
**Cosmétiques — Microbiologie —
Instructions générales pour les examens
microbiologiques**

*Cosmetics — Microbiology — General instructions for microbiological
examination*

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 21148:2005](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/66af2a50-612d-4a6a-a137-abf8fe138133/iso-21148-2005)

[https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/66af2a50-612d-4a6a-a137-
abf8fe138133/iso-21148-2005](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/66af2a50-612d-4a6a-a137-abf8fe138133/iso-21148-2005)



PDF – Exonération de responsabilité

Le présent fichier PDF peut contenir des polices de caractères intégrées. Conformément aux conditions de licence d'Adobe, ce fichier peut être imprimé ou visualisé, mais ne doit pas être modifié à moins que l'ordinateur employé à cet effet ne bénéficie d'une licence autorisant l'utilisation de ces polices et que celles-ci y soient installées. Lors du téléchargement de ce fichier, les parties concernées acceptent de fait la responsabilité de ne pas enfreindre les conditions de licence d'Adobe. Le Secrétariat central de l'ISO décline toute responsabilité en la matière.

Adobe est une marque déposée d'Adobe Systems Incorporated.

Les détails relatifs aux produits logiciels utilisés pour la création du présent fichier PDF sont disponibles dans la rubrique General Info du fichier; les paramètres de création PDF ont été optimisés pour l'impression. Toutes les mesures ont été prises pour garantir l'exploitation de ce fichier par les comités membres de l'ISO. Dans le cas peu probable où surviendrait un problème d'utilisation, veuillez en informer le Secrétariat central à l'adresse donnée ci-dessous.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 21148:2005

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/66af2a50-612d-4a6a-a137-abf8fe138133/iso-21148-2005>

© ISO 2005

Droits de reproduction réservés. Sauf prescription différente, aucune partie de cette publication ne peut être reproduite ni utilisée sous quelque forme que ce soit et par aucun procédé, électronique ou mécanique, y compris la photocopie et les microfilms, sans l'accord écrit de l'ISO à l'adresse ci-après ou du comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

ISO copyright office
Case postale 56 • CH-1211 Geneva 20
Tel. + 41 22 749 01 11
Fax. + 41 22 749 09 47
E-mail copyright@iso.org
Web www.iso.org

Publié en Suisse

Sommaire

Page

Avant-propos	iv
Introduction	v
1 Domaine d'application	1
2 Termes et définitions	1
3 Locaux	1
4 Équipement	3
5 Souches de microorganismes	6
6 Personnel	6
7 Préparation du matériel et de la verrerie	7
8 Préparation et stérilisation des milieux de culture et des réactifs	8
9 Échantillons pour laboratoire	11
10 Pratiques de laboratoire	12
11 Expression des résultats	14
12 Neutralisation des propriétés antimicrobiennes d'un produit	14
Annexe A (informative) Techniques de base d'identification	15
Annexe B (informative) Techniques de base de comptage et d'étalement	20
Annexe C (informative) Préparation et étalonnage des inoculums	21
Bibliographie	22

Avant-propos

L'ISO (Organisation internationale de normalisation) est une fédération mondiale d'organismes nationaux de normalisation (comités membres de l'ISO). L'élaboration des Normes internationales est en général confiée aux comités techniques de l'ISO. Chaque comité membre intéressé par une étude a le droit de faire partie du comité technique créé à cet effet. Les organisations internationales, gouvernementales et non gouvernementales, en liaison avec l'ISO participent également aux travaux. L'ISO collabore étroitement avec la Commission électrotechnique internationale (CEI) en ce qui concerne la normalisation électrotechnique.

Les Normes internationales sont rédigées conformément aux règles données dans les Directives ISO/CEI, Partie 2.

La tâche principale des comités techniques est d'élaborer les Normes internationales. Les projets de Normes internationales adoptés par les comités techniques sont soumis aux comités membres pour vote. Leur publication comme Normes internationales requiert l'approbation de 75 % au moins des comités membres votants.

