



**Departamento Nacional y de Referencia en Salud Ambiental
Subdepartamento de Registro de Plaguicidas y Desinfectantes**

GUIA GENERAL PARA LA REALIZACIÓN Y PRESENTACIÓN DE ENSAYOS DE EFICACIA DE PRODUCTOS DESINFECTANTES Y SANITIZANTES DE USO SANITARIO Y DOMÉSTICO

Elaborado por: Pamela González Petersen

Revisado por: Claudia Salazar Burrows, Gabriela Berrocal Silva, Héctor Cortes Iturriaga

Aprobado por: Iván Triviño Angulo

**Rev. 26-01-23
Versión 2**

ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN.....	página 3
II.	OBJETIVOS	página 5
	- Objetivos Generales	
	- Objetivos Específicos	
III.	DEFINICIONES	página 6
IV.	DISPOSICIONES GENERALES	página 9
V.	REQUISITOS GENERALES PARA LA PRESENTACIÓN DE ENSAYOS DE EFICACIA	página 10
	1. Los ensayos de eficacia biocida (acción desinfectante o sanitizante) debieran ajustarse a las siguientes condiciones generales.	
	2. Datos que se deben informar.	
VI.	REQUERIMIENTOS ESPECIFICOS DE EFICACIA DE ACUERDO AL AMBITO DE ACCIÓN	página 12
VII.	ENSAYOS	página 13
VIII.	BIBLIOGRAFÍA	página 18

I. INTRODUCCIÓN

La demanda de alimentos para una población creciente, ha hecho que deban utilizarse biocidas cada vez más eficaces y seguros. Además, la aparición de nuevos microorganismos que han afectado a animales y al ser humano, han puesto en jaque la capacidad de responder con adecuados protocolos de desinfección. Muchas sustancias químicas son capaces de inhibir o eliminar microorganismos; sin embargo, no existe un producto que sea capaz de convertirse en el agente químico ideal para el control microbiológico, porque debería cumplir una serie de propiedades que son prácticamente imposibles de reunir en uno solo.

Por ello, es de suma relevancia, la presentación de estudios de eficacia que avalen la acción del producto, los que determinarán la efectividad de una sustancia o mezcla de ellas, para controlar o eliminar microorganismos específicos, y en algunos casos determinar si la sustancia tiene el poder suficiente como para actuar a gran escala (desinfectantes para agua potable, de piscinas, o procesos en la industria alimenticia, por ejemplo). El presente documento pretende establecer lineamientos para la determinación de la eficacia de biocidas del tipo desinfectantes y sanitizantes, considerando que son parte del manejo cotidiano para el control de microorganismos en diferentes ámbitos de acción, y constituyen, muchas veces, peligros para la salud humana y el medio ambiente.

Entrega a los profesionales una guía sobre los estudios o ensayos de eficacia que deben ser presentados, junto a los demás antecedentes en el proceso de registro sanitario, de un producto Desinfectante o Sanitizante, o junto a la solicitud de una modificación al registro (como, por ejemplo, un nuevo microorganismo objetivo) con el fin de cumplir con la regulación establecida por el Instituto. Al cumplir estos lineamientos se puede tener una adecuada justificación técnica que avale la eficacia del producto, para propósitos regulatorios y de salud pública.

Características de un desinfectante ideal:

- Soluble en agua.
- Amplio espectro de actividad.
- Estable: tiempo prolongado de vida útil.
- No debe reaccionar con materia orgánica ni inactivarse en presencia de ella.
- Escasa o nula toxicidad para el ser humano.
- Acción rápida.
- Capacidad de penetración.
- Acción residual.
- Compatible con todos los materiales.
- Disponibilidad y buena relación costo-riesgo-beneficio.
- No debe afectar al medio ambiente.

Las condiciones de almacenamiento afectarán la vida útil y la eficacia de cualquier producto, por lo que se debe tenerse en cuenta:

- Temperatura de almacenamiento.
- Condiciones de iluminación del área.
- Localización del producto en anaqueles.
- Condiciones de limpieza del área a desinfectar.
- Características de los envases de los desinfectantes.
- Condiciones de ventilación del área.
- Fechas de vencimiento.
- Fechas de activación de producto –cuando sea pertinente.
- Fecha de vencimiento de la activación.
- Hermeticidad del recipiente.

Esta guía contiene consideraciones que se entenderán como los requisitos a declarar. Además de ello, presenta los datos que deben ser entregados al Instituto para poder evaluar un ensayo de eficacia de un producto desinfectante o sanitizante. Cualquier evaluación deberá considerar las afirmaciones realizadas en el etiquetado del producto, en relación a microorganismos, lugares y métodos de aplicación, equipos, dosis de uso, número de aplicaciones, situaciones de uso, compatibilidad con otros químicos, efectos adversos o beneficios producidos por el producto, entre otros factores.

Debe entenderse también que esta guía no excluye o invalida la aplicación de otros ensayos que no hayan sido considerados, ya sea por su especificidad, o porque la continua aparición de nuevas formulaciones, interacciones entre microorganismos, resistencia o patologías más complejas, hace que cada vez los requerimientos sean más específicos.

