



**HAL**  
open science

## Contrôles physicochimiques, microbiologiques et dermatologiques d'une émulsion adoucissante

Marie-Odile Parat

► **To cite this version:**

Marie-Odile Parat. Contrôles physicochimiques, microbiologiques et dermatologiques d'une émulsion adoucissante. Sciences pharmaceutiques. 1991. dumas-03610301

**HAL Id: dumas-03610301**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03610301>**

Submitted on 16 Mar 2022

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

## AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance.

La propriété intellectuelle du document reste entièrement celle du ou des auteurs. Les utilisateurs doivent respecter le droit d'auteur selon la législation en vigueur, et sont soumis aux règles habituelles du bon usage, comme pour les publications sur papier : respect des travaux originaux, citation, interdiction du pillage intellectuel, etc.

Il est mis à disposition de toute personne intéressée par l'intermédiaire de [l'archive ouverte DUMAS](#) (Dépôt Universitaire de Mémoires Après Soutenance).

Si vous désirez contacter son ou ses auteurs, nous vous invitons à consulter la page de DUMAS présentant le document. Si l'auteur l'a autorisé, son adresse mail apparaîtra lorsque vous cliquerez sur le bouton « Détails » (à droite du nom).

Dans le cas contraire, vous pouvez consulter en ligne les annuaires de l'ordre des médecins, des pharmaciens et des sages-femmes.

Contact à la Bibliothèque universitaire de Médecine Pharmacie de Grenoble :

[bump-theses@univ-grenoble-alpes.fr](mailto:bump-theses@univ-grenoble-alpes.fr)

2<sup>e</sup> exemplaire

UNIVERSITE Joseph FOURIER GRENOBLE I

Sciences Technologie Médecine

UFR DE PHARMACIE

Domaine de la Merci - La Tronche

Année 1991

N° D'ORDRE 7033

**CONTROLES PHYSICOCHIMIQUES, MICROBIOLOGIQUES  
ET DERMATOLOGIQUES D'UNE EMULSION  
ADOUCISSANTE**

**THESE**

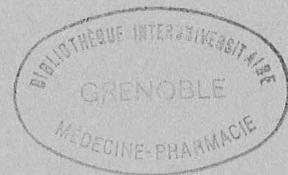
Présentée à l'Université Joseph FOURIER GRENOBLE I

Pour obtenir le grade de : DOCTEUR EN PHARMACIE

Par

**Marie-Odile PARAT**

*[Données à caractère personnel]*



Cette thèse sera soutenue publiquement le 26 Septembre 1991, devant

Madame M. DELETRAZ-DELPORTE, Docteur d'Etat en Droit et  
Economie Pharmaceutiques, Présidente

Monsieur le Professeur P. AMBLARD

Madame le Professeur A. VERRAIN

Madame le Docteur M. VALLINI-ALBINET



115 013960 1

UNIVERSITE Joseph FOURIER GRENOBLE I

Sciences Technologie Médecine

UFR DE PHARMACIE

Domaine de la Merci - La Tronche

Année 1991

N° D'ORDRE :

**CONTROLES PHYSICOCHIMIQUES, MICROBIOLOGIQUES  
ET DERMATOLOGIQUES D'UNE EMULSION  
ADOUCISSANTE**

**THESE**

Présentée à l'Université Joseph FOURIER GRENOBLE I

Pour obtenir le grade de : DOCTEUR EN PHARMACIE

Par

**Marie-Odile PARAT**

*[Données à caractère personnel]*



Cette thèse sera soutenue publiquement le 26 Septembre 1991, devant

Madame M. DELETRAZ-DELPORTE, Docteur d'Etat en Droit et  
Economie Pharmaceutiques, Présidente

Monsieur le Professeur P. AMBLARD

Madame le Professeur A. VERAÏN

Madame le Docteur M. VALLINI-ALBINET

## REMERCIEMENTS

Je tiens à adresser mes plus sincères remerciements :

à Madame le Docteur Deletraz-Delporte, qui a accepté de présider ce jury, pour sa disponibilité, ses conseils et sa gentillesse

à Monsieur le Professeur Amblard qui a accepté d'accorder son attention à cette thèse

à Madame le Professeur Verain qui a bien voulu me faire bénéficier de ses connaissances en consacrant à ce travail son temps précieux

à Madame le Docteur Vallini-Albinet, qui a su me guider dans la réalisation de ce travail tout en m'autorisant une indépendance qui m'a beaucoup appris

à Monsieur le Professeur Calop, qui m'a accueillie dans son service où j'ai pu progresser, ainsi qu'à toute l'équipe de la CAMSP et de la Pharmacie Moidieu

à Mademoiselle le Professeur Alary et à Monsieur le Professeur Bakri, qui ont bien voulu me prodiguer leurs conseils

à Madame le Docteur Dominique Luu Duc-Bin et à Madame le Docteur Brigitte Didier-Roberto pour leur aide précieuse.

SOMMAIRE

AVANT-PROPOS

INTRODUCTION

PREMIERE PARTIE : ESSAIS PHYSICOCHEMISTIQUES

Etude bibliographique

Partie expérimentale

DEUXIEME PARTIE : ESSAIS MICROBIOLOGIQUES

Etude bibliographique

Partie expérimentale

TROISIEME PARTIE : ESSAIS DERMATOLOGIQUES

Etude bibliographique

Partie expérimentale

CONCLUSION

ANNEXES

TABLE DES MATIERES

## AVANT-PROPOS

Cette thèse comprend un essai d'étalement comparatif entre une émulsion formulée au Centre Hospitalier Régional et Universitaire de Grenoble et un certain nombre de crèmes, qui ont été sélectionnées de la façon suivante :

La section verte du Dictionnaire Vidal 1991 répertorie les produits par établissement : tous les laboratoires signalant dans leur rubrique cosmétologie une crème pour les mains ont été relevés. Chacun de ces établissements a été contacté, d'une part téléphoniquement pour obtenir un échantillon de leur crème pour les mains, et d'autre part par correspondance pour obtenir l'autorisation écrite de citer le produit dans cette thèse.

Figurent donc dans ce travail les produits pour lesquels les laboratoires ont fourni, sans condition, avant le 23 août 1991, un échantillon et l'autorisation figurant en annexe n°1 signée :

Gel mains (Laboratoires du Dermophil Indien)

Soin Mains et Ongles (Laboratoires du Dermophil Indien)

Manuphyl crème (Laboratoires de L'Homme de Fer)

Crème mains (Laboratoires Juvex)

Crème mains (Laboratoires Klorane)

Crème multiprotection mains (Laboratoires Lierac)

Crème mains Biorégène (Laboratoires Jacques G. Paltz)

Crème mains (Laboratoires SVR).

Nous remercions ces laboratoires pour leur coopération.

## INTRODUCTION

L'objet de cette thèse est la mise en place et la réalisation pratique des **contrôles** d'une émulsion adoucissante, dont la formule est la suivante :

Composants	Pourcentage
Huile de vaseline	2
Isostéarate d'isostéaryle	3
Huile d'avocat	3
Végétol huileux de matricaire	4
Acide stéarique	2
Labrafil	1
Tefose 2000	10
Sorbitol 70%	4
PCA Na 50%	4
Imidazolidinylurée	0,3
PHB de Me-Na	0,1
PHB de Pr-Na	0,1
Eau déminéralisée	qsp100%

La formulation de cette émulsion et les essais de tolérance cutanée sur l'animal ont été effectués par une étudiante en Pharmacie, Isabelle Canet, en 1990 pendant sa cinquième année hospitalo-universitaire, dans le service du Professeur Calop, et ont fait l'objet d'une thèse (1).

Cette émulsion, formulée, fabriquée, et contrôlée au sein de la pharmacie de l'hôpital de Grenoble, est destinée aux mains desséchées du personnel soignant. Sa distribution sera strictement interne à l'établissement. L'originalité de cette préparation hospitalière réside dans le fait qu'elle relève de la législation des produits cosmétiques et des produits d'hygiène corporelle, ce qui influence évidemment les contrôles qu'elle devra subir.

Les contrôles de cette émulsion sont donc :

- en partie réalisés antérieurement à ce travail (essais de tolérance cutanée sur l'animal),
- en partie mis au point et réalisés dans le cadre de ce travail,
- en partie à réaliser dans l'avenir (étude de stabilité à un an, contrôles de routine).

Nous avons choisi de diviser cette thèse en trois parties : la première concerne les contrôles physicochimiques, la seconde les essais microbiologiques, et la dernière le test d'usage sur l'homme. Au sein de chacune de ces parties, une étude bibliographique est suivie de l'exposé de la réalisation pratique des tests correspondants.

1.

PREMIERE PARTIE : ESSAIS PHYSICOCHIMIQUES

## 1.1. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Une émulsion simple est un système hétérogène constitué de deux phases non miscibles dont l'une est intimement dispersée dans l'autre, et se caractérise par une faible stabilité : sitôt l'émulsion préparée, entrent en jeu différents processus qui tendent à la séparation, par le crémage, la floculation et la coalescence, qui se poursuivent durant le stockage. La taille des particules croît et la distribution de leur taille s'élargit, jusqu'à ce que les particules distinctes se rejoignent en une phase séparée.

Le crémage ou la sédimentation correspondent au déplacement vers le haut ou vers le bas sous l'effet de la gravité, des gouttelettes, en fonction de la différence de densité entre les deux phases, de la taille des particules, de la viscosité de la phase continue, et du rapport des volumes des phases (2). Même si l'émulsion peut être reconstituée par simple agitation - la pharmacopée prévoit au plus trois retournements (3) - le crémage nuit à son acceptabilité cosmétique (4).

La floculation consiste en l'agrégation réversible des gouttelettes de la phase interne sous l'influence de changements à leur surface, et intervient lorsque la barrière électrique ou mécanique séparant les gouttelettes est suffisante pour empêcher leur coalescence (2).

La floculation donne à l'émulsion une viscosité apparente plus élevée que si les gouttelettes étaient complètement séparées (4).

La coalescence est la fusion de gouttelettes floculées en particules de taille supérieure, jusqu'à formation d'une phase continue visible.

C'est une séparation de phase irréversible, une rupture de l'émulsion (3, 4). La formation de ces gouttelettes de grande taille laisse présager que la "démulsification" (la séparation) sera totale avec le temps. La coalescence est évitée si la barrière est assez forte, le film suffisamment épais à l'interface des phases (2). La coalescence dépend de la taille des particules, de la viscosité et du rapport des volumes des phases, des propriétés des émulsionnants et de la nature physicochimique de la phase externe située entre les gouttelettes (2).

Les contrôles physicochimiques d'une émulsion doivent donc comprendre une étude de stabilité de l'émulsion. L'étude des stabilités physicochimique et microbiologique permettra de déterminer la durée de conservation du produit. Un arrêté de 1982 prévoit que l'étude de la durée de conservation peut être effectuée par essai de vieillissement en temps réel ou par essai de vieillissement accéléré (5). Les contraintes usuellement imposées à une émulsion dans le but d'évaluer sa stabilité sont des variations de température, des essais de centrifugation et d'agitation. La valeur prédictive de tels tests quant à la stabilité en temps réel est discutée. Cependant une étude en temps réel est souvent impossible à mener entièrement avant la distribution.

**Les changements de température** modifient au sein de l'émulsion la viscosité de chaque phase, la solubilité des molécules et leur répartition entre les phases, l'état solide ou liquide de divers produits, l'hydratation de polymères et de colloïdes (2, 4).

Les auteurs proposent un stockage à différentes températures stables, rassemblées dans le tableau I (2, 3, 4, 6, 7, 8, 9), mais également des cycles à des températures alternées regroupés dans le tableau II (2, 3, 4, 6, 7, 8, 9), susceptibles de révéler plus vite des insuffisances (4).

Auteur	Température constante	Durée
Roehl *	40°C	6 semaines
Quack *	40-45-50-60-75°C	au moins une semaine
Delonca *	40°C	4 à 6 semaines
	ou 50°C	4 semaines
Traisnel *	5-25-40°C	2 mois
	ou 20-30-40°C	2 mois
AFNOR	23 +/- 2°C 0 et 40°C	plusieurs semaines
Pharmacopée Française X	température ambiante températures comprises entre 0 et 40°C	
Sagon	température ambiante	jusqu'à 5 ans
	30°C	6 mois
	40°C	6 mois
	45°C	1 mois
	55°C	3 mois
Fiquet	5°C	6 mois
	-5°C	1 semaine
	température ambiante	6 mois et plus
Idson	40°C	3 mois
	45°C	1 semaine
	-10 ou +4°C	
	température ambiante	
	37°C	
	45 ou 50°C	

Tableau I : températures constantes de conservation des émulsions

\* : cités dans (6)

En ce qui concerne les critères déterminés à l'issue de ces essais, Sagon fixe les limites suivantes (8) :

- pas de déphasage visible macroscopiquement après un mois de conservation à 45°C et 6 mois à 40°C,
- pas de modification importante de la viscosité apparente après un mois de conservation à 40°C et 3 mois à température ambiante.

Auteur	Température alternée	Durée des cycles	Durée des essais
Roehl*	5 à 45°C		6 semaines
Quack*	0 ou -5°C à 40 ou 45°C	12 ou 24 h	1 à 2 semaines
Delonca*	0 à 40°C		
Traisnel*	5 à 40°C	24 h 6 h	15 jours 48 h
AFNOR, Pharmacopée Française X	-10°C 16 h 23°C 8 h	24 h	5 cycles
Fiquet	-5 à 40°C	24 h	10 cycles
Idson	-20 à 50°C ou 4 à 45°C		6 cycles

Tableau II : températures alternées de conservation des émulsions.

Il ressort des tableaux I et II que la température de 40°C est la plus fréquemment préconisée.

La résistance à la centrifugation s'appuie sur le fait que le crémage est fonction de la gravité. Une augmentation de celle-ci va

\* : cités dans (6)

donc accélérer la séparation. Les conditions de centrifugation (vitesses, durées) ou d'ultracentrifugation (2, 4, 8) proposées varient selon les auteurs.

La résistance à la centrifugation apparaît comme un test qui permet la comparaison et la sélection de prototypes (6, 8, 10, 11). Elle ne s'applique qu'aux émulsions fluides.

**L'agitation** est également un facteur de séparation de l'émulsion, par les chocs qu'elle provoque entre les gouttelettes. Une agitation de 100 coups par minutes à 25°C pendant 6 heures a été proposée dans le cadre de l'étude d'émulsions parentérales (2).

A l'exception de certains auteurs, comme Bennet pour qui "3 mois à 45-50°C valent 1 à 2 ans à 25°C pour de nombreux systèmes" (cité dans 2) ou Becher pour qui "la centrifugation à 2750 tours par minute sur un rayon de 10 centimètres pendant 5 heures est équivalente à l'effet de la gravité pendant environ un an" (cité dans 2), les tests accélérés de stabilité ne semblent pas permettre une extrapolation aux conditions réelles de stockage ni la détermination quantitative d'une durée de péremption (2) ou bien avec une grande prudence (4).

Nous avons choisi de réaliser un stockage à 40°C pendant un mois, à température ambiante et à 4°C pendant un an, afin de réaliser sur le même lot, après fabrication et après ces différentes conditions de stockage, un certain nombre de tests récapitulés dans le tableau III. Parmi ces tests, seuls les plus simples à mettre en œuvre seront effectués en routine.

test	Contrôle après				routine
	fabrication	1 mois à 40°C	1 an à T.A.	1 an à 4°C	
Caractères organoleptiques	+	+	x	x	x
caractères microscopiques	+	+	x	x	x
type de l'émulsion	+	+	x	x	x
pH	+	+	x	x	
viscosité	+	+	x	x	
dureté	+	+	x	x	
étalement	+	+	x	x	
dosage des conservateurs	+	+	x	x	x
indice de peroxyde	+	+	x	x	
contrôle du conditionnement	avant fabrication				
interaction contenant-contenu		+	x	x	

+ = test réalisé x = test à réaliser T.A. = température ambiante
--

Tableau III : contrôles physicochimiques de l'émulsion

La chronologie des tests par rapport à la durée de notre stage (un an) ne nous permettant pas d'effectuer les contrôles à un an, nous avons réalisé les tests initiaux et les tests après conservation un mois à 40°C dans le but de détecter un défaut majeur de stabilité.

Une durée de conservation de un an ne sera adoptée qu'après réalisation de ces contrôles un an après fabrication soit en mars 1992, dans les mêmes conditions que les contrôles initiaux grâce à des procédures écrites. Si les contrôles de l'émulsion stockée un an à 4°C sont satisfaisants mais que ceux de l'émulsion stockée un an à température ambiante ne le sont pas, les tubes devront porter la

mention "à conserver au réfrigérateur". Si les contrôles après conservation un an à ces deux températures sont satisfaisants, les tubes continueront à être stockés au réfrigérateur entre leur fabrication et leur distribution, qui se fera sans mention spéciale.

### **1.1.1. L'EXAMEN DES CARACTERES ORGANOLEPTIQUES**

Il s'agit d'une approche de la qualité de l'émulsion qui sera effectuée, même de façon involontaire, lors de sa préparation comme lors de son utilisation. C'est l'un des tests d'acceptabilité de l'utilisateur (6, 10). Des caractères organoleptiques anormaux permettront les premiers la détection d'une anomalie.

#### **1.1.1.1. Caractères visuels**

Seront observés la couleur, l'aspect brillant, satiné ou mat, opaque transparent ou opalescent, la fluidité, la finesse de l'émulsion, l'homogénéité d'aspect, de couleur, la présence de bulles (10, 12).

#### **1.1.1.2. Caractères olfactifs**

Il faut noter une odeur typique ou anormale ou encore l'absence d'odeur (10).

#### **1.1.1.3. Caractères tactiles**

L'étalement sur le revers de la main permet de noter un toucher gras ou évanescent, rugueux, souple, glissant, tirant, collant, granuleux ou lisse, un blanchiment, une pénétration rapide ou lente,

un pouvoir couvrant élevé ou faible. L'application peut amener une sensation de fraîcheur ou de chaleur, de douceur ou de sécheresse (10, 12).

### 1.1.2. L'EXAMEN MICROSCOPIQUE

Il a pour objectifs :

- de déterminer la taille, la forme et l'homogénéité de répartition des globules, d'en détecter une évolution anormale, de vérifier l'absence de bulles d'air, d'évaluer la présence de particules en suspension.

Il est recommandé de conserver sous forme de photographies incluant les graduations d'un micromètre, les images fournies par les champs examinés, soit pour suivre une évolution (2, 10), soit pour servir de référence (10). Un changement de la taille ou de la distribution de la taille des particules est un paramètre important de l'évaluation des émulsions et un moyen approprié pour démontrer l'instabilité lors du vieillissement d'une émulsion (4).

La plupart des émulsions sont constituées de particules de 0,5 à 10 micromètres (4). Les émulsions moyennes, d'aspect laiteux, blanc, possèdent des particules de 1 à 5 micromètres (11).

La norme AFNOR T 73-409 conseille de n'attribuer aux photographies microscopiques qu'une valeur quantitative limite car elles sont systématiquement entachées d'erreur (9).

Il faut observer une pellicule de crème pratiquement transparente étalée entre lame et lamelle en évitant les bulles d'air (10). Il est à noter que cet écrasement risque de déformer les globules et d'être à l'origine d'une surestimation par excès de leur taille (2).

Le comptage et la détermination de la taille de 300 globules (3) au microscope sont actuellement largement remplacés par les compteurs automatiques (4) type compteur coulter (9).

Nous avons choisi d'observer au microscope l'aspect général de l'émulsion, la dimension moyenne et extrême des globules en recherchant une tendance à l'agglomération (9) et de réaliser une photographie servant de référence pour les contrôles de routine et destinée à suivre le vieillissement de l'émulsion.

