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

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ ISO 21322— 2023

ПРОДУКЦИЯ ПАРФЮМЕРНО-КОСМЕТИЧЕСКАЯ

Микробиология. Проведение испытаний продукции на носителях

(ISO 21322:2020, Cosmetics — Microbiology — Testing of impregnated or coated wipes and masks, IDT)

Издание официальное

Москва
Российский институт стандартизации
2026

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 (протокол от 31 мая 2023 г. № 162-П)

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
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт
Узбекистан	UZ	Узбекское агентство по техническому регулированию

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 26 декабря 2025 г. № 1822-ст межгосударственный стандарт ГОСТ ISO 21322—2023 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июля 2026 г.

5 Настоящий стандарт идентичен международному стандарту ISO 21322:2020 «Косметика. Микробиология. Испытания пропитанных или покрытых салфеток и масок» («Cosmetics — Microbiology — Testing of impregnated or coated wipes and masks», IDT).

Наименование настоящего стандарта изменено относительно наименования указанного международного стандарта для увязки с наименованиями, принятыми в существующем комплексе межгосударственных стандартов.

Международный стандарт разработан Техническим комитетом ISO/TC 217 «Косметика» Международной организации по стандартизации (ISO).

При применении настоящего стандарта рекомендуется использовать вместо ссылочных международных стандартов соответствующие им межгосударственные стандарты, сведения о которых приведены в дополнительном приложении ДА

6 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»

© ISO, 2020
© Оформление. ФГБУ «Институт стандартизации», 2026



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 Нормативные ссылки 1
3 Термины и определения 2
4 Сущность метода 2
5 Разбавители, нейтрализаторы и питательные среды 4
6 Инструменты и стеклянная лабораторная посуда 4
7 Штаммы микроорганизмов 4
8 Обращение с парфюмерно-косметической продукцией и лабораторными пробами 5
9 Проведение испытаний 5
10 Представление результатов 8
11 Испытание на пригодность 8
12 Протокол испытания 8
Приложение А (обязательное) Указания по методам микробиологического контроля пропитанных или покрытых изделий (салфетки и маски) 9
Приложение В (справочное) Представление и интерпретация результатов 12
Приложение С (обязательное) Метод испытания на пригодность 17
Приложение ДА (справочное) Сведения о соответствии ссылочных международных стандартов межгосударственным стандартам 20
Библиография 21

Введение

По техническим причинам существующие стандарты по определению микробиологических показателей могут быть неприменимы к пропитанным и покрытым изделиям, таким как салфетки и маски, т. е. парфюмерно-косметической продукции на носителях, для которой не характерен прямой доступ к косметическому средству.

Исходя из формы выпуска и поставки такой продукции, имеется необходимость адаптировать существующие стандарты для оценки ее микробиологической чистоты.

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. Проведение испытаний продукции на носителях

Cosmetics
Microbiology
Carrying out tests of products on carriers

Дата введения — 2026—07—01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает требования к подсчету и/или обнаружению микроорганизмов, содержащихся в парфюмерно-косметической продукции на носителях, которая представляет собой пропитанный или покрытый носитель, т. е. салфетках и масках, поскольку отбор проб и проведение микробиологических испытаний такой изготовленной продукции имеют характерные особенности.

Принцип метода настоящего стандарта также может быть применен для испытаний аналогичной продукции (например, кушонов, спонжей с пропиткой и т. д.) или аппликаторов (например, кистей, пуховок, спонжей и т. д.) при соответствующем изменении методики.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты [для датированных ссылок применяют только указанное издание ссылочного стандарта, для недатированных — последнее издание (включая все изменения)]:

ISO 11930, Cosmetics — Microbiology — Evaluation of the antimicrobial protection of a cosmetic product (Продукция парфюмерно-косметическая. Микробиология. Оценка антимикробной защиты косметической продукции)

ISO 16212, Cosmetics — Microbiology — Enumeration of yeast and mould (Продукция парфюмерно-косметическая. Микробиология. Подсчет дрожжей и плесневых грибов)

ISO 18416, Cosmetics — Microbiology — Detection of Candida albicans (Продукция парфюмерно-косметическая. Микробиология. Обнаружение Candida albicans)

ISO 21148, Cosmetics — Microbiology — General instructions for microbiological examination (Продукция парфюмерно-косметическая. Микробиология. Общие требования к микробиологическому контролю)

ISO 21149, Cosmetics — Microbiology — Enumeration and detection of aerobic mesophilic bacteria (Продукция парфюмерно-косметическая. Микробиология. Подсчет и обнаружение мезофильных аэробных бактерий)

ISO 21150, Cosmetics — Microbiology — Detection of Escherichia coli (Продукция парфюмерно-косметическая. Микробиология. Обнаружение Escherichia coli)

ISO 22717, Cosmetics — Microbiology — Detection of Pseudomonas aeruginosa (Продукция парфюмерно-косметическая. Микробиология. Обнаружение Pseudomonas aeruginosa)

ISO 22718, Cosmetics — Microbiology — Detection of Staphylococcus aureus (Продукция парфюмерно-косметическая. Микробиология. Обнаружение Staphylococcus aureus)

Издание официальное

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями.

ISO и IEC ведут терминологические базы данных для использования в области стандартизации по следующим адресам:

- платформа онлайн-просмотра ISO: gost.e-ecolog.ru ;
- Электропедия IEC: gost.e-ecolog.ru .

3.1 **косметическое средство** (cosmetic formulation): Средство, предварительно изготовленное из ингредиентов с количественно и качественно определенным составом.

3.2 **парфюмерно-косметическая продукция** (cosmetic product): Изделия, представляющие собой косметическое средство (3.1) на носителе, которые прошли все этапы производства, включая упаковывание в конечную упаковку для отгрузки.

3.3 **пропитанное изделие** (impregnated product): Изделие, представляющее собой пропитанный косметическим средством носитель.

3.4 **покрытое изделие** (coated product): Изделие, представляющее собой носитель с адсорбированным косметическим средством.

3.5 **испытуемая проба** (test sample): Представительная единица парфюмерно-косметической продукции (3.2) для испытаний.

4 Сущность метода

4.1 Общие положения

Данный метод позволяет определить количество жизнеспособных микроорганизмов путем подсчета колоний на неселективной агаризованной среде и наличие или отсутствие роста специфических микроорганизмов после обогащения.

Метод включает следующие этапы:

- отбор испытуемой пробы;
- выбор соответствующего метода;
- извлечение микроорганизмов;
- подсчет количества жизнеспособных микроорганизмов методом фильтрации или методом чашечного подсчета;
- испытания на наличие специфических микроорганизмов методом обогащения.

Условия проведения эксперимента должны оцениваться для того, чтобы убедиться, что метод не влияет на жизнеспособность микроорганизмов и на извлечение бионагрузки из пробы, а также должны включать оценку эффективности нейтрализации (см. раздел 11).

С целью обеспечения качества и безопасности продукции для потребителей необходимо провести соответствующую оценку микробиологического риска, для того чтобы определить вид парфюмерно-косметической продукции, к которой применим настоящий стандарт (см. ISO 29621:2017 (таблица 2)).

Другие методы также могут применяться при условии, что их эквивалентность будет подтверждена.

4.2 Отбор испытуемой пробы

В тех случаях, когда это целесообразно, для испытаний следует использовать целое изделие массой не менее 1 г. Если по техническим причинам целое изделие не может быть испытано, используется определенная часть единицы изделия (UIP). UIP — это микробиологически представительная субъединица испытуемой пробы, на которую дается ссылка по тексту стандарта.

Если масса единицы изделия < 1 г, для получения соответствующей массы или объема следует отобрать требуемое количество единиц изделий.

Масса испытуемой пробы должна регистрироваться, даже если результаты представляются для единицы изделия.

Отбор испытуемой пробы должен проводиться в соответствии с разделом А.1.

4.3 Выбор метода

Метод должен выполняться согласно соответствующей процедуре, основанной на специфике продукции (размеры, объем, индивидуальная упаковка/групповая упаковка, уровень бионагрузки и т. д.), и должен гарантировать проведение оценки представительной выборки.

Выбор метода должен осуществляться в соответствии с разделами А.1 и А.2.

4.4 Извлечение микроорганизмов из испытуемой пробы

Количество микроорганизмов, находящихся на поверхности испытуемой пробы, зависит от количества микроорганизмов в косметическом средстве, которым пропитан или покрыт носитель салфетки или маски. Для отделения микроорганизмов от испытуемой пробы может потребоваться предварительная обработка.

Независимо от способа обработки должна проводиться проверка метода извлечения для подтверждения того, что с помощью данного метода можно отделить микроорганизмы от испытуемой пробы без отрицательного воздействия на их жизнеспособность (см. раздел 11).

4.5 Подсчет аэробных мезофильных микроорганизмов

4.5.1 Общие положения

Перечень аэробных мезофильных микроорганизмов включает бактерии, дрожжи и плесневые грибы.

Исходя из типа испытуемой пробы, объема разбавителя, используемого для погружения испытуемой пробы, и предполагаемого уровня бионагрузки, можно использовать два метода подсчета:

- метод чашечного подсчета;
- метод мембранной фильтрации.

4.5.2 Описание метода чашечного подсчета

Метод чашечного подсчета заключается в использовании либо метода глубинного посева, либо метода поверхностного посева.

Каждый метод включает следующие этапы:

- подготовку чашек с агаризованной средой и разбавителя с использованием неселективной агаризованной среды для посева разбавителя, в который была погружена проба;
- инкубацию посевов для подсчета и/или обнаружения;
- подсчет количества колониеобразующих единиц (КОЕ), исходя из количества извлеченных аэробных мезофильных микроорганизмов, в расчете на единицу или грамм изделия.

4.5.3 Описание метода мембранной фильтрации

Метод мембранной фильтрации включает следующие этапы:

- перенос разбавителя или определенного количества разбавителя, в который была погружена проба, в фильтровальный аппарат, смоченный небольшим объемом соответствующего стерильного разбавителя;
- после фильтрации и промывания перенос мембранного фильтра на поверхность чашек с неселективной агаризованной средой;
- инкубацию посевов в аэробной среде;
- подсчет КОЕ и вычисление количества аэробных мезофильных микроорганизмов в расчете на грамм или единицу изделия.

4.6 Обнаружение специфических микроорганизмов методом обогащения

Цель метода обогащения заключается в инкубации испытуемой пробы в неселективной питательной среде (бульоне) для увеличения количества микроорганизмов, присутствующих в испытуемой пробе.

Первый этап метода обогащения заключается в инкубации испытуемой пробы в неселективной питательной среде (бульоне) для увеличения количества микроорганизмов, присутствующих в испытуемой пробе.

Второй этап метода обогащения заключается в выделении специфических микроорганизмов, которые могут присутствовать в испытуемой пробе, с помощью селективной агаризованной среды с последующим проведением подтверждающих тестов для идентификации характерных колоний. См. ISO 18416, ISO 21150, ISO 22717 и ISO 22718.

5 Разбавители, нейтрализаторы и питательные среды

5.1 Общие положения

Разбавители, нейтрализаторы и питательные среды, которые пригодны для подсчета и обнаружения аэробных мезофильных микроорганизмов, указаны в ISO 11930, ISO 16212 и ISO 21149. Другие разбавители, нейтрализаторы и питательные среды могут также использоваться, если была подтверждена их пригодность.

Руководствуются общими указаниями, приведенными в ISO 21148. Если в настоящем стандарте упоминается вода, то необходимо использовать дистиллированную воду либо очищенную воду, как установлено в ISO 21148.

5.2 Разбавители и нейтрализаторы

Разбавитель используется для диспергирования пробы. Необходимо, чтобы он содержал нейтрализаторы, если испытуемая проба обладает антимикробными свойствами или содержит консервант. Эффективность нейтрализации должна быть подтверждена до начала определения количества микроорганизмов (см. раздел 11). Разбавители и нейтрализаторы должны соответствовать ISO 11930, ISO 16212, ISO 18416, ISO 21149, ISO 21150, ISO 22717 и ISO 22718.

5.3 Питательные среды

5.3.1 Питательные среды для подсчета и обнаружения

Питательные среды для подсчета и/или обнаружения должны соответствовать ISO 11930, ISO 16212, ISO 18416, ISO 21149, ISO 21150, ISO 22717 и ISO 22718.

5.3.2 Среда для приготовления спор *Bacillus subtilis*

См. С.1.3.1.

6 Инструменты и стеклянная лабораторная посуда

Лабораторное оборудование, инструменты и стеклянная лабораторная посуда должны соответствовать ISO 21148.

7 Штаммы микроорганизмов

Восстановление культуры должно осуществляться в соответствии с процедурами, установленными поставщиком эталонных штаммов. Штаммы могут сохраняться в лаборатории в соответствии с EN 12353 или в соответствии с другим пригодным методом.

Для испытаний на извлечение микроорганизмов на испытуемых пробах используются споры *Bacillus subtilis* ATCC[1)] 6633 (эквивалентный штамм: CIP[2)] 52.62, или NCIMB[3)] 8054, или NBRC[4)] 3134, или другой эквивалентный штамм из национальной коллекции).

Для определения эффективности нейтрализаторов используют два штамма представителей грамотрицательных и грамположительных бактерий и дрожжей:

- *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 (эквивалентный штамм: CIP 4.83, или NCIMB 9518, или NBRC 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).

В качестве альтернативного грамотрицательного штамма могут использоваться *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).

---

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).

- *Candida albicans* ATCC 10231 (эквивалентный штамм: IP 48.72, или NCPF[1)] 3179, или NBRC 1594, или KCTC 17205, или другой эквивалентный штамм из национальной коллекции).

8 Обращение с парфюмерно-косметической продукцией и лабораторными пробами

При необходимости продукцию, подлежащую испытаниям, хранят при комнатной температуре. Не следует инкубировать, охлаждать или замораживать продукцию и пробы ни до, ни после испытания. Отбор проб и испытания следует проводить согласно рекомендациям, приведенным в ISO 21148, а также в соответствии с методикой, приведенной в разделе 9.

9 Проведение испытаний

9.1 Общие рекомендации

Подготовку испытуемой пробы и разбавителя выполняют с использованием стерильного оборудования и с соблюдением правил асептики.

При приготовлении исходной суспензии время между окончанием приготовления испытуемой пробы и моментом внесения разбавителя исходной суспензии в питательную среду не должно превышать (30 ± 15) мин, если иное не установлено в утвержденных протоколах или документах.

Метод должен выполняться в соответствии с методикой, разработанной в ходе испытания на пригодность, для того чтобы обеспечить нейтрализацию потенциальных подавляющих эффектов (см. раздел 11) и гарантировать извлечение микроорганизмов.

9.2 Отбор и приготовление испытуемой пробы

9.2.1 Отбор испытуемой пробы

Испытуемая проба должна быть массой не менее 1 г.

Испытуемой пробой может быть либо единица изделия, либо несколько единиц изделий, если масса одной единицы менее 1 г, либо UIP (см. раздел А.1).

Записывают точную массу испытуемой пробы *S* и количество единиц изделий *n*.

Если для испытания используется UIP, записывают значение массы UIP испытуемой пробы (см. 4.2).

9.2.2 Приготовление исходной суспензии

Помещают испытуемую пробу (см. 9.2.1) в соответствующую лабораторную посуду с известным объемом разбавителя, определенным в ходе испытания на пригодность (см. раздел 11). Испытуемая проба должна быть полностью погружена в разбавитель.

Записывают значение V как объем используемого разбавителя.

9.3 Извлечение микроорганизмов

9.3.1 Общие положения

После погружения для извлечения микроорганизмов из испытуемой пробы можно использовать следующие виды обработки:

- обработку в гомогенизаторе;
- встряхивание/перемешивание;
- обработку в вихревой мешалке (см. раздел А.3).

Примечание — При необходимости записывают объем разбавителя после обработки в гомогенизаторе или встряхивания испытуемой пробы.

9.3.2 Обработка в гомогенизаторе

Приготавливают исходную суспензию, используя стерильный пакет для гомогенизации, который затем помещают его в гомогенизатор.

Следует действовать в соответствии с параметрами (время и скорость), указанными в испытании на пригодность (см. раздел 11).

Записывают время и скорость, при которых происходила обработка в гомогенизаторе.

[1)] NCPF — National Collection of Pathogenic Fungi (Национальная коллекция патогенных грибов).

9.3.3 Встряхивание/Перемешивание

Приготавливают исходную суспензию в соответствующем укупориваемом сосуде и перемешивают в соответствии с параметрами (продолжительность и частота), применяемыми при испытании на пригодность (см. раздел 11).

Для улучшения перемешивания продукции и извлечения микроорганизмов можно добавить стерильные стеклянные шарики.

Записывают время, частоту и скорость встряхивания/перемешивания, а также были ли добавлены стеклянные шарики.

9.4 Подсчет аэробных мезофильных микроорганизмов

9.4.1 Общие положения

Перечень аэробных мезофильных микроорганизмов включает бактерии, дрожжи и плесневые грибы.

Выбор метода зависит от объема разбавителя, используемого для приготовления исходной суспензии (см. раздел А.2).

Исходя из размеров испытуемой пробы, уровня бионагрузки и чувствительности метода, для подсчета используют весь разбавитель, в который погружается испытуемая проба, V или его часть Vd.

Обычно объем V или Vd разбавителя исходной суспензии представляет собой разведение, используемое для подсчета. Не требуется дальнейшего разбавления после первоначального приготовления.

Минимальный объем разбавителя должен быть эквивалентен по меньшей мере 1 г испытуемой пробы.

9.4.2 Метод глубинного посева

Используют соответствующее количество чашек Петри для правильной оценки объема разбавителя, необходимого для правильного погружения и переноса продукции, подлежащего посеву (V или Vd).

Разбавитель V разделяют на две части для работы: одна половина V/2 предназначена для подсчета бактерий, а вторая половина V/2 — для подсчета дрожжей и плесневых грибов.

Если подсчет проводится на части общего объема разбавителя Vd, две равные части объема Vd/2 должны быть высеяны: одна часть объема для бактерий и вторая часть объема для дрожжей и плесневых грибов.

Если используются чашки Петри диаметром от 85 до 100 мм, добавляют 1 мл разбавителя и заливают от 15 до 20 мл расплавленной агаризованной среды (как указано в ISO 21149 и ISO 16212), выдержанной на водяной бане при температуре, не превышающей 48 °С.

Если используются чашки Петри большего диаметра (140 мм в диаметре), добавляют не более 10 мл разбавителя в каждую чашку и соответствующее количество агаризованной среды, исходя из объема дозированного разбавителя.

Медленно смешивают внесенный разбавитель со средой, осторожно вращая или наклоняя чашки для равномерного распределения среды. Дают смеси в чашках Петри застыть на горизонтальной поверхности при комнатной температуре. Записывают объем разбавителя, внесенного в чашки Петри с каждой средой, V/2 или Vd/2.

9.4.3 Метод поверхностного посева

Используют соответствующее количество чашек Петри для правильной оценки объема разбавителя, необходимого для правильного погружения и переноса продукции, подлежащего посеву (V или Vd).

В чашки Петри диаметром от 85 до 100 мм заливают от 15 до 20 мл расплавленной агаризованной среды, которая выдерживалась на водяной бане при температуре не выше 48 °С. Если используются чашки Петри большего диаметра, объем среды соответственно увеличивается. Дают чашкам охладиться, среде застыть в них, разместив на горизонтальной поверхности при комнатной температуре.

Разбавитель V разделяют на две части для работы: одна половина V/2 предназначена для подсчета бактерий, а вторая половина V/2 предназначена для подсчета дрожжей и плесневых грибов.

Если подсчет проводится на части общего объема разбавителя Vd, две равные части объема Vd/2 должны быть высеяны: одна часть объема для бактерий и вторая часть объема для дрожжей и плесневых грибов.

Распределяют по поверхности среды отмеренный объем V или Vd, но не менее 0,1 мл исходной суспензии и/или разведения пробы, приготовленного как указано в разделе 11.

Записывают объем разбавителя, внесенного в чашки Петри с каждой средой, V/2 или Vd/2.

9.4.4 Метод мембранной фильтрации

Используют мембранные фильтры с номинальным размером пор не более 0,45 мкм.

Если весь разбавитель V фильтруется, то половина V/2 предназначена для подсчета бактерий, а вторая половина V/2 предназначена для подсчета дрожжей и плесневых грибов.

Если подсчет проводится на части объема разбавителя Vd, то две равные части объема Vd/2 должны быть отфильтрованы: одна для бактерий, а вторая для дрожжей и плесневых грибов.

Фильтруют объем разбавителя V/2, в который была погружена испытуемая проба, или часть объема Vd/2 через один из двух стерильных мембранных фильтров и промывают в соответствии с результатами испытания на пригодность (см. раздел 11).

Переносят мембранные фильтры на поверхность агаризованной среды в соответствии с ISO 21149 и ISO 16212.

Записывают объем разбавителя, отфильтрованного для каждой среды, V/2 или Vd/2.

9.4.5 Инкубация

Если не установлено иное, помещают инокулированные чашки в термостат с температурой (32,5 ± 2,5) °С на (72 ± 6) ч (бактерии) или температурой (25 ± 2,5) °С на 3—5 дней (дрожжи и плесневые грибы), в случае если антибиотик добавлен в среду. Если используется питательная среда без антибиотика, инкубируют при температуре (22,5 ± 2,5) °С в течение 5—7 дней.

9.4.6 Подсчет колоний

После инкубации подсчитывают колонии на каждой питательной среде (N_b для бактерий или N_{ym} для дрожжей и плесневых грибов) в пределах рекомендуемых числовых диапазонов (см. приложение В).

Если использовалось несколько чашек, определяют сумму колоний, подсчитанных на каждой чашке для каждой питательной среды.

Вычисляют количество бактерий N_b и количество дрожжей и плесневых грибов N_{ym}, присутствующих в объеме исследуемого разбавителя, высеянного или отфильтрованного для каждой среды (V/2 или Vd/2), следующим образом.

N_b или N_{ym} равно сумме колоний, полученных на чашках (метод чашечного подсчета), или количеству колоний, подсчитанных на одной чашке (метод фильтрации).

Проверяют, чтобы подсчеты были получены при экспериментальных условиях, применяемых в методике испытания на пригодность (см. раздел 11).

9.5 Обнаружение специфических микроорганизмов методом обогащения

9.5.1 Общие положения

Испытание на наличие специфических микроорганизмов включает обнаружение *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *E. coli* и *C. albicans*.

Принцип испытания заключается в обогащении в неселективной питательной среде (бульоне) с последующим выделением на селективной агаризованной среде и идентификацией характерных колоний.

Испытание можно проводить, используя всю испытуемую пробу или 1 г испытуемой пробы.

9.5.2 Испытание на наличие специфических микроорганизмов

9.5.2.1 Приготовление исходной суспензии в бульоне для обогащения

Исходную суспензию готовят путем переноса всей испытуемой пробы (см. 9.2) или 1 г испытуемой пробы в укупориваемый сосуд с соответствующим объемом бульона для обогащения, выбранного согласно методике, разработанной в ходе испытания на пригодность. (см. раздел 11). Испытуемая проба должна быть полностью погружена в бульон, а минимальное количество бульона, подвергаемого испытанию, должно быть эквивалентно по крайней мере 1 г испытуемой пробы. Записывают объем бульона для обогащения V, точную массу испытуемой пробы S, а также количество испытуемых единиц изделий *n* в случае необходимости.

9.5.2.2 Инкубация исходной суспензии

После извлечения микроорганизмов (см. 9.3) инкубируют исходную суспензию, приготовленную в бульоне (см. 9.5.2.1), при (32,5 ± 2,5) °С в течение не менее 20 ч и не более 72 ч.

9.5.2.3 Выделение

После инкубации, используя стерильную петлю, проводят посев штрихами аликвоты инкубированного бульона для обогащения на поверхность подходящей агаризованной среды для обнаружения.

Переворачивают чашки Петри вверх дном и инкубируют их при температуре (32,5 ± 2,5) °С в течение 48 —72 ч для получения выделенных колоний микроорганизмов в соответствии с ISO 21150, ISO 22717, ISO 22718 и ISO 18416.

9.5.2.4 Обнаружение специфических микроорганизмов

Рост характерных колоний указывает на возможное присутствие специфических микроорганизмов и необходимость проведения идентификации согласно ISO 21150, ISO 22717, ISO 22718 и ISO 18416.

10 Представление результатов

10.1 Подсчет аэробных мезофильных микроорганизмов

Вычислят общее количество бактерий NS_b и общее количество дрожжей и плесневых грибов NS_{ym}, присутствующих в единице измерения. Представление результатов приведено в приложении В.

Общее количество аэробных мезофильных микроорганизмов может быть приведено в КОЕ на единицу изделия ($NS_b + NS_{ym}$) или в КОЕ на г ($NS_b + NS_{ym}$)/S.

10.2 Обнаружение специфических микроорганизмов

Если идентификация колоний подтверждает наличие специфических микроорганизмов, то результат представляют как:

- «Наличие *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *E. coli* или *C. albicans* в испытуемой пробе S или 1 г испытуемой пробы».

Если роста после обогащения не наблюдается и/или если идентификация колоний не подтверждает наличие данного вида, то результат представляют как:

- «Отсутствие *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *E. coli* или *C. albicans* в испытуемой пробе S или в 1 г испытуемой пробы».

11 Испытание на пригодность

Пригодность метода испытания заключается в подтверждении того, что метод позволяет обнаружить жизнеспособные микроорганизмы и требует:

- подтверждения возможности метода извлекать микроорганизмы из испытуемой пробы;
- оценки влияния обработки испытуемой пробы на микроорганизмы;
- проверки эффективности нейтрализации.

Метод должен быть таким, как определено в приложении С.

12 Протокол испытания

Протокол испытания должен содержать:

a) всю информацию, необходимую для полной идентификации продукции;

b) описание используемого метода, включая испытания на пригодность, или ссылку на стандартную операционную процедуру;

c) полученные результаты;

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

Приложение А
(обязательное)

Указания по методам микробиологического контроля пропитанных или покрытых изделий (салфетки и маски)

А.1 Отбор испытуемой пробы

Отбор соответствующей испытуемой пробы может зависеть от многих факторов, таких как размеры, объем, тип продукции (салфетки или маски), упаковка (отдельные изделия или аналогичные изделия в групповой упаковке).

Для салфеток и масок в индивидуальной упаковке испытуемой пробой является целое изделие.

Для салфеток и масок в групповой упаковке испытуемой пробой является одна единица идентичных изделий.

Должно быть испытано как минимум одно изделие (салфетка или маска), за исключением следующих случаев:

- если по техническим причинам целое изделие не может быть испытано, для испытаний может быть использован определенный фрагмент единицы изделия (UIP). UIP — это микробиологически представительная субъединица испытуемой пробы. В этом случае следует обратить внимание на представительность UIP;
- в случае если масса единицы изделия составляет менее 1 г, то должно быть испытано достаточное количество изделий, масса которых составляет не менее 1 г.

Например:

- в случае упаковки салфеток единицей изделия является одна салфетка;
- для одноразовой маски для лица единицей изделия является целая маска;
- если масса изделия составляет 0,4 г, то испытываться должны как минимум 3 изделия.

А.2 Выбор метода подсчета для аэробных мезофильных микроорганизмов

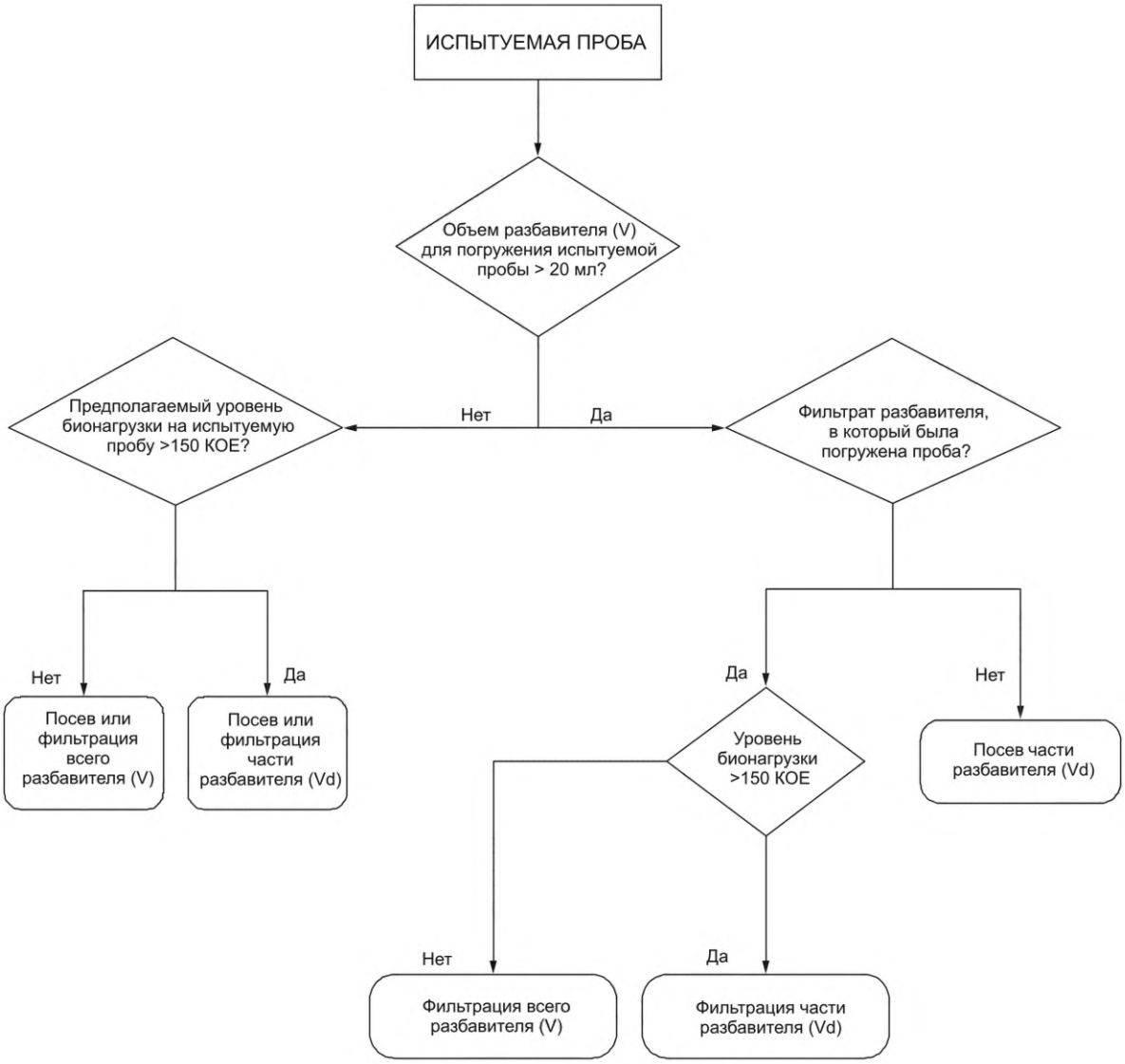
Выбор соответствующего метода подсчета может зависеть от объема разбавителя, необходимого для погружения испытуемой пробы, и уровня предполагаемой бионагрузки.

Для небольшого объема разбавителя (не более 20 мл) используют метод чашечного подсчета, а для большего объема разбавителя предпочтительнее метод мембранной фильтрации (см. схему).

Если предполагается высокий уровень бионагрузки, подсчет может проводиться для части объема разбавителя Vd.

Чувствительность метода должна обеспечивать достаточный запас ниже предельного значения, установленного техническими требованиями к продукции.

См. рисунок А.1.



Примечание — В случае если испытуемый объем составляет Vd, учитываются коэффициент разбавления, предельные значения метода, а также технические требования к продукции.

Рисунок А.1 — Блок-схема для выбора метода чашечного подсчета

А.3 Извлечение микроорганизмов

Учитывая, что степень адгезии микроорганизмов может зависеть от типа продукции, может потребоваться предварительная обработка для извлечения микроорганизмов. Обработка не должна влиять на жизнеспособность микроорганизмов.

Обработка может состоять из гомогенизации, встряхивания, перемешивания и/или обработки с помощью вихревой мешалки.

- Обработка в гомогенизаторе

Обработка в гомогенизаторе заключается в воздействии двойных возвратно-поступательных движений лопастей на пробу, содержащуюся внутри стерильного пакета, заставляющих элюент проникать через пробу для обеспечения надлежащего перемешивания.

Обработка в гомогенизаторе применима для мягких, волокнистых и/или абсорбирующих материалов, таких как салфетки, маски для лица, спонжи, пуховки и т. д. Она не подходит для любых материалов, которые могут проткнуть упаковку.

Продолжительность и скорость обработки в гомогенизаторе должна быть достаточной для отделения микроорганизмов от субстрата (см. раздел С.4).

- Встряхивание/перемешивание

Встряхивание или перемешивание заключается в перемешивании исходной суспензии с помощью механического встряхивателя путем возвратно-поступательного или орбитального воздействия. Вихревое перемешивание может также использоваться для небольших проб с ровными поверхностями.

Независимо от способа обработки необходимо провести проверку извлечения, подтвердив, что способ обработки позволяет извлечь микроорганизмы из испытуемой пробы (см. раздел 11).

Для улучшения извлечения можно добавить стерильные стеклянные шарики.

Продолжительность механического встряхивания должна быть достаточной для отделения микроорганизмов от носителя (см. раздел С.4).

А.4 Графическое представление методики микробиологического контроля салфеток и масок

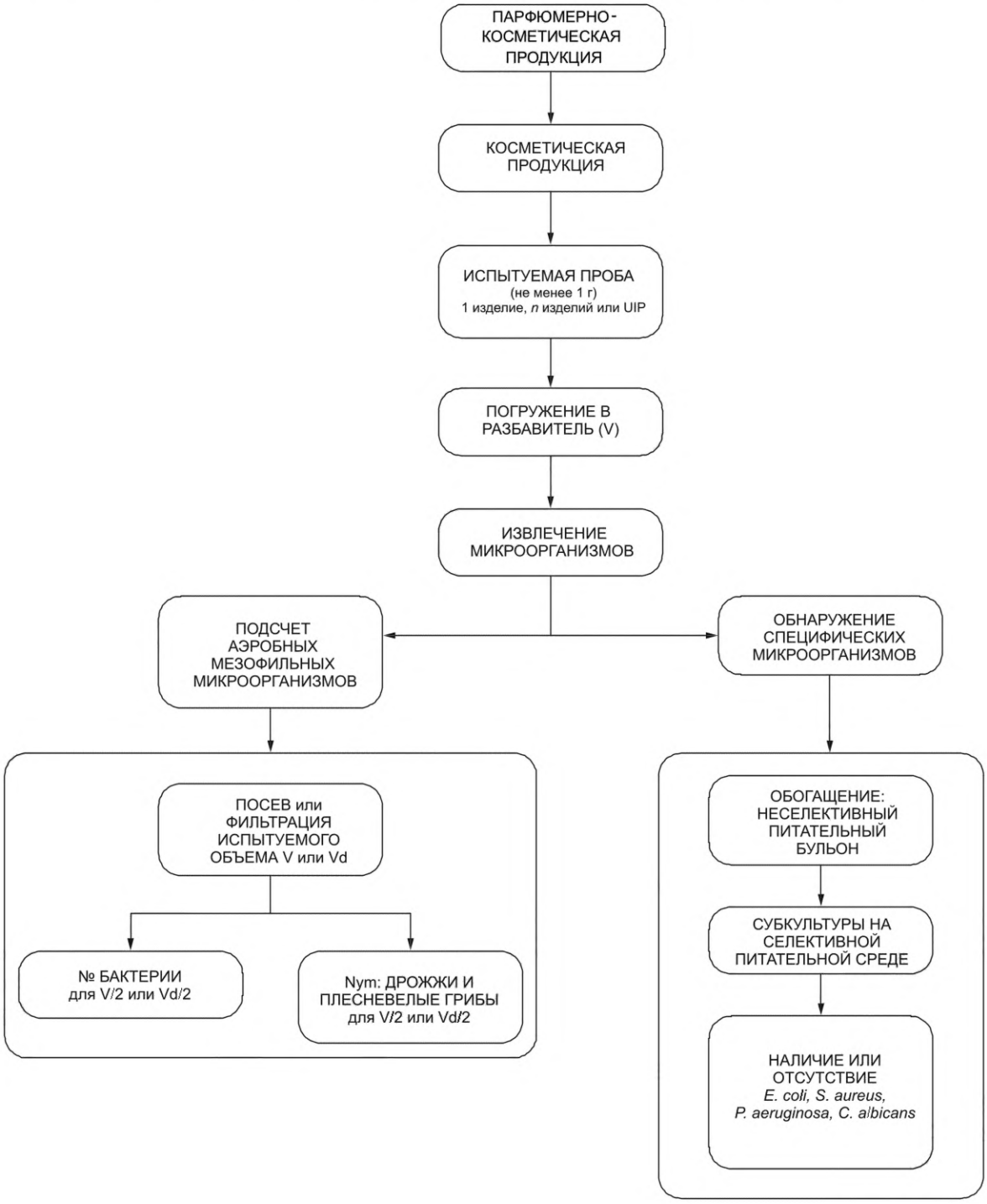


Рисунок А.2 — Процесс испытания

Приложение В
(справочное)

Представление и интерпретация результатов

В.1 Подсчет и представление результатов

После инкубации чашки, при возможности, должны быть сразу же исследованы. В противном случае они могут храниться, если не указано иное, не более 24 ч в холодильнике при температуре (5 ± 3) °С.

Примечание — В некоторых случаях, если существует вероятность того, что частицы продукции могут быть перепутаны с подсчитанными колониями, целесообразно подготовить дополнительные чашки, содержащие такое же разведение пробы и агаризованную среду, которые хранят в холодильнике для сравнения с инкубированными чашками.

В.1.1 Если количество КОЕ составляет от 1 до 300 на чашках с бактериями или от 1 до 150 на чашках с дрожжами и плесневыми грибами или с мембранными фильтрами, записывают количество колоний на чашках Петри и представляют результат следующим образом (КОЕ/изделие):

- если для приготовления исходной суспензии было использовано одно изделие и для посева использован весь объем разбавителя V:

NS_b равен $N_b \times 2$ и NS_{ym} равен $N_{ym} \times 2$;

- если для приготовления исходной суспензии было использовано одно изделие и для посева использована часть имеющегося объема разбавителя Vd:

NS_b равен $(N_b \times 2) \times (V/Vd)$ и NS_{ym} равен $(N_{ym} \times 2) \times (V/Vd)$;

- если для приготовления исходной суспензии была использована часть изделия и для посева использован весь объем разбавителя V:

NS_b равен $(N_b \times 2) \times (1/UIP)$ и NS_{ym} равен $(N_{ym} \times 2) \times (1/UIP)$;

- если для приготовления исходной суспензии была использована часть изделия и для посева использована часть имеющегося объема разбавителя Vd:

NS_b равен $(N_b \times 2) \times (V/Vd) \times (1/UIP)$ и NS_{ym} равен $(N_{ym} \times 2) \times (V/Vd) \times (1/UIP)$;

- если для приготовления исходной суспензии было использовано несколько изделий n и для посева использован весь объем разбавителя V:

NS_b равен $(N_b \times 2) \times (1/n)$ и NS_{ym} равен $(N_{ym} \times 2) \times (1/n)$;

- если для приготовления исходной суспензии было использовано несколько изделий n и для посева использована некоторая часть имеющегося объема разбавителя Vd:

NS_b равен $(N_b \times 2) \times (V/Vd) \times (1/n)$ и NS_{ym} равен $(N_{ym} \times 2) \times (V/Vd) \times (1/n)$.

Принимают во внимание вариабельность, которая свойственна методам чашечного подсчета, если количество КОЕ на чашках менее 30 для бактерий, менее 15 для дрожжей и плесневых грибов, а также при использовании метода мембранной фильтрации.

В.1.2 Если количество бактерий составляет более 300 на чашках или более 150 на мембранных фильтрах, а количество дрожжей и плесневых грибов N_{ym} составляет более 150 на чашках или мембранных фильтрах, результат представляют следующим образом (КОЕ/изделие):

- если для приготовления исходной суспензии было использовано одно изделие и для посева использован весь объем разбавителя V:

NS_b составляет более 300×2 или более чем 150×2 и NS_{ym} более 150×2;

- если для приготовления исходной суспензии было использовано одно изделие и для посева использована часть имеющегося объема разбавителя Vd:

NS_b составляет более $(300 \times 2) \times (V/Vd)$ или $(150 \times 2) \times (V/Vd)$ и NS_{ym} составляет более чем $(150 \times 2) \times (V/Vd)$;

- если для приготовления исходной суспензии была использована часть изделия и для посева использован весь объем разбавителя V:

NS_b составляет более $(300 \times 2) \times 1/UIP$ или $(150 \times 2) \times 1/UIP$ и NS_{ym} составляет более чем $(150 \times 2) \times (1/UIP)$;

- если для приготовления исходной суспензии была использована часть изделия и для посева использована часть имеющегося объема разбавителя Vd:

NS_b составляет более $(300 \times 2) \times (V/Vd) \times (1/UIP)$ или $(150 \times 2) \times (V/Vd) \times (1/UIP)$ и NS_{ym} более чем $(150 \times 2) \times (V/Vd) \times (1/UIP)$;

- если для приготовления исходной суспензии было использовано несколько изделий n и для посева использован весь объем разбавителя V:

NS_b составляет более $(300 \times 2) \times (1/n)$ или $(150 \times 2) \times (1/n)$ и NS_{ym} составляет более чем $(150 \times 2) \times (1/n)$;

- если для приготовления исходной суспензии было использовано несколько изделий n и для посева использована часть имеющегося объема разбавителя Vd:

NS_b составляет более $(300 \times 2) \times (V/Vd) \times (1/n)$ или $(150 \times 2) \times (V/Vd) \times (1/n)$ и NS_{ym} составляет более чем $(150 \times 2) \times (V/Vd) \times (1/n)$.

В.1.3 Если колонии не обнаружены, результат представляют следующим образом (КОЕ/изделие):

- если для приготовления исходной суспензии было использовано одно изделие и для посева использован весь объем разбавителя V:

NS_b или NS_{ym} составляет менее 2;

- если для приготовления исходной суспензии было использовано одно изделие и для посева использована часть имеющегося объема разбавителя Vd:

NS_b или NS_{ym} составляет менее 2 × (V/Vd);

- если для приготовления исходной суспензии была использована часть изделия и для посева использован весь объем разбавителя V:

NS_b или NS_{ym} составляет менее 2 × (1/UIP);

- если для приготовления исходной суспензии была использована часть изделия и для посева использована часть имеющегося объема разбавителя Vd:

NS_b или NS_{ym} составляет менее 2 × (V/Vd) × (1/UIP);

- если для приготовления исходной суспензии было использовано несколько изделий n и для посева использован весь объем разбавителя V:

NS_b или NS_{ym} составляет менее 2 × 1/n;

- если для приготовления исходной суспензии было использовано несколько изделий n и для посева использована часть имеющегося объема разбавителя Vd:

NS_b или NS_{ym} составляет менее 2 × (V/Vd) × (1/n).

Примечание — Общее количество аэробных мезофильных микроорганизмов может быть также выражено в КОЕ на г изделия (NS_b + NS_{ym})/S.

В.2 Примеры представления результатов. Чашечный подсчет. Метод глубинного посева

В.2.1 Обработка испытуемой пробы

Испытуемую пробу переносят в стерильный пакет для гомогенизации, содержащий разбавитель.

Испытуемая проба должна быть полностью погружена в разбавитель.

Пакет помещают в гомогенизатор на 3 мин при скорости 5.

После обработки в гомогенизаторе исходную суспензию встряхивают при комнатной температуре приблизительно в течение 10 мин.

В.2.2 Одноразовые маски для глаз. Испытуемая проба. 1 единица изделия

UIP = 1.

S = 1,5 г.

V = 20 мл.

V для бактерий = 10 мл и V для дрожжей и плесневых грибов = 10 мл.

Для каждой среды используют 10 чашек диаметром 90 мм.

Количество бактерий (на 10 чашек):	N_b = 34 КОЕ.
Количество дрожжей и плесневых грибов (на 10 чашек)	N_{ym} < 1 КОЕ.
Общее количество бактерий:	NS_b = 34 · 2 = 68 КОЕ/изделие.
Общее количество дрожжей и плесневых грибов:	NS_{ym} < 1 · 2 NS_{ym} < 2 КОЕ/изделие.

Количество аэробных мезофильных микроорганизмов составляет 68 КОЕ/единицу изделия или 45 КОЕ/г.

В.2.3 Упаковка салфеток. Испытуемая проба. 1/5 часть единицы изделия (испытуемая проба представляла собой большую влажную салфетку, поэтому была взвешена и испытана 1/5 часть салфетки)

UIP = 0,2.

S = 6 г.

V = 20 мл.

V для бактерий = 10 мл и V для дрожжей и плесневых грибов = 10 мл.

Количество бактерий:	N_b < 1 КОЕ.
Количество дрожжей и плесневых грибов:	N_{ym} < 1 КОЕ.
Общее количество бактерий:	NS_b < (1 · 2) · (1/0,2). NS_b < 10 КОЕ/изделие.
Общее количество дрожжей и плесневых грибов NS_{ym}:	< (1 · 2) · (1/0,2) NS_{ym} < 10 КОЕ/изделие.

Количество аэробных мезофильных микроорганизмов составляет < 10 КОЕ/единицу изделия или < 2 КОЕ/г.

В.2.4 Одноразовая маска для лица. Испытуемая проба. ½ часть единицы изделия

UIP = 0,5.
S = 8 г (косметическое средство и носитель).
V = 50 мл.
Vd = 20 мл.
V/Vd = 50/20.
Vd для бактерий = 10 мл и Vd для дрожжей и плесневых грибов = 10 мл.

Количество бактерий:	N_b = 6 КОЕ.
Количество дрожжей и плесневых грибов:	N_{ym} < 1 КОЕ.
Общее количество бактерий:	NS_b (6 · 2) · (50/20) · (1/0,5) = 60 КОЕ/изделие.
Общее количество дрожжей и плесневых грибов:	NS_{ym} < (1 · 2) · (50/20) · (1/0,5) NS_{ym} < 10 КОЕ/изделие.

Количество аэробных мезофильных микроорганизмов составляет 60 КОЕ/единицу изделия или 8 КОЕ/г.

В.2.5 Одноразовая маска для глаз. Испытуемая проба. 2 единицы изделия (масса одного изделия составляет менее 1 г)

n = 2.
S = 1,5 г.
V = 20 мл.
V для бактерий = 10 мл и V для дрожжей и плесневых грибов = 10 мл.

Количество бактерий:	N_b = 30 КОЕ.
Количество дрожжей и плесневых грибов:	N_{ym} < 1 КОЕ.
Общее количество бактерий:	NS_b (30 · 2) · (1/2) = 30 КОЕ/изделие.
Общее количество дрожжей и плесневых грибов:	NS_{ym} < (1 · 2) · (1/2) NS_{ym} < 1 КОЕ/изделие.

Количество аэробных мезофильных микроорганизмов составляет 30 КОЕ/единицу изделия или 40 КОЕ/г.

В.2.6 Одноразовая маска для лица. Испытуемая проба. 1 единица изделия

UIP = 1.
S = 5,42 г.
V = 100 мл.
Vd = 20 мл.
V/Vd = 100/20.
Vd для бактерий = 10 мл и Vd для дрожжей и плесневых грибов = 10 мл.

Количество бактерий:	N_b = 15 КОЕ.
Количество дрожжей и плесневых грибов:	N_{ym} < 1 КОЕ.
Общее количество бактерий:	NS_b (15 · 2) · (100/20) = 150 КОЕ/изделие.
Общее количество дрожжей и плесневых грибов:	NS_{ym} < (1 · 2) · (100/20) NS_{ym} < 10 КОЕ/изделие.

Количество аэробных мезофильных микроорганизмов составляет < 150 КОЕ/единицу изделия или 28 КОЕ/г.

В.3 Примеры представления результатов. Метод мембранной фильтрации с подсчетом чашек

В.3.1 Обработка испытуемой пробы

Испытуемую пробу переносят в стерильный пакет для гомогенизации, содержащий разбавитель.

Испытуемая проба должна быть полностью погружена в разбавитель. Пакет помещают в гомогенизатор на 3 мин при скорости 5.

После обработки в гомогенизаторе исходную суспензию встряхивают при комнатной температуре приблизительно в течение 10 мин.

В.3.2 Упаковка салфеток. Испытуемая проба. 1 единица изделия

UIP = 1.
S = 5,42 г (косметическое средство и носитель).
V = 100 мл.
V для бактерий = 50 мл и V для дрожжей и плесневых грибов = 50 мл.

Количество бактерий: N_b = 108 КОЕ.
Количество дрожжей и плесневых грибов: N_{ym} < 1 КОЕ.
Общее количество бактерий: NS_b 108 · 2 = 216 КОЕ/изделие.
Общее количество дрожжей и плесневых грибов: NS_{ym} < 1 · 2
NS_{ym} < 2 КОЕ/изделие.

Количество аэробных мезофильных микроорганизмов составляет 216 КОЕ/единицу изделия или 40 КОЕ/г.

В.3.3 Одноразовая маска для лица. Испытуемая проба. 1/2 часть единицы изделия

UIP = 0,5.
S = 20 г (косметическое средство и носитель).
V = 100 мл.
V для бактерий = 50 мл и V для дрожжей и плесневых грибов = 50 мл.

Количество бактерий: N_b < 1 КОЕ.
Количество бактерий и плесневых грибов: N_{ym} < 1 КОЕ.
Общее количество бактерий: NS_b < (1 · 2) · (1/0,5).
NS_b < 4 КОЕ/изделие.
Общее количество дрожжей и плесневых грибов: NS_{ym} < (1 · 2) · (1/0,5)
NS_{ym} < 4 КОЕ/изделие.

Количество аэробных мезофильных микроорганизмов составляет < 4 КОЕ/единицу изделия или < 0,2 КОЕ/г.

В.3.4 Одноразовая маска для глаз. Испытуемая проба. 2 единицы изделия (масса каждого изделия составляет менее 1 г)

n = 2.
S = 1,5 г (косметическое средство и носитель).
V = 50 мл.
Vd = 20 мл (для данного примера в качестве представительной аликвоты было использовано 20 мл).
Vd для бактерий = 10 мл и Vd для дрожжей и плесневых грибов = 10 мл.
V/Vd = 50/20.

Количество бактерий: N_b = 30 КОЕ.
Количество дрожжей и плесневых грибов: N_{ym} < 1 КОЕ.
Общее количество бактерий: NS_b (30 · 2) · (50/20)/2 = 75 КОЕ/изделие.
Общее количество дрожжей и плесневых грибов: NS_{ym} < (1 · 2) · (50/20)/2
NS_{ym} < 2,5 КОЕ/изделие.

Количество аэробных мезофильных микроорганизмов составляет 75 КОЕ/единицу изделия или 100 КОЕ/г согласно формуле (В.1):

(75 КОЕ/изделие) · (2 единицы)/1,5 г = 100 КОЕ/г. (В.1)

В.3.5 Одноразовая маска для лица. Испытуемая проба. 1 единица изделия

UIP = 1.
S = 20 г (косметическое средство и носитель).
V = 100 мл.
V для бактерий = 50 мл и V для дрожжей и плесневых грибов = 50 мл.

Количество бактерий: N_b < 1 КОЕ.
Количество дрожжей и плесневых грибов: N_{ym} < 1 КОЕ.
Общее количество бактерий: NS_b < 1 · 2.
NS_b < 2 КОЕ/изделие.
Общее количество дрожжей и плесневых грибов: NS_{ym} < 1 · 2
NS_{ym} < 2 КОЕ/изделие.

Количество аэробных мезофильных микроорганизмов составляет < 2 КОЕ/единицу изделия или < 0,1 КОЕ/г на основе формулы (В.2):

(< 2 КОЕ/изделие) · (1 единица)/20 г = <0,1 КОЕ/г. (В.2)

B.3.6 Одноразовая маска для лица. Испытуемая проба. 1/2 часть единицы изделия

UIP = 0,5.
S = 28 г.
V = 100 мл.
Vd = 50 мл (для данного примера в качестве представительной аликвоты было использовано 50 мл)
Vd для бактерий = 25 мл и Vd для дрожжей и плесневых грибов = 25 мл.
V/Vd = 100/50.

Количество бактерий:	N_b = 38 КОЕ.
Количество дрожжей и плесневых грибов:	N_{ym} < 1 КОЕ.
Общее количество бактерий:	NS_b (38 · 2) · (100/50) · (1/0,5) = 304 КОЕ/изделие.
Общее количество дрожжей и плесневых грибов:	NS_{ym} < (1 · 2) · (100/50) · (1/0,5) NS_{ym} < 8 КОЕ/изделие.

Количество аэробных мезофильных микроорганизмов составляет 304 КОЕ/единицу изделия или 11 КОЕ/г.

Приложение С
(обязательное)

Метод испытания на пригодность

С.1 Приготовление инокулята

С.1.1 Бактерии

Перед проведением испытаний каждым штаммом засевают поверхность соево-казеиновой агаризованной среды (SCDA) или другой подходящей среды. Инкубируют при температуре (32,5 ± 2,5) °С в течение 18—24 ч. Собирают бактериальную культуру, используя стерильную петлю, наносят штрихи по поверхности культуры и суспендируют в разбавителе для приготовления бактериальных суспензий (см. ISO 21149) для получения стандартной суспензии с концентрацией около $1 \cdot 10^8$ КОЕ/мл (например, используя спектрофотометр (см. ISO 21148:2017 (приложение С)).

Используют данную суспензию и ее разведения в течение 2 ч.

С.1.2 *Candida albicans*

Перед проведением испытаний засевают поверхность агара Сабуро с глюкозой (SDA) или другой подходящей среды.

Инкубируют чашки при температуре (32,5 ± 2,5) °С в течение18—24 ч.

Собирают культуру, используя стерильную петлю, наносят штрихи по поверхности культуры и суспендируют в разбавителе (см. ISO 18416) для приготовления стандартной суспензии концентрацией около $1 \cdot 10^6$ КОЕ/мл (например, используя спектрофотометр (см. ISO 21148:2017 (приложение С)). Используют стандартную суспензию и ее разведения в течение 2 ч.

С.1.3 Приготовление спор *Bacillus subtilis*

С.1.3.1 Питательные среды

С.1.3.1.1 Триптон соевый агар (TSA) или соево-казеиновый агар (SCDA)

Панкреатический гидролизат казеина 15,0 г.

Папаиновый гидролизат соевых бобов 5,0 г.

Хлорид натрия 5,0 г.

Агар 15,0 г.

Вода 1 000 мл.

Разливают в подходящие колбы. После стерилизации pH среды должен быть равен (7,3 ± 0,2) при измерении при комнатной температуре.

С.1.3.1.2 Глюкозо-пептонный агар с мясным и дрожжевым экстрактами

Глюкоза 1,0 г.

Мясной пептон 6,0 г.

Казеиновый пептон 4,0 г.

Мясной экстракт 1,5 г.

Дрожжевой экстракт 3,0 г.

Агар 15,0 г.

Вода 1 000 мл.

Разливают в подходящие колбы. После стерилизации pH среды должен быть равен 6,5—6,6 при измерении при комнатной температуре.

С.1.3.1.3 Питательный агар с 0,3 % сульфата марганца (II)

Панкреатический гидролизат казеина 15,0 г.

Папаиновый гидролизат соевых бобов 5,0 г.

Хлорид натрия 5,0 г.

Агар 15,0 г.

Сульфат марганца 3,0 г.

Вода 1 000 мл.

Разливают в подходящие колбы. После стерилизации pH среды должен быть равен (7,3 ± 0,2) при измерении при комнатной температуре.

С.1.3.1.4 Агар с пептоном, мясным экстрактом и хлоридом натрия

Пептон 10,0 г.

Мясной экстракт 5,0 г.

Хлорид натрия 2,5 г.

Агар 15,0 г.

Вода 1 000 мл.

Разливают в подходящие колбы. После стерилизации pH среды должен быть равен 6,5—6,6 при измерении при комнатной температуре.

Питательные среды могут быть приготовлены согласно С.1.3.1 или из сухой питательной среды в соответствии с инструкциями изготовителя. Готовые к использованию среды могут быть использованы, если их состав и/или ростовые свойства сопоставимы с составом и ростовыми свойствами сред, приготовленных согласно рецептурам, приведенным в С.1.3.1.

С.1.3.2 Приготовление суспензии спор

Приготовление суспензии спор должно осуществляться в соответствии с одним из следующих или другим подходящим методом.

С.1.3.2.1 Засевают приблизительно 10^6 спор на питательном агаре, содержащим 0,3 % сульфата марганца (II) (см. С.1.3.1.3).

Инкубируют чашки при температуре от 30 °С до 35 °С в течение 7—10 дней.

После третьего дня инкубации обращают внимание на состояние культуры под микроскопом, предпочтительно фазово-контрастного типа. Если спорообразование не началось, процедуру лучше начать сначала.

В противном случае продолжают инкубацию до тех пор, пока 80 % вегетативных клеток не начнут образовывать споры.

По окончании инкубации наблюдают за состоянием культуры под микроскопом и проверяют, чтобы не менее 80 % вегетативных клеток образовали споры. Смывают поверхность агаризованной среды стерильной очищенной водой.

Нагревают суспензию при температуре 70 °С в течение 30 мин.

Разбавляют стерильной водой для получения концентрации спор от 10^7 до 10^8 спор/мл.

Определяют титр спор на соево-казеиновом агаре (см. С.1.3.1.1) после соответствующего разведения в воде.

Инкубируют чашки в течение 72 ч при температуре от 30 °С до 35 °С.

Хранят данную суспензию спор в стерильном укупоренном сосуде при температуре от 2 °С до 8 °С.

С.1.3.2.2 Засевают тест-микроорганизмы на скошенный агар или чашку с агаризованной средой, указанной в С.1.3.1.2. Инкубируют при температуре от 32 °С до 37 °С в течение 16—24 ч. Засевают субкультивированные тест-микроорганизмы на соответствующий объем скошенного агара или чашки с агаризованной средой, указанной в С.1.3.1.4.

Затем инкубируют при температуре от 32 °С до 37 °С в течение не менее 1 нед для подготовки спор.

После инкубации суспендируют споры стерильной очищенной водой или стерильным физиологическим раствором.

Нагревают суспензию при температуре от 65 °С до 70 °С в течение 30 мин.

Наблюдают за состоянием культуры под микроскопом (предпочтительно фазово-контрастного типа) и проверяют на спорообразование вегетативных клеток. При необходимости центрифугируют культуру, промывают осадок спор с помощью центрифугирования, повторно суспендируют осадок спор и снова нагревают.

Для определения количества спор в концентрированной суспензии готовят последовательные десятикратные разведения суспензии спор в стерильной воде или стерильном физиологическом растворе и проводят подсчет на агаризованной среде, указанной в С.1.3.1.1.

Инкубируют чашки в течение 24—48 ч при температуре (32,5 ± 2,5) °С. Для более подробной методики подсчета см. другие стандартизованные методы (например, ISO 21149).

Хранят данную суспензию спор в стерильном укупоренном сосуде при температуре, не превышающей 5 °С.

С.2 Извлечение бионагрузки

Цель данного испытания — доказать, что выбранный метод подтверждает извлечение микроорганизмов из испытуемой пробы и позволяет количественно их определить.

Это испытание проводится со спорами *Bacillus subtilis*, выбранными потому, что споры являются более устойчивыми, чем вегетативные бактерии.

Испытуемую пробу инокулируют 10 каплями по 10 мкл разбавленной стандартной суспензии, содержащей около 10^3 спор *Bacillus subtilis* на мл, равномерно распределенных по всей испытуемой пробе, для того чтобы получить приблизительно 10^2 спор на испытуемой пробе.

Контроль теоретического количества инокулированных спор N осуществляется путем посева на триптон соевый агар (TSA). См. ISO 21149.

После посева подготавливают исходную суспензию в условиях, выбранных для испытания (см. 9.2).

После извлечения микроорганизмов (см. 9.3) применяется методика, описанная в 9.4, путем посева или фильтрации.

После инкубации в течение 3—5 дней при температуре (32,5 ± 2,5) °С подсчитывают количество спор в соответствии с определенным методом подсчета для бактерий (см. 9.4).

С.3 Нейтрализация антимикробных свойств продукции

С.3.1 Общие положения

Цель данного испытания — доказать, что выбранный метод обеспечивает рост микроорганизмов в условиях эксперимента и обработка пробы не влияет на их жизнеспособность.

Данное испытание должно проводиться для методов подсчета и обогащения с использованием трех штаммов:

- *P. aeruginosa, S. aureus* и *C. albicans.*

С.3.2 Метод подсчета

Для каждого штамма подготавливают исходную суспензию испытуемой пробы в условиях, выбранных для испытания (см. 9.2).

Исходная суспензия засевается 1 мл разбавленной стандартной суспензии, содержащей около 100 КОЕ.

Контроль теоретического количества инокулированных микроорганизмов N осуществляется путем посева на TSA (бактерии) или SDA (*C. albicans*).

После извлечения микроорганизмов из испытуемой пробы проводят испытания согласно 9.4.

После инкубации подсчитывают колонии Nn.

С.3.3 Метод обогащения

Для каждого штамма подготавливают исходную суспензию испытуемой пробы в условиях, выбранных для испытания (см. 9.2).

Перед извлечением микроорганизмов засевают исходную суспензию 100 мкл стандартной суспензии микроорганизмов, содержащей от 100 до 500 КОЕ/мл.

Проводят испытания согласно 9.5.2.

После инкубации и субкультивирования на подходящей селективной агаризованной среде наблюдают рост характерных колоний.

С.4 Представление результатов

С.4.1 Извлечение бионагрузки

Подсчитывают количество спор в инокулированной испытуемой пробе Nr и представляют результаты в процентах извлечения *R* в соответствии с формулой (С.1):

$$R = (Nr/N) \cdot 100. \quad (C.1)$$

Метод применим, если процент извлечения выше 50 %.

Если процент извлечения ниже 50 %, необходимо модифицировать метод обработки пробы.

Тем не менее, если вышеуказанные критерии не могут быть выполнены, выбираются условия испытания, которые наиболее близкие к критериям, и для подсчета количества аэробных мезофильных микроорганизмов применяется поправочный коэффициент (1/*R*).

Поправка представляет собой числовое значение, применяемое для того, чтобы скорректировать неполное удаление микроорганизмов из испытуемой пробы.

С.4.2 Нейтрализация антимикробных свойств продукции

С.4.2.1 Метод подсчета

После инкубации и подсчета колоний Nn результаты представляются для каждого испытуемого штамма в процентах извлечения *R* согласно формуле (С.2):

$$R = (Nr/N) \cdot 100. \quad (C.2)$$

Метод применим, если процент извлечения выше 50 % для каждого испытуемого штамма.

С.4.2.2 Метод обогащения

Метод применим, если наблюдается характерный рост *S. aureus, P. aeruginosa* и *C. albicans*, а стандартная суспензия микроорганизмов содержит от 100 до 500 КОЕ/мл.

Приложение ДА
(справочное)

Сведения о соответствии ссылочных международных стандартов межгосударственным стандартам

Таблица ДА.1

Обозначение ссылочного международного стандарта	Степень соответствия	Обозначение и наименование соответствующего межгосударственного стандарта
ISO 11930	IDT	ГОСТ ISO 11930—2014 «Продукция косметическая. Микробиология. Оценка антимикробной защиты косметической продукции» (ISO 11930:2012)
ISO 16212	IDT	ГОСТ ISO 16212—2020 «Продукция парфюмерно-косметическая. Микробиология. Подсчет дрожжей и плесневых грибов» (ISO 16212:2017)
ISO 18416	IDT	ГОСТ ISO 18416—2018 «Продукция парфюмерно-косметическая. Микробиология. Обнаружение Candida albicans» (ISO 18416:2015)
ISO 21148	IDT	ГОСТ ISO 21148—2020 «Продукция парфюмерно-косметическая. Микробиология. Общие требования к микробиологическому контролю» (ISO 21148:2017)
ISO 21149	IDT	ГОСТ ISO 21149—2020 «Продукция парфюмерно-косметическая. Микробиология. Подсчет и обнаружение мезофильных аэробных бактерий» (ISO 21149:2017)
ISO 21150	IDT	ГОСТ ISO 21150—2018 «Продукция парфюмерно-косметическая. Микробиология. Обнаружение Escherichia coli» (ISO 21150:2015)
ISO 22717	IDT	ГОСТ ISO 22717—2018 «Продукция парфюмерно-косметическая. Микробиология. Обнаружение Pseudomonas aeruginosa» (ISO 22717:2015)
ISO 22718	IDT	ГОСТ ISO 22718—2018 «Продукция парфюмерно-косметическая. Микробиология. Обнаружение Staphylococcus aureus» (ISO 22718:2015)
Примечание — В настоящей таблице использовано следующее условное обозначение степени соответствия стандартов: - IDT — идентичные стандарты.		

Библиография

[1] ISO 17516[1)] Cosmetics — Microbiology — Microbiological limits (Косметика. Микробиология. Микробиологические нормы)

[2] ISO 18415[2)] Cosmetics — Microbiology — Detection of specified and non-specified microorganisms (Косметика. Микробиология. Обнаружение специфических и неспецифических микроорганизмов)

[3] ISO 29621[3)] Cosmetics — Microbiology — Guidelines for the risk assessment and identification of microbiologically low-risk products (Косметика. Микробиология. Руководящие указания по оценке риска и идентификации продуктов с микробиологически низким риском)

[4] Applied Microbiology, Aug. 1972, p. 178—178, Vol. 24, N° 2. Stomaching: A new concept in bacteriological sample preparation, A.N. SHARPE and A.K. JACKSON (Обработка в гомогенизаторе: Новая концепция в подготовке бактериологических проб)

[5] Applied Microbiology, Aug. 1972, p. 178—178, Vol. 24, N° 2, Stomaching: A new concept in bacteriological sample preparation, A.N. SHARPE and A.K. JACKSON (Эффективность гомогенизатора в лаборатории микробиологического контроля)

[6] Handbook of Microbiological Quality Control. Pharmaceuticals and Medical Devices, Edited by Rosamund M. Baird, Norman A. Hodges and Stephen P. Denyer 2000 (Справочник по микробиологическому контролю качества фармацевтических препаратов и медицинских изделий)

[7] J. Sci. Res. 4 (2), 523—527 (2012). Incidence of Human Skin Pathogens from Cosmetic Tools used in Beauty Saloons from Different Areas of Lahore, Pakistan, S. Naz, M. Iqtedar, Q. ul Ain, K. Aftab (Частота обнаружения возбудителей заболеваний кожи человека на косметических инструментах, используемых в салонах красоты из разных районов Лахора, Пакистан)

[8] LAVOISIER 2010. Surveillance Sanitaire et Microbiologique des eaux — 2ème édition, DELARRAS Camille (Санитарно-микробиологический мониторинг вод)

[9] NF EN 16437, March 2014. Chemical disinfectants and antiseptics — Quantitative surface test for the evaluation of bactericidal activity of chemical disinfectants and antiseptics used in veterinary area on porous surfaces without mechanical action — Test method and requirements (phase 2, step 2) (Средства дезинфицирующие химические и антисептики. Количественное испытание на поверхности для оценки бактерицидной активности химических дезинфицирующих средств и антисептиков, используемых в области ветеринарии на пористых поверхностях без механического воздействия. Метод испытания и требования (фаза 2, этап 2))

[10] NF EN ISO 11737-1[4)], January 2018. Sterilization of medical devices — Microbiological methods — Part 1: Determination of a population of microorganisms on products (Стерилизация медицинских изделий. Микробиологические методы. Часть 1. Анализ популяции микроорганизмов на изделиях)

[11] NF EN 13704, April 2002. Chemical disinfectants — Quantitative suspension test for the evaluation of sporicidal activity of chemical disinfectants used in food, domestic and institutional areas — Test method and requirements (phase 2, step 1) (Средства дезинфицирующие химические. Количественный суспензионный метод испытания для определения спороцидной активности химических дезинфицирующих средств, применяемых в области пищевых продуктов, в общественных учреждениях и бытовых условиях. Методы испытаний и требования (фаза 2/ступень 1))

[12] United States Pharmacopeia, USP 42 NF 37—2019 (Фармакопея США)

[1)] Действует ГОСТ ISO 17516—2017 «Продукция парфюмерно-косметическая. Микробиология. Микробиологические нормы».

[2)] Действует ГОСТ ISO 18415—2020 «Продукция парфюмерно-косметическая. Микробиология. Обнаружение специфических и неспецифических микроорганизмов».

[3)] Действует ГОСТ ISO 29621—2023 «Продукция парфюмерно-косметическая. Микробиология. Руководящие указания по оценке риска и идентификации продукции с микробиологическим низким риском».

[4)] Действует ГОСТ ISO 11737-1—2012 «Стерилизация медицинских изделий. Микробиологические методы. Часть 1. Оценка популяции микроорганизмов на продукции».

[13] JP XVII THE JAPANESE PHARMACOPOEIA SEVENTEENTH EDITION Official from April 1, 2016 (Японская фармакопея, семнадцатое издание)

[14] AOAC_Method 966.04_Sporicidal Activity of Disinfectants (003).pdf (Спороцидная активность дезинфицирующих средств (003).pdf)

[15] EN 12353[1)] Chemical disinfectants and antiseptics — Preservation of test organisms used for the determination of bactericidal (including Legionella), mycobactericidal, sporicidal, fungicidal and virucidal (including bacteriophages) activity (Средства дезинфицирующие химические и антисептические. Сохранение тест-микроорганизмов, используемых для определения бактерицидной (включая микроорганизмы Legionella), микобактерицидной, спороцидной, фунгицидной и вирулицидной (включая бактериофаги) активности

[1)] Действует ГОСТ EN 12353 «Средства химические дезинфицирующие и антисептические. Сохранение тест-микроорганизмов, используемых для определения бактерицидной (включая Legionella), микобактерицидной, спорицидной, фунгицидной и вирулицидной (включая бактериофаги) активности».

УДК 665.58.012.1:543.95:006.354 МКС 07.100.40 IDT

Ключевые слова: продукция парфюмерно-косметическая, микробиология, салфетки, маски, аэробные мезофильные микроорганизмы, специфические микроорганизмы

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

Сдано в набор 29.01.2026. Подписано в печать 19.02.2026. Формат 60×84⅛. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 3,26. Уч.-изд. л. 2,77.

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