

RELATÓRIO DE ENSAIO

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE MICOBACTERICIDA – TESTE CONFIRMATÓRIO
Mycobacterium abscessus subsp. *bolletii*
AA13 – 038276.R

Cliente: THECH DESINFECÇÃO LTDA
Endereço: RUA FAGUNDES FILHO, 191 - CONJUNTO 142 -
VL MONTE ALEGRE 04300-10 SAO PAULO - SP
Protocolo Ecolyzer: 038276.R
Início do Processo: 09/09/2016
Recebimento da Amostra: 09/09/2016
Início do Ensaio: 26/10/2016
Término do Ensaio: 26/01/2017
Emissão do Relatório: 07/03/2017
Amostra: VOXILON AN
(%) ácido peracético: 0,25; peróxido de hidrogênio:
5,0; ácido acético: 4,0; benzotriazol: 0,0798; fosfato
de sódio monobásico anidro: 0,1246; fosfato de
sódio bibásico anidro: 1,1214; hexametáfosfato de
sódio: 0,0252; molibdato de sódio: 0,0490; água:
89,35.
Composição Química Declarada:
Quantidade de amostra recebida (mL ou g): 6000,00
Lote/Val./ Fab. Declarada: 102501601 09/03/2018 06/09/2016
Quantidade de amostra utilizada (g ou mL): 150

METODOLOGIA

O ensaio para Avaliação da Atividade Micobactericida, Teste Confirmatório é baseado na introdução de cilindros carregadores, previamente contaminados com microrganismos alvos em tubos de ensaio contendo amostra teste (desinfetante), onde permanecem em contato pelo tempo solicitado/estipulado. Posteriormente, os cilindros são transferidos para tubos de ensaio contendo meio de cultura adequado, e alíquotas dos tubos contendo neutralizante são transferidas para os meios de subcultura. Os tubos são incubados por 60 dias, e mais 30 dias adicionais caso não ocorra crescimento na primeira leitura.

Método Confirmatório para Avaliação da Atividade Micobactericida de Desinfetantes. Rio de Janeiro INCQS/FIOCRUZ - 65.3240.009 – Rev. 00 – 2016.

CONDIÇÕES DO ENSAIO

Faixa de temperatura da amostra durante o ensaio: 20°C±1.

Faixa de temperatura de incubação: 36°C±1.

TÉCNICA ANALÍTICA

Método Confirmatório para a Avaliação da Atividade Micobactericida de Desinfetantes.



RELATÓRIO DE ENSAIO

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE MICOBACTERICIDA – TESTE CONFIRMATÓRIO
Mycobacterium abscessus subsp. *bolletii*
AA13 – 038276.R

Laboratório de Ensaio acreditado pela Cgcre de acordo com a ABNT NBR ISO/IEC 17025, sob o número CRL 639

RESULTADO

Microrganismo Teste	<i>Mycobacterium abscessus</i> subsp. <i>bolletii</i> (INCQS n° 00594)
Diluição de Uso	Puro
Tempo de Contato	10 minutos
Resultado	Eliminação de 10 dos 10 cilindros Ausência de crescimento em 20 dos 20 tubos de subcultura.

CRITÉRIO DE ACEITAÇÃO

A amostra é considerada satisfatória quando o microrganismo teste for eliminado nos 10 cilindros utilizados, e não deverá haver crescimento microbiano nas alíquotas de 2 mL semeadas nos dois meios de subcultura. (especificação fornecida pelo método analítico)

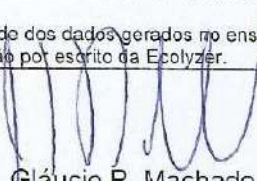
As opiniões e interpretações expressas abaixo não fazem parte do escopo da acreditação deste laboratório.

CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos no ensaio, a amostra pode ser considerada **SATISFATÓRIA** na eficácia micobactericida frente à *Mycobacterium abscessus* subsp. *bolletii* (INCQS n° 00594), quando utilizada pura e tempo de contato de 10 minutos.

