МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)

INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ ISO 21148— 2013

Продукция парфюмерно-косметическая

МИКРОБИОЛОГИЯ

Общие требования к микробиологическому контролю

(ISO 21148:2005, Cosmetics — Microbiology — General instructions for microbiological examination, IDT)

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2019

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели, основные принципы и общие правила проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

1 ПОДГОТОВЛЕН Республиканским унитарным предприятием «Белорусский государственный институт метрологии» (БелГИМ) на основе собственного перевода на русский язык англоязычной версии стандарта, указанного в пункте 5

2 ВНЕСЕН Государственным комитетом по стандартизации Республики Беларусь

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации по переписке (протокол от 7 июня 2013 г. № 43)

За принятие проголосовали:

Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Код страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Россия	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт
Узбекистан	UZ	Узстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 14 июня 2016 г. № 619-ст межгосударственный стандарт ГОСТ ISO 21148—2013 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июля 2017 г.

5 Настоящий стандарт идентичен международному стандарту ISO 21148:2005 «Косметика. Микробиология. Общие указания по микробиологическому контролю» («Cosmetics — Microbiology — General instructions for microbiological examination», IDT).

Международный стандарт ISO 21148:2005 разработан техническим комитетом ISO/TC 217 «Косметика» Международной организации по стандартизации (ISO).

Наименование настоящего стандарта изменено относительно наименования указанного международного стандарта для приведения в соответствие с ГОСТ 1.5 (подраздел 3.6)

6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

7 ПЕРЕИЗДАНИЕ. Апрель 2019 г.

Информация о введении в действие (прекращении действия) настоящего стандарта и изменений к нему на территории указанных выше государств публикуется в указателях национальных стандартов, издаваемых в этих государствах, а также в сети Интернет на сайтах соответствующих национальных органов по стандартизации.

В случае пересмотра, изменения или отмены настоящего стандарта соответствующая информация будет опубликована на официальном интернет-сайте Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации в каталоге «Межгосударственные стандарты»

© ISO, 2005 — Все права сохраняются
© Стандартинформ, оформление, 2016, 2019

В Российской Федерации настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

Содержание

1 Область применения . . . 1
2 Термины и определения . . . 1
3 Требования к помещениям . . . 1
3.1 Площади для проведения испытания . . . 1
3.2 Дополнительные площади . . . 1
3.3 Местоположение помещений . . . 2
3.4 Оснащение помещений . . . 2
3.5 Техническое обслуживание . . . 2
4 Оборудование . . . 3
4.1 Общие положения . . . 3
4.2 Микробиологические (ламинарные) шкафы . . . 3
4.3 Весы . . . 3
4.4 Гомогенизатор . . . 3
4.5 pH-метр . . . 3
4.6 Автоклав . . . 3
4.7 Инкубатор (термостат) . . . 3
4.8 Водяные бани . . . 4
4.9 Холодильник или холодильная камера . . . 4
4.10 Морозильная камера . . . 4
4.11 Суховоздушный стерилизатор (сухожаровой шкаф) . . . 4
4.12 Прибор для подсчета колоний . . . 4
4.13 Прочее оборудование . . . 4
5 Штаммы микроорганизмов . . . 4
6 Персонал . . . 5
6.1 Компетентность . . . 5
6.2 Гигиена . . . 5
7 Подготовка инструментов и стеклянной посуды . . . 5
7.1 Подготовка . . . 5
7.2 Стерилизация . . . 5
7.3 Одноразовые материалы и инструменты . . . 5
7.4 Обращение с чистым инструментом и стеклянной посудой . . . 6
7.5 Обращение со стерильным инструментом и стеклянной посудой . . . 6
7.6 Обработка зараженного материала . . . 6
7.7 Мытье . . . 6
8 Приготовление и стерилизация питательных сред и реактивов . . . 6
8.1 Общие положения . . . 6
8.2 Вода . . . 6
8.3 Приготовление питательных сред . . . 7
8.4 Стерилизация . . . 7
8.5 Хранение . . . 8
8.6 Плавление агаризованных питательных сред . . . 8
8.7 Подготовка чашек Петри . . . 8

9 Лабораторные пробы 8
9.1 Общие положения 8
9.2 Отбор проб парфюмерно-косметической продукции 9
9.3 Транспортирование 9
9.4 Приемка и хранение 9
9.5 Обращение с продукцией и пробами 9
9.6 Консервация и утилизация продукции 9
10 Технические приемы 9
10.1 Гигиенические меры предосторожности во время анализа 9
10.2 Приготовление исходной суспензии и разведений 10
10.3 Методы подсчета 10
10.4 Методы выявления 11
11 Обработка результатов 11
12 Нейтрализация антимикробных свойств продукции 11
Приложение А (справочное) Основные методы идентификации 12
Приложение В (справочное) Основные методы посева и подсчета колоний 15
Приложение С (справочное) Приготовление и калибровка суспензий 16
Библиография 17

Введение

Назначение настоящего стандарта заключается в том, чтобы общие методики, применяемые при проведении микробиологических испытаний парфюмерно-косметической продукции, оставались одинаковыми для всех лабораторий, которые применяют эти стандарты, что позволит получить однотипные результаты в различных лабораториях и будет способствовать охране здоровья персонала лаборатории путем предотвращения риска инфицирования.

При проведении микробиологических исследований парфюмерно-косметической продукции особенно важно, чтобы:

- микроорганизмы, которые присутствуют в пробах, были изолированы или подсчитаны;
- микроорганизмы не загрязняли окружающую среду.

Для этого необходимо уделять внимание личной гигиене и использовать методы проведения работ, которые (насколько возможно) исключат внешнюю контаминацию.

Поскольку в настоящем стандарте приводится только несколько примеров мер предосторожности, которые должны предприниматься в ходе микробиологических исследований, доскональное знание микробиологических методик и соответствующих микроорганизмов является важным условием. Важно, чтобы анализы проводились (насколько возможно) точно, включая подсчет числа микроорганизмов.

Значительное количество манипуляций может, например, непреднамеренно привести к перекрестной контаминации, и поэтому всегда должна проверяться точность результатов, получаемых с помощью того или иного метода. Необходимо принимать специальные меры предосторожности не только с целью соблюдения правил гигиены, но также для обеспечения хорошей воспроизводимости полученных результатов. Невозможно точно определить все меры предосторожности, которых следует придерживаться при всех обстоятельствах. В настоящем стандарте приведены основные критерии, которые следует учитывать при приготовлении, стерилизации и хранении соответствующих питательных сред и соответствующего оборудования.

Приведенные рекомендации позволят осуществлять обнаружение и подсчет мезофильных микроорганизмов, которые могут развиваться в аэробных условиях. Данные рекомендации распространяются на определение отсутствия или ограниченной распространенности специфических микроорганизмов, которые представляют интерес для парфюмерно-косметической продукции.

