

# Challenge-test cosmétique :

Engagée dans la fiabilisation du challenge-test, l'Anemcoli\* avec la collaboration d'Aglae\*\*, a lancé en 2016 un essai d'inter comparaisons regroupant 13 laboratoires. L'objectif était d'évaluer la faisabilité de cette démarche inédite dans ce secteur et d'en déduire des premières informations sur la reproductibilité du test.

## ► Conditions expérimentales

L'essai a porté sur une crème et une lotion choisies pour leur aptitude à donner des régressions exploitables statistiquement à certains points de contrôle. Les mesures ont été réalisées en double après 48 heures, 7 et 14 jours de contact sur deux prises d'essai contaminées simultanément et deux dénombrements pour chaque point de mesure. La crème a été testée vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 ; la lotion vis-à-vis d'*Escherichia coli* ATCC 8739. Pour ce premier

essai, les laboratoires ont eu la liberté d'utiliser leur méthode interne, ce qui induit des différences dans la conduite des essais (origine et maintenance des souches, milieux de culture, diluants, ...). Un questionnaire a permis d'acter ces écarts.

## ► Méthode

• **Traitement des données :** Les taux de réduction en log ont été recalculés à partir des données brutes pour chaque matrice et chaque temps de contact. La norme

Iso 11 930 a été suivie pour déterminer le nombre  $N_0$  de microorganismes inoculés au temps  $T_0$  à partir des comptages  $N$  effectués sur la suspension calibrée. En parallèle, les taux de réduction déclarés par les laboratoires ont été également utilisés.

• **Fidélité de l'analyse :** Pour un temps de contact donné et pour chaque laboratoire, le traitement statistique a consisté à examiner l'adéquation des deux dénombrements issus de la même réplique ; des mesures répétées entre les deux répliques ; et des taux de réduction

## Cosmetic challenge-test: the

*Engaged in increasing the reliability of the challenge test, the Anemcoli Association\* with the collaboration of the Aglae Association \*\*, launched in 2016 an inter comparisons test involving 13 laboratories. The objective was to evaluate the feasibility of this unprecedented approach in this sector and to draw the first conclusions on the reproducibility of the test.*

## ► Experimental conditions

The test involved a cream and lotion chosen for their ability to provide statistically usable regressions at certain check-points. The measurements were performed in duplicate after 48 hours, 7 and 14 days of contact on two simultaneously contaminated test samples and two counts for each measurement point. The cream was tested vs. *Staphylococcus aureus* ATCC 6538; the lotion vs. *Escherichia coli* ATCC 8739. For this first test, the laboratories were free to use their internal method, which

generated differences in the conduct of the tests (origin and maintenance of strains, culture media, diluents, ...). A questionnaire enabled to take into account these differences.

## ► Method

• **Data processing:** The log reduction rates were recalculated from the raw data for each matrix and each contact time. The Iso 11 930 standard was used to determine the number  $N_0$  of microorganisms inoculated at time  $T_0$  from  $N$  counts

carried out on the calibrated suspension. In parallel, the reduction rates reported by laboratories were also used.

• **Reliability of the analysis:** For a given contact time and for each laboratory, the statistical treatment consisted in examining the adequacy of the two counts coming from the same replication; repeated measurements between the two replications; and recalculated reduction rates by checking the overlap of the 95% confidence intervals obtained for each of the two replications. The recalculated and declared consensus

# 1<sup>er</sup> essai inter-laboratoires

recalculés en vérifiant le chevauchement des intervalles de confiance à 95 % obtenus pour chacune des deux répliques. Les valeurs de consensus recalculées et déclarées ont été déterminées. Elles correspondent aux taux de réduction les plus plausibles pour les résultats fournis par l'ensemble des laboratoires soit à la valeur médiane. Les écarts types ont été calculés. Ils sont assimilables à un écart type de reproductibilité.

• **Justesse relative** : Pour un temps de contact donné, des z-scores ont été attribués à chaque laboratoire (réduction recalculée et déclarée) (Cf. **Colonnnette** ci-contre).

