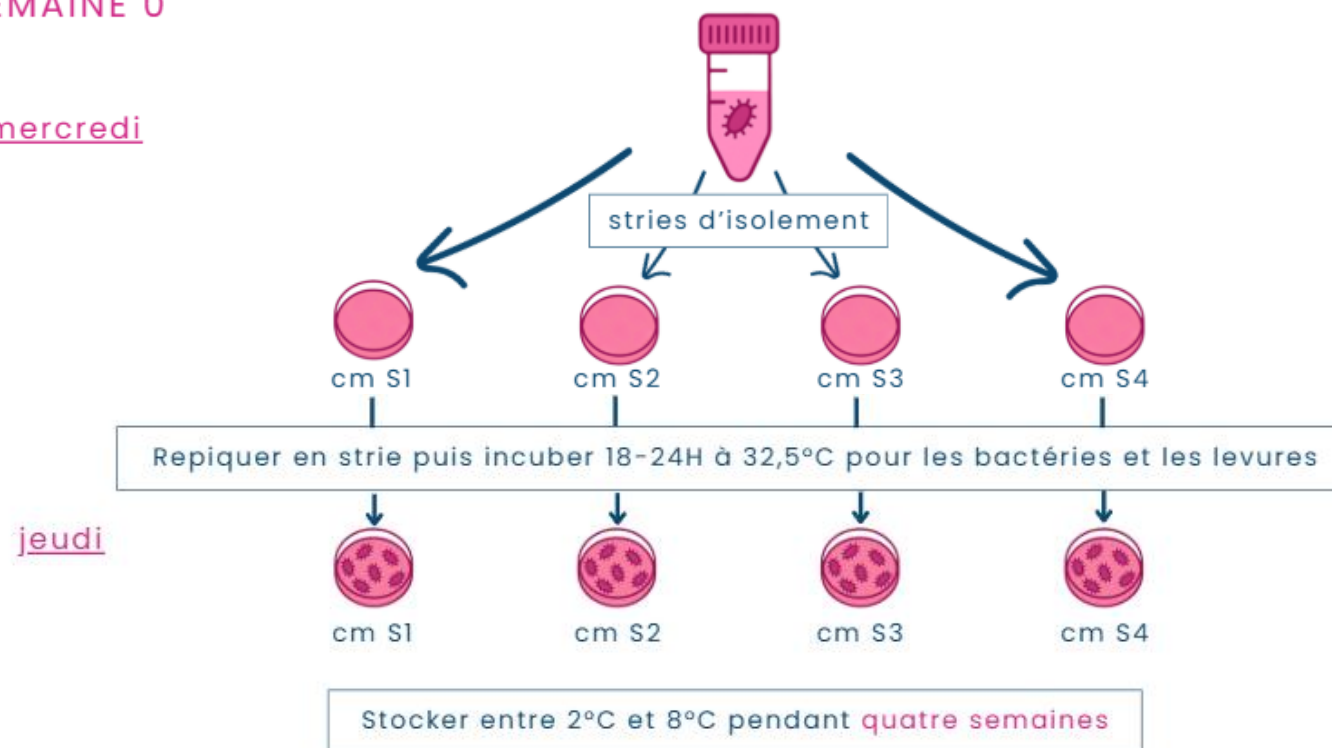
Culture mère Semaine X

Sélection et préparation des souches



SEMAINE 0

mercredi



jeudi



Cryotube



Culture mère Semaine X

Sélection et préparation des souches



1 Sélection des souches de référence

- Choisir des souches conformes aux normes européennes pour assurer la pertinence des tests microbiologiques.
ex: *Staphylococcus aureus* ATCC6538 ou CIP4,83 ou autre équivalence

2 Préparation du stock à -70°C

- Préparer une suspension homogène d'un micro-organisme à l'aide d'un milieu cryoprotecteur puis la répartir en cryotubes et cryobilles pour le maintien en congélation.

3 Constitution du stock à 4°C

- Préparer des cultures de travail mères à partir des cryotubes ou cryobilles issus du stock à -70°C.

4 Préparation des cultures de travail



Sélection et préparation des souches



1 Sélection des souches de référence

- Choisir des souches conformes aux normes européennes pour assurer la pertinence des tests microbiologiques.
ex: *Staphylococcus aureus* ATCC6538 ou CIP4,83 ou autre équivalence

2 Préparation du stock à -70°C

- Préparer une suspension homogène d'un micro-organisme à l'aide d'un milieu cryoprotecteur puis la répartir en cryotubes et cryobilles pour le maintien en congélation.

3 Constitution du stock à 4°C

- Préparer des cultures de travail mères à partir des cryotubes ou cryobilles issus du stock à -70°C.

4 Préparation des cultures de travail

- Préparer des cultures de travail filles à partir des cultures mères.

