
**Cosmétiques — Microbiologie —
Détection de *Staphylococcus aureus***

Cosmetics — Microbiology — Detection of Staphylococcus aureus

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 22718:2006](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/95f75a14-b68f-4ea7-ba25-b3d7357185a4/iso-22718-2006)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/95f75a14-b68f-4ea7-ba25-b3d7357185a4/iso-22718-2006>



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 22718:2006

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/95f75a14-b68f-4ea7-ba25-b3d7357185a4/iso-22718-2006>

© 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 de tryptone et de chlorure de sodium)	3
5.3 Milieux de culture	3
6 Appareillage et verrerie	6
7 Souches de microorganismes	6
8 Manipulation des produits cosmétiques et des échantillons de laboratoire	7
9 Mode opératoire	7
9.1 Recommandations générales	7
9.2 Préparation de la suspension initiale dans le milieu liquide d'enrichissement	7
9.3 Incubation du milieu liquide d'enrichissement ensemencé	8
9.4 Détection et identification de <i>Staphylococcus aureus</i>	8
10 Expression des résultats (détection de <i>Staphylococcus aureus</i>)	9
11 Neutralisation des propriétés antimicrobiennes du produit	9
11.1 Généralités	9
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	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 22718 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 217, *Cosmétiques*.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 22718:2006](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/95f75a14-b68f-4ea7-ba25-b3d7357185a4/iso-22718-2006)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/95f75a14-b68f-4ea7-ba25-b3d7357185a4/iso-22718-2006>

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 autres produits topiques, la détection 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 un 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 22718:2006](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/95f75a14-b68f-4ea7-ba25-b3d7357185a4/iso-22718-2006)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/95f75a14-b68f-4ea7-ba25-b3d7357185a4/iso-22718-2006>

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 22718:2006

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/95f75a14-b68f-4ea7-ba25-b3d7357185a4/iso-22718-2006>

Cosmétiques — Microbiologie — Détection de *Staphylococcus aureus*

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale donne des lignes directrices générales pour la détection et l'identification du microorganisme spécifié *Staphylococcus aureus* dans les produits cosmétiques. Les microorganismes considérés comme spécifiés dans la présente Norme internationale peuvent différer d'un pays à l'autre, suivant les pratiques ou réglementations nationales.

Pour garantir la qualité du produit et la sécurité des consommateurs, il est préférable 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 considérés présenter 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 méthode décrite dans la présente Norme internationale repose sur la détection de *Staphylococcus aureus* 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 exigé.

NOTE Pour la détection de *Staphylococcus aureus*, il est possible de réaliser des sous-cultures sur des milieux de culture non sélectifs avant de procéder aux étapes appropriées d'identification (en utilisant, par exemple des kits d'identification). <https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/95f75a14-b68f-4ea7-ba25-b3d7357185a4/iso-22718-2006>

En raison de la grande variété de produits cosmétiques entrant dans le présent domaine d'application, il se peut que la présente méthode ne soit pas adaptée, en tous points, à quelques produits (par exemple certains produits non miscibles à l'eau). Une autre Norme internationale (l'ISO 18415^[10]) peut convenir. Il est possible de remplacer les essais présentés ici par d'autres méthodes (automatisées, par exemple) 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 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

microorganisme spécifié

bactérie aérobie mésophile ou levure dont la présence dans un produit cosmétique est indésirable parce qu'elle est reconnue comme une espèce pathogène pour la peau susceptible d'être néfaste pour la santé humaine ou parce que c'est un indicateur de défaillance de l'hygiène dans le processus de fabrication

3.6

Staphylococcus aureus

cocci Gram positif, principalement regroupés en grappes, colonies lisses généralement pigmentées en jaune

NOTE 1 Les principales caractéristiques pour l'identification sont les suivantes: croissance sur milieu sélectif spécifique, catalase positive, coagulase positive.

NOTE 2 *Staphylococcus aureus* est une bactérie pathogène opportuniste chez l'homme, qui peut également être présente sur la peau d'individus sains sans engendrer de troubles. Sa présence est indésirable dans les produits cosmétiques en raison de son caractère potentiellement pathogène.

3.7

milieu liquide d'enrichissement

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

ITeH STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 22718:2006

https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/b3d7357185a4/iso-22718-2006

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 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 [1]. 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, utiliser 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 *Staphylococcus aureus* 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 a été 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 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 température ambiante.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

5.3 Milieux de culture

ISO 22718:2006

5.3.1 Généralités

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/95f75a14-b68f-4ea7-ba25-b3d7357185a4/iso-22718-2006>

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 (voir Article 11) milieu gélosé aux peptones de caséine et de soja (SCDA) ou gélose trypto-caséine soja (TSA)

5.3.2.1 Composition

— peptone de caséine	15,0 g
— peptone de soja	5,0 g
— chlorure de sodium	5,0 g
— gel d'agar	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 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 de caséine	15,0 g
— peptone 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 22718:2006

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/95f75a14-b68f-4ea7-ba25-b3d7357185a4/iso-22718-2006>

5.3.3.1.3 Préparation

Dissoudre les composants dans l'eau bouillante dans l'ordre suivant: 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 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 *Staphylococcus aureus*

5.3.4.1 Gélose Baird Parker

5.3.4.1.1 Milieu de base

5.3.4.1.1.1 Composition

— peptone de caséine	10,0 g
— extrait de levure	1,0 g
— extrait de viande	5,0 g
— pyruvate de sodium	10,0 g
— L-glycine	12,0 g
— chlorure de lithium	5,0 g
— gélose	12 g à 22 g ¹⁾
— eau	compléter au volume final de 950 ml

5.3.4.1.1.2 Préparation

Dissoudre tous ces composants ou la base complète déshydratée dans l'eau à ébullition. Transférer le milieu par portions de 100 ml dans des fioles ou flacons de capacité appropriée. Stériliser à l'autoclave 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 température ambiante.

5.3.4.1.2 Solution de tellurite de potassium

5.3.4.1.2.1 Composition

— tellurite de potassium (K_2TeO_3)	1,0 g
— eau	100 ml

5.3.4.1.2.2 Préparation

Dissoudre le tellurite de potassium complètement dans l'eau en chauffant au minimum.

Stériliser par filtration sur des membranes ayant une porosité de 0,22 µm. La solution peut être conservée à $3 \text{ °C} \pm 2 \text{ °C}$ pendant une période maximale de un mois. Rejeter la solution en cas de formation d'un précipité blanc.

En principe, la poudre se dissout facilement. S'il persiste dans l'eau une substance blanche insoluble, il convient de rejeter la poudre.

1) En fonction des propriétés gélifiantes de l'agar.