### **1.1.3. LA DETERMINATION DU TYPE DE L'EMULSION**

De faibles variations du protocole de fabrication peuvent modifier le type de l'émulsion (10). De nombreuses méthodes ont été décrites pour vérifier la nature de la phase continue :

#### **1.1.3.1. Méthode aux colorants**

Le principe de la méthode repose sur la répartition d'un colorant dans la phase continue ou dans la phase dispersée. Un colorant hydrosoluble (bleu de méthylène, érythrosine sodique) déposé sur une goutte d'émulsion, se propage de façon homogène si la phase continue de l'émulsion est hydrophile, mais ne s'étend pas si l'émulsion est de type lipophile. De la même façon un colorant lipophile tel que le rouge soudan ne se propage que si l'émulsion est de type lipophile (6, 10, 11, 12, 13). Cette méthode entraîne un risque d'erreur de 25%. Entre autres causes d'erreur, la viscosité peut freiner la diffusion, et les colorants, électrolytes colloïdaux, peuvent inverser les phases (11).

### **1.1.3.2. Méthode par dilution**

Le principe est fondé sur la dilution de l'émulsion dans la phase correspondant à sa phase continue : 1 à 2 millilitres d'émulsion hydrophile se mélangent à 1 ou 2 gouttes d'eau mais pas à 1 ou 2 gouttes d'huile. C'est l'inverse pour une émulsion lipophile (6, 9, 10, 12). Malgré sa simplicité, cette méthode serait à l'origine de 5% d'erreur seulement (6).

### **1.1.3.3. Test de lavabilité**

Il se rapproche de la méthode par dilution et consiste à examiner la lavabilité sous un filet d'eau d'une spatule dont l'extrémité est couverte d'émulsion. Une bonne lavabilité est le signe que la phase continue est hydrophile (6, 13).

### **1.1.3.4. Méthode au papier filtre**

L'auréole obtenue en étalant l'émulsion sur un papier filtre est aqueuse ou huileuse selon la nature de la phase externe de l'émulsion. L'auréole obtenue en déposant une émulsion hydrophile sur un papier filtre, imprégné d'une solution de chlorure de cobalt à 20%, puis desséché, est rose sur fond bleu. L'erreur associée à ce test est de 7% (6).

### **1.1.3.5. Test au microscope.**

Il consiste à examiner l'émulsion entre lame et lamelle après coloration au bleu de méthylène, ou au rouge soudan, ou les deux.

Cette technique est délicate en raison de la transparence du montage. Elle comporte 15% de risque d'erreur (6).

#### 1.1.3.6. Mesure de la conductivité

La conductivité de l'émulsion et celle de la phase continue sont mesurées grâce à un conductimètre et comparées. Si l'émulsion est de type hydrophile, sa conductivité est supérieure ou égale à celle de la phase aqueuse et si elle est de type lipophile, c'est l'inverse (3, 9, 10). Le risque d'erreur n'est ici que de 2%, c'est la méthode la plus fiable (6, 10). La mesure de la conductivité constitue un paramètre important de l'étude de stabilité, particulièrement pour les émulsions à phase continue huileuse (4, 6, 8). Dans le cas d'une émulsion hydrophile, une augmentation de la conductivité en surface peut être le signe d'un crémage (6).

L'évaluation des variations de conductivité au cours des cycles chaleur-refroidissement pour des émulsions hydrophiles à émulsifiant non ionique s'est révélée être un bon test de stabilité : moins la conductivité varie au cours de ces cycles, plus l'émulsion est stable (4).

Dans le cadre de la détermination du type de l'émulsion, nous avons choisi le test par dilution qui associe un faible taux d'erreur à une grande facilité de mise en œuvre, complété par la méthode aux colorants et par le test de lavabilité, mis en pratique même involontairement lors des manipulations de l'émulsion (dès le nettoyage du matériel lors de la fabrication).

#### 1.1.4. LA MESURE DU pH

D'une part le pH est un paramètre capable d'influencer les caractéristiques de l'émulsion (par exemple sa rhéologie), d'autre part une variation de pH peut être le signe d'une instabilité, ou d'une altération des constituants (10).

Cette mesure est surtout adaptée aux émulsions à phase continue aqueuse (3, 8, 10). Dans certains cas, elle est appliquée aux émulsions lipophiles (10), après dispersion aqueuse à l'aide d'un tiédissement et éventuellement de tensioactifs (13).

Elle peut se faire directement si l'émulsion est assez fluide, ou après dilution à 10% dans de l'eau distillée (6), à 10% dans de l'eau distillée bouillie et refroidie (10), à 5% en solution aqueuse (13). Il existe des électrodes de forme adaptée rendant inutile la dispersion ou la dilution (10) : électrodes spéciales à pointes (6).

La détermination du pH est prévue par la Pharmacopée Française (3), par l'arrêté du 26 novembre 1982 (5) et par la norme AFNOR T 73-409 (9), qui nous avertit que le pH d'une émulsion hydrophile correspond en principe au pH de la phase continue.

Nous avons choisi d'effectuer la mesure du pH sur l'émulsion pure et sur l'émulsion diluée au dixième dans le cadre de l'étude de stabilité de l'émulsion.

#### 1.1.5. L'ETUDE DE LA VISCOSITE

Elle permet de réaliser une étude rhéologique approfondie et de déterminer un coefficient de viscosité (10). Parmi les viscosimètres existant, les viscosimètres rotatifs à mobile tournant ou

viscosimètres à cylindres coaxiaux sont le plus souvent proposés dans l'étude des émulsions (2, 6, 10, 11, 14). Leur emploi à différentes vitesses permet de tracer des rhéogrammes (6).

L'étude de la viscosité est une caractéristique supplémentaire permettant de suivre le vieillissement d'une émulsion (6). La floculation est responsable d'une élévation de la viscosité (2, 4) car elle restreint le mouvement des particules et peut créer un réseau rigide (2). Les facteurs affectant les propriétés rhéologiques des émulsions sont la viscosité de chacune des phases, le rapport du volume des phases, la nature du film interfacial, la taille des globules (2).

#### **1.1.6. L'EVALUATION DE LA DURETE**

La pénétrométrie est une méthode simple permettant de comparer la consistance des matériaux en leur attribuant une valeur exprimant leur dureté. Elle concerne plus particulièrement les émulsions épaisses (11) et consiste à mesurer la profondeur de pénétration d'un mobile de forme et de masse déterminées dans l'émulsion placée dans un récipient de forme et de dimensions précises pendant un temps donné. Le cône de Malher est habituellement utilisé (6, 11). Trois mesures sont recommandées (10, 11).

#### **1.1.7. LA MESURE DE LA FACILITE A L'ETALEMENT**

Le principe de ce test est simple : il fait agir sur une quantité fixe de crème placée entre deux plaques en verre ou en plastique, un poids donné pendant un temps donné. La plaque supérieure est

transparente, ce qui permet de mesurer le diamètre de la tache obtenue. Ce diamètre est fonction de la fluidité de la crème et permet de préfigurer de sa facilité d'étalement. Il n'existe pas de norme concernant ce test, qui n'est valable que s'il permet de situer une émulsion par rapport à une échelle de valeurs.

Nous avons choisi de situer l'émulsion étudiée par rapport à des crèmes hydratantes pour les mains.

### **1.1.8. LE DOSAGE DES CONSERVATEURS**

L'identification et le dosage des constituants est réglementaire (5) en ce qui concerne :

- toute substance dont la présence est annoncée dans la présentation, la dénomination ou la publicité du produit,
- toute substance vénéneuse autorisée,
- tout agent conservateur, bactéricide ou fongicide autorisé.

Les seules substances qu'il faut identifier et doser dans le produit fini sont donc les trois conservateurs antimicrobiens présents : le parahydroxybenzoate de méthyle sodé, le parahydroxybenzoate de propyle sodé, l'imidazolidinylurée.

Cependant, une lettre circulaire du 21 mars 1983 (15) précise que pour la détermination de certains constituants dont les agents conservateurs, bactéricides et fongicides, "l'expérimentateur aura la possibilité de recourir à un simple essai limite plutôt qu'à un dosage précis, pour vérifier que la dose limite autorisée n'est pas dépassée"

La liste des agents conservateurs, bactéricides et fongicides que peuvent contenir les produits cosmétiques et les produits d'hygiène corporelle ainsi que leur concentration maximale autorisée figurent en annexe de l'arrêté du 6 novembre 1986 (16).

Différentes méthodes analytiques sont proposées, parmi lesquelles la chromatographie sur couche mince (6, 13), la chromatographie en phase gazeuse directe ou après dérivation par exemple pour les parahydroxybenzoates (13), la colorimétrie par exemple pour l'imidazolidinylurée (13).

Une méthode originale de détection des conservateurs antimicrobiens après chromatographie sur couche mince consiste à les révéler par pulvérisation d'une suspension de microorganismes tests et à observer les zones d'inhibition après incubation (13).

Nous avons choisi pour les conservateurs présents un essai limite colorimétrique associé pour les parahydroxybenzoates à un essai limite par chromatographie sur couche mince.

### **1.1.9. L'INDICE DE PEROXYDE**

Lorsque la phase grasse comporte des composés d'origine naturelle, ceux-ci risquent une dégradation par oxydation.

Décrit par la Pharmacopée Française Xème édition (17), l'indice de peroxyde reflète le rancissement des matières grasses, par la quantité de peroxyde contenue dans le produit.

Nous avons choisi de déterminer l'indice de peroxyde dans le cadre de l'étude de stabilité de l'émulsion.

### 1.1.10. LE CONTROLE DU CONDITIONNEMENT

L'émulsion étudiée est conditionnée dans des tubes en aluminium vernis. Leur contrôle consiste, après les avoir découpés, ouverts et mis à plat, en :

1.1.10.1. Un examen à l'œil nu et/ou à l'aide d'un dispositif de grossissement, de leur surface intérieure (10)

1.1.10.2. Une détermination du degré de polymérisation du vernis par le test à l'acétone (6, 10)

1.1.10.3. Une détermination de la porosité du vernis par le test au chlorure mercurique

L'action d'une solution de chlorure mercurique sur le vernis ne doit pas y faire apparaître d'efflorescence blanche. Les conditions de la réaction peuvent être un badigeonnage avec une solution de chlorure mercurique à 5% dans de l'eau distillée, suivi d'un temps de réaction de 10 minutes (10), méthode que nous avons choisie, ou l'action directe d'une solution à 20% de chlorure mercurique dans l'acide acétique pendant deux minutes (6). Ce test peut être remplacé par un test d'électrolyse en présence d'une solution de sulfate de cuivre (6).

1.1.10.4. Un test d'adhérence du vernis comme le test du triangle

### 1.1.11. L'ETUDE DE L'INTERACTION CONTENANT-CONTENU

Un test de contact est préconisé, qui fait subir à trois tubes remplis d'émulsion une température de 55°C pendant trois jours. L'adhérence du vernis ne doit pas être modifiée (6).

Un examen macroscopique est effectué à un mois, trois mois, six mois de conservation (6).

Un stockage à 37°C à une humidité de 80% peut agir sur le contenant et permet de tester son imperméabilité (4). L'intérêt d'un tel essai est de reproduire les conditions tropicales.

Il faut savoir que les risques de migration sont réduits avec les tubes en aluminium vernis (10). Par ailleurs, il est considéré que des réactions contenant-contenu peuvent se produire, pourvu qu'elles n'altèrent pas les propriétés de la préparation (10).

Nous avons choisi de réaliser des tests simples de contrôle des tubes en aluminium vernis (tests à l'acétone, au chlorure mercurique, du triangle, observation macro et microscopique), sur des tubes neufs et sur des tubes ayant contenu l'émulsion, durant un mois à 40°C, durant un an à température ambiante, et au réfrigérateur.

## **1.2. PARTIE EXPERIMENTALE**

Pour chacun des tests détaillés ci-après, nous avons étudié les résultats obtenus après fabrication et défini les limites acceptables pour la suite des test de stabilité et pour les contrôles de routine.

### **1.2.1. L'ETUDE DES CARACTERES ORGANOLEPTIQUES**

#### **1.2.1.1. Matériel**

Emulsion fabriquée le jour même et après un mois à 40°C

Fiche "caractères organoleptiques" \*

#### **1.2.1.2. Méthode**

L'expérimentateur doit examiner les caractères visuels, olfactifs et tactiles de l'émulsion et en porter les résultats sur une fiche prévue à cet effet.

#### **1.2.1.3. Résultats**

L'examen après fabrication et après conservation un mois à 40°C a montré les mêmes caractéristiques, portées sur la fiche prévue (tableau IV).

---

(\* annexe n°2)

CARACTERE OBSERVE	REPONSES
COULEUR	VERT PALE / AUTRE :
ODEUR	AGREABLE / DESAGREABLE
HOMOGENEITE	EMULSION HOMOGENE / HETEROGENE
FINESSE DE L'EMULSION	EMULSION FINE / GROSSIERE
ASPECT	BRILLANT / MAT / SATINE
OPACITE	EMULSION OPAQUE / TRANSLUCIDE
ETALEMENT	AISE / DIFFICILE
RESORPTION	RAPIDE / LENTE
FLUIDITE	EMULSION FLUIDE / EPAISSE
TOUCHER	LISSE / RUGUEUX / GRANULEUX

Tableau IV : caractères organoleptiques

Toute modification de ces caractères lors des contrôles ultérieurs devra être à l'origine d'une investigation plus poussée pour déterminer la cause de l'anomalie, qu'il s'agisse d'une erreur de fabrication (en routine), ou d'un défaut de conservation (dans l'étude de stabilité).

## **1.2.2. L'EXAMEN MICROSCOPIQUE**

### **1.2.2.1. Matériel**

Microscope Leitz Dialux 20 ® muni d'un boîtier photographique Wild MPS 51 S Spot

Micromètre : lame graduée sur 1 millimètre en centièmes de millimètre Preciss France ®

Emulsion fabriquée le jour même et émulsion après conservation un mois à 40°C

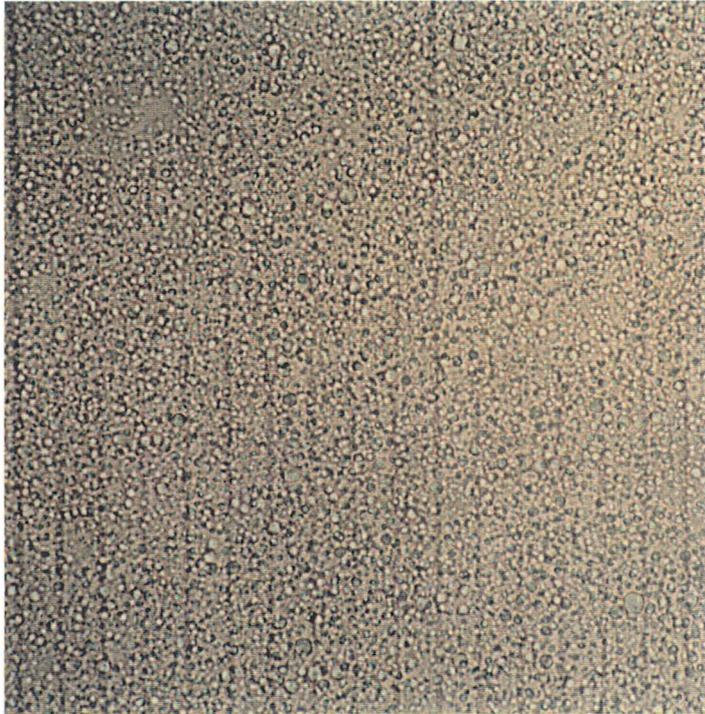
### **1.2.2.2. Méthode**

L'observation est effectuée rapidement après le montage entre lame graduée et lamelle à grossissements croissants, jusqu'à x400.

### **1.2.2.3. Résultats**

L'émulsion après fabrication (photo n°1) présente des gouttelettes lipidiques vertes de taille homogène, uniformément réparties. Un grand nombre de particules ont un diamètre compris entre 1 et 2 micromètres, les plus grosses ayant un diamètre de 5 micromètres.

Photo n°1 : émulsion après fabrication x400



Après un mois à 40°C, l'observation au même grossissement a permis des observations similaires en ce qui concerne l'homogénéité comme la taille des particules.

#### **1.2.2.4. Interprétation. Conduite à tenir**

L'observation d'une émulsion homogène en taille et en répartition des globules est satisfaisante. Lors de l'observation après un an, seront à noter particulièrement l'apparition de grosses gouttelettes dues à la coalescence, et leur proportion. En routine, il faudra surveiller l'homogénéité et la présence de bulles d'air.

### 1.2.3. LA DETERMINATION DU TYPE DE L'EMULSION

Le tableau V résume la détermination du type de l'émulsion pratiquée selon 3 méthodes, sur l'émulsion après fabrication et après un mois à 40°C. Les résultats sont les mêmes :

Technique	Matériel	Méthode	Résultat
Dilution	Emulsion Eau Huile de vaseline	Observation du mélange ou non entre 1 à 2 ml d'émulsion et 1 à 2 gouttes d'eau et d'huile	Mélange aisé à l'eau, pas à l'huile
Lavabilité	Spatule Emulsion Jet d'eau	Observation du délitement et de l'émimination faciles de l'émulsion sur une spatule placée sous un jet d'eau	Bonne lavabilité
Colorant	Emulsion Agitateur de verre Verre de montre Solution aqueuse de bleu de méthylène 1%	1 goutte de colorant est déposée sur 2 ml d'émulsion dans un verre de montre et mélangée avec l'agitateur	Diffusion rapide, mélange uniforme.

Tableau V : détermination du type de l'émulsion

L'émulsion est de type hydrophile, et la conservation un mois à 40°C ne provoque pas d'inversion de phase.

Le type de l'émulsion ne devra jamais changer, que ce soit dans l'étude de stabilité ou en contrôle de routine.

## 1.2.4. LA MESURE DU pH

### 1.2.4.1. Matériel

Emulsion

Tube en verre

pHmètre digital Beckman ® modèle 3500

Electrode de verre combiné

Eau distillée

### 1.2.4.2. Méthode

L'étalonnage de l'appareil est contrôlé grâce à une solution de tampon phosphate (pH : 4,55). L'électrode est ensuite plongée dans l'eau distillée, puis dans l'émulsion pure, et après lecture du pH, lavée, puis plongée dans l'émulsion diluée au dixième dans l'eau distillée. Trois mesures sont effectuées.

### 1.2.4.3. Résultats

Le pH de l'eau distillée est de 6,4. Les valeurs de pH de l'émulsion sont portées dans le tableau VI.

	émulsion pure	émulsion diluée
pH après fabrication	6,5	6,6
pH après 1 mois à 40°C	6,2	6,3

Tableau VI : contrôle du pH

#### **1.2.4.4. Interprétation. Conduite à tenir**

L'émulsion a un pH légèrement acide après fabrication. La dilution au dixième provoque une élévation du pH mesuré de 0,1 unité. La conservation 1 mois à 40°C a provoqué une baisse du pH de 0,3 unité. Cette légère acidification est le reflet de réactions chimiques se produisant durant le vieillissement. Le pH de l'émulsion après un an de conservation devra s'écarter au plus de 0,5 unités de pH de la valeur initiale.

