



Agriculture Canada

le 31 octobre 1980

T-1-215

FOOD PRODUCTION AND
INSPECTION BRANCH

DIRECTION GÉNÉRALE,
PRODUCTION ET INSPECTION
DES ALIMENTS

SECTION
PESTICIDES

CIRCULAIRE A LA PROFESSION

OBJET: Données sur l'efficacité des produits antimicrobiens

L'objet de cette circulaire est d'informer les titulaires faisant une demande d'homologation pour un produit antimicrobien des données qu'il devra fournir sur l'efficacité de ce dernier. Au chapitre des nouveaux principes actifs, il est prié de consulter la circulaire T-1-223 de même que les directives concernant l'homologation.

A l'article 4 de la Loi sur les produits antiparasitaires, il est spécifié que les produits antimicrobiens importés ou vendus au Canada doivent être homologués sauf exemption (aux conditions prévues à l'article 3 du Règlement d'application de la Loi et dans la circulaire à la profession T-1-214).

Aux termes de la Loi, un produit antimicrobien est défini comme tout produit utilisé dans la lutte contre les bactéries, les champignons, les virus et autres microbes à l'intérieur ou sur des objets inanimés et dans le milieu, à l'exception des aliments de l'homme et des animaux. Ce terme comprend les sous-groupes suivants:

1. les désinfectants (stérilisants, germicides, bactéricides, sporicides, fongicides, virucides, etc.)
2. les assainisseurs
3. produits de lutte pour le contrôle des micro-organismes dans l'eau industrielle
4. les agents microbiostatiques

Lorsque les étiquettes des produits en question sont soumises à l'approbation du ministère, conformément aux directives d'homologation générales sur les produits antiparasitaires, leurs allégations doivent être appuyées par des données pertinentes comme le prescrivent les directives ci-jointes sur l'homologation des produits antimicrobiens.

La présentation pour chaque produit des informations ci-dessus hâtera le processus d'approbation de l'étiquette et permettra éventuellement de réunir les données complémentaires nécessaires.

Tous ces renseignements doivent être envoyés en quatre exemplaires brochés à l'adresse suivante:

Section des pesticides
Division des produits végétaux et
de la quarantaine des plantes
Agriculture du Canada
Ottawa (Ontario)
K1A 0C6

S.W. Ormrod
Directeur associé (Pesticides)
Division des produits végétaux et
de la quarantaine des plantes

La présente remplace les circulaires R-1-53 datée du 17 juin 1974, et T-1-215 datée du 14 février 1980.

Distribution: PPD-2; PCP-1,2,3,4,5,8,10,12

DIRECTIVES CONCERNANT L'ENREGISTREMENT DES PRODUITS ANTIMICROBIENS

Les présentes directives concernant principalement les données d'efficacité exigées à l'appui des allégations faites dans l'étiquetage. De plus, on y trouvera copie de feuillets d'information diffusés auprès des demandeurs par l'Environmental Protection Agency (américain) et une bibliographie choisie concernant l'essai de ces produits.

Des modifications peuvent être apportées à ces directives. Nous faisons des efforts constants en vue d'améliorer nos méthodes et d'en créer de nouvelles, et d'intéresser un plus grand nombre de personnes et d'entreprises au programme de mise au point de méthodes d'essai permettant d'évaluer adéquatement l'efficacité des produits. Le demandeur doit s'assurer que la méthode d'essai choisie pour mesurer l'efficacité d'un produit est courante et applicable au produit soumis à l'homologation. On trouvera au tableau I la correspondance des codes des essais cités dans les présentes.

Les données d'efficacité exigées pour l'homologation ont pour but:

1. de fournir une preuve que le demandeur peut reproduire la composition du produit de façon qu'il ait la même activité;
2. une preuve que le produit mis en vente aura une durée de conservation raisonnable à l'étalage.
3. d'assurer un contrôle suffisant du produit de façon que les faiblesses que l'on pourra découvrir par la suite dans la Division des services de laboratoire ne pourront être imputées à des variations de contrôle, qui peuvent exister entre les différents laboratoires.

Dans les exigences énoncés ci-dessous, "préparations" désigne des préparations du produit faites individuellement, soit au laboratoire, soit par le fabricant.

Données exigées

Allégations minimales concernant le pouvoir désinfectant

Les allégations minimales doivent être appuyées de données d'efficacité obtenues soit par la méthode de dilution d'emploi de l'AOAC (Association des chimistes analystes officiels) (produits liquides) ou par la méthode d'essai des bouillies germicides sous pression de l'AOAC (bouillies sous pression). Les exigences sont de 60 répétitions pour chacun des 3 échantillons de 3 préparations différentes contre Salmonella choleraesuis. On doit aussi faire 30 répétitions de 2 échantillons de l'une des préparations, vieille aux fins d'une épreuve de stabilité après 60 jours, contre S. choleraesuis. Voir l'essai D-01.010R-70 - Méthode de dilution d'emploi, et l'essai D-01.060R-70 - Méthode d'essai des bouillies germicides sous pression.

Allégations générales concernant le pouvoir désinfectant

Les allégations générales ont une portée beaucoup plus vaste que les allégations minimales et doivent être appuyées, en plus des données d'efficacité exigées pour les allégations minimales, de données d'efficacité contre 2 autres pathogènes. On exige 60 répétitions pour chacun des 3 échantillons de 3 préparations différentes contre S. choleraesuis. De plus, on exige 30 répétitions de chacun des 3 échantillons contre Staphylococcus aureus et un autre pathogène, à l'exclusion de S. aureus et S. choleraesuis. On doit aussi faire 30 répétitions de 2 échantillons de l'une des préparations, vieillie aux fins d'une épreuve de stabilité après 60 jours, entre S. choleraesuis. Voir l'essai D-01.010R-70 - Méthode de dilution d'emploi, et l'essai D-01.060R-70 Méthode d'essai des bouillies germicides sous pression.

Allégation concernant le coefficient de phénol.

Toute allégation concernant le coefficient de phénol doit être contrôlée, par la méthode du coefficient de phénol de l'ADAC, sur deux échantillons d'une préparation contre Salmonella typhosa. Si l'on allègue un coefficient de phénol contre toute autre bactérie, il faut aussi faire l'essai pour chacune des bactéries spécifiées. Voir l'essai D-01.020R-70 Méthode du coefficient de phénol.

Allégations contre les champignons pathogènes

Les allégations contre des champignons pathogènes spécifiques doivent être appuyées de données d'efficacité provenant de 2 échantillons d'une préparation. Voir essai D-01.030R-70 - Essai des fongicides de l'AOAC.

Allégations contre Mycobacterium tuberculosis

Les allégations contre M. tuberculosis doivent être appuyées de données d'efficacité obtenues par la méthode de détermination de l'activité tuberculocide de l'ADAC (essai D-01.040R-70) en utilisant le milieu de culture, les micro-organismes etc., décrits dans la méthode de détermination de l'activité tuberculocite de l'AOAC.

Allégations concernant le pouvoir désinfectant contre d'autres micro-organismes

Les allégations d'efficacité contre des micro-organismes spécifiques autres que ceux qui sont nommés dans la méthode de dilution d'emploi de l'AOAC (essai D01.010R-70) ou la méthode d'essai des bouillies germicides sous pression de l'AOAC (essai D-01.060R-70) ne peuvent être acceptées que si elles sont appuyées de données d'efficacité provenant de 10 répétitions d'une préparation contre chacun des micro-organismes spécifiés.

Allégations concernant le pouvoir sporicide

Toutes les allégations concernant le pouvoir sporicide doivent être appuyées de données d'efficacité obtenues par la méthode d'essai des sporicides de

l'ADAC (essai D-04.010R-70). L'essai exige 30 répétitions sur chacun de deux types de porteurs (pénicylindres de porcelaine et boucles de sole pour sutures chirurgicales), contre les spores de Bacillus subtilis et de Clostridium sporogenes, sur 3 préparations différentes (120 porteurs sur chaque préparation). On doit aussi faire 30 répétitions sur chacun des deux types de porteurs contre les spores de chacun des micro-organismes, sur deux échantillons d'une des 3 préparations, vieillie aux fins d'une épreuve de stabilité après 60 jours (120 porteurs pour l'épreuve de stabilité). Les allégations additionnelles d'efficacité contre des micro-organismes sporifères autres que B. subtilis et C. sporogenes doivent être appuyées de données obtenues de 10 répétitions d'une préparation (pénicylindres de porcelaine).

