

Bakterisidisen tehon tutkiminen (hygieeniseen ja kirurgiseen käsienpesuun ja desinfiointiin tarkoitetut aineet EN 12054 (faasi 2/vaihe 1)

MENETELMÄN KÄYTTÖALUEET:

Metodilla määritetään hygieeniseen käsienpesuun tai kirurgisen käsien desinfektioon tarkoitettavien tuotteiden bakterisidistä tehoa. Käsien pesutuotteiden kanssa pesussa käytetään vettä, kirurgisen desinfektio tuotteen kanssa ei. Metodi sopii kotitaloudessa, päiväkodeissa, koulussa, vanhustenhuollossa ja lääketieteessä käytettävien aineiden testaamiseen.

Määritelmät:

- hygieeninen käsiendesinfektio (handrub)** tarkoittaa ihon desinfektiota toimenpiteen jälkeen aineella pelkästään, tapahtumassa ei siis käytetä vettä. Tapahtumalla pyritään estämään iholla olevan mikrobiflooran siirtymistä edelleen.
- hygieeninen käsienpesu (handwash)** käsittää käsien pesemisen bakterisidisellä aineella veden läsnäollessa.
- kirurginen käsiendesinfektio (surgical handrub)** tarkoittaa ennen operaatiota tapahtuvaa käsidesinfektiota jossa ei käytetä vettä. Käsien mikrobiflooran siirtymistä leikkaushaavaan estetään.
- kirurginen käsienpesu (surgical handwash)** käsittää käsien pesemisen bakterisidisellä aineella veden läsnäollessa preoperatiivisesti. Käsien mikrobiflooran siirtymistä leikkaushaavaan estetään.

NÄYTE:

Käsidesinfektio- valmiste testattiin 0.2 ja 0.5% (V/V) laimennoksena, joka tehdään standardi kovaan veteen.

TESTIBAKTEERIKANNAT:

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 15442
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 6538
<i>Escherichia coli (K12)</i>	NCTC 10538
<i>Enterococcus hirae</i>	ATCC 8043

Stokista otetaan 1. puhdasviljelämä (pv), kasvatetaan ja tehdään toinen pv. Tätä toista pv:tä käytetään testissä

SUORITUS:

Bakteerikantojen valmistus

10 ml diluenttia laitetaan 100ml pulloon, jossa 5g lasihelmiä. Bakteerimaljalta otetaan silmukalla reilusti bakteeria. Suspendoidaan hyvin. Sekoitetaan pulloa 3 minuuttia. Neste pitetöidaan ja siirretään koeputkeen. Bakteerimäärä säädetään spektrofotometrisesti 1×10^8 - 3×10^8 cfu/ml diluenttia käyttäen laimennoksessa. Bakteerikäyttölaimennos vesihauteessa 20°C:ssa. Testisuspensiosta määritetään "viable count" tekemällä laimennokset 10^{-6} ja 10^{-7} . Laimennoksista otetaan 1ml duplikaattina TSA-maljoille ja inkuboidaan normaalisti ja lasketaan pesäkkeet. Lasketaan cfu/ml testisuspensiossa.

Neutralisaatiometodi

Ennen testin aloitusta kaikki reagenssit oltava huoneenlämpöisiä.

Hygieeninen käsienpesu ja -desinfektio:

Pipetoi 9 ml testattavaa ainetta koeputkeen. Sen jälkeen lisätään 1ml bakteerisuspensiota 1×10^8 - 3×10^8 cfu/ml. Inkuboidaan määrätty aika 1 min. Inkubaation loppuessa sekoita ja lisää edellistä testisuspensiota 1 ml putkeen, jossa on 8ml neutralisaatioainetta ja 1 ml vettä. Sekoita ja inkuboi 1 minuttia. Inkubaation jälkeen tee käsiendesinfektiotestiä varten laimennokset 10^{-1} ja viljele 1 ml duplikaattina TSA-maljoille ja kasvata normaalisti. Käsienpesutestiä varten toimitaan samoin, mutta viljelyt tehdään laimennoksista 10^{-2} ja 10^{-3}

KONTROLLIT/VALIDOINTI:

Bakteerisuspension tiheys säädetään 1×10^3 cfu/ml- 3×10^3 cfu/ml kuten edellä testibakteerisuspensiokin tehtiin. "viable count" määritetään tekemällä 10^{-1} laimennos, joka viljellään TSA-maljoille 1 ml duplikaattina. Inkuiboidaan ja lasketaan pesäkkeet.

Testattava aine käytetään sellaisenaan (käsiendesinfektio) tai 55% (käsienspesu) laimennoksena.

Kaikki aineet saatetaan taas huoneenlämpöön.

Pipetoidaan 9ml kovaa vettä koeputkeen. Lisätään 1ml bakteerisuspensiota.

