

Primeira edição
15.09.2008

Válida a partir de
15.10.2008

Nãotecido para artigo de uso odonto-médico-hospitalar — Determinação da resistência à penetração bacteriológica a úmido

Nonwoven – Determination of resistance to wet bacterial penetration



Palavra-chave: nãotecido.
Descriptor: *nonwoven*.

ICS 59.080.30

ISBN 978-85-07-00992-4



© ABNT 2008

Todos os direitos reservados. A menos que especificado de outro modo, nenhuma parte desta publicação pode ser reproduzida ou utilizada por qualquer meio, eletrônico ou mecânico, incluindo fotocópia e microfilme, sem permissão por escrito pela ABNT.

ABNT

Av. Treze de Maio, 13 - 28º andar

20031-901 - Rio de Janeiro - RJ

Tel.: + 55 21 3974-2300

Fax: + 55 21 2220-1762

abnt@abnt.org.br

www.abnt.org.br

Impresso no Brasil

Sumário

Página

Prefácio	iv
1 Escopo	1
2 Referências normativas	1
3 Termos e definições	1
4 Princípio	2
5 Reagentes e materiais	2
6 Aparelhagem	3
7 Preparação dos reagentes e materiais	3
7.1 Placas com ágar	3
7.2 Material carregador	4
7.3 Suspensão de <i>Staphylococcus aureus</i>	4
7.4 Contaminação do material carregador	4
8 Preparação e preservação dos corpos-de-prova	4
9 Procedimento	5
10 Expressão dos resultados	6
11 Relatório de ensaio	6
12 Calibração com material de referência	7
Anexo A (normativo) Figuras	8
Anexo B (normativo) Meio nutriente	11
B.1 Ágar TSA (Tryptic Soy Ágar)	11
B.2 Caldo TSB (Tryptic Soy broth)	11
B.3 Peptona líquida	11

Prefácio

A Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) é o Foro Nacional de Normalização. As Normas Brasileiras, cujo conteúdo é de responsabilidade dos Comitês Brasileiros (ABNT/CB), dos Organismos de Normalização Setorial (ABNT/ONS) e das Comissões de Estudo Especiais (ABNT/CEE), são elaboradas por Comissões de Estudo (CE), formadas por representantes dos setores envolvidos, delas fazendo parte: produtores, consumidores e neutros (universidade, laboratório e outros).

Os Documentos Técnicos ABNT são elaborados conforme as regras das Diretivas ABNT, Parte 2.

A Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) chama atenção para a possibilidade de que alguns dos elementos deste documento podem ser objeto de direito de patente. A ABNT não deve ser considerada responsável pela identificação de quaisquer direitos de patentes.

A ABNT NBR 15622 foi elaborada no Comitê Brasileiro de Têxteis e Vestuário (ABNT/CB-17), pela Comissão de Estudo de Artigo de Não-tecido para uso Odonto-médico-hospitalar (CE-17:400.02). O Projeto circulou em Consulta Nacional conforme Edital nº 06, de 27.05.2008 a 25.07.2008, com o número de Projeto 17:400.02-013.

Esta Norma é baseada na WSP 302.0 (05).

O escopo desta Norma em inglês é o seguinte.

Scope

This Standard specifies a method for Determination of resistance to wet bacterial penetration in nonwovens used in surgical vestments and correlates.

Nãotecido para artigo de uso odonto-médico-hospitalar — Determinação da resistência à penetração bacteriológica a úmido

1 Escopo

Esta Norma especifica um método para determinação da resistência à penetração bacteriológica a úmido em nãotecidos usados em paramentação cirúrgica e correlatos.

2 Referências normativas

Os documentos relacionados a seguir são indispensáveis à aplicação deste Documento Técnico ABNT. Para referências datadas, aplicam-se somente as edições citadas. Para referências não datadas, aplicam-se as edições mais recentes do referido documento (incluindo emendas).

