ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО

ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р 55040 — 2012 ISO 14730:2000

ОПТИКА ОФТАЛЬМОЛОГИЧЕСКАЯ

СРЕДСТВА УХОДА ЗА КОНТАКТНЫМИ ЛИНЗАМИ

Метод испытания эффективности антибактериальных консервантов и руководство по определению срока утилизации

ISO 14730:2000
Ophthalmic optics – Contact lens care products – Antimicrobial preservative efficacy testing and guidance on determining discard date
(MOD)

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2014

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

1 ПОДГОТОВЛЕН Открытым акционерным обществом «ТКС-оптика» совместно с рабочей группой ПК 7 «Офтальмологическая оптика и приборы» Технического комитета ТК 296 «Оптика и оптические приборы» на основе собственного аутентичного перевода на русский язык международного стандарта, указанного в пункте 4

2 ВНЕСЕН Управлением технического регулирования и стандартизации Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

3 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 01 ноября 2012 г. № 687-ст

4 Настоящий стандарт является модифицированным по отношению к международному стандарту ИСО 14730:2000 «Офтальмологическая оптика. Средства ухода за контактными линзами. Методы испытания эффективности предохранения от микробов и срока ликвидации» (ISO 14730:2000 «Ophthalmic optics – Contact lens care products – Antimicrobial preservative efficacy testing and guidance on determining discard date») путем:

- изменения наименования стандарта и его структуры для приведения в соответствие с правилами, установленными в ГОСТ Р 1.5 (подразделы 4.2 и 4.3);
- введения дополнительных фраз. При этом дополнительные фразы, включенные в текст стандарта для учета потребностей национальной экономики Российской Федерации и особенностей национальной стандартизации, выделены курсивом.

Сравнение структуры настоящего стандарта со структурой указанного международного стандарта приведено в дополнительном приложении ДА.

При применении настоящего стандарта рекомендуется использовать вместо ссылочных международных стандартов соответствующие им национальные стандарты Российской Федерации, сведения о которых приведены в дополнительном приложении ДБ

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Правила применения настоящего стандарта установлены в ГОСТ Р 1.0—2012 (раздел 8). Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном (по состоянию на 1 января текущего года) информационном указателе «Национальные стандарты», а официальный текст изменений и поправок – в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ближайшем выпуске информационного указателя «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования – на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет (gost.ru)

© Стандартинформ, 2014

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

Введение

Средства ухода за контактными линзами предназначены для применения с контактными линзами. Эти продукты промывают, чистят, дезинфицируют, используются для хранения, смачивания, создания комфортных условий для контактных линз. Некоторые продукты имеют одну функцию, в то время как другие являются многофункциональными.

Обычно продукты, изготовленные для применения с гидрогельными линзами, могут быть использованы с жесткими газопроницаемыми (RGP) или с полиметилметакрилатовыми (ПММА) линзами, но продукты, специально используемые для линз RGP или ПММА, обычно не подходят для гидрогельных линз.

Большинство жидких средств ухода за контактными линзами упаковывают и реализуют в многоразовых контейнерах. Твердые средства ухода за контактными линзами реализуются в виде таблеток или гранул и должны быть растворены в подходящем растворителе непосредственно перед использованием.

Если жидкое средство ухода за контактными линзами не обладает антибактериальной активностью, антибактериальные консерванты могут быть добавлены в продукт, чтобы подавлять рост микроорганизмов, которые могут быть введены в результате многократного дозирования при использовании и последующем хранении. Все антибактериальные агенты представляют токсический потенциал для пользователя. Для максимальной защиты пользователя концентрация консерванта должна обеспечивать адекватную консервативную активность с минимальной токсичностью.

Существуют различия между офтальмологическими препаратами и средствами ухода за контактными линзами, и некоторые из этих различий важны в отношении испытания эффективности консервации. Как правило, офтальмологические препараты упакованы в контейнеры небольшого объема и предназначены для использования в течение коротких периодов времени ввиду угрозы для глаза. Средства ухода за контактными линзами реализуют в емкостях большого объема и используют с контактными линзами для здоровых глаз на долгосрочной основе. Потенциальные риски в средствах по уходу за контактными линзами заключаются в растворе/взаимодействии линз, вызывающих раздражение глаз и риск загрязнения раствора при ежедневном использовании продукта.

Риск побочных реакций для пациента из-за взаимодействия линз и раствора должен быть сопоставлен с преимуществами безопасности от поддержания антибактериальной активности раствора.

Настоящий стандарт представляет метод испытания и критерии эффективности консервантов. Этот метод был заимствован из фармакопеи, дающей ограничения по времени в процедуре испытания – 28 суток. В справочных приложениях приведены четыре примера метода испытания антибактериальных консервантов, разработанные изготовителями средств по уходу за контактными линзами, чтобы продемонстрировать эффективность консервантов со сроком утилизации более 28 суток.

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ОПТИКА ОФТАЛЬМОЛОГИЧЕСКАЯ.

СРЕДСТВА УХОДА ЗА КОНТАКТНЫМИ ЛИНЗАМИ

Метод испытания эффективности антибактериальных консервантов и руководство по определению срока утилизации

Ophthalmic optics. Contact lens care products.
Antimicrobial preservative efficacy testing and guidance on determining discard date

Дата введения—2014—07—01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает метод испытания, который используется при оценке эффективности антибактериальных консервантов всех многоцелевых растворов по уходу за контактными линзами, и приводит руководство по определению срока утилизации.

Метод применяют к средствам ухода со сроком годности до 28 суток.

Метод не применяют к стерильным средствам ухода, упакованным в дозаторы для одноразового использования или контейнеры, разработанные с физическим барьером, например, аэрозольные баллоны.

Примечания

1 Принципы метода могут быть использованы для увеличения срока утилизации более 28 суток. См. приложения B, C, D и E.

2 Использование множественных или смешанных микробных заражений и/или включение других органических загрузок может влиять на очевидную антибактериальную активность того или иного средства ухода. Оценка таких изменений наряду с испытанием при большем числе микроорганизмов и испытанием средств из частично использованных контейнеров может иметь значение при разработке средства по уходу за контактными линзами, но это не входит в область применения настоящего стандарта.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использована нормативная ссылка на следующий стандарт:

ГОСТ Р 53941–2010 (ИСО 18369-1:2006) Оптика офтальмологическая. Линзы контактные. Часть 1. Термины, определения и буквенные обозначения

Примечание – При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет или по ежегодному информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по выпускам ежемесячного информационного указателя «Национальные стандарты» за текущий год Если заменен ссылочный стандарт, на который дана недатированная ссылка, то рекомендуется использовать действующую версию этого стандарта с учетом всех внесенных в данную версию изменений. Если заменен ссылочный стандарт, на который дана датированная ссылка, то рекомендуется использовать версию этого стандарта с указанным выше годом утверждения (принятия). Если после утверждения настоящего стандарта в ссылочный стандарт, на который дана датированная ссылка, внесено изменение, затрагивающее положение, на которое дана ссылка, то это положение рекомендуется применять без учета данного изменения. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, рекомендуется применять в части, не затрагивающей эту ссылку.

Издание официальное

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применены термины по ГОСТ Р 53941.

4 Принцип

4.1 Испытание состоит из заражения продукта стандартным штаммом из коллекции подходящих микроорганизмов в начале испытания, а затем повторного их заражения на 14 сутки. Зараженные продукты хранят при указанной температуре. Вводимую микробиологическую культуру изымают из инокулированных продуктов через определенные интервалы времени и культивируют для определения числа жизнеспособных микроорганизмов. Возможность предотвращения повторного роста подтверждают подсчетом жизнеспособных микроорганизмов в течение длительного периода времени.

4.2 Вводимая микробиологическая культура, выбранная для данного испытания, должна обеспечить определенное число микроорганизмов, на основании чего можно определить скорость и степень потери их жизнеспособности. Данная микробиологическая культура не предназначена для подобного заражения на практике.

