

DIN EN ISO 16212



ICS 07.100.99; 71.100.70

**Kosmetik –
Mikrobiologie –
Zählung von Hefen und Schimmelpilzen (ISO 16212:2008);
Deutsche Fassung EN ISO 16212:2011**

Cosmetics –
Microbiology –
Enumeration of yeast and mould (ISO 16212:2008);
German version EN ISO 16212:2011

Cosmétiques –
Microbiologie –
Dénombrement des levures et des moisissures (ISO 16212:2008);
Version allemande EN ISO 16212:2011

Gesamtumfang 24 Seiten

Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) im DIN

Nationales Vorwort

Der Text von ISO 16212:2008 wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 217 „Cosmetics“ der Internationalen Organisation für Normung (ISO) erarbeitet und als EN ISO 16212:2011 durch das Technische Komitee CEN/TC 392 „Kosmetische Mittel“ übernommen, dessen Sekretariat vom NEN (Niederlande) gehalten wird.

Das zuständige deutsche Gremium ist der Arbeitsausschuss NA 057-07-01 AA „Kosmetische Mittel“ im Normenausschusses Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) im DIN.

Für die in diesem Dokument zitierten Internationalen Normen wird im Folgenden auf die entsprechenden Deutschen Normen hingewiesen:

ISO 18415	siehe	DIN EN ISO 18415
ISO 18416	siehe	DIN EN ISO 18416
ISO 21148	siehe	DIN EN ISO 21148

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

DIN EN ISO 18415, *Kosmetik — Mikrobiologie — Nachweis von spezifizierten und nichtspezifizierten Mikroorganismen*

DIN EN ISO 18416, *Kosmetik — Mikrobiologie — Nachweis von *Candida albicans**

DIN EN ISO 21148, *Kosmetik — Mikrobiologie — Allgemeine Anleitungen zur mikrobiologischen Untersuchung*

Deutsche Fassung

Kosmetik - Mikrobiologie - Zählung von Hefen und
Schimmelpilzen (ISO 16212:2008)

Cosmetics - Microbiology - Enumeration of yeast and
mould (ISO 16212:2008)

Cosmétiques - Microbiologie - Dénombrement des levures
et des moisissures (ISO 16212:2008)

Diese Europäische Norm wurde vom CEN am 12. Mai 2011 angenommen.

Die CEN-Mitglieder sind gehalten, die CEN/CENELEC-Geschäftsordnung zu erfüllen, in der die Bedingungen festgelegt sind, unter denen dieser Europäischen Norm ohne jede Änderung der Status einer nationalen Norm zu geben ist. Auf dem letzten Stand befindliche Listen dieser nationalen Normen mit ihren bibliographischen Angaben sind beim Management-Zentrum des CEN-CENELEC oder bei jedem CEN-Mitglied auf Anfrage erhältlich.

Diese Europäische Norm besteht in drei offiziellen Fassungen (Deutsch, Englisch, Französisch). Eine Fassung in einer anderen Sprache, die von einem CEN-Mitglied in eigener Verantwortung durch Übersetzung in seine Landessprache gemacht und dem Management-Zentrum mitgeteilt worden ist, hat den gleichen Status wie die offiziellen Fassungen.

CEN-Mitglieder sind die nationalen Normungsinstitute von Belgien, Bulgarien, Dänemark, Deutschland, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Kroatien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, den Niederlanden, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, Rumänien, Schweden, der Schweiz, der Slowakei, Slowenien, Spanien, der Tschechischen Republik, Ungarn, dem Vereinigten Königreich und Zypern.



EUROPÄISCHES KOMITEE FÜR NORMUNG
EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION
COMITÉ EUROPÉEN DE NORMALISATION

Management-Zentrum: Avenue Marnix 17, B-1000 Brüssel

Inhalt

	Seite
Vorwort	3
1 Anwendungsbereich	4
2 Normative Verweisungen	4
3 Begriffe	4
4 Kurzbeschreibung	5
5 Verdünnungsmittel, Neutralisierungsmittel und Nährmedien	6
6 Geräte und Glasgeräte	8
7 Mikroorganismenstämme	8
8 Handhabung von kosmetischen Mitteln und Laborproben	8
9 Durchführung	9
10 Zählen von Kolonien (Gussplatten- und Membranfiltrationsverfahren)	10
11 Auswertung	11
12 Neutralisierung der fungiziden Eigenschaften des Produkts	13
13 Prüfbericht	15
Anhang A (informativ) Weitere Neutralisierungsmittel	16
Anhang B (informativ) Weitere Verdünnungsmittel	18
Anhang C (informativ) Weitere Nährmedien	19
Anhang D (informativ) Neutralisierungsmittel für die fungizide Wirkung von Konservierungsmitteln und Spülflüssigkeiten	21
Literaturhinweise	22

Vorwort

Der Text von ISO 16212:2008 wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 217 „Cosmetics“ der Internationalen Organisation für Normung (ISO) erarbeitet und als EN ISO 16212:2011 durch das Technische Komitee CEN/TC 392 „Kosmetische Mittel“ übernommen, dessen Sekretariat vom NEN gehalten wird.

