



НАЦІОНАЛЬНИЙ СТАНДАРТ УКРАЇНИ

ЗАСОБИ ХІМІЧНІ ДЕЗІНФЕКЦІЙНІ ТА АНТИСЕПТИЧНІ ОСНОВНА БАКТЕРИЦИДНА АКТИВНІСТЬ

Частина 1. Метод випробовування
та вимоги (стадія 1)

(EN 1040:1997, IDT)

ДСТУ EN 1040:2004

БЗ № 4–2004/142

Видання офіційне

Нормативно-правовая библиотека

НОРМАТИВ ПРО

(044) 537-1589, 599-7658

www.normativ.ua

Київ
ДЕРЖСПОЖИВСТАНДАРТ УКРАЇНИ
2005

ПЕРЕДМОВА

1 РОЗРОБЛЕНО: Науково-виробниче підприємство ТОВ «Лабораторія меддезкомп»

ПЕРЕКЛАД І НАУКОВО-ТЕХНІЧНЕ РЕДАГУВАННЯ: **А. Зарицький**, д-р мед. наук; **Т. Глушкевич**;
Н. Холстїніна

2 НАДАНО ЧИННОСТІ: наказ Держспоживстандарту України від 28 травня 2004 р. № 102 з 2005–07–01

3 Національний стандарт відповідає EN 1040:1997 Chemical disinfectants and antiseptics — Basic bactericidal activity — Test method and requirements (phase 1) (Засоби хімічні дезінфекційні та антисептичні. Основна бактерицидна активність. Метод випробовування та вимоги (стадія 1)). Стандарт видано з дозволу CEN

Ступінь відповідності — ідентичний (IDT)

Переклад з англійської (en)

4 УВЕДЕНО ВПЕРШЕ

Право власності на цей документ належить державі.
Відтворювати, тиражувати і розповсюджувати його повністю чи частково
на будь-яких носіях інформації без офіційного дозволу заборонено.
Стосовно врегулювання прав власності треба звертатися до Держспоживстандарту України

Держспоживстандарт України, 2005

ЗМІСТ

	С.
Національний вступ	IV
Вступ	IV
1 Сфера застосування	1
2 Нормативні посилання	1
3 Терміни та визначення понять	2
3.1 Продукт (для хімічного дезінфекційного і (або) антисептичного оброблення)	2
3.2 Бактерицид	2
3.3 Бактерицидна активність	2
4 Вимоги	2
5 Метод випробовування	2
5.1 Суть методу	2
5.2 Матеріали і реагенти	2
5.3 Апаратура і скляні вироби	3
5.4 Готування бактеріальних суспензій і випробовувальних розчинів	4
5.5 Суть методу	6
5.6 Визначання і подання результатів	7
5.7 Висновок	9
5.8 Протокол випробовування	10
Додаток А Валідація методу з нейтралізуванням розведеного розчину і методу з фільтруванням через мікропористу мембрану	11
Додаток В Нейтралізувальні речовини	13
Додаток С Промивні рідини	14
Додаток D Приклад типового протоколу випробовування	14
Додаток Е Еталонні штами в національних колекціях	16
Додаток F Точність результатів випробування	17
Додаток G Інформація про застосування й інтерпретацію європейських стандартів щодо хімічних дезінфекційних та антисептичних засобів	19

НАЦІОНАЛЬНИЙ ВСТУП

Цей стандарт є тотожний переклад EN 1040:1997 Chemical disinfectants and antiseptics — Basic bactericidal activity — Test method and requirements (phase 1) (Засоби хімічні дезінфекційні та антисептичні. Основна бактерицидна активність. Метод випробовування та вимоги (стадія 1)).

Організація, відповідальна за цей стандарт, — ТОВ «Лабораторія меддезкомп».

Стандарт містить вимоги, які відповідають чинному законодавству України.

До стандарту внесено такі редакційні зміни:

— слова «цей європейський стандарт» замінено на «цей стандарт»;

— до розділу 2 «Нормативні посилання» долучено «Національне пояснення», виділене рамкою;

— структурні елементи стандарту: «Обкладинку», «Передмову», «Національний вступ» та «Бібліографічні дані» — оформлено згідно з вимогами національної стандартизації України.

Одиниці фізичних величин «л», «мл», замінено на «дм³» та «см³».

Копії документів, на які є посилання в тексті стандарту, можна отримати в Головному фонді нормативних документів ДП «УкрНДНЦ».

ВСТУП

У цьому стандарті розглядають метод випробовування, з використанням суспензій, призначений для того, щоб оцінити, володіє або не володіє хімічний дезінфекційний та антисептичний засоби бактерицидною активністю в лабораторних умовах, визначених у цьому стандарті. Якщо продукт відповідає вимогам результатів випробувань, то можна стверджувати, що він має бактерицидну активність. Метод, що відповідає цьому стандарту, не призначений для визначення придатності хімічного дезінфекційного та антисептичного засобів для застосування з визначеною метою. Хімічні дезінфекційні та антисептичні засоби підлягають подальшому перевірці за допомогою відповідних процедур випробовування, передбачених стандартами, щоб оцінити активність цих засобів в умовах їхнього передбачуваного застосування¹⁾.

Відсутні будь-які ознаки того, що штами, які використовують у процедурах, розглянутих у цьому стандарті, є вірулентними.

¹⁾ Відповідні процедури випробовування будуть розроблені комітетом CEN/TC 216.

НАЦІОНАЛЬНИЙ СТАНДАРТ УКРАЇНИ

**ЗАСОБИ ХІМІЧНІ ДЕЗІНФЕКЦІЙНІ ТА АНТИСЕПТИЧНІ
ОСНОВНА БАКТЕРИЦИДНА АКТИВНІСТЬ**
Частина 1. Метод випробовування та вимоги (стадія 1)
**ХИМИЧЕСКИЕ ДЕЗИНФЕКЦИОННЫЕ
И АНТИСЕПТИЧЕСКИЕ СРЕДСТВА
ОСНОВНАЯ БАКТЕРИЦИДНАЯ АКТИВНОСТЬ**
Метод испытания и требования (стадия 1)
**CHEMICAL DISINFECTANTS AND ANTISEPTICS
BASIC BACTERICIDAL ACTIVITY**
Test method and requirements (phase 1)

Чинний від 2005-07-01

1 СФЕРА ЗАСТОСУВАННЯ

Цей стандарт визначає метод випробовування (стадія 1) і мінімальний обсяг вимог до їх результатів бактерицидної активності хімічних дезінфекційних та антисептичних засобів, що утворюють однорідну, фізично стабільну суспензію під час змішування з водою. Цей стандарт поширюється на продукти, призначені для застосування в сільському господарстві (але не для захисту рослин), у домашньому господарстві, для забезпечення необхідного санітарно-гігієнічного стану підприємств харчової промисловості, а також в інших галузях промисловості, у лабораторіях, у медичних і ветеринарних установах.

Примітка 1. За допомогою цього стандарту не можна визначити бактерицидну активність чистого нерозведеного продукту, тому що під час додавання лабораторного посівного матеріалу завжди одержують розведений продукт.

Примітка 2. Цей стандарт не призначений для оцінювання бактерицидної активності продукту з метою визначення придатності продукту до застосування відповідно до його призначеності. Для подальшого оцінювання ефективності хімічних дезінфекційних та антисептичних засобів, призначених для застосування з визначеною метою, використовують спеціальні методи випробовування, визначені в стандартах (див. Вступ).

Примітка 3. Розглянутий метод випробовування являє собою метод, використовуваний на етапі 1 (див. додаток G).

2 НОРМАТИВНІ ПОСИЛАННЯ

Наведені нижче нормативні документи містять положення, які через посилання в цьому стандарті становлять положення цього національного стандарту. У разі датованих посилань пізніші зміни до будь-якого з цих видань або перегляд їх не застосовують. Однак учасникам угод, базованих на цьому стандарті, необхідно визначити можливість застосування найновіших видань нормативних документів. Члени ІЕС та ІСО впорядковують каталоги чинних міжнародних стандартів.

prEN 12353 Chemical disinfectants and antiseptics — Preservation of microbial strains used for the determination of bactericidal and fungicidal activity.

НАЦІОНАЛЬНЕ ПОЯСНЕННЯ

prEN 12353 Хімічні дезінфекційні та антисептичні засоби. Зберігання мікробіологічних штамів, використовуваних для визначення бактерицидної та фунгіцидної активності.

3 ТЕРМІНИ ТА ВИЗНАЧЕННЯ ПОНЯТЬ

Для цілей цього стандарту використовують терміни та їх визначення, розглянуті нижче.

3.1 продукт (для хімічного дезінфекційного і (або) антисептичного оброблення) (*product (for chemical disinfection and/or antiseptics)*)

Хімічний агент або сполука, застосовувані як хімічний дезінфекційний та антисептичний засіб

3.2 бактерицид (*bactericide*)

Продукт, призначений для знищення вегетативних бактерій у визначених умовах.

Примітка. Іменнику «бактерицид» відповідає прикметник «бактерицидний»

3.3 бактерицидна активність (EN 1040) (*bactericidal activity (EN 1040)*)

Здатність продукту зменшувати кількість життєздатних бактеріальних клітин відповідних мікроорганізмів в умовах, визначених цим стандартом.

4 ВИМОГИ

Продукт, що його випробовують відповідно до розділу 5, повинен забезпечувати логарифмічний показник зниження рівня життєздатності бактерій, що відповідає абсолютному зменшенню кількості життєздатних бактерій у $10^5 \log$, в умовах, коли в якості мікроорганізмів під час випробування використовують штами бактерій *Pseudomonas aeruginosa* і *Staphylococcus aureus*.