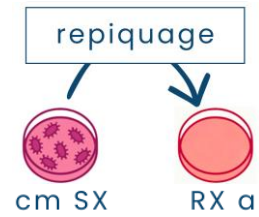


Sélection et préparation des souches



SEMAINE 1 À 4

lundi



mardi

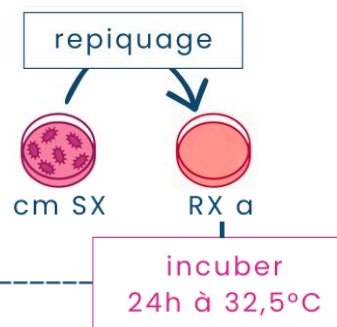
mercredi

Sélection et préparation des souches



SEMAINE 1 À 4

lundi



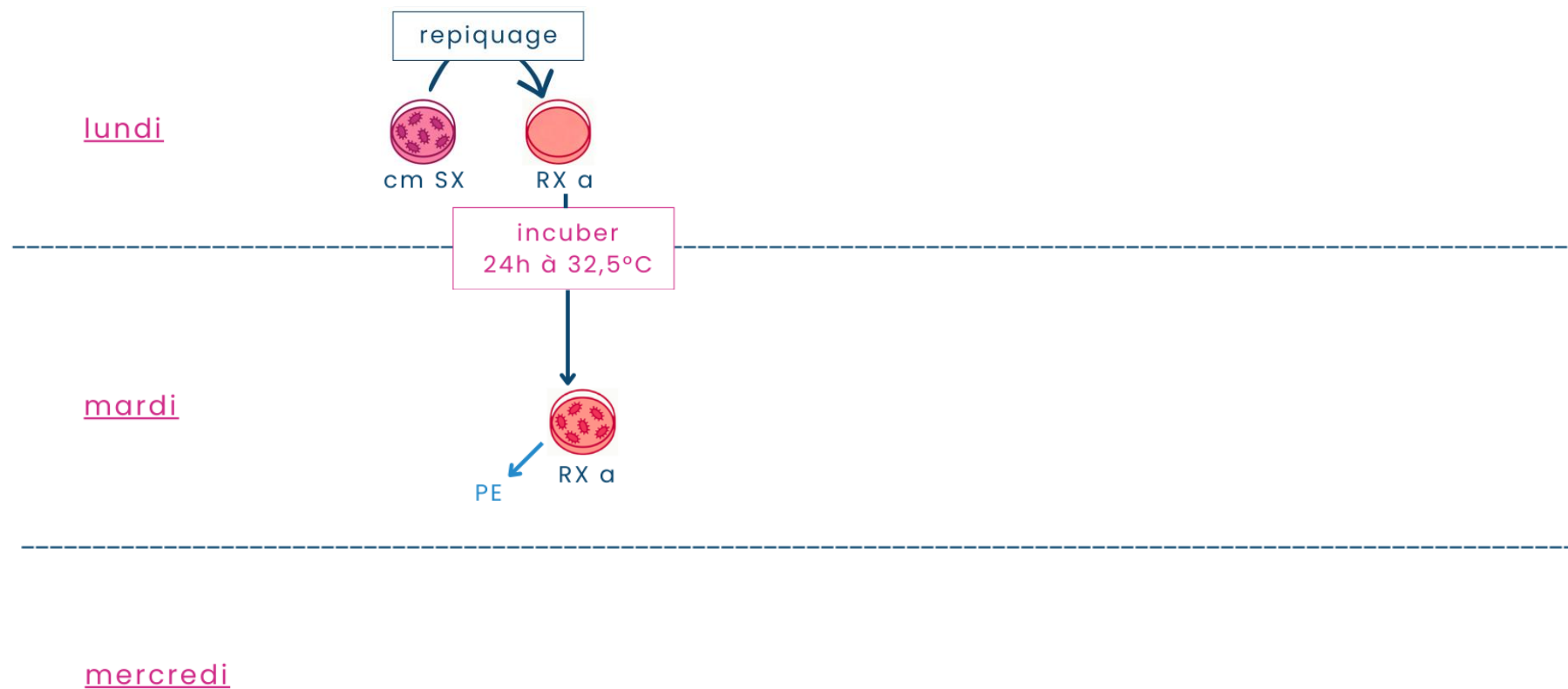
mardi

mercredi

Sélection et préparation des souches



SEMAINE 1 À 4

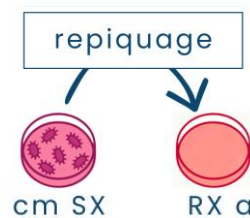


Sélection et préparation des souches



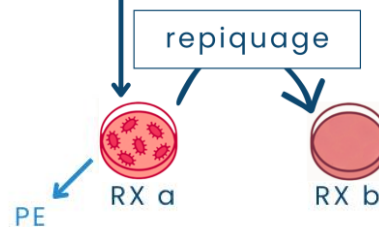
SEMAINE 1 À 4

lundi



incuber
24h à 32,5°C

mardi

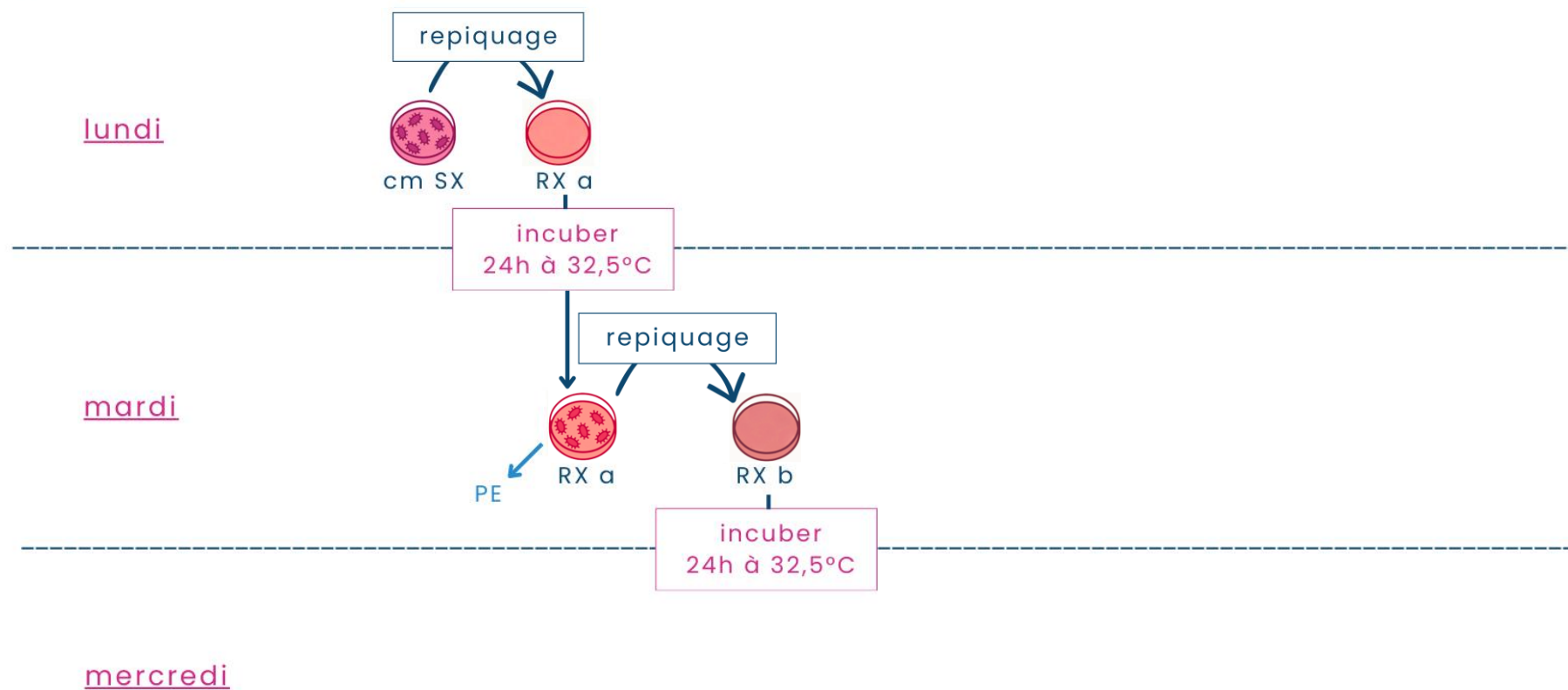


mercredi

Sélection et préparation des souches



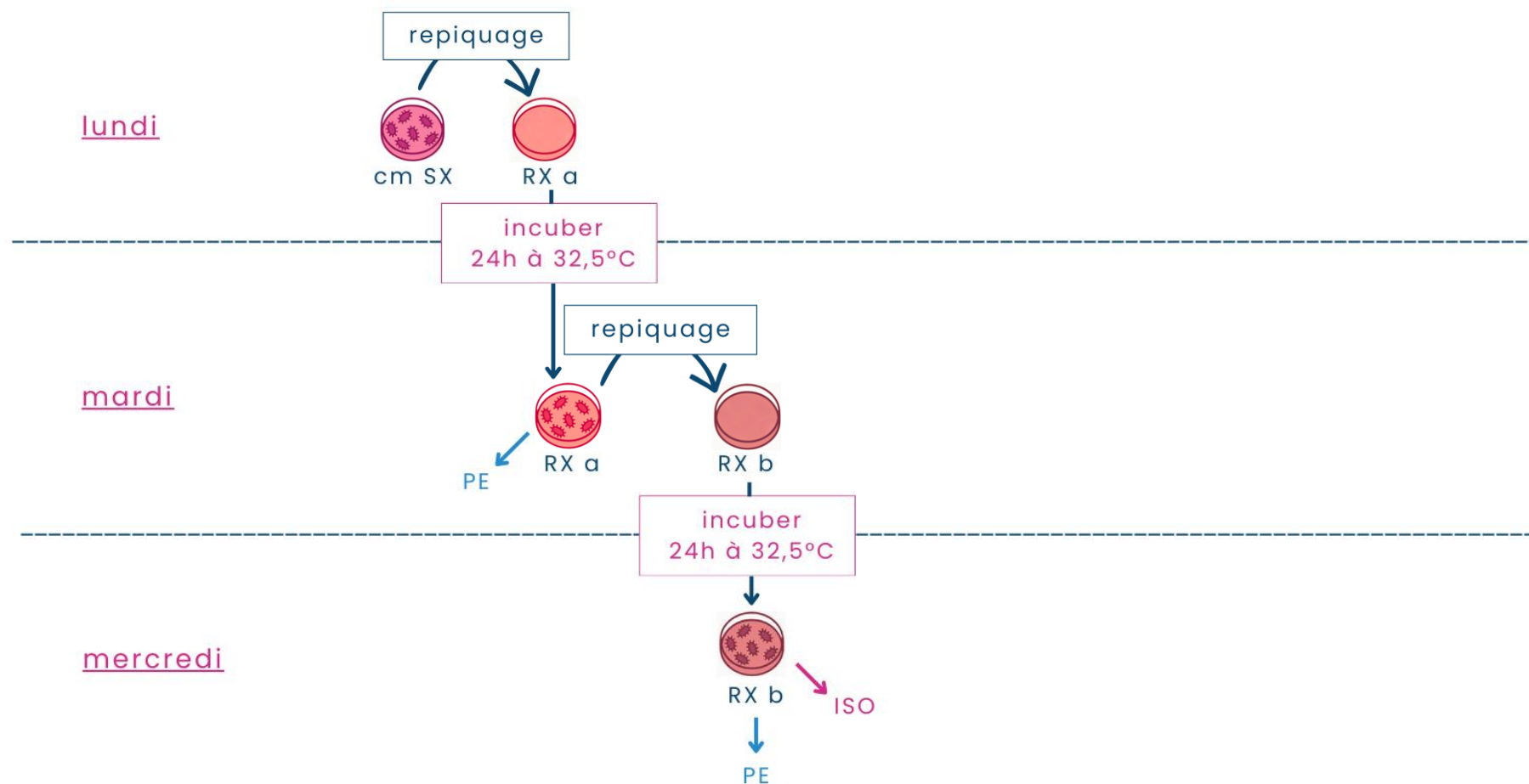
SEMAINE 1 À 4

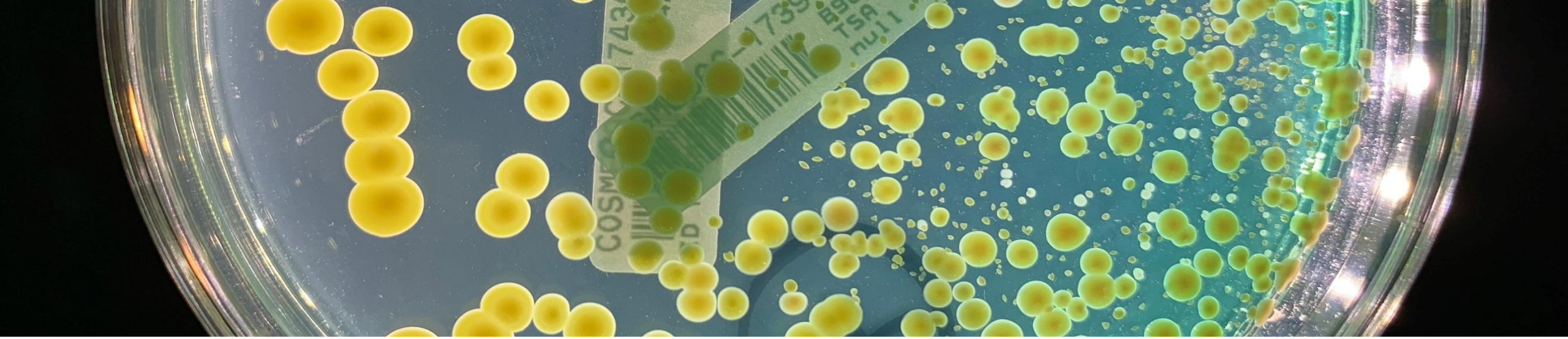


Sélection et préparation des souches



SEMAINE 1 À 4





SENSIBILITÉ DES SOUCHES

les facteurs



Paramètres critiques et risques associés

Perte de viabilité :

difficulté ou absence de croissance du germe sur le milieu gélosé.

