

Título do Estudo

Eficácia Microbiológica para Avaliação de Desinfetantes pelo Método da
Diluição de Uso do item de teste Ciclo Germ 5G
Frente à *Staphylococcus aureus*, *Salmonella choleraesuis* e
Pseudomonas aeruginosa.

**Metodologia de Referência**

TOMASINO, S. (chapter editor). 6.2.01 AOAC Official method 955.14. Testing disinfectants against *Salmonella choleraesuis* use-dilution Method. In: HORWITZ, W. & LATIMER JR., G.W. (Editors). **Official Methods of Analysis of AOAC Internacional**. 19th edition, 2012. Gaithersburg: AOAC INTERNACIONAL, chapter – Disinfectants, subchapter 2- Hard Surface Carrier Test Methods, 2012. p.: 06-10.

TOMASINO, S. (chapter editor). 6.2.01 AOAC Official method 955.14. Testing disinfectants against *Staphylococcus aureus* use-dilution Method. In: HORWITZ, W. & LATIMER JR., G.W. (Editors). **Official Methods of Analysis of AOAC Internacional**. 19th edition, 2012. Gaithersburg: AOAC INTERNACIONAL, chapter – Disinfectants, subchapter 2- Hard Surface Carrier Test Methods, 2012. p.: 14-18.

TOMASINO, S. (chapter editor). 6.2.01 AOAC Official method 955.14. Testing disinfectants against *Pseudomonas aeruginosa* use-dilution Method. In: HORWITZ, W. & LATIMER JR., G.W. (Editors). **Official Methods of Analysis of AOAC Internacional**. 19th edition, 2012. Gaithersburg: AOAC INTERNACIONAL, chapter – Disinfectants, subchapter 2- Hard Surface Carrier Test Methods, 2012. p.: 18-22.

Diretora de Estudo

Mariana Ayres Ferraz da Silva

Estudo Concluído

14/Mai/2019

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
E-mail: mariana.ferraz@mxns.com

Patrocinador

Ciclo Farma Indústria Química Eireli
Rua Benedito José de Carvalho Ramos, 150 - Serrana - São Paulo - 14150-000

Estudo #

2922.148.161.18

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 TOMASINO, S. (chapter editor). 6.2.01 AOAC Official method 955.14. Testing disinfectants against *Staphylococcus aureus* use-dilution Method. In: HORWITZ, W. & LATIMER JR., G.W. (Editors). **Official Methods of Analysis of AOAC Internacional**. 19th edition, 2012. Gaithersburg: AOAC INTERNACIONAL, chapter – Disinfectants, subchapter 2- Hard Surface Carrier Test Methods, 2012. p.: 14-18, TOMASINO, S. (chapter editor). 6.2.01 AOAC Official method 955.14. Testing disinfectants against *Salmonella choleraesuis* use-dilution Method. In: HORWITZ, W. & LATIMER JR., G.W. (Editors). **Official Methods of Analysis of AOAC Internacional**. 19th edition, 2012. Gaithersburg: AOAC INTERNACIONAL, chapter – Disinfectants, subchapter 2- Hard Surface Carrier Test Methods, 2012. p.: 06-10. TOMASINO, S. (chapter editor). 6.2.01 AOAC Official method 955.14. Testing disinfectants against *Pseudomonas aeruginosa* use-dilution Method. In: HORWITZ, W. & LATIMER JR., G.W. (Editors). **Official Methods of Analysis of AOAC Internacional**. 19th edition, 2012. Gaithersburg: AOAC INTERNACIONAL, chapter – Disinfectants, subchapter 2- Hard Surface Carrier Test Methods, 2012. p.: 18-22 e de acordo com os Princípios das Boas Práticas de Laboratório (BPL) da Norma Nº NIT-DICLA-035-(Rev. 03). PRINCÍPIOS DAS BOAS PRÁTICAS DE LABORATÓRIO – BPL. CGCRE – Coordenação Geral de Acreditação – Nov/2018 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 06 anos.

