
**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 18415:2017](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c9417a56-83c5-4128-9ebf-93b354885fcb/iso-18415-2017)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c9417a56-83c5-4128-9ebf-93b354885fcb/iso-18415-2017>



iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 18415:2017

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c9417a56-83c5-4128-9ebf-93b354885fcb/iso-18415-2017>



DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT

© ISO 2017, 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.....	v
Introduction.....	vi
1 Domaine d'application	1
2 Références normatives	1
3 Termes et définitions	1
4 Principes	3
5 Diluants et milieux de culture	3
5.1 Généralités.....	3
5.2 Diluant pour la suspension microbienne (solution tryptone sel).....	4
5.2.1 Généralités.....	4
5.2.2 Composition.....	4
5.2.3 Préparation.....	4
5.3 Milieux de culture.....	4
5.3.1 Généralités.....	4
5.3.2 Bouillon d'enrichissement.....	4
5.3.3 Milieu gélosé non sélectif.....	5
6 Matériel et verrerie	6
7 Souches de micro-organismes	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.....	7
9.2.1 Généralités.....	7
9.2.2 Produits miscibles dans l'eau.....	7
9.2.3 Produits non miscibles dans l'eau.....	7
9.2.4 Produits filtrables.....	7
9.3 Incubation de la suspension initiale.....	7
9.4 Isolement des micro-organismes spécifiés et non spécifiés.....	7
9.5 Mode opératoire d'identification du micro-organisme spécifié:	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8
9.5.1 Coloration de Gram.....	8
9.5.2 Recherche de l'oxydase.....	8
9.5.3 Essai d'identification.....	8
Mode opératoire d'identification du micro-organisme spécifié: <i>Escherichia coli</i>	8
9.6.1 Coloration de Gram.....	8
9.6.2 Recherche de l'oxydase.....	8
9.6.3 Essai d'identification.....	8
Mode opératoire d'identification du micro-organisme spécifié: <i>Staphylococcus aureus</i>	9
9.7.1 Coloration de Gram.....	9
9.7.2 Recherche de la catalase.....	9
9.7.3 Essai d'identification.....	9
Mode opératoire d'identification du micro-organisme spécifié: <i>Candida albicans</i>	9
9.8.1 Coloration de Gram.....	9
9.8.2 Essai d'identification.....	9
Mode opératoire d'identification des micro-organismes non spécifiés.....	9
9.9.1 Coloration de Gram.....	9
9.9.2 Recherche de l'oxydase.....	10
9.9.3 Recherche de la catalase.....	10
9.9.4 Essai d'identification.....	10
10 Expression des résultats	10

ISO 18415:2017(F)

10.1	Détection des micro-organismes spécifiés	10
10.2	Détection de micro-organismes non spécifiés	10
10.3	Absence de micro-organismes	10
11	Neutralisation des propriétés antimicrobiennes du produit	11
11.1	Généralités	11
11.2	Préparation de l'inoculum	11
11.3	Applicabilité de la méthode de détection par enrichissement	11
11.3.1	Principes	11
11.3.2	Mode opératoire	11
11.3.3	Interprétation des résultats d'essai d'applicabilité	12
12	Rapport d'essai	12
Annexe A (informative)	Schéma général pour l'identification des micro-organismes	13
Annexe B (informative)	Autres milieux	14
Annexe C (informative)	Neutralisants de l'activité antimicrobienne des conservateurs et des liquides de rinçage	17
Bibliographie		19

iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

[ISO 18415:2017](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c9417a56-83c5-4128-9ebf-93b354885fcb/iso-18415-2017)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c9417a56-83c5-4128-9ebf-93b354885fcb/iso-18415-2017>

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.

Pour une explication de la nature volontaire des normes, 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'Organisation mondiale du commerce (OMC) concernant les obstacles techniques au commerce (OTC), voir le lien suivant: <http://www.iso.org/iso/fr/foreword.html>.

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 18415:2007), qui a fait l'objet d'une révision mineure comprenant les modifications suivantes:

- en le domaine d'application, «voir ISO 29621» a été ajouté et le référence a été ajouté au Bibliographie;
- en le domaine d'application, «validée» a été remplacé par «indiquée comme adéquate»;
- en [3.8](#), le terme «validé» a été remplacé par «démonstré comme étant applicable»;
- en [l'Article 4](#), le terme «validée» a été remplacé par «démontrée»;
- en [5.1](#), «spécifications» a été remplacé par «instructions»;
- en [5.1](#), le syntagme «d'avoir été validés» a été remplacé par «qu'ils aient été démontrés comme étant applicables»;
- en [5.2.1](#), [5.3.3.1](#), [11.3.1](#), [11.3.2](#), les occurrences du terme «validation» et dans le titre de [11.3.3](#) ont été remplacées par «essai d'applicabilité»;
- en [11.3](#), le terme «validation» dans le titre a été remplacé par «applicabilité»;
- en [11.3.3](#), les occurrences de «validées» ont été remplacées par «satisfaisantes»;
- en [l'Article 12](#), le terme «validation» a été remplacé par «démonstration de l'applicabilité».

