2.1.6.7. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ИСПЫТАНИЯ НЕСТЕРИЛЬНЫХ ПРОДУКТОВ: ОТДЕЛЬНЫЕ ВИДЫ МИКРООРГАНИЗМО

Общая фармакопейная статья соответствует аналогичному тексту, гармонизированному в рамках Фармакопейной дискуссионной группы (PDG). Негармонизированный текст обозначен символами «⬩ ⬩».

1. ВВЕДЕНИЕ

В общей фармакопейной статье приведены методы испытания, позволяющие определять отсутствие или предельное содержание определенных микроорганизмов, которые могут быть выявлены в указанных условиях.

Испытания предназначены, прежде всего, для установления соответствия субстанций для фармацевтического применения и лекарственных препаратов установленным критериям приемлемости микробиологического качества. При использовании в таких целях следуют указаниям, изложенным ниже, включая информацию о количестве образцов, отбираемых для испытания, и анализ полученных результатов.

Допустимо использование альтернативных микробиологических методик, включая автоматизированные, при условии подтверждения их эквивалентности фармакопейному методу.

2. ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

Подготовку образцов проводят в соответствии с общей фармакопейной статьей *2.1.6.6.*

Если испытуемый продукт обладает антимикробным действием, оно должно быть устранено или нейтрализовано настолько, насколько это возможно, в соответствии с общей фармакопейной статьей *2.1.6.6.* Если для подготовки образца используют поверхностно-активные вещества (ПАВ), должна быть подтверждена их совместимость с инактиваторами и отсутствие токсичности в отношении микроорганизмов, как описано в общей фармакопейной статье *2.1.6.6*.

3. ИСПЫТАНИЯ РОСТОВЫХ *(СПОСОБНОСТЬ ОБЕСПЕЧИВАТЬ РОСТ МИКРООРГАНИЗМОВ)* И ИНГИБИРУЮЩИХ СВОЙСТВ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД, *ОПРЕДЕЛЕНИЕ* ПРИГОДНОСТИ МЕТОДА, ОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ КОНТРОЛИ

Должна быть подтверждена возможность обнаружения микроорганизмов в присутствии испытуемого продукта. При внесении в методику или в продукт каких-либо изменений, которые могут повлиять на результат испытания, должна быть подтверждена пригодность методики.

3.1. ПОДГОТОВКА ТЕСТ-ШТАММОВ

Используют стандартизованные стабильные суспензии тест-штаммов микроорганизмов или их готовят, как указано ниже. Посевные культуры при проведении испытания используют таким образом, чтобы жизнеспособные микроорганизмы для инокуляции были из пассажа, не превышающего пятого пассажа от главной посевной культуры.

3.1.1. Аэробные микроорганизмы

Каждый тест-штамм бактерий выращивают по отдельности на соево-казеиновом бульоне или на соево-казеиновом агаре при температуре от 30 °C до 35 °C в течение от 18 ч до 24 ч. Тест-штамм *Candida albicans* выращивают отдельно на агаре Сабуро с декстрозой или на бульоне Сабуро с декстрозой при температуре от 20 °C до 25 °C в течение от двух до трёх дней.

– *Staphylococcus aureus*, например, ATCC 6538, NCIMB 9518, CIP 4.83, NBRC 13276 *или ГКПМ 201206*;

– *Pseudomonas aeruginosa*, например, ATCC 9027, NCIMB 8626, CIP 82.118, NBRC 13275 *или ГКПМ 190155*;

– *Escherichia coli*, например, ATCC 8739, NCIMB 8545, CIP 53.126 или NBRC 3972;

– *Salmonella enterica* subsp. *enterica* серовар Typhimurium, например, ATCC 14028, или как альтернатива, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* серовар Abony, например, NBRC 100797, NCTC 6017 или CIP 80.39;

– *Candida albicans*, например, ATCC 10231, NCPF 3179, IP 48.72, NBRC 1594 *или ГКПМ 303903*.

