

**VALORACIÓN DE ACTIVIDAD BACTERICIDA PARA FROTADO DE MANOS
HIGIÉNICO SEGÚN UNE EN 13727:2012+A2:2015**

INFORME DE ENSAYO N°200034071* (Hoja 1 de 2)

a) Identificación del Laboratorio de ensayo	“Control Microbiológico Bilacon, S.L.U.”
b) Cliente	PULCRO Higiene Profesional Iberica, S.L.U.
C) Identificación de la muestra	
- Nombre del producto	CLEAN HAND_v2
- Número de lote	0000
- Fecha de caducidad	No indicado
- Fabricante	PULCRO Higiene Profesional Iberica, S.L.U.
- Fecha de entrega	11/05/2020
- Condiciones de almacenamiento	No indicado
- Sustancia(s) activa(s) y su(s) concentración(es) (dato facilitado por el cliente)	- Etanol: 66% V - Cloruro de didecil dimetil amonio: 0.2% P
- Aspecto del producto	Gel de color azul
d) Método del ensayo y su validación	
- Método	Dilución – neutralización
- Técnica	Vertido en placa
- Neutralizador	Lecitina (3g/l); Tween 80 (30ml/l); Tiosulfato sódico (5g/l); L-histidina (1g/l); En tampón fosfato 0,0025N
e) Condiciones experimentales	
- Periodo del análisis	Del 29/05/2020 al 31/05/2020
- Diluyente del producto utilizado durante el ensayo	Agua destilada estéril
- Concentraciones de ensayo del producto	10%; 5%; 2,5%
- Sustancia interferente	Solución acuosa de albúmina bovina 0,3g/l
- Estabilidad y aspecto de las mezclas durante el procedimiento	Ausencia de precipitado durante el ensayo
- Temperatura del ensayo	20°C ± 1°C
- Tiempos de contacto	30 segundos
- Temperatura de incubación	37± 1°C
- Identificación de las cepas del ensayo	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> CECT 116 <i>Escherichia coli</i> K12 CECT 433 <i>Staphylococcus aureus</i> CECT 239 <i>Enterococcus hirae</i> CECT 4081
f) Resultados del ensayo (véase la tabla A.1)	
g) Observaciones especiales sobre los resultados	
<ul style="list-style-type: none"> - Todos los controles y la validación se hallaron dentro de sus límites básicos. - Al menos una concentración del producto demostró una reducción logarítmica inferior a 5 lg. - No se formó ningún precipitado durante el procedimiento de ensayo (las mezclas de ensayo fueron homogéneas). 	
h) Conclusión	
<p>La muestra analizada del producto “CLEAN HAND_v2”, cuando está diluido al 5% en agua destilada estéril, presenta actividad bactericida para frotado de manos higiénico basada en la Norma UNE EN 13727:2012+A2:2015, en condiciones limpias (solución acuosa de albúmina bovina 0,3g/l) a 20°C, durante 30 segundos de contacto para las cepas de referencia <i>Pseudomonas aeruginosa</i>, <i>Escherichia coli</i> K12, <i>Staphylococcus aureus</i>, and <i>Enterococcus hirae</i>.</p>	

VALORACIÓN DE ACTIVIDAD BACTERICIDA PARA FROTADO DE MANOS HIGIÉNICO SEGÚN UNE EN 13727:2012+A2:2015
INFORME DE ENSAYO N°200034071 (Hoja 2 de 2)

