

**Título do Estudo**

Eficácia Microbiológica pelo Ensaio Quantitativo de Suspensão para Avaliação da Atividade Bactericida de Anti-sépticos e de Desinfetantes Utilizados em Áreas Agro-alimentícias, Industriais, Domésticas e Institucionais pelo Método de Ensaio e Prescrição (Fase 2, Etapa 1) do item de Teste PEROXY PROTEIN REMOVER frente à *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Salmonella choleraesuis*.

**Metodologia de Referência**

Association Française de Normalisation. **NF EN 1276**. Chemical disinfectants and antiseptics – Quantitative suspension test for the evaluation of bactericidal activity of chemical disinfectants and antiseptics used in food, industrial, domestic, and institutional areas – Test method and requirements (phase 2, step 1). Association Française de Normalisation – AFNOR, European Committee for Standardization, 2019.

**Diretor de Estudo**

Mariana Ayres Ferraz da Silva

**Estudo Concluído**

17/Nov/2020

**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](http://www.merieuxnutrisciences.com)  
E-mail: [mariana.ferraz@mxns.com](mailto:mariana.ferraz@mxns.com)

**Patrocinador**

Spartan do Brasil Produtos Químicos  
Rodovia Adauto Campo Dall'Orto, km 1,9 (SP110-330) - Sumaré - SP - 13178-440

**Estudo #**

15508.135.036.20



### 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 Association Française de Normalisation. **NF EN 1276**. Chemical disinfectants and antiseptics – Quantitative suspension test for the evaluation of bactericidal activity of chemical disinfectants and antiseptics used in food, industrial, domestic, and institutional areas – Test method and requirements (phase 2, step 1). Association Française de Normalisation – AFNOR, European Committee for Standardization, 2019, e de acordo com os Princípios das Boas Práticas de Laboratório (BPL) da Norma N° NIT-DICLA-035-(Rev. 04). PRINCÍPIOS DAS BOAS PRÁTICAS DE LABORATÓRIO – BPL. CGCRE – Coordenação de Geral de Acreditação – Rio de Janeiro. p 16. Out/2019 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 mínimo de 6 anos.

Item de teste será mantido nos arquivos da Bioagri Laboratórios Ltda., por tempo adequado a sua natureza e conservação e após este período será descartado profissionalmente ou encaminhado ao patrocinador.



Mariana Ayres Ferraz da Silva  
Diretor de Estudo  
Telefone: +55 (19) 3429-7700

17/Nov/2020



**Estudo #:** 15508.135.036.20

**Título do Estudo:** Eficácia Microbiológica pelo Ensaio Quantitativo de Suspensão para Avaliação da Atividade Bactericida de Anti-sépticos e de Desinfetantes Utilizados em Áreas Agro-alimentícias, Industriais, Domésticas e Institucionais pelo Método de Ensaio e Prescrição (Fase 2, Etapa 1) do Item de Teste PEROXY PROTEIN REMOVER frente à *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Salmonella choleraesuis*.

### Declaração da Garantia da Qualidade

O relatório foi inspecionado pela Garantia da Qualidade (GQ) – Bioagri Laboratórios Ltda. 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
13/Out/2020	<b>Plano de Estudo</b>	13/Out/2020	13/Out/2020
08/Out/2020	Estudos de curta duração: <b>RAS 0202/20</b> (Preparo do Item de teste e aplicação experimental, avaliação dos resultados)	09/Out/2020	09/Out/2020
12/Nov/2020	<b>Relatorio Final</b>	12/Nov/2020	12/Nov/2020

A inspeção de processo vigente ao período da fase laboratorial desta classe de estudo foi realizada entre os dias 06 a 08 de Outubro de 2020. Esta inspeção está registrada no documento interno **RAS 0202/20**. 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.