Los métodos a utilizar para realizar los ensayos descritos, son generalmente los reconocidos internacionalmente, estos pueden ser los de: **US-EPA, AOAC, CIPAC, ASTM, UNE, ANVISA u OECD**, entre otros.

Las orientaciones de esta guía excluyen los lineamientos para el uso de esterilizantes en frío, los cuales son considerados *dispositivos médicos*, y por lo tanto están sujetos a otras regulaciones.

II. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Establecer los lineamientos generales para la presentación de estudios de eficacia de producto terminado, de productos desinfectantes y sanitizantes de uso sanitario y doméstico, en el proceso de obtención del registro sanitario o sus modificaciones.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estandarizar los requerimientos generales y específicos para los ensayos de eficacia de los productos desinfectantes y sanitizantes.
- Armonizar conceptos y criterios fundamentales relacionados con la presentación de los estudios o ensayos de eficacia de estos productos.

III. DEFINICIONES

Debido a la gran variedad de microorganismos a ser controlados, y a los diferentes ámbitos de aplicación de estos productos de acción antimicrobiana, serán las diferentes alusiones que se podrán usar en el etiquetado, por tanto, es importante definir la terminología básica para evaluar la eficacia de una sustancia:

Aerosol: Formulación contenida en un recipiente presurizado no rellenable, desde el cual es dispersada en forma de finas gotas por el efecto de un agente propelente, liberada por una válvula.

Alguicida: Sustancia, o mezcla de ellas, que elimina o reduce efectivamente el número de algas vivas en agua.

Alguistático/Algistático: Sustancia, o mezcla de ellas, que inhibe el crecimiento de algas en agua.

Antibacterial: Sustancia, o mezcla de ellas, que elimina o destruye bacterias en un ambiente inanimado.

Antiincrustante: Sustancia, o mezcla de ellas, que se usa para prevenir la incrustación biológica en estructuras u objetos inmersos en el agua.

AOAC: Sigla en inglés que significa "Association of Analytical Communities" y que en español significa "Asociación Científica Dedicada a la Excelencia Analítica".

ANVISA: Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria de Brasil.

ASTM: Sigla en inglés que significa "American Society for Testing Materials", y que en español significa "Sociedad Americana de Materiales y Métodos".

Bacteriostático: Sustancia, o mezcla de ellas, que inhibe el crecimiento de bacterias en un ambiente inanimado.

Biocida/Microbicida/Producto con acción antimicrobiana: Sustancia, o mezcla de ellas, que destruye un número de microorganismos vivos (virucida-virus, micobactericida-micobacterias, alguicida-algas, fungicida-hongos, limocida-microorganismos formadores de limo, entre otros) en un ambiente inanimado.

Biofilm (LIMO): Acumulación dinámica de microorganismos y bien organizada en el ambiente, inmovilizada en un sustrato y embebida en un polímero orgánico, al que se le conoce también como "glycocalix".

Concentrados Solubles: Esta denominación corresponde a las formulaciones líquidas en las que el activo puede ser disuelto en agua. Una vez preparadas, no requieren mezclado ni agitación adicional para conservar sus características.

Desinfectante de Uso Sanitario y Doméstico: Sustancia o mezcla de ellas, que no es de uso humano y

que por un proceso físico o químico mata, inactiva o inhibe irreversiblemente el crecimiento de microorganismos tales como: bacterias, virus, protozoos y otros, en ambientes inanimados (no necesariamente esporas bacterianas).

Desinfectante de un solo paso: Sustancia, o mezcla de ellas, que ha sido probada como efectiva sin presencia de suciedad visible y puede ser usada, por lo tanto, sin limpieza previa.

Desinfectante de dos pasos: Sustancia, o mezcla de ellas, que no ha sido probada como efectiva que en presencia de suciedad moderada y debe ser usada, por lo tanto, con limpieza previa.

Desodorizante: Sustancia o mezcla de ellas que previene o retarda la formación de olores eliminando a los microorganismos que los producen.

Envase Primario: corresponde al envase que está en contacto directo con el producto.

Envase Secundario: Corresponde al envase o embalaje que no está en contacto directo con el producto, pero protege al envase primario de averías o derrames accidentales.

EPA: siglas en inglés para definir a la “Environmental Protection Agency”, y que en español significa “Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos de América”.

Esterilizante: Sustancia, o mezcla de ellas, que destruye o elimina todas las formas de vida microbiana en ambientes inanimados, incluyendo todas las formas de bacterias vegetativas, esporas bacterianas y de hongos, virus, protozoos y algas.

Ensayos de eficacia biocida: Se refiere a todos los aspectos ensayados, relativos a la eficacia y utilidad de un producto desinfectante o sanitizante.

Fungicida: Sustancia, o mezcla de ellas, que destruye un número de hongos, incluyendo levaduras, y/o esporas fúngicas patógenas para el hombre y animales en un ambiente inanimado.

