NORME INTERNATIONALE

ISO 16212

Deuxième édition
2017-06

Cosmétiques — Microbiologie — Dénombrement des levures et des moisissures

Cosmetics — Microbiology — Enumeration of yeast and mould

Numéro de référence
ISO 16212:2017(F)

© ISO 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 ... **iv**

1 Domaine d'application ... **1**

2 Références normatives ... **1**

3 Termes et définitions ... **1**

4 Principes ... **2**
4.1 Généralités ... 2
4.2 Dénombrement sur gélose en boîtes de Petri ... 2
4.3 Filtration sur membrane ... 2

5 Diluants, agents neutralisants et milieux de culture ... **3**
5.1 Généralités ... 3
5.2 Diluants neutralisants et diluants ... 3
5.3 Diluant pour la suspension de levure (solution tryptone sel) ... 4
5.4 Milieux de culture ... 4

6 Matériel et verrerie ... **5**

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 ... 6
9.2.1 Généralités ... 6
9.2.2 Produits miscibles dans l'eau ... 7
9.2.3 Produits non miscibles dans l'eau ... 7
9.3 Méthodes de dénombrement ... 7
9.3.1 Dilutions pour les méthodes de dénombrement ... 7
9.3.2 Méthodes de dénombrement sur gélose en boîtes de Petri ... 7

10 Dénombrement des colonies (méthodes de dénombrement sur gélose en boîtes de Petri et par filtration sur membrane) ... **8**

11 Expression des résultats ... **8**
11.1 Méthode de calcul pour le dénombrement sur gélose en boîtes de Petri ... 8
11.2 Interprétation ... 9

12 Neutralisation des propriétés fongicides du produit ... **11**
12.1 Généralités ... 11
12.2 Préparation de l'inoculum ... 11
12.3 Applicabilité des méthodes de dénombrement ... 11
12.3.1 Principes ... 11
12.3.2 Essai d'applicabilité de la méthode par ensemencement en profondeur ... 12
12.3.3 Applicabilité de la méthode par étalement en surface ... 12
12.3.4 Applicabilité de la méthode par filtration sur membrane ... 12

13 Rapport d'essai ... **12**

Annexe A (informative) **Autres diluants neutralisants** ... **14**

Annexe B (informative) **Autres diluants** ... **16**

Annexe C (informative) **Autres milieux de culture** ... **17**

Annexe D (informative) **Neutralisants de l'activité fongicide des conservateurset des liquides de rinçage** ... **19**

Bibliographie ... **21**

© ISO 2017 – Tous droits réservés

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 16212:2008), qui a fait l'objet d'une révision mineure. Les modifications par rapport à l'édition précédente sont les suivantes:

— dans le domaine d'application, «voir l'ISO 29621» a été ajouté et la référence a été ajoutée à la Bibliographie;

— dans le domaine d'application, «validée» a été remplacé par «indiquée comme adéquate»;

— en 4.1, «validée» a été remplacé par «démontrée»;

— en 4.3, «selon une méthode validée» a été remplacé par «tel que décrit dans l'Article 12» et «opératoire validé» a été remplacé par «opératoire décrit»;

— en 5.1, «spécifications» a été remplacé par «instructions»;

— en 5.2.3.1.2, «de peptone» a été remplacé par «d'hydrolysat pepsique de tissus animaux»;

— dans l'Article 7, «validation» a été remplacé par «applicabilité»;

— en 9.3.2.1, «validé» a été remplacé par «démontré comme étant applicable»;

— en 9.3.2.3, «validée» a été remplacé par «démontrée comme étant applicable»;

— en 11.2.1, «validées selon» a été remplacé par «démontrées comme étant applicables pour»;

— en 12.3, «validation» a été remplacé par «applicabilité»;

 © ISO 2017 – Tous droits réservés

— en 12.3.2, les occurrences de «validation» ont été remplacées par «essai d'applicabilité» et «validés» a été remplacé par «satisfaisants»;

— en 12.3.3, la première occurrence de «validation» a été remplacée par «applicabilité» et la deuxième occurrence a été remplacée par «essai d'applicabilité»; «validés» a été remplacé par «satisfaisants»;

— en 12.3.4, la première occurrence de «validation» a été remplacée par «applicabilité» et la deuxième occurrence a été remplacée par «essai d'applicabilité»; «validés» a été remplacé par «satisfaisants»;

— dans l'Article 13 f), «validation» a été remplacé par «applicabilité»;

— en A.1, B.1, C.1, «validé» a été remplacé par «démontré comme étant applicable».

