
**Cosmétiques — Microbiologie —
Détection d'*Escherichia coli***

Cosmetics — Microbiology — Detection of Escherichia coli

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 21150:2006](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/6d7173f2-6964-43d8-98c9-d06dfb4b3f26/iso-21150-2006)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/6d7173f2-6964-43d8-98c9-d06dfb4b3f26/iso-21150-2006>



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 21150:2006

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/6d7173f2-6964-43d8-98c9-d06dfb4b3f26/iso-21150-2006>

© ISO 2006

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 Références normatives	1
3 Termes et définitions	1
4 Principe	2
5 Diluants et milieux de culture	2
5.1 Généralités	2
5.2 Diluant pour la suspension bactérienne (Solution tryptone-sel)	3
5.3 Milieux de culture	3
6 Appareillage et verrerie	6
7 Souches de micro-organismes	6
8 Manipulation des produits cosmétiques et des échantillons de laboratoire	6
9 Mode opératoire	6
9.1 Recommandations générales	6
9.2 Préparation de la suspension initiale dans le milieu liquide d'enrichissement	7
9.3 Incubation du milieu liquide d'enrichissementensemencé	7
9.4 Recherche et identification d'<i>Escherichia coli</i>	7
10 Expression des résultats (recherche d'<i>Escherichia coli</i>)	8
11 Neutralisation des propriétés antimicrobiennes du produit	8
11.1 Généralités	8
11.2 Préparation de l'inoculum	9
11.3 Validation de la méthode de recherche	9
12 Rapport d'essai	10
Annexe A (informative) Autres milieux liquides d'enrichissement	11
Annexe B (informative) Neutralisants de l'activité antimicrobienne des conservateurs et liquides de rinçage	14
Bibliographie	15

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 21150 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 217, *Cosmétiques*.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 21150:2006
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/6d7173f2-6964-43d8-98c9-d06dfb4b3f26/iso-21150-2006>

Introduction

Les examens microbiologiques des produits cosmétiques doivent être réalisés conformément à une analyse de risque appropriée afin de garantir leur qualité et la sécurité des consommateurs.

L'analyse de risque microbiologique dépend de plusieurs paramètres tels que les suivants:

- l'altération potentielle des produits cosmétiques;
- le caractère pathogène des micro-organismes;
- le site d'application du produit cosmétique (cheveux, peau, yeux, muqueuses, etc.);
- la catégorie d'utilisateurs (adultes, enfants de moins de 3 ans, etc.).

Pour les cosmétiques et d'autres produits topiques, la recherche d'agents pathogènes pour la peau, tels que *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Candida albicans* peut être justifiée. La recherche d'autres sortes de micro-organismes peut aussi présenter de l'intérêt, car ceux-ci (y compris des indicateurs de contamination fécale, par exemple *Escherichia coli*) laissent penser à une défaillance de l'hygiène au cours du processus de fabrication.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 21150:2006

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/6d7173f2-6964-43d8-98c9-d06dfb4b3f26/iso-21150-2006>

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 21150:2006

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/6d7173f2-6964-43d8-98c9-d06dfb4b3f26/iso-21150-2006>

Cosmétiques — Microbiologie — Détection d'*Escherichia coli*

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale donne des lignes directrices générales pour la recherche et l'identification du micro-organisme spécifié *Escherichia coli* dans les produits cosmétiques. Les micro-organismes considérés comme spécifiés dans la présente Norme internationale peuvent différer d'un pays à un autre, suivant les pratiques ou les réglementations nationales.

Pour garantir la qualité du produit et la sécurité des consommateurs, il est conseillé d'effectuer une analyse appropriée du risque microbiologique afin de déterminer les types de produits cosmétiques qui relèvent de la présente Norme internationale. Les produits dont on considère qu'ils présentent un faible risque microbiologique comprennent ceux ayant une faible activité de l'eau, les produits hydro-alcooliques, ceux ayant des valeurs de pH extrêmes, etc.

La présente Norme internationale spécifie une méthode basée sur la recherche d'*Escherichia coli* dans un milieu liquide non sélectif (milieu liquide d'enrichissement), suivie de l'isolement du micro-organisme sur un milieu gélosé sélectif. D'autres méthodes peuvent être appropriées en fonction du niveau de recherche requis.

NOTE Pour la recherche d'*Escherichia coli*, il est possible de réaliser des subcultures sur des milieux de culture non sélectifs avant de procéder aux étapes appropriées d'identification (en utilisant, par exemple, des kits d'identification).