Allégations concernant le pouvoir stérilisant

L'essai des sporicides de l'AOAC (essai D-05.010R-70 et feuillet DIS-12) sert de base à l'appui des allégations concernant le pouvoir stérilisant. Comme "stérilisant" (qui détruit toute vie) est un terme absolu, les données exigées à l'appui des allégations concernant le pouvoir stérilisant sont plus strictes que pour le pouvoir sporicide. Les données de base (360 porteurs) exigées pour les allégations concernant le pouvoir sporicide, à l'exception de l'essai de stabilité après 60 jours d'étalage, sont aussi exigées pour les allégations concernant le pouvoir stérilisant. De plus, on doit faire 30 répétitions sur chaque type de porteurs contre les spores de B. subtilis et de C. sporogenes sur 2 échantillons d'une préparation vieillie aux fins de l'essai de stabilité après 60 jours (240 porteurs, plus 360, soit 600 porteurs). Aucune croissance ne doit être observée sur aucune sous-culture ni aucun repiquage des 600 porteurs.

Allégations concernant le pouvoir virucide

En ce qui a trait aux allégations concernant le pouvoir virucide, le demandeur doit se reporter au feuillet DIS-13, intitulé "Méthodes d'évaluation de l'activité virucide des désinfectants" (essai D-06-0105-72).

Assainisseurs

Les allégations concernant le pouvoir assainissant des iodophores, des halogénures mélangés et des produits chimiques chlorés doivent être appuyées de données d'efficacité obtenues par la méthode de détermination de la concentration équivalente de chlore actif germicide (essai D-03-020R-70). On exige un essai sur 3 échantillons de 3 préparations indiquant les concentrations du produit ayant une activité équivalente aux étalons de 50, 100 et 200 ppm de chlore actif sous forme d'hypochlorite de sodium contre S. typhosa. On doit aussi fournir les données de 2 échantillons et de l'une de ces préparations, vieillie aux fins de l'essai après 60 jours d'étalage, indiquant les concentrations du produit ayant une activité équivalente aux 3 étalons. Les analyses chimiques peuvent être remplacées par des essais biologiques sur l'échantillon de 60 jours.

Les allégations concernant le pouvoir assainissant des composés d'ammonium quaternaire et les préparations à base de phosphate trisodique chloré et

d'acide-détergent anionique doivent être appuyées de données d'efficacité obtenues par la méthode d'essai des assainisseurs germicides et détergents (essai D-03.010R-70). On exige un essai sur chacune de 3 préparations différentes contre E. coli et S. aureus, de même que sur 2 échantillons de l'une de ces préparations, vieille aux fins de l'essai de stabilité après 60 jours, contre E. coli. Dans le cas d'allégations d'efficacité du produit dans l'eau dure, on exige un essai sur 2 échantillons d'une préparation contre E. coli et S. aureus pour la tolérance à l'eau dure alléguée.

Pour l'essai d'efficacité des assainisseurs détergents, il peut être nécessaire de modifier les essais normalisés de l'AOAC afin d'y inclure des neutralisants appropriés, non spécifiés dans les méthodes. Par exemple, pour l'essai du phosphate trisodique chloré, il faut neutraliser le chlore résiduel avec du thiosulfate de sodium.

Additifs de blanchissage

Les allégations concernant le pouvoir bactériostatique persistant des additifs de blanchissage doivent être appuyées de données d'efficacité obtenues par la méthode de détermination de l'activité bactériostatique des additifs de blanchissage de l'AOAC (essai D-02.010R-72). On doit faire l'essai de 3 échantillons de 3 préparations avec 5 carrés de tissu traité d'un pouce de côté, contre S. aureus et Klebsiella pneumoniae, aberrant, ATCC 4352, sur gélose ensemencée, pour chaque échantillon. On doit faire l'essai de 2 échantillons d'une préparation vieille de 60 jours avec 5 carrés de tissu, sur gélose ensemencée, avec S. aureus.

Pour les produits portant des allégations concernant le pouvoir assainissant, la méthode de Petrocci et Clarke peut être employée pour obtenir les données d'efficacité à l'appui de l'homologation (essai D-03.070T-69), car il n'existe aucune méthode officielle. Les essais peuvent être faits au moyen d'une machine à laver plutôt que suivant la méthode de Petrocci et Clarke. Les organismes soumis à l'essai sont K. pneumoniae, ATCC 4352 et S. aureus, ATCC 6558. Les protocoles généraux, la multiplication des cultures, les rapports tissu/eau, les tissus soumis à l'essai, les températures de l'eau et les milieux de sous-culture doivent être conformes à l'essai D-03.070T-69. Les essais doivent porter sur 3 carrés de tissus sur chacun des 3 échantillons de 3 préparations contre les 2 bactéries spécifiées. Un échantillon vieux de 60 jours doit être essayé en double contre S. aureus. Le nombre de bactéries doit avoir diminué de 99.9%, par rapport aux numérations témoins, au cours des 10 minutes qui suivent.

Pour les allégations concernant le pouvoir désinfectant, la méthode de Petrocci et Clarke est employée (essai D-03.070T-69); toutefois, les essais sont faits avec 30 carrés de tissus sur chacun des 3 échantillons de 3 préparations contre les 2 bactéries spécifiées. Un échantillon vieux de 60 jours doit être soumis à l'essai en double sur 15 carrés de tissu contre S. aureus. La méthode doit être modifiée de façon à comporter l'essai du tissu et de l'eau de lavage (5 ml d'une machine à laver automatique ou 0.5 ml du contenant de l'appareillage d'essai) dans des pots à large col contenant du substrat de sous culture et des neutralisants. Le rapport de l'eau de lavage

ajoutée au volume de substrat ne doit pas excéder 1:40. On note la présence ou l'absence de croissance après 48 heures d'incubation.

Les données exigées énoncées ci-dessus pour les additifs de blanchissagene s'appliquent pas aux hypochlorites de sodium et de calcium, aux dichloro-s-triazinetrione de sodium et de potassium, ni à la trichloros-triazinetrione.

Conservateurs pour textiles

Les méthodes prescrites par l'American Association of Textile Colorists and Chemists sur gélose en boîte de Pétri (essai D-02.020S-65) ou milieu de culture liquide (essai D-02.030S-65) peuvent servir pour appuyer les allégations concernant le pouvoir bactériostatique persistant.

Assainisseurs d'air

Aucune méthode normalisée d'évaluation des allégations concernant les assainisseurs d'air n'a été adoptée. Des rapports de Stuart et Friedl, de McGray et de la British Stantarts Institution décrivent des méthodes d'essai des aérosols destinés à assainir temporairement les lieux clos. Plusieurs chercheurs ont montré que l'addition de glycols (triéthylène, propylène et dipropylène glycol) aux préparations sous pression, à des concentrations de 5 à 10%, provoque une diminution significative de la chargé de bactéries dans l'air si l'on atteint des concentrations con venables de vapeurs. Actuellement, comme il n'existe aucune méthode d'évaluation de ces produits, les exigences, en ce qui concerne l'efficacité aux fins de l'homologation, sont satisfaites par les résultats d'analyses chimiques indiquant des concentrations suffisantes de glycols. Les assainisseurs d'air qui ne contiennent pas ces concentrations de glycols doivent être évalués dans une pièce et démontrer leur efficacité à réduire significativement le nombre de micro-organismes présents dans l'air. Le principal organisme soumis à l'essai est S. aureus. Suivant l'usage prévu du produit, d'autres organismes, comme Salmonella ou Pseudomonas peuvent aussi être utilisés.

Assainisseurs pour tapi

Il n'existe aucune méthode officielle définitive pour l'essai d'efficacité des assainisseurs pour tapis; toutefois, une méthode expérimentale a été mise au point grâce aux efforts de l'A0AC et est décrite plus loin (essai D-03.040T-71). Si l'on utilise cette méthode pour obtenir des données à l'appui de l'homologation d'un assainisseur pour tapis, les protocoles suivants doivent être adoptés:

- a. L'essai doit porter sur 3 échantillons de 3 préparations différentes contre chacune des 2 bactéries spécifiées dans la méthode et sur 2 types différents de tapis. Dans chaque cas, le nombre de bactéries doit être abaissé de 99.9% par rapport aux numérations témoins. Si le produit est destiné à l'entretien des tapis, 2 tapis représentatifs, p. ex. de type tufté en fibre acrylique ou de polypropylène, peuvent être soumis à l'essai. Aucun tapis ne peut servir de norme. Si le produit est destiné

aux tapis de laine, un échantillon représentatif additionnel doit être soumis à l'essai. Sinon, une indication à l'effet contraire doit figurer sur l'étiquette. Tous les échantillons de tapis soumis à l'essai doivent être bien identifiés, et l'on doit indiquer le type de fibre, le poids des fibres, la densité des poils et la hauteur des boucles. Des essais témoins doivent démontrer que des agents bactériostatiques présents dans les poils ou le canevas du tapis n'interviennent pas dans les résultats de l'essai.