- Os resultados referem-se única e exclusivamente aos itens ensaiados.
- Amostragem realizada pelo cliente.
- As amostras foram analisadas como recebidas, isentando o laboratório de qualquer responsabilidade referente aos procedimentos e dados de amostragem, preservação e envio das amostras.
- Este relatório atende os requisitos da NBR ISO/IEC 17025, o qual garante a rastreabilidade dos dados gerados no ensaio.
- É proibida a reprodução parcial deste Relatório. A reprodução em partes requer aprovação por escrito da Ecolyzer.


Sabrina Menchini
Analista Responsável
CRBio 51761/01-D


Gláucio P. Machado
Gerente Técnico
CRMV-SP 20396

=====



São Paulo, 30/09/2022

Declaração de alteração de nome da cepa *Mycobacterium massiliense*

Os Laboratórios Ecolyzer Ltda. CNPJ 02.752.024/0001-22 – localizado à Rua Romão Puiggari, 898, Vila das Mercês – São Paulo-SP, informa por meio desta justificativa técnica que os estudos foram conduzidos conforme determinado no informe técnico sobre produtos com ação antimicrobiana de uso em assistência à saúde (RDC nº 35/10), entretanto no ano de 2011 a comunidade científica realizou uma proposta de unificação e reclassificação do micro-organismo em questão, resultando na alteração de sua nomenclatura de *Mycobacterium massiliense* para *Mycobacterium abscessus* subsp. *bolletii*, conforme artigo anexado.

Colocando-nos ao inteiro dispor para prestar quaisquer esclarecimentos adicionais que se fizerem necessários, por favor, entrem em contato conosco pelo telefone: (011) 2948-9990.

Atenciosamente,



Assinado de forma digital por
SABRINA
MENCHINI:28194273838
DN: c=BR, o=ICP-Brasil,
ou=Secretaria da Receita Federal
do Brasil - RFB, ou=RFB e-CPF A1,
ou=(EM BRANCO),
ou=16894782000190,
ou=videoconferencia,
cn=SABRINA
MENCHINI:28194273838

Sabrina Menchini

Bióloga – CRBio 51761/01-D



Proposal that *Mycobacterium massiliense* and *Mycobacterium bolletii* be united and reclassified as *Mycobacterium abscessus* subsp. *bolletii* comb. nov., designation of *Mycobacterium abscessus* subsp. *abscessus* subsp. nov. and emended description of *Mycobacterium abscessus*

Sylvia Cardoso Leao,¹ Enrico Tortoli,² Jean Paul Euzéby³
and Maria Jesus Garcia⁴

Correspondence

Maria Jesus Garcia
mariaj.garcia@uam.es

¹Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, Brazil

²Centro Regionale di Riferimento per la Diagnostica dei Micobatteri, Laboratorio di Microbiologia e Virologia, Ospedale di Careggi, Firenze, Italy

³Société de Bactériologie Systématique et Vétérinaire and École Nationale Vétérinaire de Toulouse, BP 87614, F-31076 Toulouse cedex 3, France

⁴Departamento de Medicina Preventiva, Facultad de Medicina, Universidad Autonoma de Madrid, Madrid, Spain

The names '*Mycobacterium abscessus* subsp. *abscessus*' and '*Mycobacterium abscessus* subsp. *massiliense*', proposed by Leao *et al.* (2009, *J Clin Microbiol* **47**, 2691–2698), cannot be validly published. The purpose of this report is to provide a description in accordance with the Rules of the *Bacteriological Code* (1990 Revision). Moreover, the proposal of the name '*Mycobacterium abscessus* subsp. *massiliense*' is contrary to Rule 38 and the correct name of this taxon, at the rank of subspecies, is *Mycobacterium abscessus* subsp. *bolletii* comb. nov. A description of *Mycobacterium abscessus* subsp. *abscessus* subsp. nov. and an emended description of *Mycobacterium abscessus* are also given.

The species *Mycobacterium bolletii* (Adékambi *et al.*, 2006a) and *Mycobacterium massiliense* (Adékambi *et al.*, 2004, 2006b) cannot be separated from *Mycobacterium abscessus* (Moore & Frerichs, 1953; Kusunoki & Ezaki, 1992) by phenotypic tests and results derived from genotypic studies, such as DNA–DNA hybridization and RFLP-16S rRNA, supporting the proposition that the three taxa actually represent a single species with internal variability. Consequently, Leao *et al.* (2009) proposed the union of *M. bolletii* and *M. massiliense*, and the recognition of two subspecies within *M. abscessus*: '*Mycobacterium abscessus* subsp. *abscessus*' and '*Mycobacterium abscessus* subsp. *massiliense*'.

