

---

---

**Cosmétiques — Microbiologie —  
Recherche de *Pseudomonas aeruginosa***

*Cosmetics — Microbiology — Detection of *Pseudomonas aeruginosa**

**iTeh STANDARD PREVIEW  
(standards.iteh.ai)**

[ISO 22717:2006](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/de8a0ed6-ca55-4f18-a5fb-7e4e2436f490/iso-22717-2006)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/de8a0ed6-ca55-4f18-a5fb-7e4e2436f490/iso-22717-2006>



**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 22717:2006

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/de8a0ed6-ca55-4f18-a5fb-7e4e2436f490/iso-22717-2006>



**DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT**

© 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](mailto:copyright@iso.org)  
Web [www.iso.org](http://www.iso.org)

Version française parue en 2007

Publié en Suisse

## Sommaire

Page

Avant-propos.....	iv
Introduction.....	v
1 <b>Domaine d'application</b> .....	1
2 <b>Références normatives</b> .....	1
3 <b>Termes et définitions</b> .....	2
4 <b>Principe</b> .....	2
5 <b>Diluants et milieux de culture</b> .....	3
5.1 <b>Généralités</b> .....	3
5.2 <b>Diluant pour la suspension bactérienne (Solution de tryptone et de chlorure de sodium)</b> .....	3
5.3 <b>Milieux de culture</b> .....	3
6 <b>Appareillage et verrerie</b> .....	6
7 <b>Souches de microorganismes</b> .....	6
8 <b>Manipulation des produits cosmétiques et des échantillons de laboratoire</b> .....	6
9 <b>Mode opératoire</b> .....	7
9.1 <b>Recommandations générales</b> .....	7
9.2 <b>Préparation de la suspension initiale dans le milieu liquide d'enrichissement</b> .....	7
9.3 <b>Incubation du milieu liquide d'enrichissement ensemençé</b> .....	7
9.4 <b>Recherche et identification de <i>Pseudomonas aeruginosa</i></b> .....	8
10 <b>Expression des résultats</b> .....	8
11 <b>Neutralisation des propriétés antimicrobiennes du produit</b> .....	9
11.1 <b>Généralités</b> .....	9
11.2 <b>Préparation de l'inoculum</b> .....	9
11.3 <b>Validation de la méthode de recherche</b> .....	9
12 <b>Rapport d'essai</b> .....	10
<b>Annexe A (informative) Autres milieux liquides d'enrichissement</b> .....	11
<b>Annexe B (informative) Neutralisants de l'activité antimicrobienne des conservateurs et liquides de rinçage</b> .....	13
<b>Bibliographie</b> .....	14

## 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 22717 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 217, *Cosmétiques*.

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
**(standards.iteh.ai)**

[ISO 22717:2006](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/de8a0ed6-ca55-4f18-a5fb-7e4e2436f490/iso-22717-2006)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/de8a0ed6-ca55-4f18-a5fb-7e4e2436f490/iso-22717-2006>

## 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

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

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 microorganismes 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 22717:2006](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/de8a0ed6-ca55-4f18-a5fb-7e4e2436f490/iso-22717-2006)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/de8a0ed6-ca55-4f18-a5fb-7e4e2436f490/iso-22717-2006>

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
**(standards.iteh.ai)**

ISO 22717:2006

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/de8a0ed6-ca55-4f18-a5fb-7e4e2436f490/iso-22717-2006>

# Cosmétiques — Microbiologie — Recherche de *Pseudomonas aeruginosa*

## 1 Domaine d'application

La présente Norme internationale donne des lignes directrices générales pour la recherche et l'identification du microorganisme spécifié *Pseudomonas aeruginosa* dans les produits cosmétiques. Les microorganismes 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 recommandé d'effectuer une analyse appropriée du risque microbiologique afin de déterminer les types de produit cosmétique 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 hydroalcooliques, ceux ayant des valeurs de pH extrêmes, etc.

La méthode décrite dans la présente Norme internationale repose sur la recherche de *Pseudomonas aeruginosa* dans un milieu liquide non sélectif (milieu liquide d'enrichissement), suivie de son isolement sur un milieu gélosé sélectif. D'autres méthodes peuvent être appropriées, en fonction du niveau de détection requis.

NOTE Pour la recherche de *Pseudomonas aeruginosa*, 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 le champ d'application de la présente Norme internationale, il se peut que la présente méthode ne soit pas adaptée, en tout point, à quelques produits (par exemple certains produits non miscibles à l'eau). D'autres Normes internationales (ISO 18415<sup>[10]</sup>) peuvent convenir. Il est possible de remplacer les essais présentés ici par d'autres méthodes (par exemple automatisées) 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 s'applique (y compris les éventuels amendements).