Методы испытаний приводятся в различных стандартах. Могут использоваться альтернативные микробиологические методики при условии, что их эквивалентность была продемонстрирована или метод был валидирован иным образом. Выбор определенного метода или сочетаний методов, упоминаемых в этих стандартах, будет зависеть от цели проведения данного испытания. Пользователю следует решить, какой именно подход наиболее эффективен для применения.

Поправка к ГОСТ ISO 21148—2013 Продукция парфюмерно-косметическая. Микробиология. Общие требования к микробиологическому контролю

В каком месте	Напечатано	Должно быть		
Предисловие. Таблица согласования	—	Армения	AM	Минэкономразвития Республики Армения

(ИУС № 6 2019 г.)

Поправка к ГОСТ ISO 21148—2013 Продукция парфюмерно-косметическая. Микробиология. Общие требования к микробиологическому контролю

В каком месте	Напечатано	Должно быть		
Предисловие. Таблица согласования	—	Армения	AM	Минэкономразвития Республики Армения

(ИУС № 6 2019 г.)

М Е Ж Г О С У Д А Р С Т В Е Н Н Ы Й С Т А Н Д А Р Т

Продукция парфюмерно-косметическая

МИКРОБИОЛОГИЯ

Общие требования к микробиологическому контролю

Parfumery and cosmetics products. Microbiology. General requirements for microbiological examination

Дата введения — 2017—07—01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает общие требования к проведению микробиологического контроля парфюмерно-косметической продукции для обеспечения ее качества и безопасности в соответствии с надлежащим анализом риска (например, продукции с низкой водной активностью, крайними значениями pH, на спиртовой основе).

Требования настоящего стандарта не распространяются на некоторые виды продукции (например, для нерастворимой в воде продукции).

2 Термины и определения

В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями:

2.1 **продукция** (product): Часть идентифицированной парфюмерно-косметической продукции, полученная лабораторией для испытания (анализа).

2.2 **проба** (sample): Часть продукции в количестве не менее 1 г или 1 $см^3$, которая используется при проведении испытаний для приготовления исходной суспензии.

2.3 **исходная суспензия** (initial suspension): Суспензия (или раствор) пробы в определенном объеме соответствующей жидкости (разбавитель, нейтрализатор, бульон или их сочетания).

2.4 **разведение пробы** (sample dilution): Разведение исходной суспензии.

3 Требования к помещениям

3.1 Площади для проведения испытания

Площади, требуемые для работы, характерной для микробиологической лаборатории, отводятся:

- для приемки, хранения, подготовки проб;
- приготовления и стерилизации питательных сред, инструментов и стеклянной посуды;
- проведения анализов: взвешивание, разведение, посев, пересев, инкубация, поддержание штаммов и т. д.;
- обеззараживания и очистки инструментов, стеклянной посуды и обработки отработанного материала.

3.2 Дополнительные площади

В эту категорию включены следующие площади:

- входы, коридоры, лестницы, лифты;
- административные площади (например, для секретариата, офисов, хранения документации и т. д.);

Издание официальное

- гардеробы и туалеты;
- архивы;
- склады.

3.3 Местоположение помещений

Окружающая среда, в которой проводятся микробиологические анализы, не должна влиять на их надежность.

Следует выбирать такие помещения, которые исключали бы риск перекрестной контаминации.

Необходимо соблюдать меры предосторожности с целью защиты от экстремальных условий, например: повышенной температуры, пыли, влажности, пара, шума, вибрации, воздействия прямого солнечного света и т. д.

Площадь поверхности должна быть достаточно большой, чтобы содержать рабочие места в чистоте и в надлежащем порядке.

Во время проведения испытаний доступ к месту их проведения должен быть разрешен только тем лицам, которые должны проводить эти испытания.

Раздельные помещения, и/или разделенные площади, и/или специально огороженные участки должны быть предусмотрены:

- для приемки, хранения и подготовки проб;
- манипулирования с микробиологическими культурами;
- подготовки питательных сред, инструментов и стеклянной посуды;
- зоны для обеззараживания и мытья;
- стерилизации;
- инкубаторов, холодильников и морозильных камер.

3.4 Оснащение помещений

3.4.1 Испытательные помещения должны быть оснащены таким образом, чтобы уменьшить риск контаминации пылью и, следовательно, микроорганизмами:

- стены, потолки и полы должны быть гладкими, непористыми, легко моющимися и стойкими к действию моющих и дезинфицирующих средств, используемых в лабораториях;
- трубы верхней разводки для подачи жидкостей не должны пересекать помещения, если они не герметичны;
- солнцезащитные системы, если они используются, должны монтироваться снаружи окон, где это практически возможно;
- окна и двери должны закрываться при проведении испытаний, для того чтобы свести к минимуму сквозняки. Кроме того, они должны проектироваться таким образом, чтобы исключить образование мест скапливания пыли и, следовательно, облегчить уборку помещений.

3.4.2 Температура окружающей среды и качество воздуха (содержание микроорганизмов, влажность, скорость распространения пыли и т. д.) должны соответствовать условиям проведения испытаний.

Для этой цели рекомендуется использовать вентиляционные системы с фильтрами и/или микробиологический (ламинарный) шкаф.

3.4.3 Поверхности лабораторных столов и мебель должны изготавливаться из гладких, непористых непроницаемых материалов, которые можно легко чистить и дезинфицировать. К верхним частям шкафов и оборудования должен быть обеспечен доступ для их очистки.

Нестационарная лабораторная мебель должна проектироваться таким образом, чтобы облегчить мытье полов.

Документы и книги, которыми не часто пользуются, целесообразно хранить вне площадей для проведения испытаний.

3.5 Техническое обслуживание

Полы, стены, потолок, поверхности лабораторных столов и мебель должны поддерживаться в хорошем рабочем состоянии, исключающем образование трещин в тех местах, где может скапливаться грязь, служащая таким образом источником контаминации.

Регулярная очистка и при необходимости дезинфекция должны проводиться для поддержания помещения в состоянии, пригодном для проведения испытаний.

Вентиляционные системы и их фильтры должны регулярно проверяться, фильтры должны заменяться по мере необходимости.

4 Оборудование

4.1 Общие положения

Все оборудование должно содержаться в чистоте и в надлежащем рабочем состоянии.

Операции по техническому обслуживанию должны контролироваться. Измерительные приборы и инструменты должны регулярно поверяться согласно соответствующему графику, результаты — регистрироваться.

4.2 Микробиологические (ламинарные) шкафы

Шкафы разделяются на два вида:

a) шкафы очистки воздуха, предназначенные для защиты продукции от внешнего загрязнения и сведения к минимуму загрязнения со стороны оператора;

b) безопасные шкафы, предназначенные для защиты продукции от внешнего загрязнения, а также для защиты оператора и окружающей среды.

