
**Cosmétiques — Microbiologie —
Instructions générales pour les
examens microbiologiques**

*Cosmetics — Microbiology — General instructions for microbiological
examination*

iTeh Standards
(<https://standards.iteh.ai>)
Document Preview

ISO 21148:2017

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/2bc8c0f5-2b2b-4f25-966d-165b8db04a0a/iso-21148-2017>



iTeh Standards
(<https://standards.iteh.ai>)
Document Preview

ISO 21148:2017

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/2bc8c0f5-2b2b-4f25-966d-165b8db04a0a/iso-21148-2017>



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 Locaux	2
4.1 Zones d'essais	2
4.2 Zones annexes	2
4.3 Implantation des locaux	2
4.4 Aménagement des locaux	3
4.5 Entretien	3
5 Équipement	3
5.1 Généralités	3
5.2 Hottes microbiologiques	4
5.3 Balances	4
5.4 Homogénéisateur	4
5.5 pH-mètre	4
5.6 Autoclave	4
5.7 Incubateur	4
5.8 Bains-marie	5
5.9 Réfrigérateur ou chambre froide	5
5.10 Congélateur	5
5.11 Stérilisateur	5
5.12 Dispositif de dénombrement des colonies	5
5.13 Autre équipement	5
6 Souches de micro-organismes	6
7 Personnel	6
7.1 Compétence	6
7.2 Hygiène	6
8 Préparation du matériel et de la verrerie	7
8.1 Préparation	7
8.2 Stérilisation	7
8.2.1 Stérilisation par chaleur sèche	7
8.2.2 Stérilisation par chaleur humide	7
8.3 Matériel à usage unique	7
8.4 Gestion du matériel et de la verrerie propres	7
8.5 Gestion du matériel et de la verrerie stériles	7
8.6 Traitement du matériel contaminé	8
8.7 Lavage	8
9 Préparation et stérilisation des milieux de culture et des réactifs	8
9.1 Généralités	8
9.2 Eau	8
9.3 Préparation des milieux de culture	8
9.3.1 Généralités	8
9.3.2 Réhydratation	9
9.3.3 Mesurage du pH	9
9.3.4 Répartition	9
9.4 Stérilisation	9
9.4.1 Généralités	9
9.4.2 Stérilisation par chaleur humide	9
9.4.3 Stérilisation par filtration	9

9.5	Stockage.....	10
9.5.1	Généralités.....	10
9.5.2	Milieux de culture et réactifs préparés au laboratoire.....	10
9.5.3	Milieux de culture et réactifs prêts à l'emploi.....	10
9.6	Fusion des milieux de culture gélosés.....	10
9.7	Préparation des boîtes de Petri.....	10
10	Échantillons pour laboratoire.....	11
10.1	Généralités.....	11
10.2	Échantillonnage des produits cosmétiques.....	11
10.3	Transport.....	11
10.4	Réception et stockage.....	11
10.5	Manipulation des produits et des échantillons.....	12
10.6	Conservation et destruction des produits.....	12
11	Pratiques de laboratoire.....	12
11.1	Précautions d'hygiène pendant l'essai.....	12
11.2	Préparation de la suspension initiale et des dilutions d'échantillons.....	13
11.2.1	Généralités.....	13
11.2.2	Produit miscible à l'eau.....	13
11.2.3	Produits non miscibles dans l'eau.....	13
11.3	Méthodes de dénombrement.....	13
11.4	Méthodes de détection.....	13
12	Expression des résultats.....	14
13	Neutralisation des propriétés antimicrobiennes du produit.....	14
Annexe A (informative) Techniques de base d'identification.....		15
Annexe B (informative) Techniques de base de dénombrement et d'étalement.....		20
Annexe C (informative) Préparation et étalonnage des inoculums.....		21
Bibliographie.....		22

ISO 21148:2017

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/2bc8c0f5-2b2b-4f25-966d-165b8db04a0a/iso-21148-2017>

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: www.iso.org/iso/fr/avant-propos.html.

Le présent document a été élaboré par le comité technique ISO/TC 217, *Cosmétiques*.

Cette deuxième édition annule et remplace la première édition (ISO 21148:2005), qui a fait l'objet d'une révision mineure.

Elle intègre également le rectificatif technique à l'ISO 21148:2005/Cor 1:2006.

