

## Mikrobiologie von Kosmetika – Grundanforderungen an mikrobiologische Prüfungen

Stand November 2018

### **1. Warum müssen Grundanforderungen an die Durchführung von mikrobiologischen Prüfungen von Kosmetika erfüllt werden?**

Kurz:

Der Verbraucherschutz in Europa hat über die letzten Jahrzehnte einen hohen Stellenwert erlangt. Unzureichende methodische Sicherheit bei der Durchführung mikrobiologischer Prüfungen kann zu falsch negativen oder falsch positiven Ergebnissen führen. Dies kann die Sicherheit des Verbrauchers gefährden und zu signifikanten finanziellen Schäden für das Unternehmen führen.

Lang:

Der Kosmetikmarkt unterliegt neben den bekannten Regulierungen auch einer kontinuierlichen Überwachung durch Behörden und Verbraucherschutzorganisationen. Nicht rechtzeitig erkannte mikrobiologische Belastungen von Kosmetikprodukten (zum Beispiel durch falsch negative Ergebnisse) und eine folgende unkontrollierte Vermehrung von Mikroorganismen in einem Produkt können zu Verbrauchergefährdungen, Beschwerden, kostspieligen Rückrufmaßnahmen und einer Listung des Unternehmens und des Produktes im Europäischen RAPEX System führen ([Rapex Homepage](#)). Insbesondere die Gefährdung von kritischen Nutzergruppen wie Kleinkinder oder kranken Menschen bedarf eines besonderen Schutzes und Beachtung.

Falsch positive Ergebnisse können zu Verzögerungen in der internen Fertigungskette führen und haben Auswirkung auf Produktionsplanung, Lagerkapazitäten und Auslieferungsfristen.

### **2. Muss ich mein kosmetisches Produkt mikrobiologisch untersuchen?**

Kurz:

In der Regel ist die mikrobiologische Prüfung eines jeden kosmetischen Mittels zur Einhaltung von Qualität und Sicherheit des Produktes sowie der Gewährleistung des Verbraucherschutzes notwendig.

Lang:

Wann muss ein Produkt überprüft werden?

Der Inverkehrbringer eines Produktes ist dafür verantwortlich, dass vorgegebene Grenzwerte zu Keimzahlen für Mikroorganismen eingehalten werden, um nicht die Produktqualität zu mindern und somit eine Gefährdung für den Verbraucher entstehen zu lassen.

Hierfür ist spezifisch für jedes Produkt eine mikrobiologische Risikobewertung durchzuführen, mit dem Ziel festzulegen, ob und in welchem Umfang ein kosmetisches Produkt zu prüfen ist.

Diese Risikobewertung erfolgt unter Berücksichtigung verschiedenster Faktoren wie Produktzusammensetzung, Anwendung und Anwendungshäufigkeiten, Verpackungsart etc.

Die allermeisten kosmetischen Produkte bieten aufgrund Ihrer Zusammensetzung ideale Bedingungen für das Wachstum von Mikroorganismen. Durch geeignete Auswahl eines Konservierungssystems sowie unter Berücksichtigung weiterer Parameter (z.B. Verpackung) und durch Kontrolluntersuchungen (in Prozess-Kontrollen, Endproduktkontrollen) ist der Hersteller in der Lage, das mikrobiologische Risiko unter Kontrolle zu halten.

### 3. Welche risikoarmen Produkte gibt es?

Kurz:

Die ISO 29621 beschreibt Eigenschaften eines Produktes, bei deren Vorliegen bzw. Erfüllung meist keine (oder in deutlich verringertem Umfang) mikrobiologischen Prüfungen wie beispielweise Konservierungsbelastungstests für das Produkt erforderlich sind (risikoarme Produkte).

Lang:

Die Parameter zur Einstufung von Kosmetika als risikoarme Produkte sind zum Beispiel:

- pH-Wert < 3 bzw. > 10
- Ethanol oder andere Alkohole > 20%
- Wasseraktivität < 0,75

Beispiele für risikoarme Produkte sind: Haarglättemittel, Körperöle, Lippenstifte, Haarfarben, Antitranspirantien, Bleichmittel, Produkte mit organischen Lösungsmitteln, alkalischen Verbindungen etc.

