

---

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ  
(МГС)  
INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION  
(ISC)

---

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
СТАНДАРТ

ГОСТ  
ISO 20645—  
2014

---

**Изделия текстильные**  
**ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ  
АКТИВНОСТИ**

**Диффузное испытание в чашках  
с агаровой средой**

(ISO 20645:2004, IDT)

Издание официальное



Москва  
Стандартинформ  
2016

## Предисловие

Цели, основные принципы и основной порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0—2015 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2—2015 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, обновления и отмены»

### Сведения о стандарте

1 ПОДГОТОВЛЕН Республиканским государственным предприятием «Казахстанский институт стандартизации и сертификации» на основе собственного перевода на русский язык англоязычной версии стандарта, указанного в пункте 5

2 ВНЕСЕН Комитетом технического регулирования и метрологии Министерства индустрии и новых технологий Республики Казахстан

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации по переписке (протокол от 14 ноября 2014 г. № 72-П)

За принятие стандарта проголосовали:

Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004 – 97	Код страны по МК (ИСО 3166) 004 – 97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Азербайджан	AZ	Азстандарт
Армения	AM	Минэкономики Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Молдова	MD	Молдова-Стандарт
Россия	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 23 мая 2016 г. № 376-ст межгосударственный стандарт ГОСТ ISO 20645—2014 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июля 2017 г.

5 Настоящий стандарт идентичен международному стандарту ISO 20645:2004 «Изделия текстильные. Определение антибактериальной активности. Диффузное испытание в чашках с агаровой средой» («Textile fabrics — Determination of antibacterial activity-agar diffusion plate test», IDT).

Международный стандарт разработан международным Техническим комитетом ISO/TC 38 «Текстиль»

### 6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

*Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок — в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячном информационном указателе «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 ([www.gost.ru](http://www.gost.ru))*

В Российской Федерации 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

**Содержание**

1 Область применения . . . . .	1
2 Термины и определения . . . . .	1
3 Меры безопасности . . . . .	1
4 Сущность метода . . . . .	1
5 Оборудование, реагенты и питательные среды, средства измерений . . . . .	2
6 Тестовые бактерии . . . . .	2
7 Подготовка культур бактерий . . . . .	3
8 Подготовка образцов для испытаний . . . . .	3
9 Проведение испытаний . . . . .	4
10 Результаты испытаний . . . . .	4
11 Обработка результатов . . . . .	5
12 Протокол испытаний . . . . .	5
Приложение А (справочное) Специальные экземпляры и испытания . . . . .	6
Приложение В (справочное) Европейские поставщики ATCC . . . . .	7
Библиография . . . . .	8

## Изделия текстильные

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ

## Диффузное испытание в чашках с агаровой средой

Textile products. Determination of antibacterial activity.  
Diffusive test in agar plate

Дата введения — 2017—07—01

## 1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает метод определения антибактериальной активности текстильных материалов (далее — метод).

Настоящий стандарт распространяется на все виды воздухопроницаемых текстильных материалов для испытания гигиенических отделок или антибактериальных компонентов, введенных в волокно.

Метод не подходит для тестирования материалов с антибактериальной отделкой, которая может вступить в реакцию с агаром.

Примечание — Другие, не текстильные материалы также можно тестировать данным методом при соответствующей их адаптации.

## 2 Термины и определения

В настоящем стандарте применен следующий термин с соответствующим определением:

2.1 **антибактериальная активность** (antibacterial effect): Подавление роста бактерий в нормальных условиях.

## 3 Меры безопасности

Метод требует соблюдения условий, которые способствуют росту бактерий. Так как бактерии могут быть патогенными, испытания должны проводиться обученным персоналом при соблюдении надлежащих мер безопасности.

## 4 Сущность метода

Экземпляры испытуемого материала следует поместить на двухслойные агаровые пластинки. Нижний слой состоит из питательной среды, лишенной бактерий, а верхний слой привит отобранными бактериями. Текстильный материал испытывается с обеих сторон.

Уровень антибактериальной активности оценивается исследованием степени роста бактерий в зоне контакта между агаром и испытуемым экземпляром и при наличии подавления бактерий вокруг образца.