Evolution de la sensibilité :

Modification des caractéristiques biologiques créant des fluctuations de comportement.

Perte de viabilité !

Evolution de la sensibilité !



Paramètres critiques et risques associés



Températures
non maîtrisées



Perte de
viabilité !

Evolution de
la sensibilité !



Paramètres critiques et risques associés



Températures
non maîtrisées



Perte de
viabilité !

Evolution de
la sensibilité !



Milieu non
adapté ...





Paramètres critiques et risques associés

Températures
non maîtrisées



Repiquage en
trop grand
nombre



Perte de
viabilité !

Evolution de
la sensibilité !



Milieu non
adapté ...





Paramètres critiques et risques associés

Températures
non maîtrisées



Repiquages
par
inondation
VS
strie



Repiquage en
trop grand
nombre



Perte de
viabilité !

Evolution de
la sensibilité !



Milieu non
adapté ...





Paramètres critiques et risques associés

Températures
non maîtrisées



Repiquages
par
inondation
VS
strie



Repiquage en
trop grand
nombre



Perte de
viabilité !

Evolution de
la sensibilité !



Culture des
moisissures en
boîte de Petri
VS
fiolle de roux



Milieu non
adapté ...



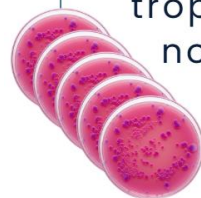
Paramètres critiques et risques associés



Températures
non maîtrisées



Repiquage en
trop grand
nombre



Perte de
viabilité !

Evolution de
la sensibilité !



Culture des
moisissures en
boîte de Petri
VS
fiolle de roux



Milieu non
adapté ...



Repiquages
par
inondation
VS
strie



Utilisation de
râteaux
VS
billes de verre





Paramètres critiques et risques associés

Températures
non maîtrisées



Repiquage en
trop grand
nombre



Culture des
moisissures en
boîte de Petri
VS
fiOLE de roux



Perte de
viabilité !

Evolution de
la sensibilité !



Repiquages
par
inondation
VS
strie



Milieu non
adapté ...



Utilisation de
râteaux
VS
billes de verre



Dépassement
de **durées de**
conservation
en stock -70°C
et 4°C

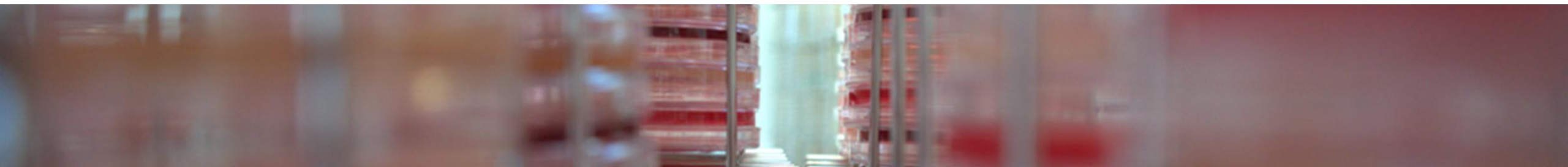


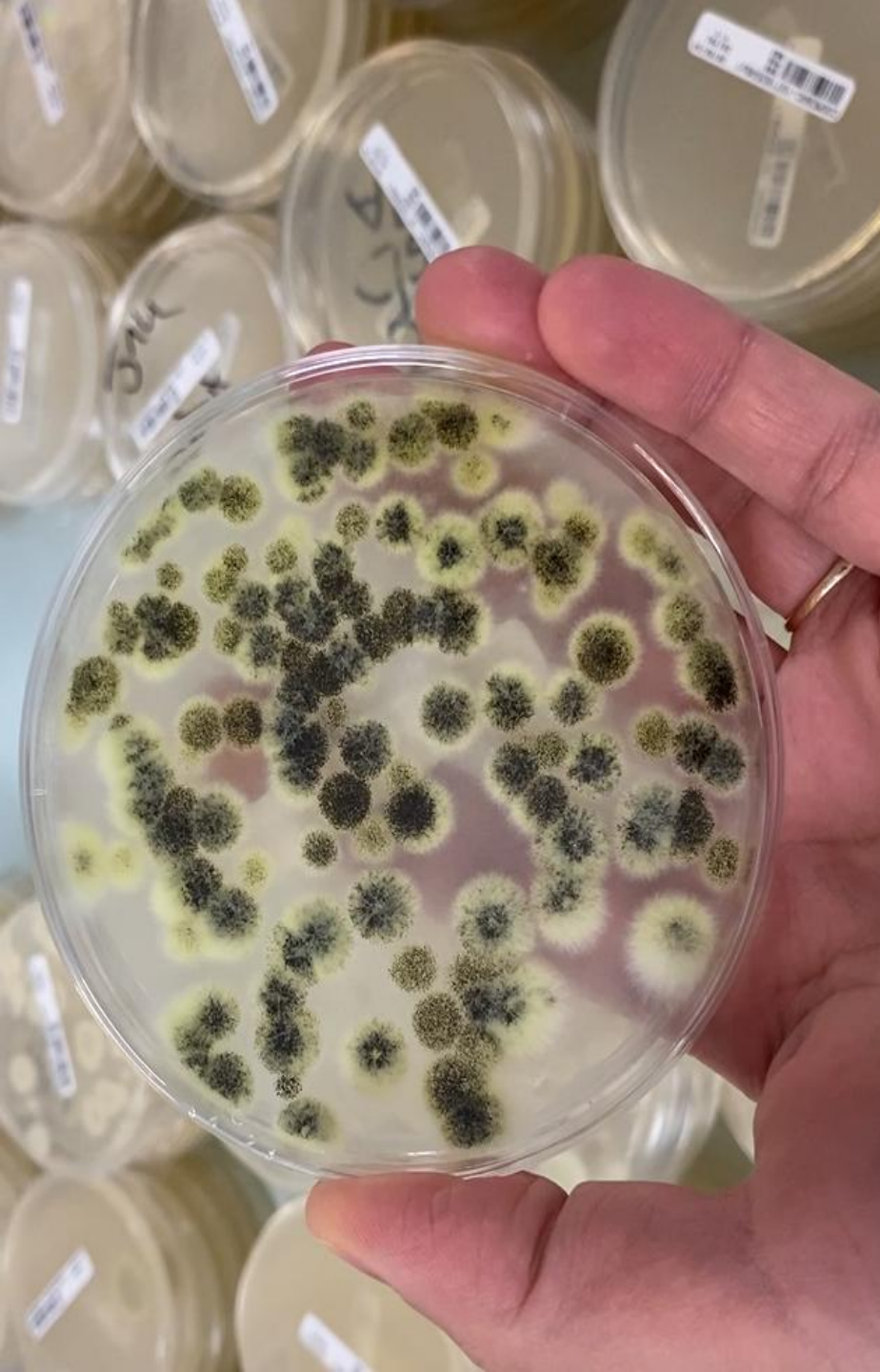
Conclusion



La gestion rigoureuse des souches est essentielle pour garantir la **fiabilité** des tests microbiologiques. Les étapes clés (sélection, conservation, contrôle) et la **maîtrise des facteurs d'impact** (température, milieu, repiquages) assurent la représentativité et la **stabilité** des micro-organismes.

Ces pratiques assurent la **qualité** des tests microbiologiques, la **sécurité sanitaire** et une **harmonisation** des méthodes.





LIMITES DES

souches de référence



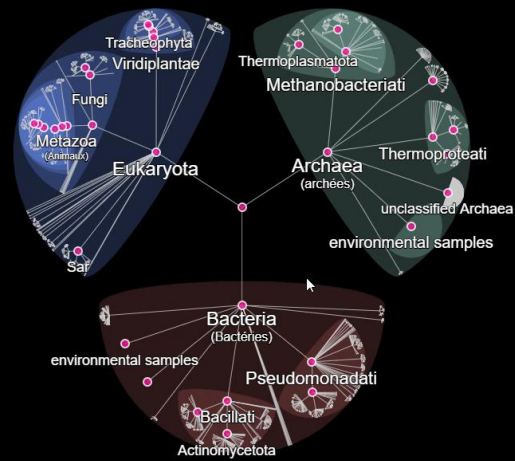
V – Limites des standards



Stéréotypes microbiens → souches cosmétiques non représentées
(*Pluralibacter*, *Burkholderia*, *Bacillus* ...)

→ La diversité microbienne !

V – Limites des standards



V – Limites des standards



Stéréotypes microbiens → souches cosmétiques non représentées (*Pluralibacter*, *Burkholderia*, *Bacillus* ...). La diversité microbienne !

Souches de collection → caractéristiques éloignées de la réalité (CT critère A mais défaillance sur le CQ).

V – Limites des standards



● Stéréotypes microbiens → souches cosmétiques non représentées (*Pluralibacter*, *Burkholderia*, *Bacillus* ...). La diversité microbienne !