L'attention est appelée sur le fait que certains des éléments du présent document peuvent faire l'objet de droits de propriété intellectuelle ou de droits analogues. L'ISO ne saurait être tenue pour responsable de ne pas avoir identifié de tels droits de propriété et averti de leur existence.

L'ISO 21148 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 217, *Cosmétiques*.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 21148:2005](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/66af2a50-612d-4a6a-a137-abf8fe138133/iso-21148-2005)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/66af2a50-612d-4a6a-a137-abf8fe138133/iso-21148-2005>

Introduction

Le but de la présente Norme internationale est d'aider à s'assurer que les techniques générales utilisées pour effectuer les examens microbiologiques des cosmétiques sont les mêmes dans tous les laboratoires ayant adopté ces normes, de participer ainsi à l'homogénéité des résultats obtenus dans différents laboratoires et de contribuer à la protection de la santé du personnel de laboratoire en évitant les risques d'infection.

Lorsque des examens microbiologiques sont effectués sur des produits cosmétiques, il est spécialement important

- d'isoler ou de dénombrer seulement les microorganismes présents dans les échantillons,
- que les microorganismes ne contaminent pas l'environnement.

Pour cela, il faut veiller à l'hygiène personnelle et utiliser des techniques de travail qui assurent autant que possible l'absence de contamination étrangère.

Puisqu'il n'est possible de donner dans la présente Norme internationale que quelques exemples des précautions à prendre pendant les examens microbiologiques, la connaissance approfondie des techniques microbiologiques et des microorganismes en question est essentielle. Il faut donc que les analyses soient conduites avec la plus grande rigueur possible, y compris pour le calcul du nombre de microorganismes.

De nombreuses manipulations peuvent, par exemple, entraîner involontairement une contamination croisée et il convient que l'analyste vérifie toujours l'exactitude des résultats donnés par sa technique. Certaines précautions sont à prendre, non seulement pour des raisons d'hygiène, mais également pour assurer une bonne reproductibilité des résultats. Il n'est pas possible de spécifier toutes les précautions à prendre selon les circonstances, mais la présente Norme internationale décrit au moins les dispositions principales à prendre lors de la préparation, la stérilisation et la conservation des milieux et du matériel.

Les présentes recommandations permettent le dénombrement et la recherche des microorganismes mésophiles capables de se développer dans des conditions aérobies.

Elles s'appliquent à la détermination de l'absence ou de la présence en quantité limitée de microorganismes spécifiés présentant un intérêt pour des produits cosmétiques.

Les méthodes d'essai sont décrites dans les normes individuelles. D'autres modes opératoires microbiologiques peuvent être suivis, à condition que leur équivalence ait été prouvée ou que la méthode ait été validée par ailleurs. Le choix de la mise en œuvre d'une méthode spécifique ou d'une combinaison de méthodes citées dans ces normes ISO dépend de l'objectif visé par l'essai et l'utilisateur doit décider quelle approche est la plus adaptée pour leur mise en œuvre.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 21148:2005

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/66af2a50-612d-4a6a-a137-abf8fe138133/iso-21148-2005>

Cosmétiques — Microbiologie — Instructions générales pour les examens microbiologiques

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale donne des règles générales pour la réalisation d'examens microbiologiques sur des produits cosmétiques afin de garantir leur qualité et leur innocuité, conformément à une analyse de risque appropriée (par exemple faible activité de l'eau, produit hydro-alcoolique, valeurs de pH extrêmes).

En raison de la grande variété de produits entrant dans le champ d'application de la présente norme et de leurs usages potentiels, ces règles peuvent ne pas être adaptées en tout point à certains produits (par exemple produits non miscibles à l'eau).

2 Termes et définitions

Pour les besoins du présent document, les termes et définitions suivants s'appliquent.

