

Metode uji standar untuk menentukan aktivitas daya bunuh residu pada formulasi antiseptik tangan

Standard Test Method for Determining the Residual Kill Activity of Hand Antiseptic Formulations

(ASTM E3058-16, IDT)

Daftar isi

1	Ruang Lingkup.....	3
2	Acuan normatif.....	3
3	Istilah dan definisi	1
4	Ringkasan metode uji.....	1
5	Signifikansi dan penggunaan	3
6	Peralatan	3
7	Reagen dan bahan	5
8	Bahaya	7
9	Bakteri Uji	9
10	Preparasi Suspensi Bakteri Uji.....	9
11	Inokulasi dan Cakram <i>Stainless Steel</i>	9
12	Subjek.....	11
13	Prosedur	11
14	Perhitungan Bakteri	17
15	Perhitungan dan Interpretasi Hasil	17
16	Presisi dan Bias	17
17	Kata Kunci	17

Prakata

SNI 8892:2024, *Metode uji standar untuk menentukan aktivitas daya bunuh residu pada formulasi antiseptik tangan*, merupakan standar yang disusun dengan jalur adopsi tingkat keselarasan identik dari ASTM E3058–16, *Standard Test Method for Determining the Residual Kill Activity of Hand Antiseptic Formulations*, dengan metode adopsi terjemahan dua bahasa dan ditetapkan oleh BSN pada tahun 2024.

Standar ini menggantikan SNI 8892:2020, *Metode uji standar untuk menentukan aktivitas daya bunuh residu pada formulasi antiseptik tangan*, yang disusun dengan metode adopsi *republication-reprint* dan ditetapkan oleh BSN Tahun 2020.

Standar ini disusun oleh Komite Teknis 11-11, Produk Higiene Perbekalan Kesehatan Rumah Tangga. Standar ini telah dibahas melalui rapat teknis dan disepakati dalam rapat konsensus pada tanggal 29 April 2024 di Jakarta, yang dihadiri oleh para pemangku kepentingan (*stakeholders*) terkait yaitu perwakilan dari pemerintah, pelaku usaha, konsumen, dan pakar. SNI ini telah melalui jajak pendapat pada tanggal 14 Juni 2024 sampai dengan 28 Juni 2024 dengan hasil akhir disetujui menjadi SNI.

Apabila pengguna menemukan keraguan dalam Standar ini, maka disarankan untuk melihat standar aslinya, yaitu ASTM E3058–16, dan/atau dokumen terkait lain yang menyertainya.

Untuk menghindari kesalahan dalam penggunaan Standar ini, disarankan bagi pengguna standar menggunakan dokumen SNI yang dicetak dengan tinta berwarna (dapat mencantumkan kode tingkat warna Red Green Blue (RGB), atau kode tingkat warna Cyan Magenta Yellow Black (CMYK), atau kode tingkat warna lain jika diperlukan untuk cetak gambar dengan warna yang lebih akurat.)”

Perlu diperhatikan bahwa kemungkinan beberapa unsur dari Standar ini dapat berupa hak kekayaan intelektual (HAKI). Namun selama proses perumusan SNI, Badan Standardisasi Nasional telah memperhatikan penyelesaian terhadap kemungkinan adanya HAKI terkait substansi SNI. Apabila setelah penetapan SNI masih terdapat permasalahan terkait HAKI, Badan Standardisasi Nasional tidak bertanggung jawab mengenai bukti, validitas, dan ruang lingkup dari HAKI tersebut.



“Halaman ini sengaja dikosongkan untuk memastikan bahwa penyajian SNI dengan metode dua bahasa dapat menampilkan bahasa Indonesia pada halaman genap dan bahasa Inggris pada halaman ganjil.”

Metode uji standar untuk menentukan aktivitas daya bunuh residu pada formulasi antiseptik tangan¹⁾

1 Ruang Lingkup

1.1 Metode uji ini didesain untuk menentukan aktivitas daya bunuh residu antiseptik kulit terhadap flora kulit mikroba yang berpindah pada kulit tangan.²⁾ Metode ini dapat digunakan untuk mengevaluasi produk yang digunakan dengan air dan dengan dibilas serta produk yang digunakan tanpa air dan tanpa dibilas.

1.2 Pelaksanaan prosedur ini membutuhkan pengetahuan tentang regulasi terkait perlindungan terhadap subjek manusia (lihat 21 CFR Bagian 50 dan 56).

1.3 Metode uji ini sebaiknya dilakukan oleh personel terlatih dalam bidang mikrobiologi, di fasilitas yang didesain dan dilengkapi untuk pekerjaan dengan agen infeksius pada *biosafety* level 2.

1.4 Satuan — Nilai-nilai yang dinyatakan dalam satuan SI dianggap sebagai standar. Tidak ada satuan pengukuran lain yang digunakan dalam standar ini.

1.5 Standar ini tidak ditujukan untuk menangani semua masalah terkait keamanan yang berhubungan dengan penggunaannya. Pengguna standar ini bertanggung jawab untuk menetapkan praktik keselamatan dan kesehatan yang sesuai dan menentukan batasan regulasi yang dapat diterapkan sebelum digunakan. Untuk pernyataan tindakan pencegahan yang lebih spesifik lihat 8.1.

2 Acuan normatif

2.1 Standar ASTM:³⁾

E1054, *Test Methods for Evaluation of Inactivators of Anti- microbial Agents*

E2752, *Guide for Evaluation of Residual Effectiveness of Antibacterial Personal Cleansing Products*

E1882, *Test Method for Evaluation of Antimicrobial Formulations by the Agar Patch Technique*

E2197, *Quantitative Disk Carrier Test Method for Determining Bactericidal, Virucidal, Fungicidal, Mycobactericidal, and Sporocidal Activities of Chemicals*

E2756, *Terminology Relating to Antimicrobial and Antiviral Agents*

¹⁾ Metode uji ini berada di bawah yurisdiksi Komite ASTM E35 tentang Pestisida, Antimikroba, dan Agen Kontrol Alternatif serta merupakan tanggung jawab langsung Subkomite E35.15 tentang Agen Antimikroba. Edisi terkini disetujui pada 15 Nov. 2016. Dipublikasikan pada Desember 2016. DOI: 10.1520/E3058-16

²⁾ Rutter J.D., Angiulo K., Macinga D.R., Measuring residual activity of topical antimicrobials: is the residual activity of chlorhexidine an artefact of laboratory methods? *J. Hosp. Infect.* 88:113-115, 2014

³⁾ Untuk acuan standar ASTM, kunjungi situs web ASTM, www.astm.org, atau kontak layanan pelanggan ASTM melalui service@astm.org. Untuk informasi volume *Annual Book of ASTM Standards*, lihat halaman Document Summary standar pada situs web ASTM.



Standard Test Method for Determining the Residual Kill Activity of Hand Antiseptic Formulations¹⁾

1 Scope

1.1 This test method is designed to determine the residual killing activity of skin antiseptics against transient microbial skin flora on the hands.²⁾ It may be used to evaluate products that are used with the aid of water and rinsed off and those that are used without the aid of water and not rinsed off.

1.2 Performance of this procedure requires the knowledge of regulations pertaining to the protection of human subjects (see 21 CFR Parts 50 and 56).

1.3 This test method should be performed by persons with training in microbiology, in facilities designed and equipped for work with potentially infectious agents at biosafety level 2.

1.4 Units—The values stated in SI units are to be regarded as standard. No other units of measurement are included in this standard.

1.5 This standard does not purport to address all of the safety concerns, if any, associated with its use. It is the responsibility of the user of this standard to establish appropriate safety and health practices and determine the applicability of regulatory limitations prior to use. For more specific precautionary statements see 8.1.

