

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD RESIDUAL DE EXQUAT 50 EN DESINFECCIÓN DE SUPERFICIES FRENTE A STAPHYLOCOCCUS AUREUS TRAS CINCO DÍAS DESDE SU APLICACIÓN

- a) Identificación del laboratorio de ensayo: Clean-Biotec
- b) Identificación de la muestra
Nombre del producto: EXQUAT 50
Número de lote: 0071T200990
Fabricante: TQC
Fecha de entrega: 20/10/2020
Condiciones de almacenamiento: Lugar fresco y seco
Diluyente del producto recomendado por el fabricante: acuoso
Sustancia(s) activa(s) y su(s) concentración(es) (opcional): Cloruro del benzalconio (50% p/v)
- c) Método de ensayo y su validación
Superficie tratada: Disco de acero inoxidable estandarizado 304 de 2 cm diámetros acabado por ambos lados grado 2b.
Método: Dilución-Neutralización
- d) Neutralizador: Tiosulfato de Sodio al 5% esterilizado en autoclave
- e) Condiciones experimentales
Periodo de análisis: 31/01/2021 – 14/02/2021
Diluyente del producto utilizado durante el ensayo: Agua ultrapura estéril
Concentraciones de ensayo del producto: 1/1000 y 2/1000
Aspecto de las diluciones del producto: Transparente.
Sustancias interfirientes: Solución de albúmina bovina (fracción V)
Condiciones limpias: Concentración final de albúmina bovina 0,3 g/l
Condiciones sucias: Concentración final de albúmina bovina 3,0 g/l
Temperatura de ensayo: 20°C
Tiempo de contacto con la superficie y/ o microorganismo: 2 minutos y 5 minutos +/- 10 s
Temperatura de incubación: 36°C +/- 1°C
Identificación de las cepas bacterianas utilizadas: *Staphylococcus aureus* CECT239 ATCC 6538
- f) Resultados del ensayo
Véanse las tablas y figuras
- g) Conclusiones:
Exquat 50 muestra acción desinfectante frente a *Staphylococcus aureus* después de cinco días tras su aplicación en una superficie de acero inoxidable en condiciones limpias para las diluciones 1/1000 y 2/1000 cuando se expone el inóculo bacteriano 2 y 5 minutos.
Exquat 50 muestra acción desinfectante frente a *Staphylococcus aureus* después de cinco días tras su aplicación en una superficie de acero inoxidable en condiciones sucias para las para la dilución 2/1000 cuando se expone el inóculo bacteriano 2 y 5 minutos.

Exquat 50 muestra acción desinfectante frente a Staphylococcus aureus después de cinco días tras su aplicación en una superficie de acero inoxidable en condiciones sucias para las para la dilución 1/1000 cuando se expone el inóculo bacteriano 5 minutos.

h) Localidad, fecha y firma identificada

En Logroño, a 16 de febrero de 2021

Firmado: Dra. M^a Angélica García Álvaro



Clean-Biotec
Bioteología Ambiental
C.I.F. B-26340950

Este informe es de uso exclusivo para el cliente y solo se podrá hacer copia del mismo para su presentación ante la Autoridad Sanitaria de su País. Cualquier otro uso debe ser comunicado y autorizado por escrito por Clean-Biotec y las condiciones que Clean-Biotec, SL establezca.

Objetivo

Comprobar el efecto desinfectante del producto Exquat50 tras 1, 2, 3 4 y 5 días de exposición en una superficie frente a *Staphylococcus aureus*.

Metodología

La metodología empleada en este ensayo está basada en la Norma 13697:2015+A1 (2020):

Antisépticos y Desinfectantes químicos

Ensayo cuantitativo de superficie no porosa para la evaluación de la actividad bactericida y/o fungicida de los desinfectantes químicos utilizados en productos alimenticios, en la industria, en el hogar y en colectividad.

Método de ensayo sin acción mecánica y requisitos (fase 2/etapa2).

Además, se han tenido en cuenta las Normas:

UNE-EN 1276 Antisépticos y desinfectantes químicos. Ensayo cuantitativo de suspensión para la evaluación de la actividad bactericida de los antisépticos y desinfectantes químicos utilizados en el área alimentaria, industrial, doméstica e institucional (fase 2, etapa 1).

ASTM E 2180-01: Standard Test Method for Determining the Activity of Incorporated Antimicrobial Agents in Polymeric or Hidrofobic Materials.