2.1

produit

portion d'un produit cosmétique identifié reçue au laboratoire pour essais

2.2

échantillon

portion du produit (au moins 1 g ou 1 ml) utilisée lors de l'essai pour préparer la suspension mère

2.3

suspension mère

suspension (ou solution) d'un échantillon dans un volume défini d'un liquide approprié (diluant, agent neutralisant, bouillon ou combinaison de ceux-ci)

2.4

dilution de l'échantillon

dilution de la suspension mère

3 Locaux

3.1 Zones d'essais

Les zones exigées pour la réalisation des diverses manipulations inhérentes à un laboratoire de microbiologie sont les suivantes:

- la réception, le stockage, la préparation et le traitement des échantillons;
- la préparation et la stérilisation des milieux de culture, du matériel et de la verrerie;
- la réalisation des analyses: pesées, dilutions, ensemencements, repiquages, incubation, conservation des souches, etc.;

- la décontamination et le nettoyage du matériel et de la verrerie ainsi que le traitement des déchets d'analyse.

3.2 Zones annexes

Les zones faisant partie de cette catégorie sont, par exemple

- les accès, couloirs, escaliers, monte-charges ou ascenseurs,
- les espaces administratifs (par exemple, secrétariat, bureaux, salles de documentation, etc.),
- les vestiaires et les sanitaires,
- les salles d'archives,
- les magasins.

3.3 Implantation des locaux

L'environnement dans lequel les analyses microbiologiques sont effectuées ne doit pas affecter leur fiabilité.

Les locaux doivent être implantés de façon à éviter les risques de contamination croisée.

Une protection doit être assurée contre les conditions extrêmes telles que l'excès de température, de poussière, d'humidité, de vapeur, de bruit, de vibration, d'exposition directe aux rayonnements solaires, etc.

L'espace doit être suffisant pour maintenir les zones de travail propres et en ordre.

Durant le déroulement des essais, l'accès aux zones d'essais doit être limité aux seules personnes en charge de la réalisation des analyses.

Il convient de prévoir des salles indépendantes et/ou des zones séparées et/ou des enceintes spécifiques pour

- la réception, le stockage et la préparation des échantillons,
- la manipulation des cultures microbiennes,
- la préparation des milieux de culture, du matériel et de la verrerie,
- la décontamination et le nettoyage,
- la stérilisation,
- les incubateurs, les réfrigérateurs et les congélateurs.

3.4 Aménagement des locaux

3.4.1 Les locaux d'essai doivent être aménagés de façon à réduire les risques de contamination par la poussière et donc par les microorganismes:

- il convient que les murs, plafonds et sols soient lisses, non poreux, faciles à nettoyer et résistants aux produits détergents et aux désinfectants utilisés au laboratoire;
- à moins qu'elles ne soient hermétiquement enfermées, il convient que les conduites de fluides ne traversent pas les locaux en hauteur;

- en cas d'utilisation de systèmes de protection contre les rayonnements solaires, ceux-ci doivent être installés à l'extérieur des fenêtres, dans la mesure du possible;
- les fenêtres et les portes doivent pouvoir être fermées lors des essais afin de limiter les courants d'air. En outre, elles doivent être conçues de manière à éviter la formation des nids à poussière pour en faciliter le nettoyage.

3.4.2 La température ambiante et la qualité de l'air (teneur en microorganismes, hygrométrie, taux d'empoussièrément, etc.) doivent être compatibles avec la réalisation des essais.

Dans ce but, et selon les besoins, il est recommandé d'installer un système de ventilation filtrée et/ou une hotte microbiologique.

3.4.3 Les paillasses et les mobiliers de laboratoire doivent être constitués de matériaux lisses, non poreux, imperméables, faciles à nettoyer et à désinfecter. Il convient que le haut des hottes et des équipements soit accessible pour le nettoyage.

Les mobiliers de laboratoire mobiles doivent être conçus pour faciliter le nettoyage des sols.

Il est souhaitable que les documents et livres qui ne sont pas fréquemment utilisés soient conservés à l'extérieur des zones d'essais.