2 Referenced Documents

2.1 ASTM Standards:³⁾

E1054 Test Methods for Evaluation of Inactivators of Antimicrobial Agents

E2752 Guide for Evaluation of Residual Effectiveness of Antibacterial Personal Cleansing Products

E1882 Test Method for Evaluation of Antimicrobial Formulations by the Agar Patch Technique

E2756 Terminology Relating to Antimicrobial and Antiviral Agents

¹⁾ This test method is under the jurisdiction of ASTM Committee E35 on Pesticides, Antimicrobials, and Alternative Control Agents and is the direct responsibility of Subcommittee E35.15 on Antimicrobial Agents. Current edition approved Nov. 15, 2016. Published December 2016. DOI: 10.1520/E3058-16

²⁾ Rutter J.D., Angiulo K., Macinga D.R., Measuring residual activity of topical antimicrobials: is the residual activity of chlorhexidine an artefact of laboratory methods? *J. Hosp. Infect.* 88:113-115, 2014

³⁾ For referenced ASTM standards, visit the ASTM website, www.astm.org, or contact ASTM Customer Service at service@astm.org. For Annual Book of ASTM Standards volume information, refer to the standard's Document Summary page on the ASTM website.

2.2 Standar Federal⁴⁾
21 CFR Part 50 *Protection of Human Subjects*

21 CFR Part 56 *Institutional Review Boards*

3 Istilah dan definisi

3.1 Definisi — Untuk definisi istilah yang digunakan dalam dokumen ini, lihat istilah dan definisi E2756:

3.2 Definisi Istilah Spesifik dalam Standar ini:

3.2.1 *hand rub* untuk personel di pelayanan kesehatan, n — produk antimikroba berbentuk gel, busa, cairan, semprotan (*spray*), atau usapan (*wipe*), yang digunakan dengan cara menggosok untuk mengurangi flora mikroba sementara di kulit tangan yang tidak terlihat kotor, dan yang tidak membutuhkan bilasan air setelah penggunaannya. Agen tersebut dapat disebut juga *hand rubs*, *hand rubs* higienis, *hand sanitizers*, atau antiseptik tangan.

3.2.2 *hand wash* untuk personel di pelayanan kesehatan, n — pembersih yang membutuhkan pembilasan atau agen tanpa bilas yang dimaksudkan untuk mengurangi flora mikroba sementara di kulit tangan.

3.2.3 suhu ruang, n — suhu dalam rentang 20°C sampai 25°C (68°F sampai 77°F)

3.2.4 bakteri uji, n — suspensi bakteri yang digunakan memiliki karakteristik yang memungkinkan untuk mengidentifikasi koloni. Bakteri uji digunakan untuk mensimulasikan kontaminan mikroba sementara pada kulit. Bakteri uji dapat juga disebut sebagai organisme uji, organisme penanda, *simulan*, atau kontaminan.

3.2.5 bahan uji, n — produk atau simulasi yang mengandung bahan-bahan antimikroba.

4 Ringkasan metode uji

4.1 Metode uji ini melibatkan subjek orang dewasa yang telah mengisi persetujuan dan tangannya telah terbukti secara klinis bebas dari gangguan kulit, dermatosis, luka, lesi, atau *hangnail* pada saat berpartisipasi dalam studi. Subjek bebas dari penggunaan antimikroba setidaknya 7 hari sebelum prosedur pengujian dimulai (lihat 12.3).

4.2 Tangan subjek diberikan pra-perlakuan dengan bahan uji untuk memberikan antimikroba ke kulit. Bahan uji dibiarkan berada di tangan selama waktu yang telah ditetapkan sebelumnya (waktu yang dipilih untuk menunjukkan aktivitas daya bunuh residu produk uji) sebelum kontaminasi.

4.3 Subjek menekan setiap ujung jari pada cakram *stainless steel* yang terkontaminasi sekitar 7 log₁₀ CFU organisme uji (menggunakan satu cakram per ujung jari), yang memindahkan sekitar 6 log₁₀ CFU organisme uji ke setiap ujung jari (yaitu sekitar 10 % yang dipindahkan). Organisme uji, *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), tetap bertahan hidup setelah pengeringan serta stabil pada kedua cakram *stainless steel* dan pada ujung jari selama percobaan. Ujung jari dipapari organismeantang selama waktu yang sudah ditentukan sebelumnya.

⁴⁾ Tersedia dari U.S. Government Printing Office, Superintendent of Documents, 732 N. Capitol St., NW, Washington, DC 20401-0001, <http://www.access.gpo.gov>.



2.2 Federal Standards:⁴⁾

21 CFR Part 50 Protection of Human Subjects

21 CFR Part 56 Institutional Review Boards

3 Terminology

3.1 Definitions—For definitions of terms used in this document, see Terminology E2756.

3.2 Definitions of Terms Specific to This Standard:

3.2.1 healthcare personnel hand rub, *n*—an antimicrobial gel, foam, liquid, spray, or wipe, applied by rubbing to reduce the transient microbial skin flora on hands that are not visibly soiled, and which does not require a post-treatment water rinse. Such agents may also be referred to as hand rubs, hygienic hand rubs, hand sanitizers, or hand antiseptics.

3.2.2 healthcare personnel hand wash, *n*—a cleanser requiring rinsing or a non-rinse agent intended to reduce transient microbial skin flora on the hands.

3.2.3 room temperature, *n*—temperature in the range of 20 to 25°C (68 to 77°F).

3.2.4 test bacteria, *n*—an applied suspension of bacteria having characteristics that permit ready identification of colonies. Test bacteria are used to simulate a transient topical microbial contaminant. These may also be referred to as test organisms, marker organisms, simulants, or contaminants.

3.2.5 test material, *n*—a product or formulation that incorporates an antimicrobial ingredient(s).

4 Summary of Test Method

4.1 This test method uses adult subjects who have provided a written informed consent and whose hands have been determined to be free from any clinical evidence of skin disorders, dermatosis, cuts, lesions, or hangnails at the time of participation in the study. Subjects are to refrain from use of any antimicrobials for at least 7 days prior to the initiation of the test procedure (see 12.3).

4.2 Subjects hands are pre-treated with the test material to load the antimicrobial onto the skin. Test material remains on the hands for a pre-determined time (the time selected to demonstrate the test product's residual kill activity) prior to contamination.

4.3 Subjects press each fingerpad onto a stainless steel disc contaminated with approximately 7 log₁₀ CFU of test organism (using one disc per fingerpad), which transfers approximately 6 log₁₀ CFU of test organism to each fingerpad (that is, approximately 10% transfer). The test organism, *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), remains viable upon drying and is stable on both the stainless steel discs and on the fingerpads over the course of the experiment. The fingerpads are exposed to the challenge organism for pre-determined times.

⁴⁾ Available from U.S. Government Printing Office, Superintendent of Documents, 732 N. Capitol St., NW, Washington, DC 20401-0001, <http://www.access.gpo.gov>

4.4 Bakteri uji selanjutnya diambil dari ujung jari dengan menggosok setiap ujung jari selama 30 detik pada cawan petri yang berisi 10 ml penetral (satu cawan petri per ujung jari).

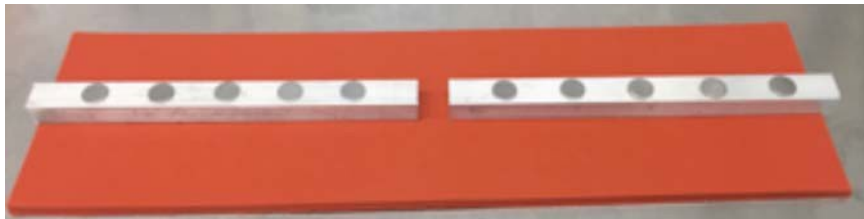
4.5 Residu yang telah dibunuh oleh bahan uji diukur dengan membandingkan jumlah bakteri uji dari ujung jari yang terkontaminasi pada interval waktu tertentu setelah kontaminasi dengan jumlah bakteri yang diperoleh pada waktu nol (ujung jari yang sudah diberi perlakuan dengan waktu nol untuk memungkinkan reduksi mikroorganisme setelah digunakan).