## ► Résultats

L'examen global des résultats illustrés partiellement par le **tableau 1** montre que la crème a permis d'obtenir des valeurs exploitables aux trois points de contrôle. Pour la lotion, plus active sur *E. coli*, seuls

les points obtenus à 48h le sont. Cette constatation souligne la difficulté de trouver pour ce type d'essai une matrice satisfaisant aux exigences métrologiques. On note également parfois, un écart entre les valeurs déclarées et recalculées. Cette anomalie peut résulter d'erreurs de saisie ou du non-respect absolu de la norme Iso 11 930 généralement pas appliquée à la lettre par les laboratoires. Avant toute analyse statistique, on note également, pour chaque point de mesure, une dispersion importante des résultats. Pour *S. aureus* au temps 48h, les réductions déclarées varient au maximum de 0 à 2,5 log. Cet écart est de 1 à 4,6 log à 7 jours et de 1 à 5 log à 14 jours...

Le challenge test n'étant destiné qu'à déterminer des seuils de régression minimale à certains points de contrôle, nous avons exprimé les résultats sous cette forme simplifiée (**Tableau 2**).

Pour *S. aureus* et pour dix laboratoires sur 13, on observe une réduction ≤ à 1 log

au temps 48h et à une conformité (≤ 3 log) au temps 14 jours. La situation est plus partagée à 7 jours, qui correspond à une zone d'activité intermédiaire. Pour *E. coli*, les laboratoires sont unanimes aux points 7 et 14 jours mais à 48h, quatre laboratoires sur 13 n'obtiennent pas de réduction ≥ 3 log.

Quoiqu'il en soit, on ne peut que constater que la reproductibilité du test n'est pas confirmée et que les essais de laboratoires différents peuvent conduire ou pas à une déclaration de conformité. Sur le plan statistique, les résultats montrent un niveau de répétabilité acceptable pour la quasi-totalité des participants. Pour un laboratoire donné, la méthode s'avère fidèle. Ce qui apparaît dans un second temps, c'est l'importance de la dispersion des données dès lors que l'on compare entre eux les laboratoires. Globalement, les taux de réduction sont affectés d'une erreur en reproductibilité qui dépasse généralement 1 log, ce qui conduit à une

$$z = \frac{x - \mu}{\sigma}$$

X = taux de réduction  
*reduction rate*

μ = moyenne de la population / *population mean*

σ = écart type de la population / *standard deviation of the population*

Interprétation  
*Interpretation:*  
-2 < z < +2 : résultat non différent des autres  
*result not different from others*

-3 < z ≤ -2 ou +2 ≤ z < +3 : résultat légèrement différent des autres / *result slightly different from others*

z ≤ -3 ou z ≥ +3 : résultat notablement différent des autres  
*result significantly different from others*

## first inter-laboratory test

values were determined. They correspond to the most plausible reduction rates for the results provided by all the laboratories, i.e. to the median. Standard deviations were calculated. They are comparable to a standard deviation of reproducibility.

• **Relative accuracy**: For a given contact time, z-scores were assigned to each laboratory (recalculated and reported reduction) (Cf. **Column** opposite).

## ► Results

The overall review of results partially illustrated in **Table 1** shows that the cream enabled to obtain usable values at the three checkpoints. As for the lotion, more active on *E. coli*, only points obtained at 48h were exploitable. This finding underlines the difficulty of finding, for this type of test, a matrix meeting metrological requirements. A difference was also found sometimes

between the declared and the recalculated values. This discrepancy may be a result of typing errors or of not having fully complied with Iso 11 930 standards, which are generally not strictly applied by laboratories.

Before all the statistical analysis, for each measurement point, a significant dispersion of results was also observed. For *S. aureus* at time 48h, the reported reductions vary at the most from 0 to 2.5 log. This deviation is of 1 to 4.6 log at 7 days and of 1 to 5 log at 14 days...

Since the challenge test is only intended to determine minimum regression thresholds at certain checkpoints, we expressed results in this simplified form (**Table 2**).

For *S. aureus* and for ten laboratories out of 13, there is a ≤ 1 log reduction at time 48h and a conformity (≤ 3 log) at time 14 days. The picture is different at 7 days, which corresponds to an intermediate activity zone.

Concerning *E. coli*, at points 7 and 14 days laboratories are unanimous but at 48h, four laboratories out of 13 do not obtain a ≥ 3 log reduction.

Whatever be the case, one can only note that the reproducibility of the test is not confirmed and that the different laboratory tests may or may not lead to a declaration of conformity.

Statistically, results show an acceptable level of repeatability for almost all participants. For a given laboratory, the method is accurate.

What appears subsequently is the high level of data dispersion when laboratories are compared to one another. Overall, reduction rates are subject to a reproducibility error that generally exceeds 1 log, which leads to an uncertainty generally higher than ± 2 log (**Table 3**).

The data dispersion being important, the assessment of individual performances is difficult and the conclusions that can be