

### Título do Estudo

Eficácia Microbiológica pelo Ensaio Quantitativo de Suspensão para Avaliação da Atividade Bactericida na Área Médica pelo Método de Ensaio e Prescrição (Fase 2, Etapa 1), do item de Teste XTREME ALVFRESH Frente à *Staphylococcus aureus*, *Salmonella choleraesuis* e *Pseudomonas aeruginosa*.



### Metodologia de Referência

EN 13727. Chemical disinfectants and antiseptics – Quantitative suspension test for the evaluation of bactericidal activity in the medical área – Test method and requirements (Phase 2, Step 1). Association Française de Normalisation (AFNOR), 2015.

### Diretor de Estudo

Mariana Ayres Ferraz da Silva

### Estudo Concluído

04/Mar/2021

### 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 (SP 110-330) - Sumaré - São Paulo - 13178-440

### Estudo #

15508.157.024.20



### 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 EN 13727. Chemical disinfectants and antiseptics – Quantitative suspension test for the evaluation of bactericidal activity in the medical 2rea – Test method and requirements (Phase 2, Step 1). Association Française de Normalisation (AFNOR), 2015, 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 de no mínimo 06 anos.

Item de teste e item de referência serão mantidos nos arquivos da Bioagri Laboratórios Ltda., por tempo adequado a sua natureza e conservação e após este período serão descartados profissionalmente ou encaminhados ao patrocinador.



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

04/Mar/2021



**Estudo #:** 15508.157.024.20

**Título do Estudo:** Eficácia Microbiológica pelo Ensaio Quantitativo de Suspensão para Avaliação da Atividade Bactericida na Área Médica pelo Método de Ensaio e Prescrição (Fase 2, Etapa 1), do item de Teste XTREME ALVFRESH Frente à *Staphylococcus aureus*, *Salmonella choleraesuis* e *Pseudomonas aeruginosa*.

### 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
12/Fev/2021	<b>Plano de Estudo</b>	12/Fev/2021	12/Fev/2021
21/Jan/2021	Estudos de curta duração: <b>RAS 0004/21</b> (Preparo do Item de teste e aplicação experimental, avaliação dos resultados)	22/Jan/2021	22/Jan/2021
03/Mar/2021	<b>Relatório Final</b>	03/Mar/2021	03/Mar/2021

A inspeção de processo vigente ao período da fase laboratorial desta classe de estudo foi realizada entre os dias 19 a 21 de Janeiro de 2021. Esta inspeção está registrada no documento interno **RAS 0004/21**. 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.



03/Mar/2021

Letícia Ramos  
Garantia da Qualidade  
Telefone: +55 (19) 3429-7700



## 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 ao 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 .....	7
4.5 Rota de Exposição .....	8
4.6 Substância Interferente .....	8
5. Procedimento Experimental .....	8
5.1 Preparo da Cultura Teste .....	8
5.2 Suspensão teste (N) .....	8
5.3 Suspensão de validação (Nv e Nvb) .....	8
5.4 Administração do item de teste – Método por Diluição - Neutralização .....	8
5.5 Teste Na .....	9
5.6 Condição experimental do Controle A (validação de condições experimentais selecionadas ou verificação da ausência de qualquer efeito letal nas condições do teste) .....	9
5.7 Controle Neutralizante B (Verificação da ausência de toxicidade do neutralizador) .....	9
5.8 Método de validação C (Validação da Neutralização por Diluição) .....	9
5.9 Incubação e contagem da mistura teste e misturas do controle e da validação .....	10
6. Cálculos .....	10
6.1 Cálculo de N e N0 .....	10
6.2 Cálculo de Na .....	10
6.3 Cálculo de Nv, Nv0 e Nvb .....	10
6.4 Cálculos de A, B e C .....	10
7. Desvios ao Plano de Estudo .....	11
7.1 Informação do Plano de Estudo .....	11
7.2 Desvio .....	11
7.3 Razão .....	11
7.4 Impacto .....	11
8. Resultados .....	11
9. Conclusão .....	13
10. Referências Bibliográficas .....	13