## 5 Оборудование, реагенты и питательные среды, средства измерений

### 5.1 Оборудование

- 5.1.1 Термостат, способный поддерживать температуру  $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$ .  
 5.1.2 Автоклав, способный функционировать при температуре  $121 ^\circ\text{C}$  и давлении 205 кПа (2,05 бар).  
 5.1.3 Баня водяная, способная поддерживать температуру  $(45 \pm 2) ^\circ\text{C}$ .  
 5.1.4 Шейкер для пробирок.  
 5.1.5 Микроскоп с 20-кратным увеличением и имеющий подсветку снизу.  
 5.1.6 Чашки Петри из стекла или пластмассы с внутренним диаметром 9 см.

### 5.2 Реагенты и питательные среды

#### 5.2.1 Реагенты

Используют реагенты только аналитического качества и дистиллированную воду или воду одинаковой чистоты.

#### 5.2.2 Питательные среды

##### 5.2.2.1 Агар сухой промышленный следующего состава<sup>1)</sup>.

Если коммерчески доступный агар не подходит для испытания материала, питательная среда должна быть приспособлена или соответственно заменена. Такие изменения должны быть отображены в протоколе испытаний.

##### 5.2.2.2 Состав питательной среды для испытуемых штаммов:

- триптон пептон — 17 г;
- фитон пептон — 3 г;
- хлористый натрий — 5 г;
- калия двузамещенный фосфат водорода — 2,5 г;
- декстроза — 2,5 г;
- вода дистиллированная — 1000 см<sup>3</sup>.

Подготавливают питательную среду, нагревая вышеупомянутые вещества в воде, пока они не растворятся полностью. Стерилизуют среду при температуре  $121 ^\circ\text{C}$  и давлении 205 кПа в автоклаве в течение 15 мин. После стерилизации pH среды должен быть  $(7,3 \pm 0,1)$  ед. pH при температуре  $20 ^\circ\text{C}$ .

##### 5.2.2.3 Состав среды для испытаний:

- триптон пептон — 15 г;
- фитон пептон — 5 г;
- хлористый натрий — 5 г;
- агар-агар — 15 г;
- вода дистиллированная — 1000 см<sup>3</sup>.

##### 5.2.2.4 Линейка стальная с делением, мм.

##### 5.2.2.5 Часы с погрешностью измерения до 1 с.

## 6 Тестовые бактерии

Используют следующий грамположительный штамм и один из двух грамотрицательных штаммов:

- Стафилококк золотистый грамположительный ATCC<sup>2)</sup> 6538 или NCCB<sup>3)</sup> 46064.
- Кишечная палочка грамотрицательная ATCC 11229 или NCCB 1500.
- Клебсиелла пневмонии грамотрицательная ATCC 4352 или NCCB 89160.

Для гарантирования сопоставимости должны использоваться только штаммы, поставляемые из признанных коллекций бактериальных культур.

**Примечание** — В зависимости от области применения и состава ткани спектр тестовых бактерий может быть увеличен. При использовании бактерий, отличных от тех, что определены, метод культивирования, среда

<sup>1)</sup> Триптиказо-Соевый Агар/Питательная среда (BBL); Триптиказо-Соевый Агар/Питательная среда (Difco); КСПТ Агар/Питательная среда (Merck); Триптоно-Соевый Агар/Питательная среда (Oxoid) — примеры подходящих продуктов, доступных коммерчески. Эта информация дана для удобства пользователей настоящего стандарта.

<sup>2)</sup> Американская коллекция типовых культур, 10801, Университетский Бульвар, Манассас, штат Вирджиния 20110-2209, США, тел: +703.365.2700.

<sup>3)</sup> Нидерландская коллекция бактериальных культур, Университет Утрехт, Уппсала 8, Почтовый ящик 85167, 3508 Утрехт, Нидерланды, тел: +31 (30) 2122634.

культивирования и инкубационная температура должны быть изменены в соответствии с инструкцией об использовании этих бактерий. Все изменения должны отображаться в протоколе испытаний.