4.3 Свойства антибактериального консерванта адекватны, если в условиях испытания обеспечено значительное сокращение бактерий и нет увеличения дрожжей и плесени в зараженной заготовке при указанных температурах. Критерии контроля испытуемых средств приведены в 5.6.

4.4 Для инактивации или удаления остаточных антибактериальных консервантов во время культивирования и подсчета числа выживших микроорганизмов должны быть приняты соответствующие меры, а эффективность этих мер должна быть *оценена и подтверждена органами контроля.*

5 Метод испытаний

5.1 Материалы и реактивы

5.1.1 Тест-культуры (тест-штаммы)

Следует использовать тест-штаммы, приведенные в таблице 1.

Примечание– Допускается использовать тест-штаммы из других коллекций культур, перечисленных в приложении F.

Таблица 1 – Тест-штаммы

Синегнойная палочка *(Pseudomonas aeruginosa)*	ATCC 9027
Золотистый стафилококк *(Staphylococcus aureus)*	ATCC 6538
Кишечная палочка *(Escherichia coli)*	ATCC 8739
Кандида албиканс *(Candida albicans)*	ATCC 10231
Аспергиллус нигер *(Aspergillus niger)*	ATCC 16404

5.1.2 Питательные среды и реактивы

5.1.2.1 Триптоновый соевый агар (TSA).

5.1.2.2 Агар Сабуро с декстрозой (SDA).

5.1.2.3 Фосфатно-солевой раствор Dulbecco с буферной добавкой, без хлорида кальция и хлорида марганца (DPBS): 200 мг/л KCl, 200 мг/л KH_2PO_4, 8000 мг/л NaCl и 2160 мг/л $Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$ или подходящий растворитель.

5.1.2.4 Фосфатно-солевой раствор Dulbecco с буферной добавкой плюс 0,05 % (масса/объем) полисорбата 80 (DPBST) или подходящий растворитель.

5.1.2.5 Оцененные нейтрализирующие агенты (при необходимости), например, нейтрализующий бульон Dey-Engley (DEB) и бульон Letheen.

5.1.3 Испытательное оборудование

Для проведения испытаний требуется следующее лабораторное оборудование:

Стерильные пипетки.

Ватные тампоны.

Трубки.

Чашки Петри (от 90 до 100 × 20 мм).

Инкубатор.
Спектрофотометр (для определения плотности клеток и подсчета числа колоний).
Центрифуга.

5.2 Испытуемые образцы и содержание тест-культур

Средство, которое подлежит испытанию, должно быть средством, реализуемым на рынке. Аликвотные пробы должны быть взяты непосредственно из контейнера перед проведением испытания.

Следует испытать три лота (партии) средства. Каждый лот средства испытывают отдельным тест-штаммом для каждого из них.

Сохранение тест-культуры проводят в соответствии с рекомендациями куратора соответствующей коллекции культур.

Тест-культуры следует изымать из коллекций (ATCC, NCIB, NCTC, NCPF или других коллекций культур) не более пяти пассажей каждой тест-культуры (см. приложение F), при этом изымают тест-культуру предыдущего раза.

5.3 *Приготовление микробиологической культуры (инокулята)*

Культивируют инокулят на скошенном агаре при условиях, указанных в таблице 2.

Таблица 2 – Питательные среды и инкубационные условия для выращивания вводимого инокулята

Инокулят	Питательная среда	Температура, ° С	Инкубационный период
P. aeruginosa	TSA	От 30 до 35	От 18 до 24 ч
S. aureus	TSA	От 30 до 35	От 18 до 24 ч
E. coli	TSA	От 30 до 35	От 18 до 24 ч
C. albicans	SDA	От 30 до 35	От 18 до 24 ч
A. niger	SDA	От 20 до 25	От 7 до 10 суток

Используют стерильный DPBST или подходящий растворитель для сбора каждой выращенной культуры; смыв культуры с агара промывают, переносят в подходящий сосуд и встряхивают. Отфильтровывают суспензию спор через стерильную стеклянную вату или марлю, чтобы удалить нитяные фрагменты.

Допускается промывать культивированный инокулят после сбора с использованием центрифуги. Для осуществления диспергирования отдельных клеток допускается отфильтровывать бактерийные взвеси (например, используя фильтр с размерами пор от 3 до 5 мкм). Все вводимые тест-культуры доводят до концентрации от $1 \cdot 10^7$ до $1 \cdot 10^8$ КОЕ/мл с помощью DPBST или другого подходящего растворителя. Определяют приблизительную концентрацию клеток каждой взвеси путем измерения помутнения взвеси или раствора взвеси с помощью спектрофотометра. Действительную концентрацию колониеобразующих единиц (далее – КОЕ/мл) следует определять во время испытания для каждой взвеси, например методом подсчета с использованием чашки Петри.

Если используют центрифугу, каждый процесс центрифугирования следует проводить при температуре от 20 °С до 25 °С не более 10 мин при ускорении не более 4000 *g*. Используют взвеси бактериальных и дрожжевых клеток в день приготовления.

Примечания

1 Более длительные периоды центрифугирования могут потребовать более низких ускорений.

2 Споровые взвеси можно использовать в течение 7 суток после приготовления при условии хранения их в холодильнике при температуре от 2 °С до 8 °С.

5.4 *Методика* испытания *введением тест-культур*

5.4.1 Приготовляют одну или более пробирок (для каждого испытуемого лота), содержащих не менее 10 мл раствора испытуемого средства на каждую вводимую тест-культуру.

Примечание– Чтобы обеспечить эффективное техничное исполнение испытания, используют пробирки для образцов, а не контейнеры от линз. Поскольку между ингредиентами раствора и материалом пробирок может быть несовместимость, необходимо использовать пробирки, изготовленные из

соответствующего материала.

Вводят в пробирку с испытуемым образцом средства взвесь испытуемых тест-культур в количестве от $1{,}0 \cdot 10^5$ до $1{,}0 \cdot 10^6$ КОЕ/мл. Убеждаются, что объем вносимой бактериальной культуры не превышает 1 % объема образца. Обеспечивают полное диспергирование инокулята путем надлежащего перемешивания.

5.4.2 Хранят инокулированное средство при температуре от 20 °С до 25 °С. Температуру необходимо отслеживать с помощью калиброванного устройства и регистрировать его показания.

Если средство чувствительно к свету, его следует защитить от попадания света в течение периода проведения испытания.

5.4.3 Берут 1,0 мл аликвотных проб инокулированного средства для определения числа жизнеспособных микроорганизмов на 7 и 14 сутки.

5.4.4 После взятия аликвотных проб 14-дневного инокулята каждое средство вновь инокулируют по 5.4.1, используя введение тест-культур в количестве от $1{,}0 \cdot 10^4$ до $1{,}0 \cdot 10^5$ КОЕ/мл.

5.4.5 Берут 1,0 мл аликвотных проб инокулированного средства для определения числа жизнеспособных микроорганизмов на 21 и 28 сутки.

5.4.6 Подвергают каждую из 1,0 мл аликвотных проб, взятых через заданные промежутки времени, действию соответствующей серии десятичных разведений в оцененных нейтрализующих средах. Интенсивно перемешивают взвесь встряхиванием и дают постоять, чтобы завершить нейтрализацию. Условия нейтрализации должны базироваться на проверке контроля питательной среды (см. 5.5.2).

Если антибактериальный агент в составе невозможно надлежащим образом инактивировать или нейтрализовать, удаляют его оцененным методом мембранной фильтрации (см. приложение А).

5.4.7 Определяют число жизнеспособных микроорганизмов в соответствующих растворах путем приготовления тройных чашек (если иное не оговорено) с подходящей питательной средой (например, TSA для бактерий и SDA для плесени и дрожжей).

Если была применена мембранная фильтрация для удаления или нейтрализации антибактериальных агентов, культивируют мембраны на этих средах.