Используется любой из двух видов шкафов. Безопасные шкафы должны использоваться для всех работ, связанных с риском для оператора.

Шкаф представляет собой рабочее место, не содержащее пыли, в котором поддерживается вертикальный ламинарный воздушный поток. В микробиологии безопасный шкаф используется для удержания микроорганизмов на фильтрах.

4.3 Весы

Микробиологическая лаборатория для анализа парфюмерно-косметической продукции должна быть оснащена весами соответствующего диапазона и точности для взвешивания различной продукции. Погрешность при взвешивании анализируемых проб и некоторых компонентов питательных сред и реагентов ± 0,01 г.

4.4 Гомогенизатор

Это оборудование (например, блендер и т. д.) может использоваться для приготовления исходной суспензии из проб нежидкой продукции.

4.5 pH-метр

pH-метр должен проводить измерения с погрешностью ± 0,1 ед pH, и его минимальный порог измерения должен составлять 0,01 ед pH.

4.6 Автоклав

Автоклав должен поддерживаться в исправном рабочем состоянии и регулярно проверяться компетентными службами согласно инструкциям изготовителя, что должно быть зарегистрировано в соответствующей документации.

Автоклав не должен использоваться одновременно для стерилизации чистых материалов и для обеззараживания использованных материалов. Везде, где возможно, для проведения этих двух процессов должны использоваться отдельные автоклавы.

4.7 Инкубатор (термостат)

Инкубаторы должны быть оснащены системой регулирования, которая позволяет поддерживать температуру на одном стабильном уровне по всему рабочему объему.

Если температура окружающей среды близка или превышает температуру инкубатора, используют инкубатор с системой охлаждения.

Инкубаторы должны быть защищены от воздействия прямого солнечного света.

Если возможно, инкубаторы не должны полностью заполняться за одну отдельную операцию, так как питательным средам требуются продолжительные периоды времени для достижения температурного равновесного состояния, какой бы тип инкубатора ни использовался (конвекционный или какой-либо другой).

Температура должна проверяться и регистрироваться не реже одного раза в течение каждого рабочего дня.

4.8 Водяные бани

Водяные бани делятся на два типа:

- бани, регулируемые термостатом (с помощью термореле), пригодные для инкубации засеянных питательных сред, для идентификационных испытаний и т. д.;
- водяные бани с регулируемой температурой для поддержания стерильных агаризованных сред в расплавленном состоянии с последующим использованием в заданных методиках.

Требуемая температура и точность оговариваются в каждом применяемом методе.

4.9 Холодильник или холодильная камера

Температура, если не оговорено иное, должна быть (5 ± 3) °С.

4.10 Морозильная камера

Температура, если не оговорено иное, должна быть ниже минус 18 °С.

4.11 Суховоздушный стерилизатор (сухожаровой шкаф)

Суховоздушный стерилизатор представляет собой камеру, которая позволяет разрушать микроорганизмы сухим горячим воздухом.

В камере температура должна распределяться равномерно.

Стерилизатор должен быть оснащен:

- термостатом;
- термометром или другим устройством, регистрирующим температуру;
- индикатором или программируемым устройством/таймером продолжительности работы.

4.12 Прибор для подсчета колоний

Может использоваться прибор для подсчета колоний.

4.13 Прочее оборудование

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ — Мерную стеклянную посуду нельзя стерилизовать в суховоздушном стерилизаторе.

Прочее оборудование и инструменты повседневного использования включают следующее:

a) фильтровальный аппарат (см. ниже);
b) стеклянные или пластмассовые емкости (пробирки, колбы, флаконы, бутыли);
c) стеклянные или пластмассовые чашки Петри (как правило, диаметром от 85 до 100 мм);
d) стеклянные или пластиковые пипетки (10, 2, 1 $см^3$), автоматические пипетки;
e) инструменты для отбора проб;
f) иглы или петли (из никеля/хрома, платины/иридия или одноразовые пластиковые и т. д.),
g) оптический микроскоп;
h) газовая горелка, спиртовка или печь для прокаливания;
i) дозатор для питательных сред и реагентов;
j) механическая мешалка.

Если используется метод мембранной фильтрации, оборудование также должно включать:

- систему мембранной фильтрации или фильтровальный аппарат, изготовленный из соответствующего материала, с держателем фильтра вместимостью не менее 50 $см^3$, и пригодный для использования фильтров диаметром от 47 до 50 мм, с размером пор не более 0,45 мкм;
- мембранный фильтр, изготовленный из материала, который исключает влияние остаточных компонентов исследуемой пробы на бактерии;
- вакуумный источник, способный обеспечить равномерную скорость фильтрования (устройство также должно быть настроено на получение фильтрования порядка 100 $см^3$ жидкости не менее чем за 2 мин.).

5 Штаммы микроорганизмов

Штаммы, необходимые для валидации методик, указаны в конкретных методах.

6 Персонал

6.1 Компетентность

Весь персонал, работающий в микробиологической лаборатории, должен пройти соответствующую профессиональную подготовку, которая позволила бы ему надлежащим образом осуществлять порученную работу.

Персонал, который проводит испытания, должен обладать хорошими знаниями и достаточным практическим опытом в сфере микробиологических методов и исследуемых микроорганизмов. Ответственные лица должны уметь интерпретировать показатели точности и прецизионности, требуемые для получения приемлемых результатов.

6.2 Гигиена

В области личной гигиены нижеследующие меры предосторожности должны соблюдаться не только для того, чтобы избежать контаминации проб и питательных сред, но также для того, чтобы исключить риск инфицирования персонала:

- необходимо использовать лабораторную одежду, которая должна быть чистой, в хорошем состоянии, окрашена в светлые тона и изготовлена из ткани, ограничивающей риск воспламеняемости; эту одежду нельзя носить за пределами рабочей зоны;
- необходимо поддерживать ногти в идеальной чистоте; они должны быть хорошо обработаны и желательно коротко острижены;
- руки необходимо тщательно мыть до и после микробиологических исследований и сразу же после посещения туалета или приема пищи; для сушки рук используют одноразовые бумажные салфетки или одноразовые матерчатые полотенца;
- во время посева нельзя говорить, кашлять и т. д.;
- запрещается курить, пить и принимать пищу в местах для проведения испытаний;
- продукты питания для личного потребления запрещается класть в лабораторные холодильники;
- специальные меры предосторожности должны быть приняты теми лицами, которые инфицированы или больны, так как это может привести к загрязнению проб микроорганизмами и сделать полученные результаты недействительными.

7 Подготовка инструментов и стеклянной посуды

7.1 Подготовка

Инструменты и стеклянную посуду, используемые в микробиологии, следует подготавливать таким образом, чтобы гарантировать их чистоту и/или стерильность до момента использования.