Fungistático: Sustancia, o mezcla de ellas, que inhibe el crecimiento de hongos.

Ingrediente Activo, Sustancia Activa o Principio Activo: Componente presente en la formulación que confiere la acción biológica esperada a un desinfectante o sanitizante y otorga la eficacia al producto según su propósito.

Instituto: Se refiere al Instituto de Salud Pública de Chile.

Líquido: es un estado de agregación de la materia en forma de fluido altamente incompresible lo que significa que su volumen, muy aproximadamente, constante en un rango grande de presión. Es el único estado con un volumen definido, pero no de forma fija.

Micobactericida: Sustancia, o mezcla de ellas, que destruye o inactiva irreversiblemente micobacterias

en un ambiente inanimado.

OECD: siglas en inglés para definir a la “Organisation for Economic Cooperation and Development” y que en español significan “Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico” (OCDE).

OMS: Organización Mundial de la Salud.

Preservante: Sustancia, o mezcla de ellas que inhibe el crecimiento de microorganismos capaces de causar el deterioro biológico de materiales.

Producto Terminado: Producto que ha sido sometido a todas las etapas de producción, presentado en su envase definitivo, rotulado y listo para ser distribuido y comercializado.

Producto a Granel: Producto que se encuentra en su formulación definitiva y no ha sido fraccionado y dispuesto aún en los envases definitivos, para su distribución y comercialización.

Sanitizante: Aquella sustancia, o mezcla de ellas, que disminuye la población bacteriana en un ambiente inanimado, en número significativo (**por ejemplo 3 log base 10**), pero no destruye la totalidad de los microorganismos a partir del recuento total inicial. Término muy usado en la higiene de alimentos.

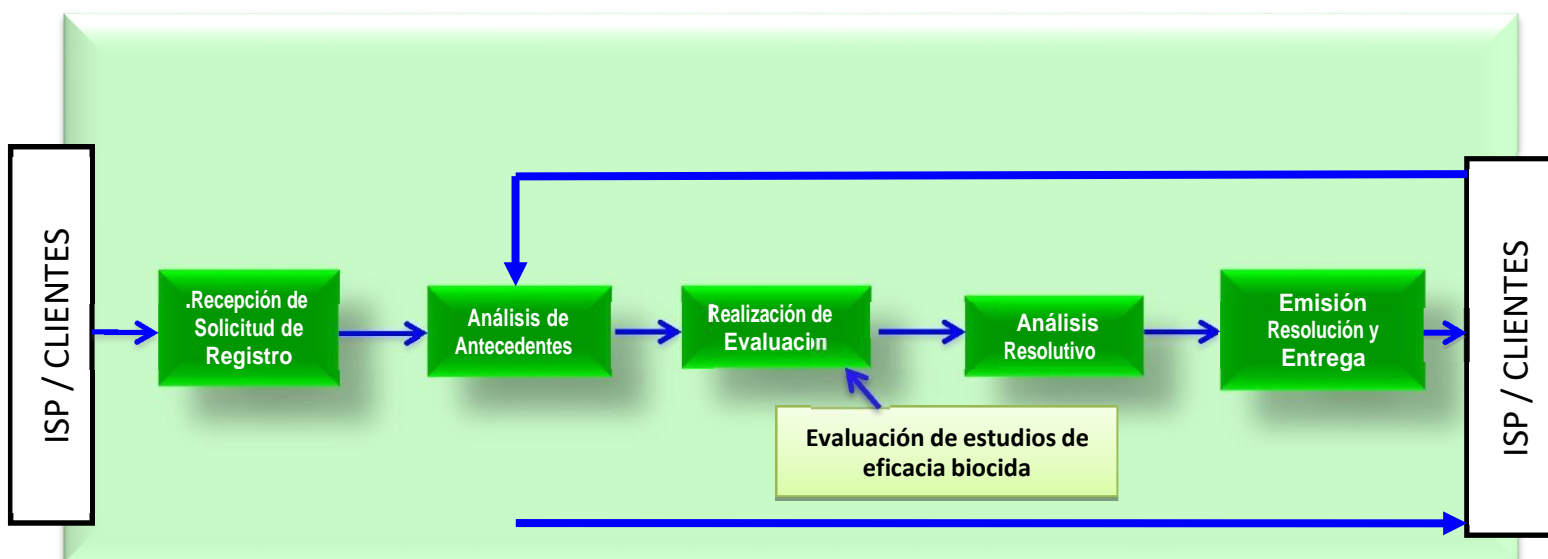
Solución: Una solución (o disolución) es una mezcla de dos o más componentes, perfectamente homogénea ya que cada componente se mezcla con el otro, de modo tal que pierden sus características individuales. Esto último significa que los constituyentes son indistinguibles y el conjunto se presenta en una sola fase bien definida.

Solución en Gel: Es una solución que tiene una viscosidad mayor a la del agua, la cual por su característica, permite un mayor tiempo de contacto.

UE (UNE): Unión Europea.

