

Première édition  
2007-09-01

Version corrigée  
2007-12-01

---

---

**Cosmétiques — Microbiologie —  
Détection des micro-organismes  
spécifiés et non spécifiés**

*Cosmetics — Microbiology — Detection of specified and non-specified  
microorganisms*

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

ISO 18415:2007

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9393fbd8-3107-4bf8-9654-25e473ede55f/iso-18415-2007>



Numéro de référence  
ISO 18415:2007(F)

© ISO 2007

**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 18415:2007](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9393fbd9-3107-4bf8-9654-25e473ede55f/iso-18415-2007)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9393fbd9-3107-4bf8-9654-25e473ede55f/iso-18415-2007>



**DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT**

© ISO 2007

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)

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> .....	3
5 <b>Diluants et milieux de culture</b> .....	3
5.1 <b>Généralités</b> .....	3
5.2 <b>Diluant pour la suspension microbienne (solution de tryptone et de chlorure de sodium)</b> .....	4
5.3 <b>Milieux de culture</b> .....	4
6 <b>Appareillage et verrerie</b> .....	6
7 <b>Souches de micro-organismes</b> .....	6
8 <b>Manipulation des produits cosmétiques et des échantillons de laboratoire</b> .....	7
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 de la suspension initiale</b> .....	8
9.4 <b>Isolement des micro-organismes spécifiés et non spécifiés</b> .....	8
9.5 <b>Mode opératoire d'identification du micro-organisme spécifié: <i>Pseudomonas aeruginosa</i></b> .....	8
9.6 <b>Mode opératoire d'identification du micro-organisme spécifié: <i>Escherichia coli</i></b> .....	8
9.7 <b>Mode opératoire d'identification du micro-organisme spécifié: <i>Staphylococcus aureus</i></b> .....	9
9.8 <b>Mode opératoire d'identification du micro-organisme spécifié: <i>Candida albicans</i></b> .....	9
9.9 <b>Mode opératoire d'identification des micro-organismes non spécifiés</b> .....	10
10 <b>Expression des résultats</b> .....	10
10.1 <b>Détection des micro-organismes spécifiés</b> .....	10
10.2 <b>Détection de micro-organismes non spécifiés</b> .....	11
10.3 <b>Absence de micro-organismes</b> .....	11
11 <b>Neutralisation des propriétés antimicrobiennes du produit</b> .....	11
11.1 <b>Généralités</b> .....	11
11.2 <b>Préparation de l'inoculum</b> .....	11
11.3 <b>Validation de la méthode de détection par enrichissement</b> .....	11
12 <b>Rapport d'essai</b> .....	13
<b>Annexe A (informative) Schéma général pour l'identification des micro-organismes</b> .....	14
<b>Annexe B (informative) Autres milieux</b> .....	15
<b>Annexe C (informative) Neutralisants de l'activité antimicrobienne des conservateurs et des liquides de rinçage</b> .....	18
<b>Bibliographie</b> .....	19

## 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 18415 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 217, *Cosmétiques*.

La présente version corrigée de l'ISO 18415:2007 inclut les corrections suivantes:

- p. 1, Article 2: une référence à l'EN 12353 a été ajoutée, <https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9393fbd8-3107-4bf8-9654-25e473ede55f/iso-18415-2007>
- p. 2, 3.6 et 3.6.1: modification des deux définitions,
- p. 6, Article 7: la référence [10] à l'EN 12353 a été supprimée pour lire «... à l'EN 12353.»;
- p. 9, 9.7.1: dans la dernière phrase, «... des coques Gram négatifs.» a été remplacé par «... des coques Gram positifs.»;
- p. 10, 9.9.3: «... gélose de digesté tryptocaséine soja» a été modifié pour lire «... gélose tryptocaséine soja»;
- p. 18, Annexe C: dans la 3<sup>e</sup> colonne à la 5<sup>e</sup> ligne, l'unité a été modifiée pour lire «... 1 g/l + NaCl, ...»;
- p. 19, Bibliographie: la référence [10] à l'EN 12353 a été supprimée.

