

## BREVET DE TECHNICIEN SUPÉRIEUR AGRICOLE E5 LABORATOIRE

Option : ANABIOTEC

*Durée : 180 minutes*

---

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

---

Le sujet comporte **12** pages

---

**Les documents et le contexte ont été modifiés pour les besoins de l'épreuve**

---

### SUJET

L'entreprise FICODEM est spécialisée dans la fabrication de gels hydroalcooliques. Les flacons de gel hydroalcoolique qu'elle fabrique arborent la mention « norme NF EN 14476 » confirmant l'activité virucide de ses produits. Jusqu'à présent, l'entreprise faisait appel à un laboratoire externe pour réaliser les analyses sur ses produits en particulier le dosage de l'éthanol.

L'activité virucide, mais aussi bactéricide et fongicide étant intimement liée à la teneur en alcool du produit, l'entreprise souhaite réaliser en interne le dosage de l'éthanol afin de garantir le respect de cette norme.

D'autre part, l'entreprise envisage d'élargir sa gamme de produit avec un nouveau désinfectant sans alcool, le « Meagel » et souhaite tester son efficacité.

En tant que technicien(ne) au laboratoire de l'entreprise, vous êtes chargé(e) de :

- participer à la mise en place de la méthode de dosage en éthanol du gel hydroalcoolique par la méthode chromatographique CPG,
- vérifier l'efficacité des propriétés antiseptiques du nouveau produit « "Meagel ».

## Liste des documents :

**Document 1** : Extrait des recommandations de l'ANSM sur la composition et l'utilisation des solutions et gels hydroalcooliques

**Document 2** : Conditions d'analyse par CPG (Shimadzu GC 2030)

**Document 3** : Diagramme de fabrication du gel hydroalcoolique

**Document 4** : Tests standards pour la procédure européenne

**Document 5** : Les différentes normes utilisées pour qualifier les produits antiseptiques

**Document 6** : Moyenne de réduction de viabilité des microorganismes

**Document 7** : Tests de comparaison de 2 populations

**Document 8** : Table statistique

### Partie 1 : Dosage de l'éthanol (13 points)

**1.1.** Définir le secteur d'activité de l'entreprise FICODEM et le type de laboratoire.

Pour déterminer le pourcentage d'éthanol dans les gels hydroalcooliques à contrôler, le laboratoire peut utiliser soit la méthode de référence normalisée par la technique CPG, soit une méthode alternative rapide avec un spectromètre FT-IR dont il dispose.

**1.2.** Rappeler la condition nécessaire pour qu'une méthode alternative puisse être utilisée.

Afin de contrôler le pourcentage d'éthanol dans les gels hydroalcooliques, le laboratoire met en place la méthode de référence normalisée (CPG).

**1.3.** Justifier le choix du laboratoire d'utiliser la méthode de référence pour la détermination du pourcentage d'éthanol des gels hydroalcooliques.

Le **document 2** présente les conditions opératoires utilisées pour cette analyse ainsi que le profil d'élution d'un échantillon de gel hydroalcoolique.

**1.4.** Préciser les paramètres intervenants dans la séparation et le dosage d'éthanol par CPG, en vous appuyant sur ce document.

La phase mobile utilisée pour ce dosage est l'hélium.

**1.5.** Justifier le choix de ce gaz, en considérant toutes les phases mobiles utilisées en CPG.

Pour le dosage de l'éthanol, le laboratoire utilise principalement la méthode d'étalonnage externe.

**1.6.** Expliquer la méthode de dosage de l'éthanol par étalonnage externe dans le contexte établi.

Afin de vérifier la conformité des lots de produits, le laboratoire de contrôle de l'usine FICODEM mesure le taux d'éthanol dans 1 lot de 30 flacons.

