DIRECTION ENVIRONNEMENT

ÉVALUATION DE L'EFFICACITÉ GERMICIDE D'UN ASSAINISSEUR À MAINS

Dossier CRIQ n° 640-PX33959

Rapport technique

Monsieur Fadi Dagher
ATOMES F.D. INC.
6065, boulevard Thimens
Ville Saint-Laurent (Québec) H4S 1V8

MICHEL COMEAU, TECHNICIEN R-D
RESPONSABLE DE PROJET
DIRECTION ENVIRONNEMENT

MARIE-JOSÉE HARDY, MICROBIOLOGISTE
CHEF DE GROUPE
DIRECTION ENVIRONNEMENT

SAINTE-FOY, LE 27 AOÛT 2004

Centre de recherche industrielle Québec

TABLE DES MATIÈRES

PAGE

1. INTRODUCTION 1

2. OBJECTIF DU PROJET 1

3. DESCRIPTION DES TRAVAUX 2

3.1 CONDITIONNEMENT DES SOUCHES 2
3.2 ÉVALUATION DE L'EFFICACITÉ GERMICIDE 2

4. RÉSULTATS OBTENUS 4

5. CONCLUSION 5

LISTE DES TABLEAUX

PAGE

TABLEAU I : CONDITIONS DE REPIQUAGE ET DE CULTURE 2

TABLEAU II : CONDITIONS D'INCUBATION 3

TABLEAU III : RÉSULTATS DU PREMIER ESSAI 4

TABLEAU IV : RÉSULTATS DU DEUXIÈME ESSAI 4

TABLEAU V : EFFICACITÉ GERMICIDE 5

1. INTRODUCTION

ATOMES F.D. INC. est le manufacturier de l'assainisseur à mains ANTI-MICROBE (DIN 02248351). Ce produit est approuvé par Santé Canada ainsi que par l'Agence canadienne d'inspection des aliments (ACIA).

L'ingrédient actif de ce produit est le chlorure de benzalkonium à une concentration de 0,3 %. Afin de pouvoir pénétrer certains marchés, **ATOMES F.D. INC.** doit pouvoir démontrer l'efficacité germicide de son assainisseur à mains envers certains micro-organismes.

2. OBJECTIF DU PROJET

L'objectif de ce projet était de déterminer l'efficacité germicide de l'assainisseur à mains ANTI-MICROBE (DIN 02248351) sur trois (3) souches de bactéries soient :

- *Clostridium difficile* (ATCC 9689);
- *Staphylococcus aureus* Méthicilline résistant (ATCC 33591);
- *Streptococcus faecalis* Vancomycine résistant (ATCC 51299).

L'efficacité germicide a donc été évaluée individuellement sur chacune des souches bactériennes à des temps de contact de 0, 15 et 30 secondes avec le produit assainisseur. De plus, les essais devaient être effectués en triplicata pour chaque temps de contact. Finalement, chacune des souches a été testée deux (2) fois.

3. DESCRIPTION DES TRAVAUX

3.1 CONDITIONNEMENT DES SOUCHES

La viabilité des souches a d'abord été examinée avant d'entreprendre les travaux. À leur réception au laboratoire, chaque souche a été repiquée et incubée sur un milieu approprié. Les conditions de repiquage et d'incubation apparaissent au tableau I.

TABLEAU I : CONDITIONS DE REPIQUAGE ET DE CULTURE

Souche	Milieu de culture	T° d'incubation (°C)	Condition
Clostridium difficile (ATCC 9689)	Reinforced clostridial medium	37	Anaérobie
Staphylococcus aureus Méthicilline résistant (ATCC 33591)	Nutrient agar	37	Aérobie
Streptococcus faecalis Vancomycine résistant (ATCC 51299)	Brain-heart infusion agar	35	Aérobie

Une fois la viabilité de chacune des souches établies, leurs caractéristiques morphologiques ont été validées par une coloration Gram et un examen microscopique. Finalement, elles ont ensuite été repiquées une seconde fois avant de procéder au test proprement dit.

3.2 ÉVALUATION DE L'EFFICACITÉ GERMICIDE

À partir du dernier repiquage, une suspension de chaque micro-organisme a été préparée dans de l'eau peptonée à 0,1 % pour obtenir une concentration d'environ 10^8 unités formatrices de colonies (UFC)/ml. Cette suspension a ensuite été diluée pour obtenir une concentration d'environ 10^6 UFC/ml.