#### **1.2.5. LA DETERMINATION DE LA VISCOSITE**

##### **1.2.5.1. Matériel**

Viscosimètre à cylindres coaxiaux : Rhéomat 15 Soc Contraves ®  
Suisse

Bain thermostaté

Emulsion après fabrication, et après conservation un mois à 40°C

Fiche pour rhéogramme

##### **1.2.5.2. Méthode**

Le système de mesure C est mis en place, le cylindre externe plongeant dans un bain thermostaté à 25°C. La vitesse est augmentée unité par unité de 0 à 15, puis diminuée de même de 15 à 0. Pour chaque vitesse, on lit la contrainte supportée (la résistance opposée), par l'émulsion en unités d'échelle de 0 à 100. La mesure est effectuée sur 3 prélèvements. Les valeurs obtenues permettent de tracer le rhéogramme correspondant, et l'allure de la courbe

renseigne sur le comportement rhéologique de l'émulsion. La température du bain et de l'émulsion sont contrôlées avant chaque mesure.

### 1.2.5.3. Résultats

Les valeurs obtenues sont reportées dans le tableau VII pour l'essai sur l'émulsion 24 heures après fabrication et dans le tableau VIII pour l'essai sur l'émulsion après 1 mois à 40°C. Le rhéogramme de l'essai n°1 est tracé dans les 2 cas.

	Essai n°1		Essai n°2		Essai n°3	
	Contrainte lue à vitesse :					
Vitesse	croissante	dé- croissante	croissante	dé- croissante	croissante	dé- croissante
0	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5
1	31,5	28	31	28,5	31,5	28,5
2	32,5	30	32	31	33	31
3	35	33	35	33,5	35,5	34
4	37	36	38	36,5	39	37
5	41,5	38,5	41,5	40	42	40
6	46,5	43	46,5	45	47	44,5
7	50	47	50,5	49	51,5	48,5
8	55,7	51,5	55	53,5	56	53,5
9	60	56,5	60,5	59	61	59
10	65,5	63	66,5	64,5	67	65
11	74,5	71,5	75,5	73,5	75,5	73
12	82	79,5	83	82	83	81,5
13	<b>90,5</b>	88,5	<b>92</b>	90,5	<b>91,5</b>	90,5
14	100	99	>100	>100	>100	>100
15	>100	>100	>100	>100	>100	>100

Tableau VII : mesures au viscosimètre après fabrication

	Essai n°1		Essai n°2		Essai n°3	
	Contrainte lue à vitesse :					
Vitesse	croissante	dé- croissante	croissante	dé- croissante	croissante	dé- croissante
0	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5
1	28	26	28	25,5	25	28,5
2	30	28,5	30	28	30	28,5
3	32,5	31	32	30	32	30
4	35,5	34	35	33	35	32,5
5	39	37	38	36	37,5	35,5
6	44	42	43	40,5	43	40
7	48,5	46	47	44,5	46,5	44
8	53,5	50,5	52	49	51	49
9	59	56,5	57	55	56,5	54,5
10	65	62,5	63	61	62,5	60
11	74,5	71	72	69	71,5	69
12	83	80	80	78	80	77,5
13	<b>91,5</b>	90	<b>89</b>	87	<b>88,5</b>	87
14	>100	>100	99,5	99	98	97
15	>100	>100	>100	>100	>100	>100

Tableau VIII : mesures au viscosimètre après conservation 1 mois à 40°C

Figure n°1 : rhéogramme de l'émulsion après fabrication

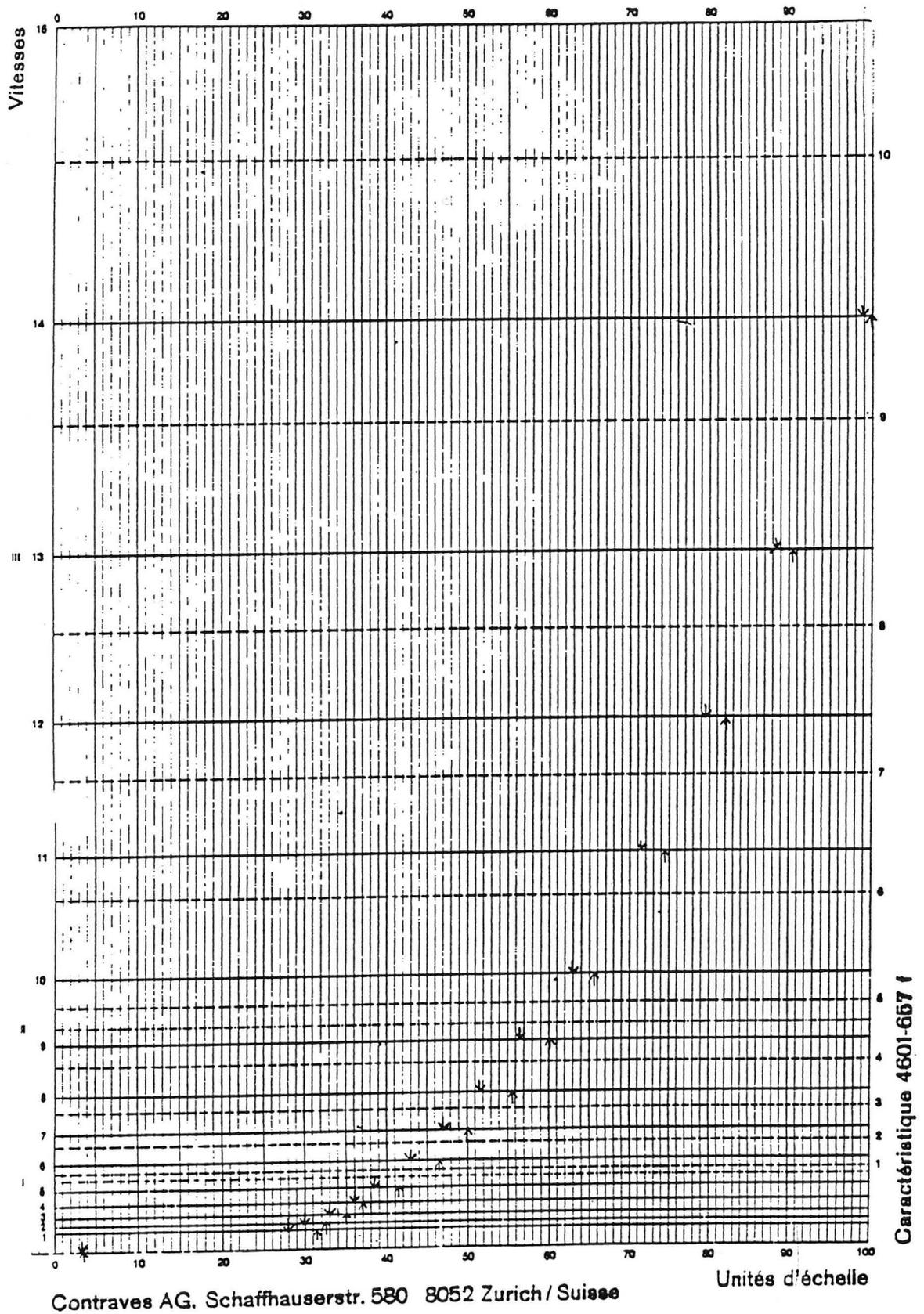
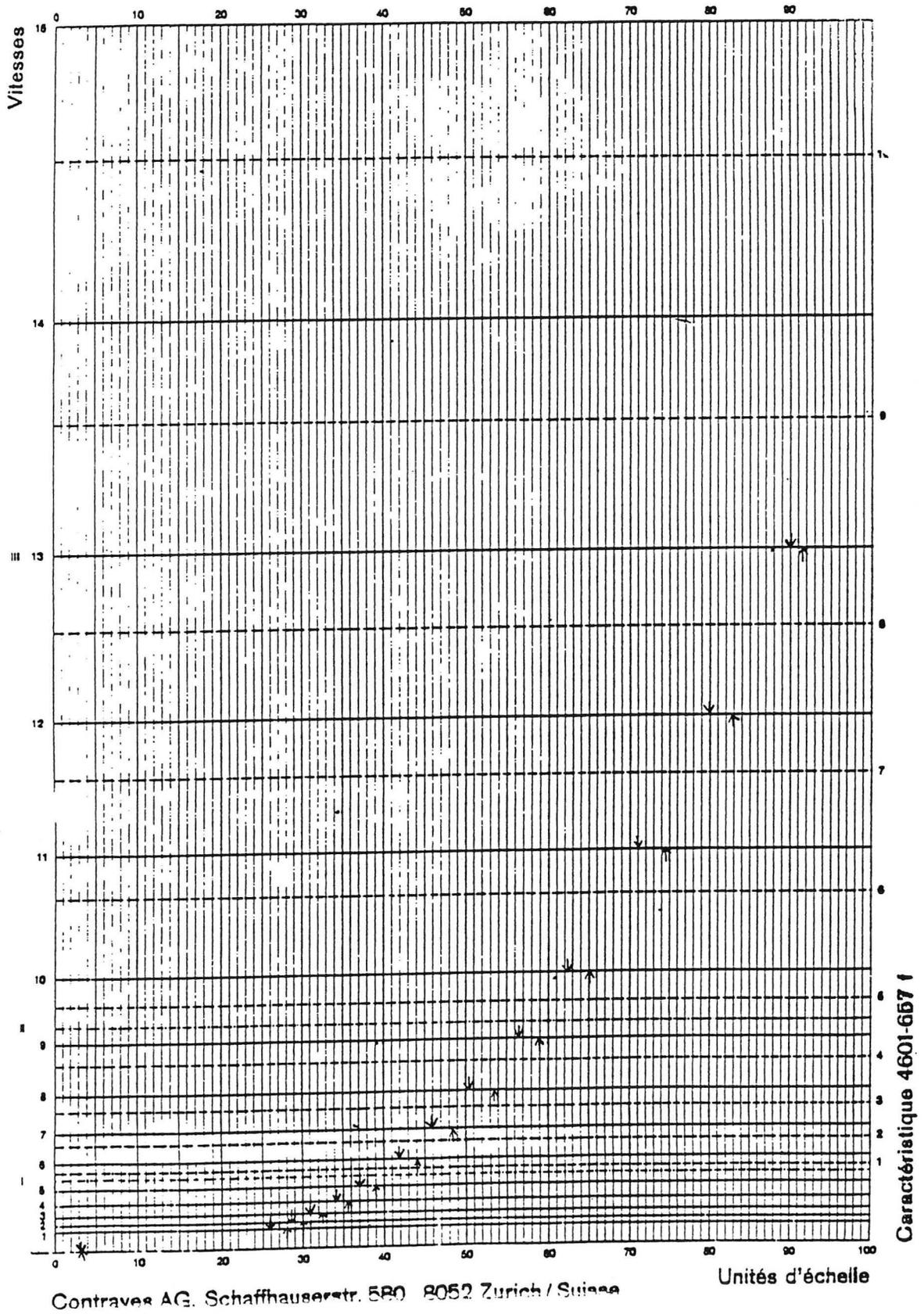


Figure n°2 : rhéogramme de l'émulsion après conservation un mois à 40°C



#### **1.2.5.4. Interprétation**

Dans les deux cas, l'allure de la courbe reflète un comportement pseudoplastique. Pour les fluides pseudoplastiques, c'est la viscosité apparente en un point qui est calculée, en choisissant une valeur de vitesse élevée mais pas extrême. Nous avons choisi la vitesse 13. Nous comparerons donc la viscosité apparente au point 13 pour les différentes étapes du vieillissement de l'émulsion.

La viscosité apparente se calcule à partir de la moyenne des 3 valeurs (en gras dans le tableau) pour chaque mesure, et après correction des valeurs lues grâce à des tables correspondant à l'appareillage.

La viscosité apparente au point 13 est de 32,0 poises 24 heures après fabrication, et de 31,4 poises après conservation un mois à 40°C. La viscosité n'est pas significativement modifiée par ce vieillissement, et si elle ne l'est pas plus après un an, cela sera le signe d'une absence de floculation (confirmant l'observation microscopique).

#### **1.2.6. L'EVALUATION DE LA DURETE**

##### **1.2.6.1. Matériel**

Pénétrömètre de Malher

Récipient pour la prise d'essai

Emulsion après fabrication et après conservation un mois à 40°C

Thermomètre

Talc

Pied à coulisse

### 1.2.6.2. Méthode

Le récipient de mesure est rempli d'émulsion, arrasé et disposé sur la tablette du pénétromètre, sous le mobile de 45 grammes enduit d'une fine pellicule de talc, et la surface de l'émulsion est amenée au contact de la pointe du cône, dont l'axe est vertical.

Trois minutes après la libération du mobile, le cône est retiré et le diamètre correspondant à l'enfoncement est mesuré au pied à coulisse. A partir de ce diamètre, la dureté est calculée selon la formule :

$$\frac{10 (45 - 0,131 x^3)}{1,11 x^2}$$

Trois mesures sont effectuées, et x est la moyenne des 3 valeurs trouvées en centimètres.

### 1.2.6.3. Résultats

Pour une température de 25°C, le diamètre moyen après fabrication est de 5,6 centimètres, donc la dureté de 6,54, et après conservation un mois à 40°C, le diamètre moyen est de 5,4 centimètres, et la dureté de 7,53 .

### 1.2.6.4. Interprétation

La pénétrométrie montre ici, pour une différence de 2 millimètres de diamètre, une différence de dureté de 1 unité. Cette dureté

augmente légèrement avec le vieillissement si l'on considère pouvoir s'appuyer sur une lecture à 2 millimètres près.

## **1.2.7. LA MESURE DE LA CAPACITE A L'ETALEMENT**

### **1.2.7.1. Matériel**

Plaques de verre de 25x25 centimètres (poids de la plaque supérieure = 605 grammes)

Crèmes pour les mains (choix : voir l'avant propos), émulsion 3 mois après fabrication, et après un mois à 40°C

Chronomètre Robur ® antichoc

Balances Sartorius 2462 ® et Mettler P3 ®

Seringues en plastique

### **1.2.7.2. Méthode**

Après mesure de la température, un millilitre de chaque crème à tester est prélevé à la seringue (pesée avant et après le prélèvement afin de s'assurer qu'il n'a pas été prélevé d'air), puis déposé au centre de la plaque inférieure (à l'intersection des deux diagonales préalablement tracées). La plaque supérieure est alors ajustée à la plaque inférieure au dessus du dépôt de crème, et lâchée en même temps que le chronomètre est déclenché. Après 3 minutes, le diamètre de la tache obtenue est mesuré (D1) et un poids de 500 grammes est déposé au centre de la plaque supérieure. Le diamètre est de nouveau mesuré après 3 minutes (D2).

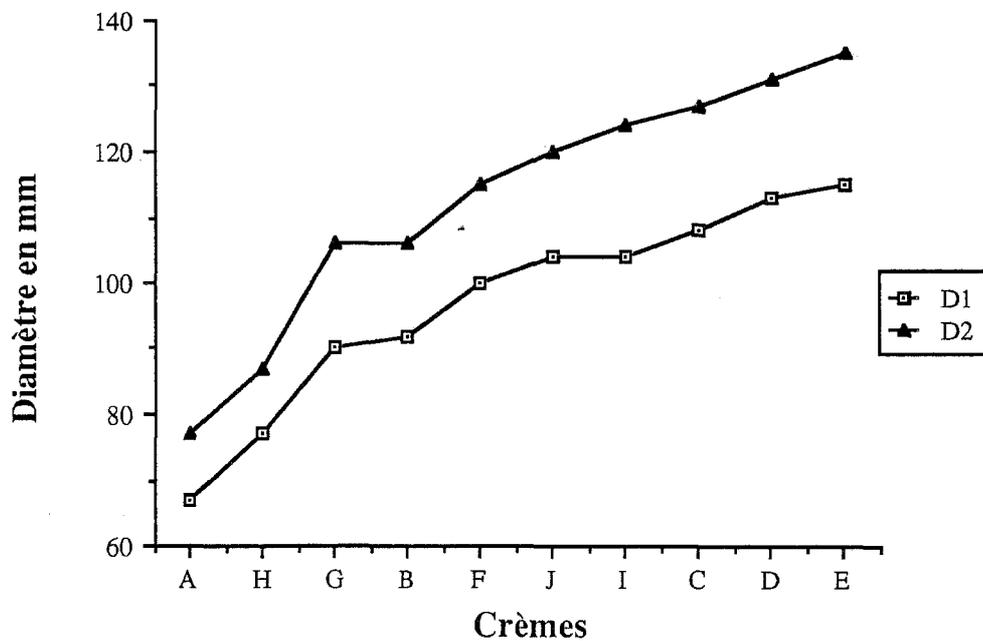
### 1.2.7.3. Résultats

Les mesures ont été réalisées à une température comprise entre 25,5 et 26°C. Les résultats sont portés dans le tableau IX.

Code	Crème	Laboratoire	D1	D2
A	Gel mains ®	Dermophil Indien	67	77
B	Soin Mains et Ongles ®	Dermophil Indien	92	106
C	Manuphyl crème ®	L'Homme de Fer	108	127
D	Crème mains ®	Juvex	113	131
E	Crème mains ®	Klorane	115	135
F	Crème multiprotection mains ®	Lierac	100	115
G	Crème mains (Biorégène) ®	Jacques G Paltz	90	106
H	Crème mains ®	SVR	77	87
I	Emulsion 3 mois après fabrication	CHRUG	104	124
J	Emulsion après un mois à 40°C	CHRUG	104	120

Tableau IX : diamètre en millimètres des taches d'étalement

Figure n°3 : diamètres D1 et D2 des crèmes testées



#### 1.2.7.4. Interprétation

La figure n°3 montre que l'action pendant 3 minutes du poids de 500 grammes améliore légèrement la sensibilité de la méthode. Elle permet également de constater d'une part que l'émulsion se situe dans le même ordre de valeurs que les crèmes pour les mains testées, d'autre part qu'il n'y a pratiquement pas de différence entre l'étalement de l'émulsion conservée 3 mois à température ambiante (I) et celle ayant passé un mois à 40°C (J).

### 1.2.8. LE DOSAGE DES CONSERVATEURS

#### 1.2.8.1. Essai limite des parahydroxybenzoates de méthyle et de propyle sodés

Leur concentration maximale autorisée est de 0,8% en acide pour les mélanges d'esters. Dans l'émulsion, leur concentration théorique est de 0,1% chacun, soit 0,2% au total.

##### 1.2.8.1.1. Méthode colorimétrique

La méthode fait agir le réactif de Millon\* sur les parahydroxybenzoates (PHB) après extraction.

---

\* : formule en annexe n°3

#### 1.2.8.1.1.1. Matériel

Acide acétique

Chloroforme

Eau distillée

Réactif de Millon

Verrerie de laboratoire

PHB de Méthyle et de propyle sodés

Emulsion après fabrication et après un mois à 40°C.

#### 1.2.8.1.1.2. Méthode

Cinq grammes d'émulsion sont agités avec un mélange de 18 millilitres d'acide acétique et 12 millilitres de chloroforme jusqu'à dissolution de l'échantillon. Après séparation des phases et évaporation de la phase chloroformique au bain-marie bouillant, le résidu est repris par 5 millilitres d'eau distillée et placé dans un tube à essais.

La solution témoin renferme la concentration maximale autorisée soit 0,4% de chacun des PHB exprimé en acide, ou encore 0,51 grammes de PHB de méthyle sodé et 0,59 grammes de PHB de propyle sodé pour 100 millilitres. Cinq millilitres de solution témoin sont placés dans un tube à essais.

Dans chacun des deux tubes, 1 millilitre de réactif de Millon est ajouté et mélangé. Les colorations obtenues après 5 minutes au bain-marie bouillant sont comparées.

### 1.2.8.1.1.3. Résultats, interprétation

La coloration obtenue pour l'essai est moins importante que celle obtenue pour le témoin, la concentration en PHB totaux de l'émulsion est donc inférieure à la concentration maximale admissible, et ce après fabrication comme après un mois à 40°C.