Перед стерилизацией пробирки, колбы и флаконы закрывают пробками из соответствующего материала.

Пипетки закрывают ватой или любым другим соответствующим материалом.

Если необходимо, подлежащие стерилизации инструменты и стеклянную посуду помещают в специальные контейнеры или заворачивают соответствующим материалом (например, специальной бумагой, алюминиевой фольгой и т. д.).

7.2 Стерилизация

7.2.1 Сухожаровая стерилизация

Нагревание проводят в сухожаровом стерилизаторе не менее 1 ч при температуре от 170 до 180 °С или используют другие параметры времени и температуры, если их правильность будет подтверждена.

Для того чтобы убедиться, что стерилизация достигнута, должны использоваться индикаторы.

7.2.2 Паровая стерилизация

Нагревание проводят в течение не менее 15 мин при температуре не менее 121 °С в автоклаве. Для того чтобы убедиться, что стерилизация достигнута, должны использоваться индикаторы.

7.3 Одноразовые материалы и инструменты

Одноразовые материалы и инструменты могут использоваться таким же образом, как и стеклянная посуда многоразового применения (чашки Петри, пипетки, пробирки и т. д.), если их технические характеристики одинаковы.

В этом случае следует обращаться к изготовителю с целью определения пригодности предлагаемых инструментов и стеклянной посуды для микробиологии (в особенности в отношении стерильности) и отсутствия в материалах веществ, которые тормозят рост микроорганизмов.

Одноразовые материалы и инструменты должны обеззараживаться после использования. Помимо методов, описанных в 7.6, и в зависимости от национального законодательства может применяться прокаливание.

Если в лаборатории имеется печь для прокаливания (муфель), обеззараживание и утилизацию можно осуществлять за одну операцию.

7.4 Обращение с чистым инструментом и стеклянной посудой

Чистый инструмент и стеклянную посуду необходимо защищать от внешнего загрязнения во время хранения при условиях, которые обеспечивают их чистоту.

7.5 Обращение со стерильным инструментом и стеклянной посудой

Перед использованием инструмент и стеклянную посуду необходимо хранить в условиях, которые обеспечивают их стерильность. Одноразовые инструменты и стеклянную посуду необходимо хранить в соответствии с техническими требованиями изготовителя, исключая любое повреждение упаковки; подготовленные в лаборатории инструменты и стеклянная посуда должны храниться в чистых контейнерах (шкафах).

При стерилизации инструментов и стеклянной посуды, предназначенной для микробиологических исследований, на каждой упаковке должны быть указаны дата стерилизации и срок годности. Герметично запакованные инструменты и стеклянную посуду можно хранить не более 3 мес. перед использованием, если не оговорено иное.

7.6 Обработка зараженного материала

После использования (культуры микроорганизмов или материал, контактирующий с микроорганизмами) инструмент, стеклянная посуда и их содержимое должны обеззараживаться перед мытьем или утилизацией независимо от вида микроорганизмов.

В зависимости от характера материалов можно использовать дезинфекцию (10.1), стерилизацию (7.2) или прокаливание (7.3).

7.7 Мытье

Инструменты и стеклянную посуду моют только после их обеззараживания (7.6). Освобождают емкости от их содержимого.

Перед мытьем отделяют уплотнительные прокладки от пробок или колпачков соответствующим образом.

Смывают остатки детергента с инструментов и оборудования водопроводной водой. Промывают инструменты и оборудование водой согласно 8.2.

При отсутствии имеющегося в продаже очищающего средства можно использовать 0,125 % раствор (массовая доля) карбоната натрия с последующим погружением в разбавленную кислоту (например, соляную кислоту, $c(HCl) = 0{,}1$ моль/дм^3) [6].

Специализированное вспомогательное оборудование может использоваться с целью облегчения операций мытья (например, пипеточные промыватели, посудомоечные машины, ультразвуковые ванны и т. д.).

8 Приготовление и стерилизация питательных сред и реактивов

8.1 Общие положения

Точность в приготовлении питательных сред — одна из важнейших стадий в микробиологическом анализе, которой должно быть уделено особое внимание.

8.2 Вода

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ — Вода, пропущенная через ионообменник (деионизированная), может иметь высокое содержание микроорганизмов, поэтому целесообразно не использовать такую воду, не убедившись в том, что содержание микроорганизмов в ней является низким. Обращаются

к изготовителю по поводу наиболее эффективного способа минимизации микробной контаминации. Сильно контаминированная деионизированная вода, которая подверглась стерилизационному фильтрованию, может к тому же содержать вещества, тормозящие рост некоторых микроорганизмов.

Используют дистиллированную воду эквивалентного качества, то есть очищенную [2], [9], [11] или деионизированную воду [8]. Если дистиллированную воду приготавливают из хлорированной воды, нейтрализуют хлор перед дистилляцией.

Вода должна храниться в посуде, изготовленной из инертных материалов (например, нейтрального стекла, полиэтилена и т. д.).

8.3 Приготовление питательных сред

8.3.1 Общие положения

Существуют два типа приготовления питательных сред:

- из составных компонентов, обезвоженных или нет; или
- из готовых обезвоженных (сухих) сред.

В отношении условий хранения и сроков годности следуют рекомендациям изготовителя. Не используют питательные среды с просроченным сроком годности.

Предохраняют лабораторные обезвоженные (сухие) питательные среды от поглощения дополнительной влаги из окружающей среды во время хранения и использования.

8.3.2 Регидратация

В отношении регидратации (растворения в воде) следуют рекомендациям изготовителя.

8.3.3 Измерение pH

Измеряют pH с помощью pH-метра (4.5) и регулируют его при необходимости таким образом, чтобы после стерилизации и охлаждения до комнатной температуры данная среда имела бы заданный pH ± 0,2 ед pH, если не оговорено иное.

Примечание — Доведение pH обычно проводят, используя раствор, состоящий приблизительно из 40 г/дм^3 (около 1 моль/дм^3) гидроокиси натрия (NaOH) или приблизительно из 36,5 г/дм^3 (около 1 моль/дм^3) соляной кислоты (HCl) [6].

8.3.4 Дозировка

Разливают среду в соответствующую лабораторную посуду вручную либо с помощью автоматических приборов.

8.4 Стерилизация

8.4.1 Общие положения

Стерилизацию питательных сред и реактивов можно проводить следующими способами:

- паровая стерилизация;
- стерилизация фильтрованием.

В зависимости от используемого способа после стерилизации среду необходимо контролировать, в особенности в отношении pH, цвета, стерильности и микробиологических характеристик.

8.4.2 Паровая стерилизация

Для стерилизации используют автоклав (4.6). Обычно стадия стерилизации занимает не менее 15 мин при температуре 121 °С. При необходимости цикл стерилизации адаптируют в зависимости от заданного объема, количества емкостей, характера загрузки и типа сред.