Если используется метод чашечного разлива, хранят агар перед разливкой в разливочные чашки при температуре ниже 50 °С.

Примечание – Агаровые среды, используемые для определения числа жизнеспособных микроорганизмов, также могут содержать противомикробные инактиваторы или нейтрализаторы.

5.4.8 Чашки с тест-культурами должны быть инкубированы при температуре от 30 °С до 35 °С, посевы с дрожжевыми грибами (дрожжаки) – при температуре от 20 °С до 25 °С или от 30 °С до 35 °С. Посевы с плесневыми грибами инкубируют при температуре от 20 °С до 25 °С. Периоды инкубации для оптимального прироста бактерий, дрожжей и плесени должны быть определены. Минимальные периоды инкубации должны быть основаны на анализе контроля питательной среды (см. 5.5.2). Записывают число наблюдаемых КОЕ/мл на чашках, которые поддаются подсчету.

Чашки во время инкубации следует периодически наблюдать, чтобы предотвратить появление чашек, в которых из-за чрезмерного роста бактерий, дрожжей и плесени КОЕ не поддаются подсчету.

5.4.9 Определяют среднее число КОЕ на чашках, поддающихся подсчету. Вычисляют уменьшение числа микроорганизмов в заданные моменты времени.

Примечание – Каждая чашка, поддающаяся подсчету, содержит от 30 до 300 КОЕ для бактерий и дрожжей и от 8 до 80 КОЕ для плесени, за исключением случаев, когда КОЕ наблюдаются только в чашках для разведения 10^0 или 10^{-1}.

5.4.10 Отсутствие микроорганизмов необходимо документировать, например, написав «0» или «НР» (нет роста), когда чашки для всех растворов образца в отдельный момент времени не содержат КОЕ.

5.4.11 Концентрацию жизнеспособных микроорганизмов рассчитывают на каждый заданный момент времени. Концентрация жизнеспособных микроорганизмов в следующие 14 суток инокулирования является суммой концентрации инокулята и концентрации выживших микроорганизмов на 14 сутки.

5.5 Средства контроля

5.5.1 Контроль вносимой бактериальной культуры

Начальные и повторные концентрации вносимой бактериальной культуры рассчитывают путем диспергирования идентичной аликвотной пробы инокулированного материала в объеме растворителя по 5.4.1 для получения конечной концентрации от $1{,}0 \cdot 10^5$ до $1{,}0 \cdot 10^6$ КОЕ/мл для начального инокулирования и от $1{,}0 \cdot 10^4$ до $1{,}0 \cdot 10^5$ для повторного. Убеждаются, что объем вносимой бактериальной культуры не превышает 1 % объема образца. Диспергирование вносимой культуры обеспечивают перемешиванием. Оценивают данный контрольный образец в начале испытания на КОЕ/мл, чтобы продемонстрировать пригодность среды, используемой для роста бактериальной культуры, и обеспечить оценку начальной концентрации исходной вносимой бактериальной культуры. Помещают соответствующую аликвотную пробу из каждой пробирки на три восстановительных агаровых чашки (если иное не оговорено).

5.5.2 Контроль питательной среды

Разбавляют 1/10 раствора средства в оцененном нейтрализующем бульоне (1 мл в 9 мл). Дают бульону постоять до завершения реакции нейтрализации. Подготавливают вторую контрольную пробирку, содержащую 10 мл подходящего растворителя (например, DPBST). Вводят в пробирки достаточное количество культуры, чтобы получилось от 10 до 100 КОЕ/мл вводимого микроорганизма на каждую чашку. Выдерживают в течение соответствующего периода времени при температуре окружающей среды, не допуская размножения инокулированных микроорганизмов. Помещают соответствующую аликвотную пробу из каждой пробирки на три восстановительных агаровых чашки (если не оговорено иное).

Для проростка бактерий необходимо выдержать чашки при температуре от 30 °С до 35 °С. Для проростка дрожжей необходимо выдержать чашки при температуре от 20 °С до 25 °С или от 30 °С до 35 °С. Для проростка плесени необходимо выдержать чашки при температуре от 20 °С до 25 °С. Определяют минимальные периоды выдерживания для достижения оптимального проростка бактерий, дрожжей и плесени.

Убеждаются, что рост бактериальных культур в растворе нейтрализующего средства составляет не менее 50 % роста бактериальных культур во второй пробирке с подходящим растворителем.

Если для нейтрализации требуется разбавление более чем 1/10, следует применить мембранную фильтрацию.

Оценивают нейтрализацию продукта перед каждым введением микроорганизма.

5.6 Критерии *контроля*

5.6.1 Основные критерии

Испытуемые средства должны удовлетворять указанным критериям на протяжении всего указанного срока годности до утилизации.

Соответствие критериям по 5.6.2 и 5.6.3 должно обеспечиваться в течение 28 суток использования после вскрытия (срок годности).

Примечание – Если дата утилизации больше 28 суток, применяют методы по приложениям B, C, D и E.

5.6.2 Бактерии

Число каждого жизнеспособного микроорганизма, обнаруженного в каждом миллилитре, должно быть на уровне или ниже среднего значения не менее 3 log на 14 сутки.

После повторного внесения на 14 сутки бактериальной культуры концентрация каждого жизнеспособного микроорганизма должна быть уменьшена до уровня среднего значения 3 log к 28 суткам.

5.6.3 Плесени и дрожжи

Число каждого жизнеспособного микроорганизма, обнаруженного в каждом миллилитре, должно оставаться на уровне или ниже начальной концентрации в течение 14 суток (в пределах погрешности ± 0,5 log).

На 28 сутки концентрация каждого жизнеспособного микроорганизма должна быть на уровне или ниже концентрации каждого микроорганизма после повторного внесения бактериальной культуры (в пределах погрешности ± 0,5 log).

5.7 Отчет *об испытании*

Отчет об испытании должен содержать протокол испытаний.

В протоколе об испытании должна быть представлена следующая информация:

а) *ссылка на настоящий стандарт*;

b) определение средства:
- наименование средства;
- номер партии;
- конечный срок утилизации;
- изготовитель;
- условия хранения;
- активное(ые) вещество(а) и его (их) концентрация(и) (при необходимости);

c) фамилия/имя (фамилии) оператора(ов);
d) отклонения от протокола;
e) период (дата и время) инкубации;
f) срок хранения инокулированного средства;
g) полученные результаты, включая число жизнеспособных микроорганизмов.

Приложение А
(справочное)

Пример *метода* мембранной фильтрации

А.1 Материалы и реактивы

А.1.1 Питательные среды и реактивы

А.1.1.1 Разбавляющая жидкость с нейтрализаторами или без них.

А.1.1.2 Триптоновый соевый агар (TSA).

А.1.1.3 Фосфатно-солевой раствор Dulbecco с буферной добавкой, без хлорида кальция и хлорида марганца (DPBS): 200 мг/л KCl, 200 мг/л, 200 мг/л KH_2PO_4, 8000 мг/л NaCl и 2160 мг/л $Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$ или подходящий растворитель.

А.1.1.4 Фосфатно-солевой раствор Dulbecco с буферной добавкой, 0,05 % (масса/объем) полисорбата 80 (DPBST) или подходящий растворитель.

А.1.1.5 Оцененные нейтрализирующие реактивы/среды (при необходимости), например, нейтрализующий раствор Dey-Engley (DEB) и бульон Letheen[1].

А.1.2 Испытательное оборудование

Обычное испытательное оборудование (например, стерильные пипетки, чашки Петри, контейнеры), включая следующие устройства:

А.1.2.1 Стерильный мембранный фильтр.

А.1.2.2 Стерильный аппарат для размещения стерильного мембранного фильтра и фильтрата.

А.1.2.3 Оборудование для создания вакуума или давления, чтобы обеспечить прохождение жидкой фазы инокулированного тест-раствора через мембранный фильтр с соблюдением стерильности.