ABNT NBR 13908:1997, *Nãotecido – Preparação de corpos-de-prova para ensaios laboratoriais*

ABNT NBR 14795:2002, *Nãotecidos – Plano de amostragem – Procedimento*

ABNT NBR 14990-1:2004, *Sistemas e materiais de embalagem para esterilização de produtos para saúde*

ABNT NBR ISO 139, *Têxteis – Atmosferas – Padrão para condicionamento e ensaio*

3 Termos e definições

Para os efeitos deste documento, aplicam-se os seguintes termos e definições:

3.1

corpo-de-prova

amostra do material de cobertura cuja resistência à penetração bacteriológica será determinada

3.2

material de cobertura

material utilizado para cobrir o paciente, equipamento e certas superfícies, por exemplo campos cirúrgicos, para prevenir que bactérias da pele do paciente e/ou bactérias de outras superfícies não estéreis alcancem a incisão cirúrgica

3.3

material doador

material que será contaminado com um número conhecido de células viáveis da linhagem *Staphylococcus aureus* ATCC 29213

3.4

material carregador

material utilizado para preparar o doador

3.5

placas com agar

placas de Petri contendo um meio de ágar nutriente estéril (ver Anexo B)

3.6

placas de Petri

recipiente utilizado para se colocar meio de cultura com ágar

3.7

ponteira

parte do equipamento de ensaio utilizada para fazer com que o doador e o não tecido entrem em contato com um ponto da superfície de ágar na placa

4 Princípio

4.1 Um corpo-de-prova é colocado na placa com ágar, e esta no disco giratório. Sobre o corpo-de-prova são colocados o material doador estéril e o filme de polietileno de alta densidade de 10 μ m, ambos com tamanho correspondente ao do material a ser ensaiado, e fixa-se o conjunto com um anel duplo de aço. Através da ponteira resistente à abrasão, aplica-se uma força específica ao material doador estéril e ao corpo-de-prova, trazendo-o ao contato com a superfície de ágar. A força é aplicada ao material pelo giro de uma alavanca movimentada por um excêntrico, fazendo com que a ponteira mova-se por toda a superfície da placa durante 15 min. O conjunto de materiais está esticado devido ao peso do anel de aço, de modo que apenas uma pequena parte de cada vez do corpo-de-prova entre em contato com a superfície de ágar. Devido ao efeito combinado de fricção e migração do líquido, as bactérias podem atravessar o material doador estéril, atingir o corpo-de-prova e a superfície de ágar.

4.2 Após 15 min de ensaio a placa com ágar é trocada e o ensaio repetido. Este processo é repetido para as três placas restantes, sendo cada um com duração de 15 min. O ensaio é realizado com as cinco placas com ágar nutriente, mantendo-se o mesmo par (material doador e corpo-de-prova). Desta forma é possível estimar melhor a penetração com o passar do tempo.

4.3 Esta mesma técnica é aplicada para se determinar a contaminação bacteriana restante no lado principal do corpo-de-prova, e isto é realizado na placa de número 6 (4.6.11.).

4.4 As placas com ágar são então incubadas para a visualização das colônias de bactérias, que são então contadas.

4.5 Os resultados são processados de forma acumulada para caracterizar a capacidade de barreira do não tecido.

5 Reagentes e materiais

Os reagentes e meios de cultura necessários para a realização do ensaio são os seguintes:

- conjunto de seis placas de Petri com 14,0 cm de diâmetro, preenchidas com ágar nutriente (ver Anexo B);
- material carregador, cinco peças de 250 mm x 250 mm;
- filme de polietileno de alta densidade de 10 μ m, cinco peças de 250 mm x 250 mm;
- suspensão de *Staphylococcus aureus* ATCC 29213;
- material barreira de referência (ver Seção 6);
- pipetas;
- embalagens permeáveis ao agente esterilizante.