Tabla A.1
Resultados del ensayo

Organismos del ensayo	Suspensión de validación				Ensayo de validación						Suspensión de ensayo			Procedimiento de ensayo a la concentración % (V/V)			
	N _v y N _{v0}		N _{vB}		Control de las condiciones experimentales (A)		Control del neutralizante (B)		Validación del método (C)					10	5	2,5	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> CECT 116	V _{c1}	V _{c2}	V _{c1}	V _{c2}	V _{c1}	V _{c2}	V _{c1}	V _{c2}	V _{c1}	V _{c2}		V _{c1}	V _{c2}		10 ⁰ : 0; 0	10 ⁰ : 12; 10	10 ⁰ : >330; >330
	55	55	48	45	49	52	44	46	46	47	10 ⁻⁶	>330	>330	N = 3,6x10 ⁸	10 ⁻¹ : 0; 0	10 ⁻¹ : 1; 1	10 ⁻¹ : 37; 39
	N _v = 5,5x10 ² N _{v0} = 55		N _{vB} = 4,6x10 ⁴		A = 50		B = 45		C = 46		10 ⁻⁷	38	35	Log N = 8,56	Na = <1,4x10 ²	Na = <1,4x10 ²	Na = 3,8x10 ³
<i>Escherichia Coli</i> K12 CECT 433	V _{c1}	V _{c2}	V _{c1}	V _{c2}	V _{c1}	V _{c2}	V _{c1}	V _{c2}	V _{c1}	V _{c2}		V _{c1}	V _{c2}		10 ⁰ : 0; 0	10 ⁰ : 0; 0	10 ⁰ : 0; 0
	39	37	42	38	32	39	41	36	32	35	10 ⁻⁶	>330	>330	N = 4x10 ⁸	10 ⁻¹ : 0; 0	10 ⁻¹ : 0; 0	10 ⁻¹ : 0; 0
	N _v = 3,8x10 ² N _{v0} = 38		N _{vB} = 4,0x10 ⁴		A = 36		B = 38		C = 34		10 ⁻⁷	38	41	Log N = 8,60	Na = <1,4x10 ²	Na = <1,4x10 ²	Na = <1,4x10 ²
<i>Staphylococcus aureus</i> CECT 239	V _{c1}	V _{c2}	V _{c1}	V _{c2}	V _{c1}	V _{c2}	V _{c1}	V _{c2}	V _{c1}	V _{c2}		V _{c1}	V _{c2}		10 ⁰ : 0; 0	10 ⁰ : 0; 0	10 ⁰ : 0; 0
	59	64	46	43	53	51	41	40	53	49	10 ⁻⁶	>330	>330	N = 3,5x10 ⁸	10 ⁻¹ : 0; 0	10 ⁻¹ : 0; 0	10 ⁻¹ : 0; 0
	N _v = 6,1x10 ² N _{v0} = 61		N _{vB} = 4,4x10 ⁴		A = 52		B = 40		C = 51		10 ⁻⁷	34	36	Log N = 8,54	Na = <1,4x10 ²	Na = <1,4x10 ²	Na = <1,4x10 ²
<i>Enterococcus hirae</i> CECT 4081	V _{c1}	V _{c2}	V _{c1}	V _{c2}	V _{c1}	V _{c2}	V _{c1}	V _{c2}	V _{c1}	V _{c2}		V _{c1}	V _{c2}		10 ⁰ : 0; 0	10 ⁰ : 0; 0	10 ⁰ : 0; 0
	36	42	34	37	32	33	31	34	36	35	10 ⁻⁶	>330	>330	N = 4x10 ⁸	10 ⁻¹ : 0; 0	10 ⁻¹ : 0; 0	10 ⁻¹ : 0; 0
	N _v = 3,9x10 ² N _{v0} = 39		N _{vB} = 3,6x10 ⁴		A = 32		B = 32		C = 36		10 ⁻⁷	41	40	Log N = 8,60	Na = <1,4x10 ²	Na = <1,4x10 ²	Na = <1,4x10 ²

V_c: recuentos obtenidos en placa.

N: número de células por ml en la suspensión de ensayo.

N₀: número de células por ml al inicio del tiempo de contacto.

N_v: número de células por ml en la suspensión de validación.

N_{v0}: número de células por ml en las mezclas A, B y C al inicio del tiempo de contacto.

N_{vB}: (método dilución) número de células por ml después de una dilución 1:100

Na: número de supervivientes por ml en la mezcla de ensayo al finalizar el tiempo de contacto.

A: número de supervivientes en el control de condiciones del experimento A.

B: número de supervivientes en el control de neutralizante o filtrado B.

C: número de supervivientes en la validación del método C.

Log R: reducción logarítmica.

VERIFICACIÓN DE LA METODOLOGÍA:

- N está comprendido entre 1,5 y 5x10⁸ (8,17 ≤ log N ≤ 8,70).
N (método modificado) está comprendido entre 1,5 y 5x10⁹ (9,17 ≤ log N ≤ 9,70).
N₀ está comprendido entre 1,5 y 5x10⁷ (7,17 ≤ log N ≤ 7,70).
- N_{v0} está comprendido entre 30 y 160.
N_v está comprendido entre 3x10² y 1,6x10³.
N_v (método modificado) está comprendido entre 3x10³ y 1,6x10⁴.
N_{vB} está comprendido entre 3x10⁴ y 1,6x10⁵.
- A, B y C son iguales o superiores 0,5x N_{v0}.
B (dilución-neutralización) es igual o mayor que 0,5x N_{vB}.
- Para los resultados calculados por medias ponderadas de dos diluciones subsiguientes, el cociente de la media de los 2 resultados está entre 5 y 15.