● Souches de collection → caractéristiques éloignées de la réalité (CT critère A mais défaillance sur le CQ).

● Etat physiologique toujours le même sans tenir compte de possibles évolutions biologiques (adaptation vis-à-vis des nouvelles molécules antimicrobiennes / phénomènes de rebonds).



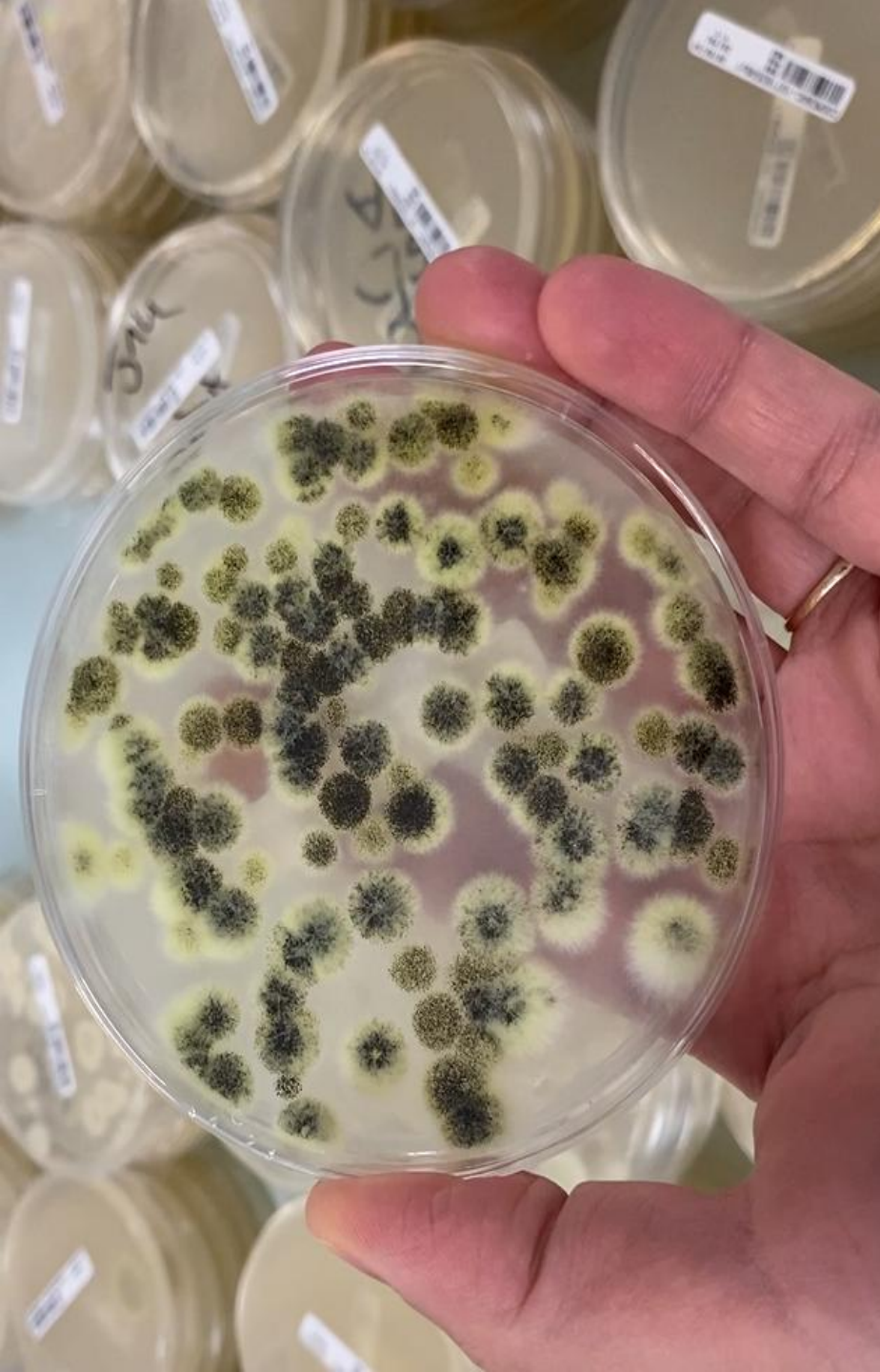
V – Limites des standards

● Stéréotypes microbiens → souches cosmétiques non représentées (*Pluralibacter*, *Burkholderia*, *Bacillus* ...). La diversité microbienne !

● Souches de collection → caractéristiques éloignées de la réalité (CT critère A mais défaillance sur le CQ).

● Etat physiologique toujours le même sans tenir compte de possibles évolutions biologiques (adaptation vis-à-vis des nouvelles molécules antimicrobiennes / phénomènes de rebonds).

● Quelles possibilités s'offrent à nous ?



CHALLENGE TEST

version 2.0

autres souches

VI – Les challenge test version 2.0 – Autres souches



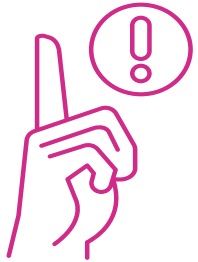
Dans quel but ?

Être au plus près des conditions réelles observées dans vos environnements industriels

Mettre en évidence des comportements atypiques de souches microbiennes



VI – Les challenge test version 2.0 – Autres souches



Que disent les référentiels ?



VI – Les challenge test version 2.0 – Autres souches

Norme NF EN ISO 11930

5.3 Souches microbiennes

L'essai doit être conduit en utilisant les souches suivantes comme micro-organismes d'essai²⁾:

- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC®9027™³⁾ (souche équivalente: CIP®82.118™⁴⁾ ou NCIMB®8626™⁵⁾ ou NBRC®13275™⁶⁾ ou KCTC®2513™⁷⁾ ou toute autre souche équivalente issue d'une collection nationale);
- *Staphylococcus aureus* ATCC®6538™ (souche équivalente: CIP®4.83™ ou NCIMB®9518™ ou NBRC®13276™ ou KCTC®3881™ ou NCTC®10788™⁸⁾ ou toute autre souche équivalente issue d'une collection nationale);
- *Escherichia coli* ATCC®8739™ (souche équivalente: CIP®53.126™ ou NCIMB®8545™ ou NBRC®3972™ ou KCTC®2571™ ou NCTC®12923™ ou toute autre souche équivalente issue d'une collection nationale);
- *Candida albicans* ATCC®10231™ (souche équivalente: IP 48.72™⁹⁾ ou NCPF® 3179™¹⁰⁾ ou NBRC®1594™ ou KCTC®7965™ ou toute autre souche équivalente issue d'une collection nationale);
- *Aspergillus brasiliensis* ATCC®16404™ (souche équivalente: IP 1431 ou IMI®149007™¹¹⁾ ou NBRC®9455™ ou KCTC®6196™ ou toute autre souche équivalente issue d'une collection nationale).

La culture peut être acquise congelée, lyophilisée, sur pentes ou en formats prêts à l'emploi et il convient de la préparer conformément aux modes opératoires fournis par le fournisseur de la souche de référence. Il est recommandé de conserver les souches au laboratoire conformément à l'EN 12353 ou selon une autre méthode appropriée.



VI – Les challenge test version 2.0 – Autres souches

Pharmacopée Européenne

Single-strain challenges are used and the designated micro-organisms are supplemented, where appropriate, by other strains or species that may represent likely contaminants to the preparation. It is recommended, for example, that *Escherichia coli* (ATCC 8739; NCIMB 8545; CIP 53.128) is used for all oral preparations and *Zygosaccharomyces rouxii* (NCYC 381 IP 2021.92) for oral preparations containing a high concentration of sugar.



VI – Les challenge test version 2.0 – Autres souches

Pharmacopée Américaine

Challenge organisms are generally based on likely contaminants to a drug product while considering its physical attributes, formulation, and intended use. The standard battery of challenge organisms described in this test need not prevent the inclusion of other species of microorganisms if deemed useful to measure the biological activity of the preservative system for a specific product. These supplemental challenge organisms are not within the scope of this chapter, but may be added in addition to the described test organisms.



VI – Les challenge test version 2.0 – Autres souches

Guideline PCPC (Personal Care Products Council) :

Fédération des industries cosmétiques américaine

L'équivalent du COLIPA en Europe et de la FEBEA en France.

Table 20-1

SUGGESTED CHALLENGE MICROORGANISMS		
Type	Microorganism (ATCC5 Number)	Recommendation
Gram-Positive Cocci	<i>Staphylococcus aureus</i> (6538)* <i>Staphylococcus epidermidis</i> (12228)	Select at least one
Fermentative Gram-Negative Bacilli	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (10031) <i>Enterobacter cloacae</i> (13047) <i>Escherichia coli</i> (8739)* <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (33028)	Select at least one
Non-Fermentative Gram-Negative Bacilli	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (9027)* <i>Burkholderia cepacia</i> (25416) <i>Pseudomonas fluorescens</i> (13525) <i>Pseudomonas putida</i> (31483)	Select at least one
Yeasts	<i>Candida albicans</i> (10231)*	Recommended
Molds	<i>Aspergillus brasiliensis</i> (16404)* <i>Penicillium</i> species	Select at least one
Spore-Forming Bacilli	<i>Bacillus subtilis</i> (6051)	Optional
Other	Other organisms relevant to product	Optional
* <i>Staphylococcus aureus</i> (6538), <i>Escherichia coli</i> (8739), <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (9027), <i>Candida albicans</i> (10231) and <i>Aspergillus brasiliensis</i> (16404) are specified in the United States Pharmacopeia (USP) Antimicrobial Effectiveness Testing method. ⁴		

VI – Les challenge test version 2.0 – Autres souches



Souches
sauvages

Définition : micro-organismes qui se trouvent dans vos environnements industriels

VI – Les challenge test version 2.0 – Autres souches



Souches de collection vs souches de sauvages.
Quelles différences ?