Эффективность процесса стерилизации должна быть подтверждена с помощью соответствующих средств.

8.4.3 Стерилизация фильтрованием

Стерилизация посредством фильтрования может быть проведена в вакууме или в условиях высокого давления.

Используют стерильные мембранные фильтры и фильтровальные элементы с диаметром пор 0,22 мкм (за исключением отдельных случаев, где может допускаться значение 0,45 мкм). Обращаются к инструкциям изготовителя в отношении использования фильтровальных элементов или мембранных фильтров, которые были приобретены в стерильном состоянии.

Стерилизуют различные компоненты фильтровального устройства в собранном или разобранном состоянии в автоклаве в течение 15 мин при температуре 121 °С. При необходимости может быть

проведена асептическая сборка в микробиологическом шкафу после автоклавирования. Некоторые устройства могут приобретаться в стерильном состоянии.

8.5 Хранение

8.5.1 Общие положения

Каждая упаковка флаконов, колб, пробирок и чашек Петри должна маркироваться и содержать.

- наименование среды;
- дату приготовления и/или дату истечения срока годности.

8.5.2 Приготовленные в лаборатории питательные среды и реактивы

Питательные среды, разлитые в пробирки или флаконы, и реактивы, которые не подлежат немедленному использованию, должны быть защищены от света и высыхания посредством соответствующих плотно прилегающих/герметичных пробок или завинчивающихся колпачков, имеющих инертные прокладки.

Они должны содержаться в условиях, которые препятствуют изменению их химического состава.

Запрещено использование обезвоженных (дегидратированных) сред.

Перед использованием температура питательных сред должна соответствовать температуре окружающей среды в лаборатории, если не указано иное.

Пример — TSA-среда, приготовленная в лаборатории, должна содержаться в колбах и храниться в темноте, обычно не более двух месяцев, если не оговорено иное.

8.5.3 Готовые к использованию питательные среды и реагенты

Необходимо соблюдать инструкции изготовителя в отношении:

- срока годности;
- температуры и условий хранения;
- условий использования (pH и т. д.);
- контроля эффективности (ростовых свойств).

8.6 Плавление агаризованных питательных сред

Питательную среду плавят путем помещения ее в баню с кипящей водой или другим способом, дающим идентичный результат (например, паровой проточный автоклав).

Избегают перегрева питательной среды и извлекают среду, как только она расплавилась. Выдерживают данную питательную среду в расплавленном состоянии на водяной бане при температуре не выше 48 °С до ее использования. Запрещено использование питательной среды температурой выше 48 °С. Желательно не выдерживать расплавленную среду более 8 ч. В случае особо чувствительных питательных сред продолжительность плавления может быть сокращена.

Неиспользованная среда не должна подвергаться повторному расплавлению для последующего использования.

8.7 Подготовка чашек Петри

Заливают расплавленной агаризованной питательной средой чашки Петри таким образом, чтобы получить слой толщиной не менее 3—4 мм (например, для чашек диаметром 90 мм обычно требуется от 15 до 20 $см^3$ агаризованной среды).

Дают агаризованной среде остыть и затвердеть путем помещения чашек Петри на холодную горизонтальную поверхность.

Сразу же используют подготовленные подобным образом чашки Петри или хранят их (в темноте и при соответствующей температуре и продолжительности) в условиях, которые исключают изменение химического состава. Маркируют чашки в соответствии с 8.5.

Перед использованием может потребоваться высушивание чашек Петри.

Готовые к использованию чашки с агаризованной средой доступны для приобретения. Хранят и используют их в соответствии с инструкциями изготовителя.

9 Лабораторные пробы

9.1 Общие положения

Определение продукции и пробы приведено в 2.1 и 2.2 соответственно.

9.2 Отбор проб парфюмерно-косметической продукции

Важно, чтобы лаборатория получила продукцию, которая является действительно репрезентативной для исследуемой парфюмерно-косметической продукции и которая не была повреждена при транспортировании или хранении.

Отбор проб должен проводиться по соответствующим документам. Если такой документ отсутствует, рекомендуется, чтобы заинтересованные стороны пришли к соглашению по данному вопросу.

9.3 Транспортирование

Во время транспортирования в лабораторию продукция, подлежащая анализу, должна находиться в условиях, которые сводят к минимуму изменения содержания микроорганизмов.

9.4 Приемка и хранение

Персонал лаборатории должен проверить состояние продукции при приемке и подтвердить, что оно является удовлетворительным, а количество — достаточным. Если ее состояние неудовлетворительное или если ее количество недостаточное, лаборатория не сможет провести испытание.

Однако при особых обстоятельствах, если испытание проведено, персонал должен зарегистрировать состояние продукции и причину ее анализа.

Продукция, допущенная в лабораторию, должна сопровождаться документами, в которых процесс ее нахождения прослеживался бы вплоть до момента составления протокола испытания.

Должна быть указана следующая информация:

- дата поступления пробы;
- особенности процедуры отбора проб (дата отбора проб, условия отбора проб и т. д.);
- наименование, справочная информация изготовителя и заявителя;
- характеристики продукции.

При необходимости продукцию, подлежащую испытаниям, хранят при комнатной температуре. Не следует выдерживать в термостате, охлаждать и замораживать продукцию (2.1) и пробы (2.2) ни до, ни после анализа.

9.5 Обращение с продукцией и пробами

Для предотвращения контаминации продукции и проб из окружающей среды с ними следует обращаться таким образом, чтобы исключить риск загрязнения. Для достижения этого пользуются асептическими методами, например:

- любой инструмент, который используется для вскрытия упаковки, должен быть стерильным;
- любой инструмент, который используется для извлечения пробы продукции, должен быть стерильным;
- при необходимости санируют упаковку и открываемую крышку соответствующим образом.

9.6 Консервация и утилизация продукции

За исключением особых случаев продукцию хранят до тех пор, пока не будут получены все необходимые результаты анализов, а при необходимости и более длительное время.

Продукцию, из которой отбирались пробы, утилизируют, исключая случаи, когда характер и уровень контаминации заставляет рассматривать их как контаминированный материал (7.6).

