
**Измерение антибактериальной
активности на поверхности пластмасс
и других непористых материалов**

*Measurement of antibacterial activity on plastics and other non-porous
surfaces*

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 22196:2011

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f34d8184-cff2-4792-b4ed-c8d7cda64198/iso-22196-2011>

Ответственность за подготовку русской версии несёт GOST R
(Российская Федерация) в соответствии со статьёй 18.1 Устава ISO



Ссылочный номер
ISO 22196:2011(R)

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 22196:2011

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f34d8184-cff2-4792-b4ed-c8d7cda64198/iso-22196-2011>



ДОКУМЕНТ ЗАЩИЩЕН АВТОРСКИМ ПРАВОМ

© ISO 2011

Все права сохраняются. Если не указано иное, никакую часть настоящей публикации нельзя копировать или использовать в какой-либо форме или каким-либо электронным или механическим способом, включая фотокопии и микрофильмы, без предварительного письменного согласия ISO, которое должно быть получено после запроса о разрешении, направленного по адресу, приведенному ниже, или в комитет-член ISO в стране запрашивающей стороны.

ISO copyright office
Case postale 56 • CH-1211 Geneva 20
Tel. + 41 22 749 01 11
Fax + 41 22 749 09 47
E-mail copyright@iso.org

Web www.iso.org

Опубликовано в Швейцарии

Содержание

Страница

Предисловие	iv
Введение	v
1 Область применения	1
2 Нормативные ссылки	1
3 Термины и определения	2
4 Материалы	2
4.1 Бактерии для использования в испытаниях	2
4.2 Реактивы, питательные среды и растворы	3
5 Аппаратура	5
6 Стерилизация оборудования и хранение исходных культур	6
6.1 Стерилизация сухим жаром	6
6.2 Стерилизация паром под давлением	6
6.3 Подготовка стеклянной посуды	6
6.4 Поддержание исходных культур	6
7 Процедура	6
7.1 Проведение анализа	6
7.2 Подготовка образцов для анализа	6
7.3 Подготовка посевного материала для анализа	7
7.4 Посев на испытуемые образцы	7
7.5 Инкубирование засеянных испытуемых образцов	9
7.6 Выделение бактерий на испытуемых образцах	9
7.7 Определение количества жизнеспособных бактерий подсчетом на чашках	9
8 Обработка результатов	10
8.1 Определение количества жизнеспособных бактерий	10
8.2 Условия получения достоверных результатов анализа	10
8.3 Расчет антибактериальной активности	11
8.4 Эффективность антибактериального вещества	11
9 Повторяемость и воспроизводимость	11
10 Протокол испытания	11
Приложение А (нормативное) Качество биологических материалов	13
A.1 Общие положения	13
A.2 Химический состав питательного бульона 1/500 (1/500 NB)	13
Приложение В (информативное) Повторяемость и воспроизводимость	14
V.1 Сущность приложения	14
V.2 Краткое описание	14
V.3 Эксперимент	14
V.4 Результаты и обсуждение	15
Библиография	17

Предисловие

Международная организация по стандартизации (ISO) является всемирной федерацией национальных организаций по стандартизации (комитетов-членов ISO). Разработка международных стандартов обычно осуществляется техническими комитетами ISO. Каждый комитет-член, заинтересованный в деятельности, для которой был создан технический комитет, имеет право быть представленным в этом комитете. Международные правительственные и неправительственные организации, имеющие связи с ISO, также принимают участие в работах. ISO работает в тесном сотрудничестве с Международной электротехнической комиссией (IEC) по всем вопросам стандартизации в области электротехники.

Международные стандарты разрабатываются в соответствии с правилами, установленными в Директивах ISO/IEC, Часть 2.

Основная задача технических комитетов состоит в подготовке международных стандартов. Проекты международных стандартов, одобренные техническими комитетами, рассылаются комитетам-членам на голосование. Их опубликование в качестве международных стандартов требует одобрения, по меньшей мере, 75 % комитетов-членов, принимающих участие в голосовании.

Следует иметь в виду, что некоторые элементы данной части ISO 16065 могут быть объектом патентных прав. Организация ISO не должна нести ответственность за идентификацию какого-либо одного или всех патентных прав.

ISO 22196 был подготовлен Техническим комитетом ISO/TC 61, *Пластмассы*, Подкомитетом SC 6, *Сопrotивление старению, химическим воздействия и воздействию окружающей среды*.

Настоящее второе издание отменяет и заменяет первое издание (ISO 22196:2007). Основным изменением является расширение области применения стандарта с включением непористых поверхностей материалов, отличных от пластмасс (подробности см. во Введении).

Введение

Антибактериальные материалы и антибактериальная продукция были быстро и широко внедрены основными потребителями как выполняющие относительно новую функцию, отличающуюся от более традиционной функции защиты материалов.

Антибактериальная продукция, создаваемая посредством включения антибактериального вещества (бактерицида, биоцида), может подавлять рост бактерий на поверхностях изделий, если возникают условия, в которых этот рост может произойти. Они могут сохранять поверхности чистыми и гигиеничными, а также их преимуществом является сведение к минимуму воздействий на окружающую среду, минимизируя диффузию вещества. Такая технология имеет большое значение для качества жизни не только в развитых, но и в развивающихся странах.

Антибактериальная продукция широко используется в пластмассах, материалах покрытий, керамике, натуральной и искусственной коже, нержавеющей стали, резине и т.д. Изделия с покрытиями разных категорий, такие как электроприборы, предметы личного пользования, кухонная утварь, предметы ухода за детьми, изделия для домашних животных и отделочные материалы для интерьеров самолетов.

Область применения первого издания ISO 22196 была ограничена пластмассовыми поверхностями. В настоящем втором издании, область применения расширена с включает поверхности, изготовленные из других непористых материалов, давая возможность, таким образом, применять настоящее второе издание к изделиям, типы которых перечислены выше. Метод испытания, основанный на стандарте JIS Z 2801^[11], остался неизменным.

standards.iteh.ai
ISO 22196:2011

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f34d8184-cff2-4792-b4ed-c8d7cda64198/iso-22196-2011>

Измерение антибактериальной активности на поверхности пластмасс и других непористых материалов

1 Область применения

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ — Работа с потенциально опасными микроорганизмами требует высокой степени технической компетенции и может быть предметом действующего национального законодательства и регламентов. Подобную работу может осуществлять только персонал, обученный технике работы с микробиологическим материалом. Необходимо строго соблюдать правила дезинфекции, стерилизации и личной гигиены.

Настоящий международный стандарт устанавливает метод оценки антибактериальной активности обработанных противобактериальными средствами пластмасс и других непористых поверхностей изделий (включая полуфабрикаты).

Данный стандарт не предназначен для оценивания влияния бактерий и их распространения на непористых поверхностях без антибактериальной обработки. В стандарте ISO 846^[1] описаны испытания по оценке влияния бактерий и их распространение на непористых поверхностях, которые отличаются от поверхностей, рассматриваемых в настоящем международном стандарте (см., например, ISO 846:1997, метод C).

Вторичные эффекты антибактериальной обработки, такие как предотвращение микробиологического разрушения и появления запаха в данном международном стандарте не описываются, поскольку его не предполагается использовать (или сослаться на него) как метод для определения или обнаружения способности к биологическому разложению, например, пластмассовых материалов. В случае пластмасс биоразложение подпадает под ISO 14851^[2], ISO 14852^[3] and ISO 14855^[4] и связанные с ними стандарты.

Исключены из области применения строительные материалы, кроме тех случаев, где они используются таким же образом, как обработанные изделия.

Прошедшие антибактериальную обработку текстильные материалы исключаются из области применения, даже если поверхности их имеют покрытие или ламинированы (такая продукция описана в ISO 20743^[5]).

Фотокаталитические материалы и продукция также исключаются из области применения (такие материалы и продукция описаны в ISO 27447^[6]).

Полученные результаты должны включать ссылку на данные международного стандарта и использованные условия. Результаты, полученные с помощью настоящего международного стандарта, указывают на антибактериальную активность в использованных установленных экспериментальных условиях, и не отражают активности в иных обстоятельствах, там где следует учитывать различные факторы, такие как температура, влажность, различные виды бактерий, условия питания и т.д.. В данном методе необходима минимальная диффузия антибактериальных веществ/химических веществ в испытательный посевной материал.

Аналитикам необходимо периодически обращаться к стандарту ISO 7218.

2 Нормативные ссылки

Нижеследующие документы являются обязательными для применения данного документа. Для датированных ссылок действительно только указанное издание. В случае недатированных ссылок используется последняя редакция документа, на который дается ссылка (включая все изменения).

ISO 7218, *Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Общие требования и рекомендации по микробиологическим исследованиям*

3 Термины и определения

Применительно к данному документу используются следующие термины и определения.

3.1 антибактериальный бактерицидный antibacterial
термин, описывающий состояние, в котором рост бактерий на поверхностях изделий подавляется, или описывающий влияние вещества, которое подавляет рост бактерий на поверхностях изделий

3.2 антибактериальное вещество бактерицидное вещество antibacterial agent
вещество, которое подавляет рост бактерий на поверхностях изделий и используется либо для антибактериальной обработки, либо в качестве ингредиента композиционной смеси

3.3 антибактериальное (бактерицидное) действие антибактериальная (бактерицидная) активность antibacterial activity
разность логарифмов количества жизнеспособных бактериальных клеток, обнаруженных на поверхности изделия, подвергшегося противобактериальной обработке, и количества жизнеспособных бактериальных клеток, обнаруженных на поверхности необработанного изделия после посева и инкубации микроорганизмов

3.4 антибактериальная эффективность бактерицидная эффективность antibacterial effectiveness
способность бактерицидного вещества подавлять роста бактерий на поверхности материалов после бактерицидной обработки, определенная по значению антибактериального действия

4 Материалы

4.1 Бактерии для использования в испытаниях

Должны использоваться оба нижеследующих видов бактерий:

- a) *Staphylococcus aureus*;
- b) *Escherichia coli*.

Бактериальные штаммы для использования в анализе показаны в Таблице 1. Если используются бактериальные штаммы, полученные из других банков культур, кроме указанных в Таблице 1, их необходимо заказывать через агентство, являющееся членом Всемирной федерации банков культур (World Federation for Culture Collections (WFCC)) или Японского общества банков культур (Japan Society for Culture Collections (JSCC)), и эти штаммы должны быть такими же, как показаны в Таблице 1. Выращивают исходные (чистые) культуры этих видов в соответствии с инструкциями поставщика.

Таблица 1 — Бактериальные штаммы, которые должны использоваться

Название	Штамм
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538P
	CIP 53.156
	DSM 346
	NBRC 12732
	NCIB 8625
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 8739
	CIP 53.126
	DSM 1576
	NBRC 3972
	NCIB 8545

Если требуется, можно использовать другие виды, в этом случае в протоколе испытания необходимо указать, какие виды были использованы и почему.

4.2 Реактивы, питательные среды и растворы

Воду необходимо использовать дистиллированную или деионизированную, имеющую электропроводность < 1 МкСм/см.

Все реактивы должны быть аналитической чистоты и/или специального класса для микробиологических исследований.

4.2.1 Неионное поверхностно-активное вещество (сурфактант)

Должен использоваться полиоксиэтилен сорбитан моноолеат.

[https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f34d8184-cff2-4792-b4ed-c8d7cda64198/iso-](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/f34d8184-cff2-4792-b4ed-c8d7cda64198/iso-22196-2011)

4.2.2 Биологические материалы

Требуются следующие биологические материалы:

- лецитин;
- D-глюкоза;
- дрожжевой экстракт;
- мясной экстракт (см. Приложение А);
- пептон (см. Приложение А);
- казеиновый пептон;
- соевый пептон;
- триптон.

4.2.3 Питательная среда

4.2.3.1 Общие положения

Необходимо использовать питательную среду, описанную ниже. Питательную среду можно получить от поставщиков. В этом случае ее необходимо готовить для применения в соответствии с инструкциями изготовителя.

Количество питательной среды можно изменять при условии сохранения такого же состава.

4.2.3.2 Суспензия — питательный бульон 1/500 (1/500 NB)

Готовят питательный бульон путем растворения 3,0 г мясного экстракта, 10,0 г пептона и 5,0 г хлорида натрия в 1 000 мл дистиллированной или деионизированной воды. Разбавляют питательный бульон дистиллированной или деионизированной водой до 500-кратного объема и регулируют pH до значения от 6,8 до 7,2 гидроксидом натрия или соляной кислотой. Стерилизуют в автоклаве (см. 6.2). Если среду не используют немедленно после приготовления, ее хранят при температуре от 5 °C до 10 °C. Бульон 1/500 NB, который хранили в течение одной недели или больше после приготовления, использовать нельзя.

4.2.3.3 Питательный агар

Питательный агар готовят путем растворения 5,0 г мясного экстракта, 10,0 г пептона, 5,0 г хлорида натрия и 15,0 г порошка агара в 1 000 мл дистиллированной или деионизированной воды. Нагревают при помешивании на нагревательной плитке или на кипящей водяной бане, пока агар не растворится. Регулируют pH до значения от 7,0 до 7,2 (при температуре 25 °C) с помощью гидроксида натрия или соляной кислоты. Стерилизуют в автоклаве (см. 6.2). Если среду не используют немедленно после приготовления, ее хранят при температуре от 5 °C до 10 °C. Питательный агар, который хранили в течение одного месяца или больше после приготовления, использовать нельзя.

4.2.3.4 Агаризованная питательная среда для подсчета микроорганизмов в чашках

Питательную агаризованную среду в чашках готовят путем растворения 2,5 г дрожжевого экстракта, 5,0 г триптона, 1,0 г глюкозы и 15,0 г порошка агара в 1 000 мл дистиллированной или деионизированной воды. Нагревают при помешивании на нагревательной плитке или на кипящей водяной бане, пока агар не растворится. Регулируют pH до значения от 7,0 до 7,2 (при температуре 25 °C) с помощью гидроксида натрия или соляной кислоты. Стерилизуют в автоклаве (см. 6.2). Если среду не используют немедленно после приготовления, ее хранят при температуре от 5 °C до 10 °C. Питательную агаризованную среду в чашках, которую хранили в течение одного месяца или больше после приготовления, использовать нельзя.

4.2.3.5 Скошенная питательная среда

Заливают от 6 мл до 10 мл питательного агара, который нагревали до растворения, в пробирку с завинчивающейся крышкой. Стерилизуют в автоклаве (см. 6.2). После стерилизации помещают пробирку под углом наклона 15° к горизонтали и дают содержимому застыть. Если среду не используют немедленно после приготовления, ее хранят при температуре от 5 °C до 10 °C. Скошенную питательную среду, которую хранили в течение одного месяца или больше после приготовления, использовать нельзя.

4.2.3.6 Бульон на основе перевара соевого пептона и казеина с лецитином и полиоксиэтилен сорбитан моноолеатом (бульон SCDLP)

Готовят бульон SCDLP путем растворения 17,0 г казеинового пептона, 3,0 г соевого пептона, 5,0 г хлорида натрия, 2,5 г гидрофосфата натрия, 2,5 г глюкозы и 1,0 г лецитина в 1 000 мл дистиллированной или деионизированной воды. Тщательно перемешивают и добавляют 7,0 г неионного сурфактанта. Регулируют pH до значения от 6,8 до 7,2 (при температуре 25 °C) с помощью гидроксида натрия или соляной кислоты. Стерилизуют в автоклаве (см. 6.2). Если среду не используют немедленно после приготовления, ее хранят при температуре от 5 °C до 10 °C. Бульон SCDLP, который хранили в течение одного месяца или больше после приготовления, использовать нельзя.

ПРИМЕЧАНИЕ SCDLP в большинстве случаев является обычным нейтрализатором. Дополнительную информацию в отношении подбора и оценки альтернативных противобактериальных нейтрализующих средств можно получить в стандартах ASTM E1054^[7] и EN 1040^[8].

4.2.3.7 Фосфатный буферный раствор

Готовят фосфатный буферный раствор следующим образом: помещают 34,0 г дигидрофосфата калия в мерную колбу вместимостью 1 000 мл. Добавляют 500 мл дистиллированной или деионизированной воды и перемешивают до растворения. Регулируют pH до значения от 6,8 до 7,2 (при температуре 25 °С) с помощью гидроксида натрия. Добавляют дистиллированной или деионизированной воды, чтобы довести объем до 1 000 мл. Стерилизуют в автоклаве (см 6.2). Фосфатный буферный раствор нельзя использовать после хранения в течение месяца или больше после приготовления.

4.2.3.8 Физиологический солевой раствор на основе фосфатного буфера

Готовят физиологический солевой раствор, поместив 8,5 г хлорида натрия в 1 000 мл дистиллированной или деионизированной воды и перемешав до растворения. Разбавляют фосфатный буферный раствор, приготовленный в 4.2.3.7, физиологическим соевым раствором до 800-кратного объема. Стерилизуют физиологический раствор с фосфатным буфером в автоклаве (см. 6.2). Если раствор не используют немедленно после приготовления, его хранят при температуре от 5 °С до 10 °С. физиологический солевой раствор на основе фосфатного буфера, который хранился после приготовления в течение одного месяца или больше, использовать нельзя.

5 Аппаратура

Если нет иных указаний, используют следующее оборудование и материалы:

5.1 Стерилизатор сухим жаром, обеспечивающий поддержание температуры от 160 °С до 180 °С в пределах ± 2 °С от установленного значения в условиях равновесия.

5.2 Автоклаве, обеспечивающий поддержание температуры (121 ± 2) °С и давления (103 ± 5) кПа.

5.3 Нагревательная плитка со смесителем, или **водяная баня**.

5.4 pH-метр, обеспечивающий измерение до $\pm 0,2$ единиц pH.

5.5 Весы, обеспечивающие взвешивание до $\pm 0,01$ г.

5.6 Устройство для пипетирования, стерильное, с наконечниками по 1 000 мкл.

5.7 Инкубатор (термостат), обеспечивающий поддержание температуры в пределах ± 1 °С от установленного значения в условиях равновесия.

5.8 Вихревой смеситель, если требуется (см. 7.6.1).

5.9 Ультразвуковой аппарат, если требуется (см. 7.6.1).

5.10 Бактериологические петли для посева, с диаметром кольца 4 мм, стерильные.

5.11 Закрывающая пленка, не влияющая на рост бактерий и не поглощающая влагу (изготовленная из полиэтилена, полипропилена или полиэфира [поли(этилен терефталат)]). Рекомендуется использовать пленку толщиной от 0,05 мм до 0,10 мм.

ПРИМЕЧАНИЕ Также подойдет пленка, отрезанная от пакетов для гомогенизатора Stomacher.

5.12 Пробирки с завинчивающейся крышкой.

5.13 Чашки Петри, стерильные, диаметром 90 мм – 100 мм.

5.14 Марля или гигроскопическая вата.

5.15 Мерная колба вместимостью 1 000 мл.