5 Signifikansi dan penggunaan

5.1 Banyak antiseptik tangan yang ada di pasaran membuat klaim "perlindungan jangka panjang" atau "daya bunuh yang lebih lama" (misalnya 6 jam), yang didasarkan pada hasil pengujian sebagaimana dideskripsikan pada Metode Uji E1882 atau Panduan E2752, atau keduanya. Saat ini tidak ada metode standar untuk mengevaluasi kemampuan formula antiseptik tangan dalam membunuh mikroorganisme pada tangan saat kontaminasi "kering" terjadi setelah beberapa waktu penggunaan. Metode uji ini menyediakan metode untuk membuktikan klaim daya bunuh residu untuk antiseptik tangan.

6 Peralatan

6.1 *Batang aluminium* — Cakram yang ditempatkan pada batang aluminium untuk mencegah pergerakan dan/atau penempelan cakram pada ujung jari selama kontaminasi (lihat **Gambar 1**). Beberapa tipe dapat digunakan, misalnya aluminium persegi panjang 6061 multifungsi, $\frac{3}{8}$ in. \times $\frac{1}{2}$ in. \times 6 in.⁵⁾



Gambar 1 – Batang Aluminium

6.2 *Penghitung koloni* — Salah satu dari beberapa jenis boleh digunakan; misalnya, penghitung koloni *Quebec darkfield* dan alat serupa. Penghitung koloni otomatis, sistem penghitung terkomputerisasi juga dapat digunakan.

6.3 *Cakram* — diameter 1 cm dan tebal 0,7 mm terbuat dari lembaran baja tahan karat yang disikat, AISI Tipe 430 (E2197).

6.4 *Wastafel* — Dengan ukuran yang cukup untuk memungkinkan cuci tangan tanpa menyentuh permukaan wastafel atau subjek lain.

⁵⁾ Satu-satunya penyedia peralatan yang dikenal oleh komite pada saat ini adalah McMaster Carr, *part number* 8975K614. <http://www.mcmaster.com/#>. Jika Anda mengetahui alternatif pemasok, mohon informasikan ASTM International Headquarters. Komentar Anda akan dipertimbangkan pada rapat komite teknis yang bertanggung jawab, yang mungkin Anda hadiri.

4.4 The test bacterium is then recovered from the fingerpads by rubbing each fingerpad for 30 s in a Petri dish containing 10 ml neutralizer (one Petri dish per fingerpad).

4.5 Residual killing by the test material is measured by comparing the number of test bacteria recovered from contaminated fingerpads at specific time intervals after contamination to the number recovered at time zero (treated fingerpad with zero time to allow for reduction in microorganism after application).

5 Significance and Use

5.1 Many marketed hand antiseptics make claims of "longlasting protection" or "extended kill" (for example 6 hours), which are typically based on results of testing as described in Test Method E1882 or Guide E2752, or both. At this time there are no standard methods for evaluating a hand antiseptic formulation for its ability to kill microorganisms on hands when a "dry" contamination event occurs at some time after product use. This test method provides a method to substantiate residual kill claims for hand antiseptics.

6 Apparatus

6.1 Aluminum bars—Discs are attached to these to avoid movement and / or sticking of the discs to the fingerpads during contamination (see Fig. 1). Any of several types may be used, for example, multipurpose 6061 aluminum rectangular, $\frac{3}{8}$ in. \times $\frac{1}{2}$ in. \times 6 in.⁵

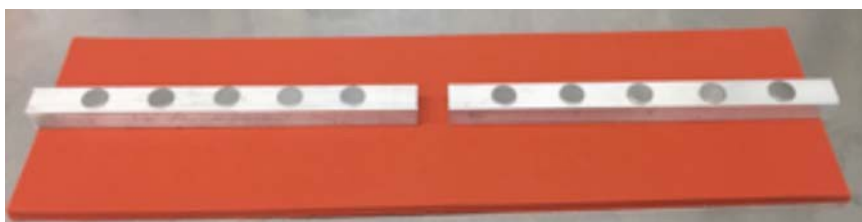


FIG. 1 Aluminum Bar

6.2 Colony Counter—Any of several types may be used; for example, Quebec darkfield colony counters and similar devices. Automated, computerized plater/counter systems may also be used.

6.3 Discs—1 cm diam. and 0.7 mm thick made from sheets of brushed stainless steel, AISI Type 430 (E2197).

6.4 Handwashing Sink—Sufficient in size to permit handwashing without the touching of hands to sink surface or other subjects.

⁵⁾ The sole source of supply of the apparatus known to the committee at this time is available from McMaster Carr, part number 8975K614. [http:// www.mcmaster.com/#](http://www.mcmaster.com/#). If you are aware of alternative suppliers, please provide this information to ASTM International Headquarters. Your comments will receive careful consideration at a meeting of the responsible technical committee,¹ which you may attend.

- 6.5 Humidity Chamber** — Dapat mempertahankan kelembapan relatif 50% sampai 60% di dalam *chamber* selama 24 jam pada suhu ruang.
- 6.6 Monitor Kelembapan (Hygrometer)** — Terkalibrasi dan dapat membuktikan kelembapan relatif dalam kenaikan 1%.
- 6.7 Keran air** — Terletak di atas bak cuci tangan pada ketinggian yang memungkinkan tangan lebih tinggi dari siku selama prosedur pencucian tangan.
- 6.8 Regulator Suhu Keran Air dan Monitor Suhu** — Untuk mengatur dan mempertahankan suhu keran air $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.
- 6.9 Inkubator** — Dapat mempertahankan suhu $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.
- 6.10 Biological Safety Cabinet.**
- 6.11 Peralatan laboratorium lainnya** — Pipet yang dapat disesuaikan terus menerus (kapasitas 1-mL dan 0,2-mL) dan ujung pipet steril, pipet serologis steril (kapasitas 5,0-mL), tabung kultur steril, cawan petri sekali pakai steril, jarum suntik steril, labu erlenmeyer, ose steril dan *beaker*.
- 6.12 Cawan petri** — cawan steril berukuran 100 mm × 15 mm, dan dapat menampung 10 mL larutan sampel (lihat 7.7).
- 6.13 Absorbance Meter** — Dapat membaca pada 625 nm dengan panjang jalur (*path length*) 1 cm.
- 6.14 Sterilizer** — Alat sterilisasi uap yang dapat memproses media kultur dan reagen.
- 6.15 Timer (Stop-Clock)** — Tipe yang dapat menampilkan menit dan detik.
- 6.16 Vortex Mixer** — Berbagai macam vortex yang dapat memastikan pencampuran kultur dengan baik.

7 Reagen dan bahan

- 7.1 Salep Antibiotik** — salep tripel-antibiotik topikal untuk digunakan pada tangan setelah dekontaminasi akhir.
- 7.2 Sabun pembersih** — Sabun cair yang lembut dan terbukti non-antimikroba. Dapat dibeli secara komersil atau disiapkan sesuai instruksi: Sabun lembut, 200 g/L: minyak biji rami 50 bagian bobot Kalium hidroksida 9,5 bagian Etanol 7 bagian Air suling atau air kemurnian tinggi secukupnya. Tambahkan minyak biji rami ke dalam larutan kalium hidroksida ke dalam 15 bagian air dan panaskan sampai sekitar 70°C sambil diaduk. Tambahkan etanol dan lanjutkan pemanasan sampai proses saponifikasi selesai dan sampel larut dengan jernih di dalam air dan hampir jernih di dalam alkohol. Berat sabun lembut tersebut kemudian dinaikkan menjadi 100 bagian dengan menambahkan air panas. Ambil 200 g sabun lembut dalam 1 L air. Masukkan ke dalam kontainer dan sterilisasi di autoklaf.
- 7.3 Pembersih Kulit Chlorhexidine** — Antiseptik pembersih kulit yang mengandung 4% klorheksidin glukonat (b/v) untuk dekontaminasi tangan.