Item de teste, item de referência e alíquotas do sistema teste serão mantidas nos arquivos da BIOAGRI Laboratórios Ltda., por tempo adequado a sua natureza e conservação e após este período serão descartados profissionalmente ou encaminhadas ao patrocinador.


Mariana Ayres Ferraz da Silva
Diretora de Estudo
Fone: (19) 3429-7700

14 / mai / 2019
dd mmm aaaa

Estudo #: 2922.148.161.18

Título do Estudo: Eficácia Microbiológica para Avaliação de Desinfetantes pelo Método da Diluição de Uso do item de Teste Ciclo Germ 5G Frente à *Staphylococcus aureus*, *Salmonella choleraesuis* e *Pseudomonas aeruginosa*.

Declaração da Garantia da Qualidade

O relatório foi inspecionado pela Garantia da Qualidade (GQ) – BIOAGRI. 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
18/Abr/2019	Plano de Estudo	18/Abr/2019	18/Abr/2019
26/Nov/2018	<i>Estudos de curta duração:</i> RAS 0201/18 (Preparo do Item de teste e aplicação experimental, avaliação dos resultados)	28/Nov/2018	30/Nov/2018
14/Mai/2019	Relatório Final	14/Mai/2019	14/Mai/2019

A inspeção de processo mais recente da fase laboratorial desta classe de estudo foi realizada entre os dias 22 a 26 de Novembro de 2018. Esta inspeção está registrada no documento interno **RAS 0201/18**. 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.


GIANE CRISTINA MARTIM
Insp. da Garantia da Qualidade
Garantia da Qualidade
Fone: (19) 3429-7701

14 / mai / 2019
dd mmm aaaa

Índice

Declaração da Garantia da Qualidade.....	3
Índice.....	4
Resumo.....	5
1. Informações Gerais.....	5
2. Equipe Técnica.....	5
3. Objetivo.....	5
4. Material e Métodos.....	5
4.1 Informações Referentes ao Item de Teste.....	5
4.2 Equipamentos.....	6
4.3 Material, Reagentes e/ou Solventes.....	6
4.4 Sistema-Teste.....	6
4.4.1 Descrição.....	6
4.4.2 Justificativa para a seleção do sistema-teste.....	7
4.5 Procedimento Experimental.....	7
4.5.1 Preparo dos Cilindros Carreadores.....	7
4.5.2 Preparo das Culturas testes.....	7
4.5.3 Rota de exposição.....	8
4.5.4 Justificativa rota de exposição.....	8
4.5.5 Administração do Item de Teste.....	8
4.5.6 Controles de Qualidade.....	9
5. Desvios ao Plano de Estudo.....	9
5.1 Informação do Plano de Estudo.....	9
5.2 Desvio.....	9
5.3 Razão.....	10
5.4 Impacto.....	10
6. Resultados.....	10
7. Conclusão.....	11
8. Referências Bibliográficas.....	11

TABELA

Tabela 1. Resultados do Ensaio após exposição do item de Teste.....	10
Tabela 2. Controle de validação do ensaio <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538.....	10
Tabela 3. Controle de validação do ensaio <i>Salmonella choleraesuis</i> ATCC 10708.....	10
Tabela 4. Controle de validação do ensaio <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 15442.....	10
Tabela 5: Contagem de células no inóculo da neutralização <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538.....	11
Tabela 6: Contagem de células no inóculo da neutralização <i>Salmonella choleraesuis</i> ATCC 10708.....	11
Tabela 7: Contagem de células no inóculo da neutralização <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 15442.....	11

ANEXO

Anexo 1 – Certificado de Reconhecimento da Conformidade aos Princípios das BPL.....	13
Anexo 2 – Boletim de Análise LFQ.....	14

Resumo

O estudo Avaliação da Atividade Antibacteriana no item de teste Ciclo Germ 5G foi desenvolvido utilizando-se os microrganismos *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Salmonella choleraesuis* oriundo do banco de culturas do Laboratório de Microbiologia Geral - LMG – Bioagri Laboratórios Ltda., sendo a sua exposição feita através de carreadores. Os mesmos foram, realizados com o Item de Teste puro, na presença de soro de cavalo, pelo tempo de contato de 10 minutos, conforme solicitado pelo patrocinador. O Item de teste, para ser considerada satisfatório, deve ser capaz de matar o microrganismo teste em, pelo menos 59 dos 60 cilindros utilizados no tempo de contato avaliado, o que confere um nível de confiança de 95%. Os resultados foram considerados satisfatórios frente aos microrganismos testados.