EN 12353 Antisépticos y desinfectantes químicos. Conservación de los organismos de ensayo utilizados para la determinación de la actividad bactericida (incluida Legionella), micobactericida, esporicida, fungicida y virucida (incluidos bacteriófagos).

EN 14885, Antisépticos y desinfectantes químicos: Aplicación de normas europeas para los antisépticos y desinfectantes químicos.

Medios de cultivos y reactivos

Reactivos de pureza analítica y/o apropiados para fines microbiológicos o de biología molecular.

Agua destilada estéril y de reciente preparación

Agua ultrapura para Biología Molecular

Agar Soja Tríptona (TSA)

Diluyente: Solución de Sodio Triptona

Sustancias interferentes: Se prepara con una concentración doble a la que se utiliza en el ensayo, a partir de Albúmina bovina (fracción Cohn V). El objetivo es simular la realidad de las superficies y comprobar como afecta a la acción desinfectante.

- Condiciones limpias: solución de albúmina 0,6 g/l
- Condiciones sucias: Solución albúmina: 6,0 g/l

Neutralizador: Tiosulfato de Sodio 5% estéril validado para este ensayo. El objetivo del neutralizador es neutralizar la acción desinfectante en un momento exacto.

Aparatos e instrumental de vidrio

Todo el material de vidrio empleado se esteriliza en autoclave a 121°C 15 minutos o en esterilizador por calor seco manteniéndolo a 180°C durante un tiempo no inferior a 30 minutos.

Autoclave

Estufa de esterilización

Cabina de flujo laminar

Baño de agua termostático

Incubador a 36°C

PH-metro

Cronómetro

Agitador vórtex

Recipientes: tubos de ensayo, botellas de cultivo, matraces, pesafiltros.

Placas Petri de 90 mm

Perlas de vidrio (diámetro 3 mm)

Agitador mecánico,

Frigorífico

Pinzas

Desecador de vacío y bomba de vacío.

Discos de acero inoxidable estandarizado 304 de 2 cm de diámetro acabado por ambos lados grado 2b.

Organismos de ensayo

1.- Bacteria: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, de la que deriva la de la Colección Española de Cultivos Tipo CECT239.

Nombre: ***Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* Rosenbach 1884**

Designación de cepa: **NCIMB 9518**

Otras colecciones: ATCC 6538; CCRC 12154; CCTM La 2103; CCUG 10778; CIP 4.83; CNCTC Mau 29/58; DSM 799; FDA 209; FIRDI 941; HMGB B865; IAW 34; IFO 13276; IMET 10761; LMD 46.64; LMG 8064; NCTC 10788; VTT E-70045; WDCM 00032

Datos de muestra in situ: Fuente lesión humana; País de colección: desconocido y fecha de colección: anterior al 05-05-1993.

Condiciones de cultivo:

Medio de cultivo primario: Agar Nutritivo/ Agar I: extracto de ternera: 5g, Peptona: 10 g; NaCl: 5g; Agar 15 g en 1 litro de agua destilada, pH 7,2.

Temperatura de cultivo: 36°C

Tiempo de Incubación: 24h

Necesidades atmosféricas: aerobiosis

Aplicaciones: cepa recomendada para utilizarse en las Normas 13697, 1276, 11133 e ISO 6888. Utilizada para ensayos con antibióticos y agentes antimicrobianos.

Preparación de suspensiones de Staphylococcus aureus

Se realiza un **cultivo madre** de Staphylococcus aureus (Norma EN 12353 sobre medio fundido TSA en rampa partiendo de la cepa original crioconservada y cultivada a 36°C durante 24 h. A partir del cultivo madre se realizan los cultivos de **Cultivos de trabajo**, se subcultiva a partir del cultivo madre mediante siembra sobre medio fundido TSA en rampa y se incuba durante 24 h.

Suspensiones de ensayo: 10 ml de diluyente se introducen en un pesafiltros con tapa y 5 g de perlas de vidrio y se le añade con asa de siembra las células de la solución de trabajo. Se agita durante 3 minutos, se aspira y se pasa a un matraz estéril. Ajustamos el número de células de la suspensión a un valor comprendido entre $1,5 \cdot 10^8$ ufc/ml y $5,0 \cdot 10^8$ ufc/ml utilizando el diluyente. El número de unidades es calculado mediante espectrofotometría.