- 6.5** Humidity Chamber—Capable of maintaining 50-60% relative humidity in the chamber for 24 h at room temperature.
- 6.6** Humidity Monitor (Hygrometer)—Calibrated and capable of displaying relative humidity in 1% increments
- 6.7** Water Faucet(s)—Located above the sink at a height to permit hands to be held higher than the elbow during the washing procedure.
- 6.8** Tap Water Temperature Regulator and Temperature Monitor—To set and maintain the tap water temperature at $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$
- 6.9** Incubator—Capable of maintaining a temperature of $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.
- 6.10** Biological Safety Cabinet.
- 6.11** Miscellaneous Labware—Continuously adjustable pipetters (1-mL and 0.2-mL capacity) and sterile pipette tips, sterile serological pipettes (5.0-mL capacity), sterile culture tubes, sterile disposable Petri dishes, sterile syringes, Erlenmeyer flasks, sterile loops and beakers.
- 6.12** Sampling Petri dishes—Sterile dishes measuring 100 mm × 15 mm, and able to hold 10 mL sampling solution (see 7.7).
- 6.13** Absorbance Meter—Capable of reading at 625 nm with a 1 cm path length.
- 6.14** Sterilizer—Any steam sterilizer capable of processing culture media and reagents.
- 6.15** Timer (Stop-Clock)—Type that can be read for minutes and seconds.
- 6.16** Vortex Mixer—Any vortex that will ensure proper mixing of culture.

7 Reagents and Materials

- 7.1** Antibiotic Ointment—A topical, triple-antibiotic ointment for application to the hands after the final decontamination.
- 7.2** Cleansing Wash—A mild, proven non-antimicrobial liquid soap. May be purchased commercially or prepared according to the instructions: Soft Soap, 200 g/L: Linseed oil 50 parts by weight Potassium hydroxide 9.5 parts Ethanol 7 parts Distilled or high purity water as needed Add linseed oil to a solution of potassium hydroxide in 15 parts water and heat up to approximately 70°C while constantly stirring. Add the ethanol and continue heating while stirring until the saponification process is completed and a sample dissolves clearly in water and almost clearly in alcohol. The weight of the soft soap is then brought up to 100 parts by addition of hot water. Take 200 g of the soft soap in 1 L of water. Dispense in to appropriate containers and sterilize in an autoclave.
- 7.3** Chlorhexidine Skin Cleanser—Antiseptic skin cleanser containing 4 % chlorhexidine gluconate (w/v) for hand decontamination.

7.4 Media Kultur:

7.4.1 *Broth* — direkomendasikan *Soybean-casein digest broth (tryptic soy broth)*.

7.4.2 Media Cawan Agar:

7.4.2.1 *Media Cawan Agar* — jika dibutuhkan, direkomendasikan *Soybean-casein digest agar (tryptic soy agar [TSA])* mengandung inaktivator efektif untuk bahan uji.

CATATAN 1 Pastikan kultur stok *S. aureus* dan setiap subkultur yang digunakan selanjutnya memproduksi koloni berwarna keemasan pada *soybean-casein digest agar*.

7.4.2.2 *Media Cawan S. aureus* — HardyCHROM⁶, mengandung inaktivator efektif untuk bahan uji, jika dibutuhkan, dapat digunakan sebagai alternatif media cawan agar. Media indikator lainnya untuk *S. aureus* mungkin sesuai tetapi sebaiknya divalidasi sebelum digunakan.

CATATAN 2 *S. aureus* membentuk koloni halus, berwarna merah muda hingga *fuchsia* saat ditumbuhkan pada HardyCHROM.⁶⁾ Pertumbuhan sebagian besar organisme lain, termasuk *Staphylococcus epidermidis* dapat terhambat sebagian hingga seluruhnya.

7.5 *Cairan Pengenceran dan Sampling*— jika diperlukan (lihat Catatan 3), larutkan 0,4 g KH₂PO₄, 10,1 g Na₂HPO₄, 1,0 g *isooctylphenoxypolyethoxyethanol* (seperti Triton X-100), dan penetral tervalidasi, dalam air suling. Atur pH hingga $7,8 \pm 0,1$ dengan 0,1 N HCl atau 0,1 N NaOH dan tambahkan volume 1 L dengan air suling.

CATATAN 3 Validasi penetral dilakukan sesuai dengan Metode Uji sebelum studi dilakukan. Metode Uji E1054 menyediakan daftar penetral yang sesuai untuk agen antimikroba yang biasa digunakan. Dalam beberapa kasus (misalnya, beberapa *hand rubs* berbasis alkohol) netralisasi dilakukan dengan pengenceran saja, sehingga penggunaan inaktivator hanya diperlukan jika netralisasi bahan uji tidak dapat tercapai selama pengenceran (lihat 7.5).

7.6 *Larutan Etanol*—70% etanol dalam air (v/v) untuk dekontaminasi tangan.

7.7 *Bahan Uji* — Gunakan petunjuk yang disediakan bahan uji. Jika tidak terdapat petunjuk, gunakan petunjuk yang diberikan pada metode ini.

7.8 *Kontrol Negatif* — 70% etanol dalam air (v/v).

8 Bahaya

8.1 Penggunaan mikroorganisme pada kulit dapat mengakibatkan risiko kesehatan. Tentukan profil sensitifitas antibiotik dari bakteri uji sebelum menggunakannya pada kulit. Setelah pengujian selesai, dekontaminasi tangan subjek dan ikuti prosedur yang sesuai untuk mengurangi infeksi risiko (13.11). Jika terjadi infeksi, sediakan profil kerentanan antibiotik kepada dokter yang memeriksa.

⁶⁾ Merek dagang HardyCHROM *Staph aureus*, tersedia dari *Hardy Diagnostics*
© BSN 2024



7.4 Culture Media:

7.4.1 Broth—Soybean-casein digest broth (tryptic soy broth) is recommended.

7.4.2 Agar Plating Media:

7.4.2.1 Plating Medium—Soybean-casein digest agar (tryptic soy agar [TSA]) containing an effective inactivator for the test material, if necessary is recommended.

NOTE 1—Ensure that stock culture of *S. aureus* and any subsequent subculture used produces golden-colored colonies on soybean-casein digest agar.

7.4.2.2 *S. aureus* Plating Medium—HardyCHROM⁶⁾, containing an effective inactivator for the test material, if necessary, may be used as an alternative to the standard plating media. Other indicator media for *S. aureus* may be appropriate but should be validated prior to use.

NOTE 2—*S. aureus* forms smooth, deep pink to fuchsia-colored colonies when grown on HardyCHROM.6 The growth of most other organisms, including *Staphylococcus epidermidis* are partially to completely inhibited.

7.5 Dilution and Sampling Fluid—Dissolve 0.4 g KH₂PO₄, 10.1 g Na₂HPO₄, 1.0 g isooctylphenoxypolyethoxyethanol (for example, Triton X-100), and appropriately validated neutralizers, if necessary (see Note 3), in distilled water. Adjust pH to 7.8 ± 0.1 with 0.1 N HCl or 0.1 N NaOH and bring volume to 1 L with distilled water.

NOTE 3—A neutralizer validation should be conducted according to Test Methods prior to the study. Test Methods E1054 provides a list of neutralizers appropriate for commonly used antimicrobial agents. In some cases (for example, some alcohol-based hand rubs) neutralization is achieved by dilution alone, therefore, inclusion of an inactivator is only required if neutralization of the test material cannot be achieved upon dilution (see 7.5).

7.6 Ethanol Solution—70 % ethanol in water (v/v) for hand decontamination.

7.7 Test Material—Use directions provided with the test material. If directions are not provided, use the directions given in this method.

7.8 Negative Control—70 % ethanol in water (v/v).

8 Hazards

8.1 Application of microorganisms to the skin may involve a health risk. Determine the antibiotic sensitivity profile of the test bacteria prior to applying to the skin. After the test has been completed, decontaminate the subject's hands and follow proper procedures to reduce infection risk (13.11). If an infection occurs, provide the antibiotic susceptibility profile to the attending clinician.