IV. DISPOSICIONES GENERALES

1. Se presentarán los ensayos de eficacia biocida siempre que:
 - Se presente una nueva solicitud de registro sanitario.
 - Se realice la actualización de la fórmula del producto registrado.
 - Se solicite la ampliación de microorganismos objetivo que el producto es capaz de eliminar.
 - Se solicite la renovación del registro y éste no tenga avalada la eficacia del producto correctamente.
2. Esta guía se aplica a los productos de fabricación nacional como a los importados terminados y a granel, pero en el caso de estos últimos, los estudios podrán provenir del país de origen.
3. Los estudios serán evaluados durante el proceso de registro, renovación o modificación de un registro sanitario, y según el resultado de esto, se aceptarán o no como válidos. La sola presentación de estos ensayos, no asegura la autorización solicitada.
4. El Instituto se reserva el derecho de solicitar, de acuerdo a las evaluaciones que se realizan caso a caso, los estudios de eficacia para propósitos particulares, o cuando se requieran antecedentes complementarios a los señalados más adelante.
5. Todos los productos deben ser ensayados en la dilución de uso, de acuerdo al ámbito de aplicación.
6. Dependiendo del ámbito de acción del producto con acción desinfectante o sanitizante, podrá ser necesario la presentación de ensayos de eficacia con diferentes microorganismos.



V. REQUISITOS GENERALES PARA LA PRESENTACIÓN DE ENSAYOS DE EFICACIA

1. Los ensayos de eficacia biocida (acción desinfectante o sanitizante) debieran ajustarse a las siguientes condiciones generales:

- A menos que se especifique de otra forma, los productos con acción antimicrobiana, debieran ser probados a la menor dilución en la cual son eficaces.
- En el caso de ciertas formulaciones como aerosoles presurizados, o toallitas húmedas, el producto debiera ser probado en el mismo envase de venta.
- Un desinfectante de un solo paso, o limpiador sanitizante, debiera ser probado en su eficacia a través de los métodos apropiados, que incluyan un mínimo de 5% de materia orgánica (suero sanguíneo, por ejemplo).
- El período de exposición, para un producto con acción antimicrobiana, debiera ser el mínimo posible. Una modificación en el período de exposición estará restringida por los ámbitos de aplicación y características del producto. Por ejemplo, no es posible recomendar un período de exposición mayor a 10 minutos, en el caso de un producto que se evaporará de la superficie tratada en menor tiempo. Si el producto aparece en las etiquetas o rótulos, con un tiempo menor de exposición que el especificado por el método de ensayo utilizado, estos datos deberán registrarse en el informe de resultados. Para productos líquidos que poseen ingredientes volátiles, el período de exposición debiera ser determinado por la prueba de la AOAC: “Productos Desinfectantes Germicidas en Spray” (Ver Ensayos en página 13).
- En los ensayos deberá mencionarse el recuento inicial de microorganismos cualquiera sea este, o control de número.
- Neutralización: La neutralización es el proceso para inactivar la actividad antimicrobiana durante la prueba de eficacia. Esto puede ser logrado a través de medios físicos (filtración, dilución, subcultivo), o químicos (adición de tiosulfato de sodio u otro químico al diluyente). Para cada ensayo de eficacia, debieran usarse procedimientos de neutralización, apenas se concluya el tiempo de contacto producto-muestra, con el fin de paralizar los efectos residuales de los activos. Si no se realiza neutralización, los resultados de eficacia de un producto, podrían ser sobrevalorados.
- Evaluación de la acción sanitizante: Los resultados en términos de recuento final viable deberán demostrar una reducción de al menos **99,9% (reducción de al menos 3 log₁₀)**, sobre un control paralelo no tratado, luego de realizar las correcciones pertinentes.

2. Datos que se deben informar:

Para facilitar la evaluación y poder evaluar apropiadamente el desempeño de un producto, en el proceso de registro, renovación o modificación, deben presentarse descripciones completas y ordenadas que contengan información exacta.

En términos generales, se requiere lo siguiente:

- Título del estudio.
- N° de protocolo (prueba).
- Identificación de la sustancia de prueba (producto) y descripción cuantitativa de la composición química (incluyendo el porcentaje del ingrediente activo).
- Identificación del laboratorio que realiza la prueba.
- Lugar donde se desarrolló el ensayo.
- Nombre y firma de los responsables del ensayo.
- Sistema de Gestión de calidad utilizado por el Laboratorio.
- Propósito del estudio.
- Fecha de inicio y término del estudio.
- Nombre del manufacturador.
- Número de muestras, N° de serie-N° lotes y réplicas ensayadas.
- Fecha de manufactura de cada lote.
- Ensayo utilizado y la información de cualquier modificación (por ej. uso de Agua dura, materia orgánica, otros) del método patrón (por.ej. AOAC, ASTM, CIPAC, etc.), así como las desviaciones a los métodos estándar.
- Microorganismos utilizados, incluyendo la identificación de las cepas específicas (ATCC u otro tipo de identificación que la haga trazable).
- Concentración o dilución del producto ensayado y como se preparó.
- Si el producto es diluido, el informe de análisis debiera especificar las cantidades e identificación de cada dilución.
- Identificación del procedimiento operativo utilizado (por ejemplo: medio de cultivo, neutralizante, N° inicial de recuento, etc.).
- Condiciones de exposición: tiempo de contacto, temperatura (°C), Humedad relativa.
- Resultados completos de los recuentos obtenidos de cada réplica.
- Cualquier control necesario para poder establecer la validez del ensayo.
- Título microbiano.
- Tratamiento estadístico de los datos.
- Conclusiones.
- Referencias.
- Anexos, incluyendo el diseño del estudio y todos los datos previos asociados al desarrollo del ensayo.
- Acuerdos de confidencialidad, si existieran.