Diese Europäische Norm muss den Status einer nationalen Norm erhalten, entweder durch Veröffentlichung eines identischen Textes oder durch Anerkennung bis Dezember 2011, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis Dezember 2011 zurückgezogen werden.

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Texte dieses Dokuments Patentrechte berühren können. CEN [und/oder CENELEC] sind nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren.

Entsprechend der CEN/CENELEC-Geschäftsordnung sind die nationalen Normungsinstitute der folgenden Länder gehalten, diese Europäische Norm zu übernehmen: Belgien, Bulgarien, Dänemark, Deutschland, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Kroatien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, Niederlande, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, Rumänien, Schweden, Schweiz, Slowakei, Slowenien, Spanien, Tschechische Republik, Ungarn, Vereinigtes Königreich und Zypern.

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO 16212:2008 wurde vom CEN als EN ISO 16212:2011 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

1 Anwendungsbereich

Diese Internationale Norm gibt allgemeine Anleitungen für die Zählung von in Kosmetika vorhandenen Hefen und Schimmelpilzen durch Zählen der Kolonien auf einem selektiven Agarmedium nach aerober Bebrütung.

Um die Qualität des Produkts und die Sicherheit für Verbraucher sicherzustellen, ist es ratsam, eine geeignete mikrobiologische Risikoanalyse zur Bestimmung der Arten von kosmetischen Mitteln durchzuführen, auf die diese Internationale Norm anwendbar ist. Produkte, die ein geringes mikrobiologisches Risiko darstellen, umfassen Produkte mit geringer Wasseraktivität, alkoholisch-wässrige Produkte, Produkte mit extremen pH-Werten usw.

Wegen der großen Vielfalt an kosmetischen Mitteln innerhalb dieses Anwendungsbereiches ist dieses Verfahren möglicherweise für einige Produkte nicht in allen Einzelheiten geeignet (z. B. bestimmte mit Wasser nicht mischbare Produkte). Für die hier aufgeführten Untersuchungen können andere Verfahren (z. B. automatisierte) zur Anwendung kommen, vorausgesetzt, dass deren Gleichwertigkeit nachgewiesen oder das Verfahren anderweitig validiert wurde.

Ausgezählte Hefen können mit geeigneten Identifizierungsprüfungen bestimmt werden, zum Beispiel Prüfungen, die in den unter den Literaturhinweisen aufgeführten Normen beschrieben sind. Falls notwendig, können ausgezählte Schimmelpilze nach anderen geeigneten Verfahren identifiziert werden.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden zitierten Dokumente sind für die Anwendung dieses Dokuments erforderlich. Bei datierten Verweisungen gilt nur die in Bezug genommene Ausgabe. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe des in Bezug genommenen Dokuments (einschließlich aller Änderungen).

EN 12353, *Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika — Aufbewahrung von Testorganismen für die Prüfung der bakteriziden, mykobakteriziden, sporiziden und fungiziden Wirkung*

ISO 21148, *Cosmetics — Microbiology — General instructions for microbiological examination*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

3.1 Hefe

einzelliger Pilz, der sich hauptsächlich vegetativ durch Knospung (Sprossung) vermehrt und in der Lage ist, unter den in der vorliegenden Internationalen Norm festgelegten Untersuchungsbedingungen zu wachsen

3.2 Schimmelpilz

myzelbildender mikroskopischer Pilz (Mikrofungus), einschließlich Sporen und Konidien, der in der Lage ist, unter den in der vorliegenden Internationalen Norm festgelegten Untersuchungsbedingungen zu wachsen

3.3 Produkt

Anteil eines identifizierten kosmetischen Mittels, das im Labor zur Untersuchung entgegengenommen wird

3.4 Probe

Anteil des Produkts (mindestens 1 g oder 1 ml), der bei der Untersuchung eingesetzt wird, um die Erstverdünnung herzustellen

3.5

Erstverdünnung

Suspension (oder Lösung) einer Probe in einem festgelegten Volumen einer geeigneten Flüssigkeit (Verdünnungsmittel, Neutralisierungsmittel, Bouillon oder eine Kombination davon)

3.6

Probenverdünnung

Verdünnung(en) der Erstverdünnung

4 Kurzbeschreibung

4.1 Allgemeines

Dieses Verfahren befasst sich mit der Zählung von Kolonien auf einem selektiven Agarmedium. Um den Nachweis lebensfähiger Mikroorganismen zu ermöglichen, muss die mögliche durch die Probe bewirkte Hemmung von Pilzwachstum neutralisiert werden (siehe [2]). In allen Fällen und unabhängig von der Verfahrensweise muss die Neutralisierung der antifungalen (fungiziden) Eigenschaften des kosmetischen Produkts überprüft und validiert werden (siehe [3] [5] [6]).