Introduction

Les examens microbiologiques des produits cosmétiques sont 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*) peuvent indiquer une défaillance de l'hygiène au cours du processus de fabrication.

iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

[ISO 18415:2017](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c9417a56-83c5-4128-9ebf-93b354885fcb/iso-18415-2017)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c9417a56-83c5-4128-9ebf-93b354885fcb/iso-18415-2017>

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

1 Domaine d'application

Le présent document 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 le présent document 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 de risque microbiologique appropriée, afin de déterminer les types de produits cosmétiques qui relèvent du présent document. Les produits considérés comme présentant un faible risque microbiologique (voir ISO 29621) comprennent ceux ayant une faible activité de l'eau, les produits hydro-alcooliques, les produits ayant des valeurs de pH extrêmes, etc.

La méthode décrite dans le présent document est fondée sur la détection d'une croissance microbienne dans un milieu liquide non sélectif (bouillon 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 exigé.

Dans le présent document, 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 le présent document 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, applicable à certains produits (par exemple certains produits non miscibles à l'eau). 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 par ailleurs indiquée comme adéquate.

2 Références normatives

Les documents suivants cités dans le texte constituent, pour tout ou partie de leur contenu, des exigences 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 21148:2017, *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.

L'ISO et l'IEC tiennent à jour des bases de données terminologiques destinées à être utilisées en normalisation, consultables aux adresses suivantes:

- IEC Electropedia: disponible à l'adresse <http://www.electropedia.org/>
- ISO Online browsing platform: disponible à l'adresse <http://www.iso.org/obp>

3.1

produit

portion d'un produit cosmétique identifié reçue au laboratoire pour essais

3.2

échantillon

portion du *produit* (3.1) (au moins 1 g ou 1 ml) utilisée dans l'essai pour préparer la *suspension initiale* (3.3)

3.3

suspension initiale

suspension (ou solution) de l'*échantillon* (3.2) dans un volume défini d'un *bouillon d'enrichissement* (3.8) approprié

3.4

dilution de l'échantillon

dilution de la *suspension initiale* (3.3)

3.5

micro-organisme mésophile aérobie

bactérie ou levure mésophile se développant en aérobose dans les conditions spécifiées dans le présent document

Note 1 à l'article: Dans les conditions décrites, la détection d'autres types de micro-organismes (par exemple moisissures) est admise.

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c9417a56-83c5-4128-9ebf-93b354885fcb/iso-18415-2017>

3.6

micro-organisme spécifiés

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 considérée comme un indicateur de défaillance de l'hygiène dans le processus de fabrication

3.6.1

Pseudomonas aeruginosa

bâtonnet (bacille) à Gram négatif, mobile, colonies lisses pigmentées brunes ou verdâtres

Note 1 à l'article: 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 à l'article: *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) à Gram négatif, mobile; colonies lisses

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

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

3.6.3***Staphylococcus aureus***

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

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

Note 2 à l'article: *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 1 à l'article: 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 le présent document.

3.7**micro-organisme non spécifié**

levure ou bactérie aérobie mésophile trouvée dans des produits cosmétiques, non définie en [3.6](#)

3.8**bouillon d'enrichissement**

milieu liquide non sélectif contenant des neutralisants et/ou agents dispersants appropriés et démontrés comme étant applicables pour le produit ([3.1](#)) soumis à essai

4 Principes

ISO 18415:2017
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c9417a56-83c5-4128-9ebf-93b354885fcb/iso-18415-2017>

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 essais d'identification appropriés, tels que décrits dans le présent document.

L'inhibition potentielle de la croissance microbienne par l'échantillon doit être neutralisée pour permettre la détection de micro-organismes viables.^[9] Dans tous les cas et quelle que soit la méthode utilisée, la neutralisation des propriétés antimicrobiennes du produit doit être vérifiée et démontrée^[9] [\[10\]](#)[\[11\]](#).

5 Diluants et milieux de culture**5.1 Généralités**

Les instructions générales sont indiquées dans l'ISO 21148. Lorsque de l'eau est mentionnée dans ce document, utiliser de l'eau distillée ou purifiée tel qu'indiqué dans l'ISO 21148.

Le bouillon d'enrichissement sert à disperser l'échantillon et à accroître la population microbienne initiale. Il peut contenir des agents 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.

ISO 18415:2017(F)

Le bouillon d'enrichissement (5.3.2.1) ou tout bouillon parmi ceux listés dans l'Annexe B est applicable pour vérifier la présence de micro-organismes spécifiés et non spécifiés conformément au présent document, à condition qu'il ait été démontré comme étant applicable 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 applicables pour cet usage.

5.2 Diluant pour la suspension microbienne (solution tryptone sel)

5.2.1 Généralités

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

5.3 Milieux de culture

ISO 18415:2017
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c9417a56-83c5-4128-9ebf-93b354885fcb/iso-18415-2017>

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 permis 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 Bouillon 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 (lécithine et polysorbate 80); et un agent de dispersion (octoxynol 9).

5.3.2.1.2 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

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 la température ambiante.

5.3.2.2 Autres bouillons d'enrichissement

D'autres bouillons 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 l'essai d'applicabilité.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)
ISO 18415:2017
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/c9417a56-83c5-4128-9ebf-93b354885fcb/iso-18415-2017>

5.3.3.2 Milieu gélosé aux hydrolysats de caséine et de soja (SCDA) ou gélose tryptocaséine de soja (TSA)

5.3.3.2.1 Composition

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

5.3.3.2.2 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 la température ambiante.

5.3.3.3 Autres milieux gélosés non sélectifs

D'autres milieux gélosés non neutralisants et non sélectifs peuvent être utilisés (voir [Annexe B](#)).