

---

---

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

*Cosmetics — Microbiology — Detection of Escherichia coli*

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

[ISO 21150:2015](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/07c1e1b-7129-479c-85e2-2637dee2f7f1/iso-21150-2015)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/07c1e1b-7129-479c-85e2-2637dee2f7f1/iso-21150-2015>



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

ISO 21150:2015

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/07c1e1b-7129-479c-85e2-2637dee2f7f1/iso-21150-2015>



**DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT**

© ISO 2015, Publié en Suisse

Droits de reproduction réservés. Sauf indication contraire, 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, l'affichage sur l'internet ou sur un Intranet, sans autorisation écrite préalable. Les demandes d'autorisation peuvent être adressées à l'ISO à l'adresse ci-après ou au comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

ISO copyright office  
Ch. de Blandonnet 8 • CP 401  
CH-1214 Vernier, Geneva, Switzerland  
Tel. +41 22 749 01 11  
Fax +41 22 749 09 47  
copyright@iso.org  
www.iso.org

## Sommaire

Page

Avant-propos.....	iv
Introduction.....	v
<b>1</b> <b>Domaine d'application</b> .....	<b>1</b>
<b>2</b> <b>Références normatives</b> .....	<b>1</b>
<b>3</b> <b>Termes et définitions</b> .....	<b>1</b>
<b>4</b> <b>Principe</b> .....	<b>2</b>
<b>5</b> <b>Diluants et milieux de culture</b> .....	<b>2</b>
5.1   Généralités.....	2
5.2   Diluant pour la suspension bactérienne (solution de tryptone et de chlorure de sodium).....	3
5.2.1   Généralités.....	3
5.2.2   Composition.....	3
5.2.3   Préparation.....	3
5.3   Milieux de culture.....	3
5.3.1   Généralités.....	3
5.3.2   Milieu gélosé pour l'essai d'applicabilité (voir <a href="#">Article 11</a> ) [milieu gélosé à l'hydrolysate de caséine et de soja (SCDA) ou gélose tryptone-soja (TSA)].....	3
5.3.3   Bouillon d'enrichissement.....	4
5.3.4   Milieu gélosé sélectif pour l'isolement d' <i>Escherichia coli</i> .....	5
5.3.5   Milieu gélosé sélectif pour confirmation de la présence d' <i>Escherichia coli</i> .....	5
<b>6</b> <b>Appareillage et verrerie</b> .....	<b>6</b>
<b>7</b> <b>Souches de microorganismes</b> .....	<b>6</b>
<b>8</b> <b>Manipulation des produits cosmétiques et des échantillons de laboratoire</b> .....	<b>6</b>
<b>9</b> <b>Mode opératoire</b> .....	<b>6</b>
9.1   Recommandation générale.....	6
9.2   Préparation de la suspension initiale dans le bouillon d'enrichissement.....	7
9.2.1   Généralités.....	7
9.2.2   Produits miscibles à l'eau.....	7
9.2.3   Produits non miscibles à l'eau.....	7
9.2.4   Produits filtrables.....	7
9.3   Incubation du bouillon d'enrichissement ensemencé.....	7
9.4   Détection et identification d' <i>Escherichia coli</i> .....	7
9.4.1   Isolement.....	7
9.4.2   Identification d' <i>Escherichia coli</i> .....	8
<b>10</b> <b>Expression des résultats (détection d'<i>Escherichia coli</i>)</b> .....	<b>8</b>
<b>11</b> <b>Neutralisation des propriétés antimicrobiennes du produit</b> .....	<b>8</b>
11.1   Généralités.....	8
11.2   Préparation de l'inoculum.....	8
11.3   Applicabilité de la méthode de détection.....	9
11.3.1   Mode opératoire.....	9
11.3.2   Interprétation des résultats de l'essai d'applicabilité.....	9
<b>12</b> <b>Rapport d'essai</b> .....	<b>10</b>
<b>Annexe A (informative) Autres bouillons d'enrichissement</b> .....	<b>11</b>
<b>Annexe B (informative) Neutralisants de l'activité antimicrobienne des conservateurs et liquides de rinçage</b> .....	<b>14</b>
<b>Bibliographie</b> .....	<b>15</b>

## 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 (IEC) en ce qui concerne la normalisation électrotechnique.

Les procédures utilisées pour élaborer le présent document et celles destinées à sa mise à jour sont décrites dans les Directives ISO/IEC, Partie 1. Il convient, en particulier de prendre note des différents critères d'approbation requis pour les différents types de documents ISO. Le présent document a été rédigé conformément aux règles de rédaction données dans les Directives ISO/IEC, Partie 2 (voir [www.iso.org/directives](http://www.iso.org/directives)).

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. Les détails concernant les références aux droits de propriété intellectuelle ou autres droits analogues identifiés lors de l'élaboration du document sont indiqués dans l'Introduction et/ou dans la liste des déclarations de brevets reçues par l'ISO (voir [www.iso.org/brevets](http://www.iso.org/brevets)).

Les appellations commerciales éventuellement mentionnées dans le présent document sont données pour information, par souci de commodité, à l'intention des utilisateurs et ne sauraient constituer un engagement.

Pour une explication de la signification des termes et expressions spécifiques de l'ISO liés à l'évaluation de la conformité, ou pour toute information au sujet de l'adhésion de l'ISO aux principes de l'OMC concernant les obstacles techniques au commerce (OTC), voir le lien suivant: [Avant-propos — Informations supplémentaires](http://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/07c1e1b-7129-479c-83e2-2637dec2f7f1/iso-21150-2015).

Le comité chargé de l'élaboration du présent document est l'ISO/TC 217, *Cosmétiques*.

Cette deuxième édition annule et remplace la première édition (ISO 21150:2006), qui a fait l'objet d'une révision technique.

## Introduction

Les examens microbiologiques des produits cosmétiques sont 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 les suivants:

- 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 d'agents pathogènes pour la peau, tels que *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Candida albicans* peut être justifiée parce qu'ils peuvent causer 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*) peuvent indiquer une défaillance de l'hygiène au cours du processus de fabrication.

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

[ISO 21150:2015](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/07c1e1b-7129-479c-85e2-2637dee2f7f1/iso-21150-2015)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/07c1e1b-7129-479c-85e2-2637dee2f7f1/iso-21150-2015>

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

ISO 21150:2015

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/07c1e1b-7129-479c-85e2-2637dee2f7f1/iso-21150-2015>

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

## 1 Domaine d'application

La présente Norme internationale donne des lignes directrices générales pour la détection et l'identification du microorganisme spécifié *Escherichia coli* 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 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 comme présentant un faible risque microbiologique (voir ISO 29621) 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 basée sur la détection d'*Escherichia coli* dans un milieu liquide non sélectif (bouillon d'enrichissement), suivie d'un isolement sur un milieu gélosé sélectif. D'autres méthodes peuvent être appropriées en fonction du niveau de détection exigé.

NOTE Pour la détection d'*Escherichia coli*, 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). D'autres Normes internationales (ISO 18415) peuvent être appropriées. Il est possible de remplacer l'essai présenté ici par d'autres méthodes (par exemple des méthodes automatisées) sous réserve que leur équivalence ait été démontrée ou que la méthode ait été par ailleurs indiquée comme adéquate.

## 2 Références normatives

Les documents suivants, en totalité ou en partie, sont référencés de manière normative dans le présent document et sont indispensables pour son application. 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 (*Legionella* incluses), mycobactéricide, sporicide, fongicide et virucide (bactériophages inclus)*

## 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) de l'échantillon dans un volume défini d'un bouillon d'enrichissement approprié

### 3.4

#### **dilution de l'échantillon**

dilution 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

#### ***Escherichia coli***

bacille Gram négatif, mobile, formant des colonies lisses

Note 1 à l'article: 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 en formant des colonies caractéristiques.

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

### 3.7

#### **bouillon d'enrichissement**

milieu liquide non sélectif contenant des neutralisants et/ou des agents dispersants appropriés, dont il a été démontré qu'il convient pour le produit soumis à essai

## 4 Principe

La première étape du mode opératoire est une phase d'enrichissement utilisant un bouillon 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 de l'essai (isolement) 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 détection 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 démontrée (voir [Article 11](#)).

## 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 bouillon 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 bouillon d'enrichissement ([5.3.3.1](#)), ou l'un de ceux donnés dans l'[Annexe A](#), peut être utilisé pour vérifier la présence d'*Escherichia coli* conformément à la présente Norme internationale à condition qu'il ait été démontré qu'il est approprié 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 le mode opératoire de l'essai d'applicabilité (voir [Article 11](#)).

### 5.2.2 Composition

— tryptone, hydrolysate 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.

## 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 Milieu gélosé pour l'essai d'applicabilité (voir [Article 11](#)) [milieu gélosé à l'hydrolysate de caséine et de soja (SCDA) ou gélose tryptone-soja (TSA)]

#### 5.3.2.1 Composition

— hydrolysate pancréatique de caséine	15,0 g
— hydrolysate papaique de soja	5,0 g
— chlorure de sodium	5,0 g
— 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 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  $7,3 \pm 0,2$ , le mesurage étant effectué à température ambiante.

### 5.3.3 Bouillon 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, tels que la lécithine et le polysorbate 80 ainsi qu'un agent dispersant comme l'octoxynol 9.

##### 5.3.3.1.2 Composition

— hydrolysate pancréatique de caséine	15,0 g
— hydrolysate 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

iTeh STANDARD PREVIEW  
(standards.iteh.ai)  
ISO 21150:2015  
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/07c1e1b-7129-479c-85e2-2637dee2f7f1/iso-21150-2015>

##### 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 bouillons d'enrichissement

D'autres bouillons d'enrichissement peuvent être utilisés s'ils sont appropriés (voir [Annexe A](#)).

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

#### 5.3.4.1 Gélose MacConkey

##### 5.3.4.1.1 Composition

— hydrolysats pancréatique de gélatine	17,0 g
— hydrolysats pancréatique de caséine	1,5 g
— hydrolysats peptique de tissus animaux	1,5 g
— lactose	10,0 g
— mélange de sels biliaires	1,5 g
— chlorure de sodium	5,0 g
— agar	13,5 g
— rouge neutre	30,0 mg
— cristal violet	1,0 mg
— eau	1 000 ml

iTeh STANDARD PREVIEW  
(standards.iteh.ai)

##### 5.3.4.1.2 Préparation

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

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 température ambiante.

### 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

##### 5.3.5.1.1 Composition

— hydrolysats pancréatique de gélatine	10,0 g
— hydrogénophosphate de potassium (K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )	2,0 g
— agar	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 l'hydrolysats pancréatique de gélatine, l'hydrogénophosphate de potassium et l'agar dans l'eau tout en chauffant, puis laisser refroidir. Juste avant utilisation, faire fondre la solution gélosée,