Es ist darauf zu achten, dass es durchaus Produkte geben kann, die mindestens eine der obigen Eigenschaften erfüllen, jedoch aufgrund weiterer Faktoren (als Folge betriebshygienischer Probleme, bei kritischen Rohstoffen pflanzlicher/mineralischer Herkunft) trotzdem mikrobiologisch geprüft werden müssen.

### 4. Was ist bei einer mikrobiologischen Probenahme zu beachten?

Kurz:

Bei einer Probenahme ist darauf zu achten, dass diese repräsentativ für die gesamte Charge erfolgt. Die Probenahme sowie die anschließende Lagerung derselben dürfen die Probe nicht verändern und somit das Ergebnis beeinflussen.

Lang:

*Was sind geeignete Probenahmegefäße?*

Für die mikrobiologische Untersuchung von Endprodukten werden die Proben direkt aus der Primärverpackung untersucht. Für den Probenzug von Rohstoffen, Halbfertigprodukten sowie Wasser sind sterile Einweggefäße ideal. Aufgrund des Risikos der Kontamination mit Fremdkörpern ist der Einsatz von Glasgefäßen bei der Probenahme zu vermeiden.

*Was ist bei der Probenahme zu beachten?*

Das Muster muss repräsentativ für die Charge sein.

Bei der Beprobung von Wasser ist zu berücksichtigen, dass die Entnahme auch die gängige Einsatzpraxis widerspiegelt: sofern Wasser ohne Vorlauf in der Produktion eingesetzt wird, erfolgt auch die Probenahme ohne Vorlauf (Probenahmehähne müssen immer entsprechend vorbereitet sein). Darüber hinaus müssen die Probenahmestellen im System so angeordnet sein, dass sie eine Aussage über den Status des Gesamtsystems zulassen (rechtzeitiges Erkennen von sich entwickelnden Problemen).

Zum Transfer der Probe ist in der Regel steriles Einwegmaterial bzw. desinfiziertes Zubehör einzusetzen.

Die mit der Probenahme beauftragten Mitarbeiter sind im Hinblick auf aseptisches Arbeiten zu schulen.

Negativbeispiel: Probenahmegefäß nicht direkt in das Produkt eintauchen, auch nicht mit behandschuhten Händen.

*Was ist bei der Lagerung und dem Transport von Proben zu beachten?*

Rohstoff- und Produktproben benötigen in der Regel keine gesonderten Lager- und Transportbedingungen.

Wasserproben sollten bei 2-8°C gelagert und transportiert werden. Die Testung erfolgt nach maximal 24 h. Detaillierte Hinweise hierzu können der Trinkwasser-Verordnung entnommen werden.

## **5. Wie oft muss ich mein Produkt mikrobiologisch untersuchen?**

Kurz:

Wenn das Produkt nicht risikoarm ist (siehe Punkt 2), muss jede Charge anhand der Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchung freigegeben werden.

Lang:

*Wie oft muss ich mein Produkt mikrobiologisch untersuchen?*

Um gemäß den Vorgaben der GMP Norm (ISO 22716) eine Charge freigegeben zu können, müssen mikrobiologische Ergebnisse zu dieser Charge vorliegen. Ein Übertrag von zum

## DEUTSCHE GESELLSCHAFT FÜR WISSENSCHAFTLICHE UND ANGEWANDTE KOSMETIK E.V.

Beispiel älteren Ergebnissen auf eine nicht geprüfte Charge ist nur unter bestimmten Umständen möglich. Hierbei ist insbesondere auf eine Gewährleistung konstanter mikrobiologisch-hygienischer Produktionsbedingungen und eine gleichbleibende Rohstoffqualität zu achten.