### 1.2.8.1.2. Méthode chromatographique

#### 1.2.8.1.2.1. Matériel

Feuilles plastiques préparées pour chromatographie sur couche mince de 20x20 centimètres, F1500 LS254 : gel de silice avec ajout fluorescent à 254 nanomètres référence 355 101 Schleicher et Schüll ®

Solvant de développement : méthanol 0,1; chloroforme 0,9

Cuve de développement

Pipettes en pyrex de 10 microlitres Corning ®

Lampe UV Bioblock Scientific ®

Emulsion après fabrication et après un mois à 40°C

PHB de méthyle et PHB de propyle sodés

#### 1.2.8.1.2.2. Méthode

Un gramme de pommade est extrait par 10 millilitres de chloroforme en milieu acide et 10 microlitres de la solution filtrée sur sulfate de sodium anhydre sont déposés.

Dix microlitres de solution témoin renfermant 51 milligrammes de PHB de méthyle sodé et 57 milligrammes de PHB de propyle sodé dans 100 millilitres sont déposés.

Les taches obtenues sont comparées sous lampe UV.

#### 1.2.8.1.2.3. Résultats, interprétation

Après fabrication comme après conservation un mois à 40 °C, la méthode permet de séparer pour essai et témoin, deux taches de Rf différent, correspondant à chacun des deux esters. Les taches sont moins intenses pour l'essai que pour le témoin : la concentration maximale autorisée n'est pas atteinte.

#### 1.2.8.2. Essai limite de l'imidazolidinylurée

Sa concentration maximale autorisée est de 0,6%.

##### 1.2.8.2.1. Matériel

Spectrophotomètre Acta ® C III Beckman

1,3 dihydroxynaphtalène

Acide chlorhydrique

Méthanol

##### 1.2.8.2.2. Méthode

1.2.8.2.2.1. Préparation de la solution étalon à 0,05 milligrammes par millilitre d'imidazolidinylurée

1.2.8.2.2.2. Préparation de l'échantillon par dilution au dixième dans l'eau

1.2.8.2.2.3. Préparation du réactif

A 0,25 gramme de 1,3 dihydroxynaphtalène dans 50 millilitres d'eau est ajoutée une solution de 30 millilitres d'acide chlorhydrique concentré dans 70 millilitres d'eau. Le réactif est filtré et doit être utilisé le même jour.

1.2.8.2.2.4. Gamme étalon et dosage

Dans des fioles jaugées de 50 millilitres sont versés :

quantité de produit en mg	0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6
solution étalon ml	0	2	4	6	8	10	12
eau ml	12	10	8	6	4	2	0
réactif ml	15	15	15	15	15	15	15

qté théorique de produit (mg)	0,3
dilution de l'émulsion ml	1
eau ml	11
réactif ml	15

Après 1 heure au bain-marie à 70°C, les fioles sont refroidies dans un bain de glace puis ajustées à 50 millilitres avec du méthanol. L'absorption de toutes les solutions est mesurée à 520 nanomètres.

### 1.2.8.2.3. Résultats

1.2.8.2.3.1. Après fabrication

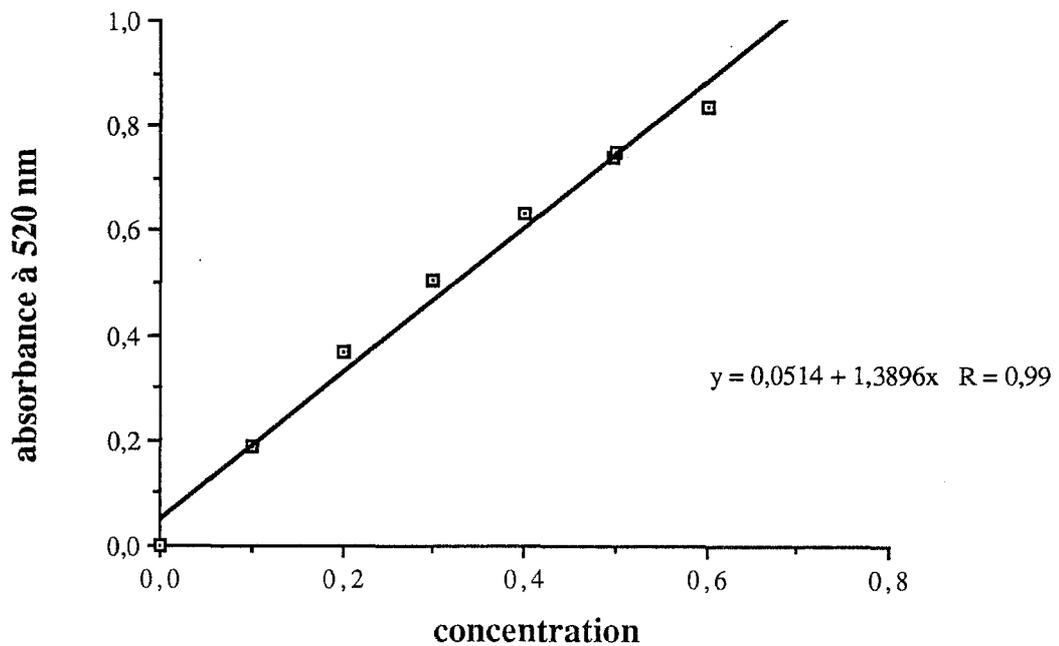
Les résultats sont portés dans le tableau X.

concentration	0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	dosage
absorbance à 520 nm	0	0,191	0,365	0,504	0,634	0,748	0,836	0,742

Tableau X : Dosage initial de l'imidazolidinylurée

La droite d'étalonnage correspondante est tracée (figure n°4), et la formule de la droite obtenue permet de calculer pour le dosage une concentration de 0,5%.

Figure n°4 : dosage de l'imidazolidinylurée, droite d'étalonnage



## 1.2.8.2.3.2. Après conservation 1 mois à 40°C

concentration	0	0,3	0,6	dosage
absorbance à 520 nm	0	0,530	0,878	0,708

Tableau XI : essai limite de l'imidazolidinylurée après conservation

1.2.8.2.4. Interprétation

A l'œil, la coloration obtenue pour l'essai est bien moins intense que pour le témoin. Cependant, la solution correspondant à l'essai n'est pas limpide en raison des globules lipidiques, qui sont à l'origine d'une absorption à 620 nanomètres. Ceci explique que l'absorption obtenue pour l'essai soit supérieure à celle obtenue pour sa concentration théorique. Néanmoins, malgré la gêne que représente l'absorption due aux globules lipidiques, l'essai est valable en tant qu'essai limite : coloration à l'œil et absorption à 520 nanomètres sont moindres pour l'essai que pour la concentration maximale admissible, et ce après fabrication comme après un mois de conservation à 40°C.

**1.2.9. L'INDICE DE PEROXYDE**1.2.9.1. Matériel

Verrerie de laboratoire : fioles, pipettes, burette, éprouvette

Chloroforme

Acide acétique

Solution saturée d'iodure de potassium

Solution de thiosulfate de sodium 0,01N

### 1.2.9.2. Méthode

Cinq grammes (m) d'émulsion sont agités avec un mélange de 18 millilitres d'acide acétique et de 12 millilitres de chloroforme jusqu'à dissolution de l'échantillon. Après addition de 0,5 millilitres de solution saturée d'iodure de potassium, agitation 1 minute et addition de 30 millilitres d'eau, une titration par le thiosulfate 0,01N est effectuée jusqu'à disparition de la coloration jaune, ce qui consomme  $n_1$  millilitres de thiosulfate de sodium 0,01N.

Un témoin effectué dans les mêmes conditions consomme  $n_2$  millilitres de thiosulfate ( $n_2$  doit être inférieur à 0,1 ml).

L'indice de peroxyde  $I_p$  se calcule selon la formule :

$$I_p = \frac{10 (n_1 - n_2)}{m}$$

### 1.2.9.3. Résultats

Après fabrication, l'indice de peroxyde est nul. Après conservation un mois à 40°C, l'indice de peroxyde est de 0,8.

### 1.2.9.4. Interprétation

L'absence de peroxydes après fabrication est bon signe. La faible évolution après conservation un mois à 40°C peut être considérée comme satisfaisante. La valeur limite souhaitée après un an de conservation est de 1.

## 1.2.10. CONTROLE DU CONDITIONNEMENT ET RECHERCHE D'UNE INTERACTION CONTENANT-CONTENU

### 1.2.10.1. Examen à l'œil nu et/ou à l'aide d'un dispositif de grossissement, de la surface intérieure des tubes

#### 1.2.10.1.1. Matériel

Séréomicroscope DRC Carl Zeiss ® muni d'un dispositif photographique Contax 139 Quartz ®

Eclairage Schott KL 1500 ®

---

#### 1.2.10.1.2. Méthode

L'observation porte sur la continuité du vernis, le jointage faisant l'objet d'une attention particulière.

#### 1.2.10.1.3. Résultats

Les photos n°2 à 5 représentent le revêtement interne des tubes, neufs ou après un mois à 40°C, sur zone intacte ou sur plicature.

Photo n°2 : tube neuf

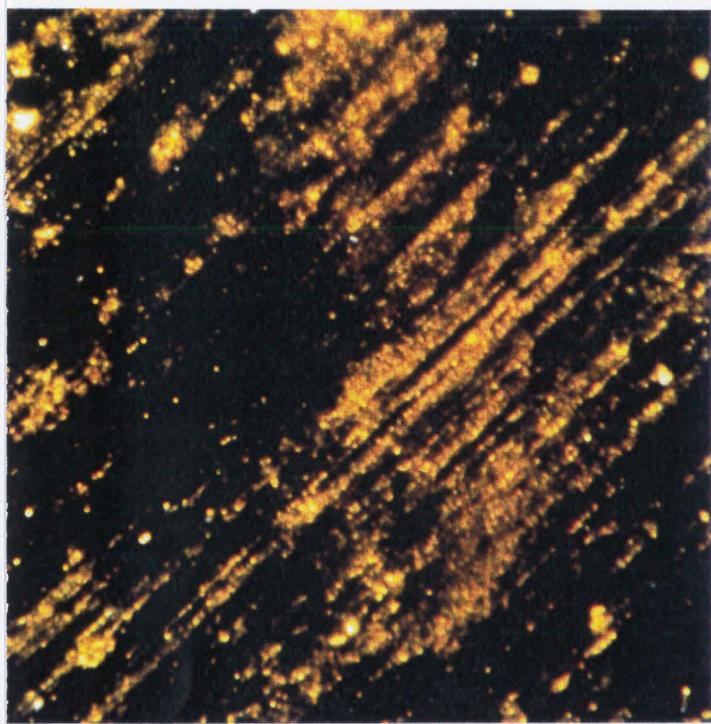


Photo n°3 : tube neuf sur plicature

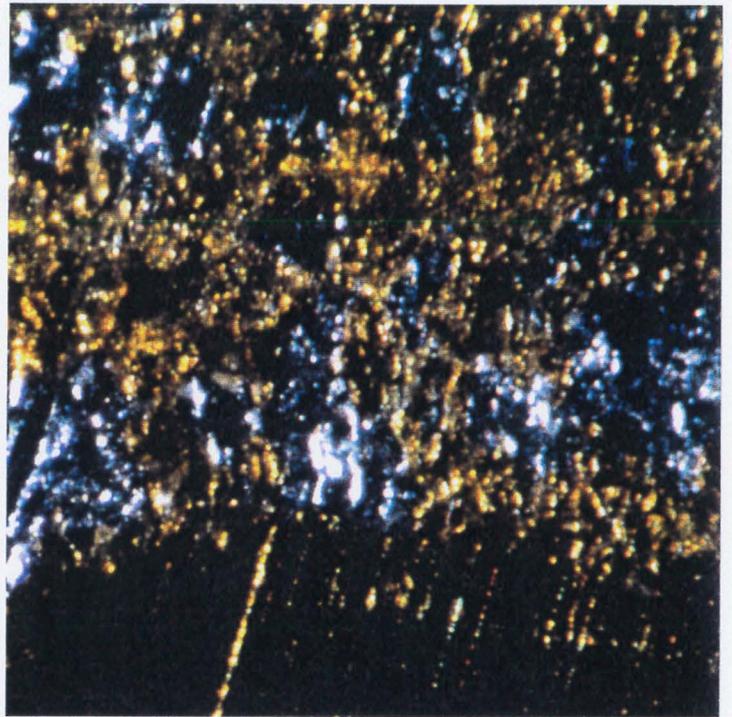


Photo n°4 : tube étuve 1 mois

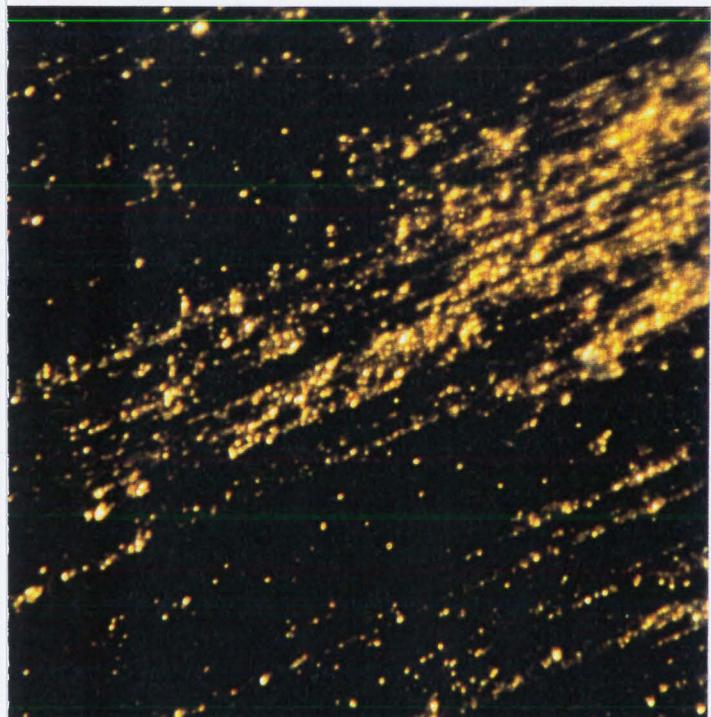
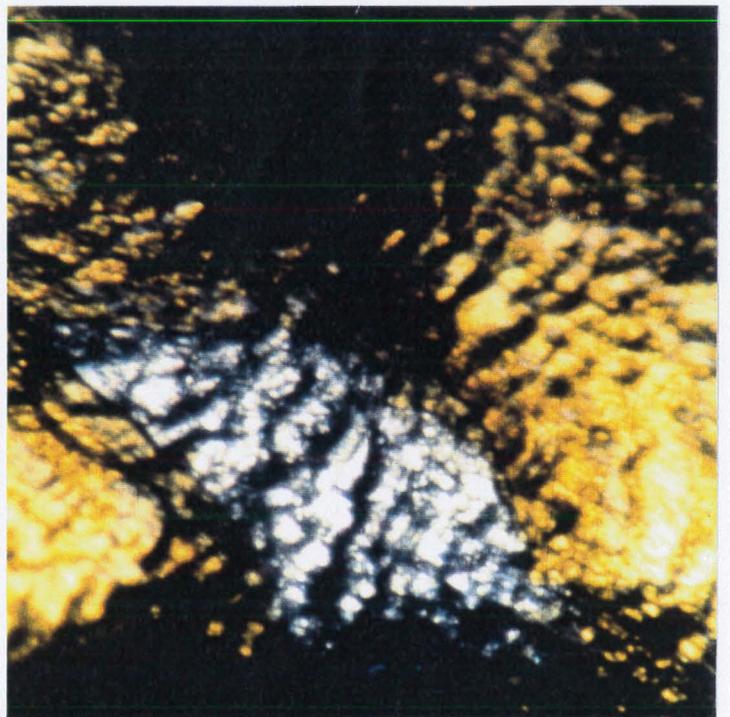


Photo n°5 : tube étuve 1 mois sur plicature



L'observation macroscopique d'un tube neuf et d'un tube ayant contenu l'émulsion pendant un mois à 40°C montre un vernis continu, lisse, non endommagé. L'observation microscopique au grossissement 80 (photos n°2 à 5) met en évidence les rainures du vernis. L'observation est comparable pour les deux tubes. Dans les deux cas, des plicatures sont visibles avec écailles du vernis.

#### 1.2.10.1.4. Interprétation

L'existence de ces écailles peut être imputée à la manœuvre de mise à plat du tube, ce qui expliquerait leur présence sur les tubes neufs. Dans l'hypothèse où ces écailles seraient présentes même sur les tubes intacts, l'observation du métal découvert ne montre pas de corrosion, même après contact un mois à 40°C avec l'émulsion.

#### 1.2.10.2. Test à l'acétone

##### 1.2.10.2.1. Matériel

Tube ouvert et mis à plat

Acétone

Tampon de coton

##### 1.2.10.2.2. Méthode

Vingt-cinq allers et retours d'une pression modérée sont effectués avec un tampon de coton préalablement imbibé d'acétone. Puis l'observation porte d'une part sur le tampon, d'autre part sur le vernis.

### 1.2.10.2.3. Résultats

Le tampon reste blanc et le film du vernis intact et brillant.

### 1.2.10.2.4. Interprétation

Le degré de polymérisation du vernis est satisfaisant même après contact avec l'émulsion pendant un mois à 40°C.

### 1.2.10.3. Test au chlorure mercurique

#### 1.2.10.3.1. Matériel

Solution de chlorure mercurique à 5% dans l'eau distillée

Tampon de coton

Tube ouvert et mis à plat

#### 1.2.10.3.2. Méthode

Un badigeonnage avec la solution de chlorure mercurique est suivi d'un temps de réaction de 10 minutes.

#### 1.2.10.3.3. Résultat

Il n'apparaît pas d'efflorescence blanche.

#### 1.2.10.3.4. Interprétation

La porosité du vernis est satisfaisante.

#### 1.2.10.4. Test du triangle

##### 1.2.10.4.1. Matériel

Tubes ouverts et mis à plat

Ciseaux

##### 1.2.10.4.2. Méthode

Le test consiste à déchirer une languette triangulaire après avoir pratiqué 2 encoches distantes de 1 centimètre environ. Le sommet déchiré est observé.

##### 1.2.10.4.3. Résultats

Sur un tube neuf comme sur un tube après contact un mois à 40°C avec l'émulsion, le sommet déchiré n'est pas dénudé.

##### 1.2.10.4.4. Interprétation

L'adhérence du vernis est acceptable si le sommet observé n'est pas dénudé de plus de 5 millimètres, ce qui est le cas.

2.

## DEUXIEME PARTIE : ESSAIS MICROBIOLOGIQUES

## **2.1. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE**

Les émulsions en particulier si leur phase continue est aqueuse, sont des préparations à haut risque de contamination microbienne, due d'abord aux matières premières et à l'environnement au cours de la fabrication et du conditionnement, puis due aussi aux utilisateurs.

A moins que la formule ne permette de s'en dispenser, la protection par des conservateurs est nécessaire.

Des contrôles microbiologiques sont indispensables. Ils consistent :

- d'une part, à évaluer la contamination microbienne du produit fini, il s'agit alors d'un test de routine et de stabilité,
- d'autre part, à vérifier l'efficacité des conservateurs au sein de la formule considérée, il s'agit là d'un test de stabilité.

### **2.1.1. L'ESSAI DE CONTAMINATION MICROBIENNE**

#### **2.1.1.1. Méthodes**

La monographie "Pommades" de la Pharmacopée Française X<sup>ème</sup> édition prévoit que "si la préparation est destinée à être appliquée sur des plaies ouvertes importantes ou sur une peau gravement atteinte, elle devrait être stérile" et donc satisfaire à l'essai de stérilité (18).