- Isolées d'environnements cosmétiques
- Souches devant s'adapter/évoluer pour survivre
- Comportements vis-à-vis des molécules antimicrobiennes très différents (sensibilité)



VI – Les challenge test version 2.0 – Autres souches



Souches
sauvages



VI – Les challenge test version 2.0 – Autres souches

Souches sauvages

Isolées de l'environnement
industriel



Pathogènes sauvages

S. aureus
P. paraeruginosa
E. coli
C. albicans
A. brasiliensis

VI – Les challenge test version 2.0 – Autres souches



Etude de cas sur *Pseudomonas paraeruginosa*



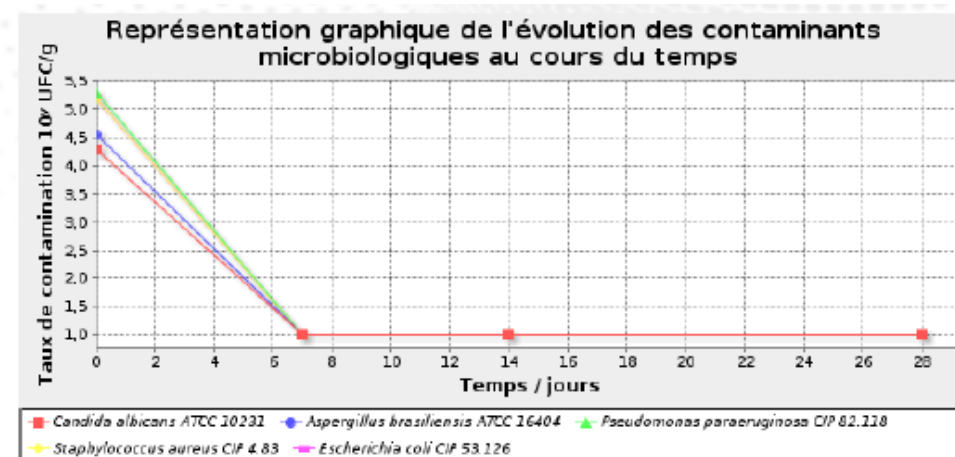
Critère A → DIP ok sur le plan réglementaire



CQ NC → présence de *P. paraeruginosa*



Le système conservateur de la formule est retravaillé
→ Challenge test « spécifique »





VI – Les challenge test version 2.0 – Autres souches



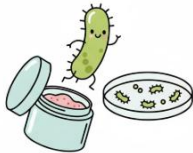
Pathogènes sauvages

Isolées de l'environnement industriel



« in vitro »

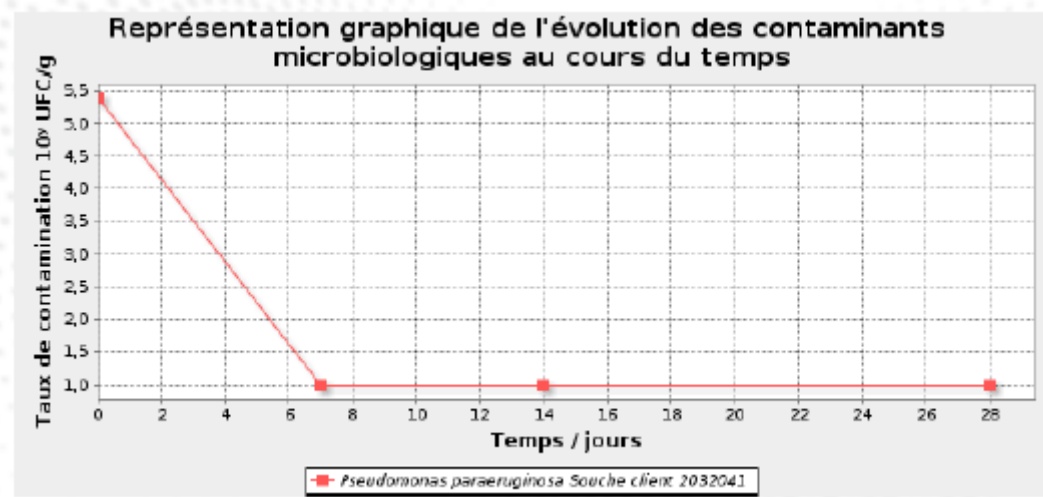
Souches travaillées comme les
souches de références





VI – Les challenge test version 2.0 – Autres souches

Challenge test sur produit reformulé → Pas de faiblesse observée sur *P. paraeruginosa*



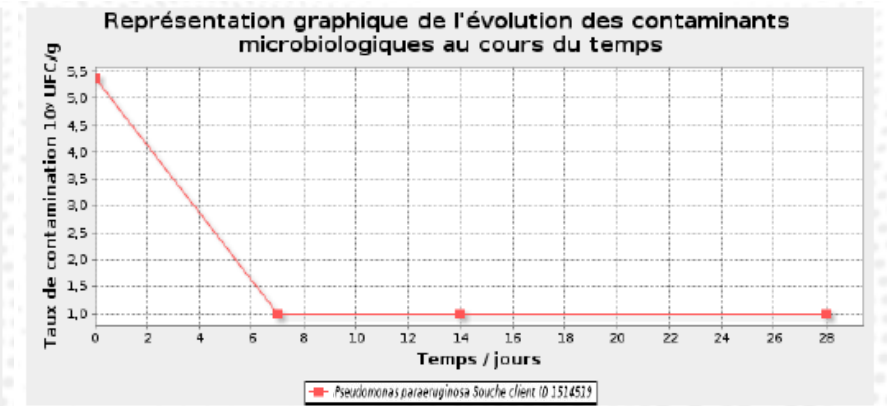
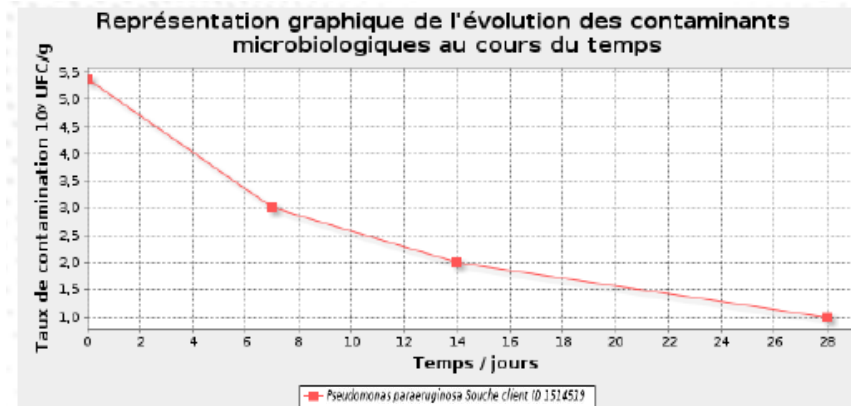
→ Augmenter la robustesse des résultats sur des profils parfois hétérogènes (souche « stressée »)

→ Relance de réplicas

VI – Les challenge test version 2.0 – Autres souches



Challenge test en duplicata sur produit reformulé



- Résultats hétérogènes
- Mise en évidence d'une faiblesse de la formule
- Plus de robustesse ?



VI – Les challenge test version 2.0 – Autres souches



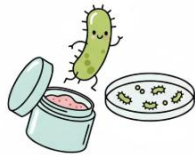
Pathogènes sauvages

Isolées de l'environnement industriel



« in vitro »

Souches travaillées comme les
souches de références



« in vivo »

