

Título do Estudo

Eficácia Microbiológica para Avaliação de Desinfetantes pelo Método da Diluição de Uso do item de teste Ciclo Germ 5G Frente à *Escherichia coli*.



Metodologia de Referência

INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE. Manual de Qualidade: Método da diluição de uso. Rio de Janeiro: Ministério da Saúde – Fundação Oswaldo Cruz, Nº65.3210.007, revisão 14, 11/11/2013. 29p.

Diretora de Estudo

Mariana Ayres Ferraz da Silva

Estudo Concluído

14/Mai/2019

Laboratório Executor

BIOAGRI Laboratórios Ltda.
Rod. SP 127, km 24
Telefone: +55 (19) 3429-7700
Caixa Postal 573 – CEP: 13412-000
Piracicaba/SP - Brasil
www.merieuxnutrisciences.com
E-mail: mariana.ferraz@mxns.com

Patrocinador

Ciclo Farma Indústria Química Eireli
Rua Benedito José de Carvalho Ramos, 150 - Serrana - São Paulo - 14150-000

Estudo #

2922.137.059.18

Declaração de Acompanhamento do Estudo

O estudo descrito neste Relatório Final foi executado sob minha supervisão, seguindo o plano de estudo e os procedimentos descritos no INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE. Manual de Qualidade: Método da diluição de uso. Rio de Janeiro: Ministério da Saúde – Fundação Oswaldo Cruz, Nº65.3210.007, revisão 14, 11/11/2013. 29p, e de acordo com os Princípios das Boas Práticas de Laboratório (BPL) da Norma Nº NIT-DICLA-035-(Rev. 03). PRINCÍPIOS DAS BOAS PRÁTICAS DE LABORATÓRIO – BPL. CGCRE – Coordenação de Geral de Acreditação – Nov/2018 e da OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) Number 1. OECD Principles on Good Laboratory Practice. (as revised in 1997). ENV/MC/CHEM(98)17.

O resultado do estudo refere-se somente ao item de teste estudado e se aplica a amostra conforme recebida e a qual foi enviada pelo patrocinador.

Este relatório representa um registro preciso e verdadeiro dos resultados obtidos.

Plano de estudo, uma cópia do relatório final e todos os dados, registros gerados e observações referentes a este estudo, serão mantidos nos arquivos da BIOAGRI Laboratórios Ltda. por um período de 6 anos.

Item de teste, item de referência e alíquotas do sistema teste serão mantidas nos arquivos da BIOAGRI Laboratórios Ltda., por tempo adequado a sua natureza e conservação e após este período serão descartados profissionalmente ou encaminhadas ao patrocinador.


Mariana Ayres Ferraz da Silva
Diretora de Estudo
Fone: (19) 3429-7700

14 / mai / 2019
dd mmm aaaa

Estudo #: 2922.137.059.18

Título do Estudo: Eficácia Microbiológica para Avaliação de Desinfetantes pelo Método da Diluição de Uso do Item de Teste Ciclo Germ 5G Frente à *Escherichia coli*.


Declaração da Garantia da Qualidade

O relatório foi inspecionado pela Garantia da Qualidade (GQ) – BIOAGRI. As datas e fases de inspeção no estudo estão relacionadas abaixo:

Inspeção		Data das Informações Relatadas	
Data	Fase	Diretor de Estudo	Gerente da Instalação de Teste
18/Abr/2019	Plano de Estudo	18/Abr/2019	18/Abr/2019
26/Nov/2018	Estudos de curta duração: RAS 0201/18 (Preparo do Item Teste e aplicação experimental, avaliação dos resultados)	28/Nov/2018	30/Nov/2018
14/Mai/2019	Relatório Final	14/Mai/2019	14/Mai/2019

A inspeção de processo mais recente da fase laboratorial desta classe de estudo foi realizada entre os dias 22 a 26 de Novembro de 2018. Esta inspeção está registrada no documento interno **RAS 0201/18**. As datas onde o Diretor de Estudo e Gerente da Instalação de Teste foram informados estão descritas no quadro acima.

Os resultados e observações apresentados neste Relatório Final são uma descrição precisa dos dados brutos gerados durante a condução do estudo. Todos os dados brutos gerados durante a condução do estudo foram inspecionados, bem como emendas e desvios aos planos de estudo.


GIANE CRISTINA MARTIM
Insp. da Garantia da Qualidade
Garantia da Qualidade
Fone: (19) 3429-7701

14 / mai / 2019
dd mmm aaaa

Resumo

O estudo da avaliação de desinfetantes pelo método da diluição de uso do Item de teste Ciclo Germ 5G foi desenvolvido utilizando-se do microrganismo *Escherichia coli*, oriundo do banco de culturas do Laboratório de Microbiologia Geral - LMG – Bioagri Laboratórios Ltda., sendo a sua exposição feita por superfície de contato em carreador de aço inox. O mesmo foi realizado com o Item de teste Puro, na presença de soro de cavalo, pelo tempo de contato de 30 minutos, conforme solicitado pelo patrocinador, registrando o seu resultado após 48 horas. Para ser considerado satisfatório, o item teste deve ser capaz de matar microrganismos testes em pelo menos 59 dos 60 cilindros utilizados, no tempo de contato indicado, o que confere um nível de confiança de 95%. Os resultados foram considerados satisfatórios frente ao microrganismo testado.

1. Informações Gerais

Data do Início do Estudo:	22/Abr/2019
Data do Início do Experimento:	30/Abr/2019
Data do Término do Experimento:	04/Mai/2019
Relatório Final:	14/Mai/2019

2. Equipe Técnica

Diretora de Estudo:	Mariana Ayres Ferraz da Silva
Pesquisadora:	Marina Gumiere
Técnica de Laboratório:	Daiane Cristina Mandro
Assistente de Laboratório:	Jéssica Poslednik

3. Objetivo

O objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia de desinfetantes pelo método da diluição de uso do Item de Teste Ciclo Germ 5G frente à *Escherichia coli*.

4. Material e Métodos

4.1 Informações Referentes ao Item de Teste

Item de teste:	Ciclo Germ 5G ⁽¹⁾
Nome Comum do Ingrediente Ativo (i.a.):	Blend: Cloreto de Didecyl Dimethyl Ammonium, n-Alquil Dimethyl Benzyl Ammonium Chloride ⁽¹⁾
Concentração Declarada do i.a. (Patrocinador):	0,6% ⁽¹⁾
Nome Comum do Ingrediente Ativo (i.a.):	Cloridrato de Polyhexametileno Biguanida ⁽¹⁾
Concentração Declarada do i.a. (Patrocinador):	0,26% ⁽¹⁾
Recebida em:	22/Fev/2019
Código Bioagri Laboratórios Ltda.:	SAN-0077-02/19
Concentração Analisada do i.a. (Bioagri Laboratórios Ltda.):	0,650% (m/m) Blend: Cloreto de Didecyl Dimethyl Ammonium, n-Alquil Dimethyl Benzyl Ammonium Chloride 0,282% (m/m) Cloridrato de Polyhexametileno Biguanida ⁽¹⁾
Boletim de Análise LFQ	BA LFQ-0075/19 Blend: Cloreto de Didecyl Dimethyl Ammonium, n-Alquil Dimethyl Benzyl Ammonium Chloride FQ-LFQ-0027/19 Cloridrato de Polyhexametileno Biguanida
Número do lote:	081119PD ⁽¹⁾

Estado Físico:	Líquido límpido, incolor ⁽¹⁾
Data de Fabricação:	30/Jan/2019 ⁽¹⁾
Data de Validade:	30/Jan/2021 ⁽¹⁾
Composição Declarada:	Água deionizada 96,04 Q.S.P Blend: Cloreto de Didecyl Dimethyl 0,6% Ammonium, n-Alquil Dimethyl Benzyl Ammonium Chloride, água. Cloridrato de Polyhexametileno 0,26% Biguanida Mistura Mit/Cmit 1:3 0,1% Metilisotiazolinona/Metilcloro Isotiazolinona Álcool Primário Etoxilado 6,5EO 3,0%
Quantidade de Amostra Recebida:	9154g
Referência:	⁽¹⁾ Informações fornecidas pelo cliente

4.2 Equipamentos

Câmara incubadora
Cronometro digital
Câmara de fluxo
Micropipeta
Banho Maria
Autoclave
Balança
Phmetro

4.3 Material, Reagentes e/ou Solventes

Cilindro Estéril
Tubos de subcultura
TSA
Neutralizantes: Caldo Letheen + Tween
Soro de Cavalo

4.4 Sistema-Teste

4.4.1 Descrição

- Espécie: *Escherichia coli*
- Referência: ATCC 11229
- Origem: Microbiologics
- Lote: 681-60

4.4.2 Justificativa para a seleção do sistema-teste

O sistema teste *Escherichia coli* foi escolhido por ser espécie recomendada pelas agências regulamentadoras governamentais para os testes de eficácia na Avaliação da atividade bactericida em desinfetantes e pelo INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE. Manual de Qualidade: Método da diluição de uso. Rio de Janeiro: Ministério da Saúde – Fundação Oswaldo Cruz, N°65.3210.007, revisão 14, 11/11/2013. 29p.

- Esterilidade dos lotes de ponteira: com as ponteiras aspirou-se o caldo de cultura e dispensou-se o caldo e a ponteira junto em caldo de subcultura; incubou-se a $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Não houve crescimento bacteriano.
- Controle de esterilidade dos carreadores: adicionou-se um cilindro estéril de cada microrganismo teste a tubos separados contendo o meio de subcultura utilizado e incubou-se a $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Não houve crescimento.
- Quantificação de microrganismos nos carreadores: empregou-se 3 carreadores contaminados preparando um pool e em seguida diluições seriadas decimais até 10^4 em tampão fosfato e plaqueou-se com aproximadamente 20ml de agar soja triptíca. Incubou-se a $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 48 horas e registrou-se o número de colônias.

5. Desvios ao Plano de Estudo

5.1 Informação do Plano de Estudo

2. Equipe Técnica

5.2 Desvio

Mudou de:

Diretora de Estudo: Marina Gumiere, Dra

Mudou para:

Diretora de Estudo: Mariana Ayres Ferraz da Silva

5.3 Razão

A diretora de estudo Marina Gumiere foi substituída por Mariana Ayres Ferraz da Silva, devido a reestruturação interna do setor.

5.4 Impacto

A colaboradora Mariana Ayres Ferraz da Silva verificou todos os dados brutos incluídos no estudo e se estão de acordo com o plano de estudo, procedimentos operacionais padrão e de acordo com os Princípios das Boas Práticas de Laboratório (BPL).

As alterações não impactam nos resultados do estudo.

6. Resultados

Tabela 1. Resultados do Ensaio após exposição do Item de Teste

Resultados Microrganismos	Número de Cilindros Utilizados	Ausência	Presença *
<i>Escherichia coli</i> ATCC 11229	60	60	0

* Quando ocorrer crescimento em 1 cilindro, o resultado é satisfatório com 95% de confiança.

Tabela 2. Controle de validação do ensaio

Controle de Validação do Ensaio		
Diluição	Cilindros – Contagem em placa (UFC)	
	Pool	
10 ⁴ 1mL	41	36
UFC/Pool (Média da contagem x 30)	1,15 x 10 ⁷	
UFC/Carreador (Valor do Pool / 3)	3,85 x 10 ⁶	
Contagens de células do inóculo da neutralização		
10 ² 0,1mL	UFC/mL: 23	Quantidade inoculada: 2,30 x 10 ¹
Carreadores (não inoculados) após 10 minutos de contato com a substância teste		
Meio empregado + neutralizante	Crescimento: (+) Presença / (-) ausência	
Caldo Letheen + Tween	Subcultura primária	Subcultura secundária
	(-)	(-)

7. Conclusão

De acordo com a metodologia adotada e nas condições validadas do ensaio, o item de teste foi considerado **satisfatório** frente à cepa testada.

8. Referências Bibliográficas

CRITÉRIOS para habilitação de laboratórios segundo os princípios das Boas Práticas de Laboratórios (BPL). Procedimento ANVISA GGLAS.02/BPL, Rev.00, 1ª Edição, 2001.

Norma N° NIT-DICLA-035-(Rev. 03). PRINCÍPIOS DAS BOAS PRÁTICAS DE LABORATÓRIO – BPL. CGCRE – Coordenação de Geral de Acreditação – Rio de Janeiro. p 16. Nov/2018.

OECD (Organization for Economic Co-operation and Development) SERIES ON PRINCIPLES OF GOOD LABORATORY PRACTICE AND COMPLIANCE MONITORING. Number 1. OECD Principles on Good Laboratory Practice. (as revised in 1997). ENV/MC/CHEM(98)17. OLIS : 21-Jan-1998. Dist. : 26-Jan-1998.

(TOMASINO, S. (chapter editor). 6.3.03 AOAC Official method 960.09. Germicidal and Detergent Sanitizing Action of Disinfectants, Method. In: HORWITZ, W. & LATIMER JR., G.W. (Editors). **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 19th edition, 2012. Gaithersburg: AOAC INTERNATIONAL, chapter 6 – Disinfectants, subchapter 3 – Other Tests, 2012. p.: 24-27.)

(HORWITZ, W. and LATIMER JR, G.W. (Eds.) **Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL: The Scientific Association Dedicated to Analytical Excellence**. 18ed., 2005. Disinfectants/6.3.03 AOAC Official Method 960.09 Germicidal and Detergent Sanitizing Action of Disinfectants: First action, 1960 – Final action, 2000. Gaithersburg: AOAC INTERNATIONAL, revisión 3, 2010. Chapter 6: 20-22.)

INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE. Manual de Qualidade: Método da diluição de uso. Rio de Janeiro: Ministério da Saúde – Fundação Oswaldo Cruz, N°65.3210.007, revisão 14, 11/11/2013. 29p.




BOLETIM DE ANÁLISE FQ Lfq-0027/19

DADOS REFERENTES AO CLIENTE			
Empresa solicitante: CICLO FARMA INDÚSTRIA QUÍMICA EIRELI			
Endereço: Rua Benedito José de Carvalho Ramos, 150, Serrana, SP, CEP: 14150-000			
DADOS REFERENTES A AMOSTRA			
Identificação do item de ensaio*: CICLO GERM 5G			
Código do item de ensaio: SAN-0077-01/19			
Proposta: 00377/19			
Composição*:			
Componentes	Concentrações (%)		
Água Deionizada	96,04 Q.S.P		
Blend: Cloreto de Didecyl Dimethyl Ammonium, N-Alquil Dimethyl Benzyl Ammonium Chloride, Água.	0,6		
Cloridrato de Polyhexametileno Biguanida	0,26		
Mistura Mit/Cmit 1:3 Metilisotiazololinona/Metilcloro Isotiazololinona	0,1		
Álcool Primário Etoilado 6,5EO	3,0		
Informação Adicional*: Concentração Declarada do Ativo: 0,26%			
Lote*: 081119PD			
Data de Fabricação*: 30/Jan/2019			
Data de Validade*: 30/Jan/2021			
Quantidade recebida da amostra: 235 g			
Data do recebimento do item de ensaio: 04/Fev/2019			
Data de início do ensaio: 14/Fev/2019			
Data do fim do ensaio: 18/Fev/2019			
DADOS DE ANÁLISE			
Parâmetro analisado: Teor do Ingrediente Ativo			
Metodologia utilizada: POP-M 2245 Rev.00			
* Informação fornecida pelo cliente e/ou empresa solicitante			
RESULTADOS ANALÍTICOS DA AMOSTRA			
Parâmetro	% (m/m)	Desvio Padrão Relativo (DPR, %)	Variação aceitável (%) ⁽¹⁾
Concentração Analisada de Biguanida	0,282	4,576	0,221 – 0,299

⁽¹⁾ Considerando RDC nº 59 de 17 de Dezembro de 2010

Obs: Este Boletim de Análise só pode ser reproduzido por inteiro e sem nenhuma alteração.
Este Boletim refere-se somente à amostra analisada, não sendo extensivo a outros lotes e/ou produtos.
Plano de amostragem não realizada pelo Laboratório.
Os documentos e registros gerados neste ensaio serão mantidos no(s) arquivo(s) por um período de seis (6) anos.

Piracicaba, 19 de Fevereiro de 2019.


 Marcio José Libérale
 CRQ nº 04444804 – IV Região
 Responsável Técnico

Página 1 de 1

SQB 0623/H – Registro da Qualidade (Elaborado em 24/Ago/2018)

Bioagri Laboratórios Ltda

Piracicaba - SP / Rodovia SP 127, km 24 / Guamilum - Caixa postal: 573 / CEP: 13.412-000

Fone: (19) 3429 7700 / Comercial FÁRMACOS - farmacos.br@mxns.com / Comercial Agro - agro.br@mxns.com | bioagri.com.br | merieuxnutrisciences.com