Im kosmetischen Umfeld kann es häufig zu Schwankungen im Prozess kommen, insbesondere bei:

- Wassersystemen, Lagertanks, Leitungen
- unterschiedlichen Rohstoffchargen, zwischengelagerten Rohstoffen
- vielen mitarbeiterabhängigen einzelnen Arbeitsschritten (während der Produktion oder Reinigung/Desinfektion)

Deswegen ist eine mikrobiologische Endprüfung **jeder** Charge bei „nicht risikoarmen Kosmetika“ als unerlässlich anzusehen. Die Prüfung einer Halbfertigware ersetzt nicht die Prüfung der Fertigware, dazwischen Herstanlage und Fülldüsen noch einige Prozessschritte stattfinden, die die mikrobiologische Qualität des Produktes beeinflussen können.

### *Was ist eine Charge?*

Eine Charge wird in der Regel definiert als ein Ansatz. Es ist das Vermischen einer definierten Menge Wasser mit definierten Rohstoffmengen in einem Gebinde.

Wird die gleiche Rezeptur direkt im Anschluss erneut produziert / vermischt, handelt es sich um eine neue Charge. Wasser und Rohstoffe werden erneut vorbereitet und zugegeben.

Bei einigen Unternehmen wird eine Charge über die Codierung definiert. Bei der Festlegung eines Probenahmeplans ist immer der mikrobiologische Gesichtspunkt zu betrachten.

Bei einer großen Charge (zum Beispiel ab mehreren tausend Einzelgebinden oder einer Abfüllung über mehr als eine Schicht) ist eine Probenahme zu Beginn, in der Mitte und am Ende der Abfüllung sinnvoll. Läuft die Abfüllung über mehrere Schichten und Chargen ist auch dies zu berücksichtigen. Es sollte mindestens eine Probe pro Schicht untersucht werden. Standzeiten während der Abfüllung sind gesondert zu berücksichtigen.

Bei einem kontinuierlichen Produktionsverfahren sind angemessene Probenahmeintervalle zu definieren.

## **6. Welche Methode muss ich für die mikrobiologische Untersuchung verwenden?**

Kurz:

Bei der mikrobiologischen Prüfung von Kosmetika sind Prüfmethode zu verwenden, deren Eignung gezeigt ist und somit zuverlässige und reproduzierbare Ergebnisse liefern.

Lang:

Welche Prüfverfahren sind wann für die mikrobiologische Prüfung von Kosmetika und Rohstoffen zu verwenden und worauf ist zu achten?

In der Prüfung von Kosmetika haben sich als Stand der Technik die entsprechenden ISO-Normen etabliert. Dies bedeutet nicht, dass auch andere Verfahren Verwendung finden

## DEUTSCHE GESELLSCHAFT FÜR WISSENSCHAFTLICHE UND ANGEWANDTE KOSMETIK E.V.

können (z.B. Methoden des europäischen Arzneibuches). Wichtig ist, dass die entsprechende Eignung des Verfahrens gezeigt wurde.

Im Folgenden eine Übersicht der, für die Erfüllung der in der ISO 17516 erwähnten mikrobiologischen Grenzwerte, notwendigen Prüfverfahren:

### Quantitativ:

ISO 21149: Aerobe mesophile Bakterien KBE/g

ISO 16212: Hefen und Schimmelpilze KBE/g

### Qualitativ:

ISO 18415: Spezifische und nichtspezifische Mikroorganismen in 1g

ISO 18416: Nachweis von *Candida albicans* in 1g

ISO 21150: Nachweis von *Escherichia coli* in 1g

ISO 22717: Nachweis von *Pseudomonas aeruginosa* in 1g

ISO 22718: Nachweis von *Staphylococcus aureus* in 1g

Der allgemeine Rahmen wird durch die ISO 19838 (Leitfaden kosmetische Mittel für die Anwendung von ISO Normen aus dem Bereich der Mikrobiologie kosmetischer Mittel) vorgegeben.