Для приготовления суспензий тест-штаммов используют натрия хлорида и пептона забуференный раствор с pH 7,0 или фосфатный буферный раствор с pH 7,2. Суспензии используют в течение двух часов или в течение 24 ч, при условии хранения при температуре от 2 °C до 8 °C.

3.1.2. Клостридии

Используют *Clostridium sporogenes*, например, ATCC 11437 (NBRC 14293, NCIMB 12343, CIP 100651) или ATCC 19404 (NCTC 532 или CIP 79.03). Тест-штамм клостридий выращивают в анаэробных условиях в обогащённой среде для клостридий при температуре от 30 °C до 35 °C в течение от 24 ч до 48 ч. В качестве альтернативы приготовлению и последующему разведению свежеприготовленной суспензии вегетативных клеток *C. sporogenes* для посева может быть использована стабильная суспензия спор. Стабильную суспензию спор можно хранить при температуре от 2 °С до 8 °С в течение валидированного периода времени.

3.2. ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ КОНТРОЛЬ

Для проверки условий испытания проводят отрицательный контроль с использованием выбранного растворителя (разбавителя) вместо испытуемого продукта. Рост микроорганизмов наблюдаться не должен. Отрицательный контроль проводят также при испытании продукта как описано в разделе 4 данной общей фармакопейной статьи. При неудовлетворительном отрицательном контроле проводят расследование.

3.3. ПРОВЕРКА РОСТОВЫХ И ИНГИБИРУЮЩИХ СВОЙСТВ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД

Испытанию подлежит каждая серия готовой питательной среды, а также каждая серия питательной среды, приготовленная или из сухой среды, или из отдельных компонентов.

Проверку подходящих свойств соответствующих питательных сред проводят, как описано в таблице 2.1.6.7.-1.

Таблица 2.1.6.7.-1 – *Ростовые, ингибирующие и индикаторные свойства питательных сред*

<table>
<tr><th></th><th>Среда</th><th>Свойство</th><th>Тест-штаммы</th></tr>
<tr><td rowspan="3">Испытание на грамотрицательные бактерии устойчивые к желчи</td><td rowspan="2">Бульон Мосселя для обогащения энтеробактерий</td><td>Ростовое</td><td>E. coli
P. aeruginosa</td></tr>
<tr><td>Ингибирующее</td><td>S. aureus</td></tr>
<tr><td>Фиолетово-красный желчный агар с глюкозой</td><td>Ростовое + индикаторное</td><td>E. coli
P. aeruginosa</td></tr>
<tr><td rowspan="3">Испытание на Escherichia coli</td><td rowspan="2">Бульон МакКонки</td><td>Ростовое</td><td>E. coli</td></tr>
<tr><td>Ингибирующее</td><td>S. aureus</td></tr>
<tr><td>Агар МакКонки</td><td>Ростовое + индикаторное</td><td>E. coli</td></tr>
<tr><td rowspan="3">Испытание на Salmonella</td><td rowspan="2">Соевый бульон Раппопорта-Вассилиадиса для обогащения Salmonella</td><td>Ростовое</td><td>Salmonella enterica subsp. enterica серовар Typhimurium, или Salmonella enterica subsp. enterica серовар Abony</td></tr>
<tr><td>Ингибирующее</td><td>S. aureus</td></tr>
<tr><td>Ксилоза-лизин-дезоксихолатный</td><td>Ростовое + индикаторное</td><td>Salmonella enterica subsp. enterica серовар</td></tr>
</table>

	агар		Typhimurium, или *Salmonella enterica* subsp. *enterica* серовар Abony
Испытание на *Pseudomonas aeruginosa*	Цетримидный агар	Ростовое	*P. aeruginosa*
		Ингибирующее	*E. coli*
Испытание на *Staphylococcus aureus*	Маннитол- солевой агар	Ростовое + индикаторное	*S. aureus*
		Ингибирующее	*E. coli*
Испытание на клостридии	Обогащенная среда для клостридий	Ростовое	*Cl. sporogenes*
	Колумбийский агар	Ростовое	*Cl. sporogenes*
Испытание на *Candida albicans*	Бульон Сабуро с декстрозой	Ростовое	*C. albicans*
	Агар Сабуро с декстрозой	Ростовое + индикаторное	*C. albicans*