Les résultats obtenus pour la teneur en éthanol sont les suivants :

| Résultats en pourcentage de la teneur en éthanol |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |    |
|--------------------------------------------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| 67                                               | 69 | 66 | 67 | 70 | 70 | 69 | 67 | 66 | 68 | 67 | 69 | 69 | 68 | 66 |
| 68                                               | 70 | 71 | 67 | 68 | 70 | 70 | 71 | 67 | 70 | 70 | 69 | 67 | 70 | 69 |

**1.7.** Calculer la moyenne et l'incertitude élargie (pour un niveau de confiance de 95 %) pour le lot contrôlé.

**1.8.** Conclure, à partir des résultats obtenus et du **document 1**, si le lot contrôlé est en conformité avec les recommandations de l'ANSM.

On rappelle les différentes formules intervenant dans la détermination de l'incertitude sur le résultat du mesurage d'un ensemble de  $n$  valeurs  $\{x_1, x_2 \dots x_n\}$  :

Écart-type :

$$\sigma_{n-1} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

Incrtitude-type sur la moyenne :

$$u(\bar{x}) = \frac{\sigma_{n-1}}{\sqrt{n}}$$

Incrtitude élargie sur la moyenne :

$$U(\bar{x}) = k \cdot u(\bar{x})$$

avec :  $k = 1$  pour un niveau de confiance de 68 % ;

$k = 2$  pour un niveau de confiance de 95 % ;

$k = 3$  pour un niveau de confiance de 98 %.

Afin de finaliser l'ensemble du contrôle qualité du gel hydroalcoolique, il est nécessaire de s'assurer de la mise en place du plan de contrôle.

**1.9.** Proposer un plan de contrôle de conformité de la fabrication du gel hydroalcoolique (**document 3**).

**1.10.** Justifier la nécessité d'effectuer les tests de stabilité réalisés sur le produit fini (**document 4**).

**1.11.** Justifier la nécessité de tester les possibilités de développement des différents microorganismes (**document 4**).

## **Partie 2 : Efficacité du Meagel (7 points)**

Avant de lancer le produit Meagel, le service Recherche & Développement doit statuer sur son efficacité bactéricide, fongicide et virucide vis -à- vis des normes. Le **document 5** détaille un certain nombre de normes validant l'efficacité des propriétés antiseptiques.

**2.1.** Choisir la norme adaptée, parmi celles présentées, pour tester la qualité antiseptique à spectre large du nouveau produit Meagel sur sa surface d'utilisation.

Le **document 6** donne les résultats obtenus.

**2.2.** Conclure sur la qualité de l'activité antiseptique du produit sans alcool.

L'entreprise décide de comparer la réactivité de la peau du nouveau produit avec un gel hydroalcoolique classique. Les deux gels sont testés par deux groupes de 80 personnes à la peau fragile.

On constate que :

- sur les 80 personnes ayant utilisé le gel classique, 12 ont développé une réaction cutanée ;
- sur les 80 personnes ayant utilisé le nouveau produit, 5 ont développé une réaction cutanée.

**2.3.** À l'aide des **documents 7 et 8**, tester l'hypothèse que la réaction cutanée est moins importante avec le nouveau produit, au seuil de risque de 5 %.

**2.4.** Conclure sur le lancement du nouveau produit désinfectant Meagel.

## **DOCUMENT 1 : Extrait des recommandations de l'ANSM**

### **(Agence Nationale de Sécurité du Médicament) sur la composition et l'utilisation des solutions et gels hydroalcooliques**

- L'ANSM recommande l'utilisation de solutions et gels hydroalcooliques en l'absence de point d'eau disponible.
- Après évaluation, elle recommande notamment de privilégier les produits hydroalcooliques présentés sous forme de solutions ou de gels testés selon la norme NF EN 14476, qui indique l'efficacité du produit contre les virus. Ces informations doivent figurer explicitement sur l'étiquetage.
- En l'absence de référence à cette norme, sont également recommandés les produits à base :
  - d'alcool éthylique (ou éthanol),
  - ou d'alcool propylique (propan-1-ol ou n-propanol),
  - ou d'alcool isopropylique (propan-2-ol ou isopropanol),

avec une teneur optimale comprise entre 60 % et 70 % (volume/volume) ou une concentration comprise entre 520 et 630 mg/g (équivalence obtenue par approximation avec un mélange éthanol et eau).