En raison de la grande variété de produits cosmétiques entrant dans ce domaine d'application, la présente méthode pourrait ne pas être, en tout point, adaptée à certains produits (par exemple à certains produits non miscibles dans l'eau). D'autres Normes internationales peuvent être plus adaptées. D'autres méthodes (par exemple automatisées) peuvent se substituer aux essais présentés ici, sous réserve que leur équivalence ait été démontrée ou que la méthode ait été validée par ailleurs.

2 Références normatives

Les documents de référence suivants sont indispensables pour l'application du présent document. Pour les références datées, seule l'édition citée s'applique. Pour les références non datées, la dernière édition du document de référence (y compris les éventuels amendements) s'applique.

ISO 21148:—¹⁾, *Cosmétiques — Microbiologie — Instructions générales pour les examens microbiologiques*

3 Termes et définitions

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

3.1

produit

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

1) À publier.

3.2

échantillon

portion du produit (au moins 1 g ou 1 ml) utilisée dans l'essai pour préparer la suspension initiale

3.3

suspension initiale

suspension (ou solution) de l'échantillon dans un volume défini d'un milieu liquide d'enrichissement approprié

3.4

dilution(s) de l'échantillon

dilution(s) de la suspension initiale

3.5

micro-organisme spécifié

bactérie aérobie mésophile ou levure dont la présence dans un produit cosmétique est indésirable parce qu'elle peut causer des infections de la peau ou des yeux ou peut être reconnue comme un indicateur de défaillance de l'hygiène dans le processus de fabrication

3.6

Escherichia coli

bacille Gram négatif, mobile, en colonies lisses

NOTE 1 Les principales caractéristiques pour l'identification sont les suivantes: catalase positive, oxydase négative, fermentation du lactose, production d'indole, croissance sur milieu sélectif contenant des sels biliaires avec des colonies caractéristiques.

NOTE 2 *Escherichia coli* peut être isolé à partir de sources environnementales humides (air, eau, sol) et c'est un indicateur de contamination fécale.

3.7

milieu liquide d'enrichissement

milieu liquide non sélectif contenant des neutralisants et/ou des agents dispersants appropriés, validé pour le produit en essai

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 21150:2006

d06dfb4b3f26/iso-21150-2006

4 Principe

La première étape du mode opératoire est de procéder à l'enrichissement en utilisant un milieu liquide non sélectif pour augmenter le nombre de micro-organismes sans risque d'inhibition par les ingrédients sélectifs qui sont présents dans les milieux de culture sélectifs/différentiels.

La seconde étape de l'essai (isolement) est réalisée sur un milieu sélectif, avant les essais d'identification.

L'inhibition potentielle de la croissance microbienne par l'échantillon doit être neutralisée pour permettre la recherche des micro-organismes viables [5]. Dans tous les cas et quelle que soit la méthode employée, la neutralisation des propriétés antimicrobiennes du produit doit être vérifiée et validée [6] [7] [8].

5 Diluants et milieux de culture

5.1 Généralités

Utiliser les instructions générales données dans l'ISO 21148. Lorsque le présent document mentionne l'utilisation d'eau, utiliser de l'eau distillée ou de l'eau purifiée telle que spécifiée dans l'ISO 21148.

Le milieu liquide d'enrichissement est utilisé pour disperser l'échantillon et pour augmenter la population microbienne initiale. Il peut contenir des neutralisants si l'échantillon à soumettre à essai possède des propriétés antimicrobiennes. L'efficacité de la neutralisation doit être démontrée (voir Article 11). L'Annexe B fournit des informations relatives aux neutralisants appropriés.

Le milieu liquide d'enrichissement suivant est adapté pour vérifier la présence d'*Escherichia coli* conformément à la présente Norme internationale, à condition d'avoir été validé conformément à l'Article 11.

D'autres diluants et milieux de culture sont utilisables si leur aptitude à l'emploi a été démontrée.

5.2 Diluant pour la suspension bactérienne (Solution tryptone-sel)

Le diluant est utilisé pour préparer la suspension bactérienne utilisée pour la validation (voir Article 11).

5.2.1 Composition

Tryptone, digestion pancréatique de caséine	1,0 g
Chlorure de sodium	8,5 g
Eau	1 000 ml

5.2.2 Préparation

Dissoudre les composants dans l'eau en mélangeant tout en chauffant. Répartir dans des récipients appropriés. Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 min.

Après stérilisation et refroidissement, le pH doit être de $7,0 \pm 0,2$, le mesurage étant effectué à la température ambiante.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

5.3 Milieux de culture

5.3.1 Généralités

Les milieux de culture peuvent être préparés comme indiqué ci-dessous, ou à partir de milieux de culture déshydratés conformément aux instructions du fabricant. Il convient de suivre les instructions données par le fournisseur de ces milieux.