Camila Moreira Basile  
Garantia da Qualidade  
Telefone: +55 (19) 3429-7700

16/Nov/2020



## Índice

Declaração de Acompanhamento do Estudo .....	2
Declaração da Garantia da Qualidade .....	3
Índice .....	4
Resumo .....	6
1. Informações Gerais .....	6
2. Equipe Técnica .....	6
3. Objetivo .....	6
4. Material e Métodos .....	6
4.1 Informações Referentes do item de Teste .....	6
4.2 Equipamentos .....	7
4.3 Material, Reagentes e/ou Solventes .....	7
4.4 Sistema-Teste .....	7
4.4.1 Descrição .....	7
4.4.2 Justificativa para a seleção do sistema-teste .....	8
4.5 Rota de Exposição .....	8
4.6 Substância Interferente .....	8
5. Procedimento Experimental .....	8
5.1 Suspensão Teste (N) .....	8
5.2 Suspensão de Validação (Nv) .....	8
5.3 Aplicação do Item de Teste .....	8
5.3.1 Método por Diluição – Neutralização .....	9
5.3.1.1 Teste Na .....	9
5.3.1.2 Controle A (Validação de Condições Experimentais Seleccionadas ou Verificação da Ausência de Qualquer Efeito Letal nas Condições do Teste) .....	9
5.3.1.3 Controle Neutralizante B (Verificação da Ausência de Toxicidade do Neutralizador) .....	9
5.3.1.4 Método de validação C (Validação da Neutralização por Diluição) .....	9
5.3.2 Incubação e Leitura .....	10
6. Cálculos .....	10
6.1 Cálculo de N e N0 .....	10
6.2 Cálculo de Na .....	10
6.3 Cálculo de Nv e Nv0 .....	10
6.4 Cálculo de A, B e C .....	11
6.5 Expressão dos Resultados .....	11
7. Desvios ao Plano de Estudo .....	11
7.2 Informação do Plano de Estudo .....	11
7.3 Desvio .....	11
7.4 Razão .....	12
7.5 Impacto .....	12
8. Resultados .....	12
9. Conclusão .....	14
10. Referências Bibliográficas .....	14

## TABELA

Tabela 1. Resultados dos controles - <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 .....	12
Tabela 2. Resultados do Item de Teste - <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 .....	12
Tabela 3. Resultados dos controles – <i>Salmonella choleraesuis</i> ATCC 10708 .....	12
Tabela 4. Resultados do Item de Teste - <i>Salmonella choleraesuis</i> ATCC 10708 .....	13
Tabela 5. Resultados dos controles – <i>Escherichia coli</i> ATCC 10536 .....	13
Tabela 6. Resultados do Item de Teste - <i>Escherichia coli</i> ATCC 10536 .....	14

## ANEXOS



---

Anexo 1 – Certificado de Reconhecimento da Conformidade aos Princípios das BPL.....	15
Anexo 2 – Boletim de Análise LFQ .....	16



## Resumo

O estudo eficácia microbiológica pelo ensaio quantitativo de suspensão para avaliação da atividade bactericida do item de teste PEROXY PROTEIN REMOVER utilizados em áreas agro-alimentícias, industriais, domésticas e institucionais pelo método de ensaio e prescrição (fase 2, etapa 1) foi desenvolvido utilizando-se dos microrganismos *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Salmonella choleraesuis* oriundos do banco de culturas do Laboratório de Microbiologia Geral - LMG – Bioagri Laboratórios Ltda., sendo a sua exposição feita por suspensão. O mesmo foi realizado com o item de teste diluído na proporção de 1:50 pelo tempo de contato de 10 minutos conforme solicitado pelo patrocinador, registrando o seu resultado após 48 horas. Para que o item de teste seja considerado satisfatório nas condições do ensaio validado, ele deve reduzir o número de células viáveis de  $10^5$  ou mais ( $\geq 5$  logs ou  $\geq 99,999\%$ ), no tempo de contato preconizado pelo patrocinador e nas condições validadas dentro do ensaio. Os resultados foram considerados satisfatórios frente aos microrganismos testados.

### 1. Informações Gerais

Data do Início do Estudo:	14/Out/2020
Data do Início do Experimento:	15/Out/2020
Data do Término do Experimento:	06/Nov/2020
Relatório Final:	17/Nov/2020

### 2. Equipe Técnica

Diretor de Estudo:	Mariana Ayres Ferraz da Silva
Pesquisadora:	Caroline de Almeida Rossi
Analista de Laboratório:	Caroline Faganello
Técnica de Laboratório:	Michele Barbosa

### 3. Objetivo

O objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia microbiológica do item de teste PEROXY PROTEIN REMOVER pelo ensaio quantitativo de suspensão para produtos utilizados em áreas agro-alimentícias, industriais, domésticas e institucionais pelo método de ensaio e prescrição (fase 2, etapa 1) frente à *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Salmonella choleraesuis*.

