

Avaliação da Atividade Bactericida Do item de teste **W 80 BI-QUAT PLUS** usado em Superfícies frente à *Candida albicans*.

**Laboratório Executor:**

Nome:	<b>Analytical &amp; Scientific Research - ASR</b>
Endereço:	<b>Sítio Izabel, s/n, Km 95, Rodovia Charqueada-Rio Claro, Charqueada - SP, CEP.: 13.515-000, Brasil</b>

**Patrocinador:**

Nome:	<b>NOW QUIMICA INDUSTRIA E COMERCIO LTDA</b>
Endereço:	<b>RUA PETUNIA, 115, CHACARAS BOA VISTA-MG, CEP: 32.150-200, Brasil</b>

### Informações do Item de teste

Nome Comercial:	<b>W 80 BI-QUAT PLUS</b>		
Lote:	<b>011</b>		
Data de Fabricação:	<b>26/02/2018</b>	Data de Validade:	<b>26/02/2020</b>
Ingrediente Ativo:	<b>PHBM e TENSOATIVOS CATIONICOS</b>	Concentração Declarada:	<b>PHBM: 3,0% TENSOATIVOS CATIONICOS: 20,5%</b>
Código ASR:	<b>SA-2126/19</b>	Proposta Comercial:	<b>02048/19</b>
Recebida em:	<b>24/10/2019</b>	Quantidade Recebida do Item de teste:	<b>8 Frascos total 7736g</b>

### Composição Química

[illegible]

### Informações do Ensaio

Data de Início do Ensaio:	12/11/2019	Data de Término do Ensaio:	14/11/2019
Data do relatório de Ensaio:	06/12/2019		
Metodologia (s) de referência:	<p>Organization for Economic Co-Operation and Development – OECD.Environment Directorate/Joint Meeting of the Chemicals Committee and the Working Party on Chemicals, Pesticides and Biotechnology - ENV/JM/MONO.A.</p> <p><b>Quantitative Method for Evaluating Bactericidal Activity of Microbicides used on Hard Non-Porous Surfaces.</b> In: Guidance Document on Quantitative Methods for Evaluating the Activity of Microbicides Used on Hard Non-Porous Surfaces. Series on Testing and Assessment, No. 187; Series on Biocides, No. 6, p. 1-42, 2013 (11).</p>		



Avaliação da Atividade Bactericida Do item de teste **W 80 BI-QUAT PLUS** usado em Superfícies frente à *Candida albicans*.

**Condições de Ensaio:**

**Concentração de uso:** 1 mL do item de teste em 100 mL de água dura

**Tempo de contato:** 10 minutos

**Microrganismo Testado:** *Candida albicans* – ATCC 10231.

**Meio de cultura e neutralizante utilizado:** Caldo extrato de malte com tween à 0,5 %

**Temperatura do ensaio:** 20°C

**Carga orgânica utilizada:** 25 µL de solução á 5% de albumina bovina, 100 µL de mucina á 0,4% (p/v), e 35 µL da solução de extrato de levedura á 5% (p/v).

**Procedimento Experimental**

Empregou-se discos de aço inoxidável, escovado com propriedades magnéticas, estéreis cuja superfície foi contaminada com a cultura previamente crescida e preparada com adição de carga orgânica. As superfícies inoculadas dos discos foram secas sob vácuo e, em seguida, separou-se, quatro superfícies que foram empregadas no controle e três no tratamento com o item de teste. O item de teste foi avaliado colocando-se 50 microlitros em contato com o microrganismo e no caso do controle o mesmo volume de PBS (tampão fosfato). No final do tempo de contato, o item de teste foi neutralizado, os carreadores eluidos por filtração e as membranas filtrantes dos eluatos colocadas em placas de Petri com meio ágar nutriente que foram incubadas por 48 horas a 30°C, sendo avaliadas, então, para a detecção da presença e contagem das células viáveis do microrganismo teste. No caso dos controles, diluições seriadas foram feitas antes da obtenção das membranas filtrantes dos eluatos passados por filtração daquelas diluições com possibilidade de contagem, onde o critério de aceitação é que as contagens nos carreadores estejam na ordem de aproximadamente 6,5 (correspondente a média geométrica de  $3,2 \times 10^6$  UFC/mL) a  $7,5 \log_{10}$  (correspondente a média geométrica de  $3,2 \times 10^7$  UFC/mL).

Foram realizados também, os testes para validação demonstrando as condições do ensaio (tratamento 1a) a não toxicidade do neutralizante escolhido e sua eficácia na neutralização, onde o critério de aceitação é que as recuperações estejam em média dentro de 20 – 200 UFC inoculadas por carreador.

**Critério de Aceitação**

Para que o item de teste seja considerado satisfatório como Desinfetante deve alcançar uma redução de  $5 \log_{10}$  no tempo de contato testado.

**Resultado (s) Analítico (s)**

Na **Tabela 1** estão apresentados os resultados da contagem das células nos carreadores do Controle e do item de teste e viabilidade do inoculo empregado de células viáveis de *Candida albicans*. A redução obtida nas contagens de células viáveis de *Candida albicans* nos carreadores inoculados em relação aos carreadores do controle foi de  $5,50 \log_{10}$  após 10 minutos de contato. O critério adotado para que o item de teste seja um bactericida desinfetante é que haja uma redução de  $5,0 \log_{10}$ , portanto, o item de teste, foi considerado **satisfatório**.

Na **Tabela 2**, estão apresentados resultados para validação demonstrando as condições do ensaio (tratamento 1a) a não toxicidade do neutralizante escolhido e sua eficácia na neutralização onde as recuperações estiveram em média dentro de 20 – 200 UFC inoculadas por carreador, portanto, o estudo foi considerado válido.



Avaliação da Atividade Bactericida Do item de teste **W 80 BI-QUAT PLUS** usado em Superfícies frente à *Candida albicans*.

**Tabela 1. Resultados da contagem das células nos carreadores do Controle e do item de teste e viabilidade do inoculo empregado de células viáveis de *Candida albicans*.**

Viabilidade do inoculo (UFC/mL)	Contagem de células nos carreadores (UFC/carreador)						
	Tratamento com o Controle – após 10 minutos				Tratamento com o item de teste após 10 minutos		
1,63 x 10 <sup>7</sup>	Carreador 1 2,9 x 10 <sup>5</sup>	Carreador 2 3,4 x 10 <sup>5</sup>	Carreador 3 3,2 x 10 <sup>5</sup>	Carreador 4 3,2 x 10 <sup>5</sup>	Carreador 1 <1	Carreador 2 <1	Carreador 3 <1
Valores médios (UFC)	3,17 x 10 <sup>5</sup>				<1		
Valores médios (log <sub>10</sub> )	5,50				0		
Redução logarítmica	>5,50						
Redução percentual	>99,999%						

Legenda: UFC: Unidades Formadoras de Colônias.

**Tabela 2. Validação do estudo.**

Média da Contagem da recuperação nos carreadores inoculados com 20-200 UFC/carreador		
Inoculados com a suspensão B (com carga orgânica)		
Tratamento 1a	Tratamento Toxicidade do neutralizante	Tratamento Eficácia do neutralizante
35	37	40

Legenda: UFC: Unidades Formadoras de Colônias

## Conclusão

De acordo com a metodologia adotada e os resultados obtidos, o item de teste **W 80 BI-QUAT PLUS** foi considerado **satisfatório** frente a *Candida albicans*.

## Nota(s):

Este Relatório de Ensaio refere-se somente ao Item de teste analisado, não sendo extensivo a outros lotes e/ou produtos.

Este Relatório de Ensaio poderá ser reproduzido por inteiro e sem nenhuma alteração, reprodução de partes requer autorização por escrito da Analytical & Scientific Research.

A amostragem não foi realizada pela Analytical & Scientific Research.

Todos os documentos e registros gerados neste ensaio serão mantidos no(s) arquivo(s) da Analytical & Scientific Research por um período de seis (6) anos

  
Carla Mingati Zambon  
Responsável Técnica

  
Ivan Fernando Bortoli  
Gerente da Garantia da Qualidade

----- Fim do Relatório de Ensaio -----

**Título do Estudo:**

Avaliação da atividade bactericida da substância teste **W 80 Bi-Quat Plus** pelo método da diluição de uso frente a *Escherichia coli*.

**Metodologia do Estudo:**

FIOCRUZ - Fundação Oswaldo Cruz. INCQS - Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde. POP - Procedimento Operacional Padronizado, número 65.3240.011. Método da Diluição de Uso. (revisão 00), 24/05/2016. 32 p.

**Diretora de Estudo:**

**Márcia R. T. de C. Ranzani, Dra.**

Sítio Izabel - Rodovia Charqueada-Rio Claro, s/nº, Km 95 – Charqueada/SP

Telefone: +55 (19) 3486-2112 | +55 (19) 3486-0673

Site: [www.asrlaboratorio.com.br](http://www.asrlaboratorio.com.br)

E-mail: [marciaranzani@asrlaboratorio.com.br](mailto:marciaranzani@asrlaboratorio.com.br)

**Patrocinador:**

**Now Química Indústria e Comércio LTDA**

Rua Petúnia, Nº 115, Chácaras Boa Vista

Contagem/MG, Brasil

CEP.: 32.150-200

**Instalação de Teste:**

**ASR Estudos e Análises Biológicas Ltda.**

Sítio Izabel - Rodovia Charqueada-Rio Claro, s/nº, Km 95 – Charqueada/SP

Telefone: +55 (19) 3486-2112 | +55 (19) 3486-0673

Site: [www.asrlaboratorio.com.br](http://www.asrlaboratorio.com.br)

E-mail: [asr@asrlaboratorio.com.br](mailto:asr@asrlaboratorio.com.br)



**Declaração de Conformidade com os Princípios das Boas Práticas de Laboratório (BPL)**

Este estudo foi conduzido sob minha supervisão, seguindo a metodologia descrita no guia FIOCRUZ - Fundação Oswaldo Cruz. INCQS - Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde. POP - Procedimento Operacional Padronizado, número 65.3240.011. Método da Diluição de Uso. (revisão 00), 24/05/2016. 32 p. e de acordo com os Princípios das Boas Práticas de Laboratório (BPL) da Norma N° NIT-DICLA-035 (Revisão 02). PRINCÍPIOS DAS BOAS PRÁTICAS DE LABORATÓRIO – BPL. INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia – Set/2011 e seus documentos complementares que atendem aos princípios das Boas Práticas de Laboratório preconizados pela OECD (Organization for Economic Co-operation and Development) Number 1. OECD Principles on Good Laboratory Practice. (as revised in 1997).ENV/MC/CHEM (98) 17.

Este relatório representa um registro preciso e verdadeiro dos resultados obtidos, todos os dados brutos originais incluindo qualquer meio de armazenamento eletrônico registrado, o Plano de Estudo aprovado, uma cópia do Relatório Final, e outros documentos e materiais relacionados ao estudo serão mantidos no Arquivo Central da ASR – Consultoria em Análises Científicas Ltda.

Não houveram emendas e/ou desvios ao Plano de Estudo.



Márcia R. T. de C. Ranzani, Dra.  
**Diretora de Estudo**

13 / 07 / 2017  
**Data**

Instalação de Teste Reconhecida em Conformidade aos Princípios das Boas Práticas de Laboratório – BPL

**Declaração do Programa da Garantia da Qualidade (GQ)**

Este Relatório foi inspecionado com relação ao Plano de Estudo, procedimentos operacionais padrão e dados brutos para verificação da conformidade com as Boas Práticas de Laboratório. As inspeções foram realizadas de acordo com os procedimentos operacionais padrão da Garantia da Qualidade da Analytical & Scientific Research (ASR) em conformidade com a norma no. NIT-DICLA-035 - (Rev. 02) – PRINCIPIOS DAS BOAS PRÁTICAS DE LABORATÓRIO – BPL, INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia – Set/2011 e da OECD (Organization for Economic Co – operation and Development) Number 1. OECD Principles on Good Laboratory Practice. (as revised in 1997). ENV/MC/CHEM (98) 17.

Os resultados apresentados neste relatório representam um registro exato dos dados brutos gerados durante a condução do estudo.

Os tipos de inspeções bem como as datas em que foram relatadas a Diretora de Estudo e ao Gerente da Instalação de Teste estão apresentados abaixo:

Tipos de Inspeções		Notificações	
Número	Descrição	Diretora de Estudo	Gerente da Instalação de Teste
RIGQ nº. 0747/18 - B	Plano de Estudo	08/06/2018	08/06/2018
RIGQ nº. 0743/18 – B1*	Inspeção de Processo	08/06/2018	08/06/2018
RIGQ nº. 0900/18 - B	Dados Brutos	13/07/2018	13/07/2018
RIGQ nº. 0900/18 - B	Relatório Final	13/07/2018	13/07/2018

\*A inspeção de processo mais recente do estudo de atividade bactericida pelo método da diluição de uso foi realizada em 08/06/2018 – RIGQ nº. 0743/18-B1.

  
Ivan Fernando Bortoli  
Gerente da Garantia da Qualidade

13 / 07 / 2019  
Data

Instalação de Teste Reconhecida em Conformidade aos Princípios das Boas Práticas de Laboratório – BPL



**Índice**

<b>Declaração de Conformidade com os Princípios das Boas Práticas de Laboratório (BPL)</b>	<b>2</b>
<b>Declaração do Programa da Garantia da Qualidade (GQ)</b>	<b>3</b>
<b>1. Introdução</b>	<b>5</b>
1.1 Objetivo	5
1.2 Instalação de Teste e Período de Condução do Estudo	5
1.3 Pessoal envolvido no Estudo	6
1.4 Do Armazenamento	6
<b>2. Materiais e Métodos</b>	<b>6</b>
2.1 Informações da Substância Teste	6
2.2 Equipamentos	7
2.3 Materiais	7
2.4 Reagentes, Soluções, Solventes e Meios de Cultura	7
2.5 Metodologia de Referência	8
2.5.1 Seleção, Justificativa e Origem do Sistema Teste	8
2.5.2 Delineamento Experimental	8
2.5.3 Concentração de Uso	8
2.5.4 Forma de Aplicação	8
2.5.5 Procedimento Experimental	8
2.5.5.1 Condução do estudo	9
2.5.5.1.1 Preparo da Cultura Teste	9
2.5.5.1.2 Inoculação dos carreadores com os microrganismos teste e a contagem de bactérias viáveis	9
2.5.6 Condução do Estudo	9
2.5.6.1 Confirmação de Neutralização	9
2.5.6.2 Validações	10
2.5.7 Cálculos / Estatísticas	10
<b>3. Informações da Substância de Referência</b>	<b>10</b>
<b>4. Desvios ao Plano de Estudo</b>	<b>10</b>
<b>5. Emendas ao Plano de Estudo</b>	<b>10</b>
<b>6. Resultados</b>	<b>10</b>
<b>7. Conclusão</b>	<b>12</b>
<b>8. Referências Bibliográficas</b>	<b>12</b>
<b>9. Anexo I – Certificado de Análise</b>	<b>13</b>
<b>10. Anexo II – Certificado de Origem do Sistema Teste</b>	<b>15</b>

Instalação de Teste Reconhecida em Conformidade aos Princípios das Boas Práticas de Laboratório – BPL

## Resumo

Este estudo foi conduzido de acordo com o método "Avaliação da atividade bactericida pelo método da diluição de uso" conforme a metodologia: INCQS. Nº 65.3240.011. Método da Diluição de Uso. (revisão 00), 24/05/2016. 32 p e de acordo com os Princípios das Boas Práticas de Laboratório (BPL) da Norma Nº NIT-DICLA-035 (Revisão 02). O objetivo deste estudo foi de avaliar a atividade bactericida desinfetante da substância teste **W 80 Bi-Quat Plus** frente a *Escherichia coli*, usada em sua forma diluída na concentração de 8 mL para 2000 mL de água purificada estéril (Equivalente a 1:250), para o tempo de contato de 10 minutos. Para o microrganismo teste, foram empregados 60 cilindros carreadores de inox que entraram em contato direto com a substância teste, pré estabilizada a 20°C. Após o período de exposição, os carreadores foram transferidos para tubos com meio de cultura acrescido de neutralizante. Após a neutralização os tubos permaneceram incubados por 48 horas a 36°C, onde apresentaram crescimento em 1 dos 60 cilindros testados. Foram realizados também, controle da esterilidade de todo material utilizado no estudo, controle da viabilidade do meio de cultura e controle da viabilidade dos cilindros, que apresentaram resultados satisfatórios validando o estudo. Para ser considerada satisfatória, a substância teste deve ser capaz de matar o microrganismo teste *E. coli* sobre 59 dos 60 cilindros, utilizados no tempo de contato estudado. De acordo com a metodologia adotada e os resultados obtidos, a substância teste foi considerada **satisfatória** frente a cepa testada.

## 1. Introdução

### 1.1 Objetivo

O objetivo deste estudo foi de avaliar a atividade bactericida desinfetante da substância teste **W 80 Bi-Quat Plus** frente a *Escherichia coli*.

### 1.2 Instalação de Teste e Período de Condução do Estudo

Este estudo foi realizado no Laboratório de Microbiologia da ASR – Estudos e Análises Biológicas Ltda. As datas abaixo representam o período em que o estudo foi conduzido.

Início do Estudo:	<b>08/06/2018</b>
Início da Fase Experimental:	<b>03/07/2018</b>
Término da Fase Experimental:	<b>10/07/2018</b>
Término do Estudo:	<b>13/07/2018</b>



### 1.3 Pessoal envolvido no Estudo

Diretora de Estudo:	Márcia R. T. de C. Ranzani, Dra.
Pessoal:	Daniela da Silva Cappellasso, Mariana L. Favarin e Melina P. Meneghini
Garantia da Qualidade:	Ivan Fernando Bortoli
Gerente da Instalação de Teste:	Marcio Adriani Gava

### 1.4 Do Armazenamento

Todos os dados brutos originais, o Plano de Estudo assinado, uma cópia do Relatório Final, e outros documentos e materiais relacionados ao estudo estão retidos no Arquivo central da Analytical & Scientific Research, ASR – Consultoria em Análises Científicas Ltda, localizado na Rua Santa Cecília, nº 225, Centro, Charqueada-SP, e serão armazenados por um período mínimo de 10 (dez) anos.

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1 Informações da Substância Teste

**Substância teste:** **W 80 Bi-Quat Plus**  
**Proposta:** 00415/18  
**Recebida em:** 14/05/2018  
**Código ASR:** SA-0466/18  
**Nome comum do i.a.:** Polihexametileno Biguanida (PHMB) e Tensoativos Catiônicos <sup>(1)</sup>  
**Concentração declarada do i.a.:** Polihexametileno Biguanida (PHMB): 1,50% <sup>(1)</sup>  
 Tensoativos Catiônicos: 9,30 <sup>(1)</sup>

#### Composição Quali-Quantitativa:

#### Componentes <sup>(1)</sup>

%

**Confidencial**

**Número do lote:**

**Data de fabricação:**

**Data de validade:**

**Quantidade de substância teste  
recebida:**

**Referências:**

08/05/2018 <sup>(1)</sup>

08/05/2020 <sup>(1)</sup>

8 frascos

<sup>(1)</sup> Informações fornecidas pelo Patrocinador

Instalação de Teste Reconhecida em Conformidade aos Princípios das Boas Práticas de Laboratório – BPL

## 2.2 Equipamentos

Descrição	Código do Equipamento
Agitador de Tubos	AT-002
Balança analítica	B-005, B-003
Banho Maria	BM-002
Cabine de Segurança Biológica	CSB-001, CSB-002
Contador de Colônias	CCOL-001
Cronômetro	CD-008, CD-006
Câmara Incubadora	CI-006
Micropipeta	MA-006, MA-007
Estufa	ESE-002
Termômetro	TD-033, TD-031, TV-002
Autoclave	AV-001, AV-002
Medidor de pH	MP-002

## 2.3 Materiais

- \* Alça bacteriológica de 4 mm;
- \* Banho de água a 20°C;
- \* Cilindros carregadores de aço inoxidável tipo 304, SS 18-8, polido, com  $8 \pm 1$  mm (diâmetro externo) x  $6 \pm 1$  mm (diâmetro interno) x  $10 \pm 1$  mm (comprimento);
- \* Gancho de transferência;
- \* Ponteiras estéreis para 100 e 1000  $\mu$ L;
- \* Papel de filtro Whatman Nº2 (ou similar);
- \* Placas de Petri estéreis: 100 mm de diâmetro ou similar;
- \* Tubos de ensaio: 25 x 150 mm;
- \* Balão volumétrico de 2000 mL (BV-074);
- \* Enrlenmeyer 250 mL;

## 2.4 Reagentes, Soluções, Solventes e Meios de Cultura

Descrição	Lote	Validade
Água Purificada estéril	E-020718-001-02	17/07/2018
Caldo Nutriente	E-280618-001-04	28/08/2018
Caldo Letheen com tween à 0,5%	E-030718-001-02	03/09/2018
Caldo Letheen	E-270618-001-01	27/08/2018
TSA	E-020718-001-01	02/09/2018
Solução de Tampão fosfato	E-290618-001-04	29/08/2018

Instalação de Teste Reconhecida em Conformidade aos Princípios das Boas Práticas de Laboratório – BPL



## **2.5 Metodologia de Referência**

Este estudo foi conduzido seguindo a Metodologia FIOCRUZ - Fundação Oswaldo Cruz. INCQS - Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde. POP - Procedimento Operacional Padronizado, número 65.3240.011. Método da Diluição de Uso. (revisão 00), 24/05/2016. 32 p.

### **2.5.1 Seleção, Justificativa e Origem do Sistema Teste**

O sistema teste utilizado no estudo é o recomendado pela metodologia seguida.

O sistema teste selecionado foi a seguinte cultura de bactéria da espécie e referência ATCC (American Type Culture Collection):

*Escherichia coli* – Referência ATCC nº. 11229 foi adquirido junto a Microbiologics, acreditado como Produtora de Material de Referência pela Lab-Elite, Cert # 2655.01. O prazo de validade do lote ME-070219-Ec11229 do microrganismo empregado, nas condições do Laboratório é até 07/02/2019 (18 meses de validade da abertura do liofilizado, dentro do prazo de validade do Certificado, e preparo dos cryovials).

### **2.5.2 Delineamento Experimental**

Para o microrganismo teste, foram empregados, um total de 70 cilindros carreadores, devidamente preparados e esterilizados conforme procedimento **POP-M 0097**, sendo que, 60 cilindros corresponderam ao teste/microrganismo e o restante foi empregado para os controles de esterilidade e viabilidade do meio de cultura, e viabilidade dos cilindros contaminados.

### **2.5.3 Concentração de Uso**

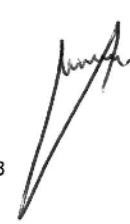
A substância teste foi aplicada diluída, na concentração de 8 mL para 2000 mL de água purificada estéril (Equivalente a 1:250) e tempo de contato de 10 minutos, e, foi pré-estabilizada no banho a  $20 \pm 1^\circ\text{C}$ .

### **2.5.4 Forma de Aplicação**

Foram empregados 60 cilindros carreadores de inox, para o teste correspondendo a cultura de microrganismo avaliada, previamente inoculados, que permaneceram em contato direto com a substância teste na concentração e tempo de contato indicados.

### **2.5.5 Procedimento Experimental**

Todos os procedimentos foram realizados sob condições assépticas e todos os materiais que entraram em contato com substância teste e/ou microrganismos estavam estéreis.



### **2.5.5.1 Condução do estudo**

#### **2.5.5.1.1 Preparo da Cultura Teste**

A partir da cultura estoque mantidas no Banco de Cultura da ASR, uma alíquota foi tomada e adicionada a um tubo, contendo 10 mL de caldo nutriente, que foi agitado e incubado por  $24 \pm 2$  horas à  $36 \pm 1^\circ\text{C}$ . Cada cultura foi empregada a partir do primeiro repique e foi utilizada até o quinto repique para gerar a cultura teste. Para obtenção de cada cultura teste foram inoculados um número suficiente de tubos contendo 10 mL de caldo nutriente com 10  $\mu\text{L}$  da cultura de 24 horas. Em seguida foram incubados à  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  por 48-54 horas.

#### **2.5.5.1.2 Inoculação dos carreadores com os microrganismos teste e a contagem de bactérias viáveis**

Usando um agitador de tubos, os tubos com crescimento de 48-54 horas foram agitados, após descanso de 15 minutos a temperatura ambiente, a superfície de cada cultura foi removida (isto é, acima dos  $\frac{3}{4}$ ), assim, foram excluídos quaisquer partículas ou grumos. Para a cultura, foi feito um pool do volume total do caldo com crescimento e em seguida foram transferidos em alíquotas para número suficiente de tubos, que receberam os cilindros na proporção de 1 mL/cilindro. Os cilindros foram transferidos para o caldo de crescimento permanecendo por 15 minutos. Em seguida foram colocados a secar à  $36 \pm 1^\circ\text{C}$ , durante  $40 \pm 2$  minutos, em placas de Petri contendo papel de filtro, na posição vertical. Os carreadores foram usados no estudo, no máximo, 2 horas após a secagem.

Foram feitas contagens de bactérias viáveis em dois conjuntos de 3 carreadores de cada cultura, sendo um conjunto imediatamente antes de conduzir o estudo com o desinfetante e outro conjunto imediatamente após a condução do estudo com desinfetante.

### **2.5.6 Condução do Estudo**

O desinfetante testado, na diluição de uso indicado, foi distribuído em 60 tubos, para a cultura, em porções de 10 mL. Os tubos com o desinfetante foram colocados em banho de água a  $20^\circ\text{C}$ , por aproximadamente 10 minutos, antes de iniciar o estudo. O trabalho foi realizado em grupos de carreadores. Os carreadores foram transferidos sequencialmente, das placas de Petri para os tubos contendo o desinfetante, obedecendo o tempo de transferência de modo que os carreadores de cada grupo permaneceram dentro do tempo de contato especificado. Os tubos de subcultura foram incubados à  $36 \pm 1^\circ\text{C}$ , durante  $48 \pm 2$  horas. A neutralização do ativo foi confirmada.

#### **2.5.6.1 Confirmação de Neutralização**

A escolha do meio de cultivo primário foi feita levando-se em conta dados históricos e bibliográficos listados no **POP-M 0093**. Paralelamente ao estudo, foi conduzido um teste de confirmação da neutralização.



Em teste separado, simulando as condições do estudo, um carreador (não inoculado) foi exposto ao desinfetante testado e transferido para meio de subcultura primário. Imediatamente após a transferência, o tubo foi inoculado com 10-100 UFC/mL por tubo de cultura e incubou-se por  $48 \pm 2$  horas à  $36 \pm 1^\circ\text{C}$ . O número de células em suspensão foi confirmado pelo método pour-plate, em duplicata. Os tubos foram avaliados quanto a presença de crescimento.

#### **2.5.6.2 Validações**

Foram realizados os controles de esterilidade dos meios de cultura, dos lotes de ponteiras, pipetas e dos cilindros.

#### **2.5.7 Cálculos / Estatísticas**

Para contagem em cilindros individuais de 10 mL:

$$\text{UFC/mL} = \frac{(\text{media UFC dil. } 10^{-x}) + (\text{media UFC dil. } 10^{-y}) + (\text{media UFC dil. } 10^{-z})}{10^{-x} + 10^{-y} + 10^{-z}}$$

Para contagem do Pool dos 3 cilindros (volume total de 30 mL):

$$\text{UFC/mL} = \frac{(\text{media UFC dil. } 10^{-x}) \times (30/3)}{10^{-x}}$$

### **3. Informações da Substância de Referência**

Não aplicável.

### **4. Desvios ao Plano de Estudo**

Não houve desvio ao plano de estudo.

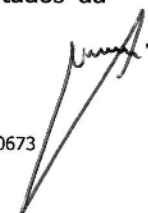
### **5. Emendas ao Plano de Estudo**

Não houve emenda ao Plano de Estudo.

### **6. Resultados**

A viabilidade do carreador está expressa na Tabela 1, onde a contagem obtida esteve dentro do intervalo ( $10^5$  a  $10^6$  UFC/carreador). O teste de neutralização, apresentado na Tabela 2, demonstrou a recuperação de níveis baixos, isto é, 10 – 100 UFC/mL do microrganismo no meio de subcultura, sendo considerado validado. A esterilidade dos materiais e meios de cultura utilizados no estudo e a viabilidade do Caldo Letheen com tween à 0,5% foram apresentados na Tabela 3, demonstrando que não houve nenhum crescimento de microrganismo após incubação a  $36 \pm 1^\circ\text{C}$  por 48 horas para os materiais do estudo e que o meio de cultura escolhido foi apropriado para o uso. Na Tabela 4, estão apresentados os resultados da esterilidade da substância teste, onde a mesma se apresenta livre de contaminação. Para ser considerada satisfatória, a substância teste deve ser capaz de matar o sistema teste *E. coli* sobre 59 dos 60 cilindros, utilizados no tempo de contato estudado. O resultado do teste está expresso na Tabela 5, onde foi observado crescimento em 1 dos 60 cilindros testados. Na Tabela 6, estão expressos os resultados da análise de teor da solução da substância teste, onde os resultados obtidos foram satisfatórios.

Instalação de Teste Reconhecida em Conformidade aos Princípios das Boas Práticas de Laboratório – BPL



O certificado de análise, referente ao teor do ativo na substância teste está demonstrado no anexo I. O certificado de origem do sistema teste está apresentado no anexo II.

**Tabela 1.** Resultado da contagem das células no carreador.

Resultado após 48 horas de incubação		
Microrganismo	UFC/Carreador	
	Antes do Teste	Depois do Teste
<i>Escherichia coli</i>	$3,35 \times 10^5$	$3,2 \times 10^5$

**Tabela 2.** Resultados da confirmação da neutralização.

Resultado após 48 horas de incubação		
Cepa	Resultado do crescimento do Tubo de Subcultura Primária <sup>(1)</sup>	Resultado Número de UFC/mL recuperado na Confirmação da Neutralização <sup>(2)</sup>
<i>Escherichia coli</i>	(+)	23

<sup>(1)</sup> (+) tubos com crescimento. A presença de crescimento indica neutralização efetiva (Controle validado)

<sup>(2)</sup> A recuperação deve estar entre 10 e 100 UFC/mL.

**Tabela 3.** Validação do estudo.

Resultado após 48 horas de incubação		
Validação		Resultados
Controle da Viabilidade do Caldo Letheen com tween à 0,5%	<i>Escherichia coli</i>	(+)
Esterilidade dos materiais e meios de cultura		Estéreis

(+) tubos com crescimento

**Tabela 4.** Resultados da Esterilidade da Substância Teste após o Período de Incubação.

Resultado após 48 horas de incubação		
Temperatura de incubação	Meio de Cultura	Resultado
36 °C e 55 °C	Caldo Letheen	Ausência de crescimento
	Caldo Tioglicolato	

**Tabela 5.** Resultados do crescimento do carreador após o contato com a substância teste.

Resultado após 48 horas de incubação			
Microrganismo	Tubo de Subcultura	Carreadores com	
		Presença de crescimento	Ausência de crescimento
<i>Escherichia coli</i>	1ª subcultura	1	59

\*ao nível de confiança de 95%.

**Tabela 6.** Análise Química da Solução de Trabalho da Substância Teste realizada pelo Laboratório de Físico-Química da ASR.

Análise	Concentração nominal	Resultados	Limite de aceitabilidade
Teor Polihexametileno Biguanida	0,00625%	0,0068%	0,00531 a 0,00719%

\*Considerando variação de  $\pm 15\%$  RDC nº. 59 (2010).

## 7. Conclusão

De acordo com a metodologia adotada e os resultados obtidos, a substância teste **W 80 Bi-Quat Plus** foi considerada **satisfatória** contra *Escherichia coli*.

## 8. Referências Bibliográficas

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 14, de 28 de fevereiro de 2007. Aprova o Regulamento Técnico para Produtos Saneantes com Ação Antimicrobiana harmonizado no âmbito do Mercosul através da Resolução GMC nº50/06 que consta na presente Resolução. Diário Oficial da União [da República Federativa do Brasil.] Poder Executivo, 5 de março de 2007.


Norma Nº NIT-DICLA-035-(Rev. 02). PRINCÍPIOS DAS BOAS PRÁTICAS DE LABORATÓRIO – BPL. INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia – Rio de Janeiro. p19. Set/2011.

OECD (Organisation 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.

POP-M 0093 (Procedimento Operacional Padrão), Revisão 05, 2017. Avaliação da atividade bactericida de desinfetantes pelo método de diluição de uso. Analytical & Scientific Research - Estudos e Análises Biológica Ltda. Charqueada, SP. 24p.



**9. Anexo I – Certificado de Análise**


		<b>Certificado de Análise</b> <b>CA-0490/18</b>	
		Determinação do Grau de Pureza (Teor) dos Ingredientes Ativos <b>Polihexametileno Biguanida (PHMB) e Tensoativos Catiônicos</b> da Substância Teste <b>W 80 Bi-Quat Plus</b> .	
<b>Laboratório Executor</b>			
Nome do Laboratório:		Analytical & Scientific Research - ASR	
Endereço:		Rua Santa Cecília, nº 225, Centro, Charqueada - SP, CEP.: 13.515-000, Brasil	
<b>Patrocinador</b>			
Patrocinador:		Now Química Indústria e Comércio LTDA	
Endereço:		Rua Petúnia, Nº 115, Chácara Boa Vista, Contagem - MG, CEP.: 32.150-200, Brasil	
<b>Informações da Substância Teste</b>			
Nome Comercial:		W 80 Bi-Quat Plus	
Lote:		003	
Data de Fabricação:		Data de Validade:	08/05/2020
Ingrediente Ativo:		Concentração Declarada:	PHMB: 1,50% Tensoativos Catiônicos: 9,3%
Código ASR:		Proposta Comercial:	00415/18
Recebida em:		Quantidade Recebida de Subst. Teste:	8 Frascos
<b>Composição Química</b>			
<b>Componentes</b>		<b>Concentrações (%)</b>	
<div style="background-color: lightblue; width: 100%; height: 100%; display: flex; align-items: center; justify-content: center;"> <div style="text-align: center;"> <h1 style="margin: 0;">CONFIDENCIAL</h1> </div> </div>			
<b>Informações do Ensaio</b>			
Data de Início do Ensaio:		Data de Término do Ensaio:	11/06/2018
Data de Conclusão do C.A.:		13/06/2018	
Metodologia(s) Utilizada(s):		POP-M 0006, Rev.: 05. INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE. Procedimento Operacional Padronizado: Determinação de tensoativos aniônico e catiônico. Rio de Janeiro: Ministério da Saúde - Fundação Oswaldo Cruz, INCQS nº 65.3110.014, revisão 11, 22/06/2015. 16p. ASR0011.0070.18 - Validação de Metodologia Analítica para Determinação do Grau de Pureza (Teor) do Ingrediente Ativo <b>Polihexametileno Biguanida (PHMB)</b> da Substância Teste <b>W 80 Bi-Quat Plus</b> .	

ASR Analytical & Scientific Research | Rua Santa Cecília, 225 | CEP 13.515-000 | Centro | Charqueada - SP | Telefone: +55 (19) 3486-2112 | +55 (19) 3486-0673  
Página 1 de 2

Instalação de Teste Reconhecida em Conformidade aos Princípios das Boas Práticas de Laboratório – BPL

ASR - Sítio Izabel - Rodovia Charqueada-Rio Claro, s/nº, Km 95 | Charqueada - SP | CEP: 13515-000 | Brasil | Fone: +55 019 3486-2112 - +55 019 3486-0673  
E-mail: [asr@asrlaboratorio.com.br](mailto:asr@asrlaboratorio.com.br) | Site: [www.asrlaboratorio.com.br](http://www.asrlaboratorio.com.br)



 <p>ASR ANALYTICAL &amp; SCIENTIFIC RESEARCH</p>	Certificado de Análise CA-0490/18
	Determinação do Grau de Pureza (Teor) dos Ingredientes Ativos <b>Polihexametileno Biguanida (PHMB) e Tensoativos Catiônicos da</b> Substância Teste <b>W 80 Bi-Quat Plus.</b>

**Resultado(s) Analítico(s)**

Concentração Analisada do Ingrediente Ativo Polihexametileno Biguanida (PHMB)*:	1,5635 ± 0,0105% – Satisfatório <sup>1</sup>
Concentração Analisada do Ingrediente Ativo Tensoativos Catiônicos**:	9,03 ± 0,02% – Satisfatório <sup>1</sup>

**Nota(s):**

\*Resultado obtido do Relatório Final ASR0011.0070.18 do estudo conduzido seguindo os Princípios das Boas Práticas de Laboratório (BPL).

\*\*Resultado obtido do Relatório Final ASR0078.0048.18 do estudo conduzido seguindo os Princípios das Boas Práticas de Laboratório (BPL).

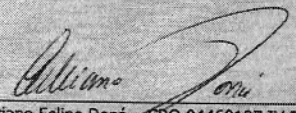
Este Certificado de Análise refere-se somente à Substância Teste analisada, não sendo extensivo a outros lotes e/ou produtos.

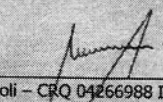
Este Certificado de Análise poderá ser reproduzido por inteiro e sem nenhuma alteração, reprodução de partes requer autorização por escrito da Analytical & Scientific Research.

A amostragem não foi realizada pela Analytical & Scientific Research.

Todos os documentos e registros gerados neste ensaio serão mantidos no(s) arquivo(s) da Analytical & Scientific Research por um período de dez (10) anos.

<sup>1</sup>Considerando RDC nº 59 (2010).

  
Adriano Felipe Doná – CRQ 04460107 IV Região  
**Responsável Técnico**

  
Ivan F. Bortoli – CRQ 04266988 IV Região  
**Gerente da Garantia da Qualidade**

\_\_\_\_\_  
Fim do Certificado de Análise

**10. Anexo II – Certificado de Origem do Sistema Teste**

 	
<p><b>Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release</b></p>	
<p><b>Specifications</b>          Microorganism Name: Escherichia coli          Catalog Number: 0681(CRM)          Lot Number: 681-60          Reference Number: ATCC® 11229™          Purity: &gt; 99.9% of Total Pellet CFU          Recovery: &gt; 1000 CFUs per Pellet          Passage from Reference: 1</p>	<p><b>Expiration Date:</b> 2018/8/31  <b>Release Information:</b>          Quality Control Technologist: Christine Condon          Release Date: 2016/9/29</p>
<p align="center"><b>Performance</b></p>	
<p><b>Macroscopic Features:</b>          Large, irregular, raised, gray and rough; greening of agar may be present.  <b>Microscopic Features:</b>          Gram negative straight rod.</p>	<p><b>Medium:</b>          SBAP  <b>Method:</b>          Gram Stain (1)</p>
<p><b>ID System:</b> MALDI-TOF          See attached ID System results document.</p>	<p><b>Other Features/ Challenges: Results</b>          (1) Oxidase (Kovacs): negative</p>
<p align="center">           Amanda Kuperus          Quality Control Manager          AUTHORIZED SIGNATURE       </p>	
<p><small>Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.</small></p> <p><small>Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.</small></p> <p><small>Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.</small></p> <p><small>Individual products are traceable to a recognized culture collection.</small></p>	
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div>  <p>ATCC Accredited Reference Material Producer CERT #2655.02</p> </div> <div> <p align="center"><b>Análise Crítica</b></p> <p>(x) Aprovado    ( ) Reprovado          ( ) Aprovado com Desvio</p> <p align="right">02/08/17 Data</p> </div> </div>	
<p><small>(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark, and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC Microbiology, Inc. is licensed to use those trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.</small></p> <p><small>(†) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.</small></p>	
<p><small>(§) Microbiologics has determined each pellet of this reference material to be sufficiently homogeneous for its intended use.</small></p>	

----- Fim do Relatório Final -----

Instalação de Teste Reconhecida em Conformidade aos Princípios das Boas Práticas de Laboratório – BPL



Avaliação da atividade bactericida do item de teste **W 80 BI-QUAT PLUS** pelo método da diluição de uso frente à *Staphylococcus MRSA*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae* e *Enterococcus faecalis*.

**Laboratório Executor:**

Nome:	ASR Estudos e Análises Biológicas Ltda.
Endereço:	Rodovia Charqueada – Rio Claro, s/nº, Sitio Isabel, CEP 13.515-000, Charqueada – SP

**Patrocinador:**

Nome:	NOW QUIMICA INDUSTRIA E COMERCIO LTDA
Endereço:	RUA PETUNIA, 115, CHACARAS BOA VISTA, CEP: 32.150-200, CONTAGEM – MG

### Informações do Item de teste

Nome Comercial:	<b>W 80 BI-QUAT PLUS</b>		
Lote:	<b>011</b>		
Data de Fabricação:	<b>26/02/2018</b>	Data de Validade:	<b>26/02/2020</b>
Ingrediente Ativo:	<b>PHMB e TENSOATIVOS CATIONICOS</b>	Concentração Declarada:	<b>PHMB: 3,0% TENSOATIVOS CATIONICOS: 20,5%</b>
Código ASR:	<b>SA-2126/19</b>	Proposta Comercial:	<b>02048/19</b>
Recebida em:	<b>24/10/2019</b>	Quantidade Recebida do Item de teste:	<b>8 Frascos (total 7736 g)</b>

### Composição Química

[illegible]

### Informações do Ensaio

Data de Início do Ensaio:	<b>08/11/2019</b>	Data de Término do Ensaio:	<b>10/11/2019</b>
Data do relatório de Ensaio:	<b>05/12/2019</b>		
Metodologia (s) de referência:	<p>Com base em:  TOMASINO, S. (chapter editor). 6.2.01 AOAC Official method 955.14. Testing disinfectants against <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar <i>choleraesuis</i> use-dilution Method. In: LATIMER JR., G.W. (Editor). Official Methods of Analysis of AOAC International. 21<sup>th</sup> edition, 2019. Gaithersburg: AOAC INTERNATIONAL, chapter 6 – Disinfectants, subchapter 2 – Hard Surface Carrier Test Methods, 2019. p.:4 - 8.</p>		



Avaliação da atividade bactericida do item de teste **W 80 BI-QUAT PLUS** pelo método da diluição de uso frente à *Staphylococcus MRSA*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae* e *Enterococcus faecalis*.

#### Condições de Ensaio:

**Concentração de uso:** 20 mL do item de teste em 2 litros de água purificada estéril/ 10 mL do item de teste em 1 litro de água purificada estéril.

**Tempo de contato:** 10 minutos

**Microrganismos Testados:** *Staphylococcus MRSA* – ATCC 33591, *Acinetobacter baumannii* – ATCC 19606, *Klebsiella pneumoniae* – ATCC 4352 e *Enterococcus faecalis* – ATCC 51229.

**Meio de cultura e neutralizante utilizado:** Caldo letheen com tween à 0,5%

**Temperatura do ensaio:** 20°C

#### Procedimento Experimental

O objetivo deste ensaio é de avaliar a atividade bactericida desinfetante do Item de teste **W 80 BI-QUAT PLUS** frente à *Staphylococcus MRSA*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae* e *Enterococcus faecalis*, na concentração de uso e tempo de contato indicados nas condições de ensaio. Para cada microrganismo teste, foram empregados 60 cilindros carregadores de inox contaminados com a suspensão do microrganismo teste. Esses cilindros são secos em incubadora e após esse período, são transferidos para tubos contendo o Item de teste na diluição de uso indicada, pré estabilizada a 20°C. Após o período de exposição, os carregadores são transferidos para tubos com meio de cultura acrescido de neutralizante apropriado. Após a neutralização os tubos permanecem incubados por 48 horas a 36°C. Após o período de incubação é observado a presença (turvação) de crescimento do meio de cultura. São realizados também, controle da esterilidade de todo material utilizado no ensaio, do Item de teste, controle da viabilidade do meio de cultura, controle da viabilidade dos cilindros (após contaminação e ao final do ensaio) e controle da neutralização. Os controles são incubados nas mesmas condições do Item de teste.

#### Critério de Aceitação

Para ser considerado satisfatório, o Item de teste deve ser capaz de matar os sistemas teste sobre 59 dos 60 cilindros testados.

#### Resultado (s) Analítico (s)

Na **Tabela 1** estão apresentados os resultados do crescimento dos carregadores após o contato com o Item de teste, onde foi observado presença de crescimento em 01 dos cilindros testados para *S. MRSA* e *E. faecalis*, sendo o Item de teste considerado satisfatório. Na **Tabela 2**, estão apresentados os resultados da esterilidade do Item de teste, onde não foi observado presença de contaminação

**Tabela 1.** Resultados do crescimento dos carregadores após o contato com o Item de teste, após incubação de 48 horas

Microrganismo	Carregadores com		Resultado
	Presença de crescimento	Ausência de crescimento	
<i>Staphylococcus MRSA</i>	01	59	satisfatório
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0	60	satisfatório
<i>Enterococcus faecalis</i>	01	59	satisfatório
<i>Acinetobacter baumannii</i>	0	60	satisfatório

**Tabela 2.** Resultados da Esterilidade do Item de teste após o Período de Incubação.

Resultado após 48 horas de incubação		
Temperatura de incubação	Meio de Cultura	Resultado
36°C e 55°C	Caldo Letheen	Ausência de crescimento
	Caldo Tioglicolato	

Os ensaios foram validados pois todo material empregado e o Item de teste apresentou-se estéril e os controles da viabilidade foram satisfatórios.



## Relatório de Ensaio ASR0073.0075.19

Avaliação da atividade bactericida do item de teste **W 80 BI-QUAT PLUS** pelo método da diluição de uso frente à *Staphylococcus MRSA*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae* e *Enterococcus faecalis*.

### Conclusão

De acordo com a metodologia adotada e os resultados obtidos, o Item de teste **W 80 BI-QUAT PLUS** foi considerado **satisfatório** frente aos microrganismos testados.

### Nota(s):

Este Relatório de Ensaio refere-se somente ao Item de teste analisado, não sendo extensivo a outros lotes e/ou produtos.

Este Relatório de Ensaio poderá ser reproduzido por inteiro e sem nenhuma alteração, reprodução de partes requer autorização por escrito da Analytical & Scientific Research.

A amostragem não foi realizada pela Analytical & Scientific Research.

Todos os documentos e registros gerados neste ensaio serão mantidos no(s) arquivo(s) da Analytical & Scientific Research por um período de seis (6) anos.

  
Carla Mingati Zambon  
Responsável Técnica

  
Ivan Fernando Bortoli  
Gerente da Garantia da Qualidade

----- Fim do Relatório de Ensaio -----





# Relatório Final

## ASR0001.0067.18 – R1

Determinação do Potencial Hidrogeniônico (pH) da Substância Teste  
**W 80 Bi-Quat Plus.**

### Laboratório Executor

Nome do Laboratório:	Analytical & Scientific Research - ASR
Endereço:	Rua Santa Cecília, nº 225, Centro, Charqueada - SP, CEP.: 13.515-000, Brasil

### Patrocinador

Patrocinador:	Now Química Indústria e Comércio LTDA
Endereço:	Rua Petúnia, N° 115, Chácara Boa Vista, Contagem - MG, CEP.: 32.150-200, Brasil

### Informações da Substância Teste

Nome Comercial:	W 80 Bi-Quat Plus		
Lote:	011		
Data de Fabricação:	26/02/2018	Data de Validade:	26/10/2018
Ingredientes Ativos:	Tensoativos Catiônicos	Concentração Declarada:	18,3%
	Polihexametileno Biguanida (PHMB)		3,0%
Código ASR:	SA-0275/18	Proposta Comercial:	00293/18
Recebida em:	22/03/2018	Quantidade Recebida de Subst. Teste:	1 Frasco

### Composição Química

Componentes	Concentrações (%)
CONFIDENCIAL	

### Informações do Ensaio

Data de Início do Ensaio:	02/04/2018	Data de Término do Ensaio:	03/04/2018
Data de Conclusão do Relatório Final:	03/04/2018	Data de Revisão:	10/01/2019
Razão da Revisão do Relatório Final:	Alteração na data de validade, ingrediente ativo e concentração da substância		
Metodologia(s) Utilizada(s):	POP-M 0026, Rev.: 02. Collaborative International Pesticide Analytical Council, Ltd. (CIPAC) (2000). MT 75.3. Determination of pH Values.		



## Relatório Final

### ASR0001.0067.18 – R1

Determinação do Potencial Hidrogeniônico (pH) da Substância Teste  
**W 80 Bi-Quat Plus.**

#### Resultado(s) Analítico(s)

Potencial Hidrogeniônico da <b>solução pura</b>			
Replicata	Valor do pH	Média	Desvio Padrão
1	4,75	<b>4,77</b>	0,03
2	4,79		

Potencial Hidrogeniônico da <b>solução à 1% m/v</b>			
Replicata	Valor do pH	Média	Desvio Padrão
1	6,13	<b>6,14</b>	0,01
2	6,14		

#### Nota(s):

Este Relatório Final refere-se somente à Substância Teste analisada, não sendo extensivo a outros lotes e/ou produtos.

Este Relatório Final poderá ser reproduzido por inteiro e sem nenhuma alteração, reprodução de partes requer autorização por escrito da Analytical & Scientific Research.

A amostragem não foi realizada pela Analytical & Scientific Research.

Todos os documentos e registros gerados neste ensaio serão mantidos no(s) arquivo(s) da Analytical & Scientific Research por um período de dez (10) anos.

Este Relatório Final ASR0001.0067.18 - R1, substitui e cancela o Relatório Final ASR0001.0067.18.

Mariane Vicentini dos Santos – CRQ 04266792 IV Região  
**Responsável Técnica**

David Henrique Ferraz  
**Garantia da Qualidade**

----- Fim do relatório final -----



## Resumo

Este estudo foi conduzido de acordo com o método "Avaliação da atividade bactericida pelo método da diluição de uso" conforme as metodologias 6.2.04 AOAC Official method 955.15 – Testing disinfectants against *Staphylococcus aureus* use-dilution Method; 6.2.01 AOAC Official method 955.14 – Testing disinfectants against *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *choleraesuis* use-dilution Method; 6.2.06 AOAC Official method 964.02. Testing disinfectants against *Pseudomonas aeruginosa* use-dilution Method. e de acordo com os Princípios das Boas Práticas de Laboratório (BPL) da Norma Nº NIT-DICLA-035 (Revisão 02). O objetivo deste estudo foi de avaliar a atividade bactericida desinfetante da substância teste **W 80 BI-QUAT PLUS** frente à *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *choleraesuis* e *Pseudomonas aeruginosa* diluída na concentração de 4 mL para 2000 mL de água purificada estéril (Equivalente a 1:500), para o tempo de contato de 10 minutos. Foram empregados 60 cilindros carregadores de inox que entraram em contato direto com a substância teste, pré estabilizada à 20°C. Após o período de exposição, os carregadores foram transferidos para tubos com meio de cultura acrescido de neutralizante. Após a neutralização os tubos permaneceram incubados por 48 horas à 36°C, onde apresentaram crescimento em 2 cilindros de *S. aureus*, 6 cilindros de *P. aeruginosa* e zero cilindros de *S. enterica* subsp. *enterica* serovar. Foram realizados também, controle da esterilidade de todo material utilizado no estudo, controle da viabilidade do meio de cultura e controle da viabilidade dos cilindros, que apresentaram resultados satisfatórios validando o estudo. Para ser considerada satisfatória, a substância teste deve ser capaz de matar os microrganismos teste *S. enterica* subsp. *enterica* serovar *choleraesuis* sobre 59 dos 60 cilindros, 57 dos 60 cilindros para *S. aureus* e 54 dos 60 cilindros de *P. aeruginosa*, utilizados no tempo de contato estudado. De acordo com a metodologia adotada e os resultados obtidos, a substância teste foi considerada **satisfatória** frente às cepas testadas.