- La teneur en alcool doit figurer visiblement sur l'étiquetage.
- Ces produits sont à utiliser sur des mains visiblement non souillées. Il est important de respecter un temps de friction d'au moins 30 secondes jusqu'à l'obtention de mains sèches.
- Deux formulations ont été approuvées. Elles sont basées sur des formulations recommandées par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) :
  - Alcool éthylique (80% v / v) ou alcool isopropylique (75% v / v).
  - Glycérol (1,45% v / v).
  - Peroxyde d'hydrogène (0,125% v / v).
  - Eau stérile ou distillée (Reste du volume).

D'après : [https://archiveansm.integra.fr/Dossiers/Pandemie-grippale/Les-produits-hydroalcooliques/\(offset\)/8](https://archiveansm.integra.fr/Dossiers/Pandemie-grippale/Les-produits-hydroalcooliques/(offset)/8)

## **DOCUMENT 2 : Conditions d'analyse par CPG (Shimadzu GC 2030)**

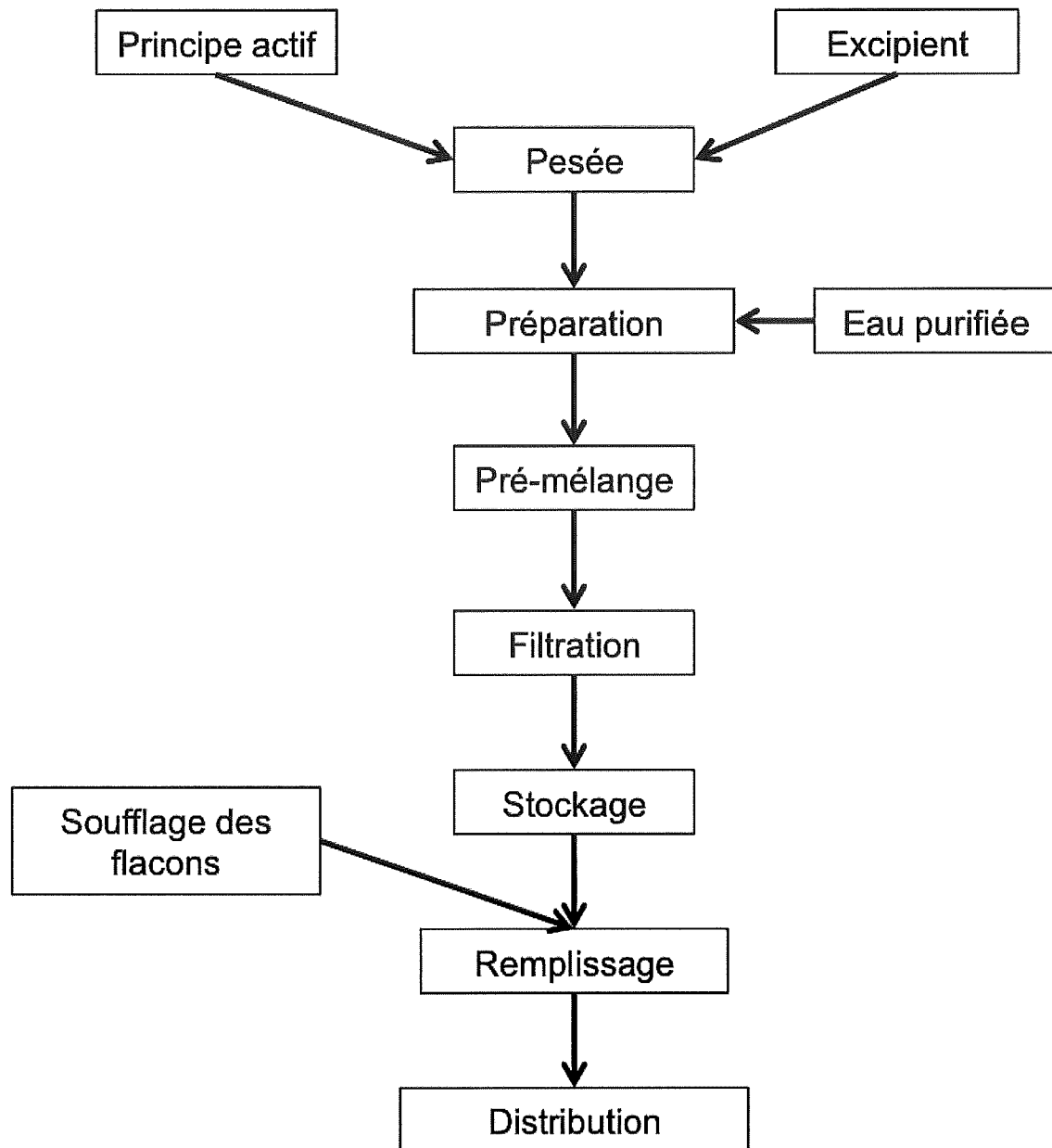
- Colonne capillaire *ZB5 MS* : 30 m de longueur et 0,25 mm de diamètre intérieur.
- Four : Température constante à 50°C pendant 3 minutes, puis variant de 25°C/min jusqu'à 250°C.
- Injecteur : Splitless, 250°C ; volume injecté 1 µL.
- Détecteur : Spectromètre de masse, 250°C.
- Phase mobile : hélium avec un débit constant de 1 mL/min.
- Solvant de rinçage : éthanol.