6 Aparelhagem

6.1 Equipamento de ensaio para determinação da penetração bacteriológica a úmido (ver Figuras A.1 e A.2).

6.2 O equipamento possui uma plataforma giratória, controlada eletronicamente por um cronômetro, com dimensão de 14,0 cm de diâmetro, adequada para colocação das placas com ágar. Uma alavanca horizontal com uma ponteira vertical é colocada sobre o eixo, permitindo que a ponteira tenha um movimento giratório (60 rpm) em diagonal, de ida e volta, do centro até a extremidade da placa com ágar. Um peso de 250 g pode ser deslocado ao longo da alavanca para ajustar a força aplicada pela ponteira nos materiais. A alavanca é guiada por um excêntrico que gira a 5,60 rpm. A ponteira semi-esférica polida, com raio de 11 mm, é removível e deve ser desinfetada a cada ensaio.

6.3 A força de 3 N exercida pela ponteira aos materiais pode ser medida, por exemplo, por um dinamômetro acoplado à alavanca, ou por uma balança colocada na plataforma giratória.

6.4 O corpo-de-prova entrará em contato com o ágar em um ponto por um certo período. E só entrará em contato com este ponto apenas uma vez durante os 15 min. Assegurar-se de que a ponteira mova-se sobre toda a superfície e que este procedimento seja regularmente monitorado, de acordo com a técnica descrita a seguir. A documentação resultante é um registro de qualidade e deve ser retida.

6.5 Preparar um conjunto, usando um anel de aço (ver Figuras A.3 e A.4), consistindo de uma folha em papel branco, uma folha de papel-carbono e uma folha de filme de polietileno de alta densidade de 10 . Colocar uma placa de Petri, com a boca para baixo, sobre a plataforma giratória, e a seguir o conjunto de materiais, conforme descrito em 4.6.3 e 4.6.4. Aplicar a força aos materiais durante 15 min. Extrair o pedaço de papel branco e assegurar-se de que a ponteira propiciou um contato plano padrão sobre toda a superfície da placa.

7 Preparação dos reagentes e materiais

7.1 Placas com ágar

7.1.1 As seis placas de Petri são preenchidas com ágar nutriente (ver Anexo B) até 3,0 mm ± 0,2 mm de suas bordas.

7.1.2 As placas com ágar devem ser preparadas no dia da execução do ensaio, ou podem ser preparadas antes e armazenadas em condição úmida, de modo que a perda de peso seja ≤ 0,2 % no momento de sua utilização.

7.1.3 As placas sem tampa devem ser secas por 20 min sobre uma bancada limpa.

7.1.4 Fluidos visíveis (condensados) não devem estar presentes sobre a superfície de ágar.

7.1.5 As placas de Petri podem ter alturas diferentes, pois tal medida não é padrão entre os diferentes fornecedores. Portanto, deve ser determinado o peso ou o volume de ágar que estabelece a altura a ser preenchida fornecida anteriormente.

7.1.6 São usados métodos volumétricos ou gravimétricos para verter o ágar nas placas de Petri.

7.1.7 Para monitorar a distância entre o ágar e a borda da placa de Petri colocar, por exemplo, uma lâmina no centro da superfície de ágar e uma régua de aço apoiada de uma borda até a outra da placa.

7.1.8 Determinar então a distância entre a régua e a lâmina, usando um medidor de arame ou mostrador (*dial indicator*).

7.1.9 Esta distância deve ser determinada para cada conjunto de placas e anotada no relatório de ensaio.

7.2 Material carregador

7.2.1 O material carregador é um filme permeável de polímero de poliuretano, de 30 de espessura, apoiado sobre papel.

7.2.2 Cortar cinco peças de 250 mm x 250 mm. Colocar cada peça entre folhas de papelão e então em embalagens permeáveis ao agente esterilizante.

7.2.3 Esterilizar por vapor.

7.3 Suspensão de *Staphylococcus aureus*

Cultivar o *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, de 18 h a 24 h a $(36 \pm 1)^\circ\text{C}$ em ágar TSA - *Tryptcase Soy Agar* (ver Anexo B). Suspende desta cultura duas a três colônias em 3 mL de TSB - *Tryptic Soy Broth* (ver Anexo B) e cultivar de 18 h a 24 h a $(36 \pm 1)^\circ\text{C}$. Diluir este caldo em peptona líquida (ver Anexo B) por diluição seriada 1:10 até a diluição 10^{-5} cfu/mL. Uma contagem viável dos passos de 1:10 diluições deve ser efetuada na suspensão final (ver Figura 1).

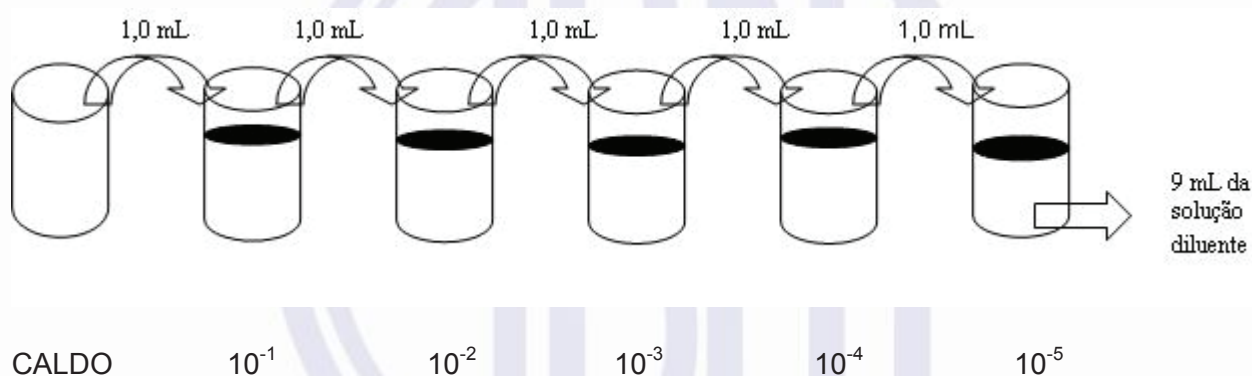


Figura 1 — Diluição seriada 1:10 até 10^{-5}

7.4 Contaminação do material carregador

7.4.1 Abrir as embalagens esterilizadas e retirar o material carregador. Remover o papelão e colocar o material carregador em uma bandeja limpa e, se for apropriado, com o lado permeável para cima. Caso esteja difícil aderir o filme à bandeja, utilizar fitas adesivas nos cantos. Marcar uma área equivalente a da tampa da placa com ágar no material carregador. Pipetar 1,0 mL da suspensão de *Staphylococcus aureus*, e distribuí-la uniformemente sobre a superfície do material carregador. Secar o material doador a 56°C por 20 min. Se necessário, facilitar a propagação da suspensão de *Staphylococcus aureus* durante a secagem, utilizando um espalhador de vidro desinfetado.

7.4.2 Usar o material doador no mesmo dia em que foi preparado.

8 Preparação e preservação dos corpos-de-prova

8.1 Dependendo dos objetivos de utilização dos resultados do ensaio, é determinado um pré-tratamento adequado para os corpos-de-prova.

8.2 Retirar uma amostra conforme ABNT NBR 14795.

8.3 Cortar cinco corpos-de-prova, conforme ABNT NBR 13908, de 250 mm x 250 mm, ou com diâmetro de 250 mm, do material de cobertura.

8.4 Condicionar os corpos-de-prova conforme ABNT NBR ISO 139.

8.5 Antes do ensaio, esterilizar e empacotar os corpos-de-prova, usando os mesmos métodos recomendados pelo fabricante para o produto final.

9 Procedimento

9.1 Ajustar o peso na alavanca para que a ponteira aplique uma força de 3 N à placa com ágar.

9.2 Colocar a placa nº 1 com ágar nutriente na plataforma giratória.

9.3 Para padronizar o estiramento dos materiais, usar a seguinte técnica. Utilizar um peso circular consistindo em um anel externo e um interno, pesando juntos (800 ± 1) g (ver Figuras A.1 e A.2).

9.4 Colocar o anel interno e um corpo cilíndrico, de aproximadamente 9 cm de diâmetro e 4 cm de altura, em seu centro, sobre uma superfície de trabalho plana estéril. Usar meios adequados, como fita adesiva dupla face no lado externo do anel, para aumentar a fixação. Colocar o corpo-de-prova no anel, e o material doador e o filme de polietileno sobre o corpo-de-prova. Então, empurrar firmemente o anel externo sobre o interno, de modo que os materiais fiquem presos com firmeza entre os dois anéis.

9.5 Levantar lentamente o conjunto com os materiais e colocá-lo na primeira placa com ágar, com o anel de aço livremente pendurado no lado de fora da plataforma giratória.

9.6 Aplicar a ponteira ao material doador de tal modo que o corpo-de-prova entre em contato com a superfície do ágar somente sob o contato da ponteira.

9.7 Iniciar o ensaio como descrito, aplicando uma força de 3 N por 15 min.

9.8 Imediatamente após o término do período de 15 min, remover o anel de aço com a combinação material doador + corpo-de-prova.

9.9 Remover da plataforma giratória a placa nº 1 e tampá-la. Colocar a placa nº 2 com ágar nutriente e o anel com os materiais na plataforma giratória.

9.10 Repetir o ensaio por quatro vezes com o mesmo conjunto de materiais.

9.11 Finalmente, retirar o material doador, virar o corpo-de-prova de cabeça para baixo, cobrir com o filme de polietileno de alta densidade e ensaiar a sexta placa durante 15 min.

9.12 Se houve acúmulo de líquido na superfície de ágar, secar as placas (1 a 6) em uma bancada limpa, tampá-las e incubá-las a (36 ± 1) °C durante 48 h.

9.13 Contar o número de colônias de *Staphylococcus aureus* em cada placa.

9.14 Ensaar os outros quatro corpos-de-prova conforme descrito. Para cada um dos cinco corpos-de-prova, utilizar um doador recentemente preparado.

10 Expressão dos resultados

Calcular a expectativa de penetração nas placas (EPP) usando a seguinte técnica:

$$T = Z + X1 + X2 + X3 + X4 + X5$$

$$CUM1 = X1/T$$

$$CUM2 = X2 + X1/T$$

$$CUM3 = X3 + X2 + X1/T$$

$$CUM4 = X4 + X3 + X2 + X1/T$$

$$CUM5 = X5 + X4 + X3 + X2 + X1/T$$

$$EPP = 6 - (CUM1 + CUM2 + CUM3 + CUM4 + CUM5)$$

Onde:

Z é a contagem da placa para o corpo-de-prova invertido;

X1, X2, X3, X4 e X5 são os números de colônias das cinco placas de cada um dos cinco corpos-de-prova ensaiados;

EPP é a expectativa de penetração na placa.

11 Relatório de ensaio

O relatório deve conter as seguintes informações:

- referência a esta Norma;
- referências à calibração, de acordo com 6.4;
- condições de ensaio, temperatura e umidade relativa de ar;
- distância entre a superfície do ágar e a borda da placa de Petri;
- identificação do material de cobertura;
- condicionamento das amostras;
- se houve algum pré-tratamento do corpo-de-prova;
- declaração de que o material doador está de acordo com 4.5;
- resultados das contagens de colônias das seis placas ensaiadas de cada um dos cinco corpos-de-prova;
- cotagem viável da suspensão de *Staphylococcus aureus* utilizada;
- cálculo da EPP, média e desvio-padrão dos cinco corpos-de-prova ensaiados;
- quaisquer desvios ocorridos durante a execução do ensaio.

12 Calibração com material de referência

12.1 O método de ensaio pode ser calibrado utilizando-se o material de referência combinado com o método de ensaio descrito nesta Norma.

12.2 O material de referência deve ser empacotado em uma embalagem para esterilização, que esteja conforme a ABNT NBR 14990-1, e esterilizado com vapor a 120 °C.

12.3 A EPP do material de referência deve estar situada na faixa de 3,5 a 4,0.



Anexo A (normativo)

Figuras

Dimensões em milímetros

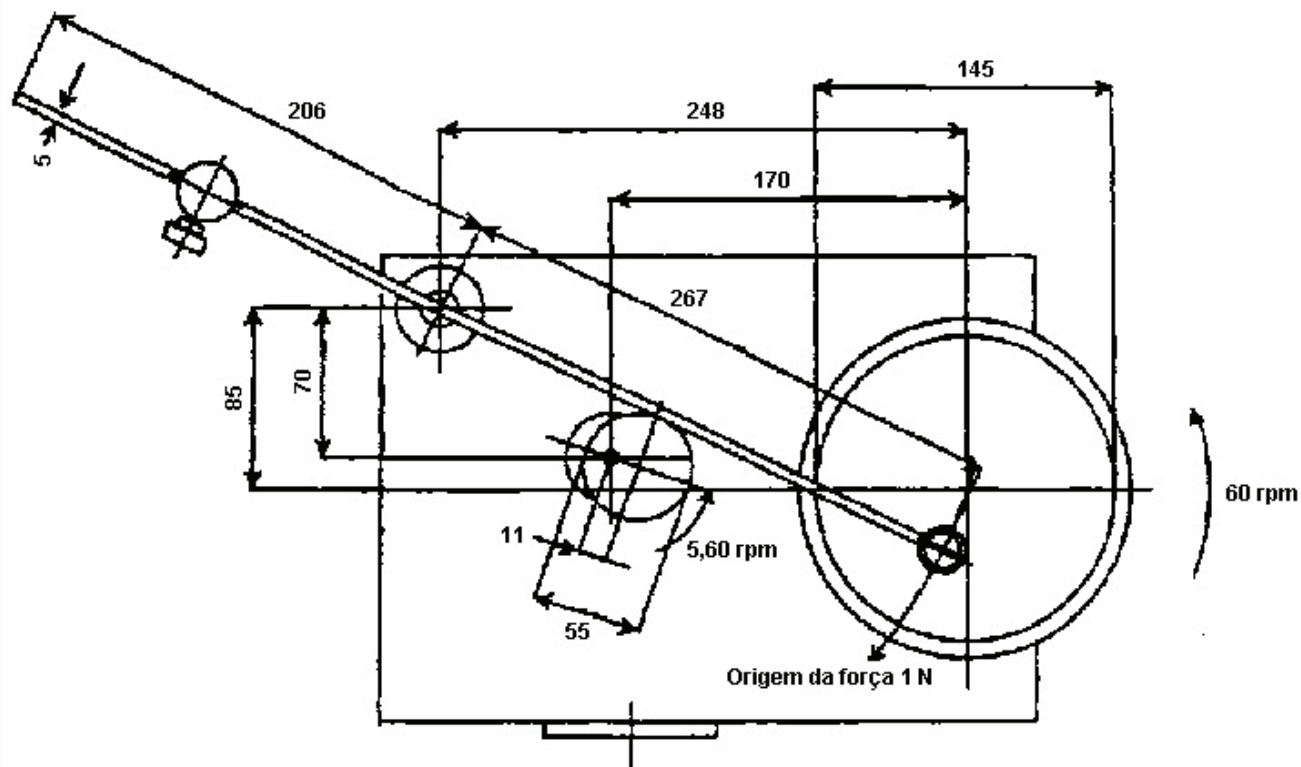


Figura A.1 — Vista da planta do equipamento de ensaio para determinação da penetração bacteriológica a úmido

Dimensões em milímetros

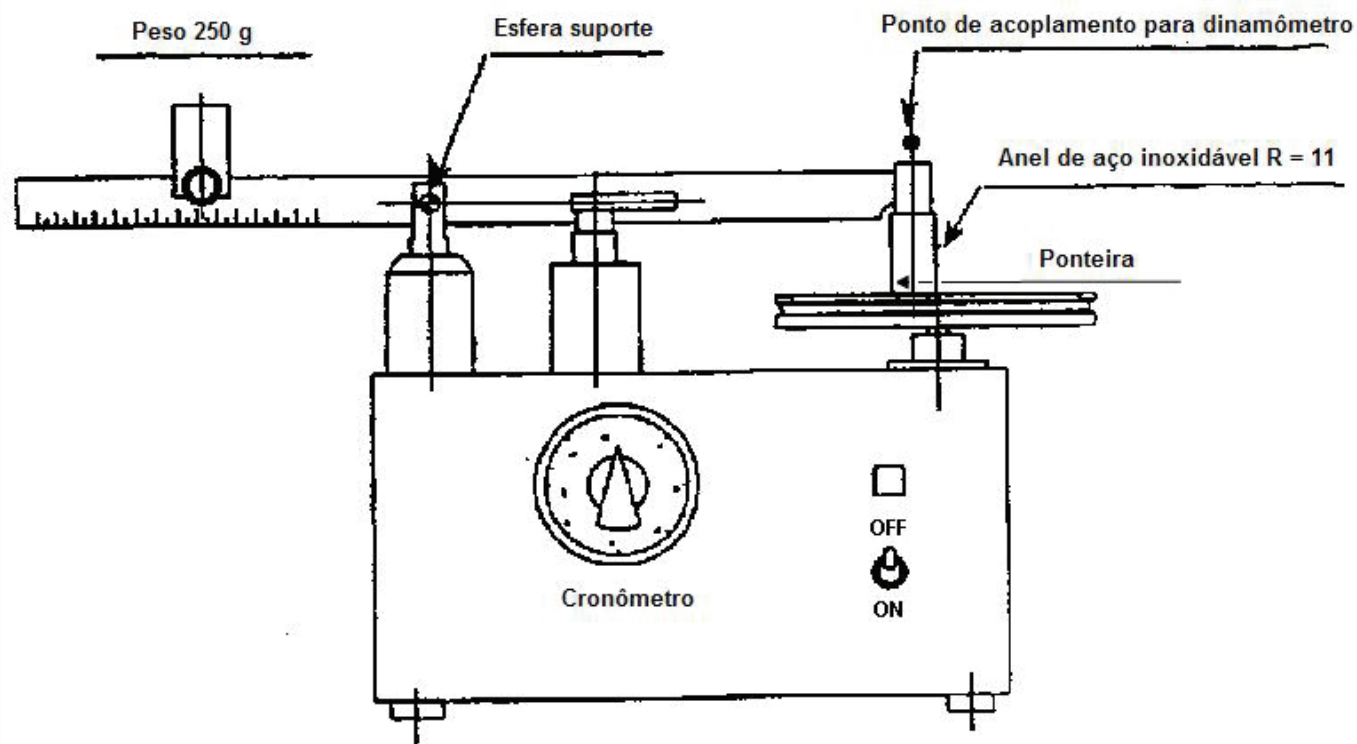


Figura A.2 — Vista frontal do equipamento de ensaio para determinação da penetração bacteriológica a úmido

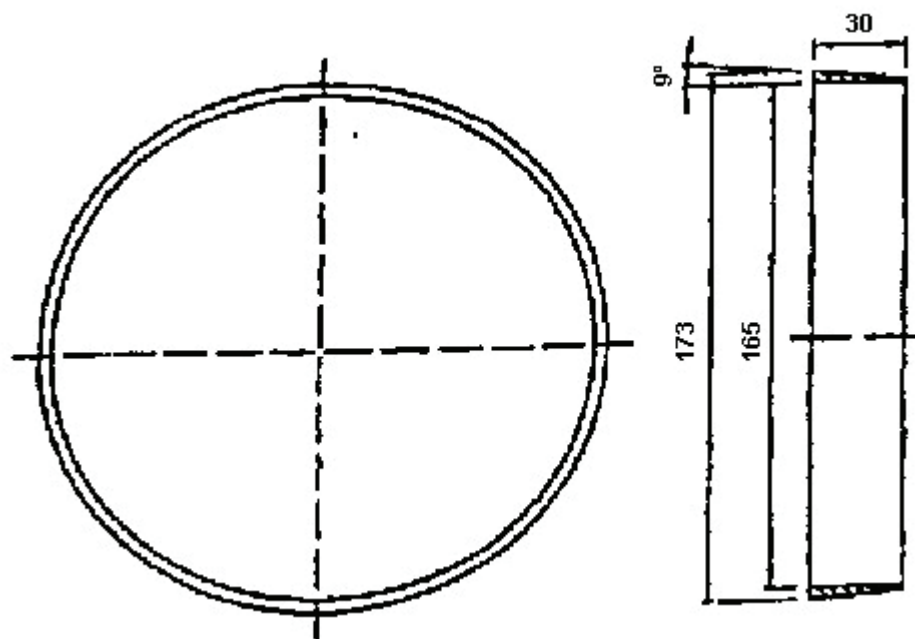


Figura A.3 — Anel interno

Dimensões em milímetros

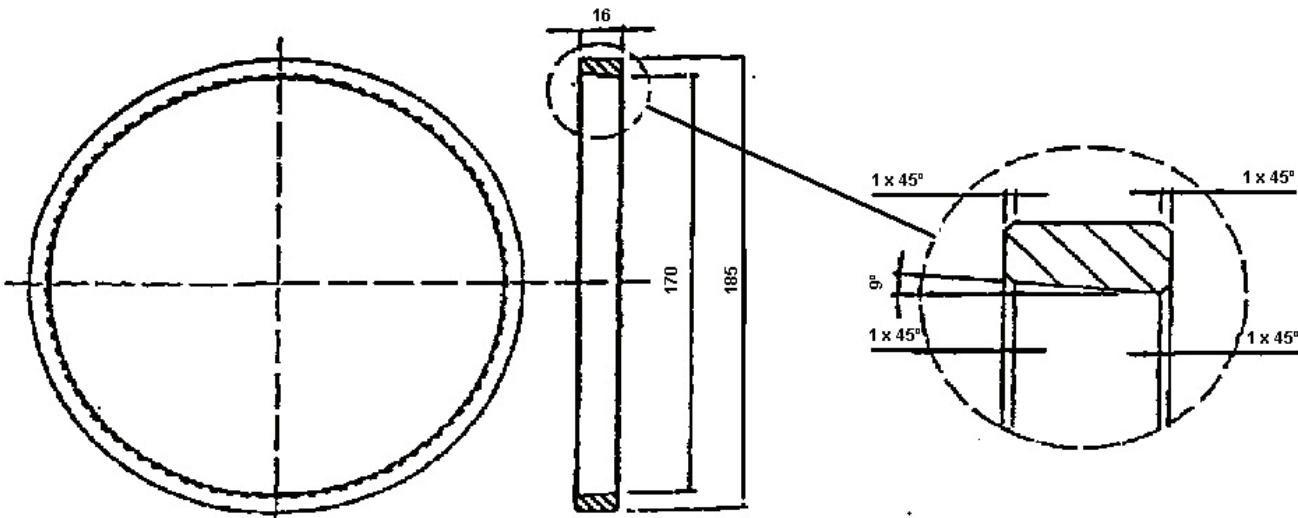


Figura A.4 — Anel externo

Anexo B **(normativo)**

Meio nutriente

B.1 Ágar TSA (Tryptic Soy Ágar)

Triptona de caseína hidrolisada	15 g
Peptona de soja	5 g
Cloreto de sódio	5 g
Ágar	17 g
Água destilada	1 000 mL

B.2 Caldo TSB (Tryptic Soy broth)

Triptona de caseína hidrolisada	17 g
Peptona de soja	3 g
Glicose	2,5 g
Cloreto de sódio	5 g
Fosfato de potássio	2,5 g
Água destilada	1 000 mL

B.3 Peptona líquida

Peptona	10 g
Cloreto de sódio	5 g
Água destilada	1 000 mL