## 7 Подготовка культур бактерий

### 7.1 Общие положения

Описанная процедура относится к подготовке штаммов бактерий для конкретных испытаний. Хранение штаммов бактерий в лаборатории — по [1].

### 7.2 Культивирование из лиофилизированных бактерий

Вносят лиофилизированные бактерии в 1000 см<sup>3</sup> питательного бульона, получают суспензии. Суспензии используют для подготовки пластинок с агаровой культурой. Проверяют чистоту культуры на пластинке микроскопическим исследованием и методом Грама. Эффект передачи «жидкости к жидкости» составляет максимум три дня, чтобы избежать возможности загрязнения. Инкубируют культуру в течение 24 ч при температуре (37 ± 1) °С.

Проверяют чистоту и идентичность колоний, распределив культуру бактерий на агаре.

Если серии трех-четырёх передач «жидкости к жидкости» прерываются выходными от 16 до 24 ч, испытываемую культуру помещают в холодильник при температуре от 3 до 4 °С в пятницу и повторно пересевают не позднее вторника через 24 ч.

В конце недели уничтожают все рабочие культуры и заменяют новыми, подготовленными из запасных штаммов, выращенных на агаре или взятых из лиофилизированных бактерий.

### 7.3 Культивирование из агара

Подготавливают первую жидкую субкультуру из агара и пластинку агаровой культуры. Срок хранения жидкой культуры не должен превышать четырех недель. Проверяют чистоту культуры по слоям пластинки и подтверждают микроскопическим исследованием идентичность по Граму. Эффект передачи «жидкости к жидкости» составляет максимум три дня, чтобы избежать возможности загрязнения. Инкубирование культуры проводят в течение 24 ч при температуре (37 ± 1) °С.

Проверяют чистоту колоний, снова распределив культуру на агаре.

Если серии трех-четырёх передач «жидкости к жидкости» прерываются выходными от 16 до 24 ч, испытываемую культуру помещают в холодильник при температуре от 3 до 4 °С в пятницу и повторно пересевают не позднее вторника через 24 ч.

Максимум после 6 мес. исследований все новые культуры должны быть основаны на лиофилизированных бактериях.

## 8 Подготовка образцов для испытаний

### 8.1 Общие положения

Испытуемые образцы текстильного материала должны быть круглой формы с диаметром (25 ± 5) мм. Испытание проводят на четырех образцах, с двух сторон каждого из образцов.

Примечание — В определенных случаях испытуемые образцы должны быть подготовлены в соответствии с приложением А.

### 8.2 Подготовка материала для испытаний

Необходимо использовать исключительно нестерилизованные испытуемые образцы. В отчет испытания необходимо включать любые отклонения.

### 8.3 Материал для контрольных испытаний

Подготавливают различные образцы текстильных материалов для исследования без антибактериальной обработки. Если такие материалы недоступны, используют хлопчатобумажную ткань без антибактериальной обработки для контроля роста бактерий.

### 8.4 Условия хранения образцов

Хранят испытуемые образцы от 12 до 24 ч в стерилизованных чашках Петри при комнатной температуре.

## 9 Проведение испытаний

9.1 Подготавливают необходимый объем агара для нижнего слоя пластинки без бактерий. Вносят  $(10 \pm 0,1) \text{ см}^3$  в каждую из стерилизованных чашек Петри и оставляют агар застывать.

9.2 Для верхнего слоя пластинки подготавливают необходимое количество агара и остужают до температуры  $(45 \pm 1) \text{ }^\circ\text{C}$  в водяной бане (см. 5.1.3). На нижний слой агара на  $150 \text{ см}^3$  ( $1 \pm 0,1 \text{ см}^3$  наносят бактериальную рабочую культуру в количестве  $1\text{—}5 \cdot 10^8 \text{ КОЕ/см}^3$  (КОЕ — колониеобразующая единица).

Энергично встряхивают сосуд, чтобы распределить бактерии равномерно. Вносят  $(5 \pm 0,1) \text{ см}^3$  в каждую чашку Петри и оставляют агар застывать. Используют агаровые пластинки с бактериальной рабочей культурой в течение 1 ч.