Recuento de la suspensión de Staphylococcus aureus

Se realizará el recuento por diluciones seriadas hasta un factor de dilución de 10^{-5} y 10^{-7} . De cada muestra se toma una muestra de 1,0 ml por duplicado y se inoculan en placa Petri y se añade TSA fundido. Se incuban a 36°C hasta 48 h y se recuentan las placas que tengan entre 15 y 300, aceptando una desviación del 10% (14 – 330).

Se calcula la media ponderada mediante la fórmula:

$$N = \log 0,025xc$$

Siendo c la suma de los valores obtenidos en la dilución más baja tenida en cuenta y en la dilución más alta, multiplicado por el factor de dilución correspondiente a la dilución más baja.

PROCEDIMIENTO

Selección de condiciones experimentales

Temperatura de trabajo 20°C

Tiempo de contacto microorganismo-desinfectante: 2 y 5 minutos

Diluciones 1/1000 y 2/1000

Condiciones: limpias y sucias

Días desde la aplicación del desinfectante en la superficie: 1 (24 h), 2(48 h), 3 (72 h), 4 (96 h) y 5 (120 h).

Se han preparado las diluciones según especificaciones del fabricante 1/1000 y 2/1000 de Exquat 50.

Preparación de superficies con el desinfectante

El día cero se han inoculado 60 discos con 100 µl de la dilución de 1/1000, 60 discos con 100 µl de la dilución 2/1000 y 60 discos con 100 µl de agua en lugar del desinfectante para el experimento.

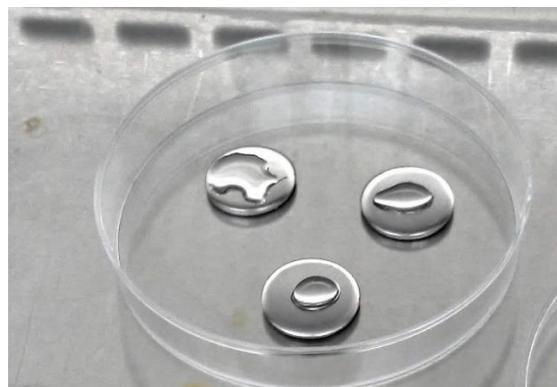


Figura 1. Preparación de discos con Cloruro de Benzalconio para su secado.

Estos discos se han mantenido en condiciones asépticas hasta su uso, 24, 48, 72, 96 y 120 h.

Suspensiones de ensayo

Para cada día se ha preparado una solución de trabajo. Las suspensiones de ensayo se han mantenido $1,5$ y $5,0 \times 10^8$ ufc/ml.

A continuación, se exponen los recuentos (por triplicado) de las suspensiones de ensayo para cada día y el cálculo de N para cada día.

Tabla 1. Recuento bacteriano (ufc/ml) de las soluciones de ensayo de cada día. Valores de N.

Suspensión bacteriana N				
24 h	48 h	72 h	96 h	120 h
10^{-6} : 209 157 185	10^{-6} : 236 310 241	10^{-6} : 108 169 126	10^{-6} : 115 178 169	10^{-6} : 208 200 218
10^{-7} : 21 11 18	10^{-7} : 31 30 28	10^{-7} : 30 18 27	10^{-7} : 37 25 15	10^{-7} : 22 34 30
N : 6,67	N : 6,82	N : 6,53	N : 6,59	N : 6,72

Determinación de Concentraciones microbicidas: Nd

- 1.- Para la preparación del inóculo se mezclan, en relación 1:1, la suspensión de ensayo de bacterias del día y solución interfiriente de albúmina, 0,6 g/l para el ensayo en condiciones limpias y 6 mg/l para el ensayo en condiciones sucias, respectivamente.
- 2.- De esta mezcla, en cada disco, se inoculan 50 μ l de la solución correspondiente (limpia y sucia) y se deja 2 o 5 minutos hasta introducirlo en el tarro con neutralizante y perlas de vidrio.
- 3.- Se agita 1 minuto vigorosamente y se deja actuar el neutralizante 5 minutos
- 4.- Tras la neutralización se preparan diluciones 10^0 , 10^{-1} , y 10^{-2} .
- 5.- Se toma una muestra de 1,0 ml de cada dilución y se inoculan con ellas placas mediante la técnica de vertido, añadiendo TSA fundido a 45°C.