Les modifications apportées sont les suivantes:

- a) dans l'Introduction, «validée» a été remplacé par «démontrée comme étant applicable»;
- b) dans l'Article 6, «validation de la méthodologie» a été remplacé par «vérification de l'applicabilité des méthodes»;
- c) en 8.2.1, «validée» a été remplacé par «démontrée comme étant applicable»;
- d) dans l'Article 13, «validée» a été remplacé par «démontrée»;
- e) en A.5, «validée» a été remplacé par «démontrée comme étant applicable»;
- f) en B.3, des modifications rédactionnelles ont été effectuées.

Introduction

Le but du présent document est d'aider à s'assurer que les techniques générales utilisées pour effectuer les examens microbiologiques des cosmétiques sont les mêmes dans tous les laboratoires ayant adopté ces normes, de participer ainsi à l'homogénéité des résultats obtenus dans différents laboratoires et de contribuer à la protection de la santé du personnel de laboratoire en évitant les risques d'infection.

Lorsque des examens microbiologiques sont effectués sur des produits cosmétiques, il est particulièrement important:

- d'isoler ou de dénombrer seulement les micro-organismes présents dans les échantillons;
- que les micro-organismes ne contaminent pas l'environnement.

Pour cela, il est nécessaire de veiller à l'hygiène personnelle et d'utiliser des techniques de travail qui assurent autant que possible l'absence de contamination étrangère.

Puisqu'il n'est possible de donner dans le présent document que quelques exemples des précautions à prendre pendant les examens microbiologiques, la connaissance approfondie des techniques microbiologiques et des micro-organismes en question est essentielle. Il faut donc que les analyses soient conduites avec la plus grande rigueur possible, y compris pour le calcul du nombre de micro-organismes.

De nombreuses manipulations peuvent, par exemple, entraîner involontairement une contamination croisée et il convient que l'analyste vérifie toujours l'exactitude des résultats donnés par sa technique. Certaines précautions sont à prendre, non seulement pour des raisons d'hygiène, mais également pour assurer une bonne reproductibilité des résultats. Il n'est pas possible de spécifier toutes les précautions à prendre selon les circonstances, mais le présent document décrit au moins les dispositions principales à prendre lors de la préparation, la stérilisation et la conservation des milieux et du matériel.

Les présentes recommandations permettent le dénombrement et la recherche des micro-organismes mésophiles capables de se développer dans des conditions aérobies.

Elles s'appliquent à la détermination de l'absence ou de la présence en quantité limitée de micro-organismes spécifiés présentant un intérêt pour des produits cosmétiques.

Les méthodes d'essai sont décrites dans les normes individuelles. D'autres modes opératoires microbiologiques peuvent être suivis, à condition que leur équivalence ait été prouvée ou que la méthode ait été démontrée comme étant applicable par ailleurs. Le choix de la mise en œuvre d'une méthode spécifique ou d'une combinaison de méthodes citées dans ces normes ISO dépend de l'objectif visé par l'essai et il appartient à l'utilisateur de décider quelle approche est la plus adaptée pour leur mise en œuvre.

Cosmétiques — Microbiologie — Instructions générales pour les examens microbiologiques

1 Domaine d'application

Le présent document donne des règles générales pour la réalisation d'examen microbiologiques sur des produits cosmétiques afin de garantir leur qualité et leur innocuité, conformément à une analyse de risque appropriée (par exemple faible activité de l'eau, produit hydro-alcoolique, valeurs de pH extrêmes).

En raison de la grande variété de produits entrant dans le champ d'application de la présente norme et de leurs usages potentiels, ces règles peuvent ne pas être adaptées en tout point à certains produits (par exemple produits non miscibles à l'eau).

2 Références normatives

Le présent document ne contient aucune référence normative.

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 approprié

3.4

dilution de l'échantillon

dilution de la *suspension initiale* (3.3)

4 Locaux

4.1 Zones d'essais

Les zones exigées pour la réalisation des diverses manipulations inhérentes à un laboratoire de microbiologie sont les suivantes:

- la réception, le stockage, la préparation et le traitement des échantillons;
- la préparation et la stérilisation des milieux de culture, du matériel et de la verrerie;
- la performance des analyses: pesées, dilutions, ensemencements, repiquages, incubation, conservation des souches, etc.;
- la décontamination et le nettoyage du matériel et de la verrerie ainsi que le traitement des déchets d'analyse.