### 4. Material e Métodos

#### 4.1 Informações Referentes do item de Teste

Item de teste:	PEROXY PROTEIN REMOVER <sup>(1)</sup>
Nome comum do ingrediente ativo (AI):	<b>Peroxido de Hidrogênio</b> <sup>(1)</sup>
Concentração declarada do AI (Patrocinador):	3,05% <sup>(1)</sup>
Concentração analisada do AI (Bioagri Laboratórios Ltda.):	3,065% m/m
Boletim de Análise:	FQ Lfq-00457/20
Recebida em:	27/Ago/2020
Código Bioagri Laboratórios Ltda.:	SAN-1084-01/20
Número do lote:	216.230/20 <sup>(1)</sup>
Estado Físico:	LÍQUIDO <sup>(1)</sup>



Dados de homogeneidade:	Amostra Homogênea
Data de fabricação:	21/Ago/2020 <sup>(1)</sup>
Data de validade:	21/Ago/2021 <sup>(1)</sup>
Composição declarada:	<sup>(1)</sup>
Componentes	Concentrações (%)

Quantidade de amostra recebida:	3 FRASCOS 900g
Referências <sup>(1)</sup> :	Informações fornecidas pelo patrocinador

## 4.2 Equipamentos

Câmara de Fluxo  
Câmara Incubadora  
Micropipetas  
Cronômetro Digital  
Termômetro digital

## 4.3 Material, Reagentes e/ou Solventes

TSA  
Diluyente  
Neutralizante  
Água estéril  
Água dura  
Substância interferente - Limpeza  
Tubo estéril  
Placa de Petri  
Ponteiras  
Pipetas  
Filtro

## 4.4 Sistema-Teste

### 4.4.1 Descrição

Espécie: *Staphylococcus aureus*  
Referência: ATCC 6538  
Origem: Microbiologics  
Lote: 485-881

Espécie: *Salmonella choleraesuis*  
Referência: ATCC 10708  
Origem: Microbiologics  
Lote: 902-128

Espécie: *Escherichia coli*  
Referência: ATCC 10536



Origem: Microbiologics  
Lote: 680-65

#### 4.4.2 Justificativa para a seleção do sistema-teste

O sistema teste, conforme item 4.4.1 foi escolhido por ser espécie recomendada pelas agências regulamentadoras governamentais para os testes de eficácia no Ensaio quantitativo de suspensão para avaliação da atividade bactericida do item de teste, utilizados em áreas agro-alimentícias, industriais, domésticas e institucionais pelo método de ensaio e prescrição (fase 2, etapa 1) e conforme recomendado pela metodologia de referência EN 1276.

#### 4.5 Rota de Exposição

O item de teste PEROXY PROTEIN REMOVER foi aplicado na proporção de 1:50, pelo tempo de contato de 10 minutos, conforme solicitação do patrocinador.

#### 4.6 Substância Interferente

- Condição de limpeza: solução de albumina bovina na concentração 0,3 g/L no procedimento experimental.

### 5. Procedimento Experimental

#### 5.1 Suspensão Teste (N)

Transferiu-se uma alçada da cultura de trabalho para frasco contendo 10mL de diluente e 5g de contas de vidro. As células foram suspensas no diluente por imersão da alçada no diluente, esfregando-a contra a parede do frasco para retirar as células. Agitou-se o frasco por 3 minutos utilizando agitador. Pipetou-se a suspensão das contas de vidro e transferiu-se para outro frasco estéril.

Ajustou-se o número de células na suspensão para  $1,5 \times 10^8$  UFC/mL a  $5,0 \times 10^8$  UFC/mL usando diluente e com o auxílio da Escala de MacFarland. Realizou-se a contagem em placa por meio de cultura adequado. Manteve-se a suspensão em banho na temperatura conforme determinado no item 4.5.

#### 5.2 Suspensão de Validação (Nv)

Diluiu-se a suspensão teste, preparada conforme item 5.1, utilizando diluente, para obter-se de  $3,0 \times 10^2$  UFC/mL a  $1,6 \times 10^3$  UFC/mL – cerca de um quarto (1+3) da diluição  $10^{-5}$ .

Para contagem, preparou-se uma diluição  $10^{-1}$  com diluente, homogeneizou-se e plaqueou-se em duplicata utilizando meio de cultura adequado, pelo método de pour plate. Manteve-se a suspensão em banho na temperatura conforme determinado no item 4.5.

#### 5.3 Aplicação do Item de Teste

O item de teste foi diluído usando água dura e preparado em três concentrações diferentes, incluindo uma concentração ativa (concentração acima – dobro da indicada) e uma concentração não ativa (concentração abaixo – metade da indicada). A concentração do item de teste foi igual a 1,25 vezes a concentração requerida pelo ensaio. Utilizou-se balão volumétrico no preparo das diluições.