Une émulsion adoucissante pour les mains et par conséquent destinée à une peau saine ne relève donc pas de cette monographie mais du "contrôle de la contamination microbienne dans les produits non obligatoirement stériles" (19). La méthode prescrite dans le Journal Officiel parmi les méthodes officielles d'analyse des

cosmétiques (20) est lourde à mettre en œuvre pour un contrôle de routine.

### 2.1.1.2. Normes

Il n'existe pas actuellement de norme officielle fixant la contamination microbienne tolérée pour les produits non obligatoirement stériles.

En ce qui concerne le contrôle quantitatif, les valeurs usuellement retenues sont variables selon les auteurs :

- $10^2$  germes revivifiables par millilitre ou par gramme de produit (21),
- $10^3$  bactéries et  $10^2$  levures et moisissures par millilitre ou par gramme de produit (6),
- $5 \cdot 10^2$  bactéries aérobies et  $5 \cdot 10^2$  levures et moisissures par gramme de produit (10), valeur que nous retiendrons car elle est intermédiaire.

Le contrôle microbiologique qualitatif doit montrer l'absence dans 1 gramme de produit d'entérobactéries, de *Staphylococcus aureus*, de *Pseudomonas aeruginosa* (6, 10, 21) et de *Candida albicans* (21).

### 2.1.1.3. Procédure

#### 2.1.1.3.1. L'échantillonnage

L'échantillon moyen de 10 grammes ou 10 millilitres est obtenu par mélange de plusieurs prélèvements effectués au hasard sur l'ensemble des unités du lot à analyser (19, 20, 21) dans des conditions permettant d'éviter tout risque de contamination

accidentelle du produit au cours de l'essai (19). Il est dilué au dixième (19).

#### 2.1.1.3.2. La neutralisation des conservateurs

Les substances antimicrobiennes présentes dans le produit à analyser (notamment les conservateurs) vont inhiber le développement des germes. Il faut annihiler leur action avant le contrôle microbiologique, sinon elle risque d'être à l'origine de faux négatifs : l'absence de développement de germes ne sera pas consécutive à la propreté microbiologique de l'émulsion, mais à l'action des conservateurs.

##### 2.1.1.3.2.1. Dilution

L'élimination des propriétés antimicrobiennes des conservateurs est souvent obtenue grâce aux dilutions imposées par les tests, surtout pour les alcools, les acides benzoïque et sorbique, et de façon moins étendue pour les composés phénoliques et les esters de l'acide parahydroxybenzoïque.

Dans le cas contraire, la technique de filtration sur membrane avec rinçage de la membrane après filtration, ou une technique par dilution neutralisation avec utilisation d'agents inactivateurs des conservateurs, doivent être employées (19, 22).

##### 2.1.1.3.2.2. Filtration

Lorsque le produit à contrôler l'autorise, la filtration sur membrane (diamètre nominal maximal des pores : 45  $\mu\text{m}$ ) est une méthode

qui permet à la fois l'élimination des conservateurs par lavages successifs de la membrane après filtration de l'échantillon, et l'isolement des germes présents après mise en culture de la membrane (18, 19, 21, 22).

#### 2.1.1.3.2.3. Neutralisation

Quand dilution et filtration sont impossibles, des agents inactivateurs convenables des conservateurs doivent être ajoutés au produit à contrôler. L'association de polysorbate 80 et de lécithine est recommandée pour les ammoniums quaternaires et la chlorhexidine, le polysorbate 20 ou 80, pour les phénols et les esters de l'acide parahydroxybenzoïque (10, 22).

#### 2.1.1.3.3. Dénombrement

En dehors de la technique de filtration, le dénombrement des germes peut être réalisé en séries de dilution, ou sur plaques de gélose en inclusion ou en surface (19).

On utilise pour dénombrer les bactéries le milieu trypticase-soja placé à 30-35°C pendant 5 jours, et pour dénombrer les levures et moisissures le milieu de Sabouraud placé à 20-25°C pendant 10 jours. Un millilitre de l'échantillon dilué est mélangé à 15 ml de milieu gélosé liquéfié dont la température n'excède pas 45°C.

Après les délais d'incubation,

- soit il n'y a pas de microorganisme et le produit est microbiologiquement propre,

- soit le nombre de germes rapporté à 1 millilitre ou 1 gramme d'émulsion dépasse la norme retenue et le produit est rejeté,
- soit le nombre de germes rapporté à 1 millilitre ou 1 gramme de produit est compris entre 0 et la valeur limite de contamination retenue ; il faut alors s'assurer de l'absence des germes suivants, par des subcultures sur les milieux sélectifs correspondants et éventuellement par la recherche de critères complémentaires (21) (tableau XII).

germe	milieu	lecture	recherche complémentaire
Staphylococcus aureus	Chapman	colonies jaune-orange entourées d'une auréole jaune	coagulase désoxyribonucléase phosphatase
Pseudomonas aeruginosa	milieu gélosé de cétrimide	colonies verdâtres fluorescentes	oxydase pousse à 42°C dans le milieu trypticase soja
Entérobactéries	gélose lactosée au TTC et tergitol	coloration violette ou jaune halo sous-jacent bleu ou jaune	

Tableau XII : recherche des germes pathogènes.

L'absence de ces microorganismes (Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, entérobactéries) permet d'accepter le produit.

---

\* : TTC = chlorure de 2-3-5 triphényltétrazolium

#### **2.1.1.4. Remarques**

- Le test de contamination microbienne peut sembler sévère. En fait, si les contrôles des matières premières sont corrects, si la fabrication est réalisée dans des conditions d'aseptie permettant d'éviter les contaminations, et si la formule est efficacement protégée par un système conservateur, alors la contamination est bien inférieure aux normes.

- Test de routine à effectuer sur chaque lot après fabrication, le contrôle de la contamination microbienne appliqué à intervalles de temps régulier (par exemple tous les 15 jours) sur des tubes en cours d'utilisation peut permettre de définir une durée maximum d'utilisation, qui correspond au temps au bout duquel la valeur limite de contamination acceptable retenue est atteinte.

#### **2.1.2. L'ESSAI D'EFFICACITE DES CONSERVATEURS**

- L'efficacité d'un agent de conservation peut être modifiée par des facteurs dus au conservateur lui-même (spectre d'activité, concentration, solubilité en phase aqueuse, temps de contact avec les germes), à la formule qu'il doit protéger (pH, autres composants de la formulation), ou encore au conditionnement.

Un système de conservation doit donc être testé sur le produit cosmétique fini (22).

### 2.1.2.1. Principe

Contrôler l'efficacité des conservateurs consiste à inoculer la préparation avec une quantité déterminée de germes connus, si possible dans son conditionnement définitif, et à suivre l'évolution de cette contamination au cours du temps.

### 2.1.2.2. Méthodes

Il existe différentes méthodes de contrôle de l'efficacité des conservateurs, publiées par :

- l'United States Pharmacopœia (USP XX)
- la Cosmetic, Toiletry and Fragrance Association (CFTA)
- la Society of Cosmetic Chemist of Great Britain
- la British Pharmacopœia (BP)
- la Fédération Internationale Pharmaceutique (FIP)

ou encore la méthode de régression linéaire (6, 22).

Ces méthodes sont regroupées dans le tableau XIII.

Nom de la méthode	USP XX	CFTA	Sec of Coem Chem of GB	BP 1980
Microorganismes tests	Staphylococcus aureus Pseudomonas aeruginosa Escherichia coli Candida albicans Aspergillus niger	Staphylococcus aureus Pseudomonas aeruginosa Escherichia coli, et/ou Proteus, Enterobacter, Klebsiella Candida albicans Aspergillus niger Penicillium luteum Bacillus subtilis var globigii ou Bacillus cereus	Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis Pseudomonas aeruginosa, Pseudomonas fluorescens Escherichia coli, Klebsiella aerogenes, Proteus morganii Streptococcus faecalis Champignons	Staphylococcus aureus Pseudomonas aeruginosa Candida albicans Aspergillus niger
Niveau d'inoculation	100 000 à 1000 000 germes par ml de produit	1 000 000 germes par ml ou par g de produit	100 000 à 10 000 000 germes par ml de produit	1 000 000 germes par g ou par ml de produit
Quantité de produit à inoculer	5 récipients d'origine ou 5x20 ml	au moins 20 ml ou g de produit	30 ml de produit	
Volume de l'inoculat	0,1ml pour 20 ml de produit		0,1 ml	pas plus de 1% de l'échantillon en poids ou en volume
Température de stockage	celle du produit ou 20-25°C	température ambiante	22°C, 32°C, 37°C	20-25°C
Dates de prélèvement	J7-J14-J21-J28	J0-J1-2-J7-J14-J28	J0-J7-J14-J28-J56	0-6h-24h-48h J7-J14-J28
Volume prélevé	1 ml	1 g ou 1 ml		1g ou 1ml
Inactivation des conservateurs	citée	citée		citée
Contrôle		formulation sans conservateurs	formulation sans conservateurs	inoculat dans de l'eau peptonée à 0,1%
Taux de réduction minimum	à J14: bactéries: réduction de 3 log par rapport à J0 qui doit se poursuivre jusqu'à J28 à J14 et à J28: champignons: pas d'augmentation par rapport à J0	à J7: bactéries: réduction de 3 log par rapport à J0 qui doit se poursuivre jusqu'à J28 à J7: champignons: réduction de 1 log par rapport à J0 qui doit se poursuivre jusqu'à J28	Un faible taux doit être observé pendant les 3 premiers échantillonnages hebdomadaires	bactéries: diminution de 3 log par rapport à J0 en 48 h, et élimination complète à 7 jours et plus champignons: diminution de 2 log par rapport à J0 en 7 jours, et élimination complète à 28j et plus

Nom de la méthode	FIP	Ph. Française X	Régression linéaire	Noire choix
Microorganismes tests	Staphylococcus aureus Pseudomonas aeruginosa Escherichia coli Candida albicans Aspergillus niger	Staphylococcus aureus Pseudomonas aeruginosa Candida albicans Aspergillus niger		Staphylococcus aureus Pseudomonas aeruginosa Candida albicans Aspergillus niger
Niveau d'inoculation	100 000 à 500 000 germes par g ou par ml de produit	100 000 germes par ml ou par g de produit	variable	100 000 germes par ml ou par g de produit
Quantité de produit à inoculer	20 g de produit		50 ml de produit	20 ml ou 20 g
Volume de l'inoculat	0,2 ml	pas plus de 1% du volume de produit	0,1 ml	pas plus de 1% du volume de produit
Température de stockage	24-26°C	24-26°C		20-25°C
Dates de prélèvement	J0-J1-J7-J14 J21-J28-J42	J0-J14-J28	heures suivant l'inoculation	J0-J14-J28
Volume prélevé	1g			1g ou 1ml
Inactivation des conservateurs	citée	citée		citée
Contrôle	inoculat dans une solution tampon peptonée de NaCl			inoculat dans une solution tampon peptonée de NaCl
Taux de réduction minimum	à J14: bactéries: réduction de 3 log par rapport à J0 qui doit se poursuivre jusqu'à J28 à J14: champignons: pas d'augmentation ou réduction de 1 log par rapport à J0 qui doit se poursuivre jusqu'à J28	à J14: bactéries: réduction de 3 log par rapport à J0 qui doit se poursuivre jusqu'à J28 à J14: champignons: réduction de 1 log par rapport à J0 qui doit se poursuivre jusqu'à J28	D=temps nécessaire à la réduction de 1 log des germes ne doit pas excéder 4 h pour les microorganismes pathogènes (Staph. aureus, Ps. aeruginosa) et 48 h pour les bactéries non pathogènes, les levures, les moisissures	à J14: bactéries: réduction de 3 log par rapport à J0 qui doit se poursuivre jusqu'à J28 à J14: champignons: réduction de 1 log par rapport à J0 qui doit se poursuivre jusqu'à J28

Tableau XIII : méthodes de contrôle de l'efficacité des conservateurs

Les caractéristiques retenues sont, lorsque cela est précisé, celles qui concernent les préparations se rapprochant le plus de l'émulsion cosmétique.

Nous nous sommes référés à la méthode publiée dans la Pharmacopée Française X<sup>ème</sup> édition en janvier 1989 (23). Lorsque certaines précisions n'y figurent pas, ou lorsque leur réalisation pratique se révèle malaisée (exemple : la température de conservation des échantillons ensemencés), nous avons retenu les critères les plus fréquemment retrouvés parmi les méthodes figurant dans le tableau XIII.

#### 2.1.2.3. Périodicité de cet essai

Ce test doit être réalisé lors de la conception du produit pour sélectionner le système de conservation le plus efficace, et lors de l'étude de stabilité notamment à la date de péremption du produit après vieillissement à température ambiante, et, s'il y a lieu, à la température de stockage (6, 10).

En effet, la distribution des conservateurs d'une émulsion varie au cours du temps en fonction des conditions de conservation, et la résistance de l'émulsion aux contaminations microbiennes doit être périodiquement évaluée (4).

## **2.2. PARTIE EXPERIMENTALE**

### **2.2.1. ESSAI PRELIMINAIRE : VALIDATION DU DILUANT NEUTRALISANT**

L'émulsion à contrôler renferme 3 conservateurs:

- parahydroxybenzoate de méthyle sodé à la concentration de 0,1%
- parahydroxybenzoate de propyle sodé à la concentration de 0,1%
- imidazolidinylurée à la concentration de 0,3%.

La neutralisation de leur action lors des numérations microbiologiques doit permettre d'éviter les faux négatifs ou des erreurs par défaut. La filtration sur membrane s'est révélée impossible à cause du colmatage du filtre par les globules lipidiques.

#### **2.2.1.1. But**

Il s'agit de montrer si l'adjonction à l'émulsion d'un diluant neutralisant est nécessaire avant incorporation aux milieux de culture lors des essais de contamination microbienne et d'efficacité des conservateurs.

#### **2.2.1.2. Principe**

Des dilutions de crème réalisées parallèlement avec du diluant neutralisant (DN)\* et avec une solution saline peptonée ou eau peptonée salée (EPS)\* sont contaminées par un nombre déterminé

---

\* formules en annexe n°4

de germes puis ensemencées sur des plaques de gélose pour dénombrer les microorganismes.

### 2.2.1.3. Matériel

Germes : Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Candida albicans, Aspergillus niger, souches hospitalières

Milieux gélosés : trypticase-soja (TS)\* pour les bactéries, Milieu de Sabouraud (S)\* pour les champignons

Emulsion conservée 1 mois à 4°C

Diluants : EPS\* ou DN\*

Boîtes de Pétri, pipettes, seringues, tubes stériles

Spectrophotomètre Acta ® C III Beckman

Agitateur TOP-MIX ® 94323 Bioblock Scientific

Cellule de Malassez

### 2.2.1.4. Méthode

Préparation de l'inoculum de Staphylococcus aureus et de Pseudomonas aeruginosa : à partir d'une culture du germe sont réalisés une mise en suspension dans de l'eau peptonée salée, un ajustement de l'absorbance à 620 nanomètres à une valeur comprise entre 0,2 et 0,3 pour Pseudomonas aeruginosa, entre 0,3 et 0,45 pour Staphylococcus aureus. La suspension ajustée contient entre 1 et 3. 10<sup>8</sup> cellules par millilitres (24). Elle est alors diluée de façon à renfermer environ 10<sup>6</sup> germes par millilitre.

---

\* formules en annexes n° 4 et 5

Préparation de l'inoculum de *Candida albicans* : à partir d'une culture du germe, sont réalisés une mise en suspension dans de l'eau peptonée salée, un dénombrement sur cellule de Malassez puis si nécessaire, une dilution de façon à obtenir environ  $10^6$  germes par millilitre.

Préparation de l'inoculum d'*Aspergillus niger* : à partir d'une culture du germe, une suspension est réalisée où le nombre d'Unités Formant des Colonies (UFC) est déterminé par dénombrement sur plaques de gélose. La suspension est congelée juste après le prélèvement permettant ce dénombrement et sera décongelée et ajustée à  $10^6$  germes par millilitre au moment de son utilisation.

Contamination de l'émulsion à  $10^5$  germes par ml : à 1 millilitre d'émulsion prélevée à la seringue, dans un tube dont l'ouverture a été préalablement décontaminée à l'aide d'une compresse d'alcool à  $70^\circ$ , puis dont environ 1 millilitre de crème a été éliminé, est ajouté, dans un tube sec stérile, 0,1 millilitre de suspension à  $10^6$  germes par millilitre.

Après agitation, sont ajoutés 8,9 millilitres de diluant (soit EPS, soit DN). Après une nouvelle agitation, deux dilutions au dixième sont réalisées, permettant d'obtenir une concentration théorique de  $10^2$  germes par ml.

Un millilitre de ces suspensions est alors incorporé à 15 millilitres de milieu gélosé liquéfié dont la température n'excède pas  $45^\circ\text{C}$ . Pour chaque germe, 5 prélèvements sont ainsi traités avec diluant neutralisant et 5 avec eau peptonée salée.

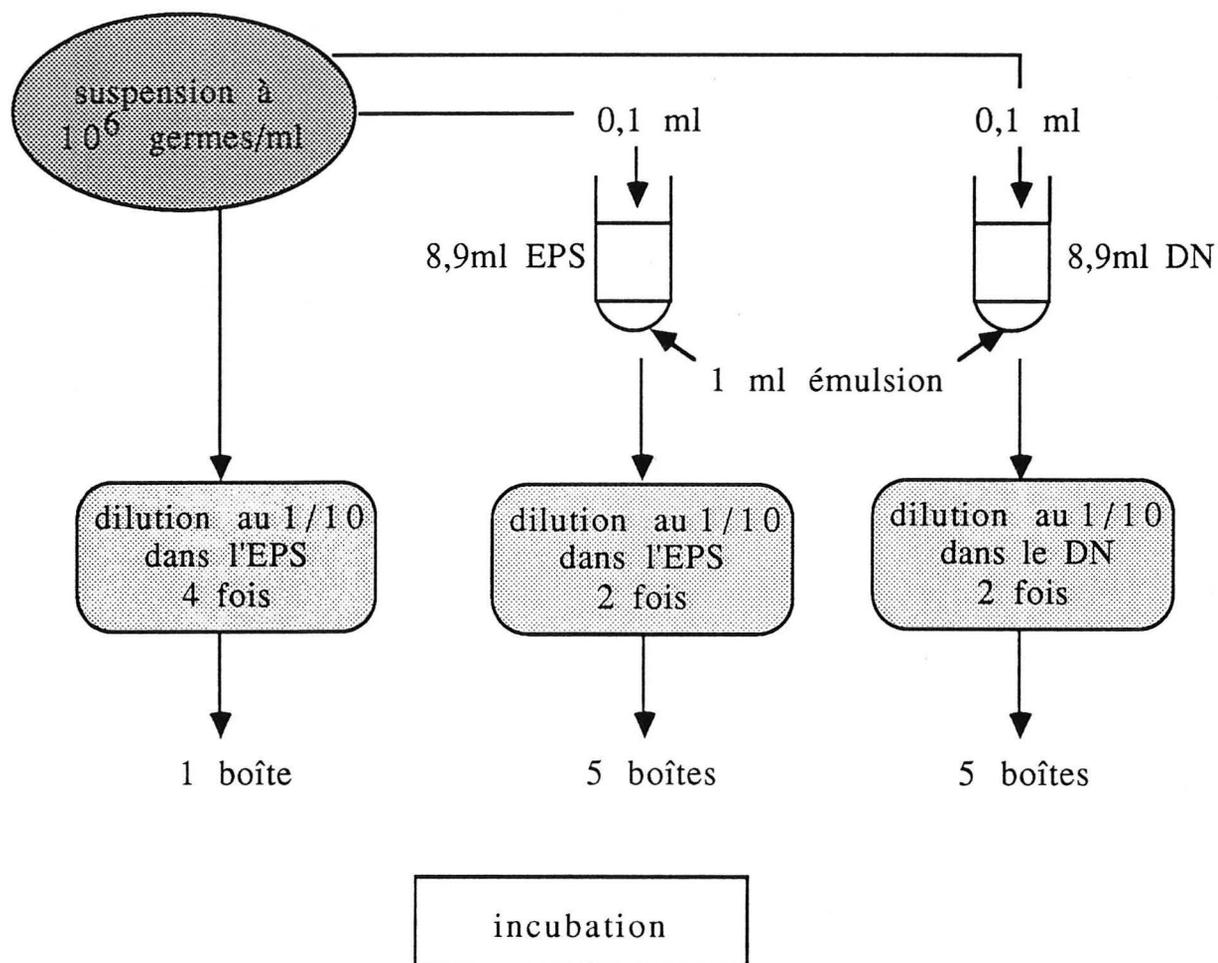
Pour contrôler le nombre de germes de l'inoculum, un témoin est réalisé par :

- dilutions au dixième en cascade dans de l'eau peptonée salée de la suspension à  $10^6$  germes par millilitre,

- incorporation au milieu gélosé en surfusion de 1 millilitre de la suspension à  $10^2$  germes par millilitre obtenue.