Tabla 2. Resumen de tratamientos para **cada día**, se hacen 3 repeticiones de cada uno.

Dilución el producto	Tiempo de contacto (minutos)	Condiciones	Repeticiones	Diluciones de siembra
1/1000	2	Limpias	3	$10^0 10^{-1} 10^{-2}$
		Sucias	3	$10^0 10^{-1} 10^{-2}$
	5	Limpias	3	$10^0 10^{-1} 10^{-2}$
		Sucias	3	$10^0 10^{-1} 10^{-2}$
2/1000	2	Limpias	3	$10^0 10^{-1} 10^{-2}$
		Sucias	3	$10^0 10^{-1} 10^{-2}$
	5	Limpias	3	$10^0 10^{-1} 10^{-2}$
		Sucias	3	$10^0 10^{-1} 10^{-2}$

6.- Se recupera la superficie de ensayo (Nts), dejando que el neutralizador escurra y aclarando con 10 ml de agua y se transfiere a una placa de Petri con medio TSA sólido con la cara del inóculo hacia arriba y se cubre con TSA fundido. Se cultiva a 36 °C y se deja hasta 48 y se realizan los recuentos.

Control con agua Nc.

El procedimiento es idéntico al anterior, pero en lugar de haber puesto desinfectante en el disco se ha puesto agua.

- 1.- Para la preparación del inóculo se mezclan, en relación 1:1, la suspensión de ensayo de bacterias del día y solución interfiriente de albúmina, 0,6 g/l para el ensayo en condiciones limpias y 6 mg/l para el ensayo en condiciones sucias, respectivamente.
- 2.- De esta mezcla, en cada disco, se inoculan 50 µl de la solución correspondiente (limpia y sucia) y se deja 2 o 5 minutos hasta introducirlo en el tarro con neutralizante y perlas de vidrio.
- 3.- Se agita 1 minuto vigorosamente y se deja actuar el neutralizante 5 minutos
- 4.- Tras la neutralización se preparan diluciones 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} y 10^{-6} .
- 5.- Se toma una muestra de 1,0 ml de cada dilución y se inoculan con ellas placas mediante la técnica de vertido, añadiendo TSA fundido a 45°C.
- 6.- Se recupera la superficie de ensayo (Nts) igual que con el desinfectante.

Recuento de las ufc en el control del agua y de las diluciones del producto problema (Nc y Nd)

Las placas del control con agua y del producto problema se incuban a 36°C hasta 48 h y se recuentan las placas que tengan entre 15 y 300, aceptando una desviación del 10% (14 – 330). El número de ufc recuperadas de la superficie del ensayo con desinfectante problema (Nd) y con agua (Nc) se calculan mediante la siguiente fórmula:

$$Nd \text{ (o } Nc) = \log (c \cdot 10 / n \cdot d)$$

Siendo c la suma de los valores obtenidos en la dilución más baja tenida en cuenta y en la dilución más alta; n número de valores de recuentos tenidos en cuenta y d la dilución más alta tenida en cuenta.

Validación del método

Se ha realizado una única validación del método con la superficie de acero y la suspensión de microorganismos del día 1.

Control del método NT. Validación del método de dilución-neutralización

- 1.- Sobre las superficies de ensayo (3 discos de acero) se añaden 100 µl de la dilución 2/1000 se secan a 36°C en esterilidad durante un tiempo inferior a 60 minutos.
- 2.- Inmediatamente se pasa al frasco con neutralizante y bolitas de vidrio con el lado del inóculo hacia abajo, se mezcla vigorosamente y se deja en contacto 5 minutos.
- 3.- Se saca el disco, se deja secar y se inoculan 50 µl de la solución del microorganismo en condiciones limpias o sucias y en cada una de estas condiciones 2 o 5 minutos de contacto.
- 4.- Se vuelve a poner el disco con el inóculo hacia abajo en el mismo tarro con el neutralizante y se agita vigorosamente durante 1 minuto.
- 5.- Tras la neutralización se preparan diluciones 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} y 10^{-6} .
- 6.- Se toma una muestra de 1,0 ml de cada dilución y se inoculan con ellas placas mediante la técnica de vertido, añadiendo TSA fundido a 45°C.