4.2 Plattenzählung

Die Plattenzählung setzt sich aus folgenden Schritten zusammen:

- a) Herstellung von gegossenen Platten oder Ausstrichplatten mit einem vorgegebenen Nährmedium und Beimpfung der Platten mit einer genau festgelegten Menge der Erstverdünnung oder einer weiteren Verdünnung des Produkts;
- b) Aerobe Bebrütung der Platten für 3 d bis 5 d bei $(25 \pm 2,5) ^\circ\text{C}$;
- c) Zählen der Anzahl von Kolonie bildenden Einheiten (KBE) und Berechnung der Menge an Hefen und Schimmelpilzen je Milliliter oder Gramm des Produkts.

ANMERKUNG Eine alternative Bedingung für die Bebrütung ist $(22,5 \pm 2,5) ^\circ\text{C}$ für 5 d bis 7 d, bei der Verwendung eines Nährmediums ohne Antibiotikum.

4.3 Membranfiltration

Die Membranfiltration setzt sich aus folgenden Schritten zusammen.

- a) Überführen einer geeigneten Menge der nach einem validierten Verfahren hergestellten Probe in das Filtriergerät, das mit einem geringen Volumen eines entsprechenden sterilen Verdünnungsmittels benetzt ist. Sofortiges Filtrieren und Waschen entsprechend dem validierten Verfahren. Das Membranfilter ist, wie in ISO 21148 festgelegt, auf die Oberfläche des vorgegebenen Agarmediums zu überführen.
- b) Aerobe Bebrütung der Platten für 3 d bis 5 d bei $(25 \pm 2,5) ^\circ\text{C}$.
- c) Zählen der Anzahl von Kolonie bildenden Einheiten (KBE) und Berechnung der Menge an Hefen und Schimmelpilzen je Milliliter oder Gramm des Produkts.

ANMERKUNG Eine alternative Bedingung für die Bebrütung ist $(22,5 \pm 2,5) ^\circ\text{C}$ für 5 d bis 7 d, bei der Verwendung eines Nährmediums ohne Antibiotikum.

5 Verdünnungsmittel, Neutralisierungsmittel und Nährmedien

5.1 Allgemeines

Allgemeine Festlegungen sind in ISO 21148 angegeben. Kommt in einer Formulierung Wasser zur Anwendung, ist destilliertes oder gereinigtes Wasser zu verwenden, wie in ISO 21148 festgelegt.

Die folgenden Verdünnungsmittel, Neutralisierungsmittel und Nährmedien sind für die Zählung von Hefen und Schimmelpilzen geeignet. Andere Verdünnungsmittel, Neutralisierungsmittel und Nährmedien dürfen verwendet werden, wenn sie sich für die Anwendung nachweislich als geeignet erwiesen haben.

5.2 Neutralisierungs- und Verdünnungsmittel

5.2.1 Allgemeines

Das Verdünnungsmittel wird zum Dispergieren der Probe verwendet. Es darf Neutralisierungsmittel enthalten, wenn die zu untersuchende Probe fungizide Eigenschaften besitzt. Vor der Bestimmung der Koloniezahl muss die Wirksamkeit der Neutralisierung nachgewiesen werden (siehe Abschnitt 12). Angaben zu geeigneten Neutralisierungsmitteln sind Anhang D zu entnehmen.

5.2.2 Neutralisierungsmittel

5.2.2.1 Caseinpepton-Sojalecithin-Polysorbat 20-Flüssigmedium (SCDLP 20-Bouillon)

5.2.2.1.1 Zusammensetzung

— Casein, pankreatisch verdaut	20,0 g
— Sojalecithin	5,0 g
— Polysorbat 20	40 ml
— Wasser	960 ml

5.2.2.1.2 Herstellung

Das Polysorbat 20 wird in 960 ml Wasser durch Mischen unter Erwärmen in einem Wasserbad bei $(49 \pm 2) ^\circ\text{C}$ aufgelöst. Es werden pankreatisch verdautes Casein und Sojalecithin hinzugefügt. Es wird für etwa 30 min erhitzt, um eine Auflösung zu bewirken. Das Medium wird durchgemischt und in geeignete Behälter abgefüllt. Die Sterilisation wird 15 min bei $121 ^\circ\text{C}$ im Autoklaven durchgeführt. Nach der Sterilisation muss der pH-Wert, gemessen bei Raumtemperatur, $7,3 \pm 0,2$ betragen.

5.2.2.2 Weitere Neutralisierungsmittel

Weitere Neutralisierungsmittel dürfen verwendet werden (siehe Anhang A und Anhang D).

5.2.3 Verdünnungsmittel

5.2.3.1 Flüssigkeit A

5.2.3.1.1 Zusammensetzung

— tierisches Gewebe, peptisch verdaut	1,0 g
— Wasser	1 000 ml