### 5.3.1 Método por Diluição – Neutralização

#### 5.3.1.1 Teste Na

Pipetou-se 1 mL da substância interferente em tubo estéril, adicionou-se 1 mL da suspensão bacteriana N, conforme preparado no item 6.4.1. Acionou-se imediatamente o cronômetro, misturou-se e colocou-se o tubo em banho à temperatura determinada para o ensaio, conforme item 4.5, por 2 minutos  $\pm$  10 segundos. Ao final deste tempo adicionou-se 8 mL de uma das soluções do produto submetido ao ensaio. Acionou-se imediatamente o cronômetro, agitou-se e colocou-se o tubo em banho controlado a temperatura determinada para o ensaio pelo tempo de contato selecionado, conforme item 4.5.

Antes do fim do tempo de contato, agitou-se, e ao final do tempo de contato pipetou-se 1 mL da mistura ( $N_a$ ), transferiu-se para um tubo contendo 8 mL de neutralizante e 1 mL de água estéril. Agitou-se e manteve-se em temperatura controlada por 5 minutos  $\pm$  10 segundos. Após o tempo de neutralização, agitou-se e tomou-se uma alíquota de 1 mL em duplicata da mistura ( $N_a$ ) neutralizada, plaqueou-se pelo método pour plate em TSA.

Realizou-se o mesmo procedimento para outras diluições do produto e para outras suspensões bacterianas.

#### 5.3.1.2 Controle A (Validação de Condições Experimentais Selecionadas ou Verificação da Ausência de Qualquer Efeito Letal nas Condições do Teste)

Pipetou-se 1 mL da substância interferente utilizada no teste para um tubo. Adicionou-se 1 mL da suspensão de validação  $N_v$ , conforme preparado no item 5.2, e iniciou-se o cronômetro; misturou-se e colocou-se o tubo em banho com água em temperatura determinada para o ensaio, conforme item 4.5 por 2 minutos.  $\pm$  10 segundos. Ao final deste tempo, adicionou-se 8 mL de água estéril (produto diluído, utilizar água dura). Reiniciou-se o cronômetro e colocou-se o tubo em banho de água com temperatura controlada e tempo de contato conforme determinado no item 4.5. Antes do final do tempo de contato, misturou-se.

Ao final do tempo, plaqueou-se 1 mL da mistura A, em duplicata, e inoculou-se usando o método pour plate.

#### 5.3.1.3 Controle Neutralizante B (Verificação da Ausência de Toxicidade do Neutralizador)

Em tubo contendo 8 mL do neutralizante e 1 mL de água estéril, adicionou-se 1 mL da suspensão de validação  $N_v$ , conforme preparado no item 5.2, e iniciou-se o cronômetro, misturou-se e manteve-se em temperatura controlada por 5 minutos  $\pm$  10 segundos.

Ao final do tempo de contato, transferiu-se uma alíquota de 1 mL dessa mistura, em duplicata e plaqueou-se em TSA utilizando o método pour plate.

#### 5.3.1.4 Método de validação C (Validação da Neutralização por Diluição)

Pipetou-se 1 mL da substância interferente utilizada no ensaio em um tubo. Adicionou-se 1 mL de diluente e, em seguida, iniciou-se um cronômetro, adicionou-se 8 mL da solução do produto em teste (para amostras diluídas, somente na maior concentração utilizada no ensaio). Agitou-se e colocou-se o tubo num banho com temperatura controlada, pelo tempo de contato conforme



determinado no item 4.5. Pouco antes do fim do tempo de contato, misturou-se novamente.

No final do tempo, transferiu-se 1 mL da mistura para um tubo contendo 8 mL de neutralizante. Reiniciou-se o cronômetro, misturou-se e colocou-se o tubo num banho controlado em por 5 minutos  $\pm 10$  segundos.

Adicionou-se 1 mL da suspensão de validação Nv, conforme preparado no item 5.2, iniciou-se o cronômetro e misturou-se. Colocou-se o tubo num banho com temperatura controlada durante 30 minutos  $\pm 1$  minuto. Pouco antes do final do tempo, misturou-se novamente.

Ao final deste tempo tomou-se uma amostra de 1 mL da mistura, em duplicata, plaqueou-se usando o método pour plate.

### 5.3.2 Incubação e Leitura

Incubaram-se todas as placas a  $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  por 48 horas. Contaram-se as placas e determinou-se o número de UFC.