Klassische Arbeitsschritte einer mikrobiologischen Prüfung können sein:

- Einwaage des Produktes: in der Regel wird 1g eines Produktes eingewogen; die Menge von 1g Einwaage sollte nicht unterschritten werden, um zuverlässige Ergebnisse zu erzielen und die Nachweisgrenze einzuhalten
- Verdünnung und Neutralisierung: die Einwaage wird im Verhältnis 1:10 mit Verdünnungslösung versetzt (Erstverdünnung enthält Neutralisationsmittel wie zum Beispiel Lecithin, Tween etc.). Dieser Schritt ist essentiell, um mögliche antimikrobielle Substanzen im Produkt zu neutralisieren (und um falsch-negativ Ergebnisse zu verhindern)
- Probenansatz (quantitativ): eine definierte (entsprechend der Produktverdünnung) Teilmenge der verdünnten Probe wird direkt auf Nährmedien aufgebracht (Agar-Platten) und diese Nährmedien werden für bestimmte Zeiten bebrütet
- Probenansatz (qualitativ): die verdünnte Probe (mindestens 1g Produkt) wird bebrütet (Anreicherung). Danach erfolgen Ausstriche auf entsprechende Nährmedien und diese werden auch wieder für bestimmte Zeiten bebrütet
- Auswertung: Bei Wachstum von Mikroorganismen werden diese ausgezählt (quantitatives Verfahren) und unter Berücksichtigung der Verdünnung die Zahl der KBE/g Probe berechnet (KBE = koloniebildende Einheit). Beim qualitativen Verfahren wird auf Wachstum geprüft und das Ergebnis als positiv oder negativ in 1g Produkt angegeben

## DEUTSCHE GESELLSCHAFT FÜR WISSENSCHAFTLICHE UND ANGEWANDTE KOSMETIK E.V.

Was ist eine Eignungsprüfung?

Im Rahmen einer Eignungsprüfung wird gezeigt, dass die Methode geeignet ist, die zu bestimmenden Mikroorganismen nachzuweisen. Hierfür wird das Produkt mit einer bestimmten Anzahl an Mikroorganismen kontaminiert, die Methodik muss dann im Anschluss in der Lage sein, diese Anzahl (abzüglich einer mikrobiologischen Meßunsicherheit) wiederzufinden (Wiederfindung mindestens 50%).

Kann ich auch andere Prüfverfahren als die zuvor beschriebenen einsetzen?

Generell ist auch die Verwendung anderer Prüfverfahren möglich, eine entsprechende Eignung des Verfahrens (siehe vorher) muss gezeigt sein. Als Alternative zu den zuvor beschriebenen klassischen kulturbasierten Prüfungen finden sog. „Schnellmethoden“ Verwendung. Diese Verfahren haben in Abhängigkeit von der Fragestellung und dem Einsatzgebiet jeweils Vor- und Nachteile. Im Einzelfall ist zu prüfen, inwieweit diese Verfahren, z.B. in der Prüfung von Rohstoffen, Verwendung finden können.

Was ist der Konservierungsbelastungstest (KBT)?

Der Konservierungsbelastungstest ist ein Testverfahren zur Bestätigung der ausreichenden Konservierung eines Produktes.

Für sogenannte risikoarme Produkte ist diese Prüfung in der Regel nicht erforderlich (siehe Punkt 3).

Die Prüfung erfolgt zumeist gemäß der Norm ISO 11930 (oder alternativ nach der für Arzneimittel beschriebenen Methode der Europäischen Pharmakopoe 5.1.3). Diese Prüfverfahren umfassen folgende Schritte:

- Anzucht der vorgegebenen Mikroorganismen (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Candida albicans* und *Aspergillus brasiliensis*)
- Kontamination des Produktes mit den einzelnen Keimsuspensionen
- Lagerung des kontaminierten Produktes über einen Zeitraum von 4 Wochen
- Bestimmung der Keimzahl im beimpften Produkt nach verschiedenen Zeitpunkten
- Bestimmung der Abtötungskinetik

### **7. Darf ich die Prüfungen intern durchführen? Falls ja, welche Voraussetzungen sind hierfür notwendig?**

Kurz:

Zum Betreiben eines eigenen mikrobiologischen Labors müssen Vorgaben der Biostoff VO und des Infektionsschutzgesetzes eingehalten werden. Auch in der Norm ISO21148 sowie diversen Standards (BRC, IFS HPC etc.) werden Anforderungen an Personal, Räumlichkeiten und Geräte gestellt. Prüfungen werden vorzugsweise in Laboren durchgeführt, die geeignete akkreditierte Verfahren anbieten (ISO 17025).