Номинальный размер отверстия мембранного фильтра должен быть не более 0,45 мкм, диаметр не менее 47 мм, и материал фильтра не должен содержать химических веществ, которые могут оказать токсическое действие на микробные клетки.

А.2 Метод испытания и результаты

А.2.1 В стерильном фильтровальном устройстве (А.1.2.1) смачивают стерильный мембранный фильтр (А.1.2.1) в стерильном средстве DPBST (А.1.1.4) или в подходящем разбавителе.

А.2.2 С соблюдением стерильности переносят измеренный объем вносимого тест-раствора в стерильный продукт DPBST по А.1.1.4.

А.2.3 Перекачивают разбавленный раствор в мембрану и фильтр посредством вакуума или давления. Разбавляют вносимый тест-раствор объемом от 50 до 100 мл растворяющей жидкостью и тщательно перемешивают, чтобы обеспечить равномерное распределение по всей поверхности фильтра.

Примечание – При этом уменьшается вероятность того, что КОЕ разместятся на фильтре в одном и том же месте.

А.2.4 Промывают мембранный фильтр несколько раз растворяющей жидкостью, которая может содержать дополнительные нейтрализующие вещества (если необходимо). Действительный объем растворяющей жидкости должен быть определен эмпирическим путем по каждому составу для каждого вводимого микроорганизма.

Примечание – Трех объемов растворяющей жидкости (каждый по 100 мл) обычно достаточно для удаления и/или растворения антибактериального агента.

А.2.5 Инкубируют мембранный фильтр соответствующими средами для обеспечения выращивания КОЕ на поверхности фильтра.

Примечание – Это можно осуществить путем стерильного удаления мембранного фильтра из сборочного узла фильтра и установкой мембраны на поверхности стерильной агаровой чашки, без признаков жидкости, или мембрану можно поместить в агаровый сэндвич. Допускается использовать модуль стерильного мембранного фильтра, что требует наличия дополнительных стерильных сред для герметичного фильтра и инкубации мембраны в месте нахождения. При этом должна быть использована подходящая среда и разработан метод испытания. Время инкубации должно быть установлено.

А.2.6 Определяют среднее число КОЕ/мл на мембранных фильтрах, поддающихся подсчету (от 3 до 100 КОЕ/47 мм фильтр для бактерий и от 3 до 10 КОЕ/47 мм фильтр для плесени). Вычисляют и документально фиксируют значение КОЕ/мл инокулированного раствора.

---

[1] Нейтрализующий раствор Dey-Engley (DEB) и бульон Letheen приведены в качестве примеров. Данная информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта.

А.3 Метод контроля

Подтверждают эффективность нейтрализатора путем ввода аликвотной пробы инокулированного тест-раствора в стерильную растворяющую жидкость объемом от 50 до 100 мл, используя то же соотношение объема тест-раствора и объема растворяющей жидкости. Перекачивают весь объем на мембрану и фильтр под давлением или в вакууме. Промывают фильтр несколько раз растворяющей жидкостью, используя тот же объем, что и при процедуре испытания. Переносят от 5 до 100 КОЕ вводимых микроорганизмов (один вид на фильтр) в 100 мл разбавляющей жидкости и наносят на мембрану. Инкубируют мембранный фильтр вместе со средами, как описано в процедуре испытания (см. А.2.5).

Повторяют процедуру с использованием растворяющей жидкости, не подвергавшейся действию тест-раствора. Сравнивают количества с количествами, полученными тем же методом, но с использованием соответствующего растворителя (например, DPBST) вместо тест-раствора. Подтверждают, что культуральный материал на соответствующей среде присутствует (если не указано иное). Убеждаются в том, что восстановление на фильтре в нейтрализаторе составляет не менее 50 % культурального материала.

Приложение В
(справочное)

Метод определения даты утилизации I

В.1 Принцип

В.1.1 Испытание состоит в инокуляции испытуемых средств микроорганизмами высокой концентрации (примерно 10^6 КОЕ/мл) на нулевые сутки. Испытуемые средства подвергаются провокационной пробе с низким уровнем инокуляции организмов (примерно 10^3 КОЕ/мл) по схеме испытаний.

В.1.2 Моменты инокуляции устанавливают в начале испытания, через 2 недели, затем через 25 %, 50 %, 75 % и 100 % предложенного времени до даты утилизации.

В.1.3 Моменты взятия проб должны включать 1, 2, 3, 4 недели и 25 %, 50 %, 75 % и 100 % предложенного времени до даты утилизации, а также 14 суток после этой даты.

В.1.4 Испытуемые пробы на 28 сутки должны удовлетворять критериям испытания в соответствии с эффективностью предохранения многодозовых консервантов для ухода за контактными линзами.

В.1.5 После процедуры проведения испытуемых образцов провокационной пробе должен быть указан стаз.

В.2 Метод испытания

В.2.1 Материалы и реактивы

В.2.1.1 Тест-культуры (тест-штаммы)

Тест-культуры – по 5.1.1.

В.2.1.2 Питательные среды и реактивы

Питательная среда и реактивы должны соответствовать питательной среде и реактивам, приведенным в 5.1.2.

В.2.1.3 Испытательное оборудование

Испытательное оборудование должно соответствовать оборудованию, указанному в 5.1.3.

В.2.1.4 Испытуемые образцы и содержание тест-культур

Испытания контрольным инокулированием образцов проводят для подтверждения даты утилизации после даты вскрытия, используя три партии растворов по уходу за контактными линзами, представленных на рынке.

Содержание и сохранение тест-культур должно соответствовать указанному в 5.2.

В.2.2 Приготовление микробиологической культуры (инокулята)

Приготавливают микробиологическую культуру (инокулят) по 5.3.

В.2.3 Методика испытаний введением тест-культур

В.2.3.1 Приготовляют из отдельных испытуемых образцов комбинированный образец объемом не менее 250 мл.

В.2.3.2 Подготавливают отдельно 50 мл контейнеры на каждую вводимую тест-культуру для каждого подопытного образца.

Помещают подопытный образец в 250 мл флакон или контейнер.

В.2.3.3 Подготавливают 50 мл контейнеры подходящего растворителя для контрольных образцов бактерий, дрожжей и плесени.

В.2.3.4 Инокулируют испытуемый состав образца и контролируют посредством 0,5 мл аликвотной пробы взвесью тест-культур в количестве от $1{,}0 \cdot 10^8$ для достижения конечной концентрации $1{,}0 \cdot 10^6$ КОЕ/мл. Обеспечивают полное диспергирование инокулята путем интенсивного перемешивания.

В.2.3.5 Хранят инокулированное средство при температуре от 20 °С до 25 °С. Температуру отслеживают с помощью калиброванного устройства и регистрируют его показания.

Если средство чувствительно к свету, его следует защитить от попадания света в течение периода проведения испытания.

В.2.3.6 По состоянию на 1, 2, 3, 4 неделю и на 25 %, 50 %, 75 % и 100 % предлагаемой даты утилизации, и на 14 сутки после предполагаемой даты утилизации берут 1,0 мл аликвотных проб инокулированного средства для определения числа жизнеспособных микроорганизмов в каждый период времени.

В.2.3.7 Проводят повторную инокуляцию образца на 2 неделе и после 25 %, 50 %, 75 % и 100 % предлагаемой даты утилизации, используя соотношение 0,05 мл/50 мл инокулированного средства с содержанием 10^8 КОЕ/мл, чтобы обеспечить конечную концентрацию примерно 10^3 КОЕ/мл. Повторяют подсчет числа жизнеспособных организмов в каждый период времени перед каждой повторной инокуляцией.

В.2.3.8 Подвергают каждую из 1,0 мл аликвотных проб, взятых через заданные промежутки времени, действию соответствующей серии десятичных разведений в оцененных нейтрализующих средах. Хорошо перемешивают взвесь встряхиванием и дают постоять, чтобы завершить нейтрализацию.