VI. REQUERIMIENTOS ESPECIFICOS DE EFICACIA DE ACUERDO AL AMBITO DE ACCION

En estos casos debe utilizarse el biotipo específico contra el cual el producto estará dirigido y será señalado en la etiqueta.

- **Desinfectantes de uso general**

Para probar la eficacia de este tipo de productos debieran utilizarse al menos un microorganismo Gram (-) y un microorganismo Gram (+). Por ejemplo: *Salmonella cholerae suis* y *Staphylococcus aureus*. (Ver Método AOAC 960.09 v.2013 disponible en US-EPA).

- **Desinfectantes de uso hospitalario**

Debieran utilizarse microorganismos como: *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*. En casos específicos, microorganismos como *Clostridium difficile*.

- **Desinfectantes para hongos**

La actividad fungicida debiera probarse con *Trichophyton mentagrophytes*.

- **Desinfectantes con acción viricida**

En este caso debe utilizarse el virus específico contra el cual el producto estará dirigido y será señalado en la etiqueta. Por ejemplo: Virus Influenza A. El uso de Virus Hepatitis B de pato puede ser aceptable para avalar la eficacia del virus Hepatitis B de humanos. El Calicivirus felino es aceptable para avalar la eficacia de virus tipo Norwalk (Norovirus humano).

- **Desinfectantes con acción micobactericida**

La acción micobactericida o tuberculicida de un producto puede ser demostrada utilizando especies de *Mycobacterium*, usualmente se utiliza *Mycobacterium bovis*.

- **Desinfectantes con acción esporicida**

En este caso los microorganismos de referencia para las pruebas de eficacia son *Bacillus subtilis* y *Clostridium sporogenes*. En el caso de desinfectantes de uso hospitalario, la utilización de esporas de *Clostridium difficile* es aconsejable.

- **Desinfectantes de acción específica (industria alimentaria, uso pecuario, uso industrial, etc)**

En este caso pueden utilizarse los microorganismos para el ámbito de acción requerido. Por ejemplo: *Listeria monocitogenes*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Salmonella typhi*, *Klebsiella pneumoniae*, entre otros.

VII. ENSAYOS

Los siguientes son los ensayos que pueden ser utilizados para avalar la eficacia de un desinfectante o sanitizante, para controlar microorganismos, según el tipo de uso, con una acción general o específica.

1. Metodologías validadas, en el sitio web de la OECD:

Biocides Test Guidelines and Guidance Documents

<http://www.oecd.org/env/ehs/pesticides-biocides/biocidestestguidelinesandguidancedocuments.htm>

-Series on Testing and Assessment No. 187 and Series on Biocides No. 6:

Guidance Document on Quantitative Methods for evaluating the activity of Microbicides used on hard non-porous surfaces

Este método describe cuatro métodos cuantitativos para evaluación de eficacia: bactericida, micobactericida, fungicida y viricida.

-Series on Testing and Assessment No. 170 and Series on Biocides No. 4:

Guidance Document for Demonstrating Efficacy of Pool and Spa Disinfectants and Field Testing

Esta Guía describe como es posible demostrar criterios de eficacia de desinfectantes para piscinas y spas.

-Series on Testing and Assessment No. 202, series on Biocides No. 8:

Guidance Document for Quantitative Method for Evaluating Antibacterial Activity of Porous and Non-Porous Antibacterial Treated Materials

Este documento da una guía para medir el rendimiento mínimo de materiales porosos/no porosos, que han sido tratados con biocidas, con la intención de conferirle propiedades antibacteriales a estos materiales.

2. Metodologías validadas, de la AOAC:

Estas pueden adquirirse en el Sitio web respectivo o a través del Instituto Nacional de Normalización, INN.

-**AOAC: 960.09** Germicidal and Detergent Sanitizing Action of Disinfectants. In Official Methods of Analysis of AOAC International: Chapter 6 – Disinfectants. USA, Revised first action 2013.

Disponible adaptada sin costo, en el Sitio web de la US-EPA:

<https://www.epa.gov/sites/production/files/2014-12/documents/mb-27-01.pdf>

Se utiliza *Escherichia coli* ATCC 11229 y

Staphylococcus aureus ATCC 6538.