## 1. Introdução

### 1.1 Objetivo

O objetivo deste estudo foi de avaliar a atividade bactericida desinfetante da substância teste **W 80 BI-QUAT PLUS** frente à *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *choleraesuis* e *Pseudomonas aeruginosa*.

### 1.2 Instalação de Teste e Período de Condução do Estudo

Este estudo foi realizado no Laboratório de Microbiologia da ASR – Estudos e Análises Biológicas Ltda. As datas abaixo representam o período em que o estudo foi conduzido.

Início do Estudo:	03/04/2018
Início da Fase Experimental:	13/04/2018
Término da Fase Experimental:	16/04/2018
Término do Estudo:	24/04/2018
Emissão da Cópia nº 01:	24/05/2018

### 1.3 Pessoal envolvido no Estudo

Diretora de Estudo:	Márcia R. T. de C. Ranzani, Dra.
Pessoal:	Daniela da Silva Cappellasso e Mariana L. Favarin
Garantia da Qualidade:	Ivan Fernando Bortoli
Gerente da Instalação de Teste:	Marcio Adriani Gava

Instalação de Teste Reconhecida em Conformidade aos Princípios das Boas Práticas de Laboratório – BPL



**BI-QUAT PLUS** contra *Trichophyton mentagrophytes*.

**Laboratório Executor:**

Nome do Laboratório:	<b>ASR Estudos e Análises Biológicas Ltda.</b>
Endereço:	<b>Rodovia Charqueada – Rio Claro, s/nº, Sítio Isabel   CEP 13.515-000   Charqueada – SP</b>

**Patrocinador:**

Patrocinador:	<b>NOW QUIMICA INDUSTRIA E COMERCIO LTDA</b>
Endereço:	<b>RUA PETUNIA, 115, CHACARAS BOA VISTA, CONTAGEM-MG, CEP:32.150-200</b>

### Informações do Item de Teste

Nome Comercial:	<b>W 80 BI-QUAT PLUS</b>		
Lote:	<b>011</b>	Data de Validade:	<b>26/02/2020</b>
Data de Fabricação:	<b>26/02/2018</b>	Proposta Comercial:	<b>02048/19</b>
Ingrediente Ativo:	<b>PHMB: 3,0% TENSOATIVOS CATIONICOS: 20,5%</b>	Concentração Declarada:	<b>PHMB: 3,0% TENSOATIVOS CATIONICOS: 20,5%</b>
Código ASR:	<b>SA-2126/19</b>	Quantidade Recebida de Item de Teste:	<b>8 Frascos total 7736g</b>
Recebida em:	<b>24/10/2019</b>		

### Composição Química

### Informações do Ensaio

Data de Início do Ensaio:	<b>27/11/2019</b>	Data de Término do Ensaio:	<b>07/12/2019</b>
Data de Conclusão do Relatório de Ensaio:	<b>17/12/2019</b>		

## Metodologia de Referência

TOMASINO, S. (chapter editor). 6.3.02. AOAC - Official Methods 955.17. Fungicidal Activity of Disinfectants. In: LATIMER Jr., G.W. (Ed.) **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 21<sup>th</sup> Edition, 2019. Gaithersburg: AOAC INTERNATIONAL, chapter 6 – Disinfectants, subchapter 3 – Other Tests, 2019, p: 21-22.

## Procedimiento Experimental

Uma amostra do Item de teste foi preparada três concentrações de uso, uma indicada de 1:100 (1 mL do item de teste em 100 mL de água purificada estéril), uma acima de 1:50 (2 mL do item de teste em 100 mL de água purificada estéril) e uma abaixo 1:200 (0,5 mL do item de teste). As soluções do item de teste adicionaram-se a suspensão teste de conídios de *Trichophyton mentagrophytes* – ATCC 9533 (aproximadamente  $5,0 \times 10^6$  conídios/mL). As misturas foram mantidas à  $20 \pm 1^\circ\text{C}$  por 5, 10 e 15 de contato. Ao final dos tempos de contato, alíquotas foram tomadas, e transferidas para meio de cultura acrescido de neutralizante (Caldo glicosado com tween à 0,5%). Os tubos foram incubados à  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  por 10 dias. Após a incubação a presença ou ausência de crescimento dos tubos foi observada e registrada.



### Critério de Aceitação

O item de teste, para ser considerada eficaz para desinfetar superfícies inanimadas contaminadas com fungos patogênicos, deve ser capaz de matar os conídios em 10 minutos.

### Critério de Validação do Ensaio

Para que os resultados obtidos com o item de teste sejam válidos, é necessário garantir a viabilidade do meio de cultura e esterilidade de todo material empregado. Um teste de resistência do fungo frente ao fenol a 5% deve ser realizado, nas diluições de 1:60 e 1:70. O teste é considerado válido se os conídios sobreviverem à exposição na diluição 1:70 e não sobreviverem a exposição 1:60 após o tempo de contato de 10 minutos.

### Resultado (s) analítico (s)

Na **Tabela 1** estão expressos os resultados obtidos com o item de teste na concentração de uso indicada. Não foi observado crescimento em nenhum dos tubos nos tempos de contato avaliados. Sendo o item de teste foi considerado satisfatório nas concentrações testada para todos os tempos de contato.

**Tabela 1.** Resultados da avaliação da ausência (A) ou presença (P) de crescimento após exposição ao item de teste na concentração testada.

Contagem de conídios no inóculo/mL	Tratamento com o item de teste			Resultados
	Concentração testada indicada 1:100			
5,15 x 10 <sup>6</sup>	5 minutos	10 minutos	15 minutos	Satisfatório
	A	A	A	
	Concentração testada abaixo 1:50			
	5 minutos	10 minutos	15 minutos	Satisfatório
	A	A	A	
	Concentração testada acima 1:200			
	5 minutos	10 minutos	15 minutos	Satisfatório
	A	A	A	

Legenda: (A) ausência; (P) presença.

### Conclusão

O item de teste **W 80 BI-QUAT PLUS** foi considerada satisfatória quanto a sua atividade fungicida para os tempos de contato testados 5, 10 e 15 minutos.

### Nota(s):

Este Relatório de Ensaio refere-se somente ao Item de Teste analisado, não sendo extensivo a outros lotes e/ou produtos.

Este Relatório de Ensaio poderá ser reproduzido por inteiro e sem nenhuma alteração, reprodução de partes requer autorização por escrito da Analytical & Scientific Research.

A amostragem não foi realizada pela Analytical & Scientific Research.

Todos os documentos e registros gerados neste ensaio serão mantidos no(s) arquivo(s) da Analytical & Scientific Research por um período de seis (6) anos.

  
Carla V. Mingati Zambon  
Responsável Técnica

  
Ivan F. Bortoli  
Gerente da Garantia da Qualidade

----- Fim do Relatório de Ensaio -----