4.2 Zones annexes

Les zones faisant partie de cette catégorie sont, par exemple:

- les accès, couloirs, escaliers, monte-charges ou ascenseurs;
- les espaces administratifs (par exemple, secrétariat, bureaux, salles de documentation, etc.);
- les vestiaires et les sanitaires;
- les salles d'archives;
- les magasins.

4.3 Implantation des locaux

L'environnement dans lequel les analyses microbiologiques sont effectuées ne doit pas affecter leur fiabilité.

Les locaux doivent être implantés de façon à éviter les risques de contamination croisée.

Une protection doit être assurée contre les conditions extrêmes telles que l'excès de température, de poussière, d'humidité, de vapeur, de bruit, de vibration, d'exposition directe aux rayonnements solaires, etc.

L'espace doit être suffisant pour maintenir les zones de travail propres et en ordre.

Durant le déroulement des essais, l'accès aux zones d'essais doit être limité aux seules personnes en charge de la réalisation des analyses.

Il convient de prévoir des salles indépendantes et/ou des zones séparées et/ou des enceintes spécifiques pour:

- la réception, le stockage et la préparation des échantillons;
- la manipulation des cultures microbiennes;
- la préparation des milieux de culture, du matériel et de la verrerie;
- la décontamination et le nettoyage;
- la stérilisation;
- les incubateurs, les réfrigérateurs et les congélateurs.

4.4 Aménagement des locaux

4.4.1 Les locaux d'essai doivent être aménagés de façon à réduire les risques de contamination par la poussière et donc par les micro-organismes:

- il convient que les murs, plafonds et sols soient lisses, non poreux, faciles à nettoyer et résistants aux produits détergents et aux désinfectants utilisés au laboratoire;
- à moins qu'elles ne soient hermétiquement enfermées, il convient que les conduites de fluides ne traversent pas les locaux en hauteur;
- en cas d'utilisation de systèmes de protection contre les rayonnements solaires, ceux-ci doivent être installés à l'extérieur des fenêtres, dans la mesure du possible;
- les fenêtres et les portes doivent pouvoir être fermées lors des essais afin de limiter les courants d'air. En outre, elles doivent être conçues de manière à éviter la formation des nids à poussière pour en faciliter le nettoyage.

4.4.2 La température ambiante et la qualité de l'air (teneur en micro-organismes, hygrométrie, taux d'empoussièrement, etc.) doivent être compatibles avec la réalisation des essais.

Dans ce but, et selon les besoins, il est recommandé d'installer un système de ventilation filtrée et/ou une hotte microbiologique.

4.4.3 Les paillasses et les mobiliers de laboratoire doivent être constitués de matériaux lisses, non poreux, imperméables, faciles à nettoyer et à désinfecter. Il convient que le haut des hottes et des équipements soit accessible pour le nettoyage.

Les mobiliers de laboratoire mobiles doivent être conçus pour faciliter le nettoyage des sols.

Il est souhaitable que les documents et livres qui ne sont pas fréquemment utilisés soient conservés à l'extérieur des zones d'essais.

ISO 21148:2017

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/2bc8c0f5-2b2b-4f25-966d-165b8db04a0a/iso-21148-2017>

4.5 Entretien

Les sols, murs, plafonds, paillasses et mobiliers de laboratoire doivent être maintenus en bon état afin d'éviter l'apparition de fissures qui pourraient créer des zones d'encrassement privilégiées et donc être sources de contamination.

Un nettoyage et, le cas échéant, une désinfection doivent être effectués régulièrement afin de maintenir les locaux dans un état compatible avec la réalisation des essais.

Les systèmes de ventilation et leurs filtres doivent être régulièrement entretenus et les filtres changés lorsque cela est nécessaire.

5 Équipement

5.1 Généralités

De façon générale, tous les équipements doivent être maintenus propres et en bon état de fonctionnement.

Il convient d'assurer un suivi des opérations de maintenance. Les instruments de mesure et le matériel doivent être vérifiés régulièrement conformément à une planification appropriée et les résultats doivent être enregistrés.

5.2 Hottes microbiologiques

Les hottes sont de deux types:

- a) les hottes à flux laminaire, qui ont pour but de protéger le produit des contaminations extérieures et de réduire les contaminations dues à l'opérateur;
- b) les hottes de sécurité, qui ont pour but de protéger le produit des contaminations extérieures et également de protéger l'opérateur et l'environnement.