Les milieux trypticase-soja sont placés à l'étuve à  $37^\circ\text{C}$  pendant 48 heures, les milieux de Sabouraud à  $20-25^\circ\text{C}$  pendant 5 jours.

Figure n°5 : premier essai préliminaire : dilutions.



### 2.2.1.5. Résultats

Soit  $N_{DN}$  le nombre moyen de colonies dans les milieux avec diluant neutralisant,  $N_{EPS}$  le nombre moyen de colonies dans les milieux

sans diluant neutralisant, et  $N_T$  le nombre de colonies dans le témoin (sans émulsion).

Nombre moyen de colonies	Staphylococcus aureus	Pseudomonas aeruginosa	Candida albicans	Aspergillus niger
$N_{DN}$	145	190	39	34
$N_{EPS}$	154	130	52	37
$N_T$	158	172	40	41

Tableau XIV : résultats de l'essai préliminaire

#### 2.2.1.6. Interprétation

Pour un germe donné, les valeurs de  $N_{DN}$  et  $N_{EPS}$  sont très peu différentes : le phénomène de dilution suffit donc à annuler l'effet des conservateurs.

Le diluant neutralisant ne nuit pas au développement des microorganismes puisque  $N_{DN}$  est peu différent de  $N_T$ .

#### 2.2.1.7 Conclusion

Dans les tests de contamination microbienne et d'efficacité des conservateurs à réaliser, l'effet de la dilution annihile l'action des conservateurs. Le diluant neutralisant n'est pas nécessaire. Cependant, nous choisissons de l'utiliser pour réaliser les dilutions

au cours des tests microbiologiques parce qu'il présente l'avantage de faciliter la dilution de l'émulsion.

### **2.2.2. TEST DE CONTAMINATION MICROBIENNE**

L'évaluation de la contamination microbienne devra être effectuée en routine sur chaque lot de fabrication. Elle permet de montrer si les Bonnes Pratiques de Fabrication en ce qui concerne l'hygiène ont été respectées.

Dans le cadre de l'étude de stabilité de l'émulsion, nous avons choisi de la déterminer sur des échantillons d'un même lot :

- juste après fabrication,
- après un mois de conservation à 40°C,
- après un an de conservation à température ambiante,
- après un an de conservation à 4°C,

dans le but d'attribuer au produit un délai de péremption de un an. Enfin, 10 tubes de ce même lot de fabrication ont été distribués à 10 utilisateurs acceptant d'appliquer la crème sur leurs mains une fois tous les jours ou tous les deux jours pendant une durée indéterminée. Sur ces 10 tubes le test de contamination microbienne a été réalisé tous les 15 jours jusqu'à ce qu'un délai maximum d'utilisation après ouverture puisse être établi. Puisqu'il s'agit du même lot, le contrôle initial de ces 10 tubes est aussi le contrôle juste après fabrication de l'étude de stabilité, simplement au lieu de tester un échantillon moyen de 10 grammes issu du mélange de plusieurs prélèvements effectués au hasard, chacun des 10 tubes est testé individuellement afin d'affiner l'interprétation au lieu de conclure à une contamination globale.

### 2.2.2.1. Matériel

Milieux gélosés : trypticase-soja\* et milieu de Sabouraud\*

Seringues de 1 ml stériles

Pipettes stériles de 1 ml, 10 ml

Tubes secs stériles

Boîtes de Pétri

Compresses

Alcool à 70°C

Diluant neutralisant\*

Agitateur TOP-MIX ® 94323 Bioblock Scientific

### 2.2.2.2. Méthode

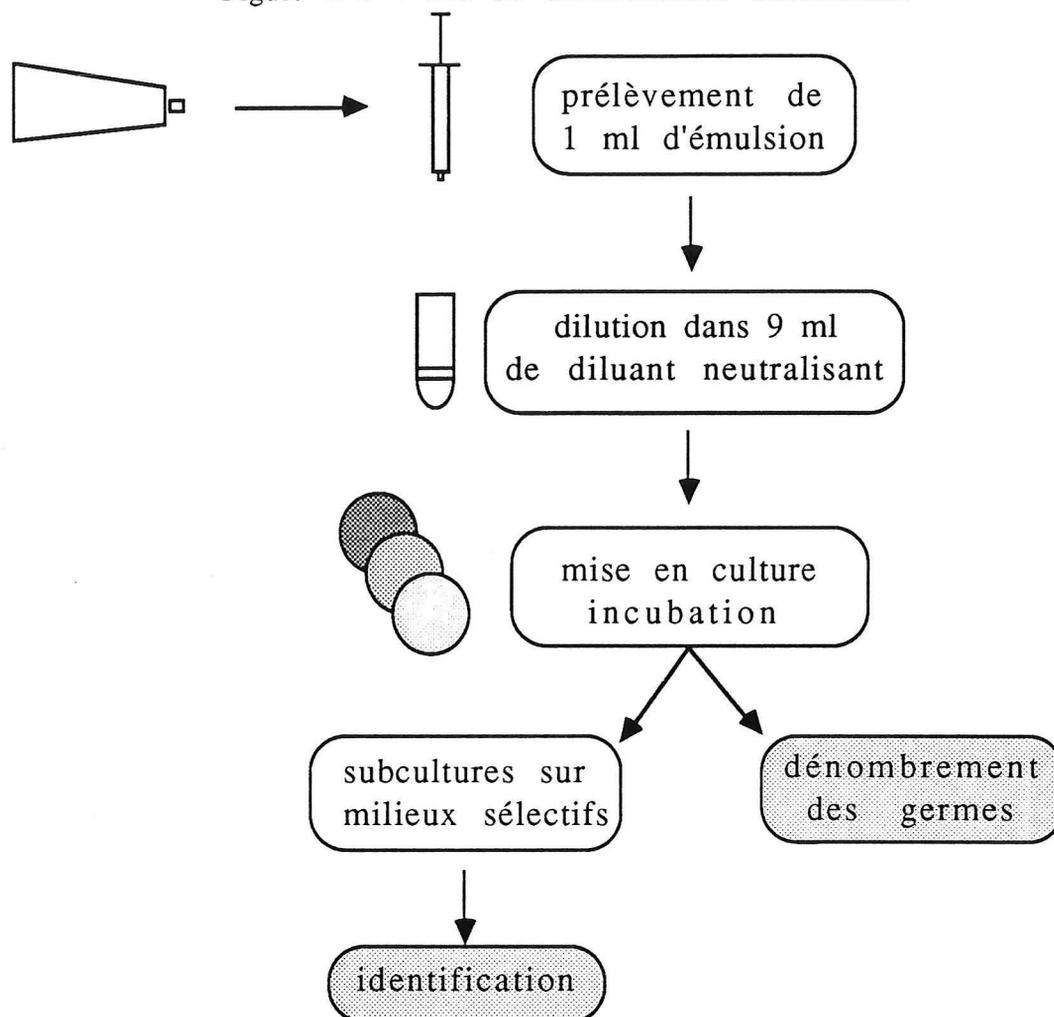
Prélèvement, dilutions : un millilitre d'émulsion est prélevé à la seringue dans chacun des 10 tubes dont l'ouverture est décontaminée par une compresse imbibée d'alcool à 70°C et dont environ 1 millilitre de crème est éliminé. Ce prélèvement est mélangé à 9 ml de diluant neutralisant.

Ensemencement : un millilitre de la dilution au dixième ainsi obtenue est mélangé dans une boîte de Pétri à 15 millilitres de milieu gélosé liquéfié dont la température n'excède pas 45°C, milieu trypticase-soja pour la recherche des bactéries, milieu de Sabouraud pour la recherche des champignons.

---

\* formules en annexe n°4 et 5

Figure n°6 : test de contamination microbienne



Incubation, lecture : les milieux trypticase-soja sont placés à 37°C, lus après 48 heures, et vérifiés après une semaine. Les milieux de Sabouraud sont incubés à 22°C, lus après 5 jours, et vérifiés après deux semaines.

Vérification de l'absence de *Staphylococcus aureus*, de *Pseudomonas aeruginosa* et d'entérobactéries : lorsque les milieux trypticase soja renferment entre 1 et 50 colonies, c'est à dire lorsque l'émulsion renferme entre 1 et 500 germes par millilitre, ils sont adressés au service de bactériologie du CHRUG pour une recherche de germes pathogènes.

### 2.2.2.3. Résultats

La contamination microbienne après fabrication est nulle.

Le test de contamination microbienne après conservation un mois à 40°C a montré 2 germes par millilitre d'émulsion, et l'absence des germes pathogènes recherchés.

La contamination microbienne des 10 tubes en cours d'utilisation est rapportée dans les tableaux XV et XVI. L'absence de germes pathogènes a été montrée, sauf à J75 dans le tube de l'utilisateur n°1, où la présence de *Staphylococcus aureus* a été mise en évidence.

tube N°	J0	J15	J30	J45	J60	J75	J90	J105
1	0	0	0	0	1610	350**	0	0
2	0	10	0	1	170	120	0	0
3	0	0	0	0	0	10	0	0
4	0	10	0	0	0	130	40	10
5	0	0	0	0	0	100	80	0
6	0	0	0	0	0	50	90	50
7	0	0	10	*	0	60	20	20
8	0	10	0	0	0	360	0	10
9	0	0	0	0	0	80	20	0
10	0	0	0	0	0	1460	0	10
Moyenne	0	3	1	1,1	178	272	25	10

\* Tube non testé

\*\* Présence de *Staphylococcus aureus*

Tableau XV : nombre d'UFC par ml d'émulsion (bactéries)

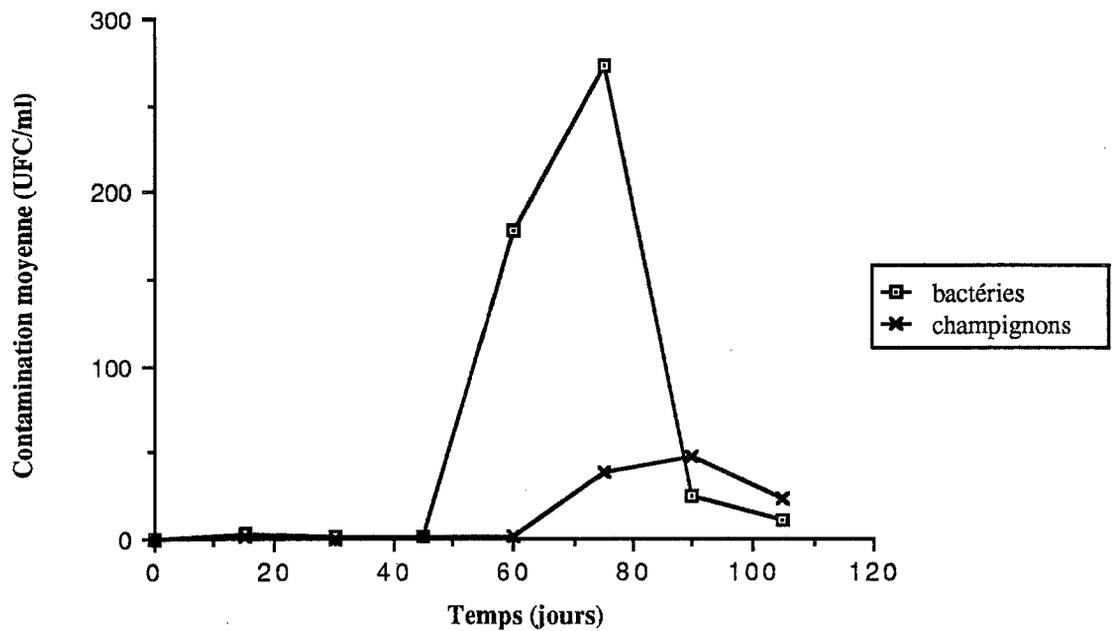
N° tube	J0	J15	J30	J45	J60	J75	J90	J105
1	0	0	0	0	0	0	140	50
2	0	10	0	0	0	0	20	80
3	0	0	0	0	0	160	40	0
4	0	0	0	0	0	0	30	20
5	0	0	0	10	0	0	10	10
6	0	0	0	0	0	150	90	60
7	0	0	0	*	0	20	100	0
8	0	0	0	10	0	40	40	0
9	0	0	0	0	10	20	0	10
10	0	0	0	0	0	0	10	0
Moyenne	0	1	0	1,1	1	39	48	23

\* Tube non testé

Tableau XVI : nombre d'UFC par ml d'émulsion (champignons)

La contamination moyenne, valeur qui aurait été trouvée si les prélèvements avaient été mélangés en un échantillon moyen, est calculée dans la dernière ligne des tableaux XV et XVI, et représentée en fonction du temps sur la figure n°7.

Figure n° 7 : contamination moyenne des tubes en cours d'utilisation



#### 2.2.2.4. Interprétation

La contamination microbienne de l'émulsion, juste après fabrication et après conservation un mois à 40°C, sont dans les valeurs acceptées.

Il en est de même pour la contamination des tubes en cours d'utilisation jusqu'à J45 inclus. A J60, 3 tubes présentent une contamination dont une (tube de l'utilisateur n°10) est quantitativement inacceptable et une (tube de l'utilisateur n°1) est qualitativement inacceptable en raison de la présence de *Staphylococcus aureus*.

L'ensemble des utilisateurs participant au test appartient à un service pharmaceutique de l'hôpital et ne présente pas de risque particulier de présence au niveau des mains de germes pathogènes,

à l'exception de l'utilisateur n°1 qui manipule quotidiennement dans un laboratoire de contrôle microbiologique, des germes dont font partie les microorganismes recherchés.

L'émulsion est destinée à être distribuée dans les unités de soin du CHU, où les risques de contact avec ces germes pathogènes peuvent être élevés. Même si la contamination moyenne des tubes à J60 est quantitativement (179 germes par millilitre) et qualitativement acceptable, nous choisissons comme délai d'utilisation après ouverture la durée de 6 semaines.

La concentration en microorganismes n'est pas uniforme dans la phase aqueuse de l'ensemble du contenu du tube. Elle reflète la contamination dans la zone proche de l'ouverture du tube. C'est ce qui explique que les valeurs trouvées à J90 et J105 sont moins élevées que celles de J75. Le prélèvement réalisé à J75 a éliminé un grand nombre de germes et l'utilisation moins assidue de la crème les deux dernières semaines explique les taux de contamination plus faibles.

C'est bien la contamination dans cette zone proche de l'ouverture qu'il est intéressant d'évaluer puisque c'est là que l'utilisateur prélève la crème qu'il applique sur ses mains.

### **2.2.3. TEST D'EFFICACITE DES CONSERVATEURS**

Le contrôle de l'efficacité des conservateurs doit être réalisé sur un même lot à la fabrication et à la date de péremption, c'est-à-dire pour l'émulsion après conservation un an à température ambiante et un an à 4°C. Nous avons également choisi de le réaliser après avoir fait subir à ce lot une température de 40°C pendant une durée de un mois.

Après avoir ensemencé le produit avec les microorganismes tests, il faut répartir les germes de la façon la plus homogène possible. Cette homogénéisation s'avérant impossible dans les tubes de crème, nous avons choisi de contaminer l'émulsion dans des pots en plastique stériles (normalement destinés à recueillir les urines des cytobactériologies urinaires), conservés à l'abri de la lumière pendant la durée du test.

### 2.2.3.1. Matériel

Emulsion

Pots en plastique stériles

Pipettes Pasteur

Germes : Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Candida albicans, Aspergillus niger, souches hospitalières

Eau peptonée salée\*, diluant neutralisant\*

Boîtes de Pétri

Milieux gélosés : trypticase soja\* et milieu de Sabouraud\*

Seringues et pipettes stériles

Agitateur TOP-MIX ® 94323 Bioblock Scientific

### 2.2.3.2. Méthode

#### 2.2.3.2.1. Préparation des suspensions de germes

Elle se fait par ajustement de l'absorbance à 620 nanomètres pour Staphylococcus aureus et Pseudomonas aeruginosa, par numération

---

\* formules en annexes n°4 et 5

à la cellule de Malassez pour *Candida albicans*, par numération sur plaque de gélose et congélation pour *Aspergillus niger* (voir 2.2.1.1.4.). Les suspensions sont diluées de façon à renfermer  $10^7$  germes par millilitre.

#### 2.2.3.2.2. Ensemencement de l'émulsion

Les pots en plastique stériles sont pesés avant (P1) et après (P2) qu'y soient introduits approximativement 20 millilitres d'émulsion. La différence  $D=P2-P1$  en grammes permet de calculer le volume exact en millilitres ( $D/100$ ) de suspension à  $10^7$  germes par millilitres à ajouter dans chaque pot pour que le niveau d'innoculation soit de  $10^5$  germes par gramme d'émulsion, avec un volume d'inoculat inférieur ou égal à 1% du volume d'émulsion. Trois pots seront ainsi préparés pour chaque germe. Le mélange se fait à la pipette Pasteur passée à la flamme puis à l'agitateur TOP-MIX®.

#### 3.2.3.2.3. Détermination immédiate du nombre d'UFC par millilitre d'émulsion

Deux prélèvements de 1 millilitre précédés d'une agitation au vortex sont effectués dans chaque pot, à l'aide d'une seringue stérile privée d'aiguille. Ils subissent des dilutions au dixième en cascade dans du diluant neutralisant jusqu'à contenir  $10^2$  germes par millilitre. Un millilitre de chacune de ces suspensions est alors mélangé dans une boîte de Pétri à 15 millilitres de milieu gélosé liquéfié dont la température n'excède pas  $45^\circ\text{C}$ , milieu trypticase

soja pour les bactéries et milieu de Sabouraud pour les champignons.

Les milieux trypticase-soja sont lus après 48 heures à 37°C et les milieux de Sabouraud après 5 jours à 22°C.

Un témoin est réalisé pour chaque germe à partir de la suspension à  $10^7$  germes par millilitre, par dilutions au dixième en cascade jusqu'à  $10^2$  germes par millilitre, et mise en culture en inclusion dans le milieu gélosé approprié.

#### 2.2.3.2.4. Conservation des pots

Elle se fait à 20-25°C, à l'abri de la lumière.

#### 2.2.3.2.5. Détermination à J14 et à J28 du nombre d'UFC par millilitre

cf 2.2.3.2.3.