Control del Neutralizador NC. Verificación de toxicidad del neutralizador

- 1.- Sobre las superficies de ensayo (3 discos de acero) se añaden 100 µl de agua se secan a 36°C en esterilidad durante un tiempo inferior a 60 minutos.
- 2.- Inmediatamente se pasa al frasco con neutralizante y bolitas de vidrio con el lado del inóculo hacia abajo, se mezcla vigorosamente y se deja en contacto 5 minutos.
- 3.- Se saca el disco y se deja secar y se inoculan 50 µl de la solución del microorganismo en condiciones limpias o sucias y en cada una de estas condiciones 2 o 5 minutos de contacto.
- 4.- Se vuelve a poner el disco con el inóculo hacia abajo en el mismo tarro con el neutralizante y se agita vigorosamente durante 1 minuto.
- 5.- Tras la neutralización se preparan diluciones 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} y 10^{-6} .
- 6.- Se toma una muestra de 1,0 ml de cada dilución y se inoculan con ellas placas mediante la técnica de vertido, añadiendo TSA fundido a 45°C.

Recuento de las ufc en la validación el método

El número de ufc recuperadas de la superficie de ensayo del ensayo en el control del neutralizante (NC) y en la validación del método (NT) y con agua (Nc) se calculan mediante la siguiente fórmula:

$$NC \text{ (o NT)} = \log (c \cdot 10/n \cdot d)$$

Siendo c la suma de los valores obtenidos en la dilución más baja tenida en cuenta y en la dilución más alta; n número de valores de recuentos tenidos en cuenta y d la dilución más alta tenida en cuenta.

Se exponen en la siguiente tabla los recuentos realizados para el control del método dilución-neutralización (NT) y el control del neutralizante (NC).

Tabla 3. Recuento bacteriano (ufc/ml) de la validación el método. Valores de NT y NC.

Control Dilución-Neutralización NT			
Condiciones limpias		Condiciones sucias	
2 minutos	5 minutos	2 minutos	5 minutos
10 ⁻³ : >330 >330 >330	10 ⁻³ : >330 >330 >330	10 ⁻³ : >330 >330 >330	10 ⁻³ : >330 >330 >330
10 ⁻⁴ : 151 146 168	10 ⁻⁴ : 165 165 170	10 ⁻⁴ : 205 193 190	10 ⁻⁴ : 219 224 248
10 ⁻⁵ : 15 16 21	10 ⁻⁵ : 19 22 25	10 ⁻⁵ : 31 29 28	10 ⁻⁵ : 40 39 32
NT: 7,22	NT: 7,29	NT: 7,39	NT: 7,48
Control Neutralizador NC			
Condiciones limpias		Condiciones sucias	
2 minutos	5 minutos	2 minutos	5 minutos
10 ⁻³ : >330 >330 >330	10 ⁻³ : >330 >330 >330	10 ⁻³ : >330 >330 >330	10 ⁻³ : >330 >330 >330
10 ⁻⁴ : 148 180 178	10 ⁻⁴ : 169 200 189	10 ⁻⁴ : 205 188 190	10 ⁻⁴ : 226 260 268
10 ⁻⁵ : 32 39 41	10 ⁻⁵ : 29 21 26	10 ⁻⁵ : 25 25 36	10 ⁻⁵ : 35 36 48
NC: 7,43	NC: 7,34	NC: 7,38	NC: 7,51

Expresión de los resultados: Reducción y su cálculo

La reducción (R) se expresa de forma logarítmica

Para *Staphylococcus aureus* se registra el número de ufc/ml en el procedimiento de ensayo de la actividad microbicida del producto y del control con agua. Para cada concentración de producto y cada condición experimental, se calcula y registra la reducción logarítmica (log₁₀R) separadamente utilizando la siguiente ecuación:

$$R = N_c - N_d$$

Verificación de la metodología

La media de los recuentos obtenidos en las placas triplicadas utilizadas para los cálculos de N, Nc, Nd, NC y NT debe estar comprendida entre 14 y 330.

N debe estar comprendido entre 6,57 y 7,10

NC y Nc no deben diferir +/- 0,3: $\log_{10}NC - \log_{10}Nc$ no es superior a +/- 0,3.

NT y Nc no difieren +/- 0,3: $\log_{10}NT - \log_{10}Nc$ no es superior a +/- 0,3.

Nts es inferior a 100 ufc para las concentraciones activas. Para concentraciones no activas, Nts puede ser incontable.

Nc es suficientemente alta para demostrar la reducción logarítmica decimas de 4.

Control de recuentos medios ponderados, aplicado a N: el cociente se encuentra entre 5 y 15

Resultados

A continuación, se exponen los resultados obtenidos para el control con agua y para cada una de las diluciones del producto Exquat 50 en tres tablas diferentes.

Tabla 4. Recuentos bacterianos (ufc/ml) en el control con agua. Valores de Nc.

Tiempo desde la aplicación del desinfectante	Control con agua Nc			
	2 minutos		5 minutos	
	Limpias	Sucias	Limpias	Sucias
24 h	10 ⁻³ : >330 >330>330 10 ⁻⁴ : 165 140 168 10 ⁻⁵ : 18 18 23 Nc: 7,25 Nts: >100	10 ⁻³ : >330 >330>330 10 ⁻⁴ : 190 198 210 10 ⁻⁵ : 35 36 48 Nc: 7,51 Nts: >100	10 ⁻³ : >330 >330>330 10 ⁻⁴ : 159 170 142 10 ⁻⁵ : 18 16 21 Nc: 7,23 Nts: >100	10 ⁻³ : >330 >330>330 10 ⁻⁴ : 210 215 230 10 ⁻⁵ : 38 38 46 Nc: 7,49 Nts: >100
48 h	10 ⁻³ : >330 >330>330 10 ⁻⁴ : 180 190 208 10 ⁻⁵ : 28 35 36 Nc: 7,42 Nts: >100	10 ⁻³ : >330 >330>330 10 ⁻⁴ : 210 234 233 10 ⁻⁵ : 42 40 35 Nc: 7,49 Nts: >100	10 ⁻³ : >330 >330>330 10 ⁻⁴ : 208 220 226 10 ⁻⁵ : 38 39 46 Nc: 7,50 Nts: >100	10 ⁻³ : >330 >330>330 10 ⁻⁴ : 240 258 250 10 ⁻⁵ : 48 50 50 Nc: 7,57 Nts: >100
72 h	10 ⁻³ : >330 >330>330 10 ⁻⁴ : 128 130 130 10 ⁻⁵ : 18 18 22 Nc: 7,21 Nts: >100	10 ⁻³ : >330 >330>330 10 ⁻⁴ : 130 140 147 10 ⁻⁵ : 20 22 22 Nc: 7,25 Nts: >100	10 ⁻³ : >330 >330>330 10 ⁻⁴ : 170 178 190 10 ⁻⁵ : 28 26 28 Nc: 7,35 Nts: >100	10 ⁻³ : >330 >330>330 10 ⁻⁴ : 187 185 199 10 ⁻⁵ : 30 36 38 Nc: 7,43 Nts: >100
96 h	10 ⁻³ : >330 >330>330 10 ⁻⁴ : 135 140 146 10 ⁻⁵ : 22 23 38 Nc: 7,32 Nts: >100	10 ⁻³ : >330 >330>330 10 ⁻⁴ : 150 158 170 10 ⁻⁵ : 30 31 33 Nc: 7,37 Nts: >100	10 ⁻³ : >330 >330>330 10 ⁻⁴ : 170 170 196 10 ⁻⁵ : 30 32 32 Nc: 7,39 Nts: >100	10 ⁻³ : >330 >330>330 10 ⁻⁴ : 199 198 205 10 ⁻⁵ : 41 42 32 Nc: 7,47 Nts: >100
120 h	10 ⁻³ : >330 >330>330 10 ⁻⁴ : 189 201 210 10 ⁻⁵ : 43 34 44 Nc: 7,48 Nts: >100	10 ⁻³ : >330 >330>330 10 ⁻⁴ : 200 200 209 10 ⁻⁵ : 44 51 58 Nc: 7,55 Nts: >100	10 ⁻³ : >330 >330>330 10 ⁻⁴ : 209 220 225 10 ⁻⁵ : 54 50 40 Nc: 7,54 Nts: >100	10 ⁻³ : >330 >330>330 10 ⁻⁴ : 250 269 280 10 ⁻⁵ : 49 68 70 Nc: 7,65 Nts: >100

Las tablas del ensayo correspondientes a cada dilución y a cada una de las condiciones de ensayo presentan el cálculo de la reducción de microorganismos, R.

En caso de ser inferior a 4 se remarcado en rojo, en caso de ser igual o superior a 4 se marcado en negrita.

Si R es igual a mayor de 4 significa que el producto ensayado es desinfectante en las condiciones de ensayo.

Tabla 5. Recuentos bacterianos (ufc/ml) con el desinfectante Exquat 50 en dilución 1/1000. Valores de Nd, Nts y R.

Tiempo desde la aplicación del desinfectante	Dilución 1/1000 (valores Nd)			
	2 minutos		5 minutos	
	Limpias	Sucias	Limpias	Sucias
24 h	10 ⁰ : 55 68 70 10 ⁻¹ : 10 10 12 10 ⁻² : 0 0 1 Nd: 2,93 Nts: 0 R: 4,32	10 ⁰ : >330 >330 >330 10 ⁻¹ : >330 >330 >330 10 ⁻² : 223 225 229 Nd: 5,65 Nts: 90 R: 1,86	10 ⁰ : 15 12 21 10 ⁻¹ : 8 2 4 10 ⁻² : 0 0 0 Nd: 2,50 Nts: 0 R: 4,73	10 ⁰ : 210 180 195 10 ⁻¹ : 22 25 35 10 ⁻² : 0 1 2 Nd: 3,37 Nts: 6 R: 4,12
48 h	10 ⁰ : 58 84 80 10 ⁻¹ : 14 14 11 10 ⁻² : 0 0 1 Nd: 3,04 Nts: 0 R: 4,38	10 ⁰ : >330 >330 >330 10 ⁻¹ : >330 >330 >330 10 ⁻² : 298 309 280 Nd: 5,77 Nts: 89 R: 1,72	10 ⁰ : 18 18 22 10 ⁻¹ : 2 2 5 10 ⁻² : 0 0 0 Nd: 2,39 Nts: 0 R: 5,11	10 ⁰ : 210 225 240 10 ⁻¹ : 54 28 60 10 ⁻² : 6 5 2 Nd: 3,54 Nts: 0 R: 4,03
72 h	10 ⁰ : 69 72 78 10 ⁻¹ : 10 14 15 10 ⁻² : 0 0 0 Nd: 3,01 Nts: 0 R: 4,20	10 ⁰ : >330 >330 >330 10 ⁻¹ : >330 >330 >330 10 ⁻² : 210 202 213 Nd: 5,62 Nts: 87 R: 1,63	10 ⁰ : 15 16 12 10 ⁻¹ : 1 2 2 10 ⁻² : 0 0 0 Nd: 2,14 Nts: 0 R: 5,21	10 ⁰ : 180 161 172 10 ⁻¹ : 18 18 22 10 ⁻² : 0 1 1 Nd: 3,26 Nts: 0 R: 4,17
96 h	10 ⁰ : 78 64 68 10 ⁻¹ : 11 15 14 10 ⁻² : 0 0 0 Nd: 3,01 Nts: 0 R: 4,31	10 ⁰ : >330 >330 >330 10 ⁻¹ : >330 >330 >330 10 ⁻² : 214 202 244 Nd: 5,64 Nts: 56 R: 1,73	10 ⁰ : 14 10 18 10 ⁻¹ : 1 1 2 10 ⁻² : 0 0 0 Nd: 2,14 Nts: 0 R: 5,25	10 ⁰ : 174 186 190 10 ⁻¹ : 19 23 20 10 ⁻² : 0 1 1 Nd: 3,29 Nts: 7 R: 4,18
120 h	10 ⁰ : 86 86 70 10 ⁻¹ : 10 18 13 10 ⁻² : 1 0 0 Nd: 3,04 Nts: 0 R: 4,44	10 ⁰ : >330 >330 >330 10 ⁻¹ : >330 >330 >330 10 ⁻² : 258 267 274 Nd: 5,73 Nts: 81 R: 1,82	10 ⁰ : 19 11 16 10 ⁻¹ : 1 1 2 10 ⁻² : 0 0 0 Nd: 2,16 Nts: 0 R: 5,38	10 ⁰ : 189 211 220 10 ⁻¹ : 21 23 25 10 ⁻² : 1 2 2 Nd: 3,34 Nts: 11 R: 4,31

Para la dilución 1/1000 Exquat 50 muestra capacidad desinfectante frente a *Staphylococcus aureus* en condiciones limpias cuando el tiempo de contacto con la superficie que contiene el desinfectante es de 2 o de 5 minutos, y en condiciones sucias cuando el tiempo de contacto es de 5 minutos. Esta actividad desinfectante se mantiene los 5 días que ha durado el ensayo.