## 6. Cálculos

### 6.1 Cálculo de N e N0

N é o número de células por mL na suspensão teste. Uma vez que duas diluições da suspensão teste são avaliadas, calcular o número de UFC/mL como sendo a média ponderada. Para calcular a média ponderada expressa em UFC/mL, utilizar a seguinte fórmula:

$$N = \frac{C}{(n_1 + 0,1 \cdot n_2) \cdot 10^{-6}}$$

Onde:

c soma dos valores Vc considerados;

$n_1$  número de valores Vc considerados na menor diluição, isto é  $10^{-6}$ ;

$n_2$  número de valores Vc considerados na menor diluição, isto é  $10^{-7}$ ;

$10^{-6}$  é o fator de diluição correspondente a menor diluição

$N_0$  é o número de células por mL na mistura teste no início do tempo de contato (tempo zero). É dez vezes a média ponderada de N devido à diluição 1:10 pela adição do produto e substância interferente.

### 6.2 Cálculo de Na

$N_a$  é o número de células na mistura teste no final do tempo de contato e antes da neutralização ou membrana filtrante. Para calcular  $N_a$ , utilizar a seguinte fórmula:

$$N_a = 10 c/n$$

Onde:

c soma dos valores Vc considerados;

n número de valores Vc considerados;

### 6.3 Cálculo de Nv e Nv0

$N_v$  é o número de células por mL na suspensão de validação. É 10 vezes maior que as contagens nos termos de valores devido à diluição de  $10^{-1}$ .  $N_{v0}$  é o número de células por mL



nas misturas A, B e C, no início do tempo (tempo zero). Calcular  $N_v$  e  $N_{v_0}$  empregando as seguintes equações

$$N_v = 10 \times c/n \quad N_{v_0} = c/n$$

Onde:

c soma dos valores  $V_c$  considerados;

n número de valores  $V_c$  considerados;

#### 6.4 Cálculo de A, B e C

A, B e C, são os números de células sobreviventes por mL nas condições do controle do experimento "A", do controle do neutralizante, "B" ou controle da filtração e método de validação "C", no tempo de contato "T", ou em tempo definido de 5 minutos (B) e 30 minutos (C). Eles correspondem aos valores médios das misturas A, B e C considerados. Calcular A, B e C empregando a seguinte equação:

$$A, B \text{ e } C = c/n$$

Onde:

c soma dos valores  $V_c$  considerados;

n número de valores  $V_c$  considerados;

#### 6.5 Expressão dos Resultados

A redução ( $R = N_0 / N_a$ ) é expressa em logaritmo.

Para cada organismo teste, registrar o número em UFC/mL na suspensão N e no teste  $N_a$ . Calcular  $N_0$ . Para cada concentração do produto e cada condição experimental, calcular e registrar a redução log decimal ( $\text{Log}_{10}$ ) separadamente usando a equação:

$$\text{Log } R = \text{Log } N_0 - \text{Log } N_a$$

### 7. Desvios ao Plano de Estudo

#### 7.2 Informação do Plano de Estudo

Item 13. Datas Propostas, Item 2. Equipe Técnica e Item 4. Sistema teste

#### 7.3 Desvio

Mudou de:

Conclusão da Fase Experimental: 19/Out/2020

Diretor de Estudo: Caroline de Almeida Rossi

Espécie: *Pseudomonas aeruginosa*

Referência: ATCC 15442

Origem: Microbiologics

Mudou para:

Conclusão da Fase Experimental: 26/Out/2020

Diretor de Estudo: Mariana Ayres Ferraz da Silva

Espécie: *Salmonella choleraesuis*

Referência: ATCC 10708

Origem: Microbiologics



#### 7.4 Razão

Devido à demanda dos estudos no laboratório e disponibilidade da equipe técnica, a data proposta para fim da fase experimental foi alterada, alteração na equipe técnica devido ao retorno do diretor de estudo principal e devido um erro de digitação a cepa *Pseudomonas aeruginosa* foi adicionada erroneamente.

#### 7.5 Impacto

As alterações não causaram impacto no resultado do estudo. A colaboradora Mariana Ayres Ferraz da Silva verificou todos os dados brutos incluídos no estudo e se estavam de acordo com o plano de estudo, procedimentos operacionais padrão e de acordo com os Princípios das Boas Práticas de Laboratório (BPL).