## 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 micro-organismes,
- le site d'application du produit cosmétique (cheveux, peau, yeux, muqueuses),
- la catégorie d'utilisateurs (adultes, enfants de moins de 3 ans).

Pour les cosmétiques et d'autres produits topiques, la détection d'agents pathogènes pour la peau tels que *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Candida albicans* peut être justifiée car ils peuvent engendrer des infections cutanées ou ophtalmiques. La détection d'autres sortes de micro-organismes peut aussi présenter un intérêt car ces micro-organismes (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 18415:2007](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9393fbd8-3107-4bf8-9654-25e473ede55f/iso-18415-2007)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9393fbd8-3107-4bf8-9654-25e473ede55f/iso-18415-2007>

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

ISO 18415:2007

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9393fbd8-3107-4bf8-9654-25e473ede55f/iso-18415-2007>

# Cosmétiques — Microbiologie — Détection des micro-organismes spécifiés et non spécifiés

## 1 Domaine d'application

La présente Norme internationale donne des lignes directrices générales pour la détection et l'identification de micro-organismes spécifiés dans les produits cosmétiques, et aussi pour la détection et l'identification d'autres sortes de micro-organismes mésophiles aérobies non spécifiés, dans les produits cosmétiques.

Les micro-organismes considérés comme spécifiés dans la présente Norme internationale peuvent différer d'un pays à l'autre, suivant les pratiques ou réglementations nationales. La plupart des micro-organismes considérés comme spécifiés comprennent une ou plusieurs espèces, parmi les suivantes: *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans*.

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 considérés présenter 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 est fondée sur la détection d'une croissance microbienne dans un milieu liquide non sélectif (milieu liquide d'enrichissement) qui permet de détecter une contamination microbienne, suivie d'un isolement des micro-organismes sur un milieu gélosé non sélectif. D'autres méthodes peuvent être appropriées, en fonction du niveau de détection requis.

Dans cette Norme internationale, des indications spécifiques sont données pour l'identification de *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans*. D'autres micro-organismes qui se développent dans les conditions décrites dans la présente Norme internationale peuvent être identifiés en mettant en œuvre des essais appropriés conformes à un schéma général (voir Annexe A). D'autres Normes internationales (par exemple l'ISO 18416, l'ISO 21150, l'ISO 22717 et l'ISO 22718) peuvent convenir.

En raison de la grande variété de produits cosmétiques relevant du présent domaine d'application, la présente méthode pourrait ne pas être, en tous points, adaptée à certains produits (par exemple certains produits non miscibles à l'eau). 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 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 organismes test utilisés pour la détermination de l'activité bactéricide, mycobactéricide, sporicide 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 de l'échantillon**  
dilution de la suspension initiale
- 3.5 micro-organisme mésophile aérobie**  
bactérie mésophile ou levure se développant dans les conditions aérobies spécifiées dans la présente Norme internationale

NOTE Dans les conditions décrites, la détection d'autres types de micro-organismes (par exemple moisissures) est admise.

STANDARD PREVIEW  
(standards.iteh.ai)

- 3.6 micro-organisme spécifié**  
bactérie aérobie mésophile ou levure dont la présence dans un produit cosmétique est indésirable parce qu'elle peut causer une infection cutanée ou ophtalmique ou peut être reconnue comme un indicateur de défaillance de l'hygiène dans le processus de fabrication

- 3.6.1 *Pseudomonas aeruginosa***  
bâtonnet (bacille) Gram négatif, mobile, colonies lisses pigmentées brunes ou verdâtres

NOTE 1 Les principales caractéristiques pour l'identification sont les suivantes: croissance sur milieu sélectif gélosé cétrimide, oxydase positive, production de pigments fluorescents diffusibles et production d'un pigment phénazine soluble (pyocyanine) dans les milieux appropriés.