⁶⁾ Trademarked HardyCHROM^{Staph aureus}, available from Hardy Diagnostics

9 Bakteri Uji

9.1 *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 (sensitif metisilin) merupakan spesies bakteri uji yang direkomendasikan. *S. aureus* dibedakan dari koloni flora mikroba kulit yang spesifik (termasuk *Staphylococcus epidermidis*) melalui morfologi koloni dan pigmentasi pada media cawan standar (lihat 7.4.2.1) atau dengan media indikator *chromogenic* (lihat 7.4.2.2).

10 Preparasi Suspensi Bakteri Uji

10.1 Preparasi *S. aureus*:

10.1.1 Siapkan kultur stok *S. aureus* ATCC 6538 (tidak lebih dari 5 kali pemindahan dari vial ATCC orisinal) melalui inokulasi sekitar 5 mL *soybean-casein digest broth* (lihat 7.4.1) dari stok beku atau vial terliofilisasi dan inkubasi selama 18 jam sampai 24 jam pada suhu $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

10.1.2 Dengan menggunakan ose steril, inokulasi sejumlah cawan *soybean-casein digest agar* (lihat 7.4.2.1) dari kultur yang telah didiamkan semalaman untuk isolasi koloni dan inkubasi selama 18 jam sampai 24 jam pada suhu $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

10.1.3 Dengan menggunakan ose steril, gores atau gosok permukaan agar dengan lembut untuk memindahkan koloni berwarna emas dan suspensikan dalam *soybean-casein digest broth segar* dengan absorbansi 0,2 sampai 0,25 pada 625 nm, panjang lempeng 1 cm (atau pengukuran lain yang sesuai berdasarkan spesifikasi meter absorbansi Anda) untuk memperkirakan titer $8,5 \log_{10}$ CFU/ml sampai $9,0 \log_{10}$ CFU/ml. Pindahkan alikuot dari suspensi, encerkan dan tempatkan pada cawan untuk perhitungan. Isolasi lapisan cawan sebaiknya dibuat untuk mengkonfirmasi kemurnian.

11 Inokulasi dan Cakram *Stainless Steel*

11.1 Campur suspensi bakteri uji menggunakan vortex selama 30 detik untuk membuatnya menjadi homogen.

11.2 Gunakan pipet terkalibrasi untuk memindahkan 10 μL inokulum bakteri ke bagian tengah setiap cakram steril (6.3). Jangan sebar inokulum untuk mencegah variabilitas operator dan juga untuk mempertahankan ketebalan yang seragam dari inokulum pada semua cakram. Untuk konsistensi, ukuran pipet yang sama sebaiknya digunakan saat inokulasi beberapa bets (*batch*) cakram. Jika memungkinkan, inokulasi sebaiknya dilakukan di dalam *laminar flow hood* untuk mencegah gangguan pada inokulum selama pengujian.

11.3 Pindahkan cakram yang telah diinokulasi ke dalam *biological safety cabinet* selama 1 jam untuk mengeringkan inokula.

11.4 Pindahkan cakram inokulasi kering ke dalam *humidity chamber* 50% sampai 60 dan simpan pada suhu ruang selama 17 jam sampai 24 jam.

CATATAN 4 Variasi dalam kelembapan relatif dalam fasilitas pengujian dapat mempengaruhi kecepatan pemindahan organisme uji ke ujung jari. Penyimpanan cakram dalam rentang kelembapan tertentu mengurangi variabilitas ini.



9 Test Bacteria

9.1 *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 (methicillin sensitive) is the recommended test bacterial species. *S. aureus* is differentiated from resident microbial skin flora (including *Staphylococcus epidermidis*) colonies by colony morphology and pigmentation on standard plating media (see 7.4.2.1) or with chromogenic indicator medium (see 7.4.2.2).

10 Preparation of Test Bacteria Suspension

10.1 Preparation of *S. aureus*:

10.1.1 Prepare a stock culture of *S. aureus* ATCC 6538 (no more than 5 transfers from original ATCC vial) by inoculating approximately 5 mL of soybean-casein digest broth (see 7.4.1) from a frozen stock or lyophilized vial and incubate for 18-24 h at 35.6 °C.

10.1.2 Using a sterile bacteriological loop inoculate a sufficient number of soybean-casein digest agar plates (see 7.4.2.1) from the overnight culture for colony isolation and incubate for 18-24 h at 35.6 °C.

10.1.3 Using a sterile bacteriological loop, gently scrape or rub surface of agar to remove golden-colored colonies and suspend in fresh soybean-casein digest broth to an absorbance of 0.2-0.25 at 625 nm at a path length of 1 cm (or other appropriate measurement based on your absorbance meter specifications) to approximate a titer of 8.5-9.0 log₁₀ CFU/ml. Remove an aliquot from the suspension, dilute and plate for counting. An isolation streak plate should be made to confirm purity.

11 Inoculation of Stainless Steel Discs

11.1 Mix the test bacterial suspension using a vortex for 30 s to homogenize it.

11.2 Use a calibrated pipette to transfer 10 µL of the bacterial inoculum to the center of each sterile disc (6.3). Do not spread the inoculum to avoid operator variability and also to maintain uniform thickness of the inoculum on all discs. For consistency, the same pipette tip should be used when inoculating a given batch of discs. If possible, the inoculation should be done in the laminar flow hood to avoid disturbance of the inoculum during transport to the hood.

11.3 Transfer the inoculated discs to a biological safety cabinet for approximately 1 hour to dry the inocula.

11.4 Transfer the dried inoculated discs to a 50-60% relative humidity chamber and maintain at room temperature for 17 to 24 h.

NOTE 4 Variation in the relative humidity within the test facility can affect the rate of transfer of the test organism to the fingerpads. Storage of the discs within a specified humidity range prior reduces this variability.

12 Subjek

12.1 Rekrut subjek manusia dewasa yang sehat dalam jumlah yang cukup yang tidak menunjukkan bukti klinis dermatosis, luka, lesi, *hangnails*, atau kelainan kulit lain pada tangan atau lengan. Gunakan minimum 8 subjek pengujian untuk setiap bahan uji. Total jumlah subjek yang digunakan akan tergantung dari jumlah bahan uji, tujuan studi, dan persyaratan regulasi yang mengatur studi.

12.2 Pengguna metode ini bertanggung jawab untuk memperoleh persetujuan yang diperlukan dari *Institutional Review Board* (IRB) atau *Independent Ethics Commission* (IEC) untuk menggunakan subjek manusia dewasa dalam pengujian dan untuk memperoleh persetujuan tertulis dari mereka yang terpilih untuk pengujian sebelum memulai pengujian.

12.3 Perintahkan subjek untuk mencegah kontak dengan produk antimikroba selama durasi pengujian dan untuk setidaknya 7 hari sebelum pengujian dimulai. Pembatasan ini termasuk antiperspiran yang mengandung antimikroba, deodoran, shampo, losion, sabun, serta pembersih antimikroba dan produk disinfektan. Mandi di kolam yang dirawat dengan biosida, bak air panas, atau spa juga sebaiknya dihindari. Subjek tidak boleh memakai atau menggunakan cat kuku, kuku palsu, atau penghapus cat kuku, atau telah melakukan perawatan kuku dalam 7 hari periode pengkondisian pengujian atau dalam hari pengujian tunggal. Subjek tidak boleh menggunakan antimikroba topikal atau sistemik, atau steroid selain yang diindikasikan untuk kontrasepsi atau pasca menopause, serta sebaiknya setuju untuk tidak menggunakan bahan-bahan ini sampai penyelesaian studi. Berikan subjek kit produk perawatan non-antimikroba untuk secara khusus digunakan selama pengujian dan termasuk sarung tangan karet untuk digunakan saat kontak dengan antimikroba atau bahan kimia keras yang tidak dapat dihindari.

13 Prosedur

13.1 *Memulai Pengujian* — instruksikan tiap subjek untuk kembali ke laboratorium untuk pengujian setelah mereka menahan diri untuk tidak menggunakan antimikroba setidaknya selama tujuh hari. Tanyakan subjek untuk mengkonfirmasi kepatuhannya terhadap persyaratan studi (lihat 12.3). Inspeksi tangan dan lengan subjek untuk mengkonfirmasi ketiadaan tanda klinis penyimpangan kulit sebagaimana dideskripsikan pada 12.1. Masukkan subjek ke dalam pengujian jika setiap kriteria di atas terpenuhi. Perintahkan subjek untuk memindahkan semua perhiasan dari tangan dan lengan mereka dan untuk menggunting kuku pada panjang yang sama (bagian tepi bebas ≤ 1 mm). Subjek sebaiknya dapat menunjukkan kemampuannya dalam menggosok ujung jari pada cawan Petri untuk memeriksa ketangkasan pada setiap jari sebelum pengujian dimulai.

13.2 *Pembersihan* — instruksikan subjek untuk membersihkan tangan selama 30 detik (lihat 7.2). Prosedru ini menghilangkan minyak dan kotoran dari tangan.

13.2.1 Basahi tangan dan lengan subjek dengan air keran.

13.2.2 Keluarkan 5 mL cairan pembersih (lihat 7.2) pada tangan subjek yang ditangkupkan dan perintahkan subjek untuk mengoleskannya ke tangan hingga pergelangan tangan.

13.2.3 Perintahkan subjek untuk mencuci seluruh permukaan tangan dengan kuat selama 30 ± 2 detik. Jika busa menjadi terlalu kering, tambahkan sedikit air untuk mempertahankan busa.



12 Subjects

12.1 Recruit a sufficient number of healthy adult human subjects who have no clinical evidence of dermatosis, cuts, lesions, hangnails, or other skin disorders on the hands or forearms. A minimum of eight subjects should be used to test for each test material. The total number of subjects used will depend on the number of test materials, the purpose of the study, and the regulatory requirements governing the study.

12.2 It is the responsibility of the user of this test method to obtain the necessary approval from an Institutional Review Board (IRB) or Independent Ethics Commission (IEC) for the use of adult human subjects for testing and to obtain informed and written consent from those selected for the study before starting the tests.

12.3 Instruct subjects to avoid contact with antimicrobial products for the duration of the test and for at least 7 days prior to the test. This restriction includes antimicrobial-containing antiperspirants, deodorants, shampoos, lotions, soaps, and antimicrobial cleaning and disinfectant products. Bathing in biocide-treated pools, hot tubs, or spas must be avoided. Harsh chemicals such as acids, bases, and solvents must also be avoided. Subjects may not have or apply nail polish, artificial nails, or nail polish remover, or have undergone nail treatment during the 7-day pre-test conditioning period or on the single test day. Subjects may not use topical or systemic antimicrobials, antibiotics, or steroids other than for contraception or post-menopausal indications, and must agree to abstain from these materials until the completion of the study. Provide subjects with a kit of non-antimicrobial personal care products for exclusive use during the test and include rubber gloves to be worn when contact with antimicrobial or harsh chemicals cannot be avoided.

13 Procedure

13.1 Admission to Testing—Instruct each subject to return to the laboratory for testing after they having refrained from using antimicrobials for at least seven days. Question the subject to confirm adherence to the study requirements (see 12.3). Inspect the subject's hands and forearms to confirm the absence of clinical signs of skin disorders as described in 12.1. Admit the subject into the test if each of the above criteria is met. Instruct the subject to remove all jewelry from their hands and arms and to clip their fingernails to a uniform length (free edge ≤ 1 mm). Subjects should demonstrate an ability to rub their fingerpads in Petri dish to check for dexterity in all fingers prior to being admitted into testing.

13.2 Cleansing Wash—Instruct the subject to perform a 30-s cleansing wash (see 7.2). This procedure removes oil and dirt from the hands.

13.2.1 Have subject thoroughly wet their hands and forearms under tap water.

13.2.2 Dispense 5 mL of the cleansing wash (see 7.2) into the subject's cupped hands and instruct subject to spread over hands up to the wrists.

13.2.3 Instruct subject to wash all surfaces of the hands in a vigorous manner for 30 s. If the lather becomes too dry, add a small amount of water to maintain lather.

13.2.4 Perintahkan subjek untuk membilas hingga bersih dari pergelangan tangan sampai ujung jari dengan air keran selama 30 ± 2 detik. Minta subjek berhati-hati dalam kontak dengan wastafel dan perlengkapannya untuk menghindari kemungkinan kontaminasi ulang dari permukaan wastafel.

13.2.5 Berikan kepada subjek handuk kertas yang bersih dan kering dan perintahkan mereka untuk menepuk ringan tangan mereka hingga kering.

13.2.6 Setelah menyelesaikan pembersihan, minta subjek untuk menunggu selama setidaknya lima menit sebelum tahap studi selanjutnya. Perintahkan subjek agar menghindari menyentuh apapun dengan tangan mereka untuk mencegah kontaminasi.

13.3 *Pengunaan Bahan Uji* — bahan uji digunakan sesuai dengan petunjuk penggunaan. Jika petunjuk penggunaan bahan uji tidak tersedia, gunakan prosedur penggunaan bahan uji yang sesuai seperti pada 13.3.1 atau 13.3.3.

13.3.1 Untuk mendemonstrasikan aktivitas residu, diperlukan penggunaan lebih dari satu bahan uji. Jika bahan uji digunakan lebih dari satu kali, kontrol negatif sebaiknya digunakan dalam jumlah yang sama. Jumlah penggunaan bahan uji dilaporkan dalam hasil.

13.3.2 *Formulasi Hand Wash:*

13.3.2.1 Basahi tangan subjek secara menyeluruh dengan air keran.

13.3.2.2 Tuangkan 1,5 mL bahan uji ke dalam tangan subjek yang ditangkupkan.

13.3.2.3 Perintahkan subjek untuk mencuci semua permukaan tangan dan jari-jari, termasuk kuku, dengan kuat selama 30 detik ± 2 detik. Jika busa menjadi terlalu kering, tambahkan sedikit air untuk mempertahankan busa.

13.3.2.4 Perintahkan subjek untuk membilas secara menyeluruh dari pergelangan tangan sampai ujung jari dengan air keran selama 30 detik ± 2 detik. Minta subjek berhati-hati dalam kontak dengan wastafel dan perlengkapannya untuk menghindari kemungkinan kontaminasi ulang dari permukaan wastafel.

13.3.2.5 Berikan kepada subjek handuk kertas yang bersih dan kering dan perintahkan mereka untuk menepuk ringan tangan mereka hingga kering.

13.3.3 *Formulasi Hand Rub:*

13.3.3.1 Tuangkan 1,5 mL bahan uji ke dalam tangan subjek yang ditangkupkan dari dispenser atau semprotan.

13.3.3.2 Dalam 5 detik, perintahkan subjek untuk meratakan bahan uji ke seluruh permukaan tangan dan jari, dengan memperhatikan kuku, dan lanjutkan menggosok sampai produk mengering. Subjek sebaiknya berhati-hati untuk menjada bahan uji di tangan.

CATATAN 5 Volume keluaran dari dispenser busa dapat dihitung dengan mengukur massa yang dikeluarkan (g) dibagi dengan densitas bahan uji (g/ml). Jika densitas bahan uji tidak diketahui, massa 1,3 g diperkirakan setara dengan 1,5 ml untuk formulasi yang mengandung antara 60% (v/v) dan 90% (v/v) etanol.



13.2.4 Instruct subject to rinse thoroughly from wrists to fingertips under tap water for 30 ± 2 s. Have the subject exercise caution to avoid contact with the sink and fixtures, eliminating the chance of recontamination from the sink surfaces.

13.2.5 Hand subject a clean, dry paper towel and instruct them to lightly pat their hands dry.

13.2.6 After completing the cleansing wash, have each test subject wait at least five minutes prior to the next phase of the study. Instruct the test subject to avoid touching anything with their hands to avoid contamination.

13.3 Test Material Application—Apply the test material in accordance with its use directions. If test material directions are not available, use the appropriate test material application procedure described in 13.3.1 or 13.3.3.

13.3.1 For demonstration of residual activity, more than one test material application may be required. If the test material is applied more than one time, the negative control must be applied an equal number of times. The number of test material applications is reported in the results.

13.3.2 Hand Wash Formulations:

13.3.2.1 Have subject thoroughly wet their hands under tap water.

13.3.2.2 Dispense 1.5 mL of the test material into the subject's cupped hands.

13.3.2.3 Instruct subject to wash all surfaces of the hands and fingers, including the nails, in a vigorous manner for 30 ± 2 s. If the lather becomes too dry, add a small amount of water to maintain lather.

13.3.2.4 Instruct subject to rinse thoroughly from wrists to fingertips under tap water for 30 ± 2 s. Have the subject exercise caution to avoid contact with the sink and fixtures, eliminating the chance of recontamination from the sink surfaces.

13.3.2.5 Hand subject a clean, dry paper towel and instruct them to lightly pat their hands dry.

13.3.3 Hand Rub Formulations:

13.3.3.1 Dispense 1.5 mL of test material into the subject's cupped hands from an appropriate dispenser or syringe. **13.3.3.2** Within 5 s, instruct the subject to distribute test material over all surfaces of the hands and fingers, paying attention to the nails, and to continue rubbing until the product is dry. Subject should exercise caution to retain the test material in the hands.

13.3.3.2 Within 5 s, instruct the subject to distribute test material over all surfaces of the hands and fingers, paying attention to the nails, and to continue rubbing until the product is dry. Subject should exercise caution to retain the test material in the hands.

NOTE 5 The volume output from a foaming dispenser can be calculated by measuring the mass dispensed (g) and dividing by the density of the test material (g/ml). If the density of the test material is unknown, a mass of 1.3 g is approximately equal to 1.5 ml for formulations containing between 60% (v/v) and 90% (v/v) ethanol.

13.4 Pengukuran Aktivitas Residu— Aktivitas residu dinilai pada waktu yang dipilih setelah penggunaan perawatan terakhir (misalnya, 30 menit, 1 jam, 4 jam, dan seterusnya) dengan mengukur kelangsungan hidup bakteri uji yang digunakan pada ujung jari melalui kontaminasi kontak kering setelah waktu paparan yang sudah dipilih sebelumnya.

13.4.1 Berikut ini adalah contoh prosedur untuk menilai aktivitas residu 30 menit setelah perawatan terakhir dengan waktu paparan 1 menit, 5 menit, 20 menit, dan 1 jam.

13.4.2 Kesepuluh ujung jari dikontaminasi dengan menekan kuat pada cakram *stainless steel* yang telah disiapkan. Kedua ibu jari digunakan sebagai kontrol waktu nol. Ujung jari lainnya diacak sedemikian rupa sehingga satu ujung jari di setiap tangan digunakan untuk setiap waktu paparan dan jumlah bakteri yang diperoleh dari dua ujung jari yang mewakili setiap paparan dirata-ratakan.

13.5 Kontaminasi Ujung Jari:

13.6 Dalam waktu 5 menit sebelum kontaminasi ujung jari, pindahkan cakram terkontaminasi dari kamar kelembapan (lihat 11.4). Ujung jari sebaiknya dikontaminasi segera setelah memindahkan cakram dari kamar kelembapan dan tidak lebih dari 5 menit sejak cakram dipindahkan hingga ujung jari terkontaminasi. Ujung jari yang terkontaminasi tidak boleh menyentuh satu sama lain atau permukaan lainnya.

13.7 Subjek pertama-tama akan mengkontaminasi jari dengan menekan setiap ibu jari dengan kuat pada cakram yang terkontaminasi selama 2 detik. Ibu jari yang terkontaminasi digunakan sebagai pemulihan waktu nol (*dasar/baseline*).

13.8 Untuk menentukan residu pembasmian, subjek akan mengkontaminasi setiap ujung jari yang dipilih secara acak dari setiap tangan dengan menekan dengan kuat pada cakram terkontaminasi (satu per ujung jari) selama 2 detik. Ulangi sampai seluruh ujung jari terkontaminasi.

CATATAN 6 Mungkin perlu mengkontaminasi ujung jari satu per satu untuk memberikan waktu yang cukup untuk sampling. Sebagai contoh, ibu jari dapat dikontaminasi pertama dan langsung diuji. Ujung jari lainnya kemudian dikontaminasi dalam urutan yang telah ditentukan sehingga memungkinkan pengambilan sampel tepat waktu.

13.9 Setelah waktu paparan yang sesuai, baik untuk pemulihan waktu nol maupun untuk empat titik waktu lainnya, ujung jari yang sudah terkontaminasi di-sampling satu per satu dengan menggosok pada gerakan memutar dengan tekanan yang kuat selama 30 detik pada bagian bawah cawan Petri (lihat 6.12) yang mengandung 10 mL pengenceran dan cairan sampling (lihat 7.5). Sau cawan Petri digunakan untuk setiap sampel ujung jari. Setelah pemulihan bakteri dari ujung jari, sampel diproses untuk perhitungan (lihat Bagian 14).

CATATAN 7 Mungkin berguna untuk meletakkan cawan Petri di atas karet atau permukaan non-selip lainnya untuk memastikan pergerakan cawan Petri seminimal mungkin selama pengambilan sampel.

13.10 Empat titik waktu akan dievaluasi, satu per jari per tangan dengan ibu jari sebagai sampel garis dari waktu nol. Evaluasi dilakukan pada interval yang sudah ditentukan sebelumnya (lihat 13.4.1). Setelah setiap prosedur sampling selesai, subjek akan mengeringkan kedua ujung jari dengan menekan pada handuk kertas kering, pastikan ujung jari lainnya tidak menyentuh permukaan lain.



13.4 Measurement of Residual Activity—Residual activity is assessed at any selected time after the last treatment application (for example, 30 minutes, 1 hour, 4 hours, and so forth) by measuring the survival of the test bacteria applied to the fingerpads by dry contact contamination after pre-selected exposure times.

13.4.1 The following is an example of a procedure for assessing residual activity 30 minutes after the last treatment using exposure times of 1 minute, 5 minutes, 20 minutes, and 1 hour.

13.4.2 All ten fingerpads are contaminated by firmly pressing onto the prepared stainless steel discs. The two thumbs are to be used as time-zero controls. The remaining fingerpads are randomized such that one fingerpad on each hand is used for each exposure time, and the numbers of bacteria recovered from the two fingerpads representing each exposure time are averaged.

13.5 Contamination of the Fingerpads:

13.6 Within 5 min. prior to the contamination of fingerpads, remove contaminated discs from the humidity chamber (see 11.4). Fingerpads should be contaminated as soon as possible after removing discs from chamber, and no more than 5 min. should pass from the time discs are removed until fingerpads are contaminated. Contaminated fingerpads must not touch each other or any surfaces.

13.7 The subject will first contaminate thumbs by pressing each thumbpad firmly onto the contaminated disc for 2 s. The contaminated thumbpads will be used for the time-zero (base line) recovery.

13.8 For determination of residual kill, the subjects will contaminate each randomly chosen fingerpad from each hand by pressing each firmly onto a contaminated disc (one per fingerpad) for 2 seconds. Repeat until all remaining fingerpads have been contaminated.

NOTE 6 It may be necessary to contaminate fingerpads one at a time to allow sufficient time for sampling. For example, thumbs may be contaminated first and sampled immediately. The other fingerpads may then be contaminated in a pre-determined order allowing for timely sampling.