Esta metodología es apropiada para todo tipo de desinfectantes y sanitizantes.

-AOAC: 961.02 Germicidal Spray Products as Disinfectants. In: Official Methods of Analysis of AOAC International: Chapter 6 – Disinfectants. USA; Edición vigente 2012.

Esta metodología es apropiada para desinfectantes y sanitizantes en aerosol/spray.

-AOAC: 955.16 Chlorine (Available) in Disinfectants: Germicidal Equivalent Concentration. In Official Methods of Analysis of AOAC International: Chapter 6 – Disinfectants. USA; Edición vigente 2012.

Util para productos clorados, donde se evalúa la concentración germicida equivalente, comparándola con el cloro disponible.

-AOAC: 2008.05 Quantitative Three Step Method. In Official Methods of Analysis of AOAC International: Chapter 6 - Disinfectants. USA; Edición vigente 2012.

-AOAC: 955.14 Use Dilution Method: Testing Disinfectants Against Salmonella choleraesuis. In: Official Methods of Analysis of AOAC International: Chapter 6 – Disinfectants. USA; Edición vigente 2012.

-AOAC: 955.15 Use Dilution Method: Testing Disinfectants against Staphylococcus aureus. In: Official Methods of Analysis of AOAC International: Chapter 6 – Disinfectants. USA; Edición vigente 2012.

-AOAC: 955.17 Fungicidal Activity of Disinfectants. In Official Methods of Analysis of AOAC International: Chapter 6 – Disinfectants. USA; Edición vigente 2012.

-AOAC: 964.02 Use Dilution Method: Testing Disinfectants against Pseudomonas aeruginosa. In: Official Methods of Analysis of AOAC International: Chapter 6 – Disinfectants. USA; Edición vigente 2012.

-AOAC: 965.12 Tuberculocidal Activity of Disinfectants. In Official Methods of Analysis of AOAC International: Chapter 6 – Disinfectants. USA; Edición vigente 2012.

-AOAC: 966.04: Sporicidal Activity of Disinfectants. In Official Methods of Analysis of AOAC International: Chapter 6 – Disinfectants. USA; Edición vigente 2012.

3. Metodologías validadas, de la ASTM:

-ASTM: E1053 Method: Standard Test Method to Assess Virucidal Activity of Chemicals Intended for Disinfection of Inanimate, Nonporous Environmental Surfaces. In Annual Book of ASTM Standards. USA; Edición actual.

-ASTM: E1153 Method: Standard Test Method for Efficacy of Sanitizers Recommended for Inanimate Non-Food Contact Surfaces. In Annual Book of ASTM Standards. USA; Edición actual.

-ASTM: E2111 Standard Quantitative Carrier Test Method to Evaluate the Bactericidal, Fungicidal, Mycobactericidal and Sporocidal Potencies of Liquid Chemical Germicides. In Annual Book of ASTM Standards. USA, Edición actual.

-ASTM: E2197 Standard Quantitative Disk Carrier Test Method for Determining the Bactericidal, Virucidal, Fungicidal, Mycobactericidal and Sporocidal Activities of Liquid Chemical Germicides. In Annual Book of ASTM Standards. USA; Edición actual.

-ASTM: E2362 Standard Practice for Evaluation of Pre-Saturated or Impregnated Towelettes for Hard Surface Disinfection. In: Annual Book of ASTM Standards. USA; Edición actual.

-ASTM: E2839 Standard Test Method for Production of Clostridium difficile Spores for Use in Efficacy Evaluation of Antimicrobial Agents. In: Annual Book of ASTM Standards. USA; Edición actual.

-ASTM: E2895 Standard Test Method for Production of High Titers of Viable and Semi-Purified Spores of Clostridium difficile using a Liquid Medium. In: Annual Book of ASTM Standards. USA; Edición actual.

4. Metodologías validadas, de la US-EPA (Pueden ser bajadas gratuitamente del sitio web, ver bibliografía):

- MB-05-14** AOAC Use Dilution Method for Testing Disinfectants
- MB-06-08** Germicidal Spray Products as Disinfectants (GSPT): Testing of Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, and Salmonella enterica
- MB-07-08** Tuberculocidal Activity of Disinfectants: In Vitro Test for Determining Tuberculocidal Activity
- MB-09-06** Disinfectant Towelette Test: Testing of Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, and Salmonella enterica
- MB-10-05** Media and Reagents Preparation and Quality Evaluation
- MB-11-05** Neutralization Confirmation Assay for Disinfectant Products Tested against Mycobacterium bovis
- MB-15-03** Sporocidal Activity of Disinfectants Test (Bacillus x Porcelain component only)
- MB-16-02** Quantitative Suspension Test Method for Determining Tuberculocidal Efficacy of Disinfectants against Mycobacterium bovis (BCG)
- MB-17-03** Neutralization Confirmation Procedures for the AOAC Use-dilution method (UDM), the AOAC Germicidal Spray Products as Disinfectants Test (GSPT) and the Disinfectant Towelette Test (DTT)
- MB-21-02** Quantitative Three Step Method for Measuring the Efficacy of Liquid Sporicides against Spores of Bacillus subtilis on Hard Non-porous and Porous Surfaces
- MB-22-03** Disinfectant Product Preparation and Sampling Procedures
- MB-23-03** Disinfectant Towelette Test: Testing of Mycobacterium bovis (BCG)
- MB-24-03** Testing of Mycobacterium bovis (BCG) Using the Germicidal Spray Products as Disinfectants Test