Испытание на ростовые свойства, жидкие питательные среды: инокулируют часть соответствующей среды небольшим количеством (не более 100 КОЕ) соответствующего микроорганизма. Инкубируют при указанной температуре не дольше минимального периода времени, указанного в условиях испытания. Должен наблюдаться рост микроорганизмов, сопоставимый с ранее полученными результатами на ранее проверенной и пригодной серии среды.

Испытание на ростовые свойства, плотные питательные среды: посев выполняют поверхностным способом, инокулируя каждую чашку небольшим количеством (не более 100 КОЕ) соответствующего микроорганизма. Инкубируют при указанной температуре не дольше минимального периода времени, указанного в условиях испытания. Должен наблюдаться рост микроорганизмов, сопоставимый с ранее полученными результатами на ранее проверенной и пригодной серии среды.

Испытание на ингибирующее действие, жидкие или плотные среды: каждую среду инокулируют небольшим количеством (не менее 100 КОЕ) соответствующего микроорганизма. Инкубируют при указанной температуре в течение не менее максимального периода времени, указанного в условиях испытания. Не должен наблюдаться рост микроорганизмов.

Испытание на индикаторные свойства: посев выполняют поверхностным способом, инокулируя каждую чашку небольшим количеством (не более 100 КОЕ) соответствующего микроорганизма. Инкубируют при указанной температуре в течение периода времени, указанного в условиях испытания. Колонии должны быть сопоставимы по внешнему виду и характерным индикаторным признакам с ранее полученными результатами на ранее проверенной и пригодной серии среды.

3.4. ПРИГОДНОСТЬ МЕТОДА ИСПЫТАНИЙ

Для каждого испытуемого продукта выполняют подготовку образца, как описано в разделе 4 данной общей фармакопейной статьи. Каждый тест-штамм прибавляют при перемешивании в предписанную питательную среду. Посев осуществляют отдельно для каждого тест-штамма. Используют количество микроорганизмов, эквивалентное не более 100 КОЕ в инокуляте.

Проводят испытание, как описано в разделе 4 данной общей фармакопейной статьи, с использованием минимального предписанного времени инкубации.

Микроорганизмы обнаруживают по характерным индикаторным признакам, как описано в разделе 4 данной общей фармакопейной статьи. При наличии у продукта антимикробного действия необходимо внесение изменений в методику испытаний (см. раздел 4.5.3 общей фармакопейной статьи *2.1.6.6*).

Если антимикробная активность продукта в отношении микроорганизмов, для оценки которых это испытание предназначено, не может быть нейтрализована, следует предположить, что ингибированный микроорганизм не будет присутствовать в продукте.

4. ИСПЫТАНИЕ ПРОДУКТОВ

4.1. ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ БАКТЕРИИ, УСТОЙЧИВЫЕ К ЖЕЛЧИ

4.1.1. Подготовка образца и предварительная инкубация. Испытуемый образец в количестве не менее 1 г разводят 1:10 в соответствии с указаниями, приведенными в общей фармакопейной статье *2.1.6.6,* но с использованием соево-казеинового бульона в качестве выбранного растворителя (разбавителя), перемешивают и инкубируют при температуре от 20 °С до 25 °С в течение промежутка времени, достаточного для восстановления бактерий и недостаточного для инициирования их размножения (обычно два часа, но не более пяти часов).

4.1.2. Испытание на отсутствие микроорганизмов. Если не указано иное, объём, соответствующий 1 г испытуемого образца, приготовленного в соответствии с разделом 4.1.1 данной общей фармакопейной статьи, инокулируют в бульон Мосселя для обогащения энтеробактерий. Инкубируют при температуре от 30 °С до 35 °С в течение от 24 ч до 48 ч. Пересевают на чашки с фиолетово-красным желчным агаром с глюкозой. Инкубируют при температуре от 30 °С до 35 °С в течение от 18 ч до 24 ч. Продукт выдерживает испытание, если ни на одной из чашек не наблюдается рост колоний.