Tabla 6. Recuentos bacterianos (ufc/ml) con el desinfectante Exquat 50 en dilución 2/1000. Valores de Nd, Nts y R.

Tiempo desde la aplicación del desinfectante	Dilución 2/1000 (valores Nd)			
	2 minutos		5 minutos	
	Limpias	Sucias	Limpias	Sucias
24 h	10 ⁰ : 1 0 0 10 ⁻¹ : 0 0 0 10 ⁻² : 0 0 0 Nd: 0,22 Nts: 0 R: 7,03	10 ⁰ : 165 168 140 10 ⁻¹ : 15 15 18 10 ⁻² : 1 0 1 Nd: 3,20 Nts: 12 R: 4,31	10 ⁰ : 0 0 0 10 ⁻¹ : 0 0 0 10 ⁻² : 0 0 0 Nd: <0,22 Nts: 0 R: >7,03	10 ⁰ : 7 9 5 10 ⁻¹ : 0 0 0 10 ⁻² : 0 0 0 Nd: 1,54 Nts: 0 R: 6,04
48 h	10 ⁰ : 0 0 0 10 ⁻¹ : 0 0 0 10 ⁻² : 0 0 0 Nd: <0,22 Nts: 0 R: >7,03	10 ⁰ : 180 174 161 10 ⁻¹ : 18 20 16 10 ⁻² : 0 1 2 Nd: 3,25 Nts: 4 R: 4,24	10 ⁰ : 0 0 0 10 ⁻¹ : 0 0 0 10 ⁻² : 0 0 0 Nd: <0,22 Nts: 0 R: >7,03	10 ⁰ : 8 4 5 10 ⁻¹ : 0 0 0 10 ⁻² : 0 0 0 Nd: 1,45 Nts: 0 R: 6,12
72 h	10 ⁰ : 0 0 0 10 ⁻¹ : 0 0 0 10 ⁻² : 0 0 0 Nd: <0,22 Nts: 0 R: >7,03	10 ⁰ : 125 160 145 10 ⁻¹ : 17 17 19 10 ⁻² : 0 1 1 Nd: 3,20 Nts: 0 R: 4,08	10 ⁰ : 0 0 0 10 ⁻¹ : 0 0 0 10 ⁻² : 0 0 0 Nd: <0,22 Nts: 0 R: >7,03	10 ⁰ : 6 5 4 10 ⁻¹ : 0 0 0 10 ⁻² : 0 0 0 Nd: 1,40 Nts: 0 R: 6,03
96 h	10 ⁰ : 0 0 0 10 ⁻¹ : 0 0 0 10 ⁻² : 0 0 0 Nd: <0,22 Nts: 0 R: >7,03	10 ⁰ : 130 150 141 10 ⁻¹ : 15 16 16 10 ⁻² : 0 0 2 Nd: 3,17 Nts: 1 R: 4,20	10 ⁰ : 0 0 0 10 ⁻¹ : 0 0 0 10 ⁻² : 0 0 0 Nd: <0,22 Nts: 0 R: >7,03	10 ⁰ : 3 2 5 10 ⁻¹ : 0 0 0 10 ⁻² : 0 0 0 Nd: 1,22 Nts: 0 R: 6,25
120 h	10 ⁰ : 0 0 0 10 ⁻¹ : 0 0 0 10 ⁻² : 0 0 0 Nd: <0,22 Nts: 0 R: >7,03	10 ⁰ : 168 180 173 10 ⁻¹ : 15 19 18 10 ⁻² : 2 0 0 Nd: 3,24 Nts: 81 R: 4,31	10 ⁰ : 0 0 0 10 ⁻¹ : 0 0 0 10 ⁻² : 0 0 0 Nd: <0,22 Nts: 0 R: >7,03	10 ⁰ : 7 7 9 10 ⁻¹ : 0 0 0 10 ⁻² : 0 0 0 Nd: 1,58 Nts: 0 R: 6,07

Para la dilución 2/1000 Exquat 50 muestra capacidad desinfectante frente a *Staphylococcus aureus* en condiciones limpias y sucias cuando el tiempo de contacto con la superficie que contiene el desinfectante es de 2 o de 5 minutos. Esta actividad desinfectante se mantiene los 5 días que ha durado el ensayo.