Le chromatogramme ci-dessous représente le profil d'élution d'un échantillon de gel hydroalcoolique après injection en chromatographie CPG :



N.B. Fusel oils = huiles de fusel ou encore alcools de fusel (alcools naturels issus du processus de fermentation alcoolique).

**DOCUMENT 3 : Diagramme de fabrication du gel hydroalcoolique**



## **DOCUMENT 4 : Tests standards pour la procédure européenne**

### **Tests de stabilité**

Déterminer la stabilité du produit dans diverses conditions, de la fabrication à la fin de sa durée de conservation. Les spécifications physiques et chimiques du produit (telles que le pH, la viscosité et la couleur) ainsi que la compatibilité de l'emballage sont évaluées au cours de ce test. À partir des résultats, on peut calculer la durée de conservation du produit. Le test est effectué en temps réel et dans des conditions accélérées :

- Odeur, couleur, apparence.
- Changements d'emballage.
- pH.
- Viscosité ;
- Changement de poids ;
- Tests d'activité antimicrobienne et de conditionnement ;
- Tests de rupture, de fissuration et d'étanchéité dans les matériaux d'emballage ;

### **Tests d'efficacité**

Prouver l'objectif principal du produit. Exemples : hydratant, imperméable, etc.

### **Test d'irritation cutanée et oculaire**

Effectué sous la supervision d'un dermatologue, il permet à une marque de cosmétiques de revendiquer un produit comme « testé dermatologiquement ».

### **Challenge test**

- Évaluer l'absence de croissance microbienne durant les conditions normales de stockage et/ou d'utilisation du produit. Le produit est analysé avec de multiples cultures pathogènes et contrôlé au bout de 7, 14 et 28 jours. L'objectif est de détecter une diminution des agents pathogènes. 4 microorganismes sont contrôlés : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger*.
- La formulation du produit doit résister au développement microbien pendant 28 jours à 32,5°C. Permet d'estimer sa durée de conservation et d'utilisation minimum. On introduit artificiellement des microorganismes connus et calibrés dans un aliquot mesuré. À intervalles réguliers et définis, une analyse de ces derniers est effectuée (NF EN ISO 11930).