13.9 After the appropriate exposure time, whether for immediate time-zero recovery or for the remaining four time points, contaminated fingerpads will be sampled individually by firmly rubbing the fingerpads in circular motion with firm pressure for 30 s. on the bottom of sampling Petri dishes (see 6.12) containing 10 mL of dilution and sampling fluid (see 7.5). One Petri dish is to be used for each fingerpad sample. After recovery of bacteria from the fingerpads, the sample will be processed for enumeration (see Section 14).

NOTE 7 It may be useful to place Petri dishes on rubber or other non-skid surface to ensure Petri dish movement is minimized during sampling.

13.10 Four time points will be evaluated, one per finger per hand with the thumbs acting as the time-zero baseline sample. Evaluations will be made at pre-determined intervals (see 13.4.1). After each sampling procedure is completed the subject will dry their two fingerpads by pressing onto a dry paper towel, ensuring other fingerpads do not touch any surface

13.11 Subjek diperintahkan untuk tidak meninggalkan laboratorium untuk alasan apapun ketika pengujian dimulai, kecuali dalam keadaan darurat. Selain itu, subjek sebaiknya mengenakan kain pelindung dan diperintahkan untuk tidak menyentuh pakaian mereka, wajah, atau bagian tubuh lainnya dengan tangan selama pengujian berlangsung. Saat pengujian selesai, subjek sebaiknya melakukan pembilasan dengan 70% (v/v) etanol atau 70% (v/v) isopropil alkohol selama 1 menit dan dikeringkan, diikuti dengan pencucian yang diawasi selama 4 menit dengan larutan klorheksidin glukonat 4%. Salep antibiotik topikal dioleskan pada tangan setelah prosedur dekontaminasi.

14 Perhitungan Bakteri

14.1 Hitung *S. aureus* dalam larutan sampel yang diperoleh (lihat 13.9) dengan menggunakan teknik mikrobiologi standar, seperti cawan sebar atau cawan spiral. Teknik cawan tuang tidak direkomendasikan.

14.1.1 Siapkan pengenceran larutan sampel yang diperoleh (lihat 13.9) dalam pengencer dan cairan sampel (lihat 7.5). Gunakan media indikator yang sesuai (lihat 7.4.2.1) dengan penetral yang sesuai, jika diperlukan, sebagai media pemulihan.

14.1.2 Inkubasi cawan yang sudah disiapkan selama 24 jam \pm 4 jam pada suhu 35 °C \pm 2°C.

14.1.3 Hitung koloni *S. aureus* dengan menggunakan penghitung koloni (lihat 6.2) berdasarkan instruksi produsen untuk media indikator (lihat 7.4.2.1).

15 Perhitungan dan Interpretasi Hasil

15.1 Untuk menentukan organisme yang masih bertahan hidup, catat data mentah sebagai CFU/cawan. Hitung rata-rata cawan duplikat (2 cawan dari setiap pengenceran ulang) dan kalikan dengan faktor pengenceran untuk mendapatkan CFU/ml jari.

15.2 Konversi organisme yang masih hidup (CFU/jari) menjadi \log_{10} dan rata-ratakan nilai jari kiri dan kanan untuk setiap interval pengambilan sampel.

15.3 Tentukan reduksi \log_{10} pada setiap interval pemulihan dengan mengurangi nilai pemulihan \log_{10} pada setiap waktu paparan dari nilai pemulihan \log_{10} pada waktu nol.

15.4 Mungkin diperlukan untuk membandingkan bahan uji dengan formulasi uji lainnya. Jika ini terjadi, sebaiknya disiapkan jumlah subjek yang sama untuk setiap formulasi secara acak. Semua parameter uji akan setara untuk produk, meskipun prosedur pencucian untuk produk mungkin berbeda. Semua produk uji sebaiknya dijalankan secara bersamaan.

16 Presisi dan Bias

16.1 Pernyataan presisi dan bias saat ini tidak dapat ditentukan untuk metode ini.

17 Kata Kunci

17.1 *handrub* berbasis alkohol; busa alkohol; antimikroba; antiseptik usap; kontaminan; efikasi; antiseptik tangan; *hand sanitizer*; *hand rub* tenaga kesehatan; *hand wash* tenaga kesehatan; *Staphylococcus aureus*; daya bunuh residu; aktifitas residual



13.11 Subjects will be instructed not to leave the laboratory for any reason once testing begins except in the case of an emergency. Additionally, subjects will be required to wear protective garments and instructed not to touch their clothing, faces, or any other body parts with their hands during the test period. On completion of testing, subjects will be required to perform a 1-min. rinse with 70% (v/v) ethanol or 70% (v/v) isopropyl alcohol and air-dry, followed by a supervised 4-min. wash with a 4% chlorhexidine gluconate solution. A topical antibiotic ointment will be applied to the hands following the decontamination procedure.

14 Enumeration of Bacteria

14.1 Enumerate the *S. aureus* in the recovered sampling solution (see 13.9) using standard microbiological techniques, such as spread plating or spiral plating. The pour plate technique is not recommended.

14.1.1 1 Prepare dilutions of the recovered sampling solution (see 13.9) in dilution and sampling fluid (see 7.5). Use an appropriate indicator medium (see 7.4.2.1) with suitable neutralizer, if necessary, as the recovery medium.

14.1.2 Incubate prepared plates 24 ± 4 h at $35 \pm 2^\circ\text{C}$.

14.1.3 Count *S. aureus* colonies using an appropriate colony counter (see 6.2) based on manufacturer's instructions for the indicator medium (see 7.4.2.1).

15 Calculation or Interpretation of Results

15.1 To determine surviving organisms, record raw data as CFU/plate. Average duplicate plates (2 plates from each replicate dilution) and multiply by the dilution factor to arrive at CFU/mL finger.

15.2 Convert the surviving organisms (CFU/finger) to log₁₀ and average the left and right finger values for each sampling interval.

15.3 Determine log₁₀ reductions at each recovery interval by subtracting log₁₀ recovery values at each exposure time from log₁₀ recovery values at time-zero.

15.4 It may be desirable to compare the test material with other test formulations. If this is the case, an equivalent number of subjects should be assigned to each formulation on a random basis. All test parameters will be equivalent for products, although the wash procedure for an established product may be different. All test products should be run concurrently.

16 Precision and Bias

16.1 A precision and bias statement cannot be made for this method at this time.

17 Keywords

17.1 alcohol-based hand rub; alcohol foam; antimicrobial; antiseptic wipe; contaminant; efficacy; hand antiseptic; hand sanitizer; healthcare personnel handrub; healthcare personnel handwash; *Staphylococcus aureus*; residual kill; residual activity



Informasi pendukung terkait perumus standar

[1] Komite Teknis Perumus SNI

Komite Teknis 11-11 Produk Higiene Perbekalan Kesehatan Rumah Tangga

[2] Susunan keanggotaan Komite Teknis perumus SNI

Ketua : Beluh Mabasa Ginting
Wakil Ketua : Augustine Zaini
Sekretaris : Ihza Ihtimamul Umam
Anggota : 1. Rini Sugiyati
2. Ira Setiawati
3. Fikrah Mawardya
4. Tono Eka Prayitno
5. Cahyani Retno Ariati
6. Rahmana Emran Kartasasimita
7. Pascha Wijaya
8. Merryani Girsang
9. Aprisunadi
10. Toto Waluyadi
11. Dewi Ria Agustin
12. Lisa Amelia
13. Anggiat Yonathan Amazia

[3] Konseptor rancangan SNI

Gugus kerja di Sekretariat Komite Teknis 11-11 Produk Higiene Perbekalan Kesehatan Rumah Tangga

Tim Kerja Kesehatan – Direktorat Pengembangan Standar Agro, Kimia, Kesehatan, dan Penilaian Kesesuaian, Badan Standardisasi Nasional

[4] Sekretariat pengelola Komite Teknis perumus SNI

Direktorat Pengembangan Standar Agro, Kimia, Kesehatan, dan Penilaian Kesesuaian Badan Standardisasi Nasional