Inkuboidaan 1min (hygieeninen käsienspesu) tai 5 min (kirurginen käsienspesu).

Viljellään duplikaattina 1ml maljoille ja inkuboidaan normaalisti. Lasketaan A.

Pipetoidaan 9 ml neutralisaatioainetta putkeen. Lisätään 1ml bakteerisuspensiota.

Inkuboidaan 1min (hygieeninen käsienspesu ja -desinfektio) tai 5 min (kirurginen käsienspesu ja desinfektio). Viljellään duplikaattina 1ml maljoille ja inkuboidaan normaalisti. Lasketaan B.

1 ml diluenttia koeputkeen ja 9ml testattavaa ainetta. Inkuboi 5 min ja siirrä 1ml 8ml:iin neutralisaatioainetta. Inkuboi 5 min. Lisää 1ml bakteerisuspensiota.

Inkuboi 1min (hygieeninen käsienspesu ja -desinfektio) tai 5 min (kirurginen käsiendesinfektio).. Sekoitetaan ja viljellään 1 ml duplikaattina maljoille kummastakin putkesta. Yli yön inkubaation jälkeen lasketaan C.

TULKINTA:

Hygieeninen käsiendesinfektio:

Testattavan aineen tulee vähentää bakteerien elollisuus 1×10^7 cfu/ml- 3×10^7 cfu/ml:sta vähintään 3×10^2 cfu/ml:iin yhdessä (1min) minuutissa. Jos valmistaja suosittelee lyhyempää vaikutusaikaa, valmisteella täytyy olla samanlainen teho myös tässä ajassa.

Hygieeninen käsienspesu:

Testattavan aineen tulee vähentää bakteerien elollisuus 1×10^7 cfu/ml- 3×10^7 cfu/ml:sta vähintään 3×10^4 cfu/ml:iin yhdessä (1min) minuutissa. Jos valmistaja suosittelee lyhyempää vaikutusaikaa, valmisteella täytyy olla samanlainen teho myös tässä ajassa.

Kirurginen käsiendesinfektio:

Testattavan aineen tulee vähentää bakteerien elollisuus 1×10^7 cfu/ml- 3×10^7 cfu/ml:sta vähintään 3×10^2 cfu/ml:iin viidessä (5min) minuutissa. Jos valmistaja suosittelee lyhyempää vaikutusaikaa, valmisteella täytyy olla samanlainen teho myös tässä ajassa.

Kirurginen käsienspesu:

Testattavan aineen tulee vähentää bakteerien elollisuus 1×10^7 cfu/ml- 3×10^7 cfu/ml:sta vähintään 3×10^4 cfu/ml:iin viidessä (5min) minuutissa. Jos valmistaja suosittelee lyhyempää vaikutusaikaa, valmisteella täytyy olla samanlainen teho myös tässä ajassa.

VIITTEET:

European standard EN 12054 : 2001

Testiraportti

European Standard EN 12054

Testi laboratorio: Mikrobiologian ja desinfektio tutkimuksen laboratorio,
Kansanterveystieteenlaitos, Helsingin yliopisto

Tuotteen nimi: IDS

Tuotenumero:

Valmistaja: Soft Protector Oy

Saapumispäivä: tammikuu 2005

Säilytys: Huoneen lämpö

Testi metodi ja validointi: Laimennos-neutralisaatio metodi
Polysorbate 80+lecithin neutralizer

Testin suoritus pvm: viikko 3 2005

Valmisteen testi konsentraatiot: 0.2 ja 0.5% (V/V) laimennos
standardi kova vesi

Testi lämpötila: $20^{\circ} \pm 1 \text{ C}$

Vaikutusaika: 1 min

Inkubaatio lämpötila: $37^{\circ} \pm 1 \text{ C}$

Tulokset:

Testi mikrobitt	<u>viable</u>	<u>counts</u>	<u>cfu/ml</u>
	Bakteeritesti-suspensio	IDS 0.2%	IDS 0.5%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8.6×10^7	$<1.5 \times 10^2$	$<1.5 \times 10^2$
<i>Staphylococcus aureus</i>	1.32×10^8	$<1.5 \times 10^2$	$<1.5 \times 10^2$
<i>Enterococcus hirae</i>	1.9×10^8	$<1.5 \times 10^2$	$<1.5 \times 10^2$
<i>Escherichia coli</i>	1.24×10^8	$<1.5 \times 10^2$	$<1.5 \times 10^2$

Tulkinta:

Standardin EN 12054 (July 2001) mukaan valmisteella on hyvä bakteriostaattinen teho tutkittuja mikrobeja vastaan (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Escherichia coli* ATCC 10538 ja *Enterococcus hirae* ATCC 8043) kontaktiajassa 1 ja 5 minuuttia molemmilla käyttölaimeilla.

Helsinki 24.1.2005

Kirsi Laitinen, FT, mikrobiologi