- b. Une préparation vieillie aux fins de l'essai de stabilité après 60 jours doit être soumise à l'essai sur un échantillon de tapis et contre une bactérie.

La quantité d'assainisseur appliqué sur une pièce de tapis doit être déclarée sur l'étiquette proposée. La quantité devrait être de 12 gallons de produit dilué pour 800 à 1,200 pi² de tapis.

Piscines

Les allégations concernant les désinfectants d'eau de piscine doivent être appuyées de données d'efficacité obtenues par la méthode d'essai des désinfectants d'eau de piscine de l'AOAC (essai D-01.050R-70). On exige un essai sur 3 préparations différentes contre E. coli et Streptococcus faecalis. On doit aussi fournir les résultats de l'essai de 2 échantillons d'une préparation vieille de 60 jours contre E. coli.

Les exigences ci-dessus concernant les désinfectants d'eau de piscine ne s'appliquent pas aux préparations simples d'hypochlorites de sodium et de calcium, de dichloro-s-triazinetrone de sodium et de potassium ni de trichloro-s-triazinetrone, si l'étiquette de ces produits porte un mode d'emploi suffisant pour la désinfection de l'eau des piscines.

Produits divers

Des méthodes appropriées ont été mises au point pour évaluer l'efficacité de quelques produits qui n'entrent pas logiquement dans les catégories ci-dessus. On trouvera dans cette catégorie des méthodes d'essai de produits antimicrobiens destinés à empêcher la détérioration des peintures ou la contamination des canalisations d'eau et d'hydrocarbures dans l'industrie pétrolière. Ces méthodes sont décrites dans les publications de l'American Society for Testing and Materials (ASTM), de l'American Petroleum Institute ou de la Society for Industrial Microbiology. On trouvera dans la bibliographie les méthodes publiées.

Essais d'efficacité

On trouvera au tableau I la liste des essais utilisés pour appuyer les allégations concernant divers produits désinfectants. Les numéros de code indiquent la catégorie générale des produits dont il est question dans les présentes directives ("D" désignant les désinfectants), le produit spécifique (01. = désinfectants; 02. = bactériostatiques; 03. assainisseurs; 04. = sporicides; 05. = stérilisants; 06. = virucides; 07. = divers), la catégorie

de l'essai (R = essai requis, officiel; T = essai expérimental, généralement à l'étude en collaboration; S = essai suggéré, non officiel dont le stade de mise au point n'exige pas encore un examen en collaboration), et l'année (65, 69,70, etc.), indiquant la date la plus récente associée à la mise au point de l'essai.

Une bibliographie complète des essais publiés et mentionnés dans les présentes est présentée à la fin des directives. On trouvera aussi à la fin du présent document des essais expérimentaux ou suggérés, généralement publiés sous forme de feuillets de normalisation par les microbiologistes de la Division de réglementation des antiparasitaires de l'Environmental Protection Agency.

TABLEAU 1. Méthodes d'évaluation de l'efficacité des produits désinfectants

NE de code	Produit ou allégation	Méthode
D-01.000	<u>Désinfectants</u>	
D-01.010R-70	Allégations minimales concernant le pouvoir désinfectant	Dilution d'emploi de l'AOAC
D-01.010R-70	Allégations générales concernant le pouvoir désinfectant	Dilution d'emploi de l'AOAC
D-01.020R-70	Allégations sur le coefficient de phénol	Coefficient de phénol de l'AOAC
D-01.030R-70	Allégations contre les champignons pathogènes	Essai des fongicides de l'AOAC
D-01.040R-70	Allégations contre <u>M. tuberculosis</u>	Détermination de l'activité tuberculocide de l'AOAC
D-01.010R-70	Allégations concernant d'autres micro-organismes	Dilution d'emploi de l'AOAC
D-01.050R-70	Piscines	Essai des désinfectants d'eau de piscine de l'AOAC
D-01.060R-70	Produits en bouillie sous pression	Essai des bouillies germicides sous pression de l'AOAC
D-01.070T-69	Blanchissage-eau de lavage et tissu	Petrocci et Clarke
D-02.000	<u>Bactériostatiques</u>	
D-02.010R-72	Blanchissage	Détermination de l'activité bactériostatique des additifs de blanchissage
D-02.020S-65	Tissus	Essai 90-1965 de l'AATCC
D-02.030S-65	Tissus	Essai 100-1965 de l'AATCC
D-03.000	<u>Assainisseurs</u>	
D-63.010R-70	Préparations à base d'ammonium quaternaire ou d'acide et détergent	Essai tes assainisseurs germici des et détergents de l'AOAC

D-03.020R-70	Iodophores et produits à base de chlore et d'halogénures mélangés	Détermination de la concentration équivalente de chlore actif
D-03.010R-70	Allégations concernant l'eau dure	Essai des assainisseurs germicides et détergents de l'AOAC
D-03.030	Assainisseurs d'air	Simulation d'emploi
D-03.040T-71	Tapis	Feuillelet DIS-15
D-03.050T-71	Surfaces non en contact avec des aliments	Feuillelet DIS-5
D-03.060T-72	Pour résidues sur surfaces dures	Feuillelet DIS-14
D-03.070T-69	Blanchissage eau de lavage et tissus	Petrocci et Clarke

TABLEAU 1 (suite) Méthodes d'évaluation de l'efficacité
des produits désinfectants

NE de code	Produit ou allégation	Méthode
D-04.000	<u>Sporicides</u>	
D-04.010R-70	Produits sporicides	Essai des sporicides de l'AOAC
D-05.000	<u>Stérilisants</u>	
D-05.010R-70	Stérilisants chimiques.	Essai des sporicides de l'AOAC et Feuillet DIS-12
D-06.000	<u>Virucides</u>	Feuillet DIS-13
D-07.000	<u>Divers</u>	
D-07.010R	Additifs pour eau d'injection dans les puits de pétrole	Institut américain du pétrole
D-07.020T-67	Conservateurs incorporés aux peintures	Essai D-2574-67T de l'ASTM
D-07.030S-66	Additifs antimicrobiens pour Produits pétroliers	Méthode proposée par la Society for Industrial Microbiology

Feuillets de normalisation

Divers feuillets de normalisation ont été publiés par l'Environment Protection Agency à l'intention des demandeurs. Ces feuillets sont reproduits dans les pages qui suivent; en voici la liste des titres et des numéros:

<u>Titre</u>	<u>NE de code</u>
Données d'efficacité exigées	DIS-1
Données d'efficacité exigées	DIS-2
Données d'efficacité exigées	DIS-3
Indications spéciales d'emploi des désinfectants pour poulaillers	DIS-4
Essai des assainisseurs (pour les objets inanimés non en contact avec des aliments)	DIS-5
Bactériostatiques, assainisseurs et désinfectants employés en blanchisserie	DIS-6
Préparations reproduisant un produit pour lequel le fabricant a fourni des données	DIS-7
Préparations identiques à des produits homologués	DIS-8
Préparations obtenues par simple dilution dans l'eau de concentrés homologués	DIS-9
Méthode expérimentale d'évaluation en laboratoire d'assainisseurs et de bactériostatiques pour tapis	DIS-10
Directives spéciales concernant les produits à base d'acide crésylique et de phénols synthétiques (employés comme désinfectants de locaux agricoles et classés pour emploi non alimentaire)	DIS-11
Données d'efficacité exigées pour les allégations concernant le pouvoir stérilisant	DIS-12
Méthodes d'évaluation de l'activité virucide des désinfectants	DIS-13
Méthode expérimentale d'essai des produits assainisseurs persistants	DIS-14

Données d'efficacité exigées - IA. Pour les désinfectants (Allégations minimales ou générales):

Méthode de dilution d'emploi de l'AOAC; () méthode d'essai des bouillies germicides de l'AOAC.