4.1.3. Количественное испытание

4.1.3.1. Выделение и пересев. Соответствующие количества бульона Мосселя для обогащения энтеробактерий инокулируют испытуемым образцом, как описано в разделе 4.1.1 данной общей фармакопейной статьи и (или) разведениями, содержащими соответственно 0,1 г; 0,01 г и 0,001 г (или 0,1 мл, 0,01 мл и 0,001 мл) продукта. Инкубируют при температуре от 30 °С до 35 °С в течение от 24 ч до 48 ч. Пересевают на чашки с фиолетово-красным желчным агаром с глюкозой. Инкубируют при температуре от 30 °С до 35 °С в течение от 18 ч до 24 ч.

***4.1.3.2. Интерпретация результатов**.* Положительным результатом считают рост колоний. Определяют наименьшее количество продукта, дающее положительный результат, и наибольшее количество, дающее отрицательный результат. Вероятное количество микроорганизмов определяют по таблице 2.1.6.7.-2.

Таблица 2.1.6.7.-2 – *Интерпретация результатов.*

Результаты для соответствующего количества продукта			Вероятное количество бактерий в грамме или миллилитре продукта
0,1 г или 0,1 мл	0,01 г или 0,01 мл	0,001 г или 0,001 мл	
+	+	+	$> 10^3$
+	+	–	$< 10^3$ и $> 10^2$
+	–	–	$< 10^2$ и > 10
–	–	–	< 10

4.2. ESCHERICHIA COLI

4.2.1 Подготовка образца и предварительная инкубация

Не менее 1 г испытуемого продукта разводят 1:10 в соответствии с указаниями, приведенными в общей фармакопейной статье *2.1.6.6*, и используют 10 мл или количество, соответствующее 1 г или 1 мл, для инокуляции в подходящее количество, определенное как описано в разделе 3.4 данной общей фармакопейной статьи*,* соево-казеинового бульона, перемешивают и инкубируют при температуре от 30 °С до 35 °С в течение от 18 ч до 24 ч.

При испытании плёнок, диспергируемых в полости рта, объём образца, соответствующий одной плёнке и приготовленный как описано в разделе 4.5.1 общей фармакопейной статьи *2.1.6.6,* фильтруют через стерильную фильтрующую мембрану и помещают в 100 мл соево-казеинового бульона. Инкубируют при температуре от 30 °С до 35 °С в течение от 18 ч до 24 ч.

4.2.2. Выделение и пересев

Ёмкость встряхивают, переносят 1 мл инокулированного соево-казеинового бульона в 100 мл бульона МакКонки и инкубируют при температуре от 42 °C до 44 °C в течение от 24 ч до 48 ч. Пересевают на чашки с агаром МакКонки при температуре от 30 °C до 35 °C в течение от 18 ч до 72 ч.

4.2.3. Интерпретация результатов

Рост колоний указывает на возможное присутствие *E. coli*. Подтверждают идентификационными испытаниями.

Продукт выдерживает испытание, если колонии *E. coli* отсутствуют или получены отрицательные результаты идентификационных испытаний.

4.3. SALMONELLA

4.3.1. Подготовка образца и предварительная инкубация

Испытуемый продукт подготавливают, как описано в общей фармакопейной статье *2.1.6.6,* и используют не менее 10 г или 10 мл для инокуляции в подходящее количество, определенное как описано в разделе 3.4 данной общей фармакопейной статьи, соево-казеинового бульона, перемешивают и инкубируют при температуре от 30 °C до 35 °C в течение от 18 ч до 24 ч.

4.3.2. Выделение и пересев

Вносят 0,1 мл соево-казеинового бульона в 10 мл соевого бульона Раппопорта-Вассилиадиса для обогащения *Salmonella* и инкубируют при температуре от 30 °C до 35 °C в течение от 18 ч до 24 ч. Пересевают на чашки с ксилоза-лизин-дезоксихолатным агаром и инкубируют при температуре от 30 °C до 35 °C в течение от 18 ч до 48 ч.

4.3.3. Интерпретация результатов

На вероятное присутствие *Salmonella* указывает рост колоний красного цвета с чёрным центром или без него. Подтверждают идентификационными испытаниями.

Продукт выдерживает испытание, если колонии *Salmonella* отсутствуют или получены отрицательные результаты идентификационных испытаний.

4.4. PSEUDOMONAS AERUGINOSA

4.4.1. Подготовка образца и предварительная инкубация

Не менее 1 г испытуемого продукта разводят 1:10 в соответствии с указаниями, приведенными в общей фармакопейной статье *2.1.6.6*, и используют 10 мл или количество, соответствующее 1 г или 1 мл, для инокуляции в подходящее количество, определенное как описано в разделе 3.4. данной общей фармакопейной статьи, соево-казеинового бульона и перемешивают. При испытании трансдермальных пластырей, плёнок, диспергируемых в полости рта, объём образца, соответствующий одному пластырю или одной плёнке, подготовленного в соответствии с указаниями, приведенными в разделе 4.5.1 общей фармакопейной статьи *2.1.6.6*, пропускают через стерильный мембранный фильтр, который затем помещают в 100 мл соево-казеинового бульона. Инкубируют при температуре от 30 °С до 35 °С в течение от 18 ч до 24 ч.

4.4.2. Выделение и пересев

Пересевают на чашки с цетримидным агаром и инкубируют при температуре от 30 °С до 35 °С в течение от 18 ч до 72 ч.

4.4.3. Интерпретация результатов

Рост колоний указывает на возможное присутствие *P. aeruginosa*. Подтверждают идентификационными испытаниями.

Продукт выдерживает испытание, если колонии *P. aeruginosa* отсутствуют или получены отрицательные результаты идентификационных испытаний.

4.5. STAPHYLOCOCCUS AUREUS

4.5.1. Подготовка образца и предварительная инкубация

Не менее 1 г испытуемого продукта разводят 1:10 в соответствии с указаниями, приведенными в общей фармакопейной статье *2.1.6.6,* и используют 10 мл или количество, соответствующее 1 г или 1 мл, для инокуляции в подходящее количество, определенное как описано в разделе 3.4 данной общей фармакопейной статьи соево-казеинового бульона и перемешивают. При испытании трансдермальных пластырей, плёнок, диспергируемых в полости рта, объём образца, соответствующий одному пластырю или одной плёнке, подготовленного в соответствии с указаниями, приведенными в разделе 4.5.1 общей фармакопейной статьи *2.1.6.6*, пропускают через стерильный мембранный фильтр, который затем помещают в 100 мл соево-казеинового бульона. Инкубируют при температуре от 30 °С до 35 °С в течение от 18 ч до 24 ч.

4.5.2. Выделение и пересев

Пересевают на чашки с маннитол-солевым агаром и инкубируют при температуре от 30 °С до 35 °С в течение от 18 ч до 72 ч.

4.5.3. Интерпретация результатов

Рост жёлтых (белых) колоний, окруженных жёлтой зоной, указывает на возможное присутствие *S. aureus*. Подтверждают идентификационными испытаниями.

Испытуемый продукт выдерживает испытание, если колонии *S. aureus* отсутствуют или получены отрицательные результаты идентификационных испытаний.

4.6. CLOSTRIDIA

4.6.1. Подготовка образца и тепловая обработка

Подготавливают образец, используя разведение 1:10 не менее 2 г или 2 мл продукта (с минимальным общим объёмом 20 мл), как описано в общей фармакопейной статье *2.1.6.6,* и делят на две части, каждая не менее 10 мл. Нагревают одну часть при температуре 80 °С в течение 10 мин и быстро охлаждают. Другую часть не нагревают.

4.6.2. Выделение и пересев

Вносят 10 мл или количество, соответствующее 1 г или 1 мл испытуемого образца, из обеих частей испытуемого образца в подходящее количество, определенное как описано в разделе 3.4 данной общей фармакопейной статьи*,* обогащенной среды для клостридий. Инкубируют в анаэробных условиях при температуре от 30 °С до 35 °С в течение 48 ч. После инкубации из каждой ёмкости делают пересевы на колумбийский агар и инкубируют в анаэробных условиях при температуре от 30 °С до 35 °С в течение от 48 ч до 72 ч.

4.6.3. Интерпретация результатов

Наличие роста в анаэробных условиях бактерий в форме палочек (с эндоспорами или без них), дающих отрицательную каталазную реакцию, указывает на присутствие клостридий. Подтверждают идентификационными испытаниями.

Испытуемый продукт выдерживает испытание, если колонии клостридий отсутствуют или получены отрицательные результаты идентификационных испытаний.

4.7. CANDIDA ALBICANS

4.7.1. Подготовка образца и предварительная инкубация

Испытуемый продукт подготавливают, как описано в общей фармакопейной статье *2.1.6.6*, и используют не менее 10 мл или количество, соответствующее не менее 1 г или 1 мл, для инокуляции в 100 мл бульона Сабуро с декстрозой, перемешивают и инкубируют при температуре от 30 °С до 35 °С в течение от 3 сут до 5 сут.

4.7.2. Выделение и пересев

Пересевают на чашки с агаром Сабуро с декстрозой и инкубируют при температуре от 30 °С до 35 °С в течение от 24 ч до 48 ч.

4.7.3. Интерпретация результатов

Рост белых колоний указывает на возможное присутствие *C. albicans*. Подтверждают идентификационными испытаниями.

Испытуемый продукт выдерживает испытание, если колонии *C. albicans* отсутствуют или получены отрицательные результаты идентификационных испытаний.

Данный раздел приводится для информации.

5. РЕКОМЕНДУЕМЫЕ РАСТВОРЫ И ПИТАТЕЛЬНЫЕ СРЕДЫ

Описанные далее растворы и питательные среды рекомендованы и пригодны для использования в фармакопейных испытаниях на микробиологическую чистоту. Могут быть использованы и другие среды, при условии, что их пригодность может быть доказана.

Исходный буферный раствор. 34 г калия дигидрофосфата помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, растворяют в 500 мл воды очищенной, доводят pH полученного раствора до значения 7,0–7,4 с помощью натрия гидроксида, доводят водой очищенной до объема 1000,0 мл и перемешивают. Распределяют по ёмкостям и стерилизуют. Хранят при температуре от 2 °C до 8 °C.

Фосфатный буферный раствор с pH 7,2. Готовят смесь исходного буферного раствора и воды очищенной (1:800 *об/об*) и стерилизуют.

Натрия хлорида и пептона забуференный раствор с pH 7,0

Калия дигидрофосфат	3,6 г
Динатрия гидрофосфата дигидрат	7,2 г, эквивалентно 0,067 М фосфата
Натрия хлорид	4,3 г
Пептон (мясной или казеиновый)	1,0 г
Вода очищенная	1000 мл

Стерилизуют в автоклаве, используя валидированный цикл.

Соево-казеиновый бульон

Панкреатический гидролизат *(перевар)*казеина	17,0 г
Папаиновый гидролизат *(перевар)*соевых бобов	3,0 г
Натрия хлорид	5,0 г
Дикалия гидрофосфат	2,5 г
Глюкоза моногидрат	2,5 г
Вода очищенная	1000 мл

Значение pH доводят таким образом, чтобы после стерилизации его значение составляло от 7,1 до 7,5 при температуре 25 °C. Стерилизуют в автоклаве, используя валидированный цикл.

Соево-казеиновый агар

Панкреатический гидролизат *(перевар)* казеина	15,0 г
Папаиновый гидролизат *(перевар)* соевых бобов	5,0 г
Натрия хлорид	5,0 г
Агар	15,0 г
Вода очищенная	1000 мл

Значение pH доводят таким образом, чтобы после стерилизации его значение составляло от 7,1 до 7,5 при температуре 25 °C. Стерилизуют в автоклаве, используя валидированный цикл.

