

**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ
ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА**

**ЛАБОРАТОРНЫЙ СОВЕТ ФЕДЕРАЛЬНОЙ СЛУЖБЫ ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ
ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА**

**Использование питательных сред производства Merck KGaA (Германия)
при проведении микробиологических исследований парфюмерно-
косметической продукции**

МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

№ 02.010-06

Издание официальное

**Москва
2006**

**Использование питательных сред производства Merck KGaA
(Германия) при проведении микробиологических исследований
парфюмерно-косметической продукции**

**Методические рекомендации
№ 02.010-06**

Использование питательных сред производства Merck KGaA (Германия) при проведении микробиологических исследований парфюмерно-косметической продукции: Методические рекомендации.- М.: ФГУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии» Роспотребнадзора, 2006 г. – 15 стр.

1. Разработаны: ФГУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии» Роспотребнадзора (к.м.н. И.В. Брагина, к.м.н. М.В. Зароченцев, Н.С. Кривопалова, О.К. Белобородова, О.Д. Гончарук), ФГУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в г. Москве» (Н.Я. Салова), ФГУП «Институт пластической хирургии и косметологии» (к.м.н. О.Ю. Тимофеева-Дубовская), Аналитический центр контроля качества воды «Роса» (к.б.н. В.Е. Ларин), ОАО «Концерн «Калина» (Н.Г. Попова, И.А. Завьялова), ООО «Лаб-БиоМед» (к.б.н. Д.М. Соколов, И.В. Кашинцев).
2. Утверждены и введены в действие Главным врачом ФГУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии» Роспотребнадзора, председателем Лабораторного совета Федеральной службы Роспотребнадзора А.И.Верещагиным 20 сентября 2006 г.
3. Введены впервые.

Содержание

1. Общие положения и область применения
2. Нормативные ссылки
3. Требования к помещениям и технике безопасности
4. Преимущества использования питательных сред производства Merck KGaA для исследования парфюмерно-косметической продукции
5. Отбор проб
6. Подготовка проб
7. Проведение испытаний
 - 7.1. Определение общего количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ)
 - 7.2. Определение количества дрожжей, дрожжеподобных и плесневых грибов
 - 7.3. Неселективное обогащение бактерий семейства *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*
 - 7.4. Выявление и идентификация бактерий семейства *Enterobacteriaceae*
 - 7.5. Выявление и идентификация *Pseudomonas aeruginosa*
 - 7.6. Выявление и идентификация *Staphylococcus aureus*
8. Аппаратура, материалы, реактивы, питательные среды
9. Приложение №1.

УТВЕРЖДАЮ

Главный врач ФГУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека,

Председатель Лабораторного совета Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

Аверещагин

А.И.Верещагин

«20 сентября 2006 г.

Использование

питательных сред производства Merck KGaA (Германия) при проведении микробиологических исследований парфюмерно-косметической продукции

МР № 02.010-06

1. Общие положения и область применения

- 1.1. Настоящие методические рекомендации устанавливают методы лабораторных испытаний качества парфюмерно-косметической продукции по микробиологическим показателям безопасности в соответствии с СанПиН 1.2.681-97 «Производство и контроль парфюмерно-косметической продукции для обеспечения ее безопасности и качества».
- 1.2. Настоящие методические рекомендации разработаны в связи с необходимостью усовершенствования методов микробиологического анализа парфюмерно-косметической продукции с использованием зарубежных питательных сред, в целях гармонизации национальных методов исследования с современными международными стандартами, рекомендованными ИСО.
- 1.3. Методические рекомендации предназначены для применения в лабораториях организаций, независимо от форм собственности, осуществляющих производственный контроль парфюмерно-косметической продукции; в лабораториях учреждений Роспотребнадзора, а также в испытательных лабораториях других организаций, аккредитованных в установленном порядке на право проведения испытаний указанной продукции.

2. Нормативные ссылки

- 2.1. СанПиН 1.2.681-97 «Гигиенические требования к производству и безопасности парфюмерно-косметической продукции».
- 2.2. СП 1.2.731-99 Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности и гельминтами.
- 2.3. МУК 4.2.801-99 «Методы микробиологического контроля парфюмерно-косметической продукции».
- 2.4. ГОСТ 26668-85 «Продукты пищевые. Методы отбора проб для микробиологических анализов».
- 2.5. ГОСТ 26669-85 «Продукты пищевые и вкусовые. Подготовка проб для микробиологических анализов».
- 2.6. ГОСТ 26670-91 «Продукты пищевые. Методы культивирования микроорганизмов».
- 2.7. ГОСТ Р 51446-99 (ИСО 7218-96) «Микробиология. Продукты пищевые. Общие правила микробиологических исследований».
- 2.8. ГОСТ 29188.0-91 «Парфюмерно-косметические изделия. Правила приемки, отбор проб, методы органолептических испытаний».
- 2.9. ГОСТ 10444.15-94 «Продукты пищевые. Методы определения количества мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов».
- 2.10. ГОСТ 10444.2-94 «Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества *Staphylococcus aureus*».
- 2.11. ГОСТ 10444.12-88 «Продукты пищевые. Метод определения дрожжей и плесневых грибов».
- 2.12. ГОСТ 29184-91 «Продукты пищевые. Методы выявления и определения бактерий семейства Enterobacteriaceae».
- 2.13. Microbiological Methods for Cosmetics. Bacteriological Analytical Manual, U.S.FDA, 2001. - Микробиологические методы исследования парфюмерно-косметической продукции. Руководство по бактериологии. (U.S.FDA - Американская организация по контролю продуктов и лекарств) – 2001 г.
- 2.14. Cosmetics – Microbiology – Enumeration and detection of aerobic mesophilic bacteria, ISO/CD 21149, 2003 – Определение и подсчет мезофильных аэробных бактерий в образцах парфюмерно-косметической продукции, проект ИСО 21149, 2003.
- 2.15. Cosmetics – Microbiology – General guidance for the enumeration of yeasts and moulds, ISO/CD 16212, 2003 – Общее руководство по подсчету дрожжеподобных и плесневых грибов в образцах парфюмерно-косметической продукции, проект ИСО 16212, 2003.
- 2.16. Cosmetics – Microbiology – Detection of *Escherichia coli*, ISO/DIS 21150, 2004 – Определение *Escherichia coli* в образцах парфюмерно-косметической продукции, проект ИСО 21150, 2004.
- 2.17. Cosmetics – Microbiology – Detection of *Pseudomonas aeruginosa*, ISO/CD 22717, 2003 – Определение *Pseudomonas aeruginosa* в образцах парфюмерно-косметической продукции, проект ИСО 22717, 2003.
- 2.18. Cosmetics – Microbiology – Detection of *Staphylococcus aureus*, ISO/CD 22718, 2004 – Определение *Staphylococcus aureus* в образцах парфюмерно-косметической продукции, проект ИСО 22718, 2004.

3. Требования к помещениям и технике безопасности

Требования безопасности, общее расположение лаборатории, а также ее инфраструктура должны соответствовать требованиям СП 1.2.731, ГОСТ Р 51446.

4. Преимущества использования питательных сред производства Merck KGaA для исследования парфюмерно-косметической продукции

Для целей настоящих МР при проведении микробиологических исследований парфюмерно-косметической продукции применяются питательные среды, рекомендованные международными нормативными документами (п.п.2.13 - 2.18).

В качестве среды для приготовления исходного и последующих разведений применяется казеино-пептонный бульон с твином 4% и лецитином (ТАТ-бульон). Совместное действие твина и лецитина инактивирует антимикробные вещества, входящие в состав парфюмерно-косметической продукции. Предлагаемая среда является универсальной как для водорастворимых образцов, так и для эмульсий типа масло-вода.

Для этапа неселективного обогащения бактерий семейства *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus* используется летиновый бульон. Высокое содержание в среде пептонов из мяса и казеина, дрожжевой экстракт обеспечивают оптимальные условия для прорастания спор и восстановления поврежденных клеток микроорганизмов. Среда является универсальной для накопления всех микроорганизмов, регламентированных СанПиН 1.2.681.

5. Отбор проб

Отбор проб проводят по ГОСТ 29188.0, ГОСТ 26668, МУК 4.2.801.

6. Подготовка проб

- 6.1. Подготовка проб к анализу по ГОСТ 26669, МУК 4.2.801.
- 6.2. Исходное разведение исследуемого образца средней пробы (в т.ч. эмульсии типа вода-масло), приготовленной по МУК 4.2.801, и при необходимости ряд десятикратных разведений проводят по ГОСТ 26669 и МУК 4.2.801 в казеино-пептонном бульоне с лецитином и твином 20 (ТАТ-бульон) (п.8.2.1), тщательно перемешивают и встряхивают 15-30 мин до полной однородности.

7. Проведение испытаний *

7.1. Определение общего количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАиМ)

7.1.1. Сущность метода

Метод основан на выявлении и подсчете всех выросших колоний микроорганизмов на агаризованной питательной среде при температуре $(30\pm1)^\circ\text{C}$ в течение (72 ± 3) ч. и пересчете их количества на 1 г (cm^3) исследуемого продукта.

7.1.2. Процедура испытания

- 7.1.2.1. По 1 cm^3 исходного разведения образца (или разведения, при посеве которого на чашках вырастают не менее 30 и не более 300 колоний), приготовленного по 6.2. внести в две параллельные чашки Петри для каждого разведения.

* Схема микробиологического контроля парфюмерно-косметической продукции приведена в Приложении №1

- Испытания проводят глубинным агаровым методом.
При посеве использовать одну из сред: летиновый агар (п.8.2.2) или триптиказо-соевый агар с твином и лецитином (п.8.2.3).
Подготовку чашек Петри со средой к посеву и посевы глубинным агаровым методом проводят по ГОСТ 26670 и МУК 4.2.801.
- 7.1.2.2. Посевы инкубировать при температуре $(30\pm1)^\circ\text{C}$ в течение (72 ± 3) ч.
7.1.2.3. Обработка результатов по ГОСТ 26670 и МУК 4.2.801.

7.2. Определение количества дрожжей и плесневых грибов

7.2.1. Сущность метода

Метод основан на выявлении и подсчете колоний дрожжей и плесневых грибов, выросших на селективных агаризованных питательных средах при температуре $(24\pm1)^\circ\text{C}$ в течение (120 ± 3) ч. и пересчете их количества на 1 г (см^3) исследуемого продукта.

7.2.2. Процедура испытания

- 7.2.2.1. По 1 см^3 исходного разведения образца (или разведения, при посеве которого на чашках вырастают не менее 15 и не более 150 колоний) приготовленного по п. 6.2 внести в две параллельные чашки Петри для каждого разведения.
Испытания проводят глубинным агаровым методом.
При посеве использовать одну из сред: агар Сабуро (п.8.2.4), картофельно-глюкозный агар (п.8.2.5) или агар с солодовым экстрактом (п.8.2.6).
Подготовку чашек Петри со средой к посеву и посевы глубинным агаровым методом провести по ГОСТ 26670 и МУК 4.2.801.
- 7.2.2.2. Посевы инкубировать при температуре $(24\pm1)^\circ\text{C}$ в течение $(72-120\pm3)$ ч. с предварительным учетом типичных колоний через (72 ± 3) ч.
Рост дрожжей на агаризованных средах сопровождается образованием крупных, выпуклых, блестящих серовато-белых колоний с гладкой поверхностью и ровным краем.
Плесневые грибы образуют плоские или пушистые разрастающиеся колонии.
- 7.2.2.3. Наличие на средах колоний характерных для дрожжей и плесневых грибов подтверждается микроскопированием.
- 7.2.2.4. Обработка результатов по ГОСТ 10444.12 и МУК 4.2.801.

7.3. Неселективное обогащение бактерий семейства *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*

- 7.3.1. 10 см^3 исследуемого образца из разведения 10^{-1} , приготовленного по п. 6.2, внести в 90 см^3 летинового бульона (п.8.2.7).
7.3.2. Посевы инкубировать при температуре $(36\pm1)^\circ\text{C}$ в течение $(24-48\pm3)$ ч.

7.4. Выявление и идентификация бактерий семейства *Enterobacteriaceae*

7.4.1. Сущность метода

Метод основан на выявлении бактерий семейства *Enterobacteriaceae* с использованием неселективного накопительного бульона и селективных агаровых питательных сред с дальнейшей идентификацией выявленных бактерий.

7.4.2. Проведение испытаний

- 7.4.2.1. При наличии признаков роста культуру, полученную после инкубирования по п.7.3.2 пересеять на одну из агаризованных селективно-диагностических сред: Мак-Конки агар (п.8.2.8) или агар с глюкозой, кристаллическим фиолетовым и желчью (VRBD) (п.8.2.9).
- 7.4.2.2. Посевы инкубировать при температуре $(36\pm1)^\circ\text{C}$ в течение (24 ± 3) ч.
- 7.4.2.3. После инкубирования посевов отмечают рост колоний, характерных для семейства *Enterobacteriaceae*.
На среде Мак-Конки бактерии семейства *Enterobacteriaceae* образуют колонии бесцветные, розовые или красные, окруженные зоной преципитации.
На среде VRBD бактерии семейства *Enterobacteriaceae* образуют красные колонии, окруженные зоной преципитации.
- 7.4.2.4. При наличии на средах колоний характерных для бактерий семейства *Enterobacteriaceae* дальнейшую идентификацию и обработку результатов проводят по ГОСТ 29184 и МУК 4.2.801.

7.5. Выявление и идентификация *Pseudomonas aeruginosa*

7.5.1. Сущность метода

Метод основан на выявлении бактерий *Pseudomonas aeruginosa* с использованием неселективного накопительного бульона и селективных агаровых питательных сред с дальнейшей идентификацией выявленных бактерий.

7.5.2. Проведение испытаний

- 7.5.2.1. При наличии признаков роста культуру, полученную после инкубирования по (п.7.3.2), пересеять на цетримидный агар (п.8.2.10).
- 7.5.2.2. Посевы инкубировать при температуре $(36\pm1)^\circ\text{C}$ в течение $(24-48\pm3)$ ч.
- 7.5.2.3. После инкубирования посевов отмечают рост колоний, характерных для *Pseudomonas aeruginosa*.
На среде цетримидный агар *Pseudomonas aeruginosa* образует колонии с желто-зеленым пигментом (пиоцианин), флюоресцирующим в УФ-свете.
- 7.5.2.4. При наличии на средах колоний характерных для *Pseudomonas aeruginosa* дальнейшую идентификацию проводить по МУК 4.2.801.

7.6. Выявление и идентификация *Staphylococcus aureus*

7.6.1. Сущность метода

Метод основан на выявлении бактерий вида *Staphylococcus aureus* с использованием неселективного накопительного бульона и селективных агаровых питательных сред с дальнейшей идентификацией выявленных бактерий.

7.6.2. Проведение испытаний

- 7.6.2.1. При наличии признаков роста культуру, полученную после инкубирования по (п.7.3.2) пересеять на одну из селективно-диагностических агаризованных сред: агар Байрд-Паркера (п.8.2.11) или маннит-солевой агар (п.8.2.12).
Посевы инкубировать при температуре $(36\pm1)^\circ\text{C}$ в течение $(24-48\pm3)$ ч.
- 7.6.2.2. После инкубирования посевов отмечают рост колоний, характерных для *Staphylococcus aureus*.

На среде Байрд-Паркер *Staphylococcus aureus* образует мелкие черные блестящие колонии, окруженные зоной лецитиназной активности.

На маннит-солевом агаре - маннитположительные колонии, окруженные яркой желтой зоной.

- 7.6.2.3. При наличии на средах колоний характерных для *Staphylococcus aureus* дальнейшую идентификацию проводить по ГОСТ 10444.2 и МУК 4.2.801.

8. Аппаратура, материалы, реактивы, питательные среды

8.1. Аппаратура, материалы и реактивы по МУК 4.2.801.

8.2. Состав, приготовление и условия хранения питательных сред

Среда для приготовления разведений

8.2.1. ТАТ-бульон (казеино-пептонный бульон с лецитином и твином® 20) –

Casein-peptone Lecithin Polysorbate Broth (TAT-Broth)

Merck,
Cat.N 1.11723.0500

Состав:

| | |
|--|----------|
| Пептон из казеина (панкреатический гидролизат казеина) | 20,0 г |
| Соевый лецитин | 5,0 г |
| Твин® 20 | 40,0 мл |
| Дистиллированная вода | 960,0 мл |

Приготовление:

Растворить 25 г сухой среды в 960 мл дистиллированной воды, нагреть на водяной бане при 50°C в течение 30 мин до полного растворения. Добавить 40 мл твина-20 и автоклавировать 15 мин при 121°C. pH 7,1±0,2 при 25°C. Готовая среда прозрачная, желтоватого цвета, слабая опалесценция может возникнуть благодаря присутствию лецитина.

Условия хранения:

Среду хранить в соответствии с инструкциями производителя.

Среды для культивирования аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов

8.2.2. Летиновый агар (модифицированный) –

Letheen Agar modified

Merck,
Cat.N 1.10404.0500

Состав:

| | |
|-----------------------|---------|
| Пептон из мяса | 10,0 г |
| Пептон из казеина | 10,0 г |
| Мясной экстракт | 3,0 г |
| Дрожжевой экстракт | 2,0 г |
| Хлорид натрия | 5,0 г |
| Глюкоза | 1,0 г |
| Лецитин | 1,0 г |
| Бисульфит натрия | 0,1 г |
| Агар | 20,0 г |
| Твин® 80 | 7,0 мл |
| Дистиллированная вода | 1000 мл |

Приготовление:

Растворить 52,1 г сухой среды и 7 мл твин®-80 в 1 л дистиллированной воды, подогревая при необходимости и периодически перемешивая; прокипятить 1 мин; автоклавировать 15 мин при 121°C. pH 7,2±0,2 при 25°C. Среда в чашках мутная, коричневого цвета.

Условия хранения:

Среду хранить в холодильнике при температуре (2-4°C). Срок годности готовой среды – 3 недели.

8.2.3. Триптиказо-соевый агар с твином и лецитином -
Tryptic Soy Agar with Polysorbate 80 and Lecithin

Merck,
Cat.N1.07324.0500

Состав:

| | |
|-----------------------|---------|
| Пептон из казеина | 15,0 г |
| Пептон из сои | 5,0 г |
| Хлорид натрия | 5,0 г |
| Твин® 80 | 5,0 г |
| Лецитин | 0,7 г |
| Агар | 15,0 г |
| Дистиллированная вода | 1000 мл |

Приготовление:

Растворить 45,7 г сухой среды в 1 литре дистиллированной воды, подогреть, если необходимо довести до кипения, перемешивать до полного растворения. Автоклавировать 15 мин при 121°C. pH 7,3±0,2 при 25°C. Готовая среда в чашках прозрачная, желтовато-коричневая.

Условия хранения:

Среду хранить в холодильнике при температуре (2-4°C). Срок годности готовой среды – 3 недели.

Среды для выращивания дрожжей, дрожжеподобных и плесневых грибов

8.2.4. Агар Сабуро (4% глюкозы) –
Sabouraud-4 % Dextrose Agar

Merck,
Cat.N1.05438.0500

Состав:

| | |
|-----------------------|---------|
| Пептон | 10,0 г |
| Глюкоза | 40,0 г |
| Агар-агар | 15,0 г |
| Дистиллированная вода | 1000 мл |

Приготовление:

Растворить 65 г сухой среды в 1 л дистиллированной воды, автоклавировать 15 мин при 121°C. Не перегревать. pH 5,6±0,2 при 25°C. Среда прозрачная, желтовато-коричневая.

Условия хранения:

Среду хранить в холодильнике при температуре (2-4°C). Срок годности готовой среды – 3 недели.

8.2.5. Картофельно-глюкозный агар -
Potato Dextrose Agar

Merck,
Cat.N1.10130.0500

Состав:

| | |
|-----------------------|---------|
| Картофельный отвар | 4,0 г |
| Глюкоза | 20,0 г |
| Агар-агар | 15,0 г |
| Дистиллированная вода | 1000 мл |

Приготовление:

Растворить 39 г сухой среды в 1 л дистиллированной воды, автоклавировать 15 мин при 121°C. pH: 5.6 ± 0.2 at 25°C. Среда прозрачная, желтовато-коричневого цвета. Повторно расплавлять среду не рекомендуется.

Условия хранения:

Среду готовить непосредственно перед использованием.

8.2.6. Агар с солодовым экстрактом -
Malt Extract Agar

Merck,
Cat.N1.05398.0500

Состав:

| | |
|--------------------|--------|
| Солодовый экстракт | 30,0 г |
| Пептон из сои | 3,0 г |

| | |
|-----------------------|---------|
| Агар-агар | 15,0 г |
| Дистиллированная вода | 1000 мл |

Приготовление:

Растворить 48 г сухой среды в 1 л дистиллированной воды, автоклавировать в мягком режиме (10 мин при 121 °C), не перегревать. pH 5,6±0,2 при 25°C. Среда прозрачная, желтовато-коричневого цвета. Следует избегать повторного нагревания.

Условия хранения:

Среду готовить непосредственно перед использованием.

Среда для неселективного обогащения

8.2.7. Летиновый бульон (модифицированный)
Letheen Broth modified

Merck,
Cat.N1.10405.0500

Состав:

| | |
|-----------------------|---------|
| Пептон из мяса | 20,0 г |
| Пептон из козеина | 5,0 г |
| Мясной экстракт | 5,0 г |
| Дрожжевой экстракт | 2,0 г |
| Хлорид натрия | 5,0 г |
| Лецитин | 0,7 г |
| Биосульфит натрия | 0,1 г |
| Твин® 80 | 5,0 мл |
| Дистиллированная вода | 1000 мл |

Приготовление:

Растворить 37,8 г сухой среды и 5 мл твина-80 в 1 л дистиллированной воды. При необходимости подогреть при периодическом перемешивании до полного растворения; автоклавировать 15 мин при 121°C. pH 7,2±0,2 при 25°C. Готовая среда мутная, желтовато-коричневого цвета.

Условия хранения:

Среду хранить в соответствии с инструкциями производителя.

Среды для культивирования бактерий семейства Enterobacteriaceae

8.2.8. Мак-Конки агар –
MacConkey Agar

Merck
Cat.N1.05465.0500

Состав:

| | |
|----------------------------|---------|
| Пептон из мяса | 3,0 г |
| Пептон из козеина | 17,0 г |
| Смесь солей желчных кислот | 1,5 г |
| Лактоза | 10,0 г |
| Хлорид натрия | 5,0 г |
| Нейтральный красный | 0,003 г |
| Кристаллический фиолетовый | 0,001 г |
| Агар-агар | 13,5 г |
| Дистиллированная вода | 1000 мл |

Приготовление:

Растворить 50 г сухой в 1 л дистиллированной воды, автоклавировать 15 мин при 121°C. pH 7,4±0,2 при 25°C. Среда в чашках прозрачная, от красно-коричневого до темно-красного цвета. Для предотвращения от высыхания поместить чашки со средой в пластиковые мешки.

Условия хранения:

Чашки со средой хранить в холодильнике при температуре (2-4°C). Срок годности готовой среды на чашках – 3 недели.

8.2.9. Агар с глюкозой, кристаллическим фиолетовым и желчью (VRBD) – VRBD (Violet Red Bile Dextrose) Agar Merck
Cat.N1.10275.0500

Состав:

| | |
|----------------------------|---------|
| Пептон из мяса | 7,0 г |
| Дрожжевой экстракт | 3,0 г |
| Смесь солей желчных кислот | 1,5 г |
| Глюкоза | 10,0 г |
| Хлорид натрия | 5,0 г |
| Нейтральный красный | 0,03 г |
| Кристаллический фиолетовый | 0,002 г |
| Агар-агар | 13,0 г |
| Дистиллированная вода | 1000 мл |

Приготовление:

Растворить 39,5 г сухой среды в 1 л дистиллированной воды и нагревать при частом перемешивании до полного растворения. После этого кипятить не более 2 мин. Среду нельзя автоклавировать или перегревать! pH $7,3 \pm 0,2$ при 25°C . Готовая среда прозрачная, темно-красного цвета.

Для предотвращения от высыхания поместить чашки со средой в пластиковые мешки.

Условия хранения:

Чашки со средой хранить в холодильнике при температуре ($2\text{-}4^{\circ}\text{C}$). Срок годности готовой среды на чашках – 3 недели.

Среда для культивирования *Pseudomonas aeruginosa*

8.2.10. Цетримидный агар – Pseudomonas Selective Agar (Cetrimide Agar) Merck
Cat.N 1.05284.0500

Состав:

| | |
|--|---------|
| Пептон из желатина | 20,0 г |
| Хлорид магния | 1,4 г |
| N-цетил-N,N,N- trimетиламмониумбромид (цетримид) | 0,3 г |
| Агар-агар | 13,0 г |
| Глицерин | 10,0 г |
| Дистиллированная вода | 1000 мл |

Приготовление:

Растворить 44,5 г сухой среды в 1 л дистиллированной воды, добавить 10 мл глицерина, автоклавировать 15 мин. при 121°C , разлить в чашки. pH $7,0 \pm 0,2$ при 25°C . Среда в чашках мутная, светло-коричневая.

Для предотвращения от высыхания поместить чашки со средой в пластиковые мешки.

Условия хранения:

Чашки со средой хранить в холодильнике при температуре ($2\text{-}4^{\circ}\text{C}$). Срок годности готовой среды на чашках – 3 недели.

Среды для культивирования *Staphylococcus aureus*

8.2.11. Агар Байд-Паркер (Селективный агар для стафилококков) – Baird-Parker Agar Merck
Cat.N 1.05406.0500

Состав:

| | |
|--------------------|--------|
| Пептон из козеина | 10,0 г |
| Мясной экстракт | 5,0 г |
| Дрожжевой экстракт | 1,0 г |
| Пируват натрия | 10,0 г |
| Глицин | 12,0 г |
| Агар-агар | 15,0 г |

| | |
|-------------------------------|---------|
| Желточно-теллуритная эмульсия | 50,0 мл |
| Дистиллированная вода | 950 мл |

Приготовление:

Растворить 58 г сухой среды в 950 мл дистиллированный воды, автоклавировать 15 мин. при 121°C, охладить до 45-50°C, смешать с 50 мл желточно-теллуритной эмульсии. Разлить в чашки. pH 6,8±0,2 при 25°C. Среда в чашках опалесцирующая, желтовато-коричневого цвета.

Для предотвращения от высыхания поместить чашки со средой в пластиковые мешки.

Условия хранения:

Чашки со средой хранить в холодильнике при температуре (2-4°C). Срок годности готовой среды на чашках – 3 недели.

| | |
|------------------------------------|-------------------|
| 8.2.12. Маннит-солевой агар | Merck |
| Mannitol Salt Phenol-red Agar | Cat.N1.05404.0500 |

Состав:

| | |
|-----------------------|---------|
| Пептоны | 10,0 г |
| Мясной экстракт | 1,0 г |
| Маннит | 10,5 г |
| Хлорид натрия | 75,0 г |
| Феноловый красный | 0,025 г |
| Агар-агар | 15,0 г |
| Дистиллированная вода | 1000 мл |

Приготовление:

Растворить 108 г сухой среды в 1 л дистиллированный воды, автоклавировать 15 мин. при 121°C. Разлить в чашки, pH 7,4±0,2 при 25°C. Среда в чашках прозрачная, красного цвета.

Для предотвращения от высыхания поместить чашки со средой в пластиковые мешки.

Условия хранения:

Чашки со средой хранить в холодильнике при температуре (2-4°C). Срок годности готовой среды на чашках – 3 недели.

Приложение №1

Схема микробиологического контроля парфюмерно-косметической продукции с использованием питательных сред производства Merck KGaA (Германия)