5 МЕТОД ВИПРОБОВУВАННЯ

5.1 Суть методу

5.1.1 Випробну суспензію бактерій додають до відібраної проби випробного продукту. Суміш зберігають за температури 20 °C. Через визначений період часу взаємодії компонентів, що вибирають рівним 1 хв, 5 хв, 15 хв, 30 хв, 45 хв або 60 хв \pm 10 с, відбирають аліквотну пробу суміші, після чого негайно нейтралізують або пригнічують бактерицидну дію відібраної аліквотної проби, використовуючи перевірений метод стерилізування. Як основний метод прийнято метод із нейтралізуванням розведеного розчину. Якщо придатну нейтралізувальну речовину підібрати неможливо, то використовують метод із фільтруванням через мікропористу мембрану. Потім визначають кількість життєздатних бактерій у кожній пробі, і розраховують показник зниження рівня життєздатності бактерій.

5.1.2 Випробовування виконують, використовуючи штами бактерій *Pseudomonas aeruginosa* і *Staphylococcus aureus*.

5.2 Матеріали і реагенти

5.2.1 Випробні мікроорганізми

Бактерицидну активність перевіряють, використовуючи такі два штами:

Pseudomonas aeruginosa ATCC 15442²⁾

Staphylococcus aureus ATCC 6538²⁾

Примітка. Відповідні номери штамів із деяких інших колекцій біологічних культур наведено в додатку Е.

5.2.2 Поживне середовище і реагенти

5.2.2.1 Загальні положення

Реагенти повинні належати до типу аналітичних реагентів і повинні бути придатними для мікробіологічних досліджень.

²⁾ ATCC 15442 та ATCC 6538 — номери штамів у колекціях біологічних культур, що постачаються Центром колекцій типових біологічних культур (American Type Culture Collection). Цю інформацію наведено лише для зручності користувачів цього стандарту, і не означає, що комітет СЕН наполягає на обов'язковому використуванні вказаних продуктів. Відповідні продукти, що постачаються з інших колекцій біологічних культур, можна використовувати лише у випадку, якщо доведено, що вони забезпечують такі самі результати, як і вказані продукти.

Примітка. Для підвищення ступеня відтворності результатів випробування, під час готування поживного середовища рекомендують використовувати зневоднені продукти, що постачають для продажу. Необхідно чітко дотримуватися інструкцій виробників, що стосуються готування поживного середовища з використанням таких продуктів.

5.2.2.2 Вода

У воді повинні бути відсутні токсичні речовини або речовини, що пригнічують життєздатність бактерій. Можна використовувати лише свіжу здистильовану воду, приготовану в скляному посуді, і не можна використовувати здемінералізовану воду.

Проведіть стерилізацію води в паровому стерилізаторі (див. 5.3.1).

Примітка 1. Якщо вода простерилізована в процесі стерилізація реагентів, то обробляти воду в паровому стерилізаторі не потрібно.

Примітка 2. Якщо здистильована вода необхідної якості відсутня, можна використовувати воду для готування препаратів, призначених для ін'єкцій (відповідно до вимог Європейської фармакопеї).

5.2.2.3 Триптонно-соевий агар (ТСА)

Цей агар призначений для зберігання бактеріальних штамів і визначання вмісту життєздатних бактерій.

Триптон (панкреатичний гідролізат казеїну)	15,0 г
Соевий пептон (папаїновий гідролізат соєвого кормового продукту)	5,0 г
NaCl	5,0 г
Агар	15,0 г
Вода (див. 5.2.2.2)	До 1000,0 см ³

Проведіть стерилізацію агару в паровому стерилізаторі (див. 5.3.1). Показник рН середовища після стерилізації повинен складати $7,2 \pm 0,2$ (вимірюють за температури 20 °С).

5.2.2.4 Розчин для розводження

Розчин триптон і хлориду натрію:

Триптон (панкреатичний гідролізат казеїну)	1,0 г
NaCl	8,5 г
Вода (див. 5.2.2.2)	До 1000,0 см ³

Проведіть стерилізацію розчину для розводження в паровому стерилізаторі (див. 5.3.1). Показник рН середовища після стерилізації повинен становити $7,0 \pm 0,2$ (вимір здійснюють за температури 20 °С).

5.2.2.5 Нейтралізувальна речовина

Необхідно перевірити, відповідно до додатка А, придатність нейтралізувальної речовини до використання разом із випробним продуктом. Нейтралізувальна речовина повинна бути стерильною.

Примітка. Інформацію про нейтралізувальні речовини, які можна використовувати під час випробування продуктів деяких категорій, наведено в додатку В.

5.2.2.6 Промивна рідина (під час фільтрування через мікропористу мембрану)

Промивна рідина повинна бути стерильна, сумісна з фільтрувальною мембраною і забезпечувати можливість фільтрувати через фільтрувальну мембрану в умовах випробування, зазначених у додатку А.

Примітка. Інформацію про промивні рідини, які можна використовувати під час випробування продуктів деяких категорій, наведено в додатку С.

5.3 Апаратура і скляні вироби

5.3.1 Загальні положення

Проведіть стерилізацію скляних виробів й елементів апаратури, що будуть стикатися з поживним середовищем і реагентами або пробою, за винятком тих елементів скляних виробів і апаратури, що постачаються стерильними, використовуючи один із таких методів:

- обробляння в паровому стерилізаторі (див. 5.3.2.1) за температури 121^{+3}_0 °С і експозиції 15 хв;
- обробляння у повітряному стерилізаторі (див. 5.3.2.1) за температури 180 °С і експозиції 30 хв, за температури 170 °С і експозиції 1 год, або за температури 160 °С і експозиції 2 год.

³⁾ Скляний посуд багаторазового використання дозволено використовувати елементи апаратури.

5.3.2 Звичайне устаткування³⁾ для мікробіологічних лабораторій, зокрема таке:

5.3.2.1 Апаратура для стерилізації:

а) для стерилізації парю — паровий стерилізатор, що забезпечує підтримування стабільної температури (121 ± 3) °С за мінімальної експозиції 15 хв;

б) для стерилізації сухим повітрям — повітряний стерилізатор, що забезпечує підтримування стабільної температури 180 °С за мінімальної експозиції 30 хв, 170 °С за мінімальної експозиції 1 год, або 160 °С за мінімальної експозиції 2 год.

5.3.2.2 Водяні бані, що забезпечують підтримування стабільних температур (20 ± 1) °С і (45 ± 1) °С.

5.3.2.3 Термостат, що забезпечує підтримування стабільних температур (36 ± 1) °С і (37 ± 1) °С. Термостат, що забезпечує підтримування стабільної температури (37 ± 1) °С можна використовувати, якщо відсутній термостат, розрахований на (36 ± 1) °С.

5.3.2.4 Вимірник показника рН (рН-метр), калібрований з точністю $\pm 0,1$ рН за температури (25 ± 1) °С.

5.3.2.5 Таймер.

5.3.2.6 Вихровий змішувач (електромеханічний змішувач, наприклад змішувач Vortex^{R4})

5.3.2.7 Мембранний фільтрувальний апарат (якщо застосовують відповідний метод), виготовлений з матеріалу, сумісного з випробним продуктом, і обладнаний фільтроутримувачем, корисна місткість якого складає 50 см³, що дозволяє встановлювати фільтри діаметром від 47 мм до 50 мм, із порами розміром 0,45 мкм.

Використовуване джерело вакууму повинне забезпечувати рівномірний потік промивної рідини під час фільтрування. Для того, щоб створити умови для рівномірного розподілу мікроорганізмів по поверхні мембрани і унеможливити надмірне збільшення часу фільтрування, апарат повинен забезпечувати можливість фільтрування 100 см³ промивної рідини протягом періоду часу від 20 с до 40 с.

5.3.2.8 Посуд: пробірки або колби відповідної місткості

5.3.2.9 Піпетки з мірними поділами, номінальною місткістю 10 дм³, 1 дм³ і 0,1 дм³. Можна використовувати калібровані автоматичні піпетки.

5.3.2.10 Чашки Петрі, розміром від 90 мм до 100 мм.

5.3.2.11 Скляні кульки (діаметром від 3 мм до 4 мм).

5.3.2.12 Мірні колби, калібровані за температури 20 °С.

5.3.2.13 Механічний струшувач.

5.4 Готування бактеріальних суспензій і випробовувальних розчинів

5.4.1 Бактеріальні суспензії

5.4.1.1 Маточні культури випробних мікроорганізмів

Маточні культури необхідно зберігати згідно з вимогами prEN 12353.

5.4.1.2 Робочі культури випробних мікроорганізмів

Робочу культуру бактерій *Pseudomonas aeruginosa* готують із субкультури маточної культури (див. 5.4.1.1), роблячи посів штрихом на скошеному триптонно-соевому агарі (ТСА), з подальшим інкубуванням (див. 5.3.2.3). Через період часу від 18 год до 24 год приготуйте другу субкультуру з першої субкультури, виконавши вищезазначену процедуру, і помістіть у термостат на період часу від 18 год до 24 год. З цієї другої субкультури можна приготувати, у такий само спосіб, третю субкультуру.

Примітка. Друга і третя субкультури є робочими культурами.

Якщо другу субкультуру не можна приготувати на визначений день, то для готування наступних субкультур можна використовувати 48-годинну субкультуру, але за умови, що цю субкультуру зберігали в термостаті протягом 48 год. У цьому випадку приготуйте наступні 24-годинні субкультури після витримання вихідної субкультури в термостаті. Немає необхідності готувати четверту субкультуру.

Для приготування робочої культури бактерій *Staphylococcus aureus* використовуйте таку саму процедуру.

⁴⁾ Змішувач Vortex^{R4} є прикладом апаратури, що постачається для продажу. Дану інформацію наведено лише для зручності користувачів, й не означає, що комітет CEN наполягає на обов'язковому використуванні зазначеного змішувача.

5.4.1.3 Випробні бактеріальні суспензії

Візьміть 10 см³ розчину для розводження (див. 5.2.2.4) і помістіть у колбу, місткістю 100 дм³, зі скляними кульками, що знаходяться у ній, загальною масою 5 г (див. 5.3.2.11). Візьміть робочу культуру (див. 5.4.1.2) і перенесіть бактеріологічні петлі в розчин для розводження. Для зважування клітин у розчині для розводження необхідно занурити бактеріологічну петлю в розчин для розводження і потерти її об стінку колби, щоб роз'єднати клітини. Струшуйте колбу протягом 3 хв, використовуючи механічний струшувач (див. 5.3.2.13). Відсмоктуванням відберіть суспензію з поверхонь скляних кульок і перенесіть у пробірку. Задайте кількість клітин у суспензії, що відповідає від $1,5 \cdot 10^8$ до $1,5 \cdot 10^8$ к.у.о./см³⁵⁾, використовуючи для цього розчин для розводження і контролювальну кількість колонієутворювальних одиниць за допомогою будь-якого прийнятного засобу. Зберігайте приготовану суспензію у водяній бані за температури $(20 \pm 1) ^\circ\text{C}$. Використовувати суспензію необхідно протягом 2 год.