- MB-26-01** Neutralization of Microbicidal Activity using the OECD Quantitative Method for Evaluating Bactericidal Activity of Microbicides Used on Hard, Non-Porous Surfaces
- MB-27-01** Germicidal and Detergent Sanitizing Action of Disinfectants Test
- MB-28-04** Production of Spores of Clostridium difficile for Use in the Efficacy Evaluation of Antimicrobial Agents
- MB-30-00** Preparation of hard water and other diluents for antimicrobial products
- MB-31-03** Quantitative Disk Carrier Test Method (QCT-2) Modified for Testing Antimicrobial Products Against Spores of Clostridium difficile (ATCC 43598) on Inanimate, Hard, Non-porous Surfaces
- MB-32-00** Quantitative Petri Plate Method (QPM) for Determining the Effectiveness of Antimicrobial Towelettes Against Spores of Clostridium difficile (ATCC 43598) on Inanimate, Hard Non-porous Surfaces
- MB-33-00** Quantitative Petri Plate Method (QPM) for Determining the Effectiveness of Antimicrobial Towelettes Against Vegetative Bacteria on Inanimate, Hard, Non-porous Surfaces.
- U.S. EPA (2000)**: United States Environmental Protection Agency. Initial Virucidal Effectiveness Test: Using Feline Calicivirus As Surrogate for Norovirus. Office of Pesticide Programs, Antimicrobials Division. USA; 2000.
- U.S. EPA (2000)**: United States Environmental Protection Agency. Protocol for Testing the Efficacy of Disinfectants Used to Inactivate Duck Hepatitis B Virus and to Support Corresponding Label Claims. Office of Pesticide Programs, Antimicrobials Division. USA;2000.
- U.S. EPA (2002)**: United States Environmental Protection Agency. Virucidal Effectiveness Test Using Bovine Viral Diarrhea Virus (BVDV) As Surrogates for Human Hepatitis C Virus. Office of Pesticide Programs, Antimicrobials Division. USA; 2002.
- U.S. EPA (2001)**: United States Environmental Protection Agency. Draft Interim Guidance for Non-Residual Sanitization of Hard Inanimate Food Contact Surfaces Using Pre-Saturated Towelettes. Office of Pesticide Programs, Antimicrobials Division. USA; 2001.
- U.S. EPA (2009)**: Quantitative Suspension Test Method for Determining Tuberculocidal Efficacy of Disinfectants Against Mycobacterium bovis (BCG): Standard Operating Procedure. Office of Pesticide Programs, Antimicrobials Division. USA; 2009.

5. Metodologías validadas, de la UE:

Los ensayos normalizados que utiliza la Unión Europea (UNE), pueden ser adquiridos en los respectivos organismos de normalización vía web, por ejemplo, AENOR (Asociación Española de Normalización), o AFNOR (Asociación Francesa de Normalización), o a través del Instituto Nacional de Normalización, INN.

UNE-EN 12353:2013

Antisépticos y desinfectantes químicos. Conservación de los organismos de ensayo utilizados para la determinación de la actividad bactericida (incluida la Legionella), micobactericida, esporicida, fungicida y virucida (incluidos bacteriófagos).

UNE-EN 13697:2002

Antisépticos y desinfectantes químicos. Ensayo cuantitativo de superficie no porosa para la evaluación de la actividad bactericida y/o fungicida de los desinfectantes químicos utilizados en productos alimenticios, en la industria, en el hogar y en colectividad. Método de ensayo sin acción mecánica y requisitos (fase 2/etapa 2).

UNE-EN 13697:2002 ERRATUM:2007

Antisépticos y desinfectantes químicos. Ensayo cuantitativo de superficie no porosa para la evaluación de la actividad bactericida y/o fungicida de los desinfectantes químicos utilizados en productos alimenticios, en la industria, en el hogar y en colectividad. Método de ensayo sin acción mecánica y requisitos (fase 2/etapa 2).

UNE-EN 16437:2014

Antisépticos y desinfectantes químicos. Ensayo cuantitativo de superficie para la evaluación de la actividad bactericida de los antisépticos y desinfectantes químicos utilizados en el área veterinaria en superficies porosas sin acción mecánica. Métodos de ensayo y requisitos (fase 2, etapa 2).

UNE-EN 1040:2006

Antisépticos y desinfectantes químicos. Ensayo cuantitativo de suspensión para la evaluación de la actividad bactericida básica de los antisépticos y desinfectantes químicos. Método de ensayo y requisitos (fase 1)

UNE-EN 13623:2011

Antisépticos y desinfectantes químicos. Ensayo cuantitativo de suspensión para la evaluación de la actividad bactericida contra la legionella de los desinfectantes químicos para los sistemas acuosos. Método de ensayo y requisitos (fase 2, etapa 1).