9.3 Так как агаровые пластинки имеют тенденцию сохнуть на поверхности после разливания и различные степени сухости от одной зоны до другой могут привести к неравномерному росту бактерий, используют за один раз не более 50 пластинок, то есть  $500 \text{ см}^3$  агара ( $250 \text{ см}^3$  на слой).

9.4 Прессуют испытуемые образцы текстильных материалов парой стерилизованных пинцетов или стеклянным согнутым прутом равномерно на питательной среде, пока не возникнет хорошего контакта между образцом и агаром. Если необходимо, помещают на испытуемых образцах стерилизованное стеклянное или стальное кольцо, чтобы гарантировать этот контакт.

Примечание — Другие материалы могут потребовать специальных исследований (см. приложение А).

9.5 Выдерживают пластинки от 18 до 24 ч при температуре  $(37 \pm 1) \text{ }^\circ\text{C}$  после размещения испытуемых образцов на агаре и затем проверяют на бактериальный рост. Убеждаются, что есть контакт между испытуемым образцом и агаром в течение всего инкубационного периода. Все изменения должны отражаться в отчете.

## 10 Результаты испытаний

10.1 Оценка основана на отсутствии или присутствии бактериального роста в зоне контакта между агаром и испытуемым образцом и на возможном появлении зоны подавления бактерий вокруг испытуемых образцов.

10.2 Вычисляют ширину зоны подавления роста бактерий  $H$ , мм, то есть зоны, лишенной бактерий около края образца, используя следующую формулу:

$$H = \frac{D-d}{2}, \quad (1)$$

где  $D$  — общий диаметр испытуемого образца и зоны подавления, мм;

$d$  — диаметр испытуемого образца, мм.

10.3 После измерения зоны подавления удаляют образцы с агара пинцетом. Исследуют зоны контакта под образцами для измерения бактериального роста с помощью микроскопа с 20-кратным увеличением и с подсветкой снизу.

10.4 Оценивают антибактериальный эффект антибактериальной обработки испытуемого образца в соответствии с таблицей 1.

Таблица 1 — Антибактериальный эффект антибактериальной обработки

Зона подавления (мм)	Рост <sup>a)</sup>	Описание	Оценка
> 1	Нет	Зона подавления превышает 1 мм, роста нет <sup>b)</sup>	Хороший эффект
1—0	Нет	Зона подавления до 1 мм, роста нет <sup>b)</sup>	
0	Нет	Нет зоны подавления, роста нет <sup>c)</sup>	
0	Легкий	Нет зоны подавления, только некоторые ограниченные колонии, рост почти полностью подавлен <sup>d)</sup>	Предел эффективности



Окончание таблицы 1

Зона подавления (мм)	Рост <sup>a)</sup>	Описание	Оценка
0	Средний	Нет зоны подавления, в сравнении с контрольным рост уменьшен до половины <sup>b)</sup>	Недостаточный эффект
0	Густой	Нет зоны подавления, по сравнению с контрольным отсутствует сокращение роста или только легкое уменьшение роста	
<p>a) Рост бактерий в питательной среде под образцом.</p> <p>b) Степень подавления нужно лишь частично принять в расчет. Большая зона подавления может указать на определенные запасы активных веществ или слабое сгущение продукта на основании пластинки.</p> <p>c) Отсутствие роста, даже без зоны подавления, можно расценивать как хороший эффект, поскольку формирование такой зоны, возможно, было предотвращено низкой диффузией активного вещества.</p> <p>d) «Отсутствие роста бактерий» указывает на пределы эффективности, расценивается как хороший эффект.</p> <p>e) Уменьшение роста бактерий означает уменьшение числа колоний или диаметра колонии.</p>			

## 11 Обработка результатов

Требования антибактериальной обработки в 10.4 (хороший эффект) выполнены и грамотрицательными и грамположительными бактериями, предписанными для исследований.

Каждая сторона испытываемого образца должна быть оценена отдельно.

