

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE BACTERICIDA DA SUBSTÂNCIA TESTE, ÁLCOOL ESPUMA ANTISSEPTICO 70°- MÉTODO EN 1276 ÁLCOOL EXTRA NEUTRO

Relatório do teste

Identificação do teste no laboratório: SSM 165/23
Produto teste: ESPUMA HIGIENIZADORA PARA AS MÃOS SANTHER PROFESSIONAL
Cliente: SANTHER
Data início: 30/08/2023
Data da entrega: 01/09/2023
Lote: E - 9508
Fabricação : 13/04/2023
Validade : 13/04/2025
Responsável Técnico: Ananda Santos

RESUMO

A avaliação da atividade bactericida possui a finalidade de determinar a capacidade do ativo presente na substância teste na eliminação do sistema teste em questão, em uma diluição e tempo de contato determinado.

O procedimento baseia-se no preparo de uma mistura aquosa da substância teste com um inóculo previamente preparado do micro-organismo alvo em concentração conhecida, permanecendo durante o tempo de contato estabelecido e posteriormente uma alíquota é transferida para um tubo contendo caldo neutralizante, promovendo a neutralização do ativo seguindo a contagem microbiológica para determinação do número de celular sobreviventes e cálculo do log reducional.

No estudo realizado a substância teste, ESPUMA HIGIENIZADORA PARA AS MÃOS SANTHER PROFESSIONAL, foi possível determinar a redução de >5 Log (equivalentes a >99,999%) do sistema teste *Salmonella enterica subsp. enterica serovar choleraesuis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*, com presença da substância interferente em condições sujas, após o tempo de contato de 10 segundos, comprovando a eficácia bactericida da substância teste frente ao sistema teste avaliado nas condições experimentais estabelecidas no estudo.

OBJETIVO

Este estudo teve como objetivo avaliar a eficácia bactericida do ESPUMA HIGIENIZADORA PARA AS MÃOS SANTHER PROFESSIONAL através da técnica de avaliação quantitativa reducional da comunidade Europeia EN 1276, frente ao sistema teste *Salmonella enterica subsp. enterica serovar choleraesuis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*

Informações do Sistema Teste

Descrição: *Salmonella enterica subsp. enterica serovar choleraesuis*- *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*

ATCC: 10708 -6538- 10536- 15442

Meios de Cultura e Soluções

- Caldo CEN;
- ÁgarTryptic Soy (TSA);
- Água purificada estéril;
- Solução diluente.
- Substância interferente

Execução do ensaio

Foi adicionado 10 ml de solução diluente em um frasco contendo pérolas de vidro e então o crescimento obtido na manutenção do microrganismo foi transferido para o frasco que é agitado até obter completa dispersão do micro-organismo.

A mistura resultante foi transferida para um tubo e padronizada para a seguinte concentração.

TIPO	CONCENTRAÇÃO FINAL
Sistema teste	$1,5 \times 10^8$ - $5,0 \times 10^8$

A partir do sistema teste padronizado, foi preparado uma suspensão para os controles do teste, preparada da seguinte forma:

- 2,5 ml da diluição (10^5) do sistema teste padronizado;
- 7,5 ml da solução diluente.

TIPO	CONCENTRAÇÃO FINAL
Controles	$3,0 \times 10^2$ - $1,6 \times 10^3$

Contagem Microbiológica do Sistema Teste Padronizado (N) e (N_V)

Foi realizado diluição seriada do sistema teste padronizado, a fim de confirmar a obtenção de uma solução contendo a carga microbiológica apropriada para o teste, conforme a seguir:

TIPO	DILUIÇÃO SERIADA		TEMP.	TEMPO
N	10 ⁻⁶ e 10 ⁻⁷	TSA	36 ± 1°C	24 HORAS
N _V	10 ⁻¹	TSA	36 ± 1°C	24 HORAS

Preparo da substância teste

A indicação da substância teste é pronto uso, portanto não houve necessidade de preparação antes de submetê-la ao teste

Determinação de Atividade Bactericida (N_a)

Em um tubo foi adicionado 1,0 ml de substância interferente e 1,0 ml do sistema teste padronizado (N) suspensão teste, agitou-se, cronômetro foi acionado e mantido no banho com temperatura controlada durante 2 minutos.