Soixante répétitions de chacun des trois échantillons de trois préparations différentes contre:

() Staphylococcus aureus, () Salmonella choleraesuis

Trente répétitions de chacun des trois échantillons de trois préparations différentes contre:

() Staphylococcus aureus, () Salmonella choleraesuis, () Pseudomonas aeruginosa, () Trichophyton interdigitale, () Un agent pathogène (à l'exclusion de S. aureus et S. choleraesuis).

Trente répétitions de chacun des deux échantillons d'une préparation vieillie aux fins de l'essai de stabilité après 60 jours contre:

() S. aureus, () S. choleraesuis.

Dix répétitions d'un échantillon contre chacun des autres agents pathogènes allégués.

B. Coefficient de phénol:

Essais du coefficient de phénol de l'AOAC, en double, sur un échantillon d'une préparation contre: () Salmonella typhosa, () S. aureus, () tous les autres agents pathogènes allégués.

C. Essais des fongicides, tuberculocides ou virucides:

Essais des fongicides de l'AOAC sur deux échantillons d'une préparation.

Essais des tuberculocides de l'AOAC sur une préparation (un échantillon).

Essais modifiés des tuberculocides de l'AOAC conformément à la méthode d'essai des bouillies germicides sous pression de l'AOAC, sur une préparation (un échantillon). Techniques virologiques acceptables. Un échantillon répété en double contre tous les virus spécifiés sur l'étiquette.

NOTA: Si l'on substitue par d'autres les micro-organismes spécifiés dans les méthodes mentionnées ci-dessus, le milieu de culture, le temps d'incubation et tous les autres facteurs devront être évalués en fonction de la valeur des résultats allégués.

Référence: AOAC Official Methods of Analysis, 11^e édition, chapitre 4 - Désinfectants, page 59 - 74, 1970.

Données d'efficacité exigées - II

D. Essais sur gélose ensemencée. Essais 90-1965 de l' MTCC, B 175-176, 1966, Manuel technique de l'Américan Association of Textile Chemists and Colorists, volume 40, 1968. (Modifié pour remplacer les porteurs en tissus par des porteurs appropriés, à surface dure, comme l'acier ou la céramique.)

() Trois échantillons représentant trois préparations différentes du produit. Cinq échantillons d'un pouce carré de tissus ou de tissus traités suivant le mode d'emploi du produit, avec () S. aureus, () E. coli.

() Deux échantillons d'une préparation vieillie aux fins de l'essai de stabilité après 60 jours, au moyen de cinq échantillons d'un pouce carré contre S. aureus.

E. Essais des assainisseurs germicides et détergents de l'AOAC:

() Trois échantillons de trois préparations différentes contre Escherichia coli et Staphylococcus aureus.

() Deux échantillons d'une préparation vieillie aux fins de l'essai de stabilité après 60 jours, contre E. coli.

NOTA: Si l'on allègue des emplois dans l'eau dure, les essais ci-dessus doivent être faits dans l'eau dure, aux tolérances alléguées, au lieu de l'eau distillée.

F. Essais de détermination de la concentration équivalente de chlore actif germicide de l'AOAC:

() Trois échantillons de trois préparations différentes dont les concentrations on une activité équivalente aux trois étalons de 50, 100 et 200 ppm de chlore actif sous forme d'hypochlorite de sodium, contre Salmonella typhosa.

() Deux échantillons d'une préparation vieillie aux fins de l'essai de stabilité après 60 jours*, dont les concentrations ont une activité équivalente aux trois étalons.

*L'analyse chimique peut remplacer l'essai biologique dans le cas des produits organo-chlorés.

NOTA: Si l'on substitue par d'autres les micro-organismes spécifiés dans les méthodes mentionnées ci-dessus, le milieu de culture, le temps d'incubation et tous les autres facteurs devront être évalués en fonction de la valeur des résultats allégués.

Référence: AOAC Official Methods of Analysis, 11^e édition, chapitre 4 - Désinfectants, page 59 à 74, 1970.

Données d'efficacité requises - IIIG. Méthode d'essai des désinfectants pour eau de piscine de l'AOAC:

- () Trois échantillons de trois préparations différentes contre Escherichia coli et Streptococcus faecalis.
- () Deux échantillons d'une préparation vieillie aux fins de l'essai de stabilité après 60 jours, contre Escherichia coli.
- () Essais en piscine conformément aux normes NSF; la numération en boîtes de Pétri doit démontrer qu'au plus 15% des échantillons excèdent 200 colonies par ml, 2.2 coliformes par 100 ml, ou 2.2 entérocoques par 100 ml. (National Sanitation Foundation, P.O. Michigan 48106.)

H. Essais des sporicides de l'AOAC

- () Essais de trois échantillons de trois préparations différentes au moyen de deux types de porteurs (pénicylindres de porcelaine et boucles de soie pour sutures chirurgicales); deux organismes à l'essai (Bacillus subtilis et Clostridium sporogenes); trente répétitions sur chaque type de porteur (120 répétitions ou porteurs).
- () Deux échantillons d'une préparation vieillie aux fins de l'essai de stabilité après 60 jours: 30 répétitions sur un organisme et les deux types de porteurs.
- () Deux échantillons d'une préparation vieillie aux fins de l'essai de stabilité après 60 jours: 30 répétitions sur les deux organismes mentionnés ci-dessus et sur les deux types de porteurs. (120 répétitions ou porteurs pour chaque échantillon.)
- () Un échantillon d'une préparation: trente répétitions (pénicylindres de porcelaine) pour chaque organisme sporifère mentionné, autre que B. subtilis et C. sporogenes.

NOTA: Si l'on substitue d'autres micro-organismes à ceux qui sont spécifiés dans les méthodes mentionnées ci-dessus, le milieu de culture, les temps d'incubation et tous les autres facteurs devront être évalués en fonction de la valeur des résultats allégués.

Référence: AOAC Official Methods of Analysis, 11^e édition, chapitre 4 - Désinfectants, page 59 à 74, 1970.

Indications spéciales concernant les désinfectants pour poulaillers

1. Enlever toutes les volailles et tous les aliments des lieux, des camions et des cages.
2. Enlever toute la litière et tout le fumier des planchers, des murs et des surfaces ou installations occupées par des volailles.
3. Vider les auges, mangeoires et autres installations d'alimentation et d'abreuvement.
4. Saturer les surfaces de la solution recommandée.
5. Aérer les bâtiments, les cages et les autres espaces clos. Ne pas reloger les volailles ni utiliser le matériel jusqu'à ce que la solution de traitement soit absorbée, fixée ou séchée.
6. Les mangeoires, auges, alimentateurs automatiques et abreuvoirs doivent être rincés à fond à l'eau potable avant de les réutiliser.

NOTA: Les indications ci-dessus doivent figurer sur l'étiquette des produits contenant de l'acide crésylique, des phénols synthétiques, des huiles de pins ou des composés à base d'ammonium quaternaire.

ESSAI DES ASSAINISSEURS

(pour les objets inanimés qui n'entrent pas en contact avec des aliments)

Avant l'homologation, le demandeur doit fournir des données à l'appui des allégations concernant le pouvoir assainissant d'un produit démontrant que s'il est utilisé suivant le mode d'emploi, il réduira considérablement le nombre de micro-organismes soumis à l'effet sur une surface, par rapport à une autre surface témoin non traitée. On peut adopter le protocole suivant:

Les échantillons de trois préparations différentes doivent être éprouvés contre chaque bactérie de l'essai et sur chaque surface représentative. De plus, deux échantillons d'une préparation vieillie aux fins de l'essai de stabilité après 60 jours doivent être éprouvés contre une bactérie. Les micro-organismes éprouvés peuvent être Staphylococcus aureus ATCC 6538 et Klebsiella pneumoniae, aberrant, ATCC 4352; > ATCC 13048 peut remplacer K. pneumoniae. Les surfaces représentatives soumises à l'essai peuvent comprendre, mais sans exclure toute autre surface, du verre, du métal, des carreaux de céramique vitrifiée ou non vitrifiée ou de la porcelaine vitrifiée, suivant les usages proposés sur l'étiquette. La propagation des cultures et l'emploi de substrats de sous-culture et d'autres matériels connexes doivent être conformes aux paragraphes 4.001 et 4.002 du manuel de méthodes de l'AOAC.