Для визначання вмісту життєздатних бактерій у випробній бактеріальній суспензії приготуйте розведені розчини випробної суспензії, з коефіцієнтами розведення 10^{-6} і 10^{-7} (див. 5.4.1.3), використовуючи розчин для розводження (див. 5.2.2.4). Перемішайте (див. 5.3.2.6). Візьміть пробу 1,0 см³ кожного розведеного розчину і помістіть в окрему чашку Петрі (див. 5.3.2.10), потім додайте від 12 см³ до 15 см³ розплавленого триптоно-соєвого агару (ТСА) (див. 5.2.2.3), охолодженого до температури $(45 \pm 1) ^\circ\text{C}$.

5.4.1.4 Визначання вмісту життєздатних бактерій у випробних бактеріальних суспензіях

Помістіть чашки Петрі в термостат, за температури $(36 \pm 1) ^\circ\text{C}$ чи $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$, на 24 год. Видаліть будь-які чашки, у яких визначити вміст життєздатних бактерій неможливо (з будь-якої причини). Підрахуйте кількість життєздатних бактерій на чашках і визначте кількість колонієутворювальних одиниць для кожної чашки. Знову помістіть чашки в термостат на 24 год. Не враховуйте повторно ті чашки Петрі, на яких відсутні колонії бактерій, чітко відділені одна від іншої.

Повторно підрахуйте кількість життєздатних бактерій на чашках, що залишилися. Визначте найбільшу кількість колоній життєздатних бактерій у кожній пробі 1,0 см³. Обчисліть кількість колонієутворювальних одиниць у 1 см³ контрольної суспензії (N), використовуючи метод, зазначений у 5.6.1.1.

5.4.2 Випробний розчин продукту

Запишіть дані про проби продукту в стані після його одержання.

Необхідно приготувати випробні розчини продукту з трьома різними концентраціями, з яких хоча б дві концентрації знаходилися в діапазоні активних концентрацій. Концентрації повинні зменшуватися в геометричній прогресії з показником не менше 2 (тобто ступінь розведення кожного наступного випробного розчину повинна збільшуватися, принаймні, у два рази). Концентрація випробного розчину продукту повинна в 1,25 рази перевищувати концентрацію, необхідну для випробування бактерицидної активності.

Примітка. Продукт, у стані після його одержання, можна використовувати як один із випробних розчинів продукту.

Якщо продукт твердий, розчиніть отриманий продукт, зваживши не менше $1 \text{ г} \pm 10 \text{ мг}$ продукту в мірній колбі і заповнивши колбу водою (див. 5.2.2.2). Наступні розведені розчини необхідно готувати в мірних колбах (див. 5.3.2.12), підбираючи необхідне співвідношення компонентів по об'єму.

Якщо продукт рідкий, то для одержання розведених розчинів необхідно розвести продукт водою (див. 5.2.2.2), за необхідного співвідношення об'ємів компонентів, використовуючи мірні колби (див. 5.3.2.12).

Концентрація розчину продукту, зазначена в протоколі випробування, є випробною концентрацією. Реєструйте випробні концентрації у виді співвідношення об'ємів або компонентів у виді відношення маси до об'єму.

Випробні розчини продукту необхідно готувати безпосередньо перед процедурою випробування і використовувати протягом не більше одного робочого дня (або протягом меншого періоду часу, якщо для розчину характерна низька стабільність).

⁵⁾ Кількість колонієутворювальних одиниць у 1 см³.

5.5 Суть методу

5.5.1 Загальні положення

Як основний метод обрано метод із нейтралізуванням розведеного розчину. Для випробовування виберіть придатну нейтралізувальну речовину відповідно до процедури, зазначеної нижче. Для валідації методу з нейтралізуванням розведеного розчину (див. А.4.1) використовуйте придатну нейтралізувальну речовину, обрану на підставі лабораторного досвіду й опублікованих даних.

Якщо обрана нейтралізувальна речовина непридатна, повторіть процедуру валідації методу, використовуючи для цього альтернативну нейтралізувальну речовину, що містить суміш полісорбату (ефіру поліоксиетиленової кислоти) 80 з концентрацією 30 г/дм³, сапоніну (30 г/дм³), L-гістидину (1 г/дм³), лецитину (3 г/дм³) і тіосульфату натрію (5 г/дм³) у розчині для розводження (див. 5.2.2.4) або буферному фосфатному розчині (0,0025 моль/дм³). Якщо обидві нейтралізувальні речовини виявилися непридатними, то замість методу з нейтралізуванням розведеного розчину можна використовувати метод із фільтруванням через мікропористу мембрану.

5.5.2 Метод із нейтралізуванням розведеного розчину

5.5.2.1 Загальні положення

Перед випробовуванням приведіть усі реагенти (випробний розчин продукту, воду, випробну бактеріальну суспензію, що нейтралізує речовину) у рівноважний стан, за відповідної температури (20 ± 1) °С, використовуючи для цього водяну баню (див. 5.3.2.2). Перевірте, що температура реагентів стабілізувалася на рівні (20 ± 1) °С.

5.5.2.2 Випробовування бактерицидної активності продуктів

Відберіть піпеткою 8,0 см³ з одного з випробних розчинів продукту і помістіть у місткість відповідного об'єму, потім додайте 1,0 см³ води (див. 5.2.2.2). Додайте 1,0 см³ з однієї з випробних бактеріальних суспензій, що містить від $1,5 \cdot 10^8$ до $1,5 \cdot 10^8$ к.у.о./см³ (див. 5.4.1.3). Потім негайно запустіть таймер (див. 5.3.2.5), перемішайте суміш (див. 5.3.2.6) і помістіть місткість у водяну баню, що забезпечує підтримання стабільної температури (20 ± 1) °С.

Примітка. Під час додавання бактеріальної суспензії в місткість необхідно бути обережним, щоб не доторкнути-ся до верхньої частини місткості.

Активність продукту визначають за період часу взаємодії компонентів, що вибирають рівним 1 хв, 5 хв, 15 хв, 30 хв, 45 хв або 60 хв ± 10 с.

Безпосередньо перед закінченням обраного періоду взаємодії компонентів перемішайте суміш (див. 5.3.2.6). У момент часу закінчення зазначеного періоду відберіть піпеткою 1,0 см³ контрольної суміші в пробірку, що містить 8,0 см³ нейтралізувальної речовини (див. 5.2.2.5) і 1,0 см³ води (див. 5.2.2.2). Перемішайте суміш (див. 5.3.2.6) і помістіть пробірку у водяну баню, що забезпечує підтримання стабільної температури (20 ± 1) °С.

Через період часу нейтралізування, рівний $5 \text{ хв} \pm 10 \text{ с}$, негайно відберіть дві проби по 1,0 см³ нейтралізувальної суміші і перенесіть кожну пробу 1,0 см³ в окрему чашку Петрі (див. 5.3.2.10), потім негайно додайте від 12 см³ до 15 см³ розплавленого триптонно-соєвого агару (ТСА) (див. 5.2.2.3), охолодженого до температури (45 ± 1) °С.

Виконайте зазначену процедуру, використовуючи інші випробні розчини продукту й інші випробні бактеріальні суспензії.

5.5.2.3 Визначання вмісту життєздатних бактерій у випробній суміші

Помістіть чашки Петрі в термостат, за температури (36 ± 1) °С або (37 ± 1) °С, (див. 5.3.2.3) на 24 год. Видаліть будь-які чашки, у яких визначання вмісту життєздатних бактерій неможливо (з будь-якої причини). Підрахуйте кількість життєздатних бактерій на чашках і визначіть кількість колонієутворювальних одиниць для кожної чашки. Знову помістіть чашки в термостат на 24 год. Не враховуйте повторно ті чашки Петрі, на яких відсутні колонії бактерій, чітко відділені одна від іншої. Повторно підрахуйте кількість життєздатних бактерій на чашках, що залишилися. Визначте найбільшу кількість колоній життєздатних бактерій для кожної чашки. Обчисліть кількість колонієутворювальних одиниць у 1 см³ контрольної суспензії (N_a), використовуючи метод, зазначений у 5.6.1.2.

Коефіцієнт розведення під час визначання вмісту життєздатних бактерій у випробній суміші приймають рівним 10^{-1} .

5.5.3 Метод із фільтруванням через мікропористу мембрану

5.5.3.1 Загальне положення

Перед випробовуванням приведіть усі реагенти (випробний розчин продукту, воду, випробну бактеріальну суспензію, промивну речовину) у рівноважний стан, що відповідає температурі (20 ± 1) °С, використовуючи для цього водяну баню (див. 5.3.2.2), що забезпечує підтримування стабільної температури (20 ± 1) °С. Перевірте, що температура реагентів стабілізувалася на рівні (20 ± 1) °С.

5.5.3.2 Випробовування бактерицидної активності продуктів

Відберіть піпеткою $8,0 \text{ см}^3$ з одного з випробовувальних розчинів продукту і помістіть у місткість відповідного об'єму, потім додайте $1,0 \text{ см}^3$ води (див. 5.2.2.2). Додайте $1,0 \text{ см}^3$ з однієї з випробних бактеріальних суспензій, що містить від $1,5 \cdot 10^8$ до $5 \cdot 10^8$ к.у.о./ см^3 (див. 5.4.1.3). Потім негайно запустіть таймер, перемішайте суміш (див. 5.3.2.6) і помістіть місткість у водяну баню, що забезпечує підтримування стабільної температури (20 ± 1) °С.