1. Informações Gerais

Data do Início do Estudo:	22/Abr/2019
Data do Início do Experimento:	30/Abr/2019
Data do Término do Experimento:	04/Mai/2019
Relatório Final:	14/Mai/2019

2. Equipe Técnica

Diretor de Estudo:	Mariana Ayres Ferraz da Silva
Pesquisadora:	Marina Gumiere
Técnica de Laboratório:	Daiane Cristina Mandro
Assistente de Laboratório:	Jéssica Carina Poslednick

3. Objetivo

O objetivo deste estudo foi avaliar a ação bactericida de desinfetantes pelo método da diluição de uso do item de Teste Ciclo Germ 5G frente à *Staphylococcus aureus*, *Salmonella choleraesuis* e *Pseudomonas aeruginosa*.

4. Material e Métodos

4.1 Informações Referentes ao Item de Teste

Item de teste:	Ciclo Germ 5G ⁽¹⁾
Nome Comum do Ingrediente Ativo (i.a.):	Blend: Cloreto de Didecyl Dimethyl Ammonium, n-Alquil Dimethyl Benzyl Ammonium Chloride ⁽¹⁾
Concentração Declarada do i.a. (Patrocinador):	0,6% ⁽¹⁾
Nome Comum do Ingrediente Ativo (i.a.):	Cloridrato de Polyhexametileno Biguanida ⁽¹⁾
Concentração Declarada do i.a. (Patrocinador):	0,26% ⁽¹⁾
Recebida em:	22/Fev/2019
Código Bioagri Laboratórios Ltda.:	SAN-0077-02/19
Concentração Analisada do i.a. (Bioagri Laboratórios Ltda.):	0,650% (m/m) Blend: Cloreto de Didecyl Dimethyl Ammonium, n-Alquil Dimethyl Benzyl Ammonium Chloride
	0,282% (m/m) Cloridrato de Polyhexametileno Biguanida ⁽¹⁾
Boletim de Análise LFQ	BA LFQ-0075/19 Blend: Cloreto de Didecyl Dimethyl Ammonium, n-Alquil Dimethyl Benzyl Ammonium Chloride
	FQ-LFQ-0027/19 Cloridrato de Polyhexametileno Biguanida

Número do lote:	081119PD ⁽¹⁾	
Estado Físico:	Líquido límpido, incolor ⁽¹⁾	
Data de Fabricação:	30/Jan/2019 ⁽¹⁾	
Data de Validade:	30/Jan/2021 ⁽¹⁾	
Composição Declarada:	Água deionizada	96,04 Q.S.P
	Blend: Cloreto de Didecyl Dimethyl Ammonium, n-Alquil Dimethyl Benzyl Ammonium Chloride, água.	0,6%
	Cloridrato de Polyhexametileno Biguanida	0,26%
	Mistura Mit/Cmit 1:3	0,1%
	Metilisotiazolínona/Metilcloro Isotiazolínona	
	Álcool Primário Etoxilado 6,5EO	3,0%
Quantidade de Amostra Recebida:	9154g	
Referência:	⁽¹⁾ Informações fornecidas pelo cliente	

4.2 Equipamentos

Autoclave
pHmetro
Balança semi-analítica
Forno de Microondas
Termômetro de Vidro
Banho Maria
Câmara de Fluxo
Câmara Incubadora
Micropipeta
Cronômetro digital

4.3 Material, Reagentes e/ou Solventes

Neutralizantes: Caldo Letheen + Tween
Tampão fosfato
Placas
TSA
Tubos de Subcultura
Cilindro estéril
Soro de Cavalo

4.4 Sistema-Teste

4.4.1 Descrição

- Espécie: *Staphylococcus aureus*
- Referência: ATCC 6538
- Origem: Microbiologics
- Lote: 485-638

- Espécie: *Salmonella entérica* (serovar *choleraesuis*)
- Referência: ATCC 10708
- Origem: Fundação Oswaldo Cruz
- Lote: 212028

- Espécie: *Pseudomonas aeruginosa*,
- Referência: ATCC 15442
- Origem: Microbiologics
- Lote: 693-119

4.4.2 Justificativa para a seleção do sistema-teste

O sistema teste *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enterica* (serovar *choleraesuis*), *Pseudomonas aeruginosa*, foram escolhidos por serem espécies recomendadas pelas agências regulamentadoras governamentais para os testes de eficácia na Avaliação da Atividade Bactericida de Desinfetantes e pela(s) metodologia(s) de referência: TOMASINO, S. (chapter editor). 6.2.01 AOAC Official method 955.14. Testing disinfectants against *Salmonella choleraesuis* use-dilution Method. In: HORWITZ, W. & LATIMER JR., G.W. (Editors). **Official Methods of Analysis of AOAC Internacional**. 19th edition, 2012. Gaithersburg: AOAC INTERNACIONAL, chapter – Disinfectants, subchapter 2- Hard Surface Carrier Test Methods, 2012. p.: 06-10.

TOMASINO, S. (chapter editor). 6.2.01 AOAC Official method 955.14. Testing disinfectants against *Staphylococcus aureus* use-dilution Method. In: HORWITZ, W. & LATIMER JR., G.W. (Editors). **Official Methods of Analysis of AOAC Internacional**. 19th edition, 2012. Gaithersburg: AOAC INTERNACIONAL, chapter – Disinfectants, subchapter 2- Hard Surface Carrier Test Methods, 2012. p.: 14-18.

TOMASINO, S. (chapter editor). 6.2.01 AOAC Official method 955.14. Testing disinfectants against *Pseudomonas aeruginosa* use-dilution Method. In: HORWITZ, W. & LATIMER JR., G.W. (Editors). **Official Methods of Analysis of AOAC Internacional**. 19th edition, 2012. Gaithersburg: AOAC INTERNACIONAL, chapter – Disinfectants, subchapter 2- Hard Surface Carrier Test Methods, 2012. p.: 18-22.

4.5 Procedimento Experimental

4.5.1 Preparo dos Cilindros Carreadores

Os cilindros foram lavados em água purificada e fervidos por 10 minutos. Em seguida foram mergulhados em solução de hidróxido de sódio 1M e deixados por uma noite. Após esse período, foram lavados com água até que o pH ficasse neutro. Depois de lavados foram colocados em erlenmeyer 22 cilindros e cobertos com água purificada e levados a autoclave para esterilização por 20 minutos a 121°C. Depois de esterilizados possuem validade de 3 meses.

4.5.2 Preparo das Culturas testes

- *Salmonella choleraesuis* e *Staphylococcus aureus*: Para ensaio de diluição de uso, foram feitos três repiques consecutivos de 24 horas em 10mL de caldo nutriente. Caso omitisse um repique de 24 horas, recomeçou-se a série de repiques consecutivos. O repique mínimo utilizado no ensaio foi 4º repique (podendo ser utilizado até 32 repiques) que foram inoculados em tubos contendo 22mL de caldo nutriente e incubou-se por 48-54 horas a 36°C ± 1°C;

- *Pseudomonas aeruginosa*: Para ensaio de diluição de uso, foram feitos três repiques consecutivos de 24 horas em 10mL de caldo nutriente. Caso omitisse um repique de 24 horas, recomeçou a série de repiques consecutivos. O repique mínimo que foi utilizado no ensaio é o 4º repique (podendo ser utilizado até 32 repiques) que foram inoculados em tubos contendo 22mL de caldo nutriente e incubar por 48-54 horas a 36°C ± 1°C. Não se agitou a cultura antes de remover a película

característica do crescimento desse microrganismo, removeu-se a parte líquida do crescimento com pipeta, deixando a película aderida à parede interna do tubo; outro modo de remover a película é através da sucção com pipeta graduada, sendo a cultura colocada em outro tubo de ensaio. Após a remoção da película, agitou-se a cultura teste antes do ensaio.

4.5.3 Rota de exposição

O Item de Teste Ciclo Germ 5G foi aplicado puro, na presença de soro de cavalo, conforme solicitação do patrocinador, sendo sua exposição feita por 10 minutos.

4.5.4 Justificativa rota de exposição

A forma de exposição do microrganismo ao item de Teste segue a especificação da metodologia de referência: TOMASINO, S. (chapter editor). 6.2.01 AOAC Official method 955.14. Testing disinfectants against *Staphylococcus aureus* use-dilution Method. In: HORWITZ, W. & LATIMER JR., G.W. (Editors). **Official Methods of Analysis of AOAC Internacional**. 19th edition, 2012. Gaithersburg: AOAC INTERNACIONAL, chapter – Disinfectants, subchapter 2- Hard Surface Carrier Test Methods, 2012. p.: 14-18.

TOMASINO, S. (chapter editor). 6.2.01 AOAC Official method 955.14. Testing disinfectants against *Salmonella choleraesuis* use-dilution Method. In: HORWITZ, W. & LATIMER JR., G.W. (Editors). **Official Methods of Analysis of AOAC Internacional**. 19th edition, 2012. Gaithersburg: AOAC INTERNACIONAL, chapter – Disinfectants, subchapter 2- Hard Surface Carrier Test Methods, 2012. p.: 06-10.

TOMASINO, S. (chapter editor). 6.2.01 AOAC Official method 955.14. Testing disinfectants against *Pseudomonas aeruginosa* use-dilution Method. In: HORWITZ, W. & LATIMER JR., G.W. (Editors). **Official Methods of Analysis of AOAC Internacional**. 19th edition, 2012. Gaithersburg: AOAC INTERNACIONAL, chapter – Disinfectants, subchapter 2- Hard Surface Carrier Test Methods, 2012. p.: 18-22.

4.5.5 Administração do Item de Teste

Agitaram-se os tubos contendo a cultura teste e deixou-se em repouso por 10 minutos \pm 1 minuto à temperatura ambiente. Foi feito um “pool” (junção de todos os tubos contendo a cultura teste, para garantir que o número de células seja o mesmo em todos os cilindros contaminados) das culturas removendo a porção superior dos tubos para um erlenmeyer estéril e agitou-se. Drenou-se a água contida nos erlenmeyers com cilindros e transferiu-se para o “pool”, deixando-os totalmente submersos na cultura teste e deixou-se em contato por 15 minutos \pm 2 minutos.

Conforme solicitado pelo patrocinador, de acordo com o item 4.5.3, o item de Teste foi empregado para limpeza e desinfecção; desta forma, adicionou-se Soro de Cavalo à cultura teste na proporção de 5% (v/v), imediatamente antes de realizar o ensaio.

Após o tempo de contato, retiraram-se os cilindros do “pool” e colocou-se na posição vertical em uma placa de Petri com papel filtro, colocando-os no máximo 12 cilindros em cada placa e não se deixou que os cilindros entrassem em contato. Cobriu-se a placa e incubou-se a 36°C \pm 1°C durante 40 minutos \pm 2 minutos. Os carreadores que tombaram sobre o papel filtro foram desprezados. Utilizaram-se os carreadores inoculados no mesmo dia. Preparou-se a diluição com água purificada

esterilizada em um balão volumétrico com tampa. Distribuiu-se 10mL da amostra em 60 beckeres. Adicionou-se um cilindro contaminado e seco por becker com a diluição a cada 30 segundos cronometradamente empregando o tempo de contato de 10 minutos para cada série de 20 cilindros.

Após o tempo de contato, mantendo os intervalos constantes, removeram-se os cilindros drenando o excesso da amostra e transferiu-se aos tubos de ensaio com o meio de subcultura primário com o neutralizante apropriado. A cada remoção flambou-se a alça e resfriou-se. Quando terminado de retirar todos os cilindros da série, transferiu-se para outros tubos de subcultura secundário no mínimo 30 segundos após a transferência do último cilindro. Agitaram-se todos os tubos de subcultura e incubou-se a $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 48 horas.

Após o período de incubação os resultados foram registrados como presença e ausência de crescimento nos tubos.

4.5.6 Controles de Qualidade

Viabilidade do meio de cultura: adicionaram-se dois cilindros contaminados e secos a cada tubo com o meio de subcultura utilizado no teste e incubou-se a $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Houve crescimento de microrganismo.

Esterilidade do meio de subcultura: incubou-se um meio de subcultura a $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, Não houve crescimento bacteriano.

Esterilidade da água purificada para diluir o produto: adicionou-se 0,2mL da água em tubo contendo 10mL do meio de subcultura, incubou-se a $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, não houve crescimento.

Esterilidade dos lotes de ponteira e pipeta: com as ponteiros aspirou-se o caldo de cultura e dispensou-se o caldo e a ponteira juntos em caldo de subcultura; no caso de pipeta, pipetou-se 3 vezes o caldo de subcultura acima da marca de graduação e incubou-se a $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

Controle de esterilidade dos carreadores: adicionou-se um cilindro estéril de cada microrganismo teste a tubos separados contendo o meio de subcultura utilizado e incubou-se a $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Não houve crescimento.

Quantificação de microrganismos nos carreadores: empregou-se 3 carreadores contaminados preparando um pool e em seguida diluições seriadas em tampão fosfato e plaqueou-se. Incubou-se a $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 24-48 horas e registrou-se o número de colônias.

5. Desvios ao Plano de Estudo

5.1 Informação do Plano de Estudo

2. Equipe Técnica

5.2 Desvio

Mudou de:

Diretora de Estudo: Marina Gumiere, Dra

Mudou para:

Diretora de Estudo: Mariana Ayres Ferraz da Silva

5.3 Razão

A diretora de estudo Marina Gumiere foi substituída por Mariana Ayres Ferraz da Silva, devido a reestruturação interna do setor

5.4 Impacto

A colaboradora Mariana Ayres Ferraz da Silva verificou todos os dados brutos incluídos no estudo e se estão de acordo com o plano de estudo, procedimentos operacionais padrão e de acordo com os Princípios das Boas Práticas de Laboratório (BPL).

As alterações não impactam nos resultados do estudo.

6. Resultados

Tabela 1. Resultados do Ensaio após exposição do item de Teste

Resultados Microrganismos	Número de Cilindros Utilizados	Ausência	Presença *
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	60	60	0
<i>Salmonella choleraesuis</i> ATCC 10708	60	60	0
<i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i> ATCC 15442	60	60	0

* Quando ocorrer crescimento em 1 cilindro, o resultado é satisfatório com 95% de confiança.

Tabela 2. Controle de validação do ensaio *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

CONTROLE DE VALIDAÇÃO DO ENSAIO		
Diluição	Cilindros – Contagem em placa (UFC)	
	Pool	
10 ⁴ 1mL	34	38
UFC/Pool (Média da contagem x 30)	1,08 x 10 ⁷	
UFC/Carreador (Valor do POOL / 3)	3,60 x 10 ⁶	

Tabela 3. Controle de validação do ensaio *Salmonella choleraesuis* ATCC 10708

CONTROLE DE VALIDAÇÃO DO ENSAIO		
Diluição	Cilindros – Contagem em placa (UFC)	
	Pool	
10 ⁴ 1mL	30	42
UFC/Pool (Média da contagem x 30)	1,08 x 10 ⁷	
UFC/Carreador (Valor do POOL / 3)	3,60 x 10 ⁶	

Tabela 4. Controle de validação do ensaio *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442

CONTROLE DE VALIDAÇÃO DO ENSAIO		
Diluição	Cilindros – Contagem em placa (UFC)	
	Pool	
10 ⁴ 1mL	43	36
UFC/Pool (Média da contagem x 30)	1,18 x 10 ⁷	
UFC/Carreador (Valor do POOL / 3)	3,95 x 10 ⁶	

Tabela 5: Contagem de células no inóculo da neutralização *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

Contagem de células no inóculo da neutralização			
Diluição 10 ² 0,1 mL	UFC/mL: 17	Quant. Inoculada:	1,70 x 10 ¹
Teste A) Carreadores (não inoculado) após 10 minutos de contato com o item de teste.			
Meio empregado + neutralizante	Crescimento (+) Presença/(-) Ausência		
Caldo Letheen + Tween	Subcultura primária	Subcultura secundária	
	(-)	(-)	

Tabela 6: Contagem de células no inóculo da neutralização *Salmonella choleraesuis* ATCC 10708

Contagem de células no inóculo da neutralização			
Diluição 10 ² 0,1 mL	UFC/mL: 20	Quant. Inoculada:	2,0 x 10 ¹
Teste A) Carreadores (não inoculado) após 10 minutos de contato com o item de teste.			
Meio empregado + neutralizante	Crescimento (+) Presença/(-) Ausência		
Caldo Letheen + Tween	Subcultura primária	Subcultura secundária	
	(-)	(-)	

Controles Validados: (x) Sim () Não

Tabela 7: Contagem de células no inóculo da neutralização *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442

Contagem de células no inóculo da neutralização			
Diluição 10 ² 0,1 mL	UFC/mL: 23	Quant. Inoculada:	2,30 x 10 ¹
Teste A) Carreadores (não inoculado) após 10 minutos de contato com o item de teste.			
Meio empregado + neutralizante	Crescimento (+) Presença/(-) Ausência		
Caldo Letheen + Tween	Subcultura primária	Subcultura secundária	
	(-)	(-)	

7. Conclusão

De acordo com a metodologia empregada e pelos resultados obtidos, o item de Teste foi considerado **satisfatório**, frente às cepas testadas.

8. Referências Bibliográficas

Norma Nº NIT-DICLA-035-(Rev. 03). PRINCÍPIOS DAS BOAS PRÁTICAS DE LABORATÓRIO – BPL. CGCRE – Coordenação Geral de Acreditação – Rio de Janeiro. p 16. Nov/2018.

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.

TOMASINO, S. (chapter editor). 6.2.01 AOAC Official method 955.14. Testing disinfectants against *Salmonella choleraesuis* use-dilution Method. In: HORWITZ, W. & LATIMER JR., G.W. (Editors). **Official Methods of Analysis of AOAC Internacional**. 19th edition, 2012. Gaithersburg: AOAC INTERNACIONAL, chapter – Disinfectants, subchapter 2- Hard Surface Carrier Test Methods, 2012. p.: 06-10.

TOMASINO, S. (chapter editor). 6.2.01 AOAC Official method 955.14. Testing disinfectants against *Staphylococcus aureus* use-dilution Method. In: HORWITZ, W. & LATIMER JR., G.W. (Editors). **Official Methods of Analysis of AOAC Internacional**. 19th edition, 2012. Gaithersburg: AOAC INTERNACIONAL, chapter – Disinfectants, subchapter 2- Hard Surface Carrier Test Methods, 2012. p.: 14-18.

TOMASINO, S. (chapter editor). 6.2.01 AOAC Official method 955.14. Testing disinfectants against *Pseudomonas aeruginosa* use-dilution Method. In: HORWITZ, W. & LATIMER JR., G.W. (Editors). **Official Methods of Analysis of AOAC Internacional**. 19th edition, 2012.

Gaithersburg: AOAC INTERNACIONAL, chapter – Disinfectants, subchapter 2- Hard Surface Carrier Test Methods, 2012. p.: 18-22.

ANVISA - Agência. Resolução RDC n.º 14, de 28 de fevereiro de 1988. Aprova o Regulamento Técnico para Produtos Saneantes com Ação Antimicrobiana harmonizado no âmbito do Mercosul através da Resolução GMC n.º50/06 que consta na presente Resolução. Revoga-se os seguintes itens da Portaria n.º 15, de 23 de agosto de 1988, da Divisão nacional de Produtos Saneantes Domissanitários: subitens 2, 6, 9 e 10 do item III; subitens 1, 2, 3, 4, 5 e 6 do item IV; Item VI; Subitem V do item VII; Subitens 5 e 5.1 do item VIII; Itens A, B, C, D, E e F do subanexo 2. Os produtos antimicrobianos destinados exclusivamente a áreas e artigos críticos, áreas e artigos semi-críticos e esterilizantes deverão obedecer ao determinado na Portaria n.º 15, de 23/08/88 e suas atualizações. Esta Resolução entra em vigor na data de sua publicação. Diário Oficial da União **[da República Federativa do Brasil.]** Poder Executivo, 5 de março de 2007.

ANVISA - Agência. Resolução RDC n.º 35, de 16 de agosto de 2010. Dispõe sobre o Regulamento Técnico para Produtos com Ação Antimicrobiana utilizados em artigos críticos e semi-críticos harmonizado no âmbito do Mercosul através da Resolução GMC n.º19/2010 que consta na presente Resolução. Revogam-se as disposições em contrário, em especial a Portaria SVS/MS n. 15, de 23 de agosto de 1988. Esta Resolução entra em vigor na data de sua publicação. Diário Oficial da União **[da República Federativa do Brasil.]**

INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE. **Manual de qualidade: Método da diluição de uso.** Rio de Janeiro: Ministério da Saúde – Fundação Oswaldo Cruz, N.º 65.3210.007, revisão 09, 26/03/2008. 25p.

ANEXO

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



República Federativa do Brasil
 Ministério da Indústria, Comércio Exterior e Serviços
 Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia – Inmetro
Coordenação Geral de Acreditação
Autoridade Brasileira de Monitoramento da Conformidade aos
Princípios das Boas Práticas de Laboratório-BPL

Certificado de Reconhecimento aos Princípios das Boas Práticas de Laboratório

Reconhecimento nº BPL 0002

Reconhecimento Inicial: 25-04-2000

Bloagri Laboratórios Ltda.
 Rodovia SP 127 - Km 24 – Guamium – 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.	Agrotóxicos, Seus Componentes e Afins; Produtos Farmacêuticos; Cosméticos; Produtos Veterinários; Saneantes; Produtos Químicos Industriais; Organismos Geneticamente Modificados (OGM); Produtos para a Saúde

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 da Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico - OCDE relacionados à Acreditação 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: 2018.06.12 16:28:03 -03'00'


Aldoney Freire Costa
Coordenador Geral de Acreditação Substituto

A situação atual do reconhecimento deve ser verificada no endereço eletrônico http://www.inmetro.gov.br/monitoramento_BPL/certificados/

ANEXO
Anexo 2 – Boletim de Análise LFQ



BOLETIM DE ANÁLISE
BA LFQ-0075/19

DADOS REFERENTES AO CLIENTE			
Empresa solicitante: CICLO FARMA INDÚSTRIA QUÍMICA EIRELI			
Endereço: Rua Benedito Jose de Carvalho Ramos, 150, Serrana, SP, CEP: 14150-000			
DADOS REFERENTES A AMOSTRA			
Identificação do item de ensaio*: CICLO GERM 5G			
Código do item de ensaio: SAN-0077-01/19			
Proposta: 00377/19			
Composição*:			
Componentes		Concentrações (%)	
Água Deionizada		96,04 Q.S.P	
Blend: Cloreto de Didecyl Dimethyl Ammonium, N-Alquil Dimethyl Benzyl Ammonium Chloride, Água.		0,6	
Cloridrato de Polyhexametileno Biguanida		0,26	
Mistura Mit/Cmit 1:3 Metilisotiazolinona/Metilcloro Isotiazolinona		0,1	
Álcool Primário Etoilado 6,5EO		3,0	
Informação Adicional*: Concentração Declarada do