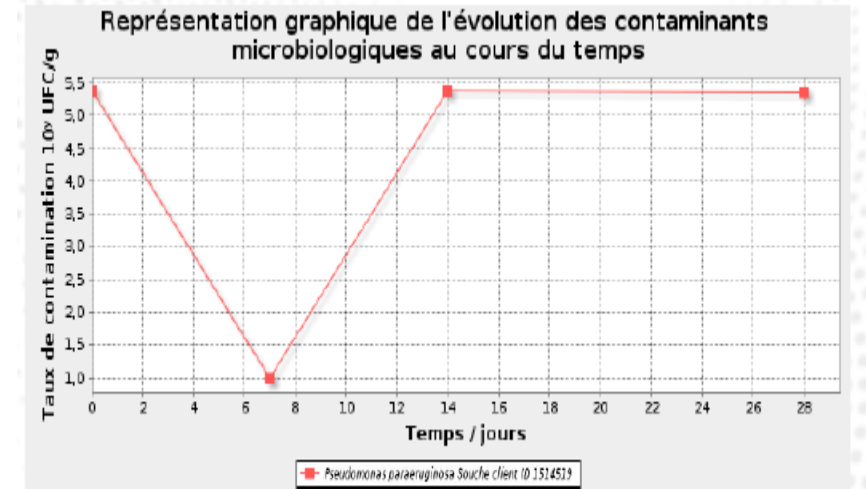
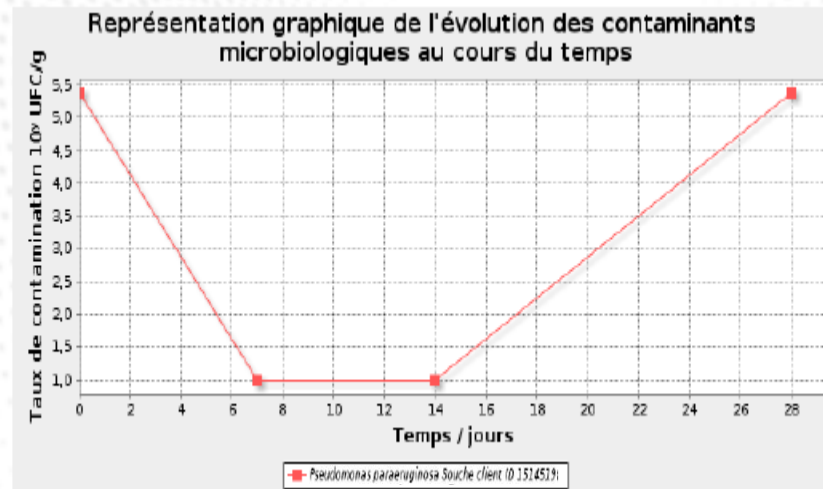
Conservées et inoculées dans son
environnement cosmétique





VI – Les challenge test version 2.0 – Autres souches

Challenge test sur la souche industrielle client de *P. paraeruginosa* conservée dans son environnement produit



→ Résultats plus homogènes

→ Mise en évidence d'une faiblesse de la formule

→ Mise en évidence d'un phénomène de rebond (attention aux CQ)

VI – Les challenge test version 2.0 – Autres souches



VI – Les challenge test version 2.0 – Autres souches



Autres souches sauvages

Pluralibacter gergoviae
Staphylococcus saprophyticus
Burkholderia cepacia
Candida parapsilosis

VI – Les challenge test version 2.0 – Autres souches



Etude de cas sur *Pluralibacter gergoviae* :



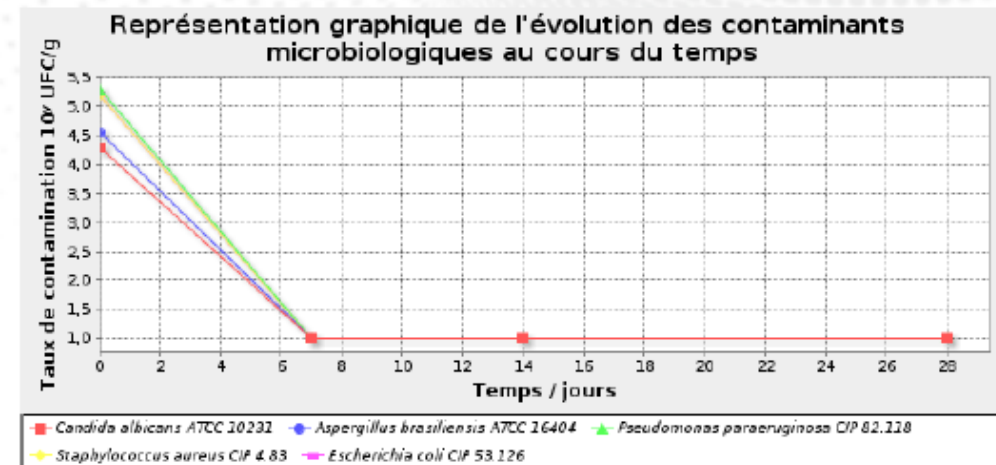
Critère A → DIP ok sur le plan réglementaire



CQ NC → présence de *Pluralibacter gergoviae*



Flore non pathogène - germes indésirables (pathogène opportuniste et flore d'altération)



VI – Les challenge test version 2.0 – Autres souches

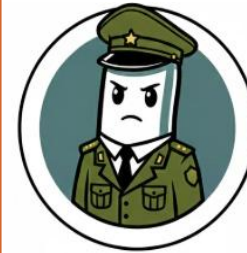
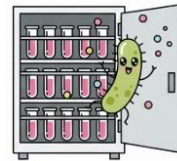


Autres souches
sauvages



Souches de
collection

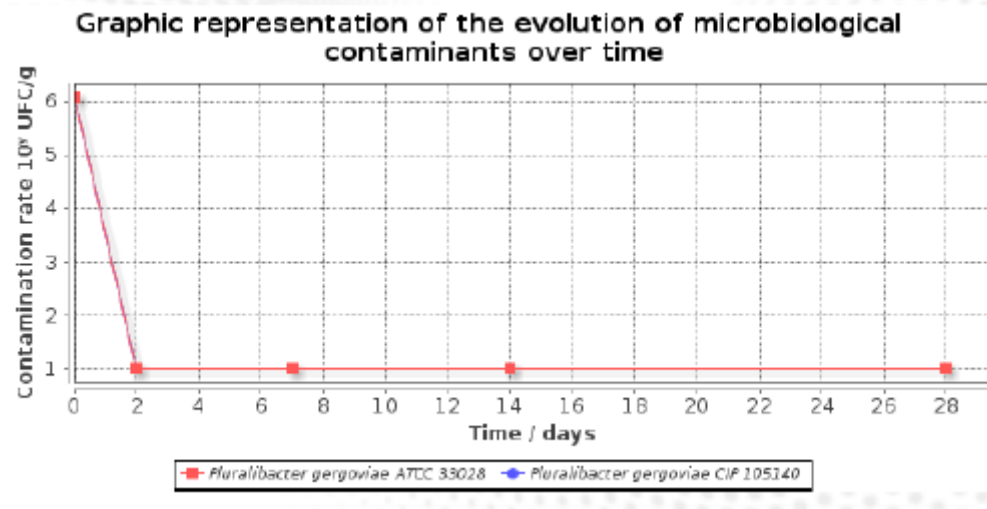
Achat banque de souches





VI – Les challenge test version 2.0 – Autres souches

Challenge test sur deux souches de collection *P. gergoviae*



→ Pas de faiblesse observée

→ Prédicativité du matériel de référence ?



VI – Les challenge test version 2.0 – Autres souches



« *in vitro* »