### **Tests de qualité microbiologique**

Déterminer l'absence de contamination microbiologique pendant la phase de production. Les microorganismes testés sont :

- Nombre total de bactéries aérobies
- *S. aureus*
- *C. albicans*
- *A. niger*

## DOCUMENT 5 : Les différentes normes utilisées pour qualifier les produits antiseptiques

| Normes        | Objet                                                                                                              | Méthode                   | Cibles souches de références                                                                                                       | Prescription (réduction de viabilité)                                                                                               |
|---------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| NF T 72 – 152 | Étude de l'activité bactéricide.                                                                                   | Suspension                | <i>S. aureus</i><br><i>P. aeruginosa</i>                                                                                           | Sont bactéricide les produits réduisant de $10^5$ fois le nombre de bactéries viables.                                              |
| NF T 72 – 170 | Étude de l'activité bactéricide.                                                                                   | Dilution / neutralisation | <i>S. aureus</i><br><i>P. aeruginosa</i><br><i>Enterococcus hirae</i><br><i>Escherichia coli</i><br><i>Mycobacterium smegmatis</i> | Sont bactéricide les produits réduisant de $10^5$ fois le nombre de bactéries viables.                                              |
| NF T 72 – 202 | Étude de l'activité fongicide.                                                                                     | Dilution / neutralisation | <i>Aspergillus niger</i><br><i>Candida albicans</i>                                                                                | Sont fongicide les produits réduisant de $10^4$ fois le nombre de champignons viables.                                              |
| NF T 72- 230  | Étude de l'activité sporicide.                                                                                     | Dilution / neutralisation | <i>Bacillus cereus</i><br><i>Bacillus subtilis</i> var <i>niger</i><br><i>Clostridium sporogenes</i>                               | Sont sporicide les produits réduisant de $10^5$ fois le nombre de bactéries viables.                                                |
| NF T 72 – 180 | Étude de l'activité virucide.                                                                                      | Dilution / neutralisation | Poliovirus type 1<br>Adénovirus humain type 5<br>Orthopoxvirus.                                                                    | Sont virucide les produits réduisant de $10^4$ fois le nombre de virus.                                                             |
| NF T 72 – 300 | Étude de l'activité bactéricide, fongicide et sporicide dans les conditions pratiques d'emploi.                    | Dilution / neutralisation | Toute flore microbienne et virus.                                                                                                  | Sont bactéricide, fongicide et sporicide les produits réduisant de :<br>Bactéries : $10^5$<br>Champignons : $10^4$<br>Spores $10^3$ |
| NF EN 1500    | Étude de l'activité d'une préparation vis-à-vis de la flore transitoire au cours d'un traitement par friction.     |                           | Toute flore microbienne et virus.                                                                                                  | Le facteur de réduction moyen ne doit pas être inférieur à celui obtenu avec le 2 propanol.                                         |
| NF EN 1499    | Étude de l'activité d'une préparation vis-à-vis de la flore transitoire au cours d'un lavage hygiénique des mains. |                           | Toute flore microbienne et virus.                                                                                                  | Le facteur de réduction moyen ne doit pas être inférieur à celui obtenu par la procédure de référence (savon doux).                 |

**DOCUMENT 6 : Moyenne de facteur de réduction de viabilité des microorganismes**

|                        | Bactérie | Champignon | Virus  | Écart-type |
|------------------------|----------|------------|--------|------------|
| Savon                  | $10^6$   | $10^6$     | $10^4$ | 1,2        |
| Gel<br>hydroalcoolique | $10^7$   | $10^5$     | $10^3$ | 0,94       |
| Meagel                 | $10^7$   | $10^6$     | $10^4$ | 0,76       |

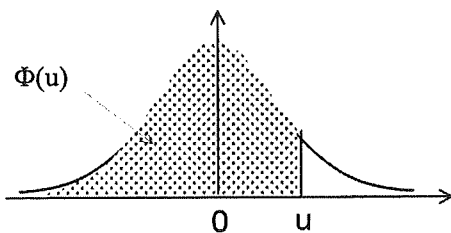
## DOCUMENT 7 : Tests de comparaison de 2 populations