## DEUTSCHE GESELLSCHAFT FÜR WISSENSCHAFTLICHE UND ANGEWANDTE KOSMETIK E.V.

Lang:

Was ist beim Betreiben eines mikrobiologischen Labors zu beachten?

Zum Betreiben eines eigenen mikrobiologischen Labors müssen Vorgaben der Biostoff VO ([Biostoffverordnung](#)) und des Infektionsschutzgesetzes ([IfSG](#)) eingehalten werden.

- Zur Tätigkeit mit Krankheitserregern oder zur gezielten Untersuchung auf bestimmte Mikroorganismen (Ausschluss von *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* und *Candida albicans* in 1g nach ISO 17516 oder Identifizierung von Mikroorganismen oder Beimpfen bzw. Führen einer Stammsammlung für Konservierungsbelastungstests) benötigt das Labor eine Erlaubnis nach §44IfSG
- Für alle anderen mikrobiologischen Tätigkeiten gilt §45 IfSG. Es besteht eine Anzeigepflicht nach §49IfSG
- Die Behörden der jeweiligen Bundesländer bieten oft Formulare im Internet zur Anzeige/Erlaubnis
- Das Labor benötigt für die Tätigkeit mit Mikroorganismen eine Gefährdungsbeurteilung nach §4 Biostoff VO.

In dem durch das Regierungspräsidium Tübingen veröffentlichtem „Laborleitfaden: Eine Handreichung zu Einrichtung und Betrieb mikrobiologischer Laboratorien gemäß Infektionsschutzgesetz“ sind nähere Erläuterungen zu finden ([IfSG Leitfaden 2018](#)).

Weitere Informationen zum Betreiben eines mikrobiologischen Labors werden durch die Berufsgenossenschaft Rohstoffe und chemische Industrie veröffentlicht.

Je nach Risikogruppe der eingesetzten Mikroorganismen ergibt sich die Schutzstufe des mikrobiologischen Labors. Die Anforderungen an Räumlichkeiten und Ausstattung sind unter anderem in folgenden Merkblättern der BG Chemie (Berufsgenossenschaft Rohstoffe und chemische Industrie) beschrieben:

Merkblatt B 011: Sicheres Arbeiten an mikrobiologischen Sicherheitswerkbänken ([Merkblatt B011](#))

Merkblatt B 002: Laboratorien, Ausstattung und organisatorische Maßnahmen ([Merkblatt B002](#))

### 8. Was ist bei einer Auftragsvergabe an externe Labore zu beachten?

Kurz:

Bei der Auftragsvergabe an externe Labore ist auf ausreichende fachliche Expertise und Erfahrung mit dem Umgang kosmetischer Produkte zu achten. Es empfiehlt sich, ein entsprechendes akkreditiertes Labor (ISO 17025) auszuwählen.

**DEUTSCHE GESELLSCHAFT FÜR WISSENSCHAFTLICHE  
UND ANGEWANDTE KOSMETIK E.V.**

Lang:

An das Untersuchungslabor ist ein entsprechender Untersuchungsauftrag genau zu definieren, um die aktuellen Vorgaben (z.B. Reinheitsuntersuchungen gemäß ISO 17516, KBT gemäß ISO 11930) zu erfüllen.

Es sollte auf eine klare und einfache Ergebnisdarstellung geachtet werden, welche für alle Mitarbeiter und nicht nur für Mikrobiologen zu verstehen ist. Optimal gelingt dieses durch die Vorgabe von internen und externen Spezifikationen und Grenzwerten, welche im Report dann als „erfüllt“ oder „nicht erfüllt“ kenntlich gemacht werden.

Ein fachlicher Support zur Interpretation der Ergebnisse bei Keimwachstum sowie zu mikrobiologischen bzw. hygienischen Fragestellungen ist sehr wichtig.

Für den Fall eines positiven Befundes empfiehlt es sich die weiteren Bearbeitungsschritte wie eine Wiederholung der Untersuchung sowie eine Identifizierung der nachgewiesenen Mikroorganismen im Vorfeld festzulegen. Somit liegen wichtige Erkenntnisse für eine Freigabe der Charge zeitnah vor.