Déterminer le nombre de bactéries dans une culture de 18 à 24 heures, et ajouter 0.01 à 0.03 ml du bouillon de culture en l'étendant sur des carrés d'un pouce de côté de la surface soumise à l'essai au moyen d'un fil en boucle pour ensemencement. Les carrés doivent être séchés pendant 20 à 30 minutes dans un incubateur bactériologique maintenu à 30 à 37° C. On doit faire un essai de récupération des bactéries au temps zéro afin de vérifier l'efficacité de la méthode de récupération, et en indiquer les résultats. L'essai au temps zéro doit indiquer la perte de viabilité au cours du séchage. Appliquer le produit sur la surface à éprouver conformément au mode d'emploi de l'étiquette. Après un intervalle de temps convenable, récupérer les organismes soumis à l'essai en lavant les carrés en les agitant convenablement dans un milieu approprié ou dans un diluant contenant des neutralisants appropriés. Faire des numérations en boîtes de Pétri sur gélose contenant des substances nutritives appropriées et les mêmes neutralisants, par la technique de versage ou d'épendage. Les intervalles d'exposition entre les temps zéro et dix minutes doivent être vérifiés tant pour le produit que pour les témoins non traités.

Les résultats doivent démontrer une diminution du nombre de bactéries d'au moins 99.9% par rapport aux numérations témoins au cours des 5 minutes qui suivent. On doit faire l'essai de trois surfaces pour chaque micro-organisme soumis à l'essai et pour chaque échantillon, soit 9 essais pour chaque bactérie. L'essai de stabilité après 60 jours doit être fait sur deux surfaces contre une bactérie.

BACTÉRIOSTATIQUES, ASSAINISSEURS ET DÉSINFECTANTS EMPLOYÉS
EN BLANCHISSERIE

Allégations concernant les bactériostatiques persistants pour tissus:

- () Tous les essais doivent être faits suivant la méthode d'essais de l'activité bactériostatique des additifs de blanchissage de l'AOAC, décrite dans le 2e supplément de la 11e édition de Official Methods of Analysis AOAC (JAOAC, 55 (2): 400-402, 1972). L'essai doit porter sur cinq carrés de tissus d'un pouce de côté sur chacun des trois échantillons de trois préparations, contre S. aureus et Klebsiella pneumoniae, aberrant, ATCC 4352, sur gélose ensemencée. On doit aussi faire l'essai de deux échantillons d'une préparation vieillie aux fins de l'essai de stabilité après 60 jours au moyen de cinq carrés de tissus, sur gélose ensemencée avec S. aureus.

Allégations concernant le pouvoir assainissant ou désinfectant pour les tissus et les eaux de lavage:

Il n'existe pas de méthode officielle pour évaluer l'efficacité des produits de cette catégorie. On trouvera dans JAOAC, 52, 836-838, 1969, les protocoles d'essais d'une méthode expérimentale. La bactérie gram-négative soumise à l'essai est Klebsiella pneumoniae, aberrant, ATCC 4352. Les essais peuvent être faits dans une machine à laver ou dans les appareils spécifiés dans la méthode expérimentale. Les protocoles généraux, la propagation des cultures, les rapports tissus/eau, les tissus soumis à l'essai, les températures de l'eau et le substrat de sous-culture doivent être les mêmes que ceux qui sont spécifiés dans la méthode expérimentale.

- () Allégations concernant le pouvoir assainissant: L'essai doit porter sur trois carrés de tissus sur chacun des trois échantillons de trois préparations, contre les deux bactéries spécifiées. Un échantillon vieilli de 60 jours doit être soumis à l'essai en double contre Staphylococcus aureus. L'essai doit démontrer une diminution de 99.9% du nombre de bactéries en dix minutes par rapport aux numérations témoins.
- () Allégations concernant le pouvoir désinfectant: L'essai doit porter sur 30 carrés de tissus sur chacun des trois échantillons de trois préparations, contre les deux bactéries spécifiées. Un échantillon vieilli de 60 jours doit aussi être soumis à l'essai en double sur 15 carrés de tissus contre S. aureus. La méthode doit être modifiée de façon que l'essai porte 3 la fois sur le tissu et l'eau de lavage (5 ml d'une machine à laver automatique ou 0.5 ml du contenant de l'appareil d'essais) dans des flacons à large col contenant du substrat de sous-culture et des neutralisants. Le rapport entre les volumes d'eau de lavage ajoutés et de substrats ne doit pas excéder 1:40. On note la présence ou l'absence de croissance après 48 heures d'incubation.

Les exigences ci-dessus ne s'appliquent pas aux hypochlorites de sodium et de calcium, aux dichloro-s-triazinetriones de sodium et de potassium, ni au trichloros-triazinetrione.

PRÉPARATIONS REPRODUISANT UN PRODUIT POUR LEQUEL LE
FABRICANT A FOURNI DES DONNÉES

Dans le cas d'un produit soumis à l'homologation qui reproduit une préparation homologuée mais non destinée à la vente par le fabricant, les données versées au dossier peuvent être utilisées à condition:

- () 1. Que l'on soumette une lettre officielle d'autorisation par laquelle le fabricant permet l'accès à son dossier.
- 2. Que le demandeur fournisse les données d'efficacité suivantes pour son propre produit fini:
 - () A. Désinfectants d'emploi général
 - (1) Méthode de dilution d'emploi de l'AOAC
 - (2) Trente répétitions sur chacun de deux échantillons contre Salmonella choleraesuis.
 - () B. Assainisseurs utilisés pour le rinçage final de la verrerie, des ustensiles ou du matériel dans les restaurants, bars, usines laitières et établissements de fabrication d'aliments.
 - (1) Essais des assainisseurs germicides et détergents et de l'AOAC
 - (2) Un essai sur un échantillon contre Escherichia coli. L'essai doit être fait en eau dure si l'étiquette porte une allégation de tolérance en eau dure.
 - () C. Désinfectants en bouillie sous pression
 - (1) Certification que tous les matériaux et dispositifs constituant le contenant sont identiques à ceux qui sont spécifiés par le fabricant de base.
 - (2) Essai des bouillies germicides sous pression de l'AOAC
 - (3) Trente répétitions sur chacun de deux échantillons contre S. aureus et S. choleraesuis.

PRÉPARATIONS IDENTIQUES A DES PRODUITS HOMOLOGUÉS

Les produits soumis à l'homologation qui sont identiques à des produits déjà homologués, fabriqués et mis au marché par un premier demandeur, peuvent être acceptés à condition:

- () 1. Que l'on soumette une lettre officielle par laquelle le premier demandeur autorise l'accès au dossier du produit homologué.
- () 2. Qu'on soumette un document prouvant que le produit est fabriqué et (ou) dosé par le premier demandeur pour le second demandeur.
- () 3. Si le produit destiné à l'homologation, exception faite des bouillies sous pression, est fabriqué et (ou) dosé par le demandeur, les critères établis dans le document "Préparations reproduisant un produit homologué" s'appliqueront.
- () 4. S'il s'agit d'une bouillie sous pression, on doit prouver que tous les matériaux des dispositifs sont identiques à ceux qui sont utilisés par le premier demandeur; de plus, le fabricant du contenant doit être le même pour les deux produits. S'il est impossible d'en fournir la preuve, le demandeur doit présenter des données complètes d'efficacité de son propre produit suivant la méthode d'essai des bouillies germicides sous pression de l'AOAC.

PRÉPARATIONS OBTENUES PAR SIMPLE DILUTION DANS L'EAU
DE PRODUITS CONCENTRÉS HOMOLOGUÉS

Les données de base établies par le fournisseur du concentré homologué peuvent être utilisées conformément aux directives qui suivent:

- I. Le fournisseur doit envoyer une lettre autorisant la consultation de son dossier au nom du demandeur.
- II. Les données suivantes, confirmant que le produit dilué peut être considéré comme efficace s'il est employé suivant le mode d'emploi, doivent être fournies:
 - A. Concentrés émulsionnés (phénoliques, iodophores, orthodichlorobenzène)

DONNÉES EXIGÉES

- () 1. Désinfectants d'emploi général
Trente répétitions de trois échantillons éprouvés suivant la méthode de dilution d'emploi de l'AOAC contre Salmonella choleraesuis.
- 2. Assainisseurs ou assainisseurs détergents:
Trois échantillons éprouvés ou non dans l'eau dure (suivant les allégations de l'étiquette) par la méthode d'essais des assainisseurs germicides et détergents de l'AOAC.
- B. Produits chimiques purs et préparations simples (composés quaternaires avec ou sans alcool, hypochlorites, isocyanurates chlorés, désinfectants à base de vraie huile de pins)
 - () 1. Données de contrôle obtenues des trois premiers lots de production, basées sur des méthodes d'analyse chimique et (ou) physique conformément à l'avis PR 70-12. Ces données doivent être présentées au cours des six mois qui suivent la réception du présent document.
 - () 2. Dans le cas des produits à base de composés quaternaires et portant des allégations concernant le pouvoir désinfectant ou le pouvoir assainissant dans l'eau dure, on doit fournir une analyse des principales impuretés trouvées dans les aqueducs ou d'autres sources d'eau employées pour diluer le produit. Un rapport du service local d'aqueduc peut suffire.

