
**Cosmétiques — Microbiologie —
Détection de *Candida albicans***

Cosmetics — Microbiology — Detection of Candida albicans

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 18416:2007](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/238084f9-0909-4d7c-a0a8-c76cbaedb5a0/iso-18416-2007)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/238084f9-0909-4d7c-a0a8-c76cbaedb5a0/iso-18416-2007>



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 18416:2007](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/238084f9-0909-4d7c-a0a8-c76cbaedb5a0/iso-18416-2007)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/238084f9-0909-4d7c-a0a8-c76cbaedb5a0/iso-18416-2007>



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
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 de levure (solution de tryptone et de chlorure de sodium)	3
5.3 Milieux de culture	3
6 Appareillage et verrerie	5
7 Souches de microorganismes	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	6
9.3 Incubation du milieu liquide d'enrichissement ensemençé	7
9.4 Isolement et identification de <i>Candida albicans</i>	7
10 Expression des résultats (recherche de <i>Candida albicans</i>)	8
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 des liquides de rinçage	15
Bibliographie	16

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 18416 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 217, *Cosmétiques*.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

[ISO 18416:2007](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/238084f9-0909-4d7c-a0a8-c76cbaedb5a0/iso-18416-2007)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/238084f9-0909-4d7c-a0a8-c76cbaedb5a0/iso-18416-2007>

Introduction

Les examens microbiologiques des produits cosmétiques doivent être réalisés selon une analyse de risque microbiologique 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),
- la catégorie d'utilisateurs (adultes, enfants de moins de 3 ans).

Pour les cosmétiques et les autres produits topiques, la détection de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Candida albicans* peut être justifiée car ceux-ci peuvent engendrer des infections cutanées ou oculaires. 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 18416:2007](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/238084f9-0909-4d7c-a0a8-c76cbaedb5a0/iso-18416-2007)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/238084f9-0909-4d7c-a0a8-c76cbaedb5a0/iso-18416-2007>

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 18416:2007

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/238084f9-0909-4d7c-a0a8-c76baedb5a0/iso-18416-2007>

Cosmétiques — Microbiologie — Détection de *Candida albicans*

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale donne des lignes directrices générales pour la détection et l'identification du microorganisme spécifié *Candida albicans* 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 les réglementations nationales.

Pour garantir la qualité du produit et la sécurité des consommateurs, il est préférable d'effectuer une analyse appropriée du risque microbiologique de façon à déterminer les types de produits cosmétiques qui relèvent de la présente Norme internationale. Les produits considérés comme présentant 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 d'abord sur la détection de *Candida albicans* dans un milieu liquide non sélectif (milieu liquide d'enrichissement), puis sur l'isolement dudit microorganisme sur un milieu gélosé sélectif. D'autres méthodes peuvent être appropriées en fonction du niveau de détection exigé.

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

En raison de la grande variété de produits cosmétiques relevant de ce domaine d'application, il se peut que cette méthode ne soit pas adaptée en tous points à certains produits (par exemple aux produits non miscibles à l'eau). Une autre Norme internationale (par exemple l'ISO 18415) peut être appropriée. Il est possible de remplacer l'essai présenté ici par d'autres méthodes (par exemple des méthodes automatisées) sous réserve que leur équivalence a été démontrée ou que la méthode a 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 microorganismes d'essai 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 lors de l'essai pour préparer la suspension initiale (solution mère)

3.3 suspension initiale
suspension (ou solution mère) 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 microorganisme spécifié
bactérie aérobic mésophile ou levure dont la présence dans un produit cosmétique est indésirable parce qu'elle est susceptible de provoquer une infection cutanée ou ophtalmique ou qu'elle indique une défaillance de l'hygiène

3.6 *Candida albicans*
levure qui forme des colonies convexes et crémeuses, de couleur blanche à beige, à la surface d'un milieu sélectif

NOTE La principale caractéristique pour son identification est la production de filaments et/ou de pseudo-mycélium et de chlamydopores lorsque l'essai est réalisé conformément à la méthode spécifiée dans la présente Norme internationale.

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

4 Principe

La première étape du mode opératoire est une phase d'enrichissement utilisant un milieu liquide non sélectif afin d'augmenter le nombre de microorganismes sans risque d'inhibition par les ingrédients sélectifs qui sont présents dans les milieux de culture sélectifs/différentiels.