Travaillées comme les
souches de référence

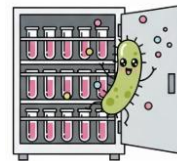


Autres souches
sauvages



Souches de
collection

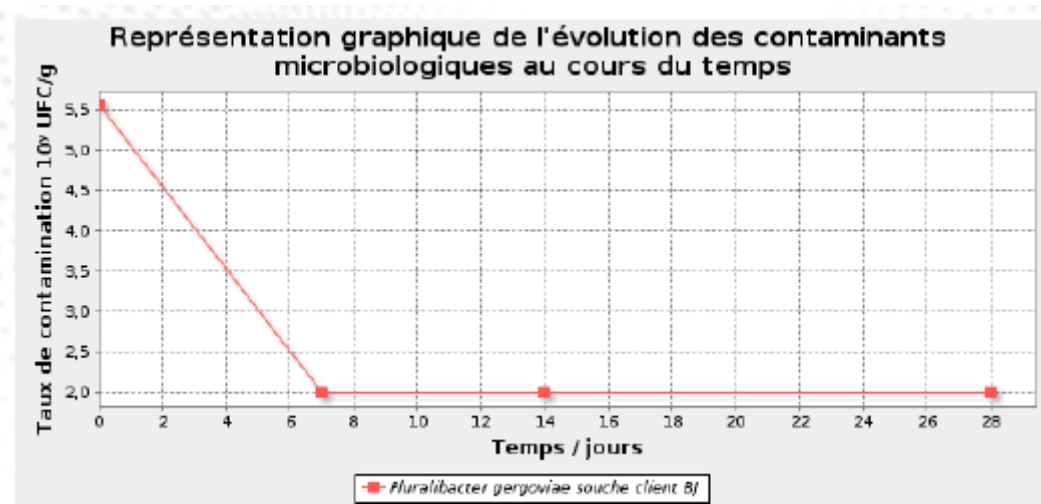
Achat banque de souches





VI – Les challenge test version 2.0 – Autres souches

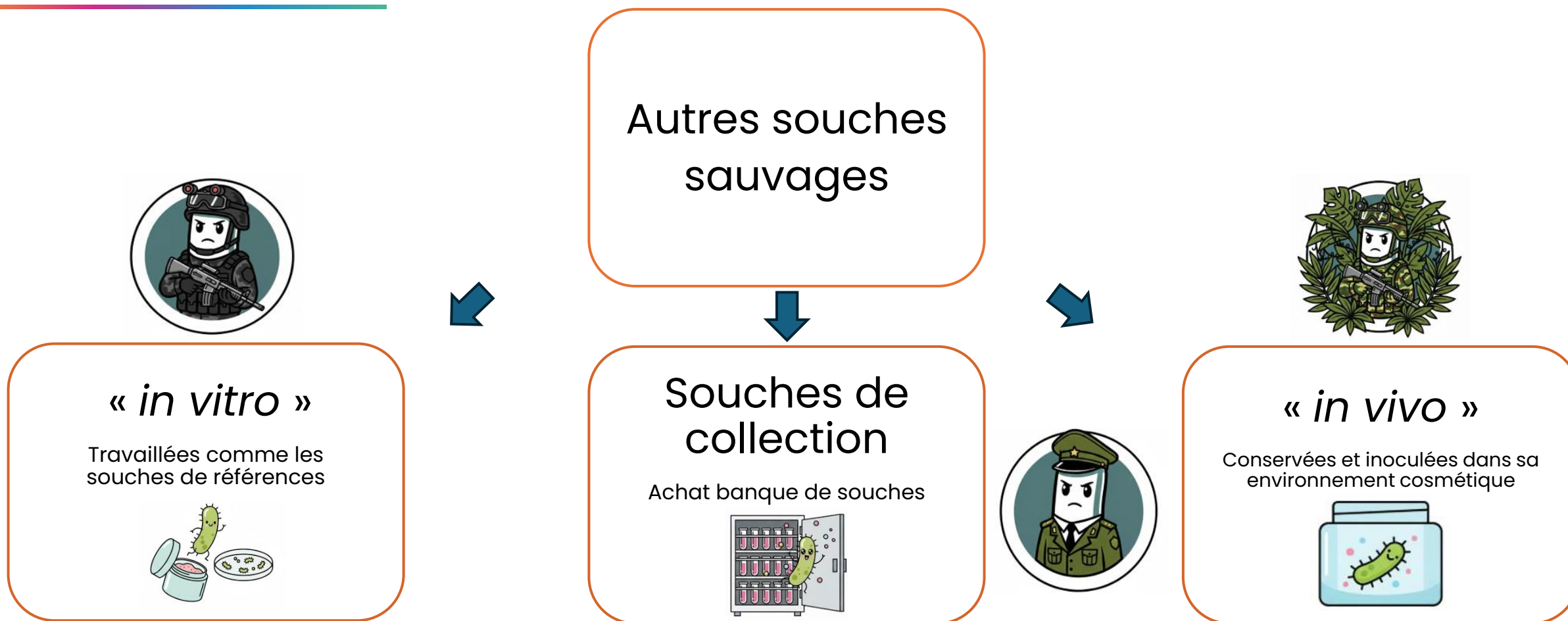
Challenge test sur la souche industrielle client de *P. gergoviae* récupérée d'un produit contaminé



→ Faiblesse non observée

→ Souche stressée ?

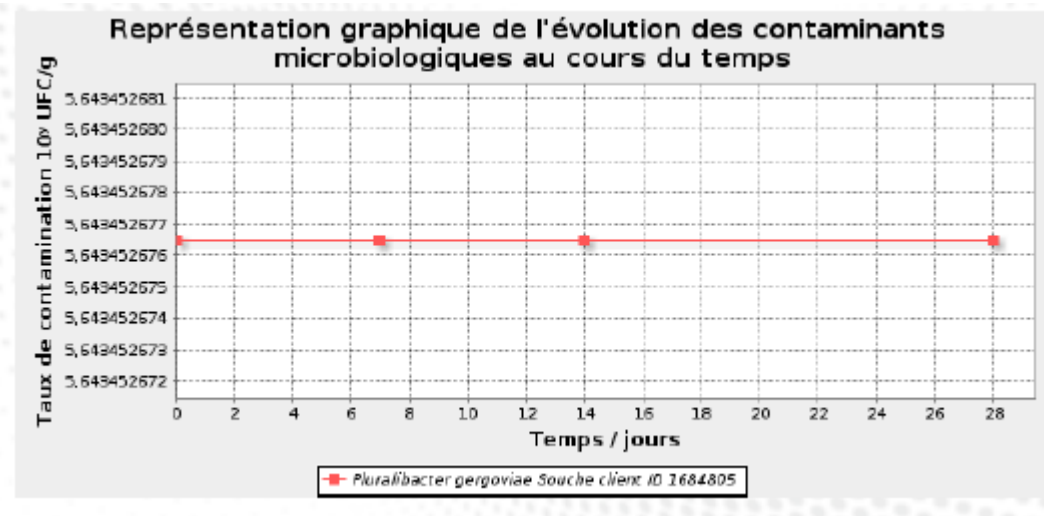
VI – Les challenge test version 2.0 – Autres souches





VI – Les challenge test version 2.0 – Autres souches

Challenge test sur la souche industrielle client de *P. gergoviae* conservée directement dans son produit



→ Faiblesse observée

→ Souche industrielle « évoluée » présentant une résistance vis à vis des molécules antimicrobiennes



VI – Les challenge test version 2.0 – Autres souches

Chronologie des étapes à respecter pour les challenge test

1

Souche réf. collection



2

Souche indus. collection



3

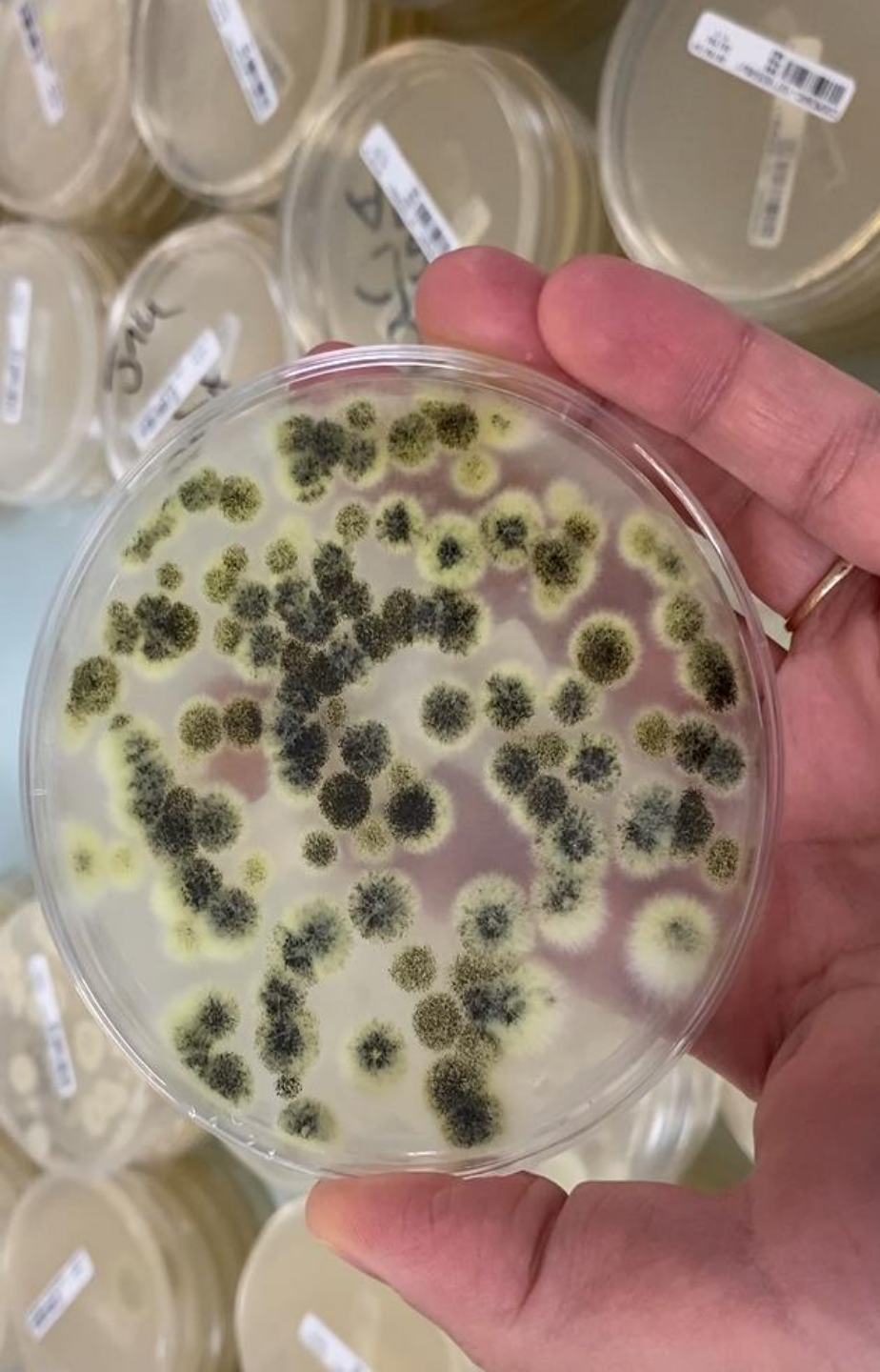
Souche indus. sauvage labo



4

Souche indus. sauvage produit





CARACTÉRISATION SOUCHES *par Typage*



VII – Caractérisation souches par typage

Dans quel but ?

→ Evaluer les évolutions de vos souches industrielles dans le temps

Pourquoi ?

→ Pour s'assurer que vos souches industrielles sont alignées avec la réalité de votre environnement

Comment ?