### 8. Resultados

**Tabela 1. Resultados dos controles - *Staphylococcus aureus* ATCC 6538**

CONTROLE INÓCULO - N e N <sub>0</sub>							
Diluição	Volume	Placa 1	Placa 2	Média N	Média N <sub>0</sub>	Log N <sub>0</sub>	Limites: 7,17 ≤ lgN <sub>0</sub> ≤ 7,70
10 <sup>6</sup>	1,0 mL	177	188	1,83 x 10 <sup>8</sup>	1,83 x 10 <sup>7</sup>	7,26	
10 <sup>7</sup>	1,0 mL	16	15				
VALIDAÇÕES - N <sub>v</sub> e N <sub>v0</sub>							
Diluição	Volume	Placa 1	Placa 2	Média N <sub>v</sub>	Média N <sub>v0</sub>	Limites 30 ≤ média de N <sub>v0</sub> ≤ 160	
10 <sup>1</sup>	1,0 mL	70	77	7,35 x 10 <sup>2</sup>	7,35 x 10 <sup>1</sup>		
VALIDAÇÕES - A, B e C							
Diluição	Volume	A (10 min)		B (5 min)		C (10 min)	
		Placa 1	Placa 2	Placa 1	Placa 2	Placa 1	Placa 2
10 <sup>0</sup>	1,0 mL	74	73	70	70	73	67
Média		7,35 x 10 <sup>1</sup>		7,0 x 10 <sup>1</sup>		7,0 x 10 <sup>1</sup>	
Controles validados: Sim							

**Tabela 2. Resultados do Item de Teste - *Staphylococcus aureus* ATCC 6538**

Resultados para o tempo de contato 10 minutos							
Diluição	Volume	Cc abaixo 0,5:50		Cc indicada 1:50		Cc acima 2:50	
		Placa 1	Placa 2	Placa 1	Placa 2	Placa 1	Placa 2
10 <sup>1</sup>	1,0 mL	<14	<14	<14	<14	<14	<14
10 <sup>2</sup>	1,0 mL	<14	<14	<14	<14	<14	<14
Média - N <sub>a</sub>		<1,40 x 10 <sup>2</sup>		<1,40 x 10 <sup>2</sup>		<1,40 x 10 <sup>2</sup>	
Log N <sub>a</sub>		<2,14		<2,14		<2,14	
N <sub>0</sub> /N <sub>a</sub> (ufc/ml)		>1,31 x 10 <sup>5</sup>		>1,31 x 10 <sup>5</sup>		>1,31 x 10 <sup>5</sup>	
%R (=100 - (N <sub>a</sub> x 100 / N <sub>0</sub> ))		>99,999%		>99,999%		>99,999%	
Log R (=LogN <sub>0</sub> - Log N <sub>a</sub> )		>5,12		>5,12		>5,12	
Resultado: Satisfatório							

**Tabela 3. Resultados dos controles – *Salmonella choleraesuis* ATCC 10708**

CONTROLE INÓCULO - N e N <sub>0</sub>							
Diluição	Volume	Placa 1	Placa 2	Média N	Média N <sub>0</sub>	Log N <sub>0</sub>	Limites: 7,17 ≤ lgN <sub>0</sub> ≤ 7,70
10 <sup>6</sup>	1,0 mL	223	228	2,26 x 10 <sup>8</sup>	2,26 x 10 <sup>7</sup>	7,35	
10 <sup>7</sup>	1,0 mL	21	16				



VALIDAÇÕES - $N_v$ e $N_v$							
Diluição	Volume	Placa 1	Placa 2	Média $N_v$	Média $N_{v0}$	Limites $30 \leq$ média de $N_{v0} \leq 160$	
$10^1$	1,0 mL	86	72	$7,90 \times 10^2$	$7,90 \times 10^1$		
VALIDAÇÕES - A, B e C							
Diluição	Volume	A (10 min)		B (5 min)		C (10 min)	
		Placa 1	Placa 2	Placa 1	Placa 2	Placa 1	Placa 2
$10^0$	1,0 mL	80	73	81	72	73	65
Média		$7,65 \times 10^1$		$7,65 \times 10^1$		$6,90 \times 10^1$	
Controles validados: Sim							

Tabela 4. Resultados do Item de Teste - *Salmonella choleraesuis* ATCC 10708

Resultados para o tempo de contato 10 minutos							
Diluição	Volume	Cc abaixo 0,5:50		Cc indicada 1:50		Cc acima 2:50	
		Placa 1	Placa 2	Placa 1	Placa 2	Placa 1	Placa 2
$10^1$	1,0 mL	<14	<14	<14	<14	<14	<14
$10^2$	1,0 mL	<14	<14	<14	<14	<14	<14
Média - $N_a$		$<1,40 \times 10^2$		$<1,40 \times 10^2$		$<1,40 \times 10^2$	
Log $N_a$		<2,14		<2,14		<2,14	
$N_0/N_a$ (ufc/ml)		$>1,61 \times 10^5$		$>1,61 \times 10^5$		$>1,61 \times 10^5$	
%R (=100 - ( $N_a \times 100 / N_0$ ))		>99,999%		>99,999%		>99,999%	
Log R (=Log $N_0$ - Log $N_a$ )		>5,21		>5,21		>5,21	
Resultado: Satisfatório							