UNE-EN 1276:2010 ERRATUM:2011

Antisépticos y desinfectantes químicos. Ensayo cuantitativo de suspensión para la evaluación de la actividad bactericida de los antisépticos y desinfectantes químicos utilizados en el área alimentaria, industrial, doméstica e institucional. Método de ensayo y requisitos (fase 2, etapa 1).

UNE-EN 1656:2010

Antisépticos y desinfectantes químicos. Ensayo cuantitativo de suspensión para la evaluación de la actividad bactericida de los antisépticos y desinfectantes químicos utilizados en el área veterinaria. Método de ensayo y requisitos (fase 2, etapa 1).

UNE-EN 1276:2010

Antisépticos y desinfectantes químicos. Ensayo cuantitativo de suspensión para la evaluación de la actividad bactericida de los antisépticos y desinfectantes químicos utilizados en productos alimenticios, en la industria, en el hogar y en colectividad. Método de ensayo y requisitos (fase 2, etapa 1).

UNE-EN 14204:2013

Antisépticos y desinfectantes químicos. Ensayo cuantitativo de suspensión para la evaluación de la actividad micobactericida de los antisépticos y desinfectantes químicos utilizados en veterinaria. Método de ensayo y requisitos (fase 2, etapa 1).

VIII. BIBLIOGRAFÍA

1) Métodos y Procedimientos de Ensayo para Productos con acción antimicrobiana, desarrollados por el Laboratorio microbiológico de EPA, (interpretaciones estrictas de AOAC International y ASTM International standard methods).
Website:

<https://www.epa.gov/pesticide-analytical-methods/antimicrobial-testing-methods-procedures-developed-epas-microbiology>

- MB-05-14 AOAC Use Dilution Method for Testing Disinfectants
- MB-06-08 Germicidal Spray Products as Disinfectants (GSPT): Testing of Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, and Salmonella enterica
- MB-07-08 Tuberculocidal Activity of Disinfectants: In Vitro Test for Determining Tuberculocidal Activity
- MB-09-06 Disinfectant Towelette Test: Testing of Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, and Salmonella enterica
- MB-10-05 Media and Reagents Preparation and Quality Evaluation
- MB-11-05 Neutralization Confirmation Assay for Disinfectant Products Tested against Mycobacterium bovis (BCG)
- MB-13-04 Handling Spills of Biohazardous Materials
- MB-15-03 Sporicidal Activity of Disinfectants Test (Bacillus x Porcelain component only)
- MB-16-02 Quantitative Suspension Test Method for Determining Tuberculocidal Efficacy of Disinfectants against Mycobacterium bovis (BCG)
- MB-17-03 Neutralization Confirmation Procedures for the AOAC Use-dilution method (UDM), the AOAC Germicidal Spray Products as Disinfectants Test (GSPT) and the Disinfectant Towelette Test (DTT)
- MB-21-02 Quantitative Three Step Method for Measuring the Efficacy of Liquid Sporicides against Spores of Bacillus subtilis on Hard Non-porous and Porous Surfaces
- MB-22-03 Disinfectant Product Preparation and Sampling Procedures
- MB-23-03 Disinfectant Towelette Test: Testing of Mycobacterium bovis (BCG)
- MB-24-03 Testing of Mycobacterium bovis (BCG) Using the Germicidal Spray Products as Disinfectants Test
- MB-26-01 Neutralization of Microbicidal Activity using the OECD Quantitative Method for Evaluating Bactericidal Activity of Microbicides Used on Hard, Non-Porous Surfaces
- MB-27-01 Germicidal and Detergent Sanitizing Action of Disinfectants Test
- MB-28-04 Production of Spores of Clostridium difficile for Use in the Efficacy Evaluation of Antimicrobial Agents
- MB-30-00 Preparation of hard water and other diluents for antimicrobial products
- MB-31-03 Quantitative Disk Carrier Test Method (QCT-2) Modified for Testing Antimicrobial Products Against Spores of Clostridium difficile (ATCC 43598) on Inanimate, Hard, Non-porous Surfaces
- MB-32-00 Quantitative Petri Plate Method (QPM) for Determining the Effectiveness of Antimicrobial Towelettes Against Spores of Clostridium difficile (ATCC 43598) on Inanimate, Hard Non-porous Surfaces
- MB-33-00 Quantitative Petri Plate Method (QPM) for Determining the Effectiveness of Antimicrobial Towelettes Against Vegetative Bacteria on Inanimate, Hard, Non-porous Surfaces.

2) Rev Mex Patol Clin, Vol. 53, Núm. 2, pp 123-125. Abril - Junio, 2006

3) HEALTH CANADA. 2014. GUIDANCE DOCUMENT- Safety and efficacy requirements for hard surface disinfectant drugs.