MÉTHODE EXPÉRIMENTALE D'ÉVALUATION EN LABORATOIRE DES ASSAINISSEURS
ET DES BACTÉRIOSTATIQUES POUR TAPIS

(Revu le 4 décembre 1971)

MATÉRIEL

1. Planche de montage des tapis - Fixer un carré de carton-fibre (masonite) de 1/8 de pouce d'épaisseur, surface finie en haut, sur un carré de contre-plaqué à l'épreuve de l'eau de 16 pouces de côté et de 3/4 de pouce d'épaisseur, au moyen de clous étêtés de 3/4 de pouce.
2. Matériel de découpage - Gabarits faits de carrés de plastique acrylique de 2 pouces de côté et de 1/4 de pouce d'épaisseur, percés de trous de 3/32 de pouce, et couteau tranchant (1)(Couteau Beaver avec lame remplaçable n^o 27 ou 28).
3. Brosses - Brosses à main de chirurgie de 10 sur 30 pouces, avec poils de nylon de 5/8 de pouce (Tomac 29721 - 010 (2) ou l'équivalent, \$13.00 la douzaine).
4. Bouteilles d'extraction - Bouteilles rondes de 8 onces, à large col, en polypropylène, avec bouchons à vis (Naglène 2105 ou l'équivalent) contenant 10 pénicylintres en acier inoxydable et 100 ml d'un bouillon neutralisant approprié. (Des bouteilles de verre de même type peuvent être employées, mais il faut prendre soin de ne pas les briser au cours de l'agitation.) Dans le cas des assainisseurs à base de phénol, employer le bouillon nutritif de l'AOAC avec une double concentration de neutralisant Lethéen (bouillon Lethéen de l'AOAC plus 0.7 g de Lécithine et 5 g de Tween 80 par litre).
5. Atomiseur - Atomiseur réglable modifié de façon à s'alimenter d'une éprouvette ou d'une bouteille graduée. (Atomiseur DeVilbiss modèle 15, avec bouteille de 2 onces graduée en 10 ml.)
6. Tapis - Tapis de type normalisé avec poils de nylon, d'acrylonitrile ou de laine, avec canevas à chaîne de fibres. (On a choisi, pour les essais en collaboration, un tapis à velours de nylon avec poils de 1/4 de pouce sur canevas double de jute, modèle Perview, Wanda Weeve Carpet.)
 - 1) Rudolph Beaver Company, Belmont (Massachusetts)
 - 2) American Hospital Supply, Evanston (Illinois)

CULTURES ET MILIEUX DE CULTURE

1. Bactéries soumises à l'essai - Staphylococcus aureus ATCC 6538 et Enterobacter aerogenes ATCC 13048.

2. Bouillon neutralisant double concentration - Bouillon Letheen de l'AOAC, plus 0.7 g de Lécithine et 5 g de Tween 80 par litre, ou thioglycollate de sodium 0.10% et isooctylphenoxy-polyéthoxyéthanol 0.01% dans un tampon au phosphate de pH 7.2 .
3. Gélose neutralisante pour numération - Gélose des méthodes standard (Gélose de Tryptone, Glucose et extrait de boeuf) à laquelle on a ajouté 0.7 g de Lécithine et 5 g de Tween 80 par litre.

INOCULUM BACTÉRIEN

Préparer des fioles à culture carrées de 8 onces en y versant de l'agar nutritif B (Méthodes de l'AOAC*, 4.023 (a), (2).), fait de 3 g d'extraits de boeuf, 5 g d'Anatone et 30 g de gélose par litre. Préparer les suspensions de cultures conformément au paragraphe 4.026 (Méthodes de l'AOAC). Diluer la suspension normalisée dans une solution diluée de tampon au phosphate (Méthodes de l'AOAC, 4.023 (f)) pour obtenir une suspension-mère d'inoculum contenant 10×10^9 organismes par ml.

MODE OPÉRATOIRE

1. Couper le tapis en morceaux de 8 x 12 pouces, et à l'aide du gabarit de 2 pouces de côté, découper, du côté du canevas, 2 rangées de 3 carrés de tapis par rangée, les centres de chaque carré étant espacés d'au moins 4 pouces. Les carrés de tapis soumis à l'essai peuvent être complètement détachés du tapis; la méthode préférée est de laisser environ 1/8 de pouce de canevas intact à chaque angle de chaque carré de tapis de façon que tout le morceau de tapis puisse être stérilisé et inoculé avant qu'on en détache les carrés de tapis. On fait une marque à l'encre à l'épreuve de l'eau (Marks-A-Lot de Carter ou l'équivalent) au centre de chaque carré afin de faciliter l'inoculation. Recouvrir la surface du tapis de feuilles d'aluminium repliées sous les bords. Stériliser à la vapeur et sécher. Les feuilles d'aluminium empêcheront la contamination des témoins au cours de l'atomisation. Seul les morceaux de tapis trouvés exempts d'agents antimicrobiens persistants dans les poils ou sur le canevas après autoclavage, au moyen d'une technique de chevauchement des zones d'inhibition, doivent être employés.
2. Préparer une suspension normalisée de bactéries en lavant les bouteilles d'agar nutritif incubées pendant 24 heures et ajuster à une densité de 10×10^9 organismes par ml au moyen du tampon au phosphate. Diluer la suspension-mère au moyen d'un tampon au phosphate contenant 0.01% d'isooctylphénoxy-polyéthoxyéthanol de façon à ramener la concentration à 10×10^9 organismes par ml. Inoculer le centre préalablement marqué de chaque carré de tapis au moyen de 0.1 ml de suspension de bactéries. (Conserver la suspension de bactéries pour déterminer les nombres d'inoculations.) Sécher les tapis inoculés pendant 60 minutes, recouverts lâchement de feuilles d'aluminium, dans un incubateur réchauffé à 36°C.

NOTA: Le brossage doit être fait sous une hotte ou dans une boîte à gants. Un grand sac de plastique peut constituer une enceinte de sécurité.

*Official Methods of Analysis, Association of Official Analytical Chemists. 11^e édition, 1970.

3. Préparer les brosses en immergant les poils dans des contenants distincts (boîtes de Pétri de 150 mm ou l'équivalent) contenant la solution à l'essai diluée et une solution témoin ne contenant pas de substances actives pendant 15 minutes. (Si l'on ne dispose pas de solution témoin, employer de l'eau distillée stérile contenant 0.01% d'isooctylphénoxy-polyéthoxyéthanol.) Fixer deux morceaux de tapis inoculé portant 12 carrés d'essai sur la planche de montage en clouant chaque angle au moyen de clous de tapisserie; les feuilles d'aluminium recouvrent les témoins afin de les protéger pendant le brossage. Mettre la planche dans une hotte.
4. Appliquer uniformément sur un morceau de tapis portant 6 taches séchées d'inoculum de bactéries une quantité prédéterminée de solution d'essai à la température de 25°C. (Les produits liquides doivent être appliqués à partir d'une quantité mesurée de bouillie, basée sur la quantité de solution excédant 25 ml, appliquée par brossage, suivant la dose d'application recommandée par unité de surface. Les produits solides peuvent être appliqués par poudrage.) Secouer l'excès de solution d'essai sur les poils de la brosse et mettre cette dernière dans une boîte de Pétri contenant 100 ml de solution d'essai. Plonger les poils de la brosse et transférer la quantité de solution retenue par les poils sur une tache du tapis. Brosser la tache pendant 30 secondes en faisant 30 mouvements circulaires dans un sens et 30 autres dans l'autre sens. La surface couverte par ce traitement doit former un cercle d'environ 3 pouces de diamètre autour de chaque tache. Exercer une pression modérée à forte sur la brosse afin de faire pénétrer la solution jusqu'à la base des poils. Replonger la brosse dans la solution d'essai et brosser de la même façon les 5 autres taches. Laisser le tapis traité à la température ambiante pendant 60 minutes pour permettre un séchage partiel des surfaces traitées.
5. Pendant que le tapis traité est laissé à sécher, pulvériser une quantité de solution témoin non active, proportionnellement à la surface, sur 3 des taches d'inoculum séché du tapis témoin. Les 3 autres taches serviront de témoins non brossés pour déterminer la diminution du nombre de bactéries due au séchage. Prendre soin de ne pas humecter ni de brosser les surfaces témoins non brossées. Brosser les 3 taches humectées de la même façon que pour le tapis soumis à l'essai. Laisser sécher les témoins pendant 60 minutes à la température ambiante.
6. Après 60 minutes, finir de découper les carrés de tapis de 2 pouces de côté au moyen d'une pince et d'un couteau désinfectés à la flamme. Mettre chaque carré de tissu dans une bouteille d'extraction distincte contenant du bouillon neutralisant. Agiter vigoureusement chaque bouteille d'extraction pendant au moins une minute afin de libérer les