|                                 |                                                                         |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|---------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Fréquences<br>ou<br>proportions | Échantillons<br>indépendants                                            | <p><math>F_1</math> et <math>F_2</math> variables d'échantillonnage des fréquences ou proportions d'individus présentant un caractère dans les échantillons respectifs de chaque population de taille <math>n_1</math> et <math>n_2</math>.</p> $U = \frac{F_1 - F_2}{\sqrt{\hat{F}(1-\hat{F})\left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}\right)}} \quad \text{avec } \hat{F} = \frac{n_1 F_1 + n_2 F_2}{n_1 + n_2}$ <p>U suit la loi normale centrée réduite N (0 ; 1)</p> |
|                                 | <p>Variances des populations connues.<br/>Échantillons indépendants</p> | $U = \frac{\overline{X_1} - \overline{X_2}}{\sqrt{\frac{\sigma_1^2}{n_1} + \frac{\sigma_2^2}{n_2}}}$ <p>U suit la loi normale centrée réduite N (0 ; 1)</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| Moyennes                        | <p>Échantillons indépendants<br/>de taille inférieure à 30</p>          | <p>(Variances supposées égales)</p> $T = \frac{\overline{X_1} - \overline{X_2}}{S \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}} \quad \text{avec } S^2 = \frac{n_1 S_1^2 + n_2 S_2^2}{n_1 + n_2 - 2}$ <p>T suit la loi de Student à <math>n_1 + n_2 - 2</math> ddl</p>                                                                                                                                                                                                      |
|                                 | <p>Échantillons indépendants<br/>de taille supérieure à 30</p>          | $U = \frac{\overline{X_1} - \overline{X_2}}{\sqrt{\frac{s_1^2}{n_1 - 1} + \frac{s_2^2}{n_2 - 1}}}$ <p>U suit la loi normale centrée réduite N (0 ; 1)</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |

## DOCUMENT 8 : Table statistique

Fonction de répartition de la variable normale centrée réduite

$$\Phi(u) = \text{Prob}(U \leq u)$$



| u   | 0      | 1      | 2      | 3      | 4      | 5      | 6      | 7      | 8      | 9      |
|-----|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 0,0 | 0,5000 | 0,5040 | 0,5080 | 0,5120 | 0,5160 | 0,5199 | 0,5239 | 0,5279 | 0,5319 | 0,5359 |
| 0,1 | 0,5398 | 0,5438 | 0,5478 | 0,5517 | 0,5557 | 0,5596 | 0,5636 | 0,5675 | 0,5714 | 0,5753 |
| 0,2 | 0,5793 | 0,5832 | 0,5871 | 0,5910 | 0,5948 | 0,5987 | 0,6026 | 0,6064 | 0,6103 | 0,6141 |
| 0,3 | 0,6179 | 0,6217 | 0,6255 | 0,6293 | 0,6331 | 0,6368 | 0,6406 | 0,6443 | 0,6480 | 0,6517 |
| 0,4 | 0,6554 | 0,6591 | 0,6628 | 0,6664 | 0,6700 | 0,6736 | 0,6772 | 0,6808 | 0,6844 | 0,6879 |
| 0,5 | 0,6915 | 0,6950 | 0,6985 | 0,7019 | 0,7054 | 0,7088 | 0,7123 | 0,7157 | 0,7190 | 0,7224 |
| 0,6 | 0,7257 | 0,7291 | 0,7324 | 0,7357 | 0,7389 | 0,7422 | 0,7454 | 0,7486 | 0,7517 | 0,7549 |
| 0,7 | 0,7580 | 0,7611 | 0,7642 | 0,7673 | 0,7704 | 0,7734 | 0,7764 | 0,7794 | 0,7823 | 0,7852 |
| 0,8 | 0,7881 | 0,7910 | 0,7939 | 0,7967 | 0,7995 | 0,8023 | 0,8051 | 0,8078 | 0,8106 | 0,8133 |
| 0,9 | 0,8159 | 0,8186 | 0,8212 | 0,8238 | 0,8264 | 0,8289 | 0,8315 | 0,8340 | 0,8365 | 0,8389 |
| 1,0 | 0,8413 | 0,8438 | 0,8461 | 0,8485 | 0,8508 | 0,8531 | 0,8554 | 0,8577 | 0,8599 | 0,8621 |
| 1,1 | 0,8643 | 0,8665 | 0,8686 | 0,8708 | 0,8729 | 0,8749 | 0,8770 | 0,8790 | 0,8810 | 0,8830 |
| 1,2 | 0,8849 | 0,8869 | 0,8888 | 0,8907 | 0,8925 | 0,8944 | 0,8962 | 0,8980 | 0,8997 | 0,9015 |
| 1,3 | 0,9032 | 0,9049 | 0,9066 | 0,9082 | 0,9099 | 0,9115 | 0,9131 | 0,9147 | 0,9162 | 0,9177 |
| 1,4 | 0,9192 | 0,9207 | 0,9222 | 0,9236 | 0,9251 | 0,9265 | 0,9279 | 0,9292 | 0,9306 | 0,9319 |
| 1,5 | 0,9332 | 0,9345 | 0,9357 | 0,9370 | 0,9382 | 0,9394 | 0,9406 | 0,9418 | 0,9429 | 0,9441 |
| 1,6 | 0,9452 | 0,9463 | 0,9474 | 0,9484 | 0,9495 | 0,9505 | 0,9515 | 0,9525 | 0,9535 | 0,9545 |
| 1,7 | 0,9554 | 0,9564 | 0,9573 | 0,9582 | 0,9591 | 0,9599 | 0,9608 | 0,9616 | 0,9625 | 0,9633 |
| 1,8 | 0,9641 | 0,9649 | 0,9656 | 0,9664 | 0,9671 | 0,9678 | 0,9686 | 0,9693 | 0,9699 | 0,9706 |
| 1,9 | 0,9713 | 0,9719 | 0,9726 | 0,9732 | 0,9738 | 0,9744 | 0,9750 | 0,9756 | 0,9761 | 0,9767 |
| 2,0 | 0,9772 | 0,9778 | 0,9783 | 0,9788 | 0,9793 | 0,9798 | 0,9803 | 0,9808 | 0,9812 | 0,9817 |
| 2,1 | 0,9821 | 0,9826 | 0,9830 | 0,9834 | 0,9838 | 0,9842 | 0,9846 | 0,9850 | 0,9854 | 0,9857 |
| 2,2 | 0,9861 | 0,9864 | 0,9868 | 0,9871 | 0,9875 | 0,9878 | 0,9881 | 0,9884 | 0,9887 | 0,9890 |
| 2,3 | 0,9893 | 0,9896 | 0,9898 | 0,9901 | 0,9904 | 0,9906 | 0,9909 | 0,9911 | 0,9913 | 0,9916 |
| 2,4 | 0,9918 | 0,9920 | 0,9922 | 0,9925 | 0,9927 | 0,9929 | 0,9931 | 0,9932 | 0,9934 | 0,9936 |
| 2,5 | 0,9938 | 0,9940 | 0,9941 | 0,9943 | 0,9945 | 0,9946 | 0,9948 | 0,9949 | 0,9951 | 0,9952 |
| 2,6 | 0,9953 | 0,9955 | 0,9956 | 0,9957 | 0,9959 | 0,9960 | 0,9961 | 0,9962 | 0,9963 | 0,9964 |
| 2,7 | 0,9965 | 0,9966 | 0,9967 | 0,9968 | 0,9969 | 0,9970 | 0,9971 | 0,9972 | 0,9973 | 0,9974 |
| 2,8 | 0,9974 | 0,9975 | 0,9976 | 0,9977 | 0,9977 | 0,9978 | 0,9979 | 0,9979 | 0,9980 | 0,9981 |
| 2,9 | 0,9981 | 0,9982 | 0,9982 | 0,9983 | 0,9984 | 0,9984 | 0,9985 | 0,9985 | 0,9986 | 0,9986 |
| 3,0 | 0,9987 | 0,9987 | 0,9987 | 0,9988 | 0,9988 | 0,9989 | 0,9989 | 0,9989 | 0,9990 | 0,9990 |