## 12 Протокол испытаний

Протокол испытаний должен содержать следующую информацию:

- ссылку на метод, стандарт;
- описание типа исследуемого материала;
- предварительную обработку исследуемого образца (например, промывание, выдержку на свету, выветривание);
- размер, число и подготовку образцов;
- хранение образцов перед исследованием;
- исследуемые бактерии;
- отступления от метода;
- результаты исследования согласно оценочной схеме (см. раздел 10);
- дату, подпись и название исследовательской организации.

Приложение А  
(справочное)

**Специальные экземпляры и испытания**

A.1 Текстильные материалы для испытаний не должны быть гидрофильными и воздухо непроницаемыми. При недостаточности контакта между поверхностью агара и образцами образцы должны быть соответствующим образом изменены.

A.2 Отдельные волокна, скопление пуха, волокна с большой длиной должны быть разделены на маленькие части и применены в форме толстого слоя на агаре. Чтобы облегчить операцию, стеклянное кольцо нужно поместить сначала на агаре, заполнить материалом и затем удалить.

При необходимости ворсовые материалы с различной длиной ворса нужно равномерно измельчить для обеспечения хорошего контакта с поверхностью агара.

Лишние волокна должны быть удалены из испытываемого экземпляра перед исследованием.

**Примечания**

1 Если образец состоит из смеси пряжи и волокон, исследование можно проводить.

2 Образцы могут подавлять рост тестовых бактерий из-за недостатка воздуха между ними и поверхностью агара. В таком случае образцы должны быть разделены на маленькие полоски и сгруппированы на агаре, оставляя небольшое пространство между каждой полоской.

**Приложение В  
(справочное)****Европейские поставщики ATCC**

Справочные материалы в LGC

Квинс Роад  
Теддингтон  
Миддлсакс TW11 0LY  
Великобритания  
Тел: +44(0)20 8943 7565  
Факс: +44(0)20 8943 7554  
Email: rmsales@lgc.co.uk  
(Великобритания, Ирландия, другие страны не упомянуты)

LGC France SARL

Научный парк инноваций  
Улица Tobias Stimmer  
F-67400 Иллkirх  
Страсбург  
Франция  
Тел: +33 (0)3 88 55 03 60  
Факс: +33 (0)3 88 55 03 61  
Email: rmsales@lgc.fr  
(Франция, Швейцария)

LGC Nordic AB

Бринеллгатан4  
Почтовый ящик 1737 SE-501 17 Бурос  
Швеция  
Тел: +46(0)33 165315/25  
Факс: +46(0)33 165310  
Email: sales@lgc.se (Швеция, Исландия, Норвегия, Финляндия, Эстония, Латвия, Литва, Дания)

LGC Deselaers SL Peru, 104 Нава 3 08018

Барселона  
Испания  
Тел: +34 (0)93 266 2731  
Факс: +34 (0)93 307 3612  
(Испания, Португалия)

**Библиография**

- [1] EN 12353:2006 Chemical disinfectants and antiseptics — Preservation of microbial strains used for the determination of bactericidal and fungicidal activity (Средства дезинфицирующие химические и антисептики. Хранение бактерий и грибов, которые используются для определения бактерицидного и фунгицидного действия)

---

УДК 677:006.354

МКС 59.080.01

IDT

Ключевые слова: антибактериальная активность, штаммы, бактерии, подавление, агар, агаровая пластинка, зона контакта, зона подавления

---

Редактор *Л.Л. Штендель*  
Корректор *Е.Р. Ароян*  
Компьютерная верстка *С.В. Косторновой*

Сдано в набор 25.05.2016. Подписано в печать 16.08.2016. Формат 60 × 84<sup>5</sup>/<sub>8</sub>. Гарнитура Ариал.  
Усл. печ. л. 1,4. Уч.-изд. л. 1,00 Тираж 28 экз. Зак. 2193.  
Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

---

Набрано в ИД «Юриспруденция», 115419, Москва, ул. Орджоникидзе, 11.  
[www.jurisizdat.ru](http://www.jurisizdat.ru) [y-book@mail.ru](mailto:y-book@mail.ru)

Издано и отпечатано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995, Москва, Гранатный пер., 4.  
[www.gostinfo.ru](http://www.gostinfo.ru) [info@gostinfo.ru](mailto:info@gostinfo.ru)