3.5 Entretien

Les sols, murs, plafonds, paillasses et mobiliers de laboratoire doivent être maintenus en bon état afin d'éviter l'apparition de fissures qui pourraient créer des zones d'encrassement privilégiées et donc être sources de contamination.

Un nettoyage et, le cas échéant, une désinfection doivent être effectués régulièrement afin de maintenir les locaux dans un état compatible avec la réalisation des essais.

Les systèmes de ventilation et leurs filtres doivent être régulièrement entretenus et les filtres changés lorsque cela est nécessaire.

4 Équipement

4.1 Généralités

De façon générale, tous les équipements doivent être maintenus propres et en bon état de fonctionnement.

Il convient d'assurer un suivi des opérations de maintenance. Les instruments de mesure et le matériel doivent être vérifiés régulièrement conformément à une planification appropriée et les résultats doivent être enregistrés.

4.2 Hottes microbiologiques

Les hottes sont de deux types:

- a) les hottes à flux laminaire, qui ont pour but de protéger le produit des contaminations extérieures et de réduire les contaminations dues à l'opérateur;
- b) les hottes de sécurité, qui ont pour but de protéger le produit des contaminations extérieures et également de protéger l'opérateur et l'environnement.

Ces deux types de hottes peuvent être utilisés. Il convient d'utiliser les hottes de sécurité pour tout travail présentant un risque pour l'opérateur.

Une hotte est un poste de travail sans poussière, à flux d'air laminaire vertical. En microbiologie, une hotte de sécurité est utilisée pour retenir les microorganismes sur des filtres.

4.3 Balances

Dans le cadre des analyses de produits cosmétiques, il est recommandé qu'un laboratoire de microbiologie soit équipé de balances appropriées, en portée et en exactitude, aux différents produits à peser. Généralement, l'exactitude requise pour peser les échantillons à analyser et certains composants des milieux de culture et réactifs est de $\pm 0,01$ g.

4.4 Homogénéisateur

Cet équipement (par exemple mélangeur, système Stomacher, etc.) peut être utilisé pour préparer la suspension mère à partir des échantillons autres que les produits liquides.

4.5 pH-mètre

Il convient que le pH-mètre soit capable de réaliser des mesurages à $\pm 0,1$ unité pH près et que son seuil minimal de mesure soit de 0,01 unité pH.

4.6 Autoclave

L'autoclave doit être maintenu en bon état de fonctionnement et doit faire l'objet d'une inspection régulière par les services compétents, conformément aux instructions du fabricant. Il convient de conserver les documents justificatifs de cette inspection.

Lors d'un même cycle de stérilisation, l'autoclave ne doit pas être utilisé à la fois pour stériliser un matériel propre et pour décontaminer un matériel déjà utilisé. Dans la mesure du possible, il est recommandé d'utiliser des autoclaves séparés pour réaliser ces deux opérations.

4.7 Incubateur

Les incubateurs doivent être équipés d'un système de régulation permettant de maintenir une température uniforme et stable dans l'ensemble de leur volume utile.

Si la température ambiante est proche de celle de l'incubateur ou plus élevée, utiliser un incubateur équipé d'un système de refroidissement.

Il convient de protéger les incubateurs de l'exposition directe aux rayonnements solaires.

Dans la mesure du possible, il est recommandé de ne pas charger complètement l'incubateur en une seule opération car le temps d'équilibrage de la température des milieux de culture sera long, quel que soit le type d'incubateur utilisé (convection d'air forcé ou autre).

La température doit être contrôlée et enregistrée au moins tous les jours de travail.

4.8 Bains-marie

Les bains-marie sont de deux types:

- les bains thermostatés, adaptés à l'incubation de milieux de cultureensemencés, aux essais d'identification, etc.;

- les bains à température contrôlée, adaptés au maintien des milieux gélosés stériles en surfusion pour un usage ultérieur dans des modes opératoires spécifiés.

La température et l'exactitude exigées sont stipulées dans chaque méthode d'application.