Если антибактериальный агент в составе невозможно надлежащим образом инактивировать или нейтрализовать, удаляют его оцененным методом мембранной фильтрации (см. приложение А).

В.2.3.9 Определяют число жизнеспособных микроорганизмов в соответствующих растворах путем приготовления тройных чашек (если не оговорено иное) с подходящей питательной средой (например, TSA для

бактерий и SDA для плесени и дрожжей).

Если была применена мембранная фильтрация для удаления или нейтрализации антибактериальных агентов, культивируют мембраны на этих средах.

Если используется чашечный метод разлива, хранят агар перед разливкой в разливочных чашках при температуре ниже 50 °С.

Примечание– Агаровые среды, используемые для определения количества жизнеспособных микроорганизмов, также могут содержать противомикробные инактиваторы или нейтрализаторы.

В.2.3.10 Чашки с тест-культурами должны быть инкубированы при температуре от 30 °С до 35 °С, посевы с дрожжевыми грибами (дрожжами) – при температуре от 20 °С до 25 °С или от 30 °С до 35 °С. Посевы с плесневыми грибами инкубируют при температуре от 20 °С до 25 °С. Периоды инкубации для оптимального пророста бактерий, дрожжей и плесени должны быть определены. Минимальные периоды инкубации должны основываться на анализе контроля питательной среды (см. В.2.4.2). *Записывают число наблюдаемых КОЕ/мл на чашках, которые поддаются подсчету.*

В.2.3.11 Определяют среднее число КОЕ на чашках, поддающихся подсчету. Вычисляют уменьшение числа микроорганизмов в заданные моменты времени.

Примечание– Каждая чашка, поддающаяся подсчету, содержит от 30 до 300 КОЕ/на чашку для бактерий и дрожжей и от 8 до 80 КОЕ/на чашку для плесеней, за исключением случаев, когда КОЕ наблюдаются только в чашках для разведения 10^0 или 10^{-1}.

В.2.3.12 Отсутствие микроорганизмов необходимо документировать, когда чашки для всех растворов образца в отдельный момент времени не содержат КОЕ.

В.2.3.13 Наличие жизнеспособных микроорганизмов рассчитывают в каждый установленный момент времени.

В.2.4 Контроль

В.2.4.1 Контроль вносимой бактериальной культуры

Контрольные образцы подпитывают в каждый период инокуляции путем добавления физиологического раствора (для бактерий и дрожжей) или физиологического раствора Tween ® 80[1)] для плесени таким же образом, как и для инокулированного образца.

Теоретические цифры могут быть найдены путем вычисления накопленной суммы последнего внесения инокулята плюс по последним подсчетам числа жизнеспособных микроорганизмов в составе образца.

В.2.4.2 Контроль питательной среды

Контроль питательной среды проводят по 5.5.2.

В.2.5 Критерии

Дата утилизации подтверждается, если число жизнеспособных бактерий уменьшается на 3 log на 14 сутки и их число не увеличивается [2)].

В.2.6 Протокол испытаний

Протокол испытаний должен соответствовать приведенному в 5.7.

[1)] Tween ® 80 является примером подходящего коммерчески доступного продукта. Эта информация приведена для удобства пользователей данного стандарта и не означает продвижение данного продукта посредством настоящего стандарта.

[2)] Концентрация каждого жизнеспособного микроорганизма должна быть на уровне или ниже концентрации каждого микроорганизма после повторного внесения бактериальной культуры в пределах погрешности ± 0,5 log (т.е.рост организмов не обнаружен).

Приложение С
(справочное)

Метод определения даты утилизации II

С.1 Принцип

С.1.1 Метод состоит из инокулирования средства с заданным внесением подходящих микроорганизмов, хранения инокулята при заданной температуре, изъятия инокулята из контейнера через определенные промежутки времени и подсчета жизнеспособных микроорганизмов в образцах. Способность образцов предотвращать повторный рост подтверждается путем подсчета числа жизнеспособных микроорганизмов в течение более длительных периодов времени.

С.1.2 Размер инокулята, выбранный при этом методе, не предназначен в качестве репрезентативного подобной пробы на практике, но он дает возможность обеспечить подсчет числа микроорганизмов для оценки скорости и степени потери их жизнеспособности.

С.1.3 Средство должно соответствовать требованиям для адекватного хранения контактных линз на начальном этапе и после имитации использования в течение предполагаемого интервала времени до даты утилизации (критерии эффективности содержатся в С.2.7).

С.1.4 Должны быть приняты соответствующие меры для инактивации или удаления остаточных антимикробных препаратов во время культивирования и подсчета жизнеспособных микроорганизмов, и эффективность этих мер должна быть оценена и подтверждена.

Действие этого процесса в ходе испытания должно быть продемонстрировано с помощью соответствующего контроля.

С.2 Метод испытания

С.2.1 Материалы и реактивы

С.2.1.1 Тест-культуры (тест-штаммы)

Тест-культуры–по 5.1.1.

С.2.1.2 Питательные среды и реактивы

Питательная среда и реактивы должны соответствовать питательной среде и реактивам, приведенным в 5.1.2.

С.2.1.3 Испытательное оборудование

Испытательное оборудование должно соответствовать оборудованию, указанному в 5.1.3.

С.2.1.4 Испытуемые образцы и содержание тест-культур

Средство, которое подлежит испытанию, должно быть средством, реализуемым на рынке. Следует испытать три лота (партии) средства.

Аликвотные пробы должны быть взяты непосредственно из конечного контейнера перед проведением испытания. Должно быть применено подходящее число контейнеров для обеспечения достаточного объема средства для испытания после имитации использования.

Сохранение и *содержание* тест-культур – по 5.2.

С.2.2 Приготовление контрольной микробиологической культуры (инокулята)

Приготовление микробиологической культуры (инокулята) – по 5.3.

С.2.3 Методика испытания контрольным введением тест-культуры

С.2.3.1 Методика испытаний контрольным введением тест-культуры – по 5.4.

С.2.4 Имитация использования

Используя непривитое средство в оригинальной упаковке, подвергают его имитацией использования распределением соответствующих аликвот из контейнеров на срок не менее намеченной даты утилизации (т.е. расходовать по 1 мл каждые 3 дня в течение трех месяцев).

Должно быть использовано подходящее число контейнеров, чтобы обеспечить достаточный объем продуктов, доступный для испытания контрольным введением тест-культур после имитации использования (т.е. контейнеры могут быть объединены, чтобы обеспечить достаточный объем средства для испытания).

С.2.5 Приготовление контрольной микробиологической культуры после имитации использования

В конце периода имитации использования повторяют испытания по С.2.3.

С.2.6 Контроль

С.2.6.1 Контроль вносимой бактериальной культуры

Начальные и повторные концентрации вносимой бактериальной культуры рассчитывают путем диспергирования идентичной аликвотной пробы инокулированного материала в объеме растворителя *по 5.4.1* для получения конечной концентрации от $1{,}0 \cdot 10^5$ до $5{,}0 \cdot 10^6$ КОЕ/мл для начального инокулирования и от $1{,}0 \cdot 10^4$ до $1{,}0 \cdot 10^5$ КОЕ/мл – для повторного инокулирования. Убеждаются, что объем вносимой бактериальной культуры не превышает 1 % объема образца. Диспергирование вносимой культуры необходимо обеспечить перемешиванием. Оценивают данный контрольный образец в начале испытания на КОЕ/мл, чтобы продемонстрировать пригодность среды, используемой для роста бактериальной культуры, и обеспечить оценку начальной концентрации исходной вносимой бактериальной культуры. Помещают соответствующую аликвотную

пробу из каждой пробирки на три восстановительных агаровых чашки (если не оговорено иное).

С.2.6.2 Контроль питательной среды

Контроль питательной среды – по 5.5.2.