ISO 21148:2005, *Cosmétiques — Microbiologie — Instructions générales pour les examens microbiologiques*

EN 12353, *Antiseptiques et désinfectants chimiques — Conservation des souches microbiennes utilisées pour la détermination de l'activité bactéricide et fongicide*

### 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
- 3.2 échantillon**  
portion du produit (au moins 1 g ou 1 ml) utilisée lors de 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
- 3.4 dilution(s) de l'échantillon**  
dilution(s) de la suspension initiale
- 3.5 microorganisme spécifié**  
bactérie aérobie mésophile ou levure qui est indésirable dans un produit cosmétique et qui est reconnue comme étant une espèce pathogène pour la peau, susceptible d'être néfaste pour la santé humaine ou considérée comme indication de défaillance de l'hygiène dans le processus de fabrication
- 3.6 *Pseudomonas aeruginosa***  
bacille Gram négatif mobile, colonies lisses pigmentées de couleur marron ou verdâtre
- NOTE 1 Les principales caractéristiques pour l'identification sont les suivantes: croissance sur milieu sélectif gélose cétrimide, oxydase positive, production de pigments fluorescents diffusibles et production de pigment phénazine soluble (pyocyanine) dans les milieux appropriés.
- NOTE 2 *Pseudomonas aeruginosa* peut être isolé à partir d'une grande variété de sources environnementales, notamment l'eau; il est capable de contaminer un grand nombre de substrats différents. Il peut être à l'origine d'infections cutanées ou oculaires chez l'homme. Sa présence est donc indésirable dans les produits cosmétiques en raison de son caractère potentiellement pathogène et de sa capacité à modifier les propriétés physicochimiques de la formulation du cosmétique.
- 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

### 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 microorganismes, de façon à éviter le risque d'inhibition par les ingrédients sélectifs 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 microorganismes viables<sup>[1]</sup>. Dans tous les cas et quelle que soit la méthode employée, la neutralisation des propriétés antimicrobiennes du produit doit être vérifiée et validée [2], [3], [4].

## 5 Diluants et milieux de culture

### 5.1 Généralités

Des instructions générales sont données dans l'ISO 21148. Lorsque le présent document mentionne l'utilisation d'eau, cela doit être de l'eau distillée ou de l'eau purifiée comme spécifié 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 peut être utilisé pour vérifier la présence de *Pseudomonas aeruginosa* 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 s'il peut être démontré que leur emploi convient.

### 5.2 Diluant pour la suspension bactérienne (Solution de tryptone et de chlorure de sodium)

#### 5.2.1 Généralités

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

#### 5.2.2 Composition

— Tryptone, peptone pancréatique de caséine 1,0 g

— Chlorure de sodium 8,5 g

— Eau 1 000 ml

#### 5.2.3 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.

## 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 ou gélose trypto-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 ainsi qu'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 22717:2006

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/de8a0ed6-ca55-4f18-a5fb-7e4e2436f490/iso-22717-2006>

### 5.3.3.1.3 Préparation

Dissoudre les composants les uns après les autres dans l'eau bouillante — polysorbate 80, octoxynol 9 et 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 égal à  $7,0 \pm 0,2$ , 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 de *Pseudomonas aeruginosa*

### 5.3.4.1 Milieu gélosé-cétrimide

#### 5.3.4.1.1 Composition

— Peptone pancréatique de gélatine	20,0 g
— Chlorure de magnésium	1,4 g
— Sulfate de potassium	10,0 g
— Cétrimide (bromure de cetyltriméthylammonium)	0,3 g
— Gélose	13,6 g
— Glycérine	10,0 ml
— Eau	1 000 ml

#### 5.3.4.1.2 Préparation

Dissoudre tous les composants solides dans l'eau et ajouter la glycérine. Chauffer en agitant souvent et laisser 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  $7,2 \pm 0,2$ , le mesurage étant effectué à la température ambiante.

## 5.3.5 Milieu gélosé sélectif pour confirmation de la présence de *Pseudomonas aeruginosa*

### 5.3.5.1 Milieu gélosé *Pseudomonas* pour la recherche de pyocyanine (Gélose *Pseudomonas* P)

#### 5.3.5.1.1 Composition

— Peptone pancréatique de gélatine	20,0 g
— Chlorure de magnésium anhydre	1,4 g
— Sulfate de potassium anhydre	10,0 g
— Gélose	15,0 g
— Glycérine	10,0 ml
— Eau	1 000 ml