→ En utilisant des méthodes de typage cellulaire pour évaluer ces changements



VII – Caractérisation souches par typage

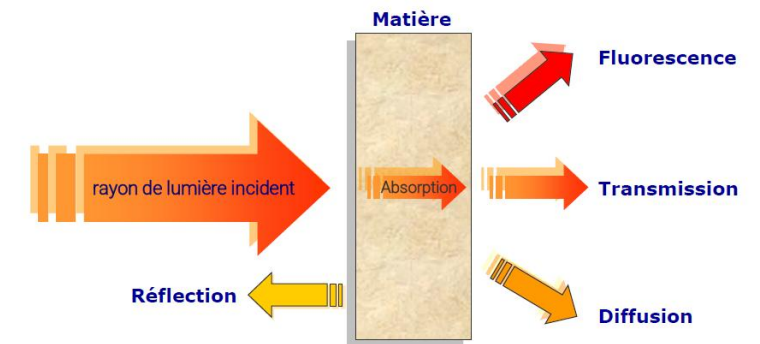
La technologie IR Biotyper® commercialisée par BRUKER et en intégration chez Cosmebac

→ La spectroscopie IR-TF : chaque substance chimique possède une "empreinte digitale" infrarouge unique.

→ Empreinte générée par la vibration des liaisons chimiques de l'ensemble des composants cellulaires, en particulier :

- Les polysaccharides
- Les lipides
- Les protéines

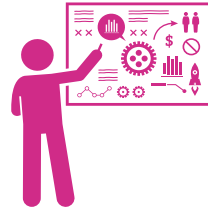
→ Le spectre IR obtenu reflète la composition biochimique globale de la cellule.



IR Spectrométrie basé sur l'absorption de la lumière IR par la substance mesurée (composés organiques)



VII – Caractérisation souches par typage



Suivi de tendance

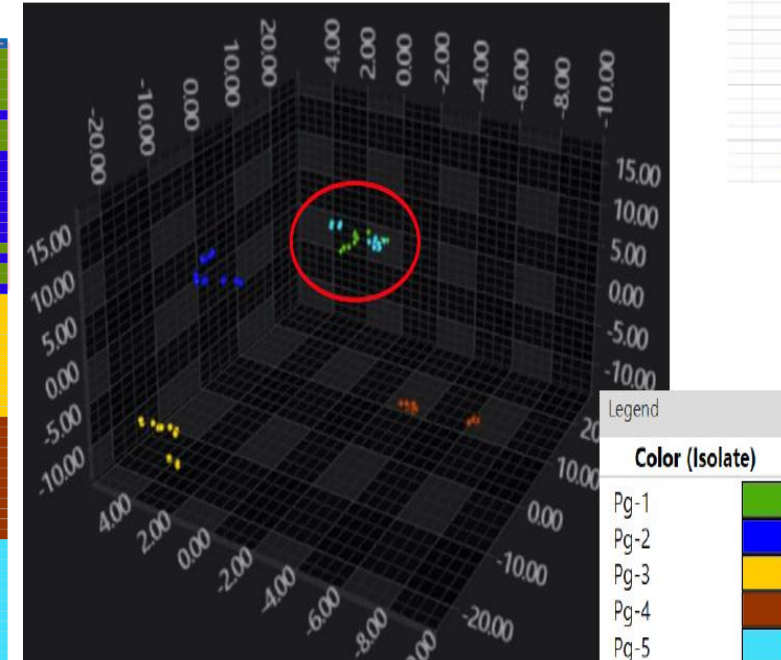
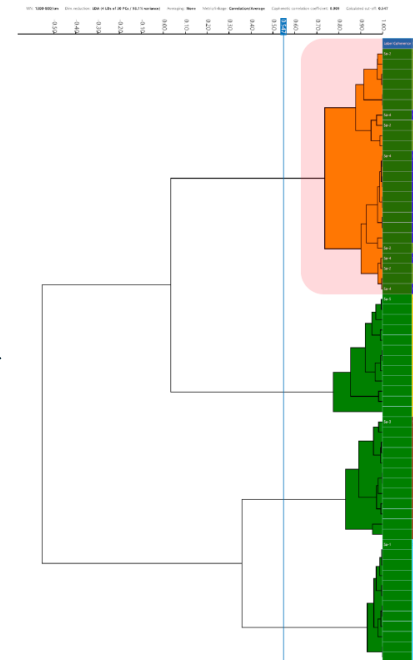

Pluralibacter
gergoviae
2025


Pluralibacter
gergoviae
2026

Analyse FT – IR (Biotyper)

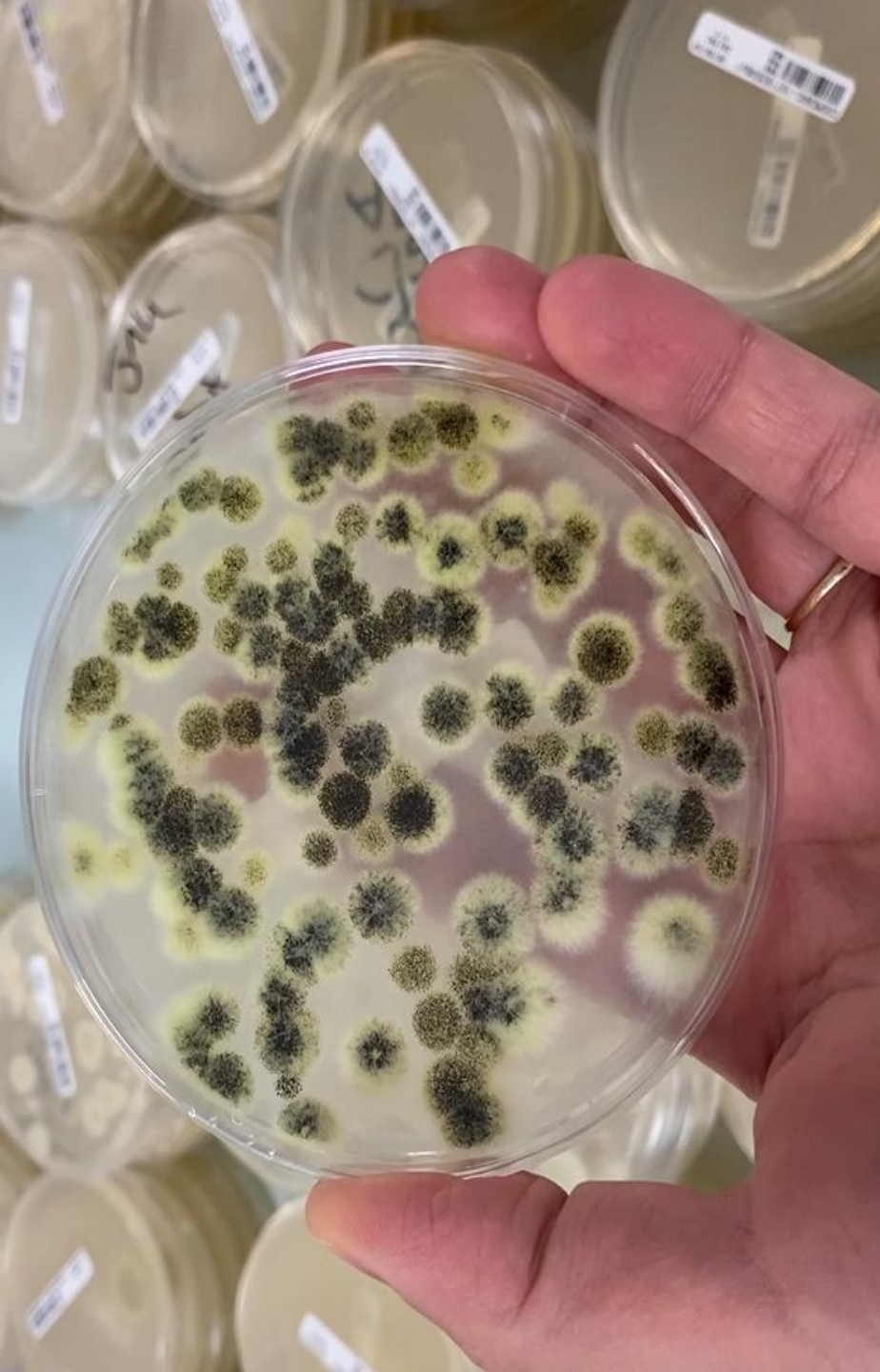


Analyse bio-informatique des spectres





conclusion



VIII – Conclusion



Sujet simple en apparence mais qui soulève de nombreuses réflexions :

- Le choix du référentiel ? ISO 11930, Pharmacopée Européenne..
- Construire un historique de résultats de CT sur le long terme avec du matériel biologique reproductible
- Consolider ses formules cosmétiques avec plus de prédictivité sur des souches d'intérêt
- Adapter les pratiques techniques pour mieux comprendre les problématiques de sensibilité des souches vis-à-vis des systèmes de conservation actuels et à venir (produit à produit)
- Stratégie sur la conservation des vos souches industrielles



Et voilà !

MERCI POUR VOTRE ATTENTION !

des questions ?



Groupe
CCA

Créez.
Nous testons.



1 seul colis pour tous les échantillons



Tests en France



Réactivité



Expertise



Simon CATROUX	scatroux@cosmepar.fr
Antoine NOURY	anoury@cosmepar.fr
Laura BOULANDE	lboulande@cosmepar.fr
Mélanie LE JEUNE	mlejeune@cosmepar.fr
Coralie LE ROY	cleroy@cosmepar.fr
Lisa DENIS-BOUAZZA	adv@cosmepar.fr