С.2.7 Критерии

С.2.7.1 Основные критерии

Используемые средства должны соответствовать критериям эффективности как для начальной концентрации вносимой бактериальной культуры, так и для последней концентрации имитационного использования.

С.2.7.2 Бактерии

Критерии – по 5.6.2.

С.2.7.3 Плесени и дрожжи

Критерии – по 5.6.3.

С.2.8 Протокол испытаний

Протокол испытаний должен соответствовать протоколу по 5.7.

Приложение D
(справочное)

Метод определения даты утилизации III

D.1 Принцип

D.1.1 Метод состоит из заражения средства внесением подходящих микроорганизмов, хранения инокулята при заданной температуре, изъятия инокулята из контейнера через определенные промежутки времени и подсчета числа микроорганизмов в образцах. Способность образцов предотвращать повторный рост подтверждается путем подсчета числа жизнеспособных микроорганизмов в течение более длительных периодов времени.

D.1.2 Размер инокулята, выбранный при этом методе, не предназначен в качестве репрезентативного подобной пробы на практике, но он дает возможность обеспечить подсчет числа микроорганизмов для оценки скорости и степени потери их жизнеспособности.

D.1.3 Средство должно соответствовать требованиям для адекватного хранения контактных линз на начальном этапе и после имитации использования в течение предполагаемого интервала времени до даты утилизации (критерии эффективности содержатся в D.2.7).

D.1.4 Должны быть приняты соответствующие меры для инактивации или удаления остаточных антимикробных препаратов во время культивирования и подсчета числа оставшихся жизнеспособных микроорганизмов, и эффективность этих мер должна быть подтверждена. Действие этого процесса в ходе испытания должно быть продемонстрировано с помощью соответствующего контроля.

D. 2 Метод испытания

D.2.1 Материалы и реактивы

D.2.1.1 Тест-культуры

Тест-культуры – по 5.1.1.

D.2.1.2 Питательные среды и реактивы

Питательная среда и реактивы должны соответствовать питательной среде и реактивам, приведенным в 5.1.2.

D.2.1.3 Испытательное оборудование

Испытательное оборудование должно соответствовать оборудованию, указанному в 5.1.3.

D.2.1.4 Испытуемые образцы и содержание тест-культур

Средство, которое подлежит испытанию, должно быть средством, реализуемым на рынке. Следует испытать три лота (партии) средства. Испытание проводят непосредственно в наибольшем по размеру контейнере средства.

Содержание тест-культур – по 5.2.

D.2.2 Приготовление микробиологической культуры (инокулята)

Приготовление микробиологической культуры (инокулята) – по 5.3.

D.2.3 Методика испытаний введением тест-культур

D.2.3.1 Вводят в пробирку с испытуемым образцом средства взвесь испытуемых тест-культур в количестве от $1{,}0 \cdot 10^5$ до $1{,}0 \cdot 10^6$ КОЕ/мл. Убеждаются, что объем вносимой бактериальной культуры не превышает 1 % объема образца. Обеспечивают полное диспергирование инокулята путем надлежащего перемешивания.

D.2.3.2 Хранят инокулированное средство при температуре от 20 °С до 25 °С. Температуру необходимо отслеживать с помощью калиброванного устройства и регистрировать его показания.

Если средство чувствительно к свету, его следует защитить от попадания света в течение периода проведения испытания.

D.2.3.3 Берут 1,0 мл аликвотных проб инокулированного средства для определения числа жизнеспособных микроорганизмов на 7, 14, 21 и 28 сутки инокуляции и продолжают отбор проб с 7-дневными интервалами, пока содержание средства закончится.

D.2.3.4 Подвергают каждую из 1,0 мл аликвотных проб, взятых через заданные промежутки времени, действию соответствующей серии десятичных разведений в оцененных нейтрализующих средах. Тщательно перемешивают взвесь встряхиванием (на вортексе) и дают постоять, чтобы завершить нейтрализацию. Условия нейтрализации должны быть основаны на анализе контроля питательной среды (*см. 5.5.2*).

Если антибактериальный агент в составе невозможно надлежащим образом инактивировать или нейтрализовать, удаляют его оцененным методом мембранной фильтрации (см. приложение А).

D.2.3.5 Определяют число жизнеспособных микроорганизмов в соответствующих растворах путем приготовления тройных чашек (если иное не оговорено) с подходящей восстановительной средой (например, TSA для бактерий и SDA для плесени и дрожжей).

Если была применена мембранная фильтрация для удаления или нейтрализации антибактериальных агентов, культивируют мембраны на этих средах.

Если используется чашечный метод разлива, хранят агар перед разливкой в разливочные чашки при температуре ниже 50 °С.

Примечание – Агаровые среды, используемые для определения числа жизнеспособных микроорганизмов, также могут содержать противомикробные инактиваторы или нейтрализаторы.

D.2.3.6 Чашки с тест-культурами должны быть инкубированы при температуре от 30 °С до 35 °С, посевы с дрожжевыми грибами (дрожжами) – при температуре от 20 °С до 25 °С или от 30 °С до 35 °С. Посевы с плесневыми грибами инкубируют при температуре от 20 °С до 25 °С. Периоды инкубации для оптимального прироста бактерий, дрожжей и плесени должны быть определены. Минимальные периоды инкубации должны быть основаны на анализе контроля питательной среды (*см. 5.5.2*). Записывают число наблюдаемых КОЕ/мл на чашках, которые поддаются подсчету.

Чашки во время инкубации следует периодически наблюдать, чтобы предотвратить появление чашек, в которых из-за чрезмерного роста бактерий, дрожжей и плесени КОЕ не поддаются подсчету.

D.2.3.7 Определяют среднее число КОЕ на чашках, поддающихся подсчету. Вычисляют уменьшение числа микроорганизмов в заданные моменты времени.

Примечание – Каждая чашка, поддающаяся подсчету, содержит от 30 до 300 КОЕ для бактерий или дрожжей и от 8 до 80 КОЕ для плесени, за исключением случаев, когда КОЕ наблюдаются только в чашках для разведения 10^0 или 10^{-1}.

D.2.3.8 Отсутствие микроорганизмов необходимо документировать, *например, написав «0» или «НР» (нет роста)*, когда чашки для всех растворов образца в отдельный момент времени не содержат КОЕ.

D.2.3.9 Концентрацию выживших микроорганизмов рассчитывают на каждый момент времени инокуляции.

D.2.4 Средства контроля

D.2.4.1 Контроль вносимой бактериальной культуры

Начальную концентрацию инокулята рассчитывают путем диспергирования идентичной аликвотной пробы в объеме растворителя, который используется в D.2.3.1, чтобы достичь конечной концентрации от $1{,}0 \cdot 10^4$ до $5{,}0 \cdot 10^5$ КОЕ/мл. Убеждаются, что объем вносимой бактериальной культуры посева не превышает 1 % объема образца. Обеспечивают диспергирование бактериальной культуры перемешиванием. Оценивают этот контрольный образец на КОЕ/мл в начале испытания, чтобы продемонстрировать пригодность средства, используемого для роста испытуемого микроорганизма, и определяют начальную концентрацию исходной вносимой бактериальной культуры. Помещают соответствующую аликвотную пробу из каждой пробирки на три восстановительные агаровые чашки (если не оговорено иное).

D.2.4.2 Контроль питательной среды

Контроль питательной среды – по 5.5.2.

D.2.5 Критерии

D.2.5.1 Бактерии, плесень и дрожжи

Число жизнеспособных микроорганизмов должно оставаться на начальных концентрациях или ниже.

D.2.5.2 Определение даты утилизации

Дата утилизации средства должна соответствовать интервалу времени, который показывает увеличение числа любых микроорганизмов.