## TABELA

Tabela 1. Resultados dos controles - <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 .....	11
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 .....	12
Tabela 5. Resultados dos controles – <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 15442 .....	12
Tabela 6. Resultados do Item de Teste - <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 15442 .....	13



**ANEXOS**

Anexo 1 – Certificado de Reconhecimento da Conformidade aos Princípios das BPL..... 14  
Anexo 2 – Boletim de Análise LFQ ..... 15





## Resumo

O estudo Ensaio quantitativo de suspensão para avaliação da atividade bactericida na área médica pelo método de ensaio e prescrição (fase 2, etapa 1) foi desenvolvido utilizando-se os microrganismo(s) *Staphylococcus aureus*, *Salmonella choleraesuis* e *Pseudomonas aeruginosa*, oriundo do banco de culturas do Laboratório de Microbiologia Geral – LMG - Bioagri Laboratórios Ltda., sendo a sua exposição feita através de suspensão. O mesmo foi realizado com o item de teste Diluído na proporção de 1:300 pelo tempo de contato de 10 minutos, conforme solicitado pelo patrocinador. O produto para ser considerado como aprovado deve demonstrar em um teste válido para produtos utilizados na desinfecção de superfícies uma redução de 5 logs, no tempo de contato preconizado pelo patrocinador, e dentro das condições definidas por esta norma. O resultado foi considerado satisfatório frente aos microrganismos testados.

### 1. Informações Gerais

Data do Início do Estudo:	12/Fev/2021
Data do Início do Experimento:	17/Fev/2021
Data do Término do Experimento:	25/Fev/2021
Relatório Final:	04/Mar/2021

### 2. Equipe Técnica

Diretor de Estudo:	Mariana Ayres Ferraz da Silva
Analista de Laboratório:	Caroline Faganello
Técnica de Laboratório:	Julia Sartori Longo

### 3. Objetivo

O objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia microbiológica pelo ensaio quantitativo de suspensão para avaliação da atividade bactericida na área médica pelo método de ensaio e prescrição (fase 2, etapa 1), do item de teste XTREME ALVFRESH frente à *Staphylococcus aureus*, *Salmonella choleraesuis* e *Pseudomonas aeruginosa*.

### 4. Material e Métodos

#### 4.1 Informações Referentes ao item de Teste

Item de teste:	XTREME ALVFRESH <sup>(1)</sup>
Nome comum do ingrediente ativo (AI):	<b>Peróxido de Hidrogênio</b> <sup>(1)</sup>
Concentração declarada do AI (Patrocinador):	49,75% <sup>(1)</sup>
Concentração analisada do AI (Bioagri Laboratórios Ltda.)	48,371% (m/m)
Boletim de Análise	FQ LFQ-00664/20
Recebida em:	09/Nov/2020
Código Bioagri Laboratórios Ltda.:	SAN-1489-01/20
Número do lote:	291.307/20 <sup>(1)</sup>
Estado Físico:	Líquido <sup>(1)</sup>
Dados de homogeneidade:	Amostra Homogênea
Data de fabricação:	06/Nov/2020 <sup>(1)</sup>
Data de validade:	06/Nov/2021 <sup>(1)</sup>



Composição declarada:	(1)	
Componentes		Concentrações (%)
Quantidade de amostra recebida:		3 FRASCOS 1216g
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

Neutralizantes: Tween, saponina, L-histidina, tiosulfato de sódio e lecitina  
TSA  
Diluyente  
Água estéril  
Água Dura  
Substância interferente – Limpeza  
Tubo estéril  
Filtro  
Ponteiras  
Pipetas

## 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: *Pseudomonas aeruginosa*  
Referência: ATCC 15442  
Origem: Microbiologics  
Lote: 693-164

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

O sistema teste, conforme item 4.4.1, foi escolhido por ser um espécie recomendada pelas agências regulamentadoras governamentais para os testes de eficácia



microbiológica pelo ensaio quantitativo de suspensão para avaliação da atividade bactericida de produtos utilizados na área médica, conforme metodologia EN 13727.