© ISO 2017 – Tous droits réservés

Cosmétiques — Microbiologie — Dénombrement des levures et des moisissures

1 Domaine d'application

Le présent document donne des lignes directrices générales pour le dénombrement des levures et des moisissures présentes dans les cosmétiques par dénombrement des colonies en milieu gélosé sélectif après une incubation aérobie.

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 l'ISO 29621) comprennent ceux ayant une faible activité de l'eau ou des valeurs de pH extrêmes, les produits hydro-alcooliques, etc.

En raison de la grande variété de produits cosmétiques entrant dans ce domaine d'application, la présente méthode pourrait ne pas être applicable en tout point à certains produits (par exemple à 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.

Les levures dénombrées peuvent être identifiées à l'aide d'essais d'identification appropriés, par exemple ceux décrits dans les normes indiquées dans la Bibliographie. Les moisissures dénombrées peuvent être identifiées en utilisant d'autres méthodes appropriées, si nécessaire.

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, *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:

— ISO Online browsing platform: disponible à l'adresse http://www.iso.org/obp

— IEC Electropedia: disponible à l'adresse http://www.electropedia.org/

3.1
levure
champignon unicellulaire qui se multiplie principalement de manière végétative en bourgeonnant, capable de se développer dans les conditions d'essais spécifiées dans le présent document

© ISO 2017 – Tous droits réservés

3.2
moisissure
mycélium formant des micromycètes, y compris les spores et les conidies, capable de se développer dans les conditions d'essai spécifiées dans le présent document

3.3
produit
portion d'un produit cosmétique identifié reçue au laboratoire pour essais

3.4
échantillon
portion du *produit* (3.3) (au moins 1 g ou 1 ml) utilisée dans l'essai pour préparer la suspension initiale

3.5
suspension initiale
suspension (ou solution) de *l'échantillon* (3.4) dans un volume défini d'un bouillon d'enrichissement approprié

3.6
dilution de l'échantillon
dilution de la *suspension initiale* (3.5)

4 Principes

4.1 Généralités

La présente méthode implique le dénombrement des colonies dans un milieu gélosé sélectif. L'inhibition possible du développement fongique par l'échantillon doit être neutralisée pour permettre la détection des micro-organismes viables[5]. Dans tous les cas et quelle que soit la méthodologie, la neutralisation des propriétés fongicides du produit doit être vérifiée et démontrée[6] [8] [9].

4.2 Dénombrement sur gélose en boîtes de Petri

Le dénombrement sur gélose en boîtes de Petri comprend les étapes suivantes.

— Préparation des boîtes de géloses pour ensemencement en profondeur ou pour étalement en surface, au moyen d'un milieu de culture défini, et ensemencement des boîtes de gélose avec une quantité définie de la suspension initiale ou d'une dilution du produit.

— Incubation aérobie des géloses de 3 jours à 5 jours à 25 °C ± 2,5 °C.

— Dénombrement du nombre d'unités formant colonie (UFC) et dénombrement du nombre de levures et de moisissures par millilitre ou par gramme de produit.

NOTE Une condition d'incubation de 5 jours à 7 jours à 22,5 °C ± 2,5 °C en utilisant un milieu de culture sans antibiotique est également possible.

4.3 Filtration sur membrane

La filtration sur membrane comprend les étapes suivantes.

— Transfert d'une quantité adaptée d'échantillon préparé tel que décrit dans l'Article 12 dans l'appareil de filtration humidifié à l'aide d'un faible volume de diluant approprié stérile, filtration immédiate et lavage selon le mode opératoire décrit (voir 12.3.4). Transfert de la membrane de filtration à la surface du milieu gélosé spécifié, comme indiqué dans l'ISO 21148;

— Incubation aérobie des membranes de 3 jours à 5 jours à 25 °C ± 2,5 °C.

— Dénombrement du nombre d'unités formant colonie (UFC) et dénombrement du nombre de levures et de moisissures par millilitre ou par gramme de produit.

© ISO 2017 – Tous droits réservés