Puisqu'il avait préalablement été établi par le client que l'efficacité germicide devrait être évaluée sur une population d'environ 10^5 UFC, et pour s'assurer que l'ingrédient actif de l'assainisseur ne subisse pas d'effet de dilution, 0,1 ml de la suspension 10^6 UFC/ml est mis en contact avec dix (10) ml d'assainisseur, pour une concentration finale d'environ 10^4 UFC/ml (10^5 UFC au total dans les 10 ml).

Après des temps de contact de 15 et de 30 secondes, un (1) et dix (10) ml de chaque mélange sont filtrés sur une membrane filtrante quadrillée hydrophobe (MFQH) de type Iso-Grid et chaque membrane est déposée dans un plat de pétri contenant la gélose appropriée à la souche sous examen comme l'indique le tableau II. La filtration sur membrane contribue ainsi à éliminer l'effet potentiellement inhibiteur que l'ingrédient actif pourrait avoir si on avait opté pour une technique de type « pour plate ». Les plats ont ensuite été incubés pendant soixante-douze (72) heures. Après la période d'incubation, chaque plat a été observé et le dénombrement réalisé.

TABLEAU II : CONDITIONS D'INCUBATION

Souche	Milieu de culture	T° d'incubation (°C)	Condition
Clostridium difficile (ATCC 9689)	Reinforced clostridial medium	37	Anaérobie
Staphylococcus aureus Méthicilline résistant (ATCC 33591)	Plate count agar	37	Aérobie
Streptococcus faecalis Vancomycine résistant (ATCC 51299)	Brain-heart infusion agar	35	Aérobie

Pour évaluer le temps T=0, 0,1 ml de suspension bactérienne a été mélangé à dix (10) ml d'eau peptonée et le mélange obtenu a été traité tel que décrit au paragraphe précédent.

Pour chaque souche et chaque temps de contact, les essais ont été réalisés à deux (2) reprises et effectués en triplicata.

4. RÉSULTATS OBTENUS

Les résultats des dénombrements apparaissent aux tableaux suivants.

TABLEAU III : RÉSULTATS DU 1ER ESSAI

SOUCHE	DÉNOMBREMENT (UFC/10 ml)											
	T=0				T=15 secondes				T=30 secondes			
	1	2	3	Moy.	1	2	3	Moy.	1	2	3	Moy.
Clostridium difficile (ATCC 9689)	$8,3x10^4$	$3,0x10^4$	$1,1x10^5$	$7,4x10^4$	20	35	55	37	20	40	20	27
Staphylococcus aureus Méthicilline résistant (ATCC 33591)	$8,6x10^5$	$9,4x10^5$	$1,5x10^6$	$1,1x10^6$	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
Streptococcus faecalis Vancomycine résistant (ATCC 51299)	$9,3x10^5$	$9,6x10^5$	$1,1x10^6$	$1,0x10^6$	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1

TABLEAU IV : RÉSULTATS DU 2E ESSAI

SOUCHE	DÉNOMBREMENT (UFC/10 ml)											
	T=0				T=15 secondes				T=30 secondes			
	1	2	3	Moy.	1	2	3	Moy.	1	2	3	Moy.
Clostridium difficile (ATCC 9689)	$1,5 x10^4$	$2,0x10^4$	$2,0x10^4$	$1,8x10^4$	15	20	15	17	10	30	15	18
Staphylococcus aureus Méthicilline résistant (ATCC 33591)	$8,6x10^5$	$1,4x10^6$	$1,5x10^6$	$1,3x10^6$	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
Streptococcus faecalis Vancomycine résistant (ATCC 51299)	$1,3x10^6$	$9,4x10^5$	$1,2x10^6$	$1,1x10^6$	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1

TABLEAU V : EFFICACITÉ GERMICIDE

SOUCHE	EFFICACITÉ (%)			
	T=15 secondes		T=30 secondes	
	1er essai	2e essai	1er essai	2e essai
Clostridium difficile (ATCC 9689)	>99,9	99,9	>99,9	99,9
Staphylococcus aureus Méthicilline résistant (ATCC 33591)	>99,9	>99,9	>99,9	>99,9
Streptococcus faecalis Vancomycine résistant (ATCC 51299)	>99,9	>99,9	>99,9	>99,9

5. CONCLUSION

L'assainisseur à mains ANTI-MICROBE (DIN 02248351), lorsque soumis aux conditions expérimentales décrites dans ce rapport, démontre une efficacité germicide :

- supérieure ou égale à 99,9 % contre *Clostridium difficile* (ATCC 9689) en 15 secondes;
- supérieure à 99,9 % contre *Staphylococcus aureus* Méthicilline résistant (ATCC 33591) en 15 secondes;
- supérieure à 99,9 % contre *Streptococcus faecalis* Vancomycine résistant (ATCC 51299) en 15 secondes.