Агар Сабуро с декстрозой

Декстроза	40,0 г
Смесь пептического гидролизата *(перевара)* животной ткани и панкреатического гидролизата *(перевара)* казеина (1:1)	10,0 г
Агар	15,0 г
Вода очищенная	1000 мл

Значение pH доводят таким образом, чтобы после стерилизации его значение составляло от 5,4 до 5,8 при температуре 25 °C. Стерилизуют в автоклаве, используя валидированный цикл.

Картофельный агар с декстрозой

Экстракт из картофеля	200 г
Декстроза	20,0 г
Агар	15,0 г
Вода очищенная	1000 мл

Значение pH доводят таким образом, чтобы после стерилизации его значение составляло от 5,4 до 5,8 при температуре 25 °C. Стерилизуют в автоклаве, используя валидированный цикл.

Бульон Сабуро с декстрозой

Декстроза	20,0 г
Смесь пептического гидролизата *(перевара)* животной ткани и панкреатического гидролизата *(перевара)* казеина (1:1)	10,0 г
Вода очищенная	1000 мл

Значение pH доводят таким образом, чтобы после стерилизации его значение составляло от 5,4 до 5,8 при температуре 25 °C. Стерилизуют в автоклаве, используя валидированный цикл.

Бульон Мосселя для обогащения энтеробактерий

Панкреатический гидролизат *(перевар)* желатина	10,0 г
Глюкоза моногидрат	5,0 г
Бычья желчь, сухая	20,0 г
Калия дигидрофосфат	2,0 г
Динатрия гидрофосфат дигидрат	8,0 г
Бриллиантовый зелёный	15 мг
Вода очищенная	1000 мл

Значение pH доводят таким образом, чтобы после нагревания его значение составляло от 7,0 до 7,4 при температуре 25 °C. Нагревают при температуре 100 °C в течение 30 мин и немедленно охлаждают.

Фиолетово-красный желчный агар с глюкозой

Дрожжевой экстракт	3,0 г
Панкреатический гидролизат *(перевар)*желатина	7,0 г
Соли желчных кислот	1,5 г
Натрия хлорид	5,0 г
Глюкоза моногидрат	10,0 г
Агар	15,0 г
Нейтральный красный	30 мг
Кристаллический фиолетовый	2 мг
Вода очищенная	1000 мл

Значение pH доводят таким образом, чтобы после нагревания его значение составляло от 7,2 до 7,6 при температуре 25 °С. Нагревают до кипения, не автоклавируют.

Бульон МакКонки

Панкреатический гидролизат *(перевар)*желатина	20,0 г
Лактоза моногидрат	10,0 г
Бычья желчь, сухая	5,0 г
Бромкрезоловый пурпурный	10 мг
Вода очищенная	1000 мл

Значение pH доводят таким образом, чтобы после стерилизации его значение составляло от 7,1 до 7,5 при температуре 25 °С. Стерилизуют в автоклаве, используя валидированный цикл.

Агар МакКонки

Панкреатический гидролизат *(перевар*) желатина	17,0 г
Пептоны (мясной и казеиновый)	3,0 г
Лактоза моногидрат	10,0 г
Натрия хлорид	5,0 г
Соли желчных кислот	1,5 г
Агар	13,5 г
Нейтральный красный	30,0 мг
Кристаллический фиолетовый	1 мг
Вода очищенная	1000 мл

Значение pH доводят таким образом, чтобы после стерилизации его значение составляло от 6,9 до 7,3 при температуре 25 °С. Кипятят в течение одной минуты при постоянном встряхивании, затем стерилизуют в автоклаве, используя валидированный цикл.