La seconde étape (isolement) de l'essai est réalisée sur un milieu sélectif et elle est suivie d'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 la présente Norme internationale mentionne l'emploi d'eau, il faut utiliser de l'eau distillée ou de l'eau purifiée comme spécifié dans l'ISO 21148.

Le milieu liquide d'enrichissement (5.3.3.1), ou l'un de ceux donnés dans l'Annexe A, est utilisé pour disperser l'échantillon et pour augmenter la population microbienne initiale. La présence de neutralisants dans le milieu liquide d'enrichissement est admise 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 ci-après peut être utilisé pour vérifier la présence de *Candida albicans* 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 de levure (solution de tryptone et de chlorure de sodium)

5.2.1 Généralités

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

5.2.2 Composition

— tryptone, digesté 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 température ambiante.

[ISO 18416:2007](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/238084f9-0909-4d7c-a0a8-c76cbaedb5a0/iso-18416-2007)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/238084f9-0909-4d7c-a0a8-c76cbaedb5a0/iso-18416-2007>

5.3 Milieux de culture

5.3.1 Généralités

Les milieux de culture peuvent être préparés suivant les modes opératoires ci-dessous ou à partir de milieux de culture déshydratés conformément aux instructions du fabricant. Il convient de se conformer aux instructions données par le fournisseur des 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 ci-après.

5.3.2 Milieux gélosés pour validation

5.3.2.1 Gélose Sabouraud au dextrose (SDA)

5.3.2.1.1 Composition

— Dextrose	40,0 g
— Digesté pancréatique de tissus animaux	5,0 g
— Digesté pancréatique de caséine	5,0 g
— Gélose	15,0 g
— Eau	1 000 ml

5.3.2.1.2 Préparation

Dissoudre les composants ou le milieu complet déshydraté dans l'eau 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 $5,6 \pm 0,2$, le mesurage étant effectué à température ambiante.

5.3.2.2 Autre milieu gélosé pour validation

L'emploi d'un autre milieu gélosé pour validation est admis s'il est approprié (voir Annexe A).

5.3.3 Milieux liquides 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, telles que la lécithine et le polysorbate 80 ainsi qu'un agent dispersant comme l'octoxynol 9.

5.3.3.1.2 Composition

— Digesté pancréatique de caséine	15,0 g
— Digesté papaiïque de soja	5,0 g
— L-cystine	0,7 g
— Chlorure de sodium	4,0 g
— Sulfite de sodium	0,2 g
— Dextrose	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 18416:2007
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/2380849-0909-4d7c-a0a8-c76cbaedb5a0/iso-18416-2007>

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 $7,0 \pm 0,2$, 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 l'isolement de *Candida albicans*

5.3.4.1 Gélose Sabouraud au dextrose chloramphénicol

5.3.4.1.1 Composition

— Dextrose	40,0 g
— Digesté de tissus animaux	5,0 g
— Digesté pancréatique de caséine	5,0 g
— Chloramphénicol	0,050 g
— Gélose	15,0 g
— Eau	1 000 ml

5.3.4.1.2 Préparation

Dissoudre ces composants (y compris le chloramphénicol) ou le milieu complet déshydraté dans l'eau 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 $5,6 \pm 0,2$, le mesurage étant effectué à température ambiante.

iTeh STANDARD PREVIEW

5.3.4.2 Autre milieu gélosé sélectif

D'autres milieux gélosés sélectifs peuvent être utilisés s'ils sont appropriés (voir Annexe A).

ISO 18416:2007

5.3.5 Gélose à la farine de maïs avec 1 % de polysorbate 80

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/238084f9-0909-4d7c-a0a8-c76cbaedb5a0/iso-18416-2007>

5.3.5.1 Composition

— Infusion de farine de maïs	50,0 g
— Gélose	15,0 g
— Polysorbate 80	10,0 g
— Eau	1 000 ml

5.3.5.2 Préparation

Dissoudre ces composants ou le milieu complet déshydraté dans l'eau 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 $6,0 \pm 0,2$, le mesurage étant effectué à température ambiante.

6 Appareillage et verrerie

L'équipement de laboratoire, l'appareillage et la verrerie doivent être tels que décrits dans l'ISO 21148.