### 2.2.3.3. Résultats

#### 2.2.3.3.1. Test d'efficacité des conservateurs pratiqué 24 heures après fabrication

germe contaminant	contamination : germes/ml			réduction	
	initiale	à J14	à J28	à J14	à J28
Staphylococcus aureus	$0,66.10^5$	0	0	totale	maintenue
Pseudomonas aeruginosa	$0,4.10^5$	0	0	totale	maintenue
Candida albicans	$0,76.10^5$	$10^2$	0	3 log	maintenue
Aspergillus niger	$0,81.10^5$	$2,5.10^2$	$1,2.10^2$	2,5 log	maintenue

Tableau XVII : efficacité des conservateurs après fabrication

#### 2.2.3.3.2. Test d'efficacité des conservateurs pratiqué après un mois à 40°C

germe contaminant	contamination : germes/ml			réduction	
	initiale	à J14	à J28	à J14	à J28
Staphylococcus aureus	$1,1.10^5$	0	0	totale	maintenue
Pseudomonas aeruginosa	$1,1.10^5$	0	0	totale	maintenue
Candida albicans	$0,2.10^5$	$2.10^2$	0	2 log	maintenue
Aspergillus niger	$0,4.10^5$	$2,3.10^2$	0	2,5 log	maintenue

Tableau XVIII : efficacité des conservateurs après un mois à 40°C

#### **2.2.3.4. Interprétation**

Après fabrication comme après conservation un mois à 40°C, la réduction du taux de bactéries est totale à J14 et se maintient à J28, et la réduction du taux de champignons est supérieure à 1 log à J14 et se maintient à J28.

Le test montre donc une efficacité des conservateurs satisfaisante après fabrication comme après un mois à 40°C. Il devra l'être également à la date de péremption.

3.

### TROISIEME PARTIE : ESSAIS DERMATOLOGIQUES

### 3.1. PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Le dernier volet de l'étude de cette émulsion avant sa distribution au sein de l'hôpital, consiste en un test sur l'homme, destiné à étudier sa tolérance, ses qualités cosmétiques, son efficacité, même si la législation actuelle limite les essais de tolérance obligatoires à l'animal (agressivité superficielle cutanée par applications itératives pendant 6 semaines et indice d'irritation primaire cutanée par application unique), et ne prévoit aucun test destiné à vérifier l'efficacité du produit fini.

Nous pouvons supposer que l'émulsion est efficace d'après sa formule : le sorbitol et le PCA Na ou sodium pyrrolidone carboxylate sont des humectants, leur action est renforcée par la présence de glycérides polyoxyéthylénés glycolysés (Labrafils ®) (1), les bases autoémulsionnables du type non ionique représentées par les différents stéarates de polyéthylène glycol (dont le Tefose 200®) "sont susceptibles de fournir des émulsions hydratantes en l'absence de tout élément spécifiquement hygroscopique" (25), l'extrait de matricaire apporte l' $\alpha$  bisabolol aux propriétés antiinflammatoires (1) et les corps gras forment un film occlusif (1). Tous ces éléments concourent à l'action adoucissante de l'émulsion.

Cette efficacité peut être mise en évidence par des tests, in vitro (par exemple par gravimétrie) (26) avec une extrapolation prudente, ou in vivo, en exploitant les propriétés électriques de la peau (cornéomètre) (27, 28, 29, 30), ses propriétés mécaniques (twistomètre) (27, 31), en évaluant sa conductivité thermique (25), ou encore en quantifiant la desquamation (31) grâce à la

squamétrie. Les techniques d'investigation sont multiples, leur objectif étant de déterminer des paramètres quantifiables, outils indispensables à la recherche scientifique. Mais chacun de ces tests doit, pour prouver sa validité, être corrélé à l'évaluation clinique et/ou à la perception de l'utilisateur (31, 32) contrôlées statistiquement.

L'efficacité peut être vérifiée par des tests cliniques, par évaluation de critères dermatologiques prédéfinis, tels que la sécheresse et l'aspect écailleux, la perte de la transparence, la blancheur due aux squames perçus par le clinicien (31). La cotation peut se faire de façon classique sur une échelle de 0 à 3 points, ou par une marque sur une ligne de 10 centimètres dont l'une des extrémités représente une peau parfaite (31) (échelle non paramétrique).

Enfin l'efficacité peut être appréciée de façon subjective par les utilisateurs.

Nous avons choisi de réaliser un test d'usage sur l'homme, en milieu hospitalier, dans des conditions se rapprochant autant que possible des conditions d'utilisation, afin d'apprécier cliniquement la tolérance et l'efficacité de l'émulsion, et d'évaluer la perception de ses critères cosmétiques par l'utilisateur.

## **3.2. ESSAIS DERMATOLOGIQUES : PARTIE EXPERIMENTALE**

### **3.2.1. PROTOCOLE**

#### **3.2.1.1. Objectif**

L'objectif de cette étude est de mettre en évidence l'activité de l'émulsion adoucissante, d'en tester la tolérance et l'acceptabilité cosmétique.

#### **3.2.1.2. Critères de sélection**

##### **3.2.1.2.1. Critères d'inclusion**

Peuvent faire partie de l'étude :

- le personnel soignant du service de dermatologie du CHRUG (service du Professeur Amblard)
- le personnel de la Pharmacie Moidieu du CHRUG (service du Professeur Calop)
- leur point commun est de se laver régulièrement les mains avec le savon de leur service.

##### **3.2.1.2.2. Critères d'exclusion**

Une allergie connue à l'un des constituants de la crème ou des congés prévus durant la durée de l'essai font écarter l'utilisateur de l'étude.

### **3.2.1.3. Précautions d'emploi**

Les patients devront éviter l'usage d'autres crèmes hydratantes ou adoucissantes pendant la durée de l'essai. Ils seront informés du mode d'utilisation de la crème à savoir : un étalement sans friction.

### **3.2.1.4. Méthodologie**

Il s'agit d'une étude ouverte (sans placebo). La durée du test est de 2 semaines, avec application biquotidienne du produit sur le dos des mains. Un contrôle clinique a lieu au premier jour (J0) et après deux semaines (J14). Une enquête allergologique est effectuée en cas de réaction d'allergie.

### **3.2.1.5. Critères d'évaluation**

Un exemplaire de dossier patient figure en annexe n°6

#### **3.2.1.5.1. La tolérance**

Elle sera cotée par le patient sur une échelle analogique, et par ailleurs contrôlée par le clinicien.

#### **3.2.1.5.2. L'efficacité**

Elle est cotée par le clinicien de 0 à 3 pour les critères érythème, brûlures, suintements et desquamation. De plus l'efficacité subjective est cotée par le patient sur une échelle non

paramétrique, ainsi que les critères rougeur, picotements, démangeaisons, desquamation.

#### 3.2.1.5.3. L'acceptabilité cosmétique

Les patients sont interrogés à J14 sur les qualités cosmétiques de l'émulsion : couleur, odeur, sensation au toucher, étalement, pénétration, effet savon.

#### 3.2.1.6. Mise à disposition du produit

Un tube de 60 grammes est distribué à chaque testeur le premier jour et pour toute la durée de l'essai.

#### 3.2.1.7. Etude statistique

Le test utilisé pour comparer deux moyennes sur séries appariées dans le cas de petits échantillons est :

$$t = \frac{m}{s / \sqrt{N}}$$

où m est la moyenne des différences, s l'écart-type des N différences, et le facteur t calculé est comparé à celui donné par la table de t. (33)

### **3.2.2. RESULTATS**

Sur 31 personnes de sexe féminin ayant commencé le test, 25 personnes l'ont terminé, 3 personnes n'ont pas été joignables à J14,

et 3 ont arrêté l'application avant la fin de l'essai (dont 2 par abandon).

Le dépouillement des réponses obtenues sur les échelles non paramétriques est fait par découpage de chaque ligne à cocher en trois parties égales correspondant à l'appréciation "très bien à bien", "moyen" ou "mauvais", et en répertoriant les réponses dans chacune de ces catégories.

### 3.2.2.1. Efficacité

n° d'obs	desq J0	desq J14	desq J14-J0
2	0	0	0
3	0	0	0
4	1	0	-1
5	0	0	0
6	1	0	-1
9	1	0	-1
10	1	0	-1
11	1	0	-1
12	1	0	-1
13	1	1	0
14	0	0	0
16	1	0	-1
17	1	1	0
18	0	0	0
21	1	0	-1
22	0	0	0
23	1	0	-1
24	1	0	-1
25	2	1	-1
26	1	0	-1
27	2	0	-2
28	0	0	0
29	0	0	0
30	1	0	-1
31	0	0	0
moyenne	0,72	0,12	-0,60
écart-type	0,61	0,33	0,58

Tableau XIX : évaluation par le clinicien de la desquamation

	TB-B	Moyen	Mauvais	Total
rougeurs	24	0	1	25
desquamation	24	1	0	25
picotements	25	0	0	25
démangeaisons	25	0	0	25
efficacité subjective	15	10	0	25

Tableau XX : évaluation de l'efficacité par les patientes

### 3.2.2.2. Tolérance

	TB-B	Moyen	Mauvais	Total
tolérance	24	1	0	25

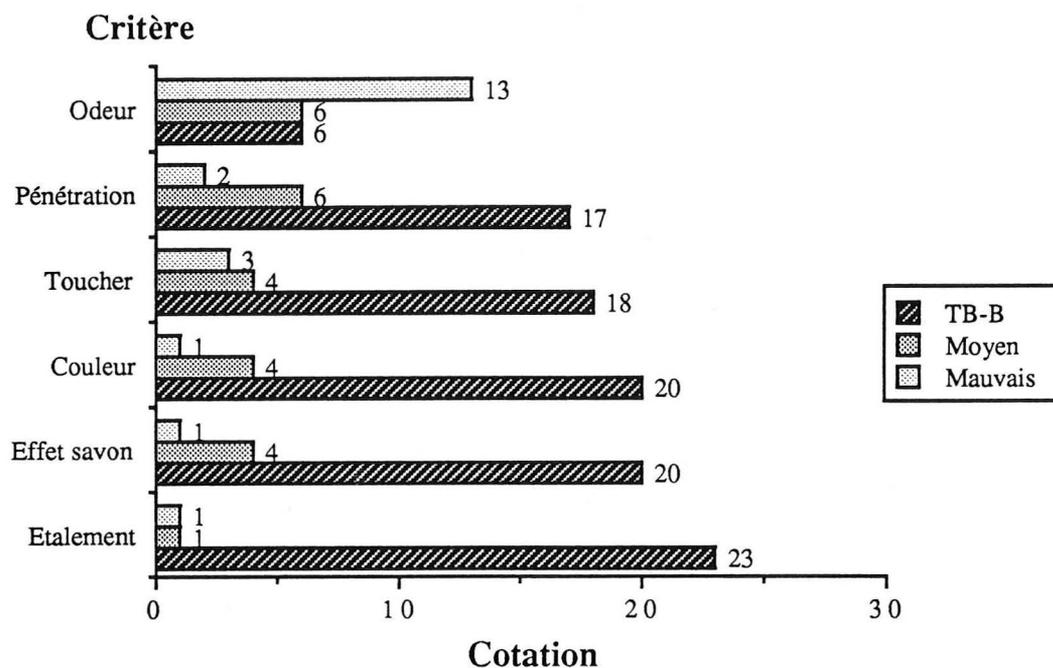
Tableau XXI : évaluation de la tolérance par les patientes

### 3.2.2.3. Critères cosmétiques

	TB-B	Moyen	Mauvais	Total
Couleur	20	4	1	25
Odeur	6	6	13	25
Toucher	18	4	3	25
Étalement	23	1	1	25
Pénétration	17	6	2	25
Effet savon	20	4	1	25

Tableau XXII : évaluation des critères cosmétiques par les patientes

Figure n° 8 : Appréciation cosmétique



### 3.2.3. INTERPRETATION

#### 3.2.3.1. L'efficacité

La différence entre la desquamation à J14 et la desquamation à J0 est significative : pour un risque d'erreur de 0,05 et 24 degrés de liberté, la table de t donne  $t = 2,064$ . Or  $t$  calculé =  $-5,17$ .

L'abaissement du critère desquamation par application de l'émulsion est un critère de son efficacité.

En ce qui concerne l'évaluation par le clinicien du critère érythème, sur 4 patientes cotées 1 sur 3 à J0, seules 2 sont cotées 1 sur 3 à J14. Aucune n'a montré brûlure ou suintement, ni à J0 ni à J14.

L'évaluation de l'efficacité subjective est satisfaisante : 60% des utilisatrices ont estimé que l'efficacité de l'émulsion est très bonne, 40% l'ont trouvée bonne ou moyenne, aucune ne l'a trouvée mauvaise. Les critères considérés sont les picotements et les démangeaisons (très bien à 100%) les rougeurs et la desquamation (très bien à 96%).

### **3.2.3.2. L'évaluation de la tolérance**

96% des utilisatrices estiment que la tolérance est très bonne, 4% la trouvent bonne à moyenne. L'une des patientes ayant abandonné l'essai l'a fait en raison d'une éruption aux plis du coude. Une enquête allergologique a écarté la responsabilité de l'émulsion.

### **3.2.3.3. Evaluation des critères cosmétiques**

Ont été jugées très bien :

- la couleur à 80%
- le toucher à 72%
- l'étalement à 92%
- la "pénétration" à 68%
- l'effet savon à 80%.

Par contre, l'odeur a été classée comme désagréable par 52% des utilisatrices, comme moyenne par 24% et comme très agréable par 24% des utilisatrices.

Les qualités cosmétiques de l'émulsion sont donc appréciées à l'exception de l'odeur qui est un problème susceptible de nuire à l'observance.

Les propriétés allergisantes des parfums font repousser la solution consistant à masquer l'odeur de la crème par adjonction d'une composition parfumée. Une solution consiste à remplacer l'huile d'avocat dans l'émulsion par de l'huile d'avocat désodorisée. La question reste posée de savoir si l'utilisation de cette crème au sein du CHRUG doit répondre à un besoin au même titre qu'un médicament de confort, ou à un plaisir dans la mesure où il s'agit d'un produit cosmétique.

## CONCLUSION

La mise au point des contrôles d'un produit fini nécessite, après une étude bibliographique, une adaptation en fonction des contraintes imposées :

- par les propriétés du produit,
- par les moyens techniques disponibles,
- par les délais impartis (durée du stage).

La réalisation pratique des contrôles de l'émulsion adoucissante destinée aux mains desséchées du personnel soignant du CHRUG a permis de montrer son acceptabilité en ce qui concerne :

**Les essais de tolérance cutanée sur l'animal (1) :**

l'indice d'irritation primaire cutanée de 0,29 permet de classer le produit comme "non irritant",  
le test d'agressivité superficielle cutanée par applications itératives pendant 6 semaines montre, grâce à un indice hebdomadaire moyen de 0,43, que le produit est bien toléré.

**Les essais physicochimiques :**

l'observation des caractères organoleptiques,  
l'examen microscopique,  
la détermination du type de l'émulsion,  
la mesure du pH,  
l'étude de la viscosité,  
la détermination de la dureté,  
l'étude de la capacité à l'étalement,

le dosage des conservateurs,  
la détermination de l'indice de peroxyde,  
le contrôle du conditionnement,  
l'étude de l'interaction contenant-contenu.

**Les essais microbiologiques :**

la contamination microbiologique,  
l'efficacité des conservateurs.

**Les essais dermatologiques :**

la tolérance,  
l'efficacité.

**L'appréciation cosmétique :**

la couleur,  
le toucher,  
l'étalement,  
la pénétration,  
l'effet "savon".

La répétition, après un an de conservation, de certains des tests mis au point, mettra fin à l'étude de stabilité, pour l'instant esquissée par conservation un mois à 40°C, et permettra l'attribution d'une date de péremption.

Certains points peuvent être optimisés concernant cette émulsion : l'huile d'avocat peut être remplacée par de l'huile d'avocat désodorisée, afin d'améliorer l'acceptabilité cosmétique dont l'odeur est le point faible. Par ailleurs l'étiquetage devra mentionner, outre l'origine "Pharmacie du CHR de Grenoble", l'appellation "crème adoucissante pour les mains", la date de fabrication, la date de péremption, les mentions "étaier sans friction", et "utiliser dans un délai de 6 semaines après ouverture" et le numéro de lot.

Avant sa distribution dans les services de l'hôpital, l'émulsion devra faire l'objet d'une présentation aux utilisateurs concernés, destinée à souligner l'intérêt porté au confort du personnel soignant, à exposer les modalités d'utilisation de cette crème, à en limiter l'emploi au sein de l'hôpital, à faire cesser l'utilisation pour les mains desséchées de préparations médicamenteuses détournées de leurs indications.

Ce travail concrétise la coopération existant à Grenoble entre la Faculté de Pharmacie et le Centre Hospitalier, et démontre les avantages de la mise en commun par les Dermatologues et les Pharmaciens, de leurs connaissances et de leurs compétences respectives, dans le cadre de la Cosmétologie.

Par ailleurs cette émulsion pose le problème du recoupement des domaines de la Cosmétologie, de la Pharmacie et des préparations hospitalières. S'il est bien connu que les produits cosmétiques recherchent de plus en plus une image pharmaceutique tant en ce qui concerne le sérieux de leur préparation et de leur contrôle que leur efficacité, au point que soit employé le terme de "cosmoceutique" (30), l'aspect cosmétologique d'une préparation hospitalière est un élément insolite particulièrement intéressant par la réflexion à laquelle il nous amène.

## ANNEXES

ANNEXE N°1

**Exemplaire de l'autorisation signée par les laboratoires**

NOM: .....

FONCTION: .....

LABORATOIRE: .....

J'autorise Marie-Odile PARAT, Interne en Pharmacie au CHRU de Grenoble, à citer dans sa Thèse d'Exercice la crème :

.....

dans le cadre d'un test d'étalement.

Fait le ..... à .....

signature :

CARACTERE OBSERVE	REPONSES
COULEUR	VERT PALE / AUTRE :
ODEUR	AGREABLE / DESAGREABLE
HOMOGENEITE	EMULSION HOMOGENE / HETEROGENE
FINESSE DE L'EMULSION	EMULSION FINE / GROSSIERE
ASPECT	BRILLANT / MAT / SATINE
OPACITE	EMULSION OPAQUE / TRANSLUCIDE
ETALEMENT	AISE / DIFFICILE
RESORPTION	RAPIDE / LENTE
FLUIDITE	EMULSION FLUIDE / EPAISSE
TOUCHER	LISSE / RUGUEUX / GRANULEUX

**CARACTERES ORGANOLEPTIQUES**



## ANNEXE N°3

**Préparation du réactif de Millon**

Mercure : 100 grammes

HNO<sub>3</sub> : 78 millilitres

Eau distillée 156 millilitres

Dans un récipient de 500 millilitres, introduire le mercure et l'acide nitrique.

Placer sous une hotte à fort tirage. La réaction démarre aussitôt et dure environ 20 minutes. Laisser en contact jusqu'à dissolution complète du mercure. Ajouter l'eau distillée. Mélanger.

La conservation est indéfinie.

## ANNEXE N°4

**Préparation du diluant neutralisant**

polysorbate 80	30 g
lécithine de jaune d'oeuf	3 g
L-histidine, HCl	1 g
peptone de caséine	1 g
chlorure de sodium	4,3 g
phosphate monopotassique	3,56 g
phosphate disodique dihydraté	7,23 g
eau purifiée	qsp 1000 ml

Disperser à chaud dans 100 ml d'eau le polysorbate 80 puis la lécithine. Dissoudre les autres produits dans 800 ml d'eau. Mélanger les 2 préparations et compléter à 1000 ml. Répartir en flacons et stériliser à l'autoclave à 120°C pendant 20 minutes.

**Préparation de l'eau peptonée salée**

Peptone tryptique de caséine	1 g
Chlorure de sodium	8,5 g
Eau distillée qsp	1000 ml

Dissoudre les composants dans l'eau à ébullition. Ajuster le pH de sorte qu'après stérilisation, il soit de 7,2+/-0,2 à 20°C. Répartir et stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 20 minutes.