#### 4.5 Rota de Exposição

O item de teste XTREME ALVFRESH foi aplicado na proporção de 1:300, pelo tempo de contato de 10 minutos, e temperatura do ensaio de 20°C, 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 Preparo da Cultura Teste

Repicou-se a cultura estoque estriando em Agar TSA inclinado e incubou-se a 36° ± 1°C. Após 24 horas preparou-se uma segunda subcultura a partir da primeira subcultura da mesma maneira e incubou-se por 24 horas. A partir da segunda subcultura, uma terceira subcultura pode ser produzida da mesma maneira. A segunda e a terceira subcultura serão as culturas de trabalho. Se não for possível preparar uma segunda subcultura no dia em particular, uma cultura de 48 horas poderá ser usada para subsequente subcultura, desde que a subcultura tenha sido mantida em incubadora durante o período de 48 horas.

#### 5.2 Suspensão teste (N)

Tomou-se 10 mL do diluente e colocou-o em frascos de 10 mL com 5g de contas de vidro. Tomou-se a cultura de trabalho e transferiu-se uma alçada das células para o diluente. 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 utilizando um agitador mecânico. 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 x 10<sup>8</sup> UFC/mL a 5,0 x10<sup>8</sup> UFC/mL usando diluente e, estimou-se o número de unidades por escala de Mac Farland e contagem em placa pelo método pour plate. Manteve-se esta suspensão em banho-maria a temperatura conforme determinado no item 4.5.

#### 5.3 Suspensão de validação (Nv e Nvb)

Para preparar uma suspensão de validação (Nv), diluiu-se a suspensão teste (N), conforme item 4.5 com diluente para obter 3,0 x 10<sup>2</sup> UFC/mL a 1,6 x 10<sup>3</sup> UFC/mL – cerca de um quarto (1+3) da diluição 10<sup>-5</sup>.

Para preparar a suspensão de validação para o controle do neutralizante Nvb, diluiu-se a suspensão do teste com o diluente para obter 3,0 x 10<sup>4</sup> UFC/mL a 1,6 x 10<sup>5</sup> UFC/mL – cerca de um quarto 1+3 da diluição 10<sup>3</sup>.

Manteve-se e usou-se a suspensão de validação do mesmo modo que a suspensão teste.

Para contagem, preparou-se uma diluição 10<sup>-1</sup> com diluente (no caso do método modificado 10<sup>-2</sup>, e no caso do controle da neutralização Nvb é 10<sup>-3</sup>). Misturou-se. Tomou-se uma amostra de 1 mL, em duplicata, e inoculou-se usando o pour plate. Incubou-se as placas a 36°C ± 1°C por 48 horas.

#### 5.4 Administração do item de teste – Método por Diluição - Neutralização

O item de teste foi empregado conforme item 4.5.





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.

### 5.5 Teste Na

Pipetou-se 1 mL da substância interferente em um tubo. Adicionou-se 1 mL da suspensão teste de ensaio. Iniciou-se o cronômetro imediatamente, misturou-se e colocou-se o tubo num banho de água controlado na temperatura escolhida, conforme item 4.5, por 2 minutos  $\pm$  10 segundos. Ao final deste tempo, adicionou-se 8 mL de uma das soluções de teste do produto. Reiniciou-se o cronômetro, no início da adição, misturou-se e colocou-se o tubo no banho de água controlado para o tempo de contato, conforme item 4.5. Pouco antes do fim do tempo de contato, misturou-se novamente.

Ao final do tempo determinado, tomou-se uma amostra de 1 mL da mistura de ensaio Na e transferiu-se para um tubo contendo 8 mL de neutralizante e 1 mL de água. Misturou-se e colocou-se em um banho com temperatura controlada, a aguardou-se o tempo de neutralização de 5 minutos  $\pm$  10 segundos. Imediatamente, tomou-se uma amostra de 1 mL da mistura de ensaio neutralizada Na, em duplicata, e inoculou-se pelo método pour plate.

### 5.6 Condição experimental do 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. Iniciou-se o cronômetro de imediato, misturou-se e colocou-se o tubo em banho com água em temperatura controlada, conforme item 4.5 por 2 minutos  $\pm$  10 segundos. Ao final deste tempo, adicionou-se 8 mL de água estéril. Reiniciou-se o cronômetro no início da adição, misturou-se e colocou-se o tubo em banho de água com temperatura controlada para o tempo de contato conforme definido no item 4.5. Agitou-se antes do final do tempo e misturou-se.

Ao final do tempo determinado, tomou-se uma amostra de 1 mL desta mistura A, em duplicata, e inoculou-se usando o método pour plate.

### 5.7 Controle Neutralizante B (Verificação da ausência de toxicidade do neutralizador)

Pipetou-se 9 mL de neutralizante utilizado no ensaio para um tubo. Adicionou-se 1 mL da suspensão de validação Nvb. Iniciou-se o cronômetro no início da adição, misturou-se. Transferiu-se 0,5 mL desta mistura para um tubo contendo 4,5 mL de neutralizante para obter a diluição  $10^{-1}$  de Nvb, repetiu-se este procedimento para obter a diluição  $10^{-2}$  de Nvb em banho a temperatura controlada, conforme item 4.5 por 5 minutos  $\pm$  10 segundos. Pouco antes do final deste tempo, misturou-se.

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

### 5.8 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 somente na maior concentração utilizada no ensaio. Agitou-se e colocou-se o tubo num banho com temperatura controlada, conforme item 4.5, durante tempo determinado conforme item 4.5. Pouco antes do fim do tempo de contato, misturou-se novamente. No final do tempo determinado, transferiu-se 1,0 mL da mistura para um tubo contendo 8 mL de



neutralizante. Reiniciou-se o cronômetro imediatamente, misturou-se e colocou o tubo em banho com temperatura controlada por 5 minutos  $\pm$  10 segundos. Adicionou-se 1,0 mL da suspensão de validação. Iniciou-se um cronômetro no início da adição e misturou-se. Colocou-se o tubo em 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 C, em duplicata, e inoculou-se usando o método pour plate.

### 5.9 Incubação e contagem da mistura teste e misturas do controle e da validação

Incubaram-se as placas a  $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  por 48 horas. Anotou-se para cada placa o número exato de colônias, mas registrou-se  $> 330$  para qualquer contagem superior a 330, e  $< 14$  para contagens inferiores a 14; posteriormente determinaram-se os valores (Vc). Calculou-se o número de UFC / mL nas misturas Na e nas misturas de validação A, B e C.

## 6. Cálculos

### 6.1 Cálculo de N e N0

N é o número de células por mL na suspensão teste.

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

Onde:

c é a soma de valores Vc considerados;

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

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

$10^{-6}$  é o fator de diluição correspondente a diluição mais baixa.

### 6.2 Cálculo de Na

$$Na = 10 \times c / n$$

Onde:

c é a soma dos valores Vc considerados;

n é o número de valores Vc considerados.

### 6.3 Cálculo de Nv, Nv0 e Nvb

$$Nv = 10 \times c / n$$

$$Nv_0 = c / n$$

$$Nvb = 1000 \times c / n$$

Onde:

c é a soma dos valores Vc considerados;

n é o número de valores Vc considerados.

### 6.4 Cálculos de A, B e C

$$A, B, C = c / n$$

Onde:

c é a soma dos valores Vc considerados;



$n$  é o número de valores  $V_c$  considerados.

## 7. Desvios ao Plano de Estudo

### 7.1 Informação do Plano de Estudo

Item 13. Datas Propostas

### 7.2 Desvio

Mudou de:

Início da Fase Experimental: 16/Fev/2021

Conclusão da Fase Experimental: 20/Fev/2021

Mudou para:

Início da Fase Experimental: 17/Fev/2021

Conclusão da Fase Experimental: 25/Fev/2021

### 7.3 Razão

Devido à demanda dos estudos no laboratório e disponibilidade da equipe técnica, as datas propostas foram alteradas.

### 7.4 Impacto

As alterações não causaram impacto no resultado do estudo.

## 8. Resultados

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

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	>330	>330	$3,40 \times 10^8$	$3,40 \times 10^7$	7,53	
$10^7$	1,0 mL	38	30				
VALIDAÇÕES - $N_v$ e $N_{v0}$							
Diluição	Volume	Placa 1	Placa 2	Média $N_v$	Média $N_{v0}$	Limites $30 \leq \text{média de } N_{v0} \leq 160$	
$10^1$	1,0 mL	137	153	$1,45 \times 10^3$	$1,45 \times 10^2$		
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	87	82	143	145	146	126
<b>Média</b>		$8,45 \times 10^1$		$1,44 \times 10^2$		$1,36 \times 10^2$	
<b>Controles validados: Sim</b>							



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

Resultados para o tempo de contato 10 ,min							
Diluição	Volume	Cc abaixo 0,5:300		Cc indicada 1:300		Cc acima 2:300	
		Placa 1	Placa 2	Placa 1	Placa 2	Placa 1	Placa 2
10 <sup>1</sup>	1,0 mL	49	39	<14	<14	<14	<14
10 <sup>2</sup>	1,0 mL	<14	<14	<14	<14	<14	<14
Média - N <sub>a</sub>		4,40 x 10 <sup>2</sup>		<1,40 x 10 <sup>2</sup>		<1,40 x 10 <sup>2</sup>	
Log N <sub>a</sub>		2,64		<2,14		<2,14	
N <sub>0</sub> /N <sub>a</sub> (ufc/ml)		7,73 x 10 <sup>4</sup>		>2,43 x 10 <sup>5</sup>		>2,43 x 10 <sup>5</sup>	
%R (=100 - (Na x 100 / N0)		99,99%		>99,999%		>99,999%	
Log R (=LogN0 – Log Na)		4,89		>5,39		>5,39	
<b>Resultado: Satisfatório</b>							

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	>330	>330	3,85 x 10 <sup>8</sup>	3,85 x 10 <sup>7</sup>	7,58	
10 <sup>7</sup>	1,0 mL	46	31				
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	151	113	1,32 10 <sup>3</sup>	1,32 x 10 <sup>2</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	94	84	125	123	80	89
Média		8,90 x 10 <sup>1</sup>		1,24 x 10 <sup>2</sup>		8,45 x 10 <sup>1</sup>	
<b>Controles validados: Sim</b>							

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

Resultados para o tempo de contato 10 ,min							
Diluição	Volume	Cc abaixo 0,5:300		Cc indicada 1:300		Cc acima 2:300	
		Placa 1	Placa 2	Placa 1	Placa 2	Placa 1	Placa 2
10 <sup>1</sup>	1,0 mL	51	42	<14	<14	<14	<14
10 <sup>2</sup>	1,0 mL	<14	<14	<14	<14	<14	<14
Média - N <sub>a</sub>		4,65 x 10 <sup>2</sup>		<1,40 x 10 <sup>2</sup>		<1,40 x 10 <sup>2</sup>	
Log N <sub>a</sub>		2,67		<2,14		<2,14	
N <sub>0</sub> /N <sub>a</sub> (ufc/ml)		8,28 x 10 <sup>4</sup>		>2,75 x 10 <sup>5</sup>		>2,75 x 10 <sup>5</sup>	
%R (=100 - (Na x 100 / N0)		99,99%		>99,999%		>99,999%	
Log R (=LogN0 – Log Na)		4,91		>5,44		>5,44	
<b>Resultado: Satisfatório</b>							

Tabela 5. Resultados dos controles – *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442

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	>330	>330	3,75 x 10 <sup>8</sup>	3,75 x 10 <sup>7</sup>	7,57	
10 <sup>7</sup>	1,0 mL	39	36				





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	89	99	$9,40 \times 10^2$	$9,40 \times 10^1$		
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	60	58	86	95	52	75
Média		$5,90 \times 10^1$		$9,05 \times 10^1$		$6,35 \times 10^1$	
Controles validados: Sim							