Ao final do tempo, 2 ml da mistura foram transferidos para um tubo contendo 8 ml da substância preparada, o tubo agitado e mantido em banho maria com temperatura controlada durante o tempo de contato estabelecido.

Ao final do tempo de contato, o tubo foi agitado e transferido 1,0 ml da mistura para um tubo contendo 8,0 ml de caldo neutralizante e 1,0 ml de água purificada estéril e novamente agitado e mantido em banho com temperatura controlada durante 5 minutos para efetiva neutralização, em seguida foi realizada uma diluição seriada do caldo neutralizante e plaqueamento em duplicata nas condições estabelecidas a seguir.

TIPO	DILUIÇÃO SERIADA		TEMP.	TEMPO
N _a	10 ⁻¹ até 10 ⁻⁶	TSA	36 ± 1°C	24 HORAS

Controles

Controle das condições experimentais (A)

Misturou-se 1,0 mL de substância interferente e 1,0 mL do sistema teste padronizado (N_V), o tubo foi agitado, cronômetro acionado e então mantido em banho com temperatura controlada durante 2 minutos.

Ao final do tempo, 2 mL da mistura foram transferidos para um tubo contendo 8 mL da solução diluente da substância teste, o tubo foi agitado e mantido em banho com temperatura controlada durante o tempo de contato estabelecido. Após o término do tempo de contato, realizou-se plaqueamento em duplicata e incubação conforme a seguir:

TIPO	DILUIÇÃO SERIADA		TEMP.	TEMPO
A	10 ⁰	TSA	36 ± 1°C	24 HORAS

Controle do Neutralizante B

Misturou-se 1,0 mL do sistema padronizado N_V padronizado em um tubo contendo 1,0 mL de água purificada estéril e 8,0 mL de caldo neutralizante, o tubo foi agitado e cronômetro acionado e então mantido em banho com temperatura controlada durante 5 minutos.

Ao final do tempo de contato, realizou-se plaqueamento em duplicata e incubação conforme a seguir

TIPO	DILUIÇÃO SERIADA		TEMP.	TEMPO
B	10 ⁰	TSA	36 ± 1°C	24 HORAS

Controle do neutralizante C

Em um tubo seguir estéril contendo 8,0 mL da substância teste, adicionou-se 1,0 mL de substância interferente e 1,0 mL da solução diluente para o sistema teste, o tubo foi agitado e cronômetro acionado e mantido em banho com temperatura controlada durante 5 minutos para neutralização.

Ao final do tempo de neutralização, adicionou-se 1,0 mL do sistema teste padronizado (N_V), o tubo foi agitado e mantido no banho com temperatura controlada durante 30 minutos.

Ao final do tempo de contato, realizou-se plaqueamento em duplicata e incubação conforme a seguir.

TIPO	DILUIÇÃO SERIADA		TEMP.	TEMPO
C	10 ⁰	TSA	36 ± 1°C	24 HORAS

RESULTADOS

Microorganismos	Log
<i>Salmonella choleraesuis</i>	5,86
<i>Staphylococcus aureus</i>	5,29
<i>Escherichia coli</i>	5,54
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5,23

Critério de aceitação

A atividade bactericida é comprovada quando a substância teste demonstra a redução de ao menos 5 logs nas condições selecionadas, frente o sistema teste avaliado

CONCLUSÃO

Através dos resultados obtidos e discutidos, podemos concluir que a substância teste ESPUMA HIGIENIZADORA PARA AS MÃOS SANTHER PROFESSIONAL, foi considerada satisfatório para os microrganismos *Salmonella choleraesuis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*, pois apresentou a redução de carga microbiológica de (equivalente a >99,999%), na concentração pura em tempo de contato de 10 segundos, em condições sujas.

Responsável Técnico
Ananda Santos