## ANNEXE N°5

**Milieu gélosé trypticase-soja**

Hydrolysate tryptique de caséine	15 g
Peptone de soja	5 g
Chlorure de sodium	5 g
Agar	15 g
Eau distillée	qsp 1 litre

Verser 40 grammes de poudre dans un litre d'eau distillée. Porter à ébullition jusqu'à dissolution complète. Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

**Gélose de Sabouraud**

Peptone chapoteaut	10 g
Glucose massé	20 grammes
Agar	15 g
Eau distillée	qsp 1 litre

Mettre 45 grammes de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée. Attendre 5 minutes, puis mélanger jusqu'à obtention d'une suspension homogène. Chauffer lentement en agitant fréquemment, puis porter à l'ébullition jusqu'à complète dissolution.

Ajuster, si nécessaire, le pH à 6-6,3. Répartir, puis stériliser à l'autoclave à 120°C pendant 20 minutes

ANNEXE N°6

**FICHE PATIENT**

NUMERO D'OBSERVATION : \_\_\_\_\_

NOM: \_\_\_\_\_

PRENOM: \_\_\_\_\_

SEXE:     M     F

DATE DE NAISSANCE: \_\_\_\_\_

UNITE DE SOINS: \_\_\_\_\_

TELEPHONE: \_\_\_\_\_

ANTECEDENTS ALLERGIQUES: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

SAVON UTILISE DANS LE SERVICE: \_\_\_\_\_

 TEST MENE 15 JOURS ABANDON : - date: \_\_\_\_\_

- cause: \_\_\_\_\_

REMARQUES: \_\_\_\_\_

Nom: \_\_\_\_\_

Prénom: \_\_\_\_\_

N° d'observation: \_\_\_\_\_

date: \_\_\_\_\_

**BILAN CLINICIEN****JO****ETAT CLINIQUE DES MAINS:** Erythème \* Brûlures \* Suintements \* DESQUAMATION \* :**MESURES AU CORNEOMETRE:**

1) \_\_\_\_\_

2) \_\_\_\_\_

Moyenne: \_\_\_\_\_

**\* Echelle:**

0 = nul  
+ = faible  
++ = moyen  
+++ = fort

Nom: \_\_\_\_\_

Prénom: \_\_\_\_\_

N° d'observation: \_\_\_\_\_

date: \_\_\_\_\_

**BILAN CLINICIEN****J14****TOLERANCE:** Erythème \* Brûlures \* Suintements \*

⇒ La tolérance est:  bonne  
 mauvaise

⇒ test épicutané  oui ⇒ résultat:  
 non

**EFFICACITE:** DESQUAMATION \*

MESURES AU CORNEOMETRE:

1) \_\_\_\_\_

2) \_\_\_\_\_

Moyenne: \_\_\_\_\_

\* Echelle:

0 = nul

+ = faible

++ = moyen

+++ = fort

Nom: \_\_\_\_\_

Prénom: \_\_\_\_\_

N° d'observation: \_\_\_\_\_

Date: \_\_\_\_\_

**BILAN PATIENT J14****TOLERANCE  
EFFICACITE**

Rougeurs importantes \_\_\_\_\_ Pas de rougeur

Desquamation importante \_\_\_\_\_ nulle

Picotements importants \_\_\_\_\_ nuls

Démangeaisons importantes \_\_\_\_\_ nulles

La crème vous semble-t-elle:  
pas du tout efficace \_\_\_\_\_ très efficace

très mal tolérée \_\_\_\_\_ parfaitement tolérée

Nom: \_\_\_\_\_

Prénom: \_\_\_\_\_

N° d'observation: \_\_\_\_\_

date: \_\_\_\_\_

## BILAN PATIENT J14 APPRECIATION COSMETIQUE

Couleur  
désagréable \_\_\_\_\_ agréable

Odeur  
désagréable \_\_\_\_\_ agréable

Sensation au toucher  
désagréable \_\_\_\_\_ agréable

Etallement  
difficile \_\_\_\_\_ aisé

Pénétration  
lente \_\_\_\_\_ rapide

Effet savon \*  
important \_\_\_\_\_ faible

\* On dit qu'une crème possède un effet savon lorsqu'elle blanchit à l'application et que ce blanchissement persiste lorsqu'on se masse.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- (1) CANET I. - Mise au point et contrôle d'une émulsion hydratante en secteur hospitalier. Th. D. Pharm. Grenoble, 1990.
- (2) YALABIK-KAS H. - Stability assessment of emulsion systems. STP Pharma 1985 ; 1 (10) : 978-984.
- (3) PHARMACOPEE FRANCAISE Xème édition. - Essais des émulsions. 1987; V5C.
- (4) IDSON B., Stability testing of emulsions. DCI 1988 ; (Dec) : 35-38, 74
- (5) Arrêté du 26 novembre 1982 : Techniques de contrôle physicochimique applicables aux produits cosmétiques et aux produits d'hygiène corporelle. Annuaire LP 90. Editions de Santé. Paris.
- (6) SAGON J. - Contrôle et conditionnement des émulsions. Galenica V émulsions : 437-466.
- (7) GOHLKE D., FIQUET L. - Méthodes de préparation des émulsions et évaluation de leur stabilité. Parfums, Cosmétiques, Arômes 1984 ; 55 : 69-71.
- (8) SAGON J. - Etude expérimentale de la stabilité des produits cosmétiques et d'hygiène. Labo-Pharma Problèmes et Techniques 1979 ; 286 : 325-331.

- (9) AFNOR. - Norme T 73-409. Agents de surface : préparation d'une émulsion, étude de ses propriétés. Evaluation du pouvoir émulsifiant. 1976.
- (10) LOTTEAU P., SEILLER M. - Les pommades : propositions d'essais. Rapport d'une commission SFSTP. STP Pharma 1990 ; 6 (5) : 333-343.
- (11) LE HIR A. Abrégé de pharmacie galénique. Masson 1986.
- (12) ANONYME. - Les bases autoémulsionnables. Document des laboratoires Gattefossé.
- (13) DEMANZE C., JOUANNELE G., KARLESKIND A. - Analyse des émulsions cosmétiques. Parfums, Cosmétiques, Arômes 1982 ; 44 : 48-58, .
- (14) PHARMACOPEE FRANCAISE Xème édition. - Viscosité. 1987 ; V67.
- (15) Lettre circulaire du 21 mars 1983. BOMS 83121 du 16 juin 1983.
- (16) Arrêté du 6 novembre 1986. - Agents conservateurs, bactéricides et fongicides pouvant être employés dans les produits cosmétiques et les produits d'hygiène corporelle. Annuaire LP 90. Editions de Santé Paris.

(17) PHARMACOPEE FRANCAISE Xème édition. - Indice de peroxyde. 1983 ; V345.

(18) PHARMACOPEE FRANCAISE Xème édition. - Stérilité. V211.

(19) PHARMACOPEE FRANCAISE Xème édition. - Contrôle de la contamination microbienne dans des produits non obligatoirement stériles. V218.

(20) Arrêté du 3 juillet 1972. - Méthodes officielles d'analyse des cosmétiques. J.O. du 8 août 1972.

(21) CHEVALLIER M. - Préparations aqueuses, liquides ou semi-fluides, à base de tensioactifs. Leur mise au point en dermopharmacie. Th. D. Pharm. Grenoble, 1987.

(22) VILLARET L. - Techniques de mise en évidence de l'efficacité des conservateurs dans les cosmétiques. Th. D. Pharm. Toulouse, 1986.

(23) PHARMACOPEE FRANCAISE Xème édition. - Efficacité des agents de conservation antimicrobiens. V21C.

(24) AFNOR. Norme NF T 72-150. - Antiseptiques et désinfectants utilisés à l'état liquide, miscibles à l'eau et neutralisables. Détermination de l'activité bactéricide. Méthode par dilution-neutralisation. 1987.

- (25) MARTINI M.C., PLANCHETTE L., GLAS B., WAGINAIRE L. - Influence de la base lipidique d'une émulsion sur l'hydratation cutanée. *Parfums, Cosmétiques, Arômes* 1984 ; 58 : 59-63.
- (26) GARNIER J. - L'hydratation cutanée. Comment la définir, la rétablir, la mesurer. *Labo Pharma Problèmes et Techniques* 1973 ; 218 : 79-89.
- (27) CLAR E. - Les soins cosmétiques. Précis de cosmétologie dermatologique. Masson, 1990 : 108-120.
- (28) NOGUEIRA L., GABRIELLE D. - New techniques to assay skin care products. *DCI* 1988 ; (Oct) : 46-48,120.
- (29) LEVEQUE J.L., DE RIGAL J. - Impedance methods for studying skin moisturization. *J. Soc. Cosmet. Chem.* 1983 ; 34 : 419-418.
- (30) TAGAMI H., et coll. - Evaluation of the skin surface hydration in vivo by electrical measurement. *The journal of investigate dermatology* 1980 ; 75 : 500-507.
- (31) PRALL J.K., THEILER R.F., BOWSER P.A., WALSH M. - The effectiveness of cosmetic products in alleviating a range of skin dryness conditions as determined by clinical and instrumental techniques. *International Journal of Cosmetic Science* 1986 ; 8 : 159-174.
- (32) JELLINEK J.S. - L'évaluation des agents hydratants en cosmétique. *Parfums, Cosmétiques, Arômes* 1975 ; 6 : 51-57.

(33) SCHWARTZ D. - Méthodes statistiques à l'usage des médecins et des biologistes. Flammarion, 1987.



## TABLE DES MATIERES

AVANT-PROPOS	3
INTRODUCTION	5
1. PREMIERE PARTIE : ESSAIS PHYSICOCHEMISTIQUES	8
1.1. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	9
1.1.1. L'examen des caractères organoleptiques	15
1.1.1.1. Caractères visuels	15
1.1.1.2. Caractères olfactifs	15
1.1.1.3. Caractères tactiles	15
1.1.2. L'examen microscopique	16
1.1.3. La détermination du type de l'émulsion	17
1.1.3.1. Méthode aux colorants	17
1.1.3.2. Méthode par dilution	18
1.1.3.3. Test de lavabilité	18
1.1.3.4. Méthode au papier filtre	18
1.1.3.5. Test au microscope.	18
1.1.3.6. Mesure de la conductivité	19
1.1.4. La mesure du pH	20
1.1.5. L'étude de la viscosité	20
1.1.6. L'évaluation de la dureté	21
1.1.7. La mesure de la facilité à l'étalement	21
1.1.8. Le dosage des conservateurs	22
1.1.9. L'indice de peroxyde	23
1.1.10. Le contrôle du conditionnement	24
1.1.10.1. Examen à l'œil nu et/ou à l'aide d'un dispositif de grossissement, de la surface intérieure	24
1.1.10.2. Une détermination du degré de polymérisation du vernis par le test à l'acétone	24

1.1.10.3. Une détermination de la porosité du vernis par le test au chlorure mercurique	24
1.1.10.4. Un test d'adhérence du vernis comme le test du triangle	24
1.1.11. L'étude de l'interaction contenant-contenu	25
1.2. PARTIE EXPERIMENTALE	26
1.2.1. L'étude des caractères organoleptiques	26
1.2.1.1. Matériel	26
1.2.1.2. Méthode	26
1.2.1.3. Résultats	26
1.2.2. L'examen microscopique	28
1.2.2.1. Matériel	28
1.2.2.2. Méthode	28
1.2.2.3. Résultats	28
1.2.2.4. Interprétation. Conduite à tenir	29
1.2.3. La détermination du type de l'émulsion	30
1.2.4. La mesure du pH	31
1.2.4.1. Matériel	31
1.2.4.2. Méthode	31
1.2.4.3. Résultats	31
1.2.4.4. Interprétation. Conduite à tenir	32
1.2.5. La détermination de la viscosité	32
1.2.5.1. Matériel	32
1.2.5.2. Méthode	32
1.2.5.3. Résultats	33
1.2.5.4. Interprétation	37
1.2.6. L'évaluation de la dureté	37
1.2.6.1. Matériel	37

1.2.6.2. Méthode	38
1.2.6.3. Résultats	38
1.2.6.4. Interprétation	38
1.2.7. La mesure de la capacité à l'étalement	39
1.2.7.1. Matériel	39
1.2.7.2. Méthode	39
1.2.7.3. Résultats	40
1.2.7.4. Interprétation	41
1.2.8. Le dosage des conservateurs	41
1.2.8.1. Essai limite des parahydroxybenzoates de méthyle et de propyle sodés	41
1.2.8.1.1. Méthode colorimétrique	41
1.2.8.1.1.1. Matériel	42
1.2.8.1.1.2. Méthode	42
1.2.8.1.1.3. Résultats, interprétation	43
1.2.8.1.2. Méthode chromatographique	43
1.2.8.1.2.1. Matériel	43
1.2.8.1.2.2. Méthode	43
1.2.8.1.1.3. Résultats, interprétation	44
1.2.8.2. Essai limite de l'imidazolidinylurée	44
1.2.8.2.1. Matériel	44
1.2.8.2.2. Méthode	44
1.2.8.2.2.1. Préparation de la solution étalon à 0,05 mg par ml d'imidazolidinylurée	44
1.2.8.2.2.2. Préparation de l'échantillon par dilution au dixième dans l'eau	45
1.2.8.2.2.3. Préparation du réactif	45
1.2.8.2.2.4. Gamme étalon et dosage	45
1.2.8.2.3. Résultats	45

1.2.8.2.3.1. Après fabrication	45
1.2.8.2.3.2. Après conservation 1 mois à 40°C	47
1.2.8.2.4. Interprétation	47
1.2.9. L'indice de peroxyde	47
1.2.9.1. Matériel	47
1.2.9.2. Méthode	48
1.2.9.3. Résultats	48
1.2.9.4. Interprétation	48
1.2.10. Contrôle du conditionnement et recherche d'une interaction contenant-contenu	49
1.2.10.1. Examen à l'œil nu et/ou à l'aide d'un dispositif de grossissement, de la surface intérieure des tubes	49
1.2.10.1.1. Matériel	49
1.2.10.1.2. Méthode	49
1.2.10.1.3. Résultats	49
1.2.10.1.4. Interprétation	51
1.2.10.2. Test à l'acétone	51
1.2.10.2.1. Matériel	51
1.2.10.2.2. Méthode	51
1.2.10.2.3. Résultats	52
1.2.10.2.4. Interprétation	52
1.2.10.3. Test au chlorure mercurique	52
1.2.10.3.1. Matériel	52
1.2.10.3.2. Méthode	52
1.2.10.3.3. Résultat	52
1.2.10.3.4. Interprétation	52
1.2.10.4. Test du triangle	53
1.2.10.4.1. Matériel	53
1.2.10.4.2. Méthode	53

1.2.10.4.3. Résultats	53
1.2.10.4.4. Interprétation	53
<b>2. DEUXIEME PARTIE : ESSAIS MICROBIOLOGIQUES</b>	<b>54</b>
<b>2.1. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE</b>	<b>55</b>
2.1.1. L'essai de contamination microbienne	55
2.1.1.1. Méthodes	55
2.1.1.2. Normes	56
2.1.1.3. Procédure	56
2.1.1.3.1. L'échantillonnage	56
2.1.1.3.2. La neutralisation des conservateurs	57
2.1.1.3.2.1. Dilution	57
2.1.1.3.2.2. Filtration	57
2.1.1.3.2.3. Neutralisation	58
2.1.1.3.3. Dénombrement	58
2.1.1.4. Remarques	60
2.1.2. L'essai d'efficacité des conservateurs	60
2.1.2.1. Principe	61
2.1.2.2. Méthodes	61
2.1.2.3. Périodicité de cet essai	63
<b>2.2. PARTIE EXPERIMENTALE</b>	<b>64</b>
2.2.1. Essai préliminaire : validation du diluant neutralisant	64
2.2.1.1. But	64
2.2.1.2. Principe	64
2.2.1.3. Matériel	65
2.2.1.4. Méthode	65
2.2.1.5. Résultats	67

2.2.1.6. Interprétation	68
2.2.1.7 Conclusion	68
2.2.2. Test de contamination microbienne	69
2.2.2.1. Matériel	70
2.2.2.2. Méthode	70
2.2.2.3. Résultats	72
2.2.2.4. Interprétation	74
2.2.3. Test d'efficacité des conservateurs	75
2.2.3.1. Matériel	76
2.2.3.2. Méthode	76
2.2.3.2.1. Préparation des suspensions de germes	76
2.2.3.2.2. Ensemencement de l'émulsion	77
2.2.3.2.3. Détermination immédiate du nombre d'UFC par millilitre d'émulsion	77
2.2.3.2.4. Conservation des pots	78
2.2.3.2.5. Détermination à J14 et à J28 du nombre d'UFC par millilitre	78
2.2.3.3. Résultats	79
2.2.3.3.1. Test d'efficacité des conservateurs pratiqué 24 heures après fabrication	79
2.2.3.3.2. Test d'efficacité des conservateurs pratiqué après un mois à 40°C	79
2.2.3.4. Interprétation	80
3. TROISIEME PARTIE : ESSAIS DERMATOLOGIQUES	81
3.1. PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE	82
3.2. ESSAIS DERMATOLOGIQUES : PARTIE EXPERIMENTALE	84

3.2.1. Protocole	84
3.2.1.1.. Objectif	84
3.2.1.2. Critères de sélection	84
3.2.1.2.1. Critères d'inclusion	84
3.2.1.2.2. Critères d'exclusion	84
3.2.1.3. Précautions d'emploi	85
3.2.1.4. Méthodologie	85
3.2.1.5. Critères d'évaluation	85
3.2.1.5.1. La tolérance	85
3.2.1.5.2. L'efficacité	85
3.2.1.5.3. L'acceptabilité cosmétique	86
3.2.1.6. Mise à disposition du produit	86
3.2.1.7. Etude statistique	86
3.2.2. Résultats	86
3.2.2.1. Efficacité	87
3.2.2.2. Tolérance	88
3.2.2.3. Critères cosmétiques	88
3.2.3. Interprétation	89
3.2.3.1. L'efficacité	89
3.2.3.2. L'évaluation de la tolérance	90
3.2.3.3. Evaluation des critères cosmétiques	90
CONCLUSION	92
ANNEXES	97
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	108

A U T O R I S A T I O N    D ' I M P R E S S I O N

---

De la Thèse dont l'intitulé est : *Contrôles physico-chimiques, microbiologiques et dermatologiques d'une émulsion adoucissante -*

CANDIDAT : M<sup>lle</sup> PARAT *Marie - Odile*

VU

GRENOBLE, le *3/09/91.*

Le Président du Jury



VU

GRENOBLE, le *10/09/91*

Le Président de l'Université  
Joseph FOURIER GRENOBLE I  
Sciences. Technologie. Médecine

09 sept. 1991

Le Président de l'Université  
Joseph-Fourier - Grenoble I



A. NEMOZ

## RESUME

L'objet de ce travail est la mise au point et la réalisation des contrôles d'une émulsion adoucissante destinée aux mains du personnel soignant, qui a été formulée et fabriquée en milieu hospitalier.

Ceux-ci ont prouvé son acceptabilité sur les plans physicochimique, microbiologique et dermatologique. L'acceptabilité cosmétique demande une optimisation concernant l'odeur.

Certains contrôles devront être répétés après un an de conservation pour attribuer un délai de péremption.

Certains seront pratiqués en routine sur chaque lot de fabrication.

## MOTS-CLES

COSMETIQUES

EMULSION

CONTROLES PHYSICOCHIMIQUES

CONTROLES MICROBIOLOGIQUES

CONTROLES DERMATOLOGIQUES

TOLERANCE