In contradiction to the *Bacteriological Code* (1990 Revision) (Lapage *et al.*, 1992; De Vos & Trüper, 2000), Leao *et al.* (2009) do not provide protologues for the new subspecies (see Rule 27) and therefore the names '*Mycobacterium abscessus* subsp. *abscessus*' and '*Mycobacterium abscessus*

subsp. *massiliense*' cannot be validly published by citation in a Validation List.

Moreover, the proposal of '*Mycobacterium abscessus* subsp. *massiliense*' is not in accordance with the Rules:

- The name *Mycobacterium bolletii* was validly published on page 140 of the January 2006 issue of the *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*.
- The name *Mycobacterium massiliense* was validly published on page 2025 of the September 2006 issue of the *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, by citation in Validation List 111.
- According to Rule 24b(2), the name *Mycobacterium bolletii* therefore has priority over the name *Mycobacterium massiliense*. Data presented by Leao *et al.* (2009) indicate that these taxa are heterotypic synonyms. According to Rule 38, if these taxa are considered to be one species, they must be united under the name *Mycobacterium bolletii*, and, according to Rule 50b, if that species is considered to be a subspecies of

A supplementary table is available with the online version of this paper.



M. abscessus, then the name of the subspecies must be *Mycobacterium abscessus* subsp. *bolletii*.

According to Rule 27(2) (Lapage *et al.*, 1992; De Vos & Trüper, 2000), a reference to a previous effectively published description is in accordance with the Rules. So, we propose the valid publication of the names *Mycobacterium abscessus* subsp. *bolletii* comb. nov. and *Mycobacterium abscessus* subsp. *abscessus* subsp. nov. with reference to the study by Leao *et al.* (2009) and the correction included in this report. The species description of *M. abscessus* is also emended to cover both *M. abscessus* subsp. *bolletii* and *M. abscessus* subsp. *abscessus*.

The data from Leao *et al.* (2009), as well as other publications (Kim *et al.*, 2008; Macheras *et al.*, 2009; Zelazny *et al.*, 2009; Leao *et al.*, 2010), showed a clear internal variability at the phenotypic and genotypic levels in the species *M. abscessus*. Such a characteristic suggests strongly that possible future descriptions of other subspecies in the species *M. abscessus* cannot be discounted.

Emended description of *Mycobacterium abscessus* (Moore and Frerichs 1953) Kusunoki and Ezaki 1992

Mycobacterium abscessus (abs.ces'sus. L. gen. n. *abscessus* of an abscess).

The following properties are displayed in addition to those listed in the species description by Kusunoki & Ezaki (1992): alkaline phosphatase, pyrrolidonyl arylamidase and tolerance to 5% (w/v) NaCl are present. Colonies can be smooth and grow on 5% sheep blood agar. Several enzymic activities show within-species variability, such as urease, catalase at 68 °C, β -glucosidase and β -galactosidase. More stable phenotypic characteristics are absence of growth at ≥ 42 °C, negative result for nitrate reduction and negative result for utilization of sodium citrate. The mycolic acid pattern, displayed by using HPLC, is very similar to those of other related species, showing only minor differences and low discriminatory power (Leao *et al.*, 2009). *M. abscessus* has a single ribosomal operon (*rrn* operon) per genome (Domenech *et al.*, 1994; Leao *et al.*, 2009). This species has two characteristic PRA-*hsp65* patterns: type 1, showing *Bst*EII (bp) (235, 210) and *Hae*III (bp) (145, 70, 60, 50), and type 2 with *Bst*EII (bp) (235, 210) and *Hae*III (bp) (200, 70, 60, 50). The trait of 711 bp of the *rpoB* and the trait of 401 bp of the *hsp65* nucleotide sequences show up to 96.6 and 98.7% within-species similarity, respectively.

Mycobacterium abscessus (Moore and Frerichs 1953) Kusunoki and Ezaki 1992 emend. Leao *et al.* (authorship reads Leao, Tortoli and Garcia) encompasses two subspecies: *Mycobacterium abscessus* subsp. *bolletii* (Adékambi *et al.* 2006a) Leao, Tortoli and Garcia, comb. nov., and *Mycobacterium abscessus* subsp. *abscessus* (Moore and Frerichs 1953) Kusunoki and Ezaki 1992, subsp. nov.

The type strain is Hauduroy L948^T (=TMC 1543^T = ATCC 19977^T = CCUG 20993^T = CIP 104536^T = DSM 44196^T = JCM 13569^T = NCTC 13031^T).

Description of *Mycobacterium abscessus* subsp. *bolletii* (Adékambi *et al.* 2006a) Leao, Tortoli and Garcia, comb. nov.

Mycobacterium abscessus subsp. *bolletii* (bol.le'ti.i. N.L. gen. masc. n. *bolletii* of Bollet, to honour Claude Bollet, a famous clinical microbiologist and taxonomist).

Basonym: *Mycobacterium bolletii* Adékambi *et al.* 2006a.

The description is based on that given for *Mycobacterium bolletii* by Adékambi *et al.* (2006a), with the addition of the description given by Adékambi *et al.* (2006b) for *Mycobacterium massiliense*. As demonstrated by Leao *et al.* (2009), the characterization of a wide set of isolates clearly showed further within-subspecies variability in this subspecies. Thus, the phenotypic characteristics of this subspecies show variation between strains in relation to the characteristics indicated in the first description given by Adékambi *et al.* (2006a). For example, several strains are able to grow in 5% (w/v) NaCl and others reveal a positive result for urease. The variability is even stronger when comparing antimicrobial susceptibility: several strains are susceptible to clarithromycin, in contrast to the resistance described in the initial report. It is important to mention that discrepancies in susceptibility tests could be also ascribed to the method used. *Mycobacterium abscessus* subsp. *bolletii* has the properties given in the emended description of *Mycobacterium abscessus*. Additional features that distinguish this subspecies are the PRA-*hsp65* pattern and the *rpoB* and *hsp65* gene sequence differences. The PRA-*hsp65* pattern that characterizes *Mycobacterium abscessus* subsp. *bolletii* is *Mycobacterium abscessus* type 2. The trait of 711 bp of the *rpoB* and the trait of 401 bp of the *hsp65* nucleotide sequences from *Mycobacterium abscessus* subsp. *bolletii* show up to 95.6 and 98.5% similarity, respectively, to *Mycobacterium abscessus* subsp. *abscessus*. This subspecies includes strains of the species *Mycobacterium massiliense* described previously (Adékambi *et al.*, 2004, 2006b).

The type strain is BD^T (=CCUG 50184^T = CIP 108541^T = JCM 15297^T).

Description of *Mycobacterium abscessus* subsp. *abscessus* (Moore and Frerichs 1953) Kusunoki and Ezaki 1992, subsp. nov.

Mycobacterium abscessus subsp. *abscessus* (abs.ces'sus. L. gen. n. *abscessus* of an abscess).

Rule 40d (formerly Rule 46) of the *Bacteriological Code* (1990 Revision) (Lapage *et al.*, 1992; De Vos & Trüper, 2000) states that 'the valid publication of a subspecific name which excludes the type of the species automatically creates another subspecies which includes the type and whose name bears the same specific and subspecific epithets as the name of the type'. As *Mycobacterium bolletii* is transferred to the species *Mycobacterium abscessus* (*Mycobacterium abscessus* subsp. *bolletii* comb. nov.), an automatic consequence of this rule is that the subspecies *Mycobacterium abscessus* subsp. *abscessus*



(Moore and Frerichs 1953) Kusunoki and Ezaki 1992 must be created.

At the time of writing, the Judicial Opinion about the request by Tindall & Garrity (2008) has not been published. Thus, the authorship of the subspecies *Mycobacterium abscessus* subsp. *abscessus* follows the current Rule 40d.

The description is as that given for *Mycobacterium abscessus* by Kubica *et al.* (1972) and Kusunoki & Ezaki (1992). *Mycobacterium abscessus* subsp. *abscessus* has the properties given in the emended description of *Mycobacterium abscessus*. Additional features that distinguish this subspecies are the PRA-*hsp65* pattern and the *rpoB* and *hsp65* gene sequence differences. *Mycobacterium abscessus* subsp. *abscessus* shows the characteristic PRA-*hsp65* pattern *Mycobacterium abscessus* type 1. The trait of 711 bp of the *rpoB* and the trait of 401 bp of the *hsp65* nucleotide sequences from *Mycobacterium abscessus* subsp. *abscessus* show up to 95.6 and 98.5% similarity, respectively, to *Mycobacterium abscessus* subsp. *bolletii*.

The type strain is Hauduroy L948^T (=TMC 1543^T =ATCC 19977^T =CCUG 20993^T =CIP 104536^T =DSM 44196^T =JCM 13569^T =NCTC 13031^T).

References

- Adékambi, T., Reynaud-Gaubert, M., Greub, G., Gevaudan, M. J., La Scola, B., Raoult, D. & Drancourt, M. (2004). Amoebal coculture of "*Mycobacterium massiliense*" sp. nov. from the sputum of a patient with hemoptoic pneumonia. *J Clin Microbiol* 42, 5493–5501.
- Adékambi, T., Berger, P., Raoult, D. & Drancourt, M. (2006a). *rpoB* gene sequence-based characterization of emerging non-tuberculous mycobacteria with descriptions of *Mycobacterium bolletii* sp. nov., *Mycobacterium phocaicum* sp. nov. and *Mycobacterium aubagnense* sp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 56, 133–143.
- Adékambi, T., Reynaud-Gaubert, M., Greub, G., Gevaudan, M. J., La Scola, B., Raoult, D. & Drancourt, M. (2006b). *Mycobacterium massiliense* sp. nov. In *List of New Names and New Combinations Previously Effectively, but not Validly, Published*, Validation List no. 111. *Int J Syst Evol Microbiol* 56, 2025–2027.
- De Vos, P. & Trüper, H. G. (2000). Judicial Commission of the International Committee on Systematic Bacteriology. IXth International (IUMS) Congress of Bacteriology and Applied Microbiology. Minutes of the meetings, 14, 15 and 18 August 1999, Sydney, Australia. *Int J Syst Evol Microbiol* 50, 2239–2244.
- Domenech, P., Menendez, M. C. & Garcia, M. J. (1994). Restriction fragment length polymorphisms of the rRNA genes in the differentiation of fast-growing mycobacterial species. *FEMS Microbiol Lett* 116, 19–24.
- Kim, H.-Y., Kook, Y., Yun, Y.-J., Park, C. G., Lee, N. Y., Shim, T. S., Kim, B.-J. & Kook, Y.-H. (2008). Proportions of *Mycobacterium massiliense* and *Mycobacterium bolletii* strains among Korean *Mycobacterium chelonae*-*Mycobacterium abscessus* group isolates. *J Clin Microbiol* 46, 3384–3390.
- Kubica, G. P., Baess, I., Gordon, R. E., Jenkins, P. A., Kwapinski, J. B. G., McDurmont, C., Pattyn, S. R., Saito, H., Silcox, V. & other authors (1972). A cooperative numerical analysis of the rapidly growing mycobacteria. *J Gen Microbiol* 73, 55–70.
- Kusunoki, S. & Ezaki, T. (1992). Proposal of *Mycobacterium peregrinum* sp. nov., nom. rev., and elevation of *Mycobacterium chelonae* subsp. *abscessus* (Kubica *et al.*) to species status: *Mycobacterium abscessus* comb. nov. *Int J Syst Bacteriol* 42, 240–245.
- Lapage, S. P., Sneath, P. H. A., Lessel, E. F., Skerman, V. B. D., Seeliger, H. P. R. & Clark, W. A. (editors) (1992). *International Code of Nomenclature of Bacteria (1990 Revision)*. Bacteriological Code. Washington, DC: American Society for Microbiology.
- Leao, S. C., Tortoli, E., Viana-Niero, C., Ueki, S. Y. M., Batista Lima, K. V., Lopes, M. L., Yubero, J., Menendez, M. C. & Garcia, M. J. (2009). Characterization of Mycobacteria from a major Brazilian Outbreak suggests that revision of the taxonomic status of members of the *Mycobacterium chelonae*-*M. abscessus* group is needed. *J Clin Microbiol* 47, 2691–2698.
- Leao, S. C., Viana-Niero, C., Matsumoto, C. K., Batista Lima, C. V., Lopes, M. L., Palaci, M., Hadad, D. J., Vinhas, S., Duarte, R. S. & other authors (2010). Epidemic of surgical-site of infections by a single clone of rapidly growing mycobacteria in Brazil. *Future Microbiol* 5, 971–980.
- Macheras, E., Roux, A.-L., Ripoll, F., Sivadon-Tardy, V., Gutierrez, C., Gaillard, J.-L. & Heym, B. (2009). Inaccuracy of single-target sequencing for discriminating species of the *Mycobacterium abscessus* group. *J Clin Microbiol* 47, 2596–2600.
- Moore, M. & Frerichs, J. B. (1953). An unusual acid-fast infection of the knee with subcutaneous, abscess-like lesions of the gluteal region; report of a case with a study of the organism, *Mycobacterium abscessus*, n. sp. *J Invest Dermatol* 20, 133–169.
- Tindall, B. J. & Garrity, G. M. (2008). Should we alter the way that authorship of a subspecies name that is automatically created under Rule 40d of the Bacteriological Code is cited? *Int J Syst Evol Microbiol* 58, 1991–1992.
- Zelazny, A. M., Root, J. M., Shea, Y. R., Colombo, R. E., Shamputa, I. C., Stock, F., Conlan, S., McNulty, S., Brown-Elliott, B. A. & other authors (2009). Cohort study of molecular identification and typing of *Mycobacterium abscessus*, *Mycobacterium massiliense* and *Mycobacterium bolletii*. *J Clin Microbiol* 47, 1985–1995.



Rua XV de Novembro, 64 - Sala 21
Edifício Pedro Francisco Vargas
Centro, Itajaí - Santa Catarina
(47) 3514-7599 | (47) 99748-2223
www.dautin.com | dautin@dautin.com



CERTIFICADO DE PROVA DE AUTENTICIDADE ELETRÔNICA

A DAUTIN BLOCKCHAIN DOCUMENTOS DIGITAIS E SERVIÇOS LTDA, especificada neste ato apenas como **Dautin Blockchain Co.** CERTIFICA para os devidos fins de direito que, o arquivo digital especificado com o tipo documental **Autenticação** e representado pela função hash criptográfica conhecida como SHA-256, de código **41c5df39fe1e511f4893975fe8148c31376764744961e8e51c7aa06f2032d968** foi autenticado de acordo com as Legislações e normas vigentes¹ através da rede blockchain Ethereum Classic, sob o identificador único denominado NID **123750** dentro do sistema.

A autenticação eletrônica do documento intitulado "**Autenticação**", cujo assunto é descrito como "**Autenticação**", faz prova de que em **24/03/2023 14:56:33**, o responsável **Indalabor Indaiá Laboratório Farmacêutico Ltda (04.654.861/0001-44)** tinha posse do arquivo com as mesmas características que foram reproduzidas na prova de autenticidade, sendo de Indalabor Indaiá Laboratório Farmacêutico Ltda a responsabilidade, única e exclusiva, pela idoneidade do documento apresentado a DAUTIN Blockchain Co.

Este CERTIFICADO foi emitido em **24/03/2023 15:11:17** através do sistema de autenticação eletrônica da empresa DAUTIN Blockchain Co. de acordo com o Art. 10, § 2º da MP 2200-2/2001, Art. 107 do Código Civil e Art. 411, em seus §§ 2º e 3º do Código de Processo Civil, estando dessa maneira de acordo para o cumprimento do Decreto 10278/2020.

Para mais informações sobre a operação acesse o site <https://www.dautin.com> e informe o código da transação blockchain **0xa7418378327160eb84ef4e9f70ae5597f09c3cd38d477f09a82546c45792f0cc**. Também é possível acessar a consulta através da rede blockchain em <https://blockscout.com/etc/mainnet/>

¹ Legislação Vigente: Medida Provisória nº 2200-2/2001, Código Civil e Código de Processo Civil.



Presidência da República Casa Civil
Subchefia para Assuntos Jurídicos
MEDIDA PROVISÓRIA 2.200-2
DE 24 DE AGOSTO DE 2001.