NOTE 2 *Pseudomonas aeruginosa* peut être isolé d'une grande variété de sources environnementales, notamment dans l'eau, et il est très largement capable de détériorer nombre de substrats différents. Il peut engendrer, chez l'Homme, des infections cutanées ou ophtalmiques. Sa présence est indésirable dans les produits cosmétiques en raison de son caractère potentiellement pathogène et de sa capacité à altérer les propriétés physicochimiques de la formule du cosmétique.

- 3.6.2 *Escherichia coli***  
bâtonnet (bacille) Gram négatif, mobile; colonies lisses

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

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



**3.6.3*****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 souvent être présente sur la peau d'individus sains chez lesquels elle n'engendre apparemment aucune maladie. C'est un micro-organisme spécifié dont la présence est indésirable dans les produits cosmétiques.

**3.6.4*****Candida albicans***

levure qui forme des colonies convexes et d'aspect crémeux, de couleur blanche à beige, à la surface d'un milieu gélosé non sélectif

NOTE Les principales caractéristiques pour l'identification sont la production de filaments et/ou de pseudomycélium et de chlamydospores, lorsque l'essai est réalisé conformément à la méthode spécifiée dans la présente Norme internationale.

**3.7****micro-organisme non spécifié**

levure ou bactérie mésophile aérobie trouvée dans des produits cosmétiques, non définie en 3.6

**3.8****milieu liquide d'enrichissement**

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

STANDARD PREVIEW  
(standards.iteh.ai)

**4 Principe**

ISO 18415:2007

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9393fbd8-3107-4bf8-9654-75e479db5577/iso-18415-2007>

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 présents dans les milieux de culture sélectifs/différentiels.

Les étapes suivantes (isolement et identification) sont réalisées en fonction des besoins, en utilisant des conditions appropriées d'incubation et des tests d'identification appropriés, tels que décrits dans la présente Norme internationale.

L'inhibition potentielle de la croissance microbienne par l'échantillon doit être neutralisée pour permettre la recherche des micro-organismes viables [2]. 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. Lorsqu'une formule contient de l'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 C fournit des informations relatives aux neutralisants appropriés.

Les milieux liquides d'enrichissement et les milieux de culture ci-après sont adaptés pour vérifier la présence de micro-organismes spécifiés et non spécifiés conformément à la présente Norme internationale, à condition d'avoir été validés conformément à l'Article 11.

D'autres diluants et d'autres milieux de culture peuvent être utilisés s'il a été démontré qu'ils sont adaptés pour cet usage.

## 5.2 Diluant pour la suspension microbienne (solution de tryptone et de chlorure de sodium)

### 5.2.1 Généralités

Le diluant est utilisé pour la préparation des suspensions bactériennes et de levure utilisées 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, le pH doit être de  $7,0 \pm 0,2$ , le mesurage étant effectué à température ambiante.

## 5.3 Milieux de culture

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/9393fbd8-3107-4bf8-9654-25e473ede55f/iso-18415-2007>

### 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 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 liquide d'enrichissement

#### 5.3.2.1 Bouillon Eugon LT100

##### 5.3.2.1.1 Généralités

Ce milieu contient des ingrédients qui neutralisent les substances inhibitrices présentes dans l'échantillon, la lécithine et le polysorbate 80 ainsi qu'un agent dispersant, l'octoxynol 9.

**5.3.2.1.2 Composition**

— Peptone pancréatique de caséine	15,0 g
— Peptone papaique 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

**5.3.2.1.3 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, le pH doit être de  $7,0 \pm 0,2$ , le mesurage étant effectué à température ambiante.

**5.3.2.2 Autres milieux liquides d'enrichissement**

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

**5.3.3 Milieu gélosé non sélectif****5.3.3.1 Généralités**

Ce milieu est utilisé pour l'isolement et la détection des micro-organismes spécifiés et non spécifiés, présents dans la suspension initiale après l'enrichissement et pour la préparation de l'inoculum utilisé pour la validation.

**5.3.3.2 Milieu gélosé aux peptones de caséine et de soja (SCDA) ou gélose tryptocaséine de soja (TSA)****5.3.3.2.1 Composition**

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