10 Технические приемы

10.1 Гигиенические меры предосторожности во время анализа

Для проведения работ, насколько это возможно в асептических условиях, должны быть приняты следующие меры предосторожности:

a) убедиться, что рабочая зона чистая и в помещении отсутствуют сквозняки (двери и окна закрыты);

b) до и после работы провести обеззараживание рабочей поверхности с помощью соответствующего дезинфицирующего средства;

c) перед тем как приступить к работе, следует убедиться в том, что в наличии имеется все для ее проведения;

d) в случае работы, проводимой в микробиологическом (ламинарном) шкафу, следует использовать стерильные перчатки или обеззаразить руки перед тем, как приступить к работе, и избегать скрещивания рук и ладоней;

e) при работе без микробиологического (ламинарного) шкафа следует открывать упаковки с пробами вблизи открытого пламени и держать упаковку в наиболее возможном наклонном положении;

f) проводить работу как можно быстрее, не совершая ненужных движений при выполнении исследований;

g) если упаковка одноразовых пипеток, чашек Петри и т. п. расходуется не полностью во время испытания, необходимо убедиться в том, чтобы она была надлежащим образом закрыта после извлечения из нее необходимого количества предметов;

h) стерилизовать петли, иглы (шпильки) для посева и т. д. до и после использования в пламени горелки; чтобы избежать расплескивания субстанций и микроорганизмов, желательно использовать печь для прокаливания петель, где это возможно, или разовые стерильные петли и иглы (шпильки);

i) помещать использованные пипетки, шпатели и т. д. в специальные емкости для хранения, содержащие соответствующее дезинфицирующее средство (например, раствор гипохлорита натрия для пипеток) перед их обработкой (7.6);

j) помещать многоразовые инструменты, которые могут содержать микроорганизмы, в специальные контейнеры перед стерилизацией, до того как их подвергнут промывке;

k) помещать используемые одноразовые инструменты в соответствующие контейнеры перед стерилизацией или прокаливанием (7.6);

l) немедленно удалять любое пролитие (брызги) с помощью ватных тампонов или любого другого подходящего материала, пропитанного соответствующим дезинфицирующим средством, затем очистить и дезинфицировать рабочую поверхность перед продолжением работы.

Работа с продукцией и культурами, которые могут содержать патогенные бактерии, требует введения специальных мер предосторожности. Рекомендуется наличие:

- микробиологического (ламинарного) шкафа для всех манипуляций, требуемых при проведении анализа;
- автоматических пипеток (отбор пипеткой посредством всасывания ртом строго запрещен).

Примечание — Аэрозоли (брызги, капли) — основная причина загрязнения окружающей среды и распространения инфекции. Аэрозоли могут образовываться, например:
- при использовании шейкеров, шприцев и т. д.;
- при опорожнении пипеток путем выдувания;
- при стерилизации петель или игл.

Поэтому образование аэрозолей необходимо свести к минимуму.

10.2 Приготовление исходной суспензии и разведений

10.2.1 Общие положения

При приготовлении исходной суспензии и разведений время, которое прошло между окончанием приготовления и моментом внесения посевного материала в питательную среду, не должно превышать 45 мин, если в соответствующих документах не оговорено иное.

Исходную суспензию готовят из навески пробы в количестве не менее 1 г или 1 $см^3$ хорошо перемешанной испытуемой продукции.

Отмечают навеску *S*, точную массу или точный объем пробы.

10.2.2 Водорастворимая продукция

Переносят навеску *S* пробы продукции в подходящую посуду и готовят соответствующее разведение согласно установленному стандарту.

Регистрируют степень разведения *d*.

10.2.3 Нерастворимая в воде продукция

Переносят навеску *S* пробы продукции в подходящую посуду, содержащую определенное количество солюбилизирующего компонента (например, полисорбата 80), и готовят требуемое разведение согласно установленному стандарту.

Регистрируют степень разведения *d*.

10.3 Методы подсчета

Следуют требованиям применяемого стандартного метода. Относительно дополнительной информации см. приложение В.

10.4 Методы выявления

Следуют описаниям применяемого стандартного метода.

11 Обработка результатов

Следуют требованиям применяемого стандартного метода.

12 Нейтрализация антимикробных свойств продукции

Перед обнаружением или подсчетом жизнеспособных микроорганизмов в парфюмерно-косметической продукции должно быть нейтрализовано возможное торможение микробного роста со стороны пробы. Во всех случаях и независимо от метода нейтрализация антимикробных свойств продукции должна быть проверена и подтверждена.

Следуют требованиям применяемого стандартного метода.

Приложение А
(справочное)

Основные методы идентификации

А.1 Приготовление чистой культуры

А.1.1 Общие положения

Начинают приготовление чистой культуры с выбора колонии на или в агаризованной среде, которая была получена путем посева разведения пробы продукции для анализа или путем посева культуры.

Затем высевают выбранную колонию на неселективную агаризованную питательную среду. После инкубации выбирают хорошо изолированную колонию. Повторяют операцию при необходимости.

Используют методы посева на чашки, описанные в А.1.2. В отдельных случаях могут использоваться другие методы.

А.1.2 Посев на чашки

А.1.2.1 Общие положения

Отбирают небольшое количество с поверхности хорошо изолированной колонии на кончик стерильной петли.

Затем производят посев либо непосредственно клетками, присутствующими на петле (А.1.2.2), либо приготавливают суспензию из этих клеток (А.1.2.3).

А.1.2.2 Прямой метод: Пример

Чашки с агаризованной средой приблизительно на одну треть поверхности засевают кончиком петли близко расположенными штрихами. Стерилизуют и охлаждают петлю. От края засеянной площади выполняют другой ряд штрихов, менее плотно расположенных, чем первый, занимая половину свободной площади. Повторяют операцию на оставшейся поверхности, располагая штрихи еще более широко (см. рисунок А.1).



Рисунок А.1 — Пример посева на чашку: прямой метод

А.1.2.3 Метод с использованием разведения

Суспендируют клетки в 1—2 $см^3$ выбранного раствора, проводя инокулированной петлей по стенкам пробирки у поверхности жидкости, затем хорошо перемешивают.

Стерилизуют и охлаждают петлю. С помощью петли отбирают небольшое количество микробной суспензии и продолжают согласно А.1.2.2.

А.1.3 Инкубация

Переворачивают засеянные чашки Петри вверх дном и помещают их в инкубатор на заданный период времени при заданной температуре.

А.1.4 Селекция

После инкубации выбирают хорошо изолированную колонию из чашки либо для последующего пересева, либо для проведения испытаний.

Если возможно, окончательные испытания следует проводить, используя клетки одной-единственной колонии. В случае недостатка клеточного материала от одной колонии сначала необходимо осуществить повторный посев в жидкую среду или на скошенную агаризованную среду, после чего субкультуру можно использовать для проведения анализа.

А.2 Окраска по Граму [модифицированный метод Хакера (Hucker)]

А.2.1 Общие положения

Такое окрашивание бактериальных клеток позволяет описать морфологию клеток бактерий и классифицировать их на две группы в зависимости от того, способны они удерживать фиолетовую окраску кристаллического фиолетового в условиях анализа или нет. Подобное деление обусловлено главным образом различиями в структуре клеточных стенок двух групп и коррелируется с другими существенными различиями между этими двумя группами. Существует ряд способов выполнения окраски по Граму, однако все они следуют рекомендациям, приведенным ниже.

А.2.2 Растворы

А.2.2.1 Общие положения

Можно использовать имеющиеся в продаже растворы. В этом случае следуют рекомендациям изготовителя.