Соевый бульон Раппопорта-Вассилиадиса для обогащения *Salmonella*

Соевый пептон	4,5 г
Магния хлорид гексагидрат	29,0 г
Натрия хлорид	8,0 г
Дикалия гидрофосфат	0,4 г
Калия дигидрофосфат	0,6 г
Малахитовый зелёный	0,036 г
Вода очищенная	1000 мл

Растворяют, осторожно нагревая. Стерилизуют в автоклаве, используя валидированный цикл, при температуре не выше 115 °С. После нагревания и автоклавирования значение pH должно составлять от 5,0 до 5,4 при температуре 25 °С.

Ксилоза-лизин-дезоксихолатный агар

Ксилоза	3,5 г
L-Лизин	5,0 г
Лактоза моногидрат	7,5 г
Сахароза	7,5 г
Натрия хлорид	5,0 г
Дрожжевой экстракт	3,0 г
Феноловый красный	80 мг
Агар	13,5 г
Натрия дезоксихолат	2,5 г
Натрия тиосульфат	6,8 г
Железа аммония цитрат	0,8 г
Вода очищенная	1000 мл

Значение pH доводят таким образом, чтобы после нагревания его значение составляло от 7,2 до 7,6 при температуре 25 °С. Нагревают до кипения, охлаждают до температуры 50 °С и разливают по чашкам Петри. Не автоклавируют.

Цетримидный агар

Панкреатический гидролизат *(перевар)* желатина	20,0 г
Магния хлорид	1,4 г
Дикалия сульфат	10,0 г
Цетримид	0,3 г
Агар	13,6 г
Вода очищенная	1000 мл
Глицерин	10,0 мл

Нагревают до кипения и кипятят в течение одной минуты, встряхивая. Значение pH доводят таким образом, чтобы после стерилизации его значение составляло от 7,0 до 7,4 при температуре 25 °С. Стерилизуют в автоклаве, используя валидированный цикл.

Маннитол-солевой агар

Панкреатический гидролизат *(перевар)* казеина	5,0 г
Пептический гидролизат *(перевар)* животной ткани	5,0 г
Говяжий экстракт	1,0 г
D-Маннитол	10,0 г
Натрия хлорид	75,0 г
Агар	15,0 г
Феноловый красный	0,025 г
Вода очищенная	1000 мл

Нагревают до кипения и кипятят в течение одной минуты, встряхивая. Значение pH доводят таким образом, чтобы после стерилизации его значение составляло от 7,2 до 7,6 при температуре 25 °С. Стерилизуют в автоклаве, используя валидированный цикл.

Обогащенная среда для клостридий

Говяжий экстракт	10,0 г
Пептон	10,0 г
Дрожжевой экстракт	3,0 г
Растворимый крахмал	1,0 г
Глюкоза моногидрат	5,0 г
Цистеина гидрохлорид	0,5 г
Натрия хлорид	5,0 г
Натрия ацетат	3,0 г
Агар	0,5 г
Вода очищенная	1000 мл

Агар замачивают и растворяют, нагревая до кипения при постоянном перемешивании. При необходимости, значение pH доводят таким образом, чтобы после стерилизации его значение составляло от 6,6 до 7,0 при температуре 25 °C. Стерилизуют в автоклаве, используя валидированный цикл.

Колумбийский агар

Панкреатический гидролизат *(перевар)* казеина	10,0 г
Пептический гидролизат *(перевар)* животной ткани	5,0 г
Панкреатический гидролизат *(перевар)* сердца	3,0 г
Дрожжевой экстракт	5,0 г
Кукурузный крахмал	1,0 г
Натрия хлорид	5,0 г
Агар, в зависимости от гелеобразующей способности	от 10,0 г до 15,0 г
Вода очищенная	1000 мл

Агар замачивают, растворяют, нагревая до кипения при постоянном перемешивании. При необходимости, значение pH доводят таким образом, чтобы после стерилизации его значение составляло от 7,1 до 7,5 при температуре 25 °C. Стерилизуют в автоклаве, используя валидированный цикл. Охлаждают до температуры 45 °C – 50 °C, прибавляют, при необходимости, гентамицина сульфат в количестве, соответствующем 20 мг гентамицина основания, и разливают по чашкам Петри.