Примітка 1. Під час додавання бактеріальної суспензії в місткість необхідно бути обережним, щоб не доторкнулися до верхньої частини місткості.

Активність продукту визначають за період часу взаємодії компонентів, що вибирають рівним 1 хв, 5 хв, 15 хв, 30 хв, 45 хв або 60 хв ± 10 с.

Безпосередньо перед закінченням обраного періоду взаємодії компонентів перемішайте суміш (див. 5.3.2.6). У момент часу закінчення зазначеного періоду відберіть піпеткою дві проби по $0,1 \text{ см}^3$ випробної суміші і перенесіть кожну пробу в окремий апарат для фільтрування, у якому знаходиться мікропориста мембрана і який містить 50 см^3 промивної рідини (див. 5.3.2.6). Негайно відфільтруйте суміші. Період часу, необхідний для перенесення проби і фільтрування, не повинен перевищувати 1 хв. Якщо зазначений період часу перевищує 1 хв, то його необхідно зареєструвати в протоколі випробовування. Виконайте промивання, використовуючи не менше 150 см^3 , але не більше 500 см^3 промивної рідини (див. 5.2.2.6). Потім перенесіть мембрани на поверхні двох окремих чашок Петрі триптонно-соєвим агаром (ТСА).

Примітка 2. Під час перенесення мембрани необхідно бути обережним, щоб бактерії знаходилися на верхній поверхні мембрани у разі її розміщення на агарі ТСА і щоб унеможливити потрапляння повітря між поверхнями мембрани й агару.

Виконайте зазначену процедуру, використовуючи інші випробні розчини продукту й інші випробні бактеріальні суспензії.

5.5.3.3 Визначання вмісту життєздатних бактерій у випробній суміші

Помістіть чашки Петрі в термостат, за температури (36 ± 1) °С або (37 ± 1) °С, (див. 5.3.2.3) на 24 год. Видаліть будь-які чашки, у яких визначити вміст життєздатних бактерій неможливо (з будь-якої причини). Підрахуйте кількість життєздатних бактерій на чашках і визначіть кількість колонієутворювальних одиниць для кожної чашки. Знову помістіть чашки в термостат на 24 год. Не враховуйте повторно ті чашки Петрі, на яких відсутні колонії бактерій, чітко відділені одна від іншої. Повторно підрахуйте кількість життєздатних бактерій на чашках, що залишилися. Визначте найбільшу кількість колоній життєздатних бактерій для кожної чашки. Обчисліть кількість колонієутворювальних одиниць у 1 см^3 випробної суспензії (N_a), використовуючи метод, зазначений у 5.6.1.2.

5.5.4 Валідація методу з нейтралізуванням розведеного розчину і методу випробовування з фільтруванням через мікропористу мембрану

Стосовно до кожного штаму бактерій необхідно перевірити, відповідно до додатка А, правильність методу випробовування з нейтралізуванням розведеного розчину і методу випробовування з фільтруванням через мікропористу мембрану.

Процедуру валідації методу (див. додаток А) необхідно виконати одночасно з процедурою випробовування (див. 5.5), використовуючи розчини лише з найбільшою концентрацією, у таких самих умовах (використовування випробної бактеріальної суспензії, випробного розчину продукту, речовини, що нейтралізує, або промивної рідини), як і під час виконання процедури випробовування (див. 5.5.2 або 5.5.3).

5.6 Визначання і подання результатів

5.6.1 Визначання вмісту життєздатних бактерій (кількості колонієутворювальних одиниць у 1 см^3).

5.6.1.1 Випробна бактеріальна суспензія

Вміст життєздатних бактерій у випробній бактеріальній суспензії (див. 5.4.1.4) визначають згідно з вимогами ISO 7218 (див. примітки), використовуючи процедуру, зазначену нижче.

а) Для визначання вмісту життєздатних бактерій необхідно використовувати лише ті кількості колонії бактерій, яким відповідають менше 300 колонієутворювальних одиниць на одну чашку Петрі. Для вірогідності результату необхідно, щоб щонайменше одна чашка Петрі містила не менше 15 колоній. Для визначання вмісту життєздатних бактерій необхідно використовувати не менше двох чашок Петрі, з яких одна або обидві чашки містять більше 15 колоній, а обидві чашки разом містять менше 300 колоній. Якщо чашки Петрі з двома розведеними розчинами задовольняють зазначеним вимогам, визначте кількість колонієутворювальних одиниць у 1 см^3 випробної бактеріальної суспензії як середнє зважене значення. Якщо зазначеним вимогам задовольняють чашки Петрі лише з одним розведеним розчином, то необхідно визначити результат як середнє арифметичне значення.

Примітка. Стандарт ISO 7218 Microbiology — General guidance for microbiological examinations (Мікробіологія. Загальний посібник із мікробіологічного випробовування).

Для визначання середнього зваженого значення кількості колонієутворювальних одиниць у 1 см^3 використовуйте таку формулу:

$$\frac{c}{(n_1 + 0,1 n_2)d},$$

де c — сумарна кількість колоній життєздатних бактерій, визначена на всіх чашках Петрі, що їх враховують під час випробовування;

n_1 — кількість чашок Петрі, що їх враховують під час випробовування першого розведеного розчину;

n_2 — кількість чашок Петрі, що їх враховують під час випробовування другого розведеного розчину;

d — коефіцієнт розведення для першого розведеного розчину, що його враховують під час випробовування.

Округліть розрахункові результати до двох значущих цифр. Використовуйте таке правило зведення: якщо остання цифра менше 5, то попередня цифра залишається без зміни; якщо остання цифра більше 5, то попередню цифру зводять до наступної найближчої парної цифри. Поетапно виконайте зведення, поки не отримаєте результат у вигляді двох цифр.

б) Кількість колонієутворювальних одиниць бактерій у 1 см^3 (к.у.о./ см^3) необхідно подати у вигляді числа в діапазоні від 1,0 до 9,9 помноженого на 10 у відповідному ступені.

Приклад

$$\frac{168 + 215 + 14 + 25}{(2 + 0,1 \cdot 2)10^{-6}} = \frac{422}{2,2 \cdot 10^{-6}} = 1,9182 \cdot 10^8 = 1,9 \cdot 10^8 \text{ (к.у.о./см}^3\text{)}$$

5.6.1.2 Випробовування і процедура валідації методу

Стосовно до процедури випробовування (див. 5.5.2.2 або 5.5.3.2) і процедури валідації методу (див. А.2, А.4.1 і А.4.2), для визначання вмісту життєздатних бактерій використовують метод, зазначений нижче.

Для визначання вмісту життєздатних бактерій необхідно використовувати лише ті кількості колоній бактерій, яким відповідає менше 300 колонієутворювальних одиниць на одну чашку Петрі. Вміст життєздатних бактерій визначають, використовуючи кількість колоній бактерій на двох чашках Петрі. Якщо хоча б одна чашка Петрі містить не менше 15 колоній, то для визначання вмісту життєздатних бактерій (кількості колонієутворювальних одиниць у 1 см^3) використовують таку формулу:

$$\frac{c}{n \cdot d \cdot V},$$

де c — сумарна кількість колоній життєздатних бактерій, визначена на обох чашках Петрі;

n — кількість чашок Петрі, що їх враховують у процедурі;

d — коефіцієнт розведення для розведеного розчину, що його враховують у процедурі, — для процедури випробовування з нейтралізуванням розведеного розчину (див. 5.5.2.3) і для бактеріальної суспензії (див. А.2) дорівнює 10^{-1} ;

V — об'єм проби, що для випробовування з нейтралізуванням розведеного розчину, процедури валідації цього методу (див. 5.5.2.2 і А.4.1.2) і для бактеріальної суспензії (див. А.2) дорівнює $1,0 \text{ см}^3$. Для випробовування з фільтруванням через мікропористу мембрану і процедури валідації цього методу (див. 5.5.3.2 і А.4.2.2) дорівнює $0,1 \text{ см}^3$.

Для випробовування (див. 5.5), у результаті якого кількість колонієутворювальних одиниць, визначена на всіх чашках Петрі, врахованих під час випробовування, виявилася менше 15, зареєструйте вміст життєздатних бактерій у випробній суміші як менше ніж $1,5 \cdot 10^2 \text{ к.у.о./см}^3$ ($< 1,5 \cdot 10^2 \text{ к.у.о./см}^3$). Якщо кількість колонієутворювальних одиниць на всіх чашках Петрі, врахованих під час випробовування, перевищує 300, зареєструйте вміст життєздатних бактерій у випробній суміші як більше ніж $3 \cdot 10^3 \text{ к.у.о./см}^3$ ($> 3 \cdot 10^3 \text{ к.у.о./см}^3$).

5.6.2 Перевіряння правильності методології

Для кожного випробного організму перевірте, чи:

- знаходиться N у діапазоні від $1,5 \cdot 10^8$ до $5 \cdot 10^8 \text{ к.у.о./см}^3$;
- знаходиться N_V у діапазоні від $6 \cdot 10^2$ до $3 \cdot 10^3 \text{ к.у.о./см}^3$;
- N_X дорівнює або більше $0,05 N_V$;
- N_Y дорівнює або більше $0,05 N_V$,

де N — кількість колонієутворювальних одиниць у 1 см^3 випробної бактеріальної суспензії (див. 5.4.1.4),

N_V — кількість колонієутворювальних одиниць у 1 см^3 бактеріальної суспензії (див. А.2),

N_X — кількість колонієутворювальних одиниць у 1 см^3 під час контролювання токсичності нейтралізувальної речовини (див. А.4.1.3) або контролювання ефективності фільтрування (див. А.4.2.3),

N_Y — кількість колонієутворювальних одиниць у 1 см^3 під час контролювання ефективності нейтралізування розведеного розчину (див. А.4.1.3) або контролювання ефективності випробовування з фільтруванням через мікропористу мембрану (див. А.4.2.3).

5.6.3 Подання результатів

Для кожного випробного штаму бактерій зареєструйте кількість колонієутворювальних одиниць у 1 см^3 випробної бактеріальної суспензії (N) (див. 5.4.1.4), а після випробування бактерицидної активності продукту — кількість колонієутворювальних одиниць у 1 см^3 випробної суміші N_a (див. 5.5.2.3 або 5.5.3.3).