Tabela 5. Resultados dos controles - *Escherichia coli* ATCC 10536

CONTROLE INÓCULO - N e $N_0$							
Diluição	Volume	Placa 1	Placa 2	Média N	Média $N_0$	Log $N_0$	Limites: $7,17 \leq \lg N_0 \leq 7,70$
$10^6$	1,0 mL	194	161	$1,78 \times 10^8$	$1,78 \times 10^7$	7,25	
$10^7$	1,0 mL	17	15				
VALIDAÇÕES - $N_v$ e $N_v$							
Diluição	Volume	Placa 1	Placa 2	Média $N_v$	Média $N_{v0}$	Limites $30 \leq$ média de $N_{v0} \leq 160$	
$10^1$	1,0 mL	86	85	$8,55 \times 10^2$	$8,55 \times 10^1$		
VALIDAÇÕES - A, B e C							
Diluição	Volume	A (10 min)		B (5 min)		C (10 min)	
		Placa 1	Placa 2	Placa 1	Placa 2	Placa 1	Placa 2
$10^0$	1,0 mL	73	73	76	88	89	78
Média		$7,30 \times 10^1$		$8,20 \times 10^1$		$8,35 \times 10^1$	
Controles validados: Sim							



Tabela 6. Resultados do Item de Teste - *Escherichia coli* ATCC 10536

Resultados para o tempo de contato 10 minutos							
Diluição	Volume	Cc abaixo 0,5:50		Cc indicada 1:50		Cc acima 2:50	
		Placa 1	Placa 2	Placa 1	Placa 2	Placa 1	Placa 2
10 <sup>1</sup>	1,0 mL	<14	<14	<14	<14	<14	<14
10 <sup>2</sup>	1,0 mL	<14	<14	<14	<14	<14	<14
Média - N <sub>a</sub>		<1,40 x 10 <sup>2</sup>		<1,40 x 10 <sup>2</sup>		<1,40 x 10 <sup>2</sup>	
Log N <sub>a</sub>		<2,14		<2,14		<2,14	
N <sub>0</sub> /N <sub>a</sub> (ufc/ml)		>1,27 x 10 <sup>5</sup>		>1,27 x 10 <sup>5</sup>		>1,27 x 10 <sup>5</sup>	
%R (=100 - (N <sub>a</sub> x 100 / N <sub>0</sub> ))		>99,999%		>99,999%		>99,999%	
Log R (=LogN <sub>0</sub> - Log N <sub>a</sub> )		>5,11		>5,11		>5,11	
<b>Resultado: Satisfatório</b>							

## 9. Conclusão

De acordo com a metodologia adotada e nas condições validadas do ensaio, o item de teste foi considerado **satisfatório** frente às cepas testadas.

## 10. Referências Bibliográficas

Norma N° NIT-DICLA-035-(Rev. 04). PRINCÍPIOS DAS BOAS PRÁTICAS DE LABORATÓRIO – BPL. CGCRE – Coordenação de Geral de Acreditação – Rio de Janeiro. p 16. Out/2019.

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.

Association Française de Normalisation. **NF EN 1276**. Chemical disinfectants and antiseptics – Quantitative suspension test for the evaluation of bactericidal activity of chemical disinfectants and antiseptics used in food, industrial, domestic, and institutional areas – Test method and requirements (phase 2, step 1). Association Française de Normalisation – AFNOR, European Committec for Standardization, p.41, 2019.



## ANEXO

## Anexo 1 – Certificado de Reconhecimento da Conformidade aos Princípios das BPL

Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia – Inmetro  
**Coordenação Geral de Acreditação**



*Certificado de Reconhecimento aos  
 Princípios das Boas Práticas de Laboratório*

Reconhecimento nº BPL 0002

Reconhecimento Inicial: 25-04-2000

**Bioagri Laboratórios Ltda.**

Rodovia SP 127 - Km 24 – Caixa Postal 573 - Guarnium – Piracicaba - SP

A **Coordenação Geral de Acreditação do Inmetro** concede à instalação de teste acima o **Reconhecimento da Conformidade aos Princípios das Boas Práticas de Laboratório da OCDE** para a condução de estudos não clínicos de segurança à saúde e ao meio ambiente, incluindo a mesma no Programa Brasileiro de Monitoramento BPL, com a seguinte definição de escopo:

Áreas de Especialidades de Estudos	Categorias de Itens de Teste
Testes Físico-químicos; Estudos Toxicológicos; Estudos de Mutagenicidade; Estudos Ecotoxicológicos com Organismos Aquáticos e Terrestres; Estudos sobre o Comportamento em Água, Solo, Ar e Bioacumulação; Estudos de Resíduos; Estudos de Eficácia; Citotoxicidade	Agrotóxicos, Seus Componentes e Afins; Produtos Farmacêuticos; Cosméticos; aditivos de alimentos; Aditivos para Rações; Medicamentos Veterinários; Saneantes; Produtos Químicos Industriais; Produtos para a Saúde; Organismos Geneticamente Modificados (OGM); Dispositivos Médicos;

**Nota:** As categorias de itens de teste "agrotóxicos, seus componentes e afins", "produtos farmacêuticos", "cosméticos", "saneantes", "produtos veterinários", "aditivos de ração", "preservativo de madeira", "produtos químicos industriais" e "produtos remediadores" estão contemplados pela adesão plena do Brasil, através da Coordenação Geral de Acreditação-Cgcre do Inmetro, aos Atos de Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico - OCDE relacionados à Aceitação Mútua de Dados (MAD) de acordo com os Princípios das Boas Práticas de Laboratório-BPL.

Assinado de forma digital por  
 ALDONEY FREIRE  
 COSTA:54879590720  
 Dados: 2020.06.02 20:01:05  
 -03'00'



**Aldoney Freire Costa**  
**Coordenador Geral de Acreditação**

A situação atual do reconhecimento deve ser verificada no endereço eletrônico [http://www.inmetro.gov.br/monitoramento\\_BPL/certificados/](http://www.inmetro.gov.br/monitoramento_BPL/certificados/)

MOD-CGCRE-027 – Rev. 06 – Apr. ABR/19 – Pg. 01/01



## Anexo 2 – Boletim de Análise LFQ


**BOLETIM DE ANÁLISE**  
**FQ-LFQ-00457/20**

DADOS REFERENTES AO CLIENTE	
Empresa solicitante: SPARTAN DO BRASIL PRODUTOS QUÍMICOS	
Endereço: Rodovia Adauto Campo Dall'Orto, Km 1,9 (SP110-330), Sumaré – SP, CEP: 13178-440.	
DADOS REFERENTES À AMOSTRA	
Identificação do item de ensaio*: PEROXY PROTEIN REMOVER	
Código do item de ensaio: SAN-1084-01/20	
Proposta: 04597/20	
Composição: Anexo 01.	
Informação Adicional: Concentração Declarada do Ativo: 3,05%.	
Lote*: 216.230/20	
Data de Fabricação*: 21/Ago/2020	
Data de Validade*: 21/Ago/2021	
Quantidade recebida da amostra: 900 g	
Data do recebimento do item de ensaio: 27/Ago/2020	
Data de início do ensaio: 14/Set/2020	
Data do fim do ensaio: 15/Set/2020	
DADOS DE ANÁLISE	
Parâmetro analisado: Teor de Peróxido de Hidrogênio	
Metodologia utilizada: POP-M 2112 Rev.: 01.	

\* Informação fornecida pelo cliente e/ou empresa solicitante

**RESULTADOS ANALÍTICOS DA AMOSTRA**

Parâmetro	% (m/m)	Desvio Padrão Relativo (DPR%)
Concentração Analisada de Peróxido de Hidrogênio	3,065 <sup>(1)</sup>	0,102 <sup>(2)</sup>

<sup>(1)</sup> Incerteza expandida do método:  $\pm 0,74125\%$ .<sup>(2)</sup> Amostra Homogênea
**Regra de Decisão de acordo com a norma RDC N° 59 (2010)**
Variação aceitável :  $\pm 10\%$  (2,745 a 3,355%).
**Declaração de Conformidade**

A concentração de Peróxido de Hidrogênio no item de ensaio permaneceu dentro da variação aceitável.

Página 1 de 3

SQB 0623/H – Registro da Qualidade (Atualizado em 11/Julho/2019)

**Bioagri Laboratórios Ltda**

Piracicaba - SP / Rodovia SP 127, km 24 / Guamiú - 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




**BOLETIM DE ANÁLISE**  
**FQ-LFQ-00457/20****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.

Emissão:

Piracicaba, 15 de Setembro de 2020.



Jéssica Scalise  
CRQ nº 04270055 – IV Região  
Responsável Técnica

Página 2 de 3

SQB 0623/H – Registro da Qualidade (Atualizado em 11/Julho/2019)

**Bioagri Laboratórios Ltda**

Piracicaba - SP / Rodovia SP 127, km 24 / Guamiun - 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](http://bioagri.com.br) | [merieuxnutrisciences.com](http://merieuxnutrisciences.com)