NORME INTERNATIONALE

ISO 22717

Deuxième édition
2015-12-01

Cosmétiques — Microbiologie — Détection de *Pseudomonas aeruginosa*

Cosmetics — Microbiology — Detection of Pseudomonas aeruginosa

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 22717:2015
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/5fcd10a6-97ae-4959-a470-933e27caaee3/iso-22717-2015

Numéro de référence
ISO 22717:2015(F)

© ISO 2015

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 22717:2015
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/5fcd10a6-97ae-4959-a470-933e27caaee3/iso-22717-2015

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**
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
5.2.1 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 Article 11) (milieu gélosé à l'hydrolysat de caséine et de soja ou gélose tryptone-soja) 3
5.3.3 Bouillon d'enrichissement 4
5.3.4 Milieu gélosé sélectif pour l'isolement de ***Pseudomonas aeruginosa*** ***5***
5.3.5 Milieu gélosé sélectif pour confirmation de la présence de ***Pseudomonas aeruginosa*** ***5***
6 Appareillage et verrerie **6**
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 bouillon d'enrichissement 6
9.2.1 Généralités 6
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 de ***Pseudomonas aeruginosa*** ***7***
9.4.1 Isolement 7
9.4.2 Identification de ***Pseudomonas aeruginosa*** ***7***
10 Expression des résultats (détection de *Pseudomonas aeruginosa*) **8**
11 Neutralisation des propriétés antimicrobiennes du produit **8**
11.1 Généralités 8
11.2 Préparation de l'inoculum 8
11.3 Applicabilité de la méthode de détection 8
11.3.1 Mode opératoire 8
11.3.2 Interprétation des résultats de l'essai d'applicabilité 9
12 Rapport d'essai **9**
Annexe A (informative) **Autres bouillons d'enrichissement** **11**
Annexe B (informative) **Neutralisants de l'activité antimicrobienne des conservateurs et liquides de rinçage** **13**
Bibliographie **14**

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)
ISO 22717:2015
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/51cd10a0-97ac-4959-a476-933e27caaee3/iso-22717-2015

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).

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).

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.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

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.

ISO 22717:2015
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/5fcd10a6-97ae-4959-a470-933e27caaee3/iso-22717-2015

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 22717:2006), qui a fait l'objet d'une révision mineure.

 © ISO 2015 – Tous droits réservés

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 22717:2015
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/5fcd10a6-97ae-4959-a470-933e27caaee3/iso-22717-2015

© ISO 2015 – Tous droits réservés

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 22717:2015
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/5fcd10a6-97ae-4959-a470-933e27caaee3/iso-22717-2015

Cosmétiques — Microbiologie — Détection de *Pseudomonas aeruginosa*

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale donne des lignes directrices générales pour la détection 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 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 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 repose d'abord sur la détection de *Pseudomonas aeruginosa* 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.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

NOTE Pour la détection de *Pseudomonas aeruginosa*, 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).

ISO 22717:2015
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/5fcd10a6-97ae-4950-a470-933e27caaee3/iso-22717-2015

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 les essais présentés ici par d'autres méthodes (par exemple des méthodes automatisées) sous réserve que leur équivalence ait été démontrée ou que la méthode ait été validée par ailleurs.

2 Références normatives

Les documents ci-après, en totalité ou en partie, sont des références normatives indispensables à 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 (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

© ISO 2015 – Tous droits réservés

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 une indication de défaillance de l'hygiène dans le processus de fabrication

3.6
Pseudomonas aeruginosa
bacille Gram négatif mobile, formant des colonies lisses pigmentées de couleur marron ou verdâtre

Note 1 à l'article: 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.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

Note 2 à l'article: *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.

ISO 22717:2015
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/5fcd10a6-97ae-4959-a470-933e27caaee3/iso-22717-2015

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 (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 détection 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 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.

© ISO 2015 – Tous droits réservés

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 de *Pseudomonas aeruginosa* 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, hydrolysat pancréatique de caséine 1,0 g

— chlorure de sodium 8,5 g

— eau 1 000 ml

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

5.2.3 Préparation

ISO 22717:2015
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/51ed10a6-97ae-4959-a470-933e27caaee3/iso-22717-2015

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 ± 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'hydrolysat de caséine et de soja ou gélose tryptone-soja)

5.3.2.1 Composition

— hydrolysat pancréatique de caséine 15,0 g

— hydrolysat papaïque de soja 5,0 g

— chlorure de sodium 5,0 g

— agar 15,0 g

© ISO 2015 – Tous droits réservés

— 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 ± 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

— hydrolysat pancréatique de caséine 15,0 g

— hydrolysat 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 22717:2015
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/5fcd10a6-97ae-4959-a470-933e27caaee3/iso-22717-2015

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 ± 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).

 © ISO 2015 – Tous droits réservés

5.3.4 Milieu gélosé sélectif pour l'isolement de *Pseudomonas aeruginosa*

5.3.4.1 Milieu gélosé-cétrimide

5.3.4.1.1 Composition

— hydrolysat pancréatique de gélatine	20,0 g
— chlorure de magnésium	1,4 g
— sulfate de potassium	10,0 g
— cétrimide (bromure de cétyltriméthylammonium)	0,3 g
— agar	13,6 g
— glycérol	10,0 ml
— eau	1 000 ml

5.3.4.1.2 Préparation

Dissoudre tous les composants solides dans l'eau et ajouter la glycérol. Chauffer en agitant souvent et laisser bouillir pendant 1 min pour mettre en solution.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

Répartir dans des récipients appropriés et stériliser à 121 °C pendant 15 min.

Après stérilisation et refroidissement, le pH doit être de 7,2 ± 0,2, le mesurage étant effectué à température ambiante.

ISO 22717:2015
https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/5fcd10a6-97ae-4959-a470-
923e2fceeae3/iso-22717-2015

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

— hydrolysat pancréatique de gélatine	20,0 g
— chlorure de magnésium anhydre	1,4 g
— sulfate de potassium anhydre	10,0 g
— agar	15,0 g
— glycérol	10,0 ml
— eau	1 000 ml

5.3.5.1.2 Préparation

Dissoudre tous les composants solides dans l'eau et ajouter la glycérol. 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 ± 0,2, le mesurage étant effectué à température ambiante.

© ISO 2015 – Tous droits réservés