4.9 Réfrigérateur ou chambre froide

La température, sauf spécification contraire, doit être de $5\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$.

4.10 Congélateur

La température, sauf spécification contraire, doit être inférieure à -18 °C .

4.11 Stérilisateur

Un stérilisateur est une enceinte permettant la destruction des microorganismes par chaleur sèche.

La répartition de la température dans l'enceinte doit être homogène.

Le stérilisateur doit être muni

- d'un thermostat,
- d'un thermomètre ou d'un thermocouple enregistreur,
- d'un indicateur de durée ou d'un programmateur/minuteur.

4.12 Dispositif de comptage des colonies

Un dispositif de comptage des colonies peut être utilisé.

4.13 Autre équipement

AVERTISSEMENT — Aucune verrerie graduée ne doit être stérilisée dans un stérilisateur.

D'autres équipement et matériel sont d'utilisation courante, parmi lesquels:

- appareillage de filtration (voir ci-dessous);
- réipients en verre ou en plastique (tubes à essais, fioles, flacons);
- boîtes de Pétri en verre ou en plastique (généralement de 85 mm et 100 mm de diamètre);
- pipettes en verre ou en plastique (10 ml, 2 ml, 1 ml), pipettes automatiques;
- instruments d'échantillonnage;
- fils et anses (en nickel/chrome, en platine/iridium ou en plastique jetable, etc.);
- microscope optique;
- brûleur à gaz ou stérilisateur à fil;
- répartiteur de milieux de culture et de réactifs;
- agitateur mécanique.

En cas d'utilisation de la méthode de filtration sur membrane, l'équipement doit également inclure les éléments suivants:

- un filtre à membrane ou un dispositif de filtration constitué d'un matériau approprié, avec un porte-filtre d'au moins 50 ml de capacité, compatible avec l'utilisation de filtres de 47 mm à 50 mm de diamètre et dont le diamètre des pores n'excède pas 0,45 µm;
- une membrane dont le matériau est sélectionné de telle manière que les composants résiduels de l'échantillon à analyser soient sans effet sur les bactéries;
- une source de vide capable de produire un débit de filtration homogène (le dispositif doit être réglé de manière à filtrer 100 ml de liquide en moins de 2 min).

5 Souches de microorganismes

Les souches nécessaires à la validation de la méthodologie sont indiquées dans chaque méthode d'application.

6 Personnel

6.1 Compétence

Toute personne travaillant dans un laboratoire de microbiologie doit avoir reçu une formation indispensable à la bonne réalisation des opérations qui lui sont confiées.

Le personnel chargé de la réalisation des essais doit avoir une bonne connaissance et une pratique suffisante des techniques microbiologiques et des microorganismes recherchés. Le responsable doit pouvoir interpréter les notions d'exactitude et de fidélité requises pour obtenir des résultats acceptables.

6.2 Hygiène

Dans le domaine de l'hygiène personnelle, les précautions suivantes doivent être prises non seulement pour éviter la contamination des échantillons et des milieux de culture mais également pour éviter les risques d'infection du personnel:

- porter des vêtements de laboratoire de couleur claire, propres et en bon état, fabriqués dans un tissu limitant les risques d'inflammabilité; ces vêtements ne doivent pas être portés en dehors des locaux d'essai;
- garder des ongles parfaitement propres et soignés, de préférence courts;
- se laver les mains avant et après les examens microbiologiques et immédiatement après chaque passage aux toilettes ou après chaque repas; pour se sécher les mains, utiliser des serviettes en papier ou en tissu, les deux étant à usage unique;
- pendant lesensemencements, éviter de parler, de tousser, etc.;
- ne pas fumer, boire ou manger dans les zones d'essais;
- ne pas placer d'aliments destinés à la consommation personnelle dans les réfrigérateurs du laboratoire;
- prendre des précautions particulières pour les personnes présentant des infections ou des maladies dont les microorganismes responsables, susceptibles de contaminer les échantillons, risquent de fausser les résultats.