Пример:

	Дата подсчета времени роста, сутки					
Инокулят	***0***	***7***	***14***	***21***	***28***	***35***
E. coli	10^5	10^7	10^7	10^7	10^7	10^7
P. aeruginosa	10^5	10^7	10^7	10^7	10^7	10^7
S. aureus	10^5	***Менее10***	***Менее10***	***Менее10***	***Менее10***	***Менее10***
C. allbicans	10^5	10^5	10^5	10^5	***Менее10***	***Менее10***
A. niger	10^5	10^4	10^3	10^2	10^1	10^1

Интервалы времени обнаружения увеличение роста:

P. aeruginosa (синегнойная палочка) на 7 сутки;

S. aureus (золотистый стафилококк) на 21 сутки;

A. niger (аспергилус нигер) на 14 сутки.

Дата утилизации в вышеуказанном гипотетическом средстве составляет 7 суток после даты вскрытия.

D.2.6 Протокол испытаний

Протокол испытаний – по 5.7.

Приложение Е
(справочное)

Метод определения даты утилизации IV

Е.1 Принцип

Е.1.1 Метод состоит из инокуляции испытуемых средств микроорганизмами с низким уровнем концентрации.

Е.1.2 Время инокуляции: начало испытания, 24 ч, 1 неделя, 2 недели, 4 недели, 6 недель, 8 недель, 12 недель, 16 недель, 18 недель, 24 недели и далее с шестинедельными интервалами, и/или пока желательная или отмеченная дата утилизации не будет превышена дважды.

Е.1.3 Время отбора контрольных образцов начинается через 24 ч и продолжается перед каждым повторным инокулированием, а также в конце испытаний.

Е.1.4 Чтобы контрольные образцы прошли испытание, результат подсчета микроорганизмов во всех контрольных образцах должен быть меньше результата общего подсчета после последнего введения плюс предыдущий подсчет выживших микроорганизмов.

Е.1.5 Испытание на определение даты утилизации проводят как дополнение к испытаниям эффективности многодозовых консервантов для средств ухода за контактными линзами в качестве контрольного инокулирования для подтверждения маркированного срока годности. Требования к дате утилизации должны быть выдержаны на протяжении всего маркированного срока годности.

Е.2 Метод испытания

Е.2.1 Материалы и реактивы

Е.2.1.1 Тест-культуры (тест-штаммы)

Тест-культуры – по 5.1.1.

Е.2.1.2 Питательные среды и реактивы

Питательная среда и реактивы должны соответствовать питательной среде и реактивам, приведенным в 5.1.2.

Е.2.1.3 Испытательное оборудование

Испытательное оборудование должно соответствовать оборудованию, указанному в 5.1.3.

Е.2.1.4 Испытуемые образцы и содержание тест-культур

Средство, которое подлежит испытанию, должно быть средством, реализуемым на рынке. Следует испытать три лота (партии) средства. Испытание проводят непосредственно в двух контейнерах средства для каждого микроорганизма в соответствии с графиком *времени введения по Е.1.2*.

Содержание тест-культур – по 5.2.

Е.2.2 Приготовление микробиологической культуры (инокулята)

Приготовление микробиологической культуры (инокулята) – по 5.3.

Е.2.3 Методика испытаний введением тест-культур

Е.2.3.1 В нулевой день вводят в пробирку с испытуемым образцом средства взвесь испытуемых тест-культур в количестве от $1{,}0 \cdot 10^5$ до $2{,}0 \cdot 10^5$ КОЕ/мл. Убеждаются, что объем вносимой бактериальной культуры не превышает 0,5 % объема образца в каждый период инокуляции. Обеспечивают полное диспергирование инокулята путем надлежащего перемешивания.

Е.2.3.2 Хранят инокулированное средство при температуре от 20 °С до 25 °С. Температуру необходимо отслеживать с помощью калиброванного устройства и регистрировать его показания. Если средство чувствительно к свету, его следует защитить от попадания света в течение периода проведения испытания.

Е.2.3.3 Через 24 ч берут 1,0 мл аликвотных проб инокулированного средства для определения числа жизнеспособных микроорганизмов.

Е.2.3.4 Повторно вводят взвесь испытуемых тест-культур *с соблюдением требований Е.2.3.1 – Е.2.3.3* до 7 суток. Повторяют процедуру инокуляции на 2-й, 4-й, 8-й, 18-й и 24-й неделях и продолжают отбор проб с 6-недельными интервалами, пока предполагаемая дата утилизации не будет достигнута.

Е.2.3.5 Подвергают каждую из 1,0 мл аликвотных проб, взятых через заданные промежутки времени, действию соответствующей серии десятичных разведений в оцененных нейтрализующих средах. Тщательно перемешивают взвесь встряхиванием *(на вортексе)* и дают постоять, чтобы завершить нейтрализацию. *Условия нейтрализации должны быть основаны на анализе контроля питательной среды (см. 5.5.2)*.

Если антибактериальный агент в составе невозможно надлежащим образом инактивировать или нейтрализовать, удаляют его оцененным методом мембранной фильтрации (см. приложение А).

Е.2.3.6 Определяют число жизнеспособных микроорганизмов в соответствующих растворах путем приготовления тройных чашек (если не оговорено иное) с подходящей питательной средой (например, TSA для бактерий и SDA для плесени и дрожжей).

Если была применена мембранная фильтрация для удаления или нейтрализации антибактериальных агентов, культивируют мембраны на этих средах.

Если используется чашечный метод разлива, хранят агар перед разливкой в разливочные чашки при

температуре ниже 50 °С.

Примечание– Агаровые среды, используемые для определения числа жизнеспособных микроорганизмов, также могут содержать противомикробные инактиваторы или нейтрализаторы.

Е.2.3.7 Чашки с тест-культурами должны быть инкубированы при температуре от 30 °С до 35 °С, посевы с дрожжевыми грибами (дрожжами) – при температуре от 20 °С до 25 °С или от 30 °С до 35 °С. Посевы с плесневыми грибами инкубируют при температуре от 20 °С до 25 °С. Периоды инкубации для оптимального прироста бактерий, дрожжей и плесени должны быть определены. Минимальное время инкубации должно быть основано на анализе контроля питательной среды (см. Е.2.4.2).

Чашки во время инкубации следует периодически наблюдать, чтобы предотвратить появление чашек, в которых из-за чрезмерного роста бактерий, дрожжей и плесени КОЕ не поддаются подсчету.

Е.2.3.8 Определяют среднее число КОЕ на чашках. Вычисляют уменьшение числа микроорганизмов в заданные моменты времени.

Примечание– Каждая чашка, поддающаяся подсчету, содержит от 30 до 300 КОЕ для бактерий или дрожжей и от 8 до 80 КОЕ для плесени, за исключением случаев, когда КОЕ наблюдаются только в чашках для разведения 10^{0} или 10^{-1}.

Е.2.3.9 Отсутствие микроорганизмов необходимо документировать, *например, написав «0» или «NP» (нет роста)*, когда чашки для всех растворов образца в отдельный момент времени не содержат КОЕ.

Е.2.3.10 Концентрацию выживших микроорганизмов рассчитывают на каждый момент времени инокуляции.

Е.2.4 Средства контроля

Е 2.4.1 Контроль вносимой бактериальной культуры

Начальные и повторные концентрации вносимой бактериальной культуры в каждый временной интервал рассчитывают путем диспергирования идентичной аликвотной пробы инокулированного материала в объеме растворителя по 5.4.1. Убеждаются, что объем вносимой бактериальной культуры не менее объема испытуемого образца. *Диспергирование вносимой культуры необходимо обеспечить перемешиванием.* Оценивают данный контрольный образец в начале испытания на КОЕ/мл, чтобы продемонстрировать пригодность среды, используемой для роста бактериальной культуры, и обеспечить оценку начальной концентрации исходной вносимой бактериальной культуры. Помещают соответствующую аликвотную пробу из каждой пробирки на три восстановительные агаровые чашки (если не оговорено иное).

Е.2.4.2 Контроль питательной среды

Контроль питательной среды – по 5.5.2.