Tabela 6. Resultados do Item de Teste - *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442

Resultados para o tempo de contato 10 ,min							
Diluição	Volume	Cc abaixo 0,5:300		Cc indicada 1:300		Cc acima 2:300	
		Placa 1	Placa 2	Placa 1	Placa 2	Placa 1	Placa 2
$10^1$	1,0 mL	63	57	<14	<14	<14	<14
$10^2$	1,0 mL	<14	<14	<14	<14	<14	<14
Média - $N_a$		$6,0 \times 10^2$		$<1,40 \times 10^2$		$<1,40 \times 10^2$	
Log $N_a$		2,78		<2,14		<2,14	
$N_0/N_a$ (ufc/ml)		$6,25 \times 10^4$		$>2,68 \times 10^5$		$>2,68 \times 10^5$	
%R (=100 - ( $N_a \times 100 / N_0$ ))		99,99%		$>99,999\%$		$>99,999\%$	
Log R (=Log $N_0$ – Log $N_a$ )		4,79		$>5,43$		$>5,43$	
Resultado: Satisfatório							

## 9. Conclusão

De acordo com os resultados obtidos e nas condições do ensaio, o item de teste foi considerado **satisfatório** nas frente aos microrganismos testados.

## 10. Referências Bibliográficas

Norma Nº 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.

**EN 13727**. Chemical disinfectants and antiseptics – Quantitative suspension test for the evaluation of bactericidal activity in the medical área – Test method and requirements (Phase 2, Step 1). Association Française de Normalisation (AFNOR), 2012.





## 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 Resistência; Estudos de Eficácia; Citotoxicidade	Agrotóxicos, Seus Componentes e Afins; Produtos Farmacêuticos; Cosméticos; ativos 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", "saneantes", "cosméticos", "produtos veterinários", "ativos de ração", "preservativo de madeira", "produtos químicos industriais" e "produtos remediadores" estão contemplados pela adesão plena do Brasil, através da Coordenação Geral de Acreditação-Opcre 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-00664/20**

DADOS REFERENTES AO CLIENTE	
Empresa solicitante: SPARTAN DO BRASIL PRODUTOS QUIMICOS	
Endereço: Rodovia Adauto Campo Dall'Orto, Km 1,9 (SP 110-330), Sumaré – SP, CEP: 13178-440.	
DADOS REFERENTES A AMOSTRA	
Identificação do item de ensaio*: XTREME ALVFRESH	
Código do item de ensaio: SAN-1489-01/20	
Proposta: 06584/20	
Composição:	
Informação Adicional: Concentração Declarada do Ativo: 49,75%.	
Lote*: 291.307/20	
Data de Fabricação*: 06/Nov/2020	
Data de Validade*: 06/Nov/2021	
Quantidade recebida da amostra: 1.216 g	
Data do recebimento do item de ensaio: 09/Nov/2020	
Data de início do ensaio: 17/Dez/2020	
Data do fim do ensaio: 17/Dez/2020	
DADOS DE ANÁLISE	
Parâmetro analisado: Teor de Peróxido de Hidrogênio	
Metodologia utilizada: Método do Cliente.	
* 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	46,371	0,091 <sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Amostra Homogênea
**Regra de Decisão de acordo com a norma RDC N° 59 (2010)**

Variação aceitável : ± 5% (47,263 a 52,238%).

**Declaração de Conformidade**

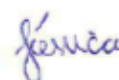
A concentração de Peróxido de Hidrogênio no item de ensaio permaneceu dentro da variação aceitável.

Página 1 de 2

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

Bioagri Laboratórios Ltda

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

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




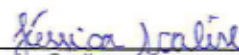

**BOLETIM DE ANÁLISE**  
**FQ-LFQ-00664/20**

**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 realizado pelo Laboratório.  
Os documentos e registros gerados neste ensaio serão mantidos no(s) arquivo(s) por um período de seis (6) anos.

Emissão:

Piracicaba, 17 de Dezembro de 2020.



Jéssica Scalise  
CRQ nº 04270055 – IV Região  
Responsável Técnica