Для валідації нейтралізування (див. додаток А) зареєструйте кількість колонієутворювальних одиниць у 1 см^3 бактеріальної суспензії (N_V) (див. А.2).

Для валідації методу випробовування з нейтралізуванням розведеного розчину (див. А.4.1) зареєструйте кількість колонієутворювальних одиниць у 1 см^3 під час контролювання токсичності нейтралізувальної речовини (N_X) і кількість колонієутворювальних одиниць у 1 см^3 під час контролювання ефективності нейтралізування розведеного розчину (N_Y).

Для валідації методу випробовування з фільтруванням через мікропористу мембрану (див. А.4.2) зареєструйте кількість колонієутворювальних одиниць у 1 см^3 під час контролювання ефективності фільтрування (N_X) і кількість колонієутворювальних одиниць у 1 см^3 під час контролювання ефективності випробовування з фільтруванням (N_Y).

Для кожного випробного штаму бактерій і для кожної випробної концентрації продукту обчисліть і зареєструйте показник зниження рівня життєздатності бактерій (к.у.о./см^3), використовуючи формулу:

$$\text{Показник зниження рівня життєздатності} = \frac{N \cdot 10^{-1}}{N_a}$$

5.7 Висновок

Передбачено, що продукт задовольняє вимогам до результатів випробування, якщо показник зниження рівня життєздатності бактерій дорівнює не менше 10^5 протягом періоду часу випробування не більше 60 хв, за температури $20 \text{ }^\circ\text{C}$, в умовах, визначених для аналізування з використанням випробних мікроорганізмів *Pseudomonas aeruginosa* і *Staphylococcus aureus*.

Точність результатів випробування розглядають у додатку F.

Для підвищення точності результатів випробування необхідно збільшити кількість процедур, виконуваних повторно (інформацію з цього приводу наведено в додатку F).

Кількість повторних процедур випробування визначають залежно від необхідної точності результатів випробування, з оглядом на передбачуване застосування цих результатів.

Найбільша концентрація продукту повинна забезпечувати зниження рівня життєздатності бактерій не менше ніж у 10^5 разів. За проміжної концентрації продукту можливе зниження рівня життєздатності бактерій не більше ніж у 10^5 .

Продукт, що задовольняє вимогам до результатів випробування, розглядають як продукт, що володіє бактерицидною активністю. Для того, щоб класифікувати продукт як дезінфекційний або антисептичний засіб для застосування з визначеною метою, необхідно оцінити бактерицидну активність продукту, використовуючи додаткові стандартні процедури випробування, що відповідають умовам передбачуваного застосування продукту.

Інформацію, що стосується додаткових стандартних процедур випробування, необхідно використовувати під час класифікації продукту як дезінфекційного або антисептичного засобу для застосування з визначеною метою, наведено в додатку G.

Примітка. Повторне виконання розглянутої процедури випробування необов'язкове, однак це твердження не відноситься до методів випробування активності хімічних дезінфекційних і антисептичних засобів, що використовують на етапі 2.

5.8 Протокол випробування

У протоколі випробування необхідно навести посилання на цей стандарт.

Протокол випробування повинен містити таку інформацію:

- a) Ідентифікаційні дані лабораторії;
- b) Ідентифікаційні дані проби продукту:
 - 1) назва продукту;
 - 2) номер партії продукту;
 - 3) дані про виробника продукту;
 - 4) дата постачання;
 - 5) дані про умови зберігання продукту;
 - 6) дані про хімічно активні речовини і їхні концентрації (додаткові дані);
- c) Інформацію про метод випробування і дані про валідацію методу.

Якщо використовують метод випробування з нейтралізуванням розведеного розчину, то необхідно навести повну інформацію про перевіряння придатності нейтралізувальної речовини.

Якщо використовують метод випробування з фільтруванням через мікропористу мембрану, то необхідно навести повну інформацію, що стосується валідації цього методу. Необхідно також навести повну інформацію про процедуру, яку використовують для валідації методу випробування з фільтруванням.

- d) Експериментальні умови:
 - 1) тривалість випробування;
 - 2) дані про випробні концентрації продукту;
 - 3) температура під час випробування;
 - 4) періоди часу взаємодії компонентів;
 - 5) температура інкубації.
- e) Результати випробувань;

Результати процедур валідації методів випробування:

результати оцінювання бактерицидної активності (див. таблиці D.1, D.2, D.3 і D.4)

f) Висновок

g) Інформацію про місцезнаходження лабораторії, дату, завірений підпис.

Примітка. Приклад типового протоколу випробування наведено у додатку D.

ДОДАТОК А
(обов'язковий)

ВАЛІДАЦІЯ МЕТОДУ НЕЙТРАЛІЗУВАННЯ РОЗВЕДЕНОГО РОЗЧИНУ І МЕТОДУ З ФІЛЬТРУВАННЯМ ЧЕРЕЗ МІКРОПОРИСТУ МЕМБРАНУ

А.1 ПРИНЦИП ПЕРЕВІРЯННЯ

Нейтралізувальну речовину вибирають відповідно до А.4.1 (див. 5.5). Якщо вибрати придатну нейтралізувальну речовину неможливо, то використовують метод випробовування з фільтруванням через мікропористу мембрану відповідно до А.4.2.

А.2 ГОТУВАННЯ БАКТЕРІАЛЬНОЇ СУСПЕНЗІЇ

Розведіть випробну бактеріальну суспензію (див. 5.4.1.3), використовуючи розчин для розводження (див. 5.2.2.4), так, щоб одержати бактеріальну суспензію із вмістом життєздатних бактерій $6 \cdot 10^2$ до $3 \cdot 10^3$ к.у.о./см³.

Щоб визначити вміст життєздатних бактерій у суспензії приготуйте розведений розчин, із коефіцієнтом розведення 10^{-1} , використовуючи розчин для розводження (див. 5.2.2.4). Перемішайте розчин (див. 5.3.2.4). Візьміть дві проби по 1,0 см³ розведеного розчину з коефіцієнтом розведення 10^{-1} , і перенесіть кожну пробу 1,0 см³ в окрему чашку Петрі (див. 5.3.2.10), потім додайте 12—15 см³ розплавленого триптонно-соевого (ТСА) (див. 5.2.2.3), охолодженого до температури (45 ± 1) °С.

Помістіть чашки Петрі в термостат, за температури (36 ± 1) °С або (37 ± 1) °С, на 24 год. Видаліть будь-які чашки, у яких визначити вміст життєздатних бактерій неможливо (з будь-якої причини). Підрахуйте кількість життєздатних бактерій на чашках і визначте кількість колонієутворювальних одиниць для кожної чашки. Знову помістіть чашки в термостат на 24 год. Не враховуйте повторно ті чашки Петрі, на яких відсутні колонії бактерій, чітко відділені одна від іншої. Повторно підрахуйте кількість життєздатних бактерій на чашках, що залишилися. Визначте найбільшу кількість колоній життєздатних бактерій для кожної чашки. Обчисліть кількість колонієутворювальних одиниць у 1 см³ бактеріальної суспензії (N_y), використовуючи метод, зазначений у 5.6.1.2.

А.3 ГОТУВАННЯ ВИПРОБНОГО РОЗЧИНУ ПРОДУКТУ

Див. 5.4.2. Приготуйте випробний розчин продукту з найбільшою концентрацією, використовуюваною під час випробовування. Додайте 2 частини води (див. 5.2.2.2) до 8 частин отриманого розчину.

А.4 ВИПРОБОВУВАННЯ ДЛЯ ВАЛІДАЦІЇ

А.4.1 Метод із нейтралізуванням розведеного розчину

А.4.1.1 Загальне положення

Перед випробовуванням приведіть усі реагенти (випробні розчини продукту, воду, випробну бактеріальну суспензію, нейтралізувальну речовину) у рівноважний стан, за температури випробовування (20 ± 1) °С, використовуючи для цього водяну баню (див. 5.3.2.2), що забезпечує підтримання стабільної температури (20 ± 1) °С. Перевірте, щоб температура реагентів стабілізувалася на рівні (20 ± 1) °С.

А.4.1.2 Процедура

Візьміть піпеткою 8,0 см³ нейтралізувальної речовини (див. 5.2.2.5) і помістіть у кожну з двох місткостей придатного об'єму. Помістіть місткості у водяну баню, що забезпечує стабільну температуру (20 ± 1) °С.

Для контролювання токсичності нейтралізувальної речовини додайте 1,0 см³ води (див. 5.2.2.2) у першу посудину.

Для контролювання ефективності нейтралізування розведеного розчину додайте 1,0 см³ випробного розчину продукту, приготованого відповідно до А.3, у другу посудину.

Перемішайте суміші (див. 5.3.2.6) і запишіть їх для взаємодії компонентів на період часу $5 \text{ хв} \pm 10 \text{ с}$ у водяній бані, що забезпечує стабільну температуру $(20 \pm 1) \text{ }^\circ\text{C}$.

Потім додайте $1,0 \text{ см}^3$ бактеріальної суспензії, що містить від $6 \cdot 10^2 \text{ к.у.о./см}^3$ до $3 \cdot 10^3 \text{ к.у.о./см}^3$ (див. А.2), у кожну з зазначених місткостей, перемішайте суміші (див. 5.3.2.6) і залишіть місткості у водяній бані, за температури $(20 \pm 1) \text{ }^\circ\text{C}$, на період часу $(30 \pm 1) \text{ хв}$.

Примітка. Під час додавання бактеріальної суспензії в місткість необхідно бути обмеженим, щоб не доторкнутися до верхньої частини поверхні місткості.

Знову перемішайте суміші. Відберіть дві проби, по $1,0 \text{ см}^3$, із кожної місткості, і перенесіть кожну пробу в окрему чашку Петрі (див. 5.3.2.10), потім додайте від 12 см^3 до 15 см^3 розплавленого триптонно-соевого агару (ТСА) (див. 5.2.2.3), охолодженого до температури $(45 \pm 1) \text{ }^\circ\text{C}$.

Виконайте зазначену процедуру для другого випробного мікроорганізму.

А.4.1.3 Визначання вмісту життєздатних бактерій під час контролювання токсичності нейтралізувальної речовини і контролювання ефективності нейтралізування розведеного розчину.

Помістіть чашки Петрі в термостат, за температури $(36 \pm 1) \text{ }^\circ\text{C}$ або $(37 \pm 1) \text{ }^\circ\text{C}$, на 24 год. Видаліть будь-які чашки, у яких визначити вміст життєздатних бактерій неможливо (з будь-якої причини). Підрахуйте кількість життєздатних бактерій на чашках і визначте кількість колонієутворювальних одиниць для кожної чашки. Знову помістіть чашки в термостат на 24 год. Не враховуйте повторно ті чашки Петрі, на яких відсутні колонії бактерій, чітко відділені одна від іншої. Повторно підрахуйте кількість життєздатних бактерій на чашках, що залишилися. Визначте найбільшу кількість колоній життєздатних бактерій для кожної чашки. Обчисліть кількість колонієутворювальних одиниць у 1 см^3 під час контролювання токсичності нейтралізувальної речовини (N_x) і контролювання ефективності випробування з нейтралізуванням розведеного розчину (N_y), використовуючи для цього метод, зазначений у 5.6.1.2.

А.4.2 Метод із фільтруванням через мікропористу мембрану

А.4.2.1 Загальне положення

Перед перевірянням приведіть усі реагенти (випробні розчини продукту, воду, бактеріальну суспензію, промивну рідину) у рівноважний стан за температури $(20 \pm 1) \text{ }^\circ\text{C}$, використовуючи для цього водяну баню (див. 5.3.2.2), що забезпечує підтримування стабільної температури $(20 \pm 1) \text{ }^\circ\text{C}$. Перевірте, що температура реагентів стабілізувалася на рівні $(20 \pm 1) \text{ }^\circ\text{C}$.

А.4.2.2 Процедура

Виконайте процедуру, зазначену нижче, для кожного з випробних мікроорганізмів.

Для контролювання ефективності фільтрування візьміть дві проби по $0,1 \text{ см}^3$ випробної бактеріальної суспензії, що містить від $6 \cdot 10^2 \text{ к.у.о./см}^3$ до $3 \cdot 10^3 \text{ к.у.о./см}^3$ (див. А.2) і перенесіть кожну пробу в окремий апарат для фільтрування, що містить мікропористу мембрану і 50 см^3 промивної рідини (див. 5.2.2.6). Відфільтруйте проби і промийте мембрани, використовуючи для цього 50 см^3 промивної рідини (див. 5.2.2.6), потім перенесіть мембрани на поверхні двох окремих чашок Петрі з триптонно-соевим агаром (ТСА) (див. 5.2.2.3).

Для контролювання ефективності випробування з фільтруванням через мікропористу мембрану візьміть дві проби по $0,1 \text{ см}^3$ випробного розчину продукту (див. А.3) і перенесіть кожну пробу в окремий апарат для фільтрування, що містить мікропористу мембрану і 50 см^3 промивної рідини (див. 5.2.2.6). Відфільтруйте проби і промийте мембрани, використовуючи для цього не менше 150 см^3 і не більше 500 см^3 промивної рідини. Потім покрийте мембрани промивною рідиною в об'ємі 50 см^3 (див. 5.2.2.6). До кожної з мембран додайте $0,1 \text{ см}^3$ бактеріальної суспензії, що містить від $6 \cdot 10^2 \text{ к.у.о./см}^3$ до $3 \cdot 10^3 \text{ к.у.о./см}^3$ (див. А.2).

Відфільтруйте суміші і промийте мембрани, використовуючи для цього 50 см^3 (див. 5.2.2.2). Перенесіть мембрани на поверхні двох окремих чашок Петрі з триптонно-соевим агаром (ТСА) (див. 5.2.2.3). Період часу, необхідний для перенесення проби і фільтрування, не повинен перевищувати 1 хв. Якщо цей період часу перевищує 1 хв, то його необхідно зареєструвати в протоколі випробування.

Примітка 2. Під час перенесення мембрани треба бути обережним, щоб бактерії знаходилися на верхній поверхні мембрани під час її розміщення на агарі ТСА, і щоб унеможливити потрапляння повітря між поверхнями мембрани й агару.

A.4.2.3 *Визначання вмісту життєздатних бактерій під час контролювання ефективності фільтрування і процедури випробовування з фільтруванням через мікропористу мембрану.*

Помістіть чашки Петрі в термостат, за температури $(36 \pm 1) ^\circ\text{C}$ або $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$, на 24 год. Видаліть будь-які чашки, у яких визначити вміст життєздатних бактерій неможливо (з будь-якої причини). Підрахуйте кількість життєздатних бактерій на чашках і визначте кількість колонієутворювальних одиниць для кожної чашки. Знову помістіть чашки в термостат на 24 год. Не враховуйте повторно ті чашки Петрі, на яких відсутні колонії бактерій чітко відділені одна від іншої. Повторно підрахуйте кількість життєздатних бактерій на чашках, що залишилися. Визначте найбільшу кількість колоній життєздатних бактерій для кожної чашки. Обчисліть кількість колонієутворювальних одиниць у 1 см^3 випробовувальної суспензії (N_a), використовуючи метод, зазначений у 5.6.1.2. Обчисліть кількість колонієутворювальних одиниць у 1 см^3 під час контролювання ефективності фільтрування (N_x) і контролювання ефективності процедури випробовування з фільтруванням через мікропористу мембрану (N_y), використовуючи для цього метод, зазначений у 5.6.1.2.

A.5 ВАЛІДАЦІЯ МЕТОДІВ

Перевірте, що результати випробувань відповідають вимогам 5.6.1.2 або 5.6.2.

ДОДАТОК В

(довідковий)

НЕЙТРАЛІЗУВАЛЬНІ РЕЧОВИНИ

Можна використовувати кожну з таких нейтралізувальних речовин:

- лецитин із концентрацією 3 дм^3 ; полісорбат (ефір поліоксоетиленової кислоти) $80^{5)}$ (30 г/дм^3); тіосульфат натрію (5 г/дм^3); L-гістидин (1 г/дм^3); сапонін (30 г/дм^3) у розчині для розводження (див. 5.2.2.4) або в буферному фосфатному розчині ($0,25 \text{ моль/дм}^3$) з концентрацією компонентів 1 % (за об'ємом);
 - буферний фосфатний розчин ($0,25 \text{ моль/дм}^3$);
 - KH_2PO_4 , 34 г;
 - вода (див. 5.2.2.2) 500 см^3 ;
 - показник рН = $7,2 \pm 0,2$ (для встановлення показника рН використовують NaOH із концентрацією 1 моль/дм^3);
 - вода (див. 5.2.2.2) для доповнення до об'єму 1000 см^3 стерилізована в паровому стерилізаторі (див. 5.3.1);
 - свіжий яєчний жовток, розведений до 5 % або 0,5 % за об'ємом;
 - полісорбат $80^{5)}$ (30 г/дм^3);
 - лауроілсульфат натрію (4 г/дм^3);
 - лецитин (3 г/дм^3);
 - свіжий яєчний жовток (5 % за об'ємом);
 - полісорбат $80^{5)}$ (40 г/дм^3);
 - конденсат оксид етилену жирного спирту (7 % за об'ємом);
 - лецитин (20 г/дм^3);
 - полісорбат $80^{5)}$ (4 % за об'ємом);
 - конденсат оксид етилену жирного спирту (4 % за об'ємом);
 - лецитин (4 г/дм^3);
 - полісорбат $80^{5)}$ (30 г/дм^3);
 - лецитин (3 г/дм^3);
 - L-гістидин (1 г/дм^3);
 - гліцин у кількості, що залежить від концентрації продукту;
 - полісорбат $80^{5)}$ (30 г/дм^3);

⁵⁾ Полісорбат аналітичної якості, негідролізований, відповідний вимогам Європейській фармакопеї, том 1. Полісорбат TWEEN 80 представляє собою приклад такого продукту, поставленого для продажу. Дану інформацію наведено лише для зручності користувачів цього стандарту і не означає, що комітет CEN стверджує на обов'язковому використуванні зазначеного продукту.

- лецитин (3 г/дм³);
- фосфоліпидна емульсія (постачають для продажу) з концентрацією 50 мг/моль (розведена за співвідношення 1:10);
- тіогликолят натрію (0,5 г/дм³ або 5 г/дм³);
- L-цистеїн (0,8 г/дм³ або 1,5 г/дм³);
- тіояблучна кислота (0,075 % за обсягом), рН 7 (для припасування показника рН використовують NaOH);
- тіосульфат натрію (5 г/дм³);
- каталаза або пероксидаза: одна одиниця цих ферментів забезпечує каталізування продуктів розкладання перекису водню (1 мкмоль) за 1 хв, за температури 25 °С та рН 7;
- полісорбат 80⁵⁾ (30 г/дм³); сапонін (30 г/дм³);
- L-гістидин (1 г/дм³); L-цистеїн (1 г/дм³).

Примітка. Наведений перелік не є винятковим, тому можна використовувати також інші нейтралізувальні речовини.

ДОДАТОК С
(довідковий)

ПРОМИВНІ РІДИНИ

Можна використовувати кожен з таких рідин:

- вода (див. 5.2.2.2);
- розчин для розводження (див. 5.2.2.4);
- водяний розчин полісорбату 80⁵⁾ (0,1 % за об'ємом);
- водяний розчин полісорбату 80⁵⁾ (0,5 % за об'ємом);
- водяний розчин полісорбату 80⁵⁾ (0,1 % за об'ємом) і лецитину (0,7 г/дм³);
- нейтралізувальна речовина (див. 5.2.2.5);
- буферні розчини.

Примітка. Наведений перелік не є винятковим, тому можна використовувати також інші промивні рідини.

ДОДАТОК D
(довідковий)

ПРИКЛАД ТИПОВОГО ПРОТОКОЛУ ВИПРОБОВУВАННЯ

Визначання основної бактерицидної активності

а) Лабораторія	Besson Test House
б) Ідентифікаційні дані проби продукту	
Назва продукту	С 216
Номер партії	94-71-51
Виробник	Centipede Formulations Inc.
Дата постачання	11 лютого 1994 року
Умови зберігання	За кімнатної температури; у темному приміщенні
Хімічно активні речовини і їхня концентрація (додаткова інформація)	Не зазначені
с) Метод випробовування і його валідація	
Метод	З нейтралізуванням розведеного розчину
Нейтралізувальна речовина	Лецитин (30 г/дм ³), стерилізований в паровому стерилізаторі
д) Експериментальні умови	
Період часу випробовування	З 20 лютого 1994 року по 12 березня 1994 року
Випробні концентрації продукту	2 г/дм ³ , 4 г/дм ³ і 8 г/дм ³
Температура під час випробовування	(20 ± 1) °С

Тривалість періоду часу взаємодії компонентів 5 хв
Температура інкубації (37 ± 1) °С

е) Результати випробування
Див. таблиці D.1, D.2, D.3 і D.4
ф) Висновок

Відповідно до положень стандарту EN 1040 (дата видання), партія 94.71.51 продукту С 216 забезпечує бактерицидну активність стосовно еталонних штамів *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 і *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. Для того, щоб класифікувати продукт у якості хімічного дезінфекційного та антисептичного засобу для застосування з визначеною метою, необхідно оцінити бактерицидну активність продукту за допомогою додаткових стандартних процедур випробувань, що відповідають умовам передбачуваного застосування продукту.

г) Дані про місцезнаходження лабораторії, дата, звірений підпис.

Примітка. Дані про випробний продукт, номер партії продукту і про виробника продукту наведено лише для прикладу.

Таблиця D.1 — Перевіряння методології і валідація методу з нейтралізуванням розведеного розчину для випробної концентрації 8 г/дм³, випробного продукту як загальноприйнятого

Випробний штам бактерій	Вміст життєздатних бактерій, к.у./см ³			
	Випробна бактеріальна суспензія, (<i>N</i>) (див. 5.4.1.4)	Бактеріальна суспензія, (<i>N_V</i>) (див. А.2)	Контролювання токсичності нейтралізувальної речовини, (<i>N_X</i>) (див. А.4.1.2)	Контролювання ефективності нейтралізування розведеного розчину, (<i>N_Y</i>) (див. А.4.1.2)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3,2 · 10 ⁸	2,8 · 10 ³	2,6 · 10 ²	1,5 · 10 ²
<i>Staphylococcus aureus</i>	3,0 · 10 ⁸	3,0 · 10 ³	2,8 · 10 ²	2,2 · 10 ²
Для двох випробних штамів: значення <i>N</i> — у діапазоні від 1,5 · 10 ⁸ к.у./см ³ до 5 · 10 ⁸ к.у./см ³ , значення <i>N_V</i> — у діапазоні від 6 · 10 ² к.у./см ³ до 3 · 10 ³ к.у./см ³ , значення <i>N_X</i> — дорівнює або більше 0,05 <i>N_V</i> ; значення <i>N_Y</i> — дорівнює або більше 0,05 <i>N_V</i> .				
Ефективність нейтралізування підтвердження під час перевіряння нейтралізувальної речовини в умовах випробування продукту з випробною концентрацією 8 г/дм ³ , загальноприйнятого продукту, під час випробування двох штамів.				

Таблиця D.2 — Перевіряння правильності методології і методу випробування з фільтруванням через мікропористу мембрану для випробної концентрації 8 г/дм³ випробного продукту, як загальноприйнятий

Випробний штам бактерій	Вміст життєздатних бактерій, к.у./см ³			
	Випробна бактеріальна суспензія, (<i>N</i>) (див. 5.4.1.4)	Бактеріальна суспензія, (<i>N_V</i>) (див. А.2)	Контролювання токсичності нейтралізувальної речовини, (<i>N_X</i>) (див. А.4.1.2)	Контролювання ефективності нейтралізування розведеного розчину, (<i>N_Y</i>) (див. А.4.1.2)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3,2 · 10 ⁸	2,8 · 10 ³	2,6 · 10 ²	1,5 · 10 ²
<i>Staphylococcus aureus</i>	3,0 · 10 ⁸	3,0 · 10 ³	2,8 · 10 ²	2,2 · 10 ²
Для двох випробних штамів: значення <i>N</i> — у діапазоні від 1,5 · 10 ⁸ к.у./см ³ до 5 · 10 ⁸ к.у./см ³ , значення <i>N_V</i> — у діапазоні від 6 · 10 ² к.у./см ³ до 3 · 10 ³ к.у./см ³ , значення <i>N_X</i> — дорівнює або більше 0,05 <i>N_V</i> ; значення <i>N_Y</i> — дорівнює або більше 0,05 <i>N_V</i> .				
Ефективність нейтралізування підтвердження під час перевіряння промивної рідини в умовах випробування продукту з випробною концентрацією 8 г/дм ³ , загальноприйнятого продукту, під час випробування двох штамів.				

Таблиця D.3 — Результати випробування: приклад методу з нейтралізуванням розведеного розчину

Випробний мікроорганізм	Вміст життєздатних мікроорганізмів N_a , к.у.о/см ³ , у випробній суміші (див. 5.5.2.3) за зазначених концентрацій		
	2 г/дм ³	4 г/дм ³	8 г/дм ³
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	$1,6 \cdot 10^3$	$2,0 \cdot 10^2$	$< 1,5 \cdot 10^2$
<i>Staphylococcus aureus</i>	$2,0 \cdot 10^6$	$1,5 \cdot 10^3$	$< 1,5 \cdot 10^2$
Показник зниження рівня життєздатності бактерій за зазначених випробних концентрацій продукту			
	2 г/дм ³	4 г/дм ³	8 г/дм ³
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	$2,0 \cdot 10^4$	$1,6 \cdot 10^5$	$< 2,1 \cdot 10^5$
<i>Staphylococcus aureus</i>	$< 1,0 \cdot 10^4$	$2,0 \cdot 10^4$	$> 2,0 \cdot 10^5$

Таблиця D.4 — Результати випробування: приклад випробування з фільтруванням через мікропористу мембрану

Випробний штам бактерій	Вміст життєздатних мікроорганізмів N_a , к.у.о/см ³ , у випробній суміші (див. 5.5.2.2) за зазначених концентрацій		
	2 г/дм ³	4 г/дм ³	8 г/дм ³
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	$1,3 \cdot 10^3$	$2,0 \cdot 10^2$	$< 1,5 \cdot 10^2$
<i>Staphylococcus aureus</i>	$2,0 \cdot 10^6$	$1,5 \cdot 10^3$	$< 1,5 \cdot 10^2$
Показник зниження рівня життєздатності бактерій за зазначених випробних концентрацій продукту			
	2 г/дм ³	4 г/дм ³	8 г/дм ³
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	$2,5 \cdot 10^4$	$1,6 \cdot 10^5$	$> 2,1 \cdot 10^5$
<i>Staphylococcus aureus</i>	$< 1,0 \cdot 10^4$	$2,0 \cdot 10^4$	$> 2,0 \cdot 10^5$

ДОДАТОК Е
(інформаційний)

ЕТАЛОННІ ШТАМИ В НАЦІОНАЛЬНИХ КОЛЕКЦІЯХ

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 15442 CIP 103467 DSM 939 NCIMB 10421
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538 CIP 4.83 DSM 799 NCTC 10788 NCIMB 9518

ДОДАТОК F
(довідковий)

ТОЧНІСТЬ РЕЗУЛЬТАТІВ ВИПРОБУВАННЯ

Було проведено спільне дослідження для того, щоб визначити точність методів випробування, яка забезпечується в різних лабораторіях. Дослідження було проведено в 24 лабораторіях у різних країнах Європи. У кожній лабораторії було виконано до 10 повторних випробувань у різні дні.

Під час виконання випробування треба використовувати метод випробування з нейтралізуванням розведеного розчину і метод випробування з фільтруванням через мікропористу мембрану, а в якості штаму випробного мікроорганізму використовували штам бактерій *Pseudomonas aeruginosa*. В якості продукту під час дослідження використовували бензалконійхлорид і фенол.

Погодженість результатів, отриманих у різних лабораторіях і виражених у параметрах, що характеризують бактерицидну дію (забезпечують зменшення кількості життєздатних бактерій на менше ніж у 10^5 разів), дуже добре у разі низьких і високих концентрацій випробного продукту, але гірше за проміжні концентрації (див. таблиці F.1 і F.2).

Таблиця F.1 — Кількість лабораторій, у відсотках, у яких не менше половини повторних процедур випробування, з достовірними результатами, забезпечували зменшення кількості життєздатних бактерій не менше ніж у 10^5 разів за заданих концентрацій фенолу

Метод випробування	Концентрація фенолу, %		
	0,5	1,0	2,0
Метод із фільтруванням через мікропористу мембрану	0	30	100
Метод із нейтралізуванням розведеного розчину	0	5	94

Таблиця F.2 — Кількість лабораторій, у відсотках, у яких не менше половини повторних процедур випробування, з достовірними результатами, забезпечували зменшення кількості життєздатних бактерій не менше ніж в 10^5 разів за заданих концентрацій бензалконійхлориду

Метод випробування	Концентрація бензалконійхлориду, %		
	0,001	0,004	0,008
Метод із фільтруванням через мікропористу мембрану	10	75	90
Метод із нейтралізуванням розведеного розчину	5	50	80

За результатами спільного дослідження було визначено середньоквадратичні відхилення результатів вимірювання для кожного методу випробування і кожного продукту (див. таблицю F.3).

Таблиця F.3 — Середньоквадратичний відхил (σ) логарифмічного показника (\log_{10}) зменшення кількості життєздатних бактерій для кожного методу випробування і кожного продукту

Продукт	Метод випробування	
	Метод із фільтруванням через мікропористу мембрану	Метод із нейтралізуванням розведеного розчину
Фенол	0,50	0,78
Бензалконійхлорид	1,15	1,34

Максимальну похибку результатів випробування (d) можна визначити за допомогою такої формули:

$$d = \sqrt{\frac{t^2 (1-p/2) \sigma^2}{n}}, \quad (F.1)$$

де d — максимальна похибка результатів випробувань,
 t — параметр Стюдента ($t = 1,96$ за великого значення n),

n — кількість виконаних повторних процедур випробовування, середньоквадратичний відхил логарифмічного показника зменшення кількості життєздатних бактерій,

p — похибка типу 1.

Було прийнято рішення про те, що процедура випробовування повинна забезпечувати довірчий рівень 95 %, за якого значення σ складає 5 %.

Значення параметра n можна визначити залежно від значень параметрів σ і d , використовуючи таку формулу:

$$n = \frac{t^2 (1 - p/2) \sigma^2}{d^2} . \quad (\text{F.2})$$

Результати екстраполяції на основі формули (F.2), при вираженні параметра n як функції параметрів σ і d , наведено в таблиці F.4.

Застосування таблиці F.4

Відповідно до таблиці F.4, можна зробити такі висновки за результатами повторних процедур випробовування.

Якщо середнє зважене значення логарифмічного показника зменшення кількості життєздатних бактерій дорівнює необхідному значенню цього показника (тобто 5 у розглянутому випадку), а також, якщо середнє арифметичне значення логарифмічного показника зменшення кількості життєздатних бактерій дорівнює значенню, що спостерігається цього показника (тобто 6, якщо абсолютне зменшення кількості, що спостерігається, життєздатних бактерій дорівнює 106), то можна припустити, як показують результати міжлабораторного дослідження, що середньоквадратичний відхил (σ) не перевищує 1,3.

Для гарантії того, що середнє зважене значення логарифмічного показника зменшення кількості життєздатних бактерій дорівнює 5 за довірчого рівня 95 % (у цьому разі середнє арифметичне значення цього показника дорівнює 6), та кількість n повторних процедур випробовування, який необхідно виконати, дорівнює приблизно 7 (див. таблицю F.4, середньоквадратичний відхил $\sigma = 1,3$, максимальна абсолютна похибка логарифмічного показника зменшення кількості життєздатних бактерій дорівнює $6 - 5 = 1$).

За таких самих допущень, як і в попередньому пункті, можна зробити висновок, що, якщо за найбільшій концентрації продукту отримане повторюване значення логарифмічного показника зменшення кількості життєздатних бактерій рівне 5 або перевищує 5, то за довірчого рівня 95 %, усереднене значення цього показника:

дорівнює 3,9 або більше 3,9 якщо виконані 5 повторних процедур випробовування,

$$\text{де } 3,9 = 5 - \sqrt{\frac{(1,96)^2 \cdot (1,3)^2}{5}}$$

дорівнює 3,5 якщо виконано 3 повторні процедури випробовування;

дорівнює 2,5 якщо виконано 3 лише одну процедуру випробовування.

Примітка. Під час виконання всіх повторних процедур випробовування необхідно використовувати різні субкультури бактерій, приготовані з маточної культури відповідно до 5.4.1.2. Значення середньоквадратичного відхилення 1,3, дійсне лише для результатів повторних випробовувань, отриманих у разі використання різних субкультур, приготованих із маточної культури відповідно до 5.4.1.2. Зазначене значення не дійсне для повторних випробовувань, у яких використовують другу і третю субкультури, послідовно приготовані з маточної культури.

Таблиця F.4

Стандартний відхил	Максимальний абсолютний відхил на log похибки																
	0,125	0,25	0,375	0,5	0,625	0,75	0,875	1	1,125	1,25	1,5	1,75	2	2,25	2,5	2,75	3
0,5	62	16	7	4	3	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
0,6	89	23	10	6	4	3	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1
0,7	121	31	14	8	5	4	3	2	2	2	1	1	1	1	1	1	1
0,8	158	40	18	10	7	5	4	3	2	2	2	1	1	1	1	1	1
0,9	200	50	23	13	8	6	5	4	3	2	2	2	1	1	1	1	1
1	246	62	28	16	10	7	6	4	4	3	2	2	1	1	1	1	1
1,1	298	75	34	19	12	9	7	5	4	3	3	2	2	1	1	1	1
1,2	355	89	40	23	15	10	8	6	5	4	3	2	2	2	1	1	1
1,3	416	104	47	26	17	12	9	7	6	5	3	3	2	2	2	1	1
1,4	482	121	54	31	20	14	10	8	6	5	4	3	2	2	2	1	1
1,5	554	139	62	35	23	16	12	9	7	6	4	3	3	2	2	2	1
1,6	630	158	70	40	26	18	13	10	8	7	5	4	3	2	2	2	2

ДОДАТОК G
(довідковий)

**ІНФОРМАЦІЯ ПРО ЗАСТОСУВАННЯ
Й ІНТЕРПРЕТАЦІЮ ЄВРОПЕЙСЬКИХ СТАНДАРТІВ
ЩОДО ХІМІЧНИХ ДЕЗІНФЕКЦІЙНИХ ТА АНТИСЕПТИЧНИХ ЗАСОБІВ**

Комітет CEN/TC звертає увагу користувачів цього стандарту на угоди, досягнуті з приводу зв'язку цього стандарту з майбутніми стандартами.

Пропоновану інформацію необхідно враховувати під час застосування європейських стандартів по хімічним дезінфекційним і антисептичним засобам.

G.1 Загальний посібник із застосування та інтерпретації методів випробовування відповідно до європейських стандартів щодо хімічних дезінфекційних і антисептичних засобів

а) Усі рекомендації, щодо застосування хімічних дезінфекційних та антисептичних засобів, повинні бути підтверджені результатами випробувань бактерицидної, фунгіцидної, спороцидної і віруліцидної активності цих засобів відповідно до вимог європейських стандартів, що стосуються передбачуваних випадків і методів застосування.

б) Для цього хімічні дезінфекційні та антисептичні засоби треба випробовувати відповідно до визначеної програми, у якій передбачено стадію 1, стадію 2 на етапі 1 і стадію 2 на етапі 2, крім виняткових випадків, визначених у пунктах е), f) і g) цього додатку.

с) Рекомендації, щодо застосування хімічних дезінфекційних та антисептичних засобів, можуть бути підтверджені результатами випробування на стадії 3, що відповідають передбачуваним випадкам і методам застосування.

д) Різні етапи і стадії випробовування, визначено в такий спосіб:

стадія 1 — процедури випробовувань із використанням суспензій, призначених для оцінювання основної активності продукту;

стадія 2, етап 1, — процедури випробовувань із використанням суспензій, які виконуються в умовах, що відповідають практичним умовам застосування продукту;

стадія 2, етап 2, — інші випробовування, які виконують у лабораторіях, наприклад випробовування засобів для оброблення і миття рук, засобів для оброблення поверхонь виробів, під час виконання яких забезпечується імітація умов практичного застосування;
стадія 3 — процедури випробовувань, в умовах практичного застосування.

е) Стосовно визначених випадків застосування прийнято, що випробовування на етапах 1 і 2 стадії 2 можуть забезпечити наявність достатньої інформації для конкретного випадку застосування і тому додаткові процедури випробовування на стадії 1 необов'язкові.

У випадках застосування, у яких процедури випробовування на етапах 1 і 2 стадії 2, без стадії 1, використовують для підтвердження рекомендацій із застосування хімічних дезінфекційних та антисептичних засобів, необхідно обґрунтувати відсутність випробовування на стадії 1. Такі випадки повинні бути зазначені або в самому первинному стандарті, або в додатковому стандарті, що містить спеціальні інструкції з застосування й інтерпретації методів випробовувань.

ф) Стосовно визначених випадків застосування прийнято, що випробування з використанням суспензій, виконуваних на етапі 1 стадії 2, можуть забезпечити наявність достатньої інформації для конкретного випадку застосування і тому додаткові процедури випробовування на етапі 2 стадії 2 необов'язкові.

У випадках застосування, у яких процедури випробовувань на етапі 1 стадії 2, без етапу 2 стадії 2, використовують для підтвердження рекомендацій із застосування хімічних дезінфекційних та антисептичних засобів, необхідно обґрунтувати відсутність випробовування на етапі 2 стадії 2. Такі випадки повинні бути зазначені або в самому первинному стандарті, або в додатковому стандарті, що містить спеціальні інструкції з застосування й інтерпретації методів випробовувань.

г) Стосовно визначених випадків застосування прийнято, що випробовування, з використанням суспензій, виконуваних на етапі 2 стадії 2, разом із випробовуванням на етапі 1, можуть забезпечити наявність достатньої інформації для конкретного випадку застосування і тому додаткові процедури випробовування на етапі 2 стадії 1 не обов'язкові.

У випадках застосування, у яких процедури випробовувань на етапі 2 стадії 2, без стадії 1 етапу 2, використовують для підтвердження рекомендацій із застосування хімічних дезінфекційних та антисептичних засобів, необхідно обґрунтувати відсутність випробування на стадії 1 етапу 2. Такі випадки повинні бути зазначені або в самому первинному стандарті, або в додатковому стандарті, що містить спеціальні інструкції з застосування й інтерпретації методів випробовувань.

h) Усі заяви про бактерицидну, фунгіцидну і спорицидну активності біологічно активних речовин повинні бути підтверджені результатами відповідних випробовувань на етапі 1.

G.2 Посібник з інтерпретації процедур випробовувань хімічних дезінфекційних і антисептичних засобів

Після узгодження стандартних методів випробовувань буде розроблено окремий стандарт (або кілька стандартів) як настанову з інтерпретації випробовування хімічних дезінфекційних і антисептичних засобів. Призначеність цього стандарту полягає в тому, щоб докладно визначити зв'язок між різними випробовуваннями і дати рекомендації щодо застосування цих процедур.

УКНД 11.080.20

Ключові слова: дезінфекційний засіб, хімічна сполука, випробовування, визначання, антибактеріальна дія, готування, метод випробовування з фільтруванням, метод випробовування з нейтралізуванням, розведений розчин, культуральне середовище.