NOTE Il est possible d'utiliser des milieux prêts à l'emploi quand leur composition et/ou leurs performances de croissance sont comparables à celles des formules indiquées ici.

5.3.2 Milieu gélosé pour validation [milieu gélosé aux peptones de caséine et de soja (SCDA) ou gélose tryptone-caséine soja (TSA)]

5.3.2.1 Composition

Peptone pancréatique de caséine	15,0 g
Peptone papaïque de soja	5,0 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Gélose	15,0 g
Eau	1 000 ml

5.3.2.2 Préparation

Dissoudre les composants ou le milieu complet déshydraté dans l'eau en mélangeant tout en chauffant. Répartir dans des récipients appropriés. Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 min.

Après stérilisation et refroidissement, le pH doit être de $7,3 \pm 0,2$, le mesurage étant effectué à la température ambiante.

5.3.3 Milieu liquide d'enrichissement

5.3.3.1 Bouillon Eugon LT 100

5.3.3.1.1 Généralités

Ce milieu contient

- des ingrédients qui neutralisent les substances inhibitrices présentes dans l'échantillon: lécithine et polysorbate 80, et
- un agent dispersant: octoxynol 9.

5.3.3.1.2 Composition

Peptone pancréatique de caséine	15,0 g
Peptone papaïque de soja	5,0 g
L-cystine	0,7 g
Chlorure de sodium	4,0 g
Sulfite de sodium	0,2 g
Glucose	5,5 g
Lécithine d'œuf	1,0 g
Polysorbate 80	5,0 g
Octoxynol 9	1,0 g
Eau	1 000 ml

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 21150:2006
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/6d717322-9964-43d8-98c9-d06dfb4b3f26/iso-21150-2006>

5.3.3.1.3 Préparation

Dissoudre successivement dans l'eau bouillante le polysorbate 80, l'octoxynol 9 et la lécithine d'œuf jusqu'à dissolution complète. Dissoudre les autres composants en mélangeant tout en chauffant.

Répartir le milieu dans des récipients appropriés. Stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 min. Après stérilisation et refroidissement, le pH doit être de $7,1 \pm 0,2$, le mesurage étant effectué à la température ambiante.

5.3.3.2 Autres milieux liquides d'enrichissement

D'autres milieux liquides d'enrichissement peuvent être utilisés s'ils sont appropriés (voir Annexe A).

5.3.4 Milieu gélosé sélectif pour isolement d'*Escherichia coli*

5.3.4.1 Gélose MacConkey

5.3.4.1.1 Composition

Digestion pancréatique de gélatine	17,0 g
------------------------------------	--------

Digestion pancréatique de caséine	1,5 g
Digestion pepsique de tissu animal	1,5 g
Lactose	10,0 g
Mélange de sels biliaires	1,5 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Gélose	13,5 g
Rouge neutre	30,0 g
Cristal violet	1,0 ml
Eau	1 000 ml

5.3.4.1.2 Préparation

Dissoudre tous les composants solides dans l'eau et faire bouillir pendant 1 min pour dissoudre.

Répartir dans des récipients appropriés et stériliser à 121 °C pendant 15 min.

Après stérilisation et refroidissement, le pH doit être de $7,1 \pm 0,2$, le mesurage étant effectué à la température ambiante.

iTeh STANDARD PREVIEW

5.3.5 Milieu gélosé sélectif pour confirmation de la présence d'*Escherichia coli*

5.3.5.1 Gélose de Levine à l'éosine et au bleu de méthylène

ISO 21150:2006

5.3.5.1.1 Composition

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/6d7173f2-6964-43d8-98c9-d06dfb4b3f26/iso-21150-2006>

Digestion pancréatique de gélatine	10,0 g
Dihydrogénophosphate de potassium (KH_2PO_4)	2,0 g
Gélose	15,0 g
Lactose	10,0 g
Éosine Y	400 mg
Bleu de méthylène	65 mg
Eau	1 000 ml

5.3.5.1.2 Préparation

Dissoudre la digestion pancréatique de gélatine, le phosphate de potassium dibasique et la gélose dans l'eau tout en chauffant, puis laisser refroidir. Juste avant utilisation, faire fondre le gel de gélose, ajouter les ingrédients restants sous forme de solutions, dans les quantités suivantes, et mélanger: pour chaque 100 ml de gélose fondue

- 5 ml d'une solution de lactose à 20 %,
- 2 ml d'une solution d'éosine Y à 2 %, et
- 2 ml d'une solution de bleu de méthylène à 0,033 %.