Ces deux types de hottes peuvent être utilisés. Il convient d'utiliser les hottes de sécurité pour tout travail présentant un risque pour l'opérateur.

Une hotte est un poste de travail sans poussière, à flux d'air laminaire vertical. En microbiologie, une hotte de sécurité est utilisée pour retenir les micro-organismes sur des filtres.

5.3 Balances

Dans le cadre des analyses de produits cosmétiques, il est recommandé qu'un laboratoire de microbiologie soit équipé de balances de la portée et de l'exactitude exigées pour les différents produits à peser. Généralement, l'exactitude exigée pour peser les échantillons à analyser et certains composants des milieux de culture et réactifs est de $\pm 0,01$ g.

5.4 Homogénéisateur

Cet équipement (par exemple mélangeur, système Stomacher, etc.) peut être utilisé pour préparer la suspension initiale à partir des échantillons autres que les produits liquides.

5.5 pH-mètre

Il convient que le pH-mètre soit capable de réaliser des mesurages à $\pm 0,1$ unité pH près et son seuil minimal de mesure doit être de 0,01 unité pH.

5.6 Autoclave

L'autoclave doit être maintenu en bon état de fonctionnement et doit faire l'objet d'une inspection régulière par les services compétents, conformément aux instructions du fabricant. Il convient de conserver les documents justificatifs de cette inspection.

Lors d'un même cycle de stérilisation, l'autoclave ne doit pas être utilisé à la fois pour stériliser un matériel propre et pour décontaminer un matériel déjà utilisé. Dans la mesure du possible, il est recommandé d'utiliser des autoclaves séparés pour réaliser ces deux opérations.

5.7 Incubateur

Les incubateurs doivent être équipés d'un système de régulation permettant de maintenir une température uniforme et stable dans l'ensemble de leur volume utile.

Si la température ambiante est proche de celle de l'incubateur ou plus élevée, utiliser un incubateur équipé d'un système de refroidissement.

Il convient de protéger les incubateurs de l'exposition directe aux rayonnements solaires.

Dans la mesure du possible, il est recommandé de ne pas charger complètement l'incubateur en une seule opération, car le temps d'équilibrage de la température des milieux de culture sera long, quel que soit le type d'incubateur utilisé (convection d'air forcé ou autre).

La température doit être contrôlée et enregistrée au moins tous les jours de travail.

5.8 Bains-marie

Les bains-marie sont de deux types:

- les bains thermostatés, adaptés à l'incubation de milieux de culture ensemencés, aux essais d'identification, etc.;
- les bains à température contrôlée, adaptés au maintien des milieux gélifiés stériles en surfusion pour un usage ultérieur dans des modes opératoires spécifiés.

La température et l'exactitude exigées sont stipulées dans chaque méthode d'application.

5.9 Réfrigérateur ou chambre froide

La température, sauf spécification contraire, doit être de $5\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$.

5.10 Congélateur

La température, sauf spécification contraire, doit être inférieure à -18 °C .

5.11 Stérilisateur

Un stérilisateur est une enceinte permettant la destruction des micro-organismes par chaleur sèche.

La répartition de la température dans l'enceinte doit être homogène.

Le stérilisateur doit être muni:

- d'un thermostat;
- d'un thermomètre ou d'un thermocouple enregistreur;
- d'un indicateur de durée ou d'un programmeur/minuteur.

5.12 Dispositif de dénombrement des colonies

Un dispositif de dénombrement des colonies peut être utilisé.

5.13 Autre équipement

AVERTISSEMENT — Aucune verrerie graduée ne doit être stérilisée dans un stérilisateur.

D'autres équipement et matériel sont d'utilisation courante, parmi lesquels:

- a) appareillage de filtration (voir ci-dessous);
- b) récipients en verre ou en plastique (tubes à essai, fioles, flacons);
- c) boîtes de Petri en verre ou en plastique (généralement de 85 mm et 100 mm de diamètre);
- d) pipettes en verre ou en plastique (10 ml, 2 ml, 1 ml), pipettes automatiques;
- e) instruments d'échantillonnage;
- f) fils et anses (en nickel/chrome, en platine/iridium ou en plastique jetable, etc.);
- g) microscope optique;
- h) brûleur à gaz ou stérilisateur à fil;
- i) répartiteur de milieux de culture et de réactifs;