А.2.2.2 Раствор кристаллического фиолетового

А.2.2.2.1 Состав

- кристаллический фиолетовый — 2,0 г;
- этанол (95 %) — 20 $см^3$;
- оксалат аммония ($C_2H_8N_2O_4$) — 0,8 г;
- вода — 80 $см^3$.

А.2.2.2.2 Приготовление

Растворяют кристаллический фиолетовый в этаноле и оксалат аммония в дистиллированной воде. Смешивают два раствора и дают отстояться смеси в течение 24 ч перед применением.

А.2.2.3 Раствор йода

А.2.2.3.1 Состав

- йод — 1,0 г;
- йодид калия (KI) — 2,0 г;
- вода — 100 $см^3$.

А.2.2.3.2 Приготовление

Растворяют йодид калия в 10 $см^3$ дистиллированной воды, добавляют йод частями. После растворения доводят раствор до 100 $см^3$ в мерной колбе.

А.2.2.4 Раствор сафранина

А.2.2.4.1 Состав

- сафранин О — 0,25 г;
- этанол (95 %) — 10 $см^3$;
- вода — 100 $см^3$.

А.2.2.4.2 Приготовление

Растворяют сафранин в этаноле, затем смешивают с дистиллированной водой. Доводят до окончательного объема 100 $см^3$.

При использовании кристаллического фиолетового следует проверить стабильность раствора. Для проверки смешивают одну каплю раствора кристаллического фиолетового с одной каплей раствора йода на предметном стекле, чтобы проследить за химической реакцией. Если кристаллизация видна на стекле, раствор кристаллического фиолетового не используют.

А.2.2.5 Метод окрашивания

Из культуры, выращенной в течение 18—24 ч, готовят мазок на предметном стекле и фиксируют его над пламенем спиртовки, затем на мазок наносят раствор кристаллического фиолетового (А.2.2.2) и дают прореагировать в течение 1 мин.

Осторожно наклоняя, промывают предметное стекло водой в течение нескольких секунд.

Покрывают предметное стекло раствором йода (А.2.2.3). Дают ему прореагировать в течение 1 мин. Осторожно наклоняя, промывают предметное стекло водой в течение нескольких секунд.

Осторожно и непрерывно промывают этанолом (95 %) предметное стекло в течение не более 30 с, до тех пор пока не перестанет вымываться фиолетовый цвет.

Осторожно наклоняя, промывают предметное стекло водой в течение нескольких секунд.

Докрашивают мазок раствором сафранина (А.2.2.4) в течение 10 с.

Осторожно наклоняя, промывают предметное стекло водой.

Высушивают предметное стекло.

А.2.2.6 Интерпретация результатов

Исследуют предметное стекло под объективом микроскопа с большим увеличением (4.13). Те бактериальные клетки, которые окрасились в синий или фиолетовый цвет, относятся к грамположительным бактериям, а окрашенные в темно-розовый и красный — к грамотрицательным.

В отношении чистой культуры некоторых типов бактерий как грамположительные, так и грамотрицательные бактерии могут быть получены в одном и том же поле зрения микроскопа.

Примечание — У плотно расположенных клеток может отмечаться нехарактерная реакция.

А.3 Тест на каталазу

А.3.1 Общие положения

Обнаружение этого фермента, который разлагает перекись водорода (H_2O_2) на воду и кислород, может быть проведено с помощью бульонной культуры, культуры, выросшей на агаризованной среде или одной-единственной колонии, взятой с поверхности агаризованной среды.

А.3.2 Из бульонной культуры

К 1 см^3 бульонной культуры добавляют 0,5 см^3 десятикратного по объему (3 %) раствора перекиси водорода. Отмечают появление пузырьков кислорода (каталазоположительные) или их отсутствие (каталазоотрицательные).

А.3.3 С поверхности агаризованной питательной среды

Наливают на культуру 1—2 см^3 десятикратного по объему (3 %) раствора перекиси водорода.

Наблюдают сразу же и по истечении 5 мин, независимо от того, образовались пузырьки кислорода или нет.

А.3.4 Из колонии

Наносят раздельно две капли десятикратного по объему раствора перекиси водорода на предметное стекло.

Отбирают колонию с помощью стерильной стеклянной или пластиковой палочки (но только не металлической иглой) и осторожно эмульгируют ее в одну из этих двух капель. Наблюдают сразу же и через несколько минут (не менее 1 мин), образовались пузырьки кислорода или нет. В случае сомнения покрывают каждую каплю покровным стеклом и сравнивают возникновение пузырьков под обоими покрывными стеклами.

Наблюдение можно проводить визуально или с помощью микроскопа с малым увеличением.

А.4 Тест на оксидазу

А.4.1 Общее

Наличие оксидазы обнаруживают по изменению цвета соединения во время окисления под действием данного фермента.

А.4.2 Реактив

А.4.2.1 Состав

- N,N,N',N'-тетраметил-3-пара-фенилендиаминдигидрохлорид ($C_{10}H_{16}N_2 \cdot 2HCl$) 1,0;
- вода 100 см^3.

А.4.2.2 Приготовление

Растворяют реактив в холодной воде. Готовят реактив непосредственно перед его использованием.

Можно использовать доступные, имеющиеся в продаже диски или полоски. В этом случае следуют рекомендациям изготовителя.

А.4.2.3 Метод

Увлажняют фильтровальную бумагу реактивом. Берут часть бактериальной культуры с агаризованной среды с помощью платиновой иглы или стеклянной или пластиковой палочки (никель-хромовая игла дает ложноположительный результат) и наносят ее на смоченную фильтровальную бумагу.

А.4.2.4 Интерпретация полученного результата

В случае наличия оксидазы появляется фиолетово-пурпурный цвет в течение 5—10 с. Если цвет не изменился в течение 10 с, тест рассматривается как отрицательный.

А.5 Использование биохимических тестов для идентификации

Для идентификации могут использоваться существующие в настоящее время биохимические тесты. Вместе с тем все имеющиеся в продаже тесты не обеспечивают одинаковый уровень надежности. Их рабочие характеристики необходимо оценивать перед использованием, если они не были подтверждены изготовителем и/или независимой организацией.

Приложение В
(справочное)

Основные методы посева и подсчета колоний

В.1 Глубинный посев

Готовят среду, чашки Петри, разбавители и разведения, используемые для испытания, в количествах и с номерами, соответствующими плану посева.

Вносят определенные объемы разведений, подлежащих исследованию, в маркированные чашки Петри. Заливают среду в определенном количестве, оговоренном в 8.7, в каждую чашку. Сразу же осторожно смешивают расплавленную среду и посевной материал таким образом, чтобы получить однородное распределение микроорганизмов в массе среды. Дают остыть и затвердеть, помещая чашки Петри на горизонтальную холодную поверхность (время застывания агара не должно превышать 10 мин.).

В.2 Поверхностный посев

Вносят посевной материал в центр маркированной чашки Петри с агаризованной питательной средой (приготовленной в соответствии с 8.7). Распределяют его равномерно и как можно быстрее по поверхности среды, используя стерильный стеклянный или пластиковый шпатель, вращая чашку до тех пор, пока нельзя будет заметить какого-либо количества жидкости на поверхности агара.

В.3 Мембранная фильтрация

Переносят подходящее количество пробы, установленное путем валидации, в фильтровальный аппарат, смоченный небольшим объемом соответствующего стерильного разбавителя, сразу же фильтруют и промывают согласно установленной процедуре.

Переносят мембранный фильтр в чашку Петри на поверхность агаризованной среды.

Приложение С
(справочное)

Приготовление и калибровка суспензий

С.1 Культуры эталонных штаммов

Чтобы улучшить повторяемость и воспроизводимость результатов, рекомендуется использовать третью (по крайней мере вторую) субкультуру, выращенную на агаризованной среде, полученную от культур, хранимых и приготовленных согласно [4], для приготовления посевного материала бактерий. При использовании *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* субкультуры активируют в течение 18—24 ч. При использовании *C. albicans* пригодна первая или вторая субкультура, выращенная в течение 36—48 ч.

С.2 Приготовление клеточных суспензий

Берут 10 $см^3$ разбавителя и вносят в стерильную колбу вместимостью 100 $см^3$, содержащую 5 г стеклянных бусинок. Петлей переносят клетки, выращенные на агаризованной среде, в разбавитель. Клетки должны быть ресуспендированы в разбавителе путем погружения петли и трения ее о стенку колбы с целью перемещения клеток в жидкость. Встряхивают колбу в течение 2—3 мин (используя, если возможно, механическую мешалку). Удаляют верхнюю часть суспензии (избегая любого контакта со стеклянными бусинками) и переносят полученную суспензию в стерильную колбу (пробирку).

С.3 Калибровка суспензий

Регулируют число клеток в суспензии до значений $1 \cdot 10^8$ — $3 \cdot 10^8$ КОЕ/$см^3$ (для *C. albicans* $1 \cdot 10^7$ — $3 \cdot 10^7$ КОЕ/$см^3$) с использованием разбавителя и в соответствии с данными калибровки, полученными в лаборатории. Например, используют спектрофотометр [длина волны (620 ± 20) нм] и разовую кювету с длиной оптического пути 10 мм. Измеряют оптическую плотность суспензии и при необходимости разбавляют ее, чтобы довести плотность до определенного значения. Соответствующие значения оптической плотности были получены между 0,150 и 0,460 в зависимости от вида штаммов.

Библиография

[1] CTFA, Microbiology Guidelines, pub. Cosmetic, Toiletry and Fragrance Assn., ISBN 1-88261-32-8, 2001 (Руководство по микробиологии)

[2] EP, Microbiological examination of non-sterile products (2.6.12 to 2.6.13), 4th edn., pub. European Pharmacopoeia, 2002 (Микробиологическая экспертиза нестерильной продукции)

[3] FDA, Bacteriological Analytical Manual, 8th edn., pub. U.S. Food and Drug Administration, 1995 (Руководство по бактериологическому анализу)

[4] EN 12353:1999 Chemical disinfectants and antiseptics — Preservation of microbial strains used for the determination of bactericidal and fungicidal activity (Дезинфицирующие химические средства и антисептики. Хранение штаммов микроорганизмов, используемых для определения бактерицидной, микобактерицидной, спорицидной и фунгицидной активности)

[5] ISO 6887-1:1999[1)] Microbiology of food and animal feeding stuffs — Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination — Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions (Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Подготовка образцов для испытания, исходной суспензии и десятикратных разведений для микробиологических исследований. Часть 1. Общие правила приготовления исходной суспензии и десятикратных разведений)

[6] ISO 7218:1996[2)] Microbiology of food and animal feeding stuffs — General rules for the microbiological examinations (Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Общие правила для микробиологических исследований)

[7] ISO/IEC 17025:2005[3)] General requirements for the competence of testing and calibration laboratories (Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий)

[8] ISO/TS 11133-2:2003 Microbiology of food and animal feeding stuffs — Guidelines on preparation and production of culture media — Part 2: Practical guidelines on performance testing of culture media (Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Руководство по подготовке и приготовлению питательных сред. Часть 2. Практическое руководство по контролю качества питательных сред)[4)]

[9] J.P 14:2001, General tests — Microbial limit test, pub. Japanese Pharmacopoeia (Общие испытания. Испытания на предельное содержание микроорганизмов)

[10] JCIA, Microbial test methods for cosmetics, pub. Japanese Cosmetic Industry Association, 1997 (Испытания на предельное содержание микроорганизмов)

[11] USP 28:2005, Microbial limit test (61), pub. U.S. Pharmacopoeia (Испытания на предельное содержание микроорганизмов)

[1)] Действует ISO 6887-1:2017.

[2)] Действует ISO 7218:2007.

[3)] Действует ISO/IEC 17025:2017.

[4)] Действует ISO 11133:2014 «Microbiology of food, animal feed and water — Preparation, production, storage and performance testing of culture media» («Микробиология пищевых продуктов, кормов для животных и воды. Приготовление, производство, хранение и определение рабочих характеристик и питательных сред»).

УДК 665.57/.58:579.2:006.354 МКС 07.100.99; 71.100.70 IDT

Ключевые слова: продукция парфюмерно-косметическая, микробиологический контроль, проба, штаммы микроорганизмов

Редактор *Е.И. Мосур*
Технический редактор *И.Е. Черепкова*
Корректор *О.В. Лазарева*
Компьютерная верстка *А.А. Ворониной*

Сдано в набор 03.04.2019. Подписано в печать 08.05 2019 Формат 60×84 1/8. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 2,79. Уч.-изд. л. 2,51.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Создано в единичном исполнении во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» для комплектования Федерального информационного фонда стандартов, 117418 Москва, Нахимовский пр-т, д. 31, к. 2.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

Поправка к ГОСТ ISO 21148—2013 Продукция парфюмерно-косметическая. Микробиология. Общие требования к микробиологическому контролю

В каком месте	Напечатано	Должно быть		
Предисловие. Таблица согласования	—	Армения	AM	Минэкономразвития Республики Армения

(ИУС № 6 2019 г.)

Поправка к ГОСТ ISO 21148—2013 Продукция парфюмерно-косметическая. Микробиология. Общие требования к микробиологическому контролю

В каком месте	Напечатано	Должно быть		
Предисловие. Таблица согласования	—	Армения	AM	Минэкономразвития Республики Армения

(ИУС № 6 2019 г.)

gost.e-ecolog.ru