organismes viables des fibres du tapis. Déterminer le nombre d'organismes viables dans chaque bouteille en versant 2 dilutions sur de la gélose des méthodes standards contenant un neutralisant approprié. Déterminer le nombre d'organismes viables dans 0.1 ml de suspension de bactéries employées pour l'inoculation du tapis. Incuber toutes les bouteilles d'extraction afin de déterminer s'il y a eu neutralisation complète ou incomplète des bactéries dans le tapis soumis à l'essai.

7. Déterminer le pourcentage de diminution du nombre d'organismes viables dans le tapis traité en comparant le nombre d'organismes viables dans l'échantillon traité avec le nombre moyen d'organismes viables dans l'échantillon témoin brossé. Pour que l'essai soit acceptable, le nombre d'organismes extraits des taches témoins non brossées doit être 1×10^6 par ml.

Si l'on désire employer cette épreuve pour obtenir des données à l'appui de l'homologation d'un assainisseur pour tapis, le protocole suivant doit être adopté:

1. L'essai doit porter sur 3 échantillons de trois préparations différentes contre chacune des 2 bactéries spécifiées dans la méthode et sur 2 types différents de tapis. Dans chaque cas, la diminution du nombre de bactéries par rapport aux témoins doit être de 99.9%. Si le produit doit être utilisé sur des tapis de catégorie commerciale, 2 tapis représentatifs, par exemple de type tufté en acrylique et en polypropylène, doivent être soumis à l'essai. Aucun tapis ne peut servir de norme. Si le produit est destiné aux tapis de laine, un autre échantillon représentatif doit de plus être soumis à l'essai. Sinon, l'étiquette doit porter une mention à l'effect contraire. Tous les échantillons de tapis soumis à l'essai doivent être identifiés par toutes leurs caractéristiques, et l'on doit donner le type des fibres, le poids des fibres, la densité et la hauteur des poils. Des essais témoins appropriés doivent démontrer qu'aucun agent bactériostatique présent dans les poils ou le canevas du tapis ne fausse les résultats de l'essai.
2. L'essai doit comprendre un échantillon d'une préparation vieillie de 60 jours, sur un échantillon de tapis et contre une bactérie.

La quantité d'assainisseur appliquée sur un morceau de tapis doit être exprimée en gallons de solution diluée par pied carré de tapis, et cette quantité doit être déclarée sur le projet d'étiquette. Cette quantité devrait être de 12 gallons de produit dilué pour 800 à 1,200 pieds carrés de tapis. Si le produit est destiné aux hôpitaux, l'emploi d'un aspirateur de reprise humide doit être spécifié dans le mode d'emploi. Aucun produit dit de traitement à sec ne peut être homologué pour emploi dans les hôpitaux.

Les questions techniques concernant la méthode peuvent être adressées à :
Dr. D.F. Garvin, BASF Wyandotte Corporation, Wyandotte (Michigan) 48192.
Téléphone: 313-282-3300.

INDICATIONS SPÉCIALES POUR LES PRODUITS A BASE D'ACIDE CRESYLIQUE ET DE
PHÉNOLS SYNTHÉTIQUES

(Employés comme désinfectants de locaux agricoles)

1. Ne pas utiliser dans les stalles de traite, les salles de traite ni les chambres à lait.
2. Sortir tous les animaux et enlever tous les aliments des locaux, wagons, bateaux, camions et autre matériel.
3. Enlever la litière et le fumier des planchers et des murs, et de toutes les surfaces des étables, cases, stalles, couloirs et autres installations où vivent ou circulent des animaux.
4. Vider tous les auges, rateliers et autres installations d'alimentation et d'abreuvement.
5. Saturer toutes les surfaces avec une solution désinfectante acceptée.
6. Immerger les licous, cordes et autres types de matériel employé pour le maniement et la contention des animaux, de même que les fourches, pelles et grattoirs.
7. Aérer les bâtiments, wagons, navires et autres espaces clos. Ne pas reloger le bétail ni employer le matériel avant que la solution de traitement ne soit absorbée, fixée ou séchée.
8. Les rateliers, mangeoires, auges, alimentateurs automatiques et abreuvoirs doivent être brossés à fond au moyen de détergents et rincés avec de l'eau potable avant de les réutiliser.

Données d'efficacité exigées pour les allégations concernant le pouvoir
stérilisant

Employer l'essai des sporicides de l'Association des chimistes analystes officiels. (AOAC Official Methods of Analysis, 11^e édition, chapitre 4, page 64-65, 1970), en utilisant:

- (a) Trois échantillons de trois préparations différentes sur deux types de porteurs (pénicylindres et boucles de soie pour sutures chirurgicales) et sur les deux organismes d'essai (Bacillus subtilis et Clostridium sporogenes). Faire 30 répétitions pour chaque organisme et sur chaque type de porteur (120 répétitions ou porteurs pour chaque échantillon),
- (b) Deux échantillons d'une préparation vieillie aux fins de l'essai de stabilité après 60 jours, au moyen de 30 répétitions sur les deux organismes nommés ci-dessus et les deux types de porteurs (120 répétitions ou porteurs pour chaque échantillon).

Le nombre total de tubes nécessaires pour un seul essai suivant (a) et (b) ci-dessus est de 600. Dans le cas d'une allégation concernant le pouvoir stérilisant, aucune croissance n'est permise dans aucune des répétitions.

Méthodes d'évaluation de l'activité virucide des désinfectants

Il n'existe actuellement aucune méthode officielle d'évaluation de l'activité virucide des désinfectants. Jusqu'à ce qu'une méthode officielle n'ait été adoptée, la Division acceptera les données appropriées obtenues par toute technique virologique reconnue comme sérieuse. La méthode doit reproduire les conditions réelles d'emploi. Pour cette raison, les données virologiques acceptées sont généralement obtenues par des méthodes d'essai sur porteurs, qui sont les modifications soit de la méthode de dilution d'emploi de l'AOAC (pour les désinfectants liquides de surface), soit l'essai des bouillies germicides sous pression de l'AOAC (pour les désinfectants de surface sous pression). Pour reproduire les conditions d'emploi, le virus spécifique soumis à l'essai doit être inoculé sur des surfaces dures, laissé à sécher, puis traité avec le produit suivant le mode d'emploi de l'étiquette. Les surfaces traitées doivent être examinées après une exposition de dix minutes afin de déterminer si le virus a été inactivé. Comme la plupart des produits germicides sont intrinsèquement toxiques pour les hôtes employés dans les techniques virologiques (en particulier, les cultures de cellules), on devra faire une désintoxication qui rendra le virus traité exempt de germicides persistants ou employer une concentration de virus suffisante pour démontrer une réduction du nombre de virus d'au moins trois puissances (1,000 fois), même si l'on observe une cytotoxicité dans les cultures de tissus.

Les renseignements suivants doivent être fournis pour chaque essai :

1. Les dilutions employées pour récupérer le film de virus sur une surface, par exemple, 10⁻¹, 10⁻², etc.
2. Témoins: surfaces contaminées par le virus à l'essai: aucun germicide employé; virus récupéré suivant diverses dilutions dans l'hôte (culture de tissus, oeufs avec embryon, injection sur souris, etc).
3. L'activité du germicide sur au moins cinq surfaces différentes (par exemple, des lamelles de verre) contaminées par le virus à l'essai, indiquant la récupération des virus suivant diverses dilutions dans l'hôte.
4. Essais témoins de cytotoxicité: application de germicide sur des surfaces exemptes du virus à l'essai; effet sur l'hôte.
5. Valeur de la L.D. 50 calculée pour les divers essais.
6. Réduction du titre de virus par l'activité du germicide: L.D. 50/ml de l'essai témoin de virus moins L.D. 50/ml du système soumis à l'essai, exprimé en logarithme à base 10 et calculé suivant une méthode statistique (par exemple, Reed et Muench, Litchfield et Wilcoxon).

Le rapport type d'un essai comportant la culture de tissu comprendrait donc les détails des méthodes employées de même qu'un tableau semblable au suivant:

Dilution des virus récupérés sur une surface	Essai germicide (Survie* de virus de la surface traitée)	Essai témoin (Survie de virus de la surface non traitée)	Essai témoin cytotoxicité (Effet toxique du germicide; aucun virus)
10 ⁻¹	T T T T T	+ + + + +	T T T T T
10 ⁻²	T T T T T	+ + + + +	T T T T T
10 ⁻³	T T T T T	+ + + + +	T T T T T
10 ⁻⁴	T T T T T	+ + + + +	T T T T T
10 ⁻⁵	T T T O O	+ + + + +	T T T T T
10 ⁻⁶	O O O O O	+ + + + +	O O O O O
10 ⁻⁷	O O O O O	+ + + + +	O O O O O
10 ⁻⁸	O O O O O	+ + + + +	O O O O O
10 ⁻⁹	O O O O O	+ O O O O	O O O O O

* Démontrée par effet cytopathogène, anticorps fluorescents, numération en bote de Pétri, réaction de l'animal ou autre technique acceptable.

Note: T - Toxique; + - virus survivant; O - aucun virus survivant

Les allégations concernant le pouvoir virucide d'un produit doivent se limiter au virus qui ont été effectivement soumis à l'essai. On exige deux essais sur un échantillon pour chaque virus soumis à l'essai. Lorsqu'il y a évidence de cytotoxicité (comme dans le tableau ci-dessus), l'essai doit démontrer une réduction d'au moins 1,000 fois du nombre de virus. Le virucide doit démontré une inactivation complète du virus tans toutes dilutions.

Si le virus à l'essai ne présente pas de réaction cytopathogène mesurable dans des milieux de sous cultures, l'effet in vitro sera considéré comme présumptif. Dans ce cas, un essai in vivo confirmatif doit être fait sur un hôte sensible après exposition du virus aux désinfectants.

MÉTHODE EXPÉRIMENTALE D'ESSAI DES PRODUITS AUTO-ASSAINISSEURS PERSISTANTS

Pour appuyer des allégations concernant un produit auto-assainisseur persistant, le demandeur doit soumettre, avant l'homologation, des données démontrant que le produit, lorsqu'il est utilisé conformément au mode d'emploi, abaisse considérablement le nombre de micro-organismes sur des surfaces représentatives traitées, en comparaison de surfaces témoins qui ont été traitées avec le même produit exempt de la substance active. Le protocole suivant doit être suivi:

Trois échantillons de trois préparations différentes doivent être éprouvés contre chacune des bactéries à l'essai sur au moins cinq répétitions de chaque surface représentative pour laquelle le produit est destiné. De plus, un échantillon vieilli aux fins de l'essai de stabilité après 60 jours doit être éprouvé en double sur une bactérie et au moins cinq répétitions de chaque surface représentative à traiter. Les micro-organismes soumis à l'essai peuvent être Staphylococcus aureus ATCC 6538 et Klebsiella pneumoniae, aberrant, ATCC 4352. Enterobacter aerogenes ATCC 13048 peut remplacer K. pneumoniae. Les surfaces représentatives peuvent comprendre le verre, le métal, les carreaux de céramique vitrifiée ou non vitrifiée, la porcelaine vitrifiée ou des parquets de bois, suivant les usages proposés sur l'étiquette, cette liste n'étant pas limitative. La propagation des cultures et l'emploi de substrats de sous-cultures, ainsi que tout autre matériel connexe doit être conforme aux paragraphes 4.001 et 4.002 du manuel des méthodes de l'AOAC.

Appliquer le produit sur les surfaces d'essai et les surfaces témoins suivant le mode d'emploi de l'étiquette, et laisser sécher complètement les surfaces. Déterminer le nombre de bactéries dans un bouillon de culture incubé pendant 48 heures, et étendre de 0.01 à 0.03 ml de bouillon de culture sur des carrés d'un pouce de côté de chaque surface d'essai au moyen d'une boucle d'ensemencement bactériologique. Les carrés doivent être mis à sécher pendant 20 à 30 minutes dans un incubateur bactériologique à 30 à 37°C. Un essai de récupération au temps zéro doit être fait afin de démontrer l'efficacité du processus de récupération, et ses résultats doivent être consignés. L'essai au temps zéro doit démontrer la perte de viabilité au cours du séchage. Un nombre minimale de 1×10^6 organismes par surface à l'essai doit être récupéré après le séchage pour que l'essai soit considéré comme valable.

Après un intervalle de temps convenable, récupérer les organismes en lavant les carrés en les agitant dans un milieu approprié ou un liquide de dilution contenant une gélose nutritive appropriée contenant les mêmes neutralisants, par versage ou épendage en boîte de Pétri. L'essai doit comprendre des intervalles d'exposition de zéro, trente minutes, une heure, trois heures et six heures, et les résultats de chaque surface traitée de même que chaque témoin doivent être consignés.

Pour que le produit ait une valeur pratique, les résultats de l'essai doivent démontrer une diminution du nombre de bactéries d'au moins 99.9% par rapport aux témoins au cours des trois heures qui suivent.

References

- AATCC Test Method 90-1965. Antibacterial activity of fabrics, detection of: agar plate method, in AATCC Technical Manual, 1968 Ed., published by American Association of Textile Chemists and Colorists, P.O. Box 12215, Research Triangle Park, North Carolina 27709,
- AATCC Test Method 100-1965. Antibacterial finishes on fabrics, evaluation of, in AATCC Technical Manual, 1968 Ed., published by American Association of Textile Chemists and Colorists, P.O. Box 12215, Research Triangle Park, North Carolina 27709.
- ASTM Test Method D-2574-67T. Test for resistance of emulsion paints in the container to attack by microorganisms. Am. Soc. for Testing and Materials, 1916 Race Street, Philadelphia, Pennsylvania 19103.
- Biological analysis of subsurface injection waters, API recommended practice for, API-RP-38, Second Edition. Dec. 1965. American Petroleum Institute, Div. of Production, 300 Corrigan Tower Bldg., Dallas, Texas 75201.
- British Standards Institution 1956 British standard technique for the preliminary assessment of aerial bactericides. B.S. 2796, 14 pp. British Standards House, 2 Park Street, London, W. 1.
- Litchfield, J . T., Jr., and F. Wilcoxon. 1949. A simplified method of evaluating dose-effect experiments. J. Pharmacol. Exptl. Therap, 96: 99-113.
- McGray R. J . 1970. A test method for the evaluation of air sanitization. Proc. Chem. Specialties Manufact. Assn., 106-111.
- Official Methods of Analysis. Chapter 4 - Disinfectants, pp. 59 - 72, Eleventh Ed., 1970 and Supplements in 1971 and 1972; published by the Association of Official Analytical Chemists, Inc., P.O. Box 540, Benjamin Franklin Station, Washington, D. C. 20014.
- Petrocci, A. N. and Clarke, Paul. 1969. Proposed test method for antimicrobial laundry additives. Journal of the AOAC. 52, 836 - 842.
- Proposed procedures for the screening of microbial inhibitors in hydrocarbon/water systems. Publication, Number 2, July 1966, Society for Industrial Microbiology, 3900 Wisconsin Ave., N.W., Washington, D.C. 20016.
- Reed, L. J., and H. Muench. 1938. A simple method of estimating fifty per cent end points. Amer. Jour. Byg. 27: 293-497.
- Stuart, L. S. 1969. Testing sterilizers, disinfectants, sanitizers and bacteriostats. Soap and Chem. Specialties. 45, 79 - 80 and 84 - 85.
- Stuart, L. S. and Friedl, J. L. 1955. Testing aerosol products for gerticidal and sanitizing activity. Proc. Chem. Specialties Manufact. Assn., 93 - 97.