Е.2.5 Критерии

Е.2.5.1 Испытания проводят не менее двух раз для предполагаемой даты утилизации.

Е.2.5.2 Число жизнеспособных микроорганизмов не должно быть больше суммы числа жизнеспособных микроорганизмов последнего введения плюс числа жизнеспособных микроорганизмов предыдущего введения в пределах ± 0,5 log (т.е. умножения микроорганизмов не произошло).

Е.2.5.3 Средства должны удовлетворять всем критериям на протяжение маркированного срока годности плюс дополнительного времени даты утилизации после вскрытия по окончанию срока годности.

Е.2.6 Протокол испытаний

Протокол испытаний – по 5.7.

Приложение F
(справочное)

Испытуемые организмы из других коллекций тест-культур

Таблица F.1 – Испытуемые организмы из других коллекций тест-культур

Pseudomonas aeruginosa (Синегнойная палочка)	MUAVCR 278 IFO 13275	CCM 1961 NCIMB 8626	CIP 82.118 NRRL B-800	DSM 1128	IAM 10374
Staphyiococcus aureus (Золотистый стафилококк)	CIP 4.83	DSM 799	IFO 13276	NCIB 9518	NCTC 10788
Escherichia coli (Кишечная палочка)	CIP 53.126	DSM 1576	NCDO 904	NCIB 8545	
Candida albicans (Кандида албиканс)	CBS 6431 NCPF3179	CCY 29-3-106 NCYC 1363	CIP 48.72 VTTC-85161	DSM 1386	IFO 1594
Aspergillus niger (Аспергиллус Нигер)	CBS 733.88	DSM 1988	IMI 149007	IFO 9455	NCPF 2275
Примечание – Культуры различных коллекций должны быть эквивалентны ATCC.					

Таблица F.2 – Коллекции культур и институты

ATCC	Американская коллекция типов культур, Роквилл, Мариленд, США
MUAVCR	Институт микробиологии Академии наук Чешской республики, Прага, Чешская республика
CBS	Центральное бюро плесневых культур, Баам, Нидерланды
CCM	Чешское собрание (коллекция) микроорганизмов, Естественно-научный факультет Университета им. Масарика, Брно, Чешская республика
CCY	Коллекция культур дрожжей, Институт химии Словацкой Академии наук, Братислава, Словакия
CIP	Коллекция бактерий института Пастера, Париж, Франция
DSM	АО «Немецкое собрание» (коллекция микроорганизмов и клеточных культур, Брауншвейг, Германия
IAM	Институт прикладной микробиологии, Токийский университет, Токио, Япония
IFO	Институт по ферментации, Осака, Япония
IMI	Международный микробиологический институт, Сурей, Великобритания
NCDO	Национальная коллекция молочных организмов, Шинфильд, Рединг, Беркшир, Великобритания
NCIB	Национальная коллекция промышленных бактерий, Абердин, Шотландия, Великобритания
NCIMB	Национальный коллекция промышленных и морских бактерий, Абердин, Шотландия, Великобритания
NCPF	Национальная коллекция патогенных бактерий, Микробиологическая справочная лаборатория здравоохранения, Лондон, Великобритания
NCTC	Национальная коллекция типов культур, Центральная публичная медицинская лаборатория, Лондон, Великобритания
NCYC	Национальная коллекция дрожжевых культур, Натфильд, Суррей, Великобритания
NRRL	Северный региональный научно-исследовательский центр, Американский департамент сельского хозяйства, Пеория, Иллинойс, США
VTT	Технический научно-исследовательский центр Финляндии, VTT фонд промышленных микроорганизмов, Эспоо, Финляндия

Приложение ДА
(справочное)

Сопоставление структуры настоящего стандарта со структурой примененного международного стандарта ИСО 14730:2000

Таблица ДА.1 – Сопоставление структуры настоящего стандарта со структурой примененного международного стандарта

Структура ИСО 14730:2000	Структура настоящего стандарта
Предисловие	Предисловие
Введение	Введение
1 Область применения	1 Область применения
2 Нормативные ссылки	2 Нормативные ссылки*
3 Термины и определения	3 Термины и определения
4 Принцип	4 Принцип
5 Метод испытания	5 Метод испытания
5.1 Материалы и реактивы	5.1 Материалы и реактивы
5.2 Испытуемые образцы и содержание	5.2 Испытуемые образцы и содержание тест-культур
5.3 Подготовка микробного заражения	5.3 *Приготовление микробиологической культуры (инокулята)*
5.4 Метод испытания	5.4 *Методика* испытания *введением тест-культур*
5.5 Контроль	*5.5 Средства контроля*
5.6 Критерии	5.6 Критерии *контроля*
5.7 Отчет	5.7 Отчет *об испытании*
Приложение А (информативное) Пример мембранной процедуры фильтрации	Приложение А (справочное) Пример *метода* мембранной фильтрации
Приложение В (информативное) Процедура даты утилизации 1	Приложение В (справочное) *Метод определения* даты утилизации I
Приложение С (информативное) Процедура даты утилизации II	Приложение С (справочное) *Метод определения* даты утилизации II
Приложение D (информативное) Процедура даты утилизации III	Приложение D (справочное) *Метод определения* даты утилизации III
Приложение Е (информативное) Процедура даты утилизации IV	Приложение Е (справочное) *Метод определения* даты утилизации IV
Приложение F (информативное) Испытуемые организмы из других коллекций тест-культур	Приложение F (справочное) Испытуемые организмы из других коллекций тест-культур
—	Приложение ДА (справочное) Сопоставление структуры настоящего стандарта со структурой примененного международного стандарта ИСО 14730:2000
—	Приложение ДБ (справочное) Сведения о соответствии ссылочных национальных стандартов Российской Федерации международным стандартам, использованным в качестве ссылочных в примененном международном стандарте
Библиография	Библиография**

* ИСО 14534:97 исключен из раздела, т.к. в тексте международного стандарта на него отсутствует ссылка.
** Раздел «Библиография» приведен в национальном стандарте в качестве справочного материала.

Приложение ДБ
(справочное)

Сведения о соответствии ссылочных национальных стандартов Российской Федерации международным стандартам, использованным в качестве ссылочных в примененном международном стандарте

Таблица ДБ.1

Обозначение ссылочного национального стандарта	Степень соответствия	Обозначение и наименование ссылочного международного стандарта
ГОСТ Р 53941–2010 (ИСО 18369-1:2000)	MOD	ИСО 18369-1:2006 «Офтальмологическая оптика. Контактные линзы. Часть 1. Термины, определения и буквенные обозначения»
Примечание – В настоящей таблице использовано следующее условное обозначение степени соответствия стандартов: - MOD – модифицированные стандарты.		

Библиография

[1] Ph. Eur. 1994, *Эффективность* антимикробиологической консервации. В: Европейская фармакопея, 1994, 2nd ed., Часть 11, 18-я секция. Maisonneuve S.A., Sainte-Ruffine, Франция, p.V111.14.1–V111.14.4

[2] USP 23. 1994, Антимикробиологические консерванты. *Эффективность*. Фармакопея в США, 23rd rev. Американская Конвенция Фармакопеи, Inc., Роквиль, MD, p. 1681

[3] Urban/Hecker/Schiller: Аналитика R & D Sandoz AG, Базель, *Zbl.Bakt. Hyg. I. Abt. A*, 172, pp. 478–484, 1981

УДК 681.735.006.354 ОКС 11.040.70 П46 ОКП 948000 948100

Ключевые слова: офтальмологическая оптика, средства ухода за контактными линзами, метод испытаний, эффективность антибактериальных консервантов, мембранная фильтрация

Подписано в печать 01.08.2014. Формат 60x84 1/8.
Усл. печ. л. 2,79. Тираж 35 экз. Зак. 2812.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ»

123995 Москва, Гранатный пер., 4.

gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru