МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)
INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 34803— 2021

ПРОДУКЦИЯ ПАРФЮМЕРНО-КОСМЕТИЧЕСКАЯ

Методы определения антимикробной активности

Издание официальное

Москва
Российский институт стандартизации
2025

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 РАЗРАБОТАН республиканским унитарным предприятием «Белорусский государственный институт метрологии» (БелГИМ)

2 ВНЕСЕН Государственным комитетом по стандартизации Республики Беларусь

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 9 декабря 2021 г. № 60-2021)

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
Армения	AM	ЗАО «Национальный орган по стандартизации и метрологии» Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Россия	RU	Росстандарт
Узбекистан	UZ	Узбекское агентство по техническому регулированию

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 17 сентября 2025 г. № 1072-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 34803—2021 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 января 2026 г. с правом досрочного применения

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

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»

© Оформление. ФГБУ «Институт стандартизации», 2025

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

Введение

Значительную группу парфюмерно-косметической продукции составляет продукция с направленным антимикробным действием. Для достижения антимикробного эффекта при разработке продукции используются активные антимикробные добавки различного происхождения, в т. ч. химические ингредиенты, водные и спиртовые экстракты растительного сырья, сложные органические композиции.

В настоящее время в соответствии с требованиями статьи 6 [1] при проведении процедуры оценки соответствия парфюмерно-косметической продукции требованиям, установленным в [1], если в маркировке продукции заявлено антимикробное действие парфюмерно-косметической продукции, оно должно быть подтверждено.

Методы настоящего стандарта предназначены для подтверждения заявленных в маркировке антимикробных свойств парфюмерно-косметической продукции.

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

Методы определения антимикробной активности

Perfume and cosmetic products.
Methods for determining the antimicrobial activity

Дата введения — 2026—01—01
с правом досрочного применения

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает методы определения антимикробной активности парфюмерно-косметической продукции (далее — продукция).

Настоящий стандарт не распространяется на средства для дезинфекции кожных покровов (кожные антисептики).

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие межгосударственные стандарты:

ГОСТ 790 Мыло хозяйственное твердое и мыло туалетное твердое. Правила приемки и методы испытаний

ГОСТ 29188.0 Продукция парфюмерно-косметическая. Правила приемки, отбор проб, методы органолептических испытаний

ГОСТ 32048 Продукция парфюмерно-косметическая. Термины и определения

ГОСТ EN 12353[1)] Средства химические дезинфицирующие и антисептические. Консервация тест-организмов, используемых для определения бактерицидной (включая Legionella), микобактерицидной, спорицидной, фунгицидной и вируцидной (включая бактериофаги) активности

ГОСТ ISO 11930 Продукция косметическая. Микробиология. Оценка антимикробной защиты косметической продукции

ГОСТ ISO 16212 Продукция парфюмерно-косметическая. Микробиология. Подсчет дрожжей и плесневых грибов

ГОСТ ISO 18415 Продукция парфюмерно-косметическая. Микробиология. Обнаружение специфических и неспецифических микроорганизмов

ГОСТ ISO 18416 Продукция парфюмерно-косметическая. Микробиология. Обнаружение *Candida albicans*

ГОСТ ISO 21148—2020 Продукция парфюмерно-косметическая. Микробиология. Общие требования к микробиологическому контролю

ГОСТ ISO 21149 Продукция парфюмерно-косметическая. Микробиология. Подсчет и обнаружение мезофильных аэробных бактерий

ГОСТ ISO 21150 Продукция парфюмерно-косметическая. Микробиология. Обнаружение *Escherichia coli*

[1)] Действует в Республике Беларуь.

Издание официальное

ГОСТ ISO 22717 Продукция парфюмерно-косметическая. Микробиология. Обнаружение *Pseudomonas aeruginosa*

ГОСТ ISO 22718 Продукция парфюмерно-косметическая. Микробиология. Обнаружение *Staphylococcus aureus*

Примечание — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов и классификаторов на официальном интернет-сайте Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации (gost.e-ecolog.ru по указателям национальных стандартов, издаваемым в государствах, указанных в предисловии, или на официальных сайтах соответствующих национальных органов по стандартизации. Если на документ дана недатированная ссылка, то следует использовать документ, действующий на текущий момент, с учетом всех внесенных в него изменений. Если заменен ссылочный документ, на который дана датированная ссылка, то следует использовать указанную версию этого документа. Если после принятия настоящего стандарта в ссылочный документ, на который дана датированная ссылка, внесено изменение, затрагивающее положение, на которое дана ссылка, то это положение применяется без учета данного изменения. Если ссылочный документ отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применены термины по ГОСТ 32048, [1], а также следующие термины с соответствующими определениями:

3.1 **исходная суспензия:** Суспензия или раствор пробы в определенном объеме соответствующего разбавителя.

3.2 **нейтрализатор:** Вещество, прекращающее антимикробное действие консерванта.

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

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

3.5 **разведение пробы:** Разбавление исходной суспензии.

3.6 **тест-микроорганизмы:** Культуры бактерий, дрожжеподобных грибов, обладающие определенными стабильными параметрами устойчивости.

Примечание — Например, *C. Albicans*.

3.7 ***Candida albicans*:** Дрожжи, которые образуют выпуклые колонии от белого до бежевого и кремового цветов на поверхности селективной среды.

Примечание — Главными признаками для идентификации являются образование ростковой трубки и/или псевдомицелия и хламидоспоры при проведении испытания по методу, установленному в настоящем стандарте.

3.8 ***Escherichia coli*:** Грамотрицательные подвижные палочки, образующие гладкие колонии.

Примечание — Основные характеристики для идентификации: каталазоположительные, оксидазоотрицательные микроорганизмы, ферментирующие лактозу, продуцирующие индол, образующие характерные колонии на селективной среде, содержащей соли желчных кислот.

3.9 ***Pseudomonas aeruginosa*:** Подвижные грамотрицательные палочки, имеющие гладкие колонии, окрашенные в коричневый или зеленоватый цвет.

Примечание — Основные характеристики для идентификации: рост на селективной агаризованной среде с цетримидом, наличие оксидазы, продуцирование флуоресцентных пигментов, способных к диффузии, и растворимого пигмента феназинового ряда (пиоцианина) на подходящей среде.

3.10 ***Staphylococcus aureus*:** Грамположительные кокки, собранные в скопления, напоминающие гроздья винограда, образующие гладкие колонии, окрашенные обычно в желтый цвет.

Примечание — Основные характеристики для идентификации: рост на специальной селективной среде, наличие ферментов каталазы и плазмокоагулазы.

4 Сущность метода

Оценка антимикробной активности продукции основывается на определении ее способности подавлять рост определенных тест-микроорганизмов.

5 Отбор проб

5.1 Отбор проб — по ГОСТ 29188.0 с уточнением по 5.2—5.4.

5.2 Объем выборки — не менее 2 единиц продукции от партии, масса (объем) пробы — не менее 20 г (20 $см^3$).

5.3 Отбор проб мыла туалетного — по ГОСТ 790. Объем выборки — не менее 2 кусков от партии, масса пробы не менее 20 г.

5.4 При отборе продукции на носителях (салфетки косметические, маски на нетканой основе) количество отбираемых изделий должно быть достаточным для получения после их выжимания не менее 1 г (1 $см^3$) пропитывающей жидкости.

6 Материалы, оборудование, реактивы и питательные среды

6.1 Общие положения

Общие указания по микробиологическому контролю приведены в ГОСТ ISO 21148. Если в настоящем стандарте упоминается вода, то это означает, что применяют дистиллированную или очищенную воду, как указано в ГОСТ ISO 21148.

Другие питательные среды, индикаторы и нейтрализаторы могут использоваться, если доказана их пригодность для использования, например, указанные в ГОСТ ISO 11930, ГОСТ ISO 16212, ГОСТ ISO 18415, ГОСТ ISO 18416, ГОСТ ISO 21149, ГОСТ ISO 21150, ГОСТ ISO 22717 и ГОСТ ISO 22718.

6.2 Питательные среды, индикаторы, нейтрализаторы, разбавители

6.2.1 Общие положения

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

6.2.2 Питательные среды

6.2.2.1 Общие положения

Питательные среды могут быть приготовлены согласно описанию, приведенному ниже, или из сухой питательной среды согласно инструкциям изготовителя.

Примечание — Готовые к применению среды можно использовать, если их состав и/или ростовые свойства сопоставимы с составами и свойствами сред, приведенных ниже.

6.2.2.2 Питательная среда для бактерий: агаризованная среда с соево-казеиновым гидролизатом (SCDA) или триптон-соевый агар (TSA)

6.2.2.2.1 Состав

- панкреатический гидролизат казеина — 15,0 г;
- папаиновый гидролизат сои — 5,0 г;
- хлорид натрия — 5,0 г;
- агар-агар — 15,0 г;
- вода — 1000 $см^3$.

6.2.2.2.2 Приготовление

Растворяют компоненты или готовую сухую питательную среду в воде, перемешивая во время нагревания. Разливают раствор в подходящую посуду. Стерилизуют в автоклаве при температуре 121 °С в течение 15 мин. Хорошо перемешивают после стерилизации, пока жидкость еще достаточно горячая, чтобы растворить выпавший осадок. После стерилизации и охлаждения уровень pH должен составить 7,3 ± 0,2 при измерении его при комнатной температуре.

6.2.2.3 Питательная среда для *Candida albicans*: декстрозный агар Сабуро (SDA)

6.2.2.3.1 Состав

- декстроза — 40,0 г;
- пептический перевар животной ткани — 5,0 г;

- панкреатический гидролизат казеина — 5,0 г;
- агар — 15,0 г;
- вода — 1000 $см^3$.

6.2.2.3.2 Приготовление

Растворяют компоненты или готовую сухую среду в воде, перемешивая при нагревании. Разливают среду в подходящую лабораторную посуду. Стерилизуют в автоклаве при температуре 121 °С в течение 15 мин. После стерилизации pH должен быть равен 5,6 ± 0,2 при измерении при комнатной температуре.

6.2.2.4 Селективная агаризованная среда для выделения *Escherichia coli*: агаризованная среда Левина с эозином и метиленовым голубым

6.2.2.4.1 Состав

- панкреатический гидролизат желатина — 10,0 г;
- однозамещенный фосфат калия ($КН_2РО_4$) — 2,0 г;
- агар — 15,0 г;
- лактоза — 10,0 г;
- эозин У — 0,4 г;
- метиленовый голубой — 0,065 г;
- вода — 1000 $см^3$.

6.2.2.4.2 Приготовление

Растворяют панкреатический гидролизат желатина, однозамещенный фосфат калия и агар в воде при нагревании и дают остыть. Непосредственно перед использованием расплавляют желатинизированную агаризованную среду, добавляют остальные ингредиенты в виде растворов в соответствующих количествах и смешивают, на каждые 100 $см^3$ расплавленной агаризованной среды добавляют:

- 5 $см^3$ раствора лактозы с массовой долей 20 %;
- 2 $см^3$ раствора эозина У с массовой долей 2 %; и
- 2 $см^3$ раствора метиленового голубого с массовой долей 0,033 %.

Готовая среда может оказаться непрозрачной.

Разливают среду в подходящую лабораторную посуду и стерилизуют в автоклаве при температуре 121 °С в течение 15 мин. После стерилизации и охлаждения pH должен быть равен 7,1 ± 0,2 при измерении при комнатной температуре.

6.2.2.5 Селективная агаризованная среда для выделения *Pseudomonas aeruginosa*: питательный агар с цетримидом

6.2.2.5.1 Состав

- панкреатический гидролизат желатина — 20,0 г;
- хлорид магния — 1,4 г;
- сульфат калия — 10,0 г;
- цетримид (бромид цетилтриметиламония) — 0,3 г;
- агар — 13,6 г;
- глицерин — 10,0 $см^3$;
- вода — 1000 $см^3$.

6.2.2.5.2 Приготовление

Растворяют в воде все твердые компоненты и добавляют глицерин. Нагревают при интенсивном перемешивании и кипятят в течение 1 мин до полного растворения. Разливают в подходящую лабораторную посуду и стерилизуют при 121 °С в течение 15 мин. После стерилизации и охлаждения pH должен быть равен 7,2 ± 0,2 при измерении при комнатной температуре.

6.2.2.6 Селективная агаризованная среда для выделения *Staphylococcus aureus*: агаризованная среда Байрд-Паркер (Baird Parker)

6.2.2.6.1 Состав

- панкреатический гидролизат казеина — 10,0 г;
- дрожжевой экстракт — 1,0 г;
- мясной экстракт — 5,0 г;
- пируват натрия — 10,0 г;
- L-глицин — 12,0 г;
- хлорид лития — 5,0 г;
- агар — от 12 до 22 г;
- вода — до конечного объема 950 $см^3$.

6.2.2.6.2 Приготовление

Растворяют компоненты или готовую сухую основу среды в кипящей воде. Разливают среду по 100 см^3 в колбы или флаконы соответствующей вместимости. Стерилизуют среду в автоклаве при температуре 121 °С в течение 15 мин. После стерилизации и охлаждения pH должен быть равен 7,2 ± 0,2 при измерении при комнатной температуре.

6.2.3 Индикатор

6.2.3.1 Общие положения

В качестве редокс-индикатора используют 2,3,5-трифенил-тетразолий хлористый (ТТХ).

6.2.3.2 Приготовление

0,4 г ТТХ растворяют в 100,0 см^3 дистиллированной воды. Полученный раствор разливают в стеклянные флаконы и автоклавируют при 121 °С в течение 10 мин.

6.2.4 Нейтрализатор

Нейтрализатор содержит ингредиенты, которые нейтрализуют консерванты в исследуемой пробе (лецитин и полисорбат-80).

Чаще всего применяют нейтрализатор, описанный в 6.2.4.1. Примеры других подходящих нейтрализаторов приведены в ГОСТ ISO 11930 (приложение С).

6.2.4.1 Состав

- полисорбат-80 — 30,0 г,
- яичный лецитин — 3,0 г,
- гистидина гидрохлорид — 1,0 г,
- пептон мясной — 1,0 г,
- натрия хлорид — 4,3 г,
- калия дигидрофосфат — 3,6 г,
- динатрия гидрофосфат дигидрат — 7,2 г,
- вода, дважды дистиллированная, —1000 см^3.

6.2.4.2 Приготовление

Последовательно растворяют полисорбат-80, яичный лецитин в кипящей воде до полного растворения. Затем добавляют другие компоненты, перемешивая во время нагревания. Разливают раствор в подходящую посуду. Стерилизуют в автоклаве при температуре 121 °С в течение 15 мин. Хорошо перемешивают после стерилизации, пока жидкость еще достаточно горячая, чтобы растворить выпавший осадок. После стерилизации уровень pH должен составить 7,0 ± 0,2 при измерении при комнатной температуре.

6.2.5 Разбавители

6.2.5.1 Разбавитель для суспензии тест-микроорганизмов (раствор хлорида натрия с триптоном)

6.2.5.1.1 Состав

- панкреатический гидролизат казеина — 1,0 г;
- хлорид натрия — 8,5 г;
- вода — 1000 см^3.

6.2.5.1.2 Приготовление

Растворяют компоненты в воде, перемешивая во время нагревания. Разливают в подходящую посуду. Стерилизуют в автоклаве при температуре 121 °С в течение 15 мин. После стерилизации уровень pH должен составить 7,0 ± 0,2 при измерении его при комнатной температуре.

6.2.5.2 Физиологический раствор

6.2.5.2.1 Состав

- хлорид натрия — 9,0 г;
- вода — 1000 см^3.

6.2.5.2.2 Приготовление

Растворяют хлорид натрия в воде при перемешивании. Разливают в подходящую посуду. Стерилизуют в автоклаве при температуре 121 °С в течение 15 мин.

6.2.5.3 Раствор полисорбат-80

6.2.5.3.1 Состав

- полисорбат-80 — 0,5 г;
- вода — 1000 см^3.

6.2.5.3.2 Приготовление

Растворяют полисорбат-80 в воде, перемешивая во время нагревания. Разливают в подходящую посуду. Стерилизуют в автоклаве при температуре 121 °С в течение 15 мин.

6.3 Инструменты, лабораторное оборудование и стеклянная посуда

Лабораторное оборудование, инструменты и стеклянная посуда — в соответствии с ГОСТ ISO 21148.

6.3.1 Линейка-лекало для измерения зон задержки роста

Прозрачная линейка-лекало предназначена для измерения диаметра зон задержки роста на агаровых средах.

7 Штаммы микроорганизмов

Для определения антимикробной активности используются штаммы, представляющие как грамотрицательные, так и грамположительные бактерии, а также дрожжи:

- *Staphylococcus aureus* ATCC 6538[1)] (эквивалентный штамм: CIP[2)] 4.83, или NCIMB[3)] 9518, или NBRC[4)] 13276, или KCTC[5)] 1916, или другой эквивалентный штамм из национальной коллекции);
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 (эквивалентный штамм: CIP 82.118, или NCIMB 8626, или NBRC 13275, или KCTC 2513, или другой эквивалентный штамм из национальной коллекции).

Альтернативным грамотрицательным штаммом может быть *Escherichia coli* ATCC 8739 (эквивалентный штамм: CIP 53.126, или NCIMB 8545, или NBRC 3972, или KCTC 2571, или другой эквивалентный штамм из национальной коллекции);

- *Candida albicans* ATCC 10231 (эквивалентный штамм: IP 48.72, или NCPF 3179, или NBRC 1594, или KCTC 17205, или другой эквивалентный штамм из национальной коллекции).

Культуру следует восстановить в соответствии с процедурами, предоставленными поставщиком эталонного штамма. Штаммы можно хранить в лаборатории в соответствии с ГОСТ EN 12353 или другим подходящим методом.

8 Обращение с парфюмерно-косметической продукцией и пробами

Если продукцию необходимо хранить до проведения испытания, ее хранят при комнатной температуре. Не следует выдерживать в термостате, охлаждать или замораживать продукцию и пробы ни до, ни после испытания.

9 Методика

9.1 Общие положения

Подготовку пробы, приготовление исходных суспензий и разведений следует проводить с соблюдением правил асептики, используя стерильные материалы и оборудование.

До проведения испытания необходимо провести испытания продукции согласно ГОСТ ISO 21149 и ГОСТ ISO 16212 или ГОСТ ISO 18415. В случае если продукция не соответствует требованиям [1] по микробиологическим показателям безопасности, дальнейшие испытания не проводятся.

Подготовку пробы проводят в зависимости от вида испытуемой продукции.

Выбор методики проведения испытания зависит от вида продукции и ее способности растворяться в воде. Испытания водорастворимой продукции проводят согласно 9.4, окрашенной и/или водонерастворимой продукции — в соответствии с 9.5.

---

1) ATCC — American Type Culture Collection (Американская коллекция типовых культур (микроорганизмов)).

2) CIP — Institut Pasteur Collection (Коллекция института Пастера).

3) NCIMB — National Collection of Industrial and Marine Bacteria (Национальная коллекция промышленных и морских бактерий).

4) NBRC — National Biological Resource center (Национальный центр биологических исследований).

5) KCTC — Korean Collection for type culture (Корейская коллекция типовых культур).

9.2 Приготовление стандартизованных суспензий тест-микроорганизмов

9.2.1 Общие положения

Для улучшения повторяемости и воспроизводимости результатов для приготовления посевного материала микроорганизмов рекомендуется использовать третью (по крайней мере вторую) субкультуру, выращенную на агаризованной среде, полученную от культур, хранимых и приготовленных согласно ГОСТ EN 12353.

При использовании *Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus* субкультуры восстанавливают в течение 18—24 ч на среде TSA (см. 6.2.2.2).

При использовании *Candida albicans* пригодна первая или вторая субкультура, выращенная в течение 36—48 ч на SDA (см. 6.2.2.3).

9.2.2 Приготовление суспензий тест-микроорганизмов

Берут 10 $см^3$ разбавителя (6.2.5.1) и вносят в стерильную колбу вместимостью 100 $см^3$, содержащую 5 г стеклянных бусинок. Петлей переносят микроорганизмы, выращенные на агаризованной среде (см. 6.2.2.2, 6.2.2.3), в разбавитель. Микроорганизмы ресуспендируют в разбавителе путем погружения петли и трения ее о стенку колбы. Перемешивают содержимое колбы в течение 2—3 мин (используя вихревой смеситель/встряхивающее устройство). Удаляют верхнюю часть суспензии (избегая любого контакта со стеклянными бусинками) и переносят полученную суспензию в стерильную колбу (пробирку).

9.2.3 Стандартизация суспензий тест-микроорганизмов

Регулируют концентрацию тест-микроорганизмов в суспензии с использованием разбавителя (см. 6.2.5.1) согласно данным стандартизации, полученным в лаборатории (например, с помощью спектрофотометра (см. ГОСТ ISO 21148—2020, приложение С)) или с помощью стандартов мутности МакФарланда. Концентрация тест-микроорганизмов должна составлять $1 \cdot 10^8$ — $3 \cdot 10^8$ КОЕ/$см^3$ для бактерий и $1 \cdot 10^7$ — $3 \cdot 10^7$ КОЕ/$см^3$ для *Candida albicans*.

Стандартизованную суспензию тест-микроорганизмов используют в течение 2 ч.

При проведении испытаний проверяют исходную концентрацию тест-микроорганизмов в суспензии. Выполняют серию десятикратных разведений стандартизованной суспензии с помощью разбавителя (см. 6.2.5.1). Выполняют подсчет количества клеток после переноса 1 $см^3$ разведений в среду TSA для бактерий, в среду SDA для *Candida albicans* и инкубации при температуре (32,5 ± 2,5) °С в течение 24—48 ч.

9.3 Приготовление исходной суспензии и разведений пробы

9.3.1 Общие положения

Если испытуемая проба содержит консервант, необходимо использовать нейтрализаторы. Эффективность нейтрализации консерванта должна быть подтверждена до определения антимикробной активности продукции. Проверку эффективности нейтрализации антимикробного действия консерванта испытуемой пробы проводят в присутствии каждого тест-микроорганизма согласно ГОСТ ISO 11930 (пункт 5.5).

9.3.2 Приготовление исходной суспензии пробы

9.3.2.1 Приготовление исходной суспензии пробы жидкой продукции

Для приготовления исходной суспензии хорошо перемешанную пробу в количестве не менее 1,0 г или 1,0 $см^3$ вносят в 9 $см^3$ смеси физиологического раствора (см. 6.2.5.2) и раствора полисорбата-80 (см. 6.2.5.3), взятых в соотношении 1 : 1, и перемешивают.

9.3.2.2 Приготовление исходной суспензии пастообразной и твердой продукции

Приготовление исходной суспензии пастообразной и твердой испытуемой продукции зависит от ее способности смешиваться с водой.

9.3.2.2.1 Приготовление исходной суспензии пастообразной и твердой водорастворимой продукции

Для приготовления исходной суспензии хорошо перемешанную пробу в количестве не менее 1,0 г или 1,0 $см^3$ вносят в 9 $см^3$ смеси физиологического раствора (см. 6.2.5.2) и раствора полисорбата-80 (см. 6.2.5.3), взятых в соотношении 1 : 1, и перемешивают.

9.3.2.2.2 Приготовление исходной суспензии пастообразной и твердой водонерастворимой продукции

Не менее 1,0 г пробы смешивают с 0,5 г стерильного раствора полисорбата-80 (см. 6.2.5.3). Смесь нагревают на водяной бане или в термостате до температуры не выше 40 °С и осторожно перемешивают. При этом время нагрева не должно превышать 30 мин. Добавляют 8,5 $см^3$ предварительно

нагретого до температуры не выше 40 °С стерильного физиологического раствора (см. 6.2.5.2). Смесь осторожно перемешивают для получения гомогенной эмульсии, которую используют для проведения испытаний. Возможно использование других технических средств, методик гомогенизации с соблюдением правил асептики и режимов термостатирования.

9.3.2.3 Приготовление исходной суспензии твердого мыла

Не менее 1,0 г пробы мыла вносят в 9 $см^3$ смеси физиологического раствора (см. 6.2.5.2) и раствора полисорбата-80 (см. 6.2.5.3), взятых в соотношении 1 : 1, и перемешивают.

9.3.2.4 Приготовление исходной суспензии продукции на носителях

Для приготовления исходной суспензии продукции на носителях выжатую жидкость (см. 5.4) в количестве не менее 1,0 $см^3$ или 1,0 г вносят в 9 $см^3$ смеси физиологического раствора (см. 6.2.5.2) и раствора полисорбата-80 (см. 6.2.5.3), взятых в соотношении 1 : 1, и перемешивают.

9.3.2.5 Приготовление исходной суспензии продукции в аэрозольной упаковке

Приготовление исходной суспензии продукции в аэрозольной упаковке зависит от ее состава.

9.3.2.5.1 Приготовление исходной суспензии продукции в аэрозольной упаковке на основе спиртов и твердых веществ

Для приготовления исходной суспензии вносят не менее 1,0 г или 1,0 $см^3$ пробы (после испарения пропеллента) в 9 $см^3$ смеси физиологического раствора (см. 6.2.5.2) и раствора полисорбата-80 (см. 6.2.5.3), взятых в соотношении 1 : 1, и перемешивают.

9.3.2.5.2 Приготовление исходной суспензии продукции в аэрозольной упаковке на основе масел

Для приготовления исходной суспензии вносят не менее 1,0 г или 1,0 $см^3$ пробы (после испарения пропеллента) в 9 $см^3$ смеси физиологического раствора (см. 6.2.5.2) и раствора полисорбата-80 (см. 6.2.5.3), взятых в соотношении 1 : 1, и перемешивают. Смесь нагревают на водяной бане до температуры не выше 40 °С и энергично встряхивают до получения гомогенной эмульсии, которую используют для испытания.

9.3.3 Нейтрализация консерванта и приготовление разведений исходной суспензии

При необходимости нейтрализации консерванта до приготовления разведений к 1 $см^3$ исходной суспензии пробы прибавляют 9 $см^3$ нейтрализатора (см. 6.2.4). Инкубируют в течение 30 мин при комнатной температуре. Для дальнейших испытаний используют нейтрализованную исходную суспензию.

В стерильной посуде готовят последовательные двукратные разведения (1 : 2, 1 : 4 и 1 : 8) исходной суспензии в смеси физиологического раствора (см. 6.2.5.2) и раствора полисорбата-80 (см. 6.2.5.3), взятых в соотношении 1 : 1.

9.4 Проведение испытаний водорастворимой продукции

9.4.1 Процедура

Проводят испытания отдельно для каждого тест-микроорганизма.

Выполняют маркировку лабораторной посуды (пробирки, чашки Петри), указывая разведение исходной суспензии пробы и штамм микроорганизмов, а также маркируют пробирки для положительного и отрицательного контроля.

В маркированной пробирке смешивают по 0,5 $см^3$ исходной суспензии пробы и каждого ее разведения с 0,1 $см^3$ стандартизованной суспензии тест-микроорганизмов.

В маркированной пробирке для отрицательного контроля смешивают 0,5 $см^3$ разбавителя (смесь физиологического раствора (см. 6.2.5.2) и раствора полисорбата-80 (см. 6.2.5.3), взятых в соотношении 1 : 1), с 0,1 $см^3$ стандартизованной суспензии тест-микроорганизмов.

В маркированной пробирке для положительного контроля смешивают 0,5 $см^3$ 3 %-ной перекиси водорода с 0,1 $см^3$ стандартизованной суспензии тест-микроорганизмов.

Пробирки с исходной суспензией пробы, ее разведениями, пробирки для положительного и отрицательного контроля закрывают и помещают в термостат на 60 мин при (32,5 ± 2,5) °С.

После извлечения из термостата во все пробирки с исходной суспензией пробы, ее разведениями, пробирки для положительного и отрицательного контроля вносят по 0,1 $см^3$ раствора ТТХ (см. 6.2.3) и снова помещают в термостат на 3—4 ч при (32,5 ± 2,5) °С.

9.4.2 Учет и интерпретация результатов

Учет результатов следует начать с пробирки для положительного контроля. В данной пробирке цвет среды должен остаться неизменным. Отсутствие изменения цвета среды в пробирке для положительного контроля позволяет удостовериться в нормальном функционировании индикатора.

Затем фиксируют результат в пробирке для отрицательного контроля. В данной пробирке должно произойти изменение цвета среды, что свидетельствует о жизнеспособности тест-микроорганизмов.

После фиксации результатов в пробирках для положительного и отрицательного контроля необходимо последовательно оценить цвет среды в пробирках с исходной суспензией пробы и ее разведениями.

Фиксируют, произошло или нет изменение цвета среды. Отсутствие изменения цвета свидетельствует о подавлении жизнедеятельности тест-микроорганизмов и, следовательно, о наличии антимикробной активности пробы.

Окрашивание среды в красный или бордовый цвет свидетельствует о жизнеспособности микроорганизмов в пробе. Из всех проб, в которых было зафиксировано изменение цвета среды производят посев на следующие среды: декстрозный агар Сабуро (см. 6.2.2.3), агаризованную среду Левина с эозином и метиленовым голубым (см. 6.2.2.4), питательный агар с цетримидом (см. 6.2.2.5), агаризованную среду Байрд-Паркер (см. 6.2.2.6). На поверхность каждой среды стерильной пипеткой наносят пробу в количестве 0,1 $см^3$ и равномерно распределяют металлическим или стеклянным шпателем по поверхности. Чашки необходимо поместить в термостат при (32,5 ± 2,5) °С на 24—48 ч.

При наличии роста тест-микроорганизмов делается вывод об отсутствии антимикробной активности испытуемой пробы.

9.4.3 Критерии оценки антимикробной активности

Для оценки антимикробной активности парфюмерно-косметической продукции необходимо использовать следующие критерии:

- продукция обладает высоким уровнем антимикробной активности, если в исходной суспензии пробы и в ее разведениях не наблюдается жизнеспособность тест-микроорганизмов (не происходит изменение цвета среды);
- продукция обладает антимикробной активностью, если в исходной суспензии пробы не наблюдается жизнеспособность тест-микроорганизмов (не произошло изменение цвета среды), а хотя бы в одном из ее разведений отмечается жизнеспособность тест-микроорганизмов (произошло изменение цвета среды);
- продукция не обладает антимикробной активностью, если наблюдается жизнеспособность тест-микроорганизмов (произошло изменение цвета среды) как в разведениях, так и в исходной суспензии пробы.

9.5 Проведение испытаний нерастворимой в воде и/или окрашенной продукции

Для продукции, нерастворимой в воде, и/или окрашенной продукции (кремы, твердые мыла, помады и др.) необходимо использовать методику по 9.5.1 или 9.5.2.

Проводят испытания отдельно для каждого тест-микроорганизма.

9.5.1 Метод репликаций

9.5.1.1 Процедура

Выполняют маркировку лабораторной посуды (пробирки, чашки Петри), указывая разведение исходной суспензии пробы и штамм микроорганизма, а также маркируют пробирки и чашки Петри для контроля.

В стерильные чашки Петри согласно маркировке вносят по 1 $см^3$ исходной суспензии пробы, ее разведений. В чашки Петри для контроля вносят по 1 $см^3$ смеси физиологического раствора (см. 6.2.5.2) и раствора полисорбата-80 (см. 6.2.5.3), взятых в соотношении 1 : 1. В чашки Петри для контроля и в чашки Петри с исходной суспензией пробы, ее разведениями добавляют по 10—15 $см^3$ расплавленной и охлажденной до температуры (42,5 ± 2,5) °С среды TSA (см. 6.2.2.2) для бактериальных тест-культур, в другие — такое же количество среды SDA (см. 6.2.2.3) для *Candida albicans* и тщательно перемешивают. После застывания агара чашки подсушивают в термостате или ламинарном шкафу для удаления конденсата с поверхности среды, на которую затем бактериологической петлей, пипеткой или репликатором наносят стандартизованную суспензию каждого тест-микроорганизма в виде бляшек. Посевы на средах инкубируют при температуре (32,5 ± 2,5) °С в течение 24—48 ч.

9.5.1.2 Учет и интерпретация результатов

После окончания времени инкубации рассматривают посевы и отмечают наличие (отсутствие) типичного роста тест-микроорганизмов в чашках Петри для контроля (без испытуемой продукции) и в чашках Петри с исходной суспензией пробы и ее разведениями.

Наличие в чашках Петри с исходной суспензией и ее разведениями роста тест-микроорганизмов, аналогичного как в чашках Петри для контроля (без испытуемой продукции), обозначают знаком «+», отсутствие роста — знаком «–».

При наличии роста *Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus* и *Candida albicans* на питательных средах делают вывод об отсутствии антимикробного действия испытуемой продукции.

9.5.1.3 Критерии оценки антимикробной активности

Для оценки антимикробной активности продукции необходимо использовать следующие критерии:

- если отсутствует рост тест-микроорганизмов в чашках Петри с исходной суспензией и ее разведениями, продукция обладает высоким уровнем антимикробной активности;
- если отсутствует рост тест-микроорганизмов в чашках Петри с исходной суспензией пробы, а хотя бы в одной чашке Петри с ее разведением присутствует рост тест-микроорганизмов, то продукция обладает антимикробной активностью;
- если наблюдается рост тест-микроорганизмов в чашках Петри с исходной суспензией и ее разведениями, то у испытуемой продукции отсутствует антимикробная активность.

9.5.2 Метод диффузии в агар (метод лунок)

9.5.2.1 Процедура

Выполняют маркировку лабораторной посуды (пробирки, чашки Петри), указывая разведение исходной суспензии пробы и штамм микроорганизма, а также маркируют пробирки и чашки Петри для положительного и отрицательного контроля.

В чашки Петри, установленные на столиках со строго горизонтальной поверхностью, разливают в 2 слоя расплавленные питательные среды: приготовленные согласно 6.2.2.2 — для бактерий, согласно 6.2.2.3 — для *Candida albicans*. Для нижнего слоя используют стерильные незасеянные среды (5 $см^3$ на чашку Петри), для верхнего слоя — стерильную среду, предварительно засеянную соответствующим тест-микроорганизмом (в 5 $см^3$ среды, охлажденной до 49 °С, прибавляют 1 $см^3$ суспензии тест-микроорганизма, приготовленной и стандартизованной согласно 9.2.2 и 9.2.3). С помощью стерильного сверла либо другого соответствующего приспособления, в толще агара делают лунки диаметром от 6 до 8 мм.

В лунки чашек Петри вносят равные объемы (по 0,1 $см^3$) исходной суспензии пробы, ее разведений, 3 %-ной перекиси водорода (для положительного контроля) и смеси физиологического раствора (см. 6.2.5.2) и раствора полисорбата-80 (см. 6.2.5.3), взятых в соотношении 1 : 1 (для отрицательного контроля). Чашки Петри помещают в термостат при (32,5 ± 2,5) °С на 24—48 ч.

9.5.2.2 Учет результатов

Измеряют диаметр зоны задержки роста (ЗЗР) тест-микроорганизма вокруг лунок с помощью стандартной линейки-лекала.

Рассматривают чашки Петри для положительного и отрицательного контроля. Результаты испытания следует считать достоверными, если диаметр ЗЗР в чашке для положительного контроля не менее чем в 4 раза больше, чем диаметр лунки и в чашке для отрицательного контроля отсутствует ЗЗР. Результаты фиксируют.

После фиксации результатов в чашках для положительного и отрицательного контроля последовательно определяют ЗЗР вокруг лунок в чашках с исходной суспензией пробы и ее разведениями.

9.5.2.3 Критерии оценки антимикробной активности

Для оценки антимикробной активности продукции необходимо использовать следующие критерии:

- если ЗЗР присутствует в чашках Петри с исходной суспензией пробы и ее разведениями, то продукция обладает высоким уровнем антимикробной активности;
- если ЗЗР присутствует в чашках Петри с исходной суспензией, а хотя бы в одной чашке Петри с разведением пробы отсутствует, то продукция обладает антимикробной активностью;
- если ЗЗР отсутствует в чашках Петри как с разведениями, так и в чашках с исходной суспензией пробы, то у испытуемой продукции отсутствует антимикробная активность.

10 Протокол испытания

Протокол испытания должен содержать:

a) всю информацию, необходимую для полной идентификации продукции;

b) примененный метод;

c) полученные результаты;

d) любые детали, не указанные в настоящем стандарте или рассматриваемые как необязательные, вместе с подробностями, которые могут повлиять на полученные результаты.

Библиография

[1] Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 009/2011 О безопасности парфюмерно-косметической продукции

УДК 661:615,099:006.354 (083.74)(476) МКС 07.100.99; 71.100.70

Ключевые слова: парфюмерно-косметическая продукция, антимикробное действие, антибактериальное действие

Технический редактор *И.Е. Черепкова*
Корректор *И.А. Королева*
Компьютерная верстка *М.В. Малеевой*

Сдано в набор 19.09.2025. Подписано в печать 02.10.2025. Формат 60×84⅛. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 1,86. Уч.-изд. л. 1,58.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Создано в единичном исполнении в ФГБУ «Институт стандартизации»
для комплектования Федерального информационного фонда стандартов,
117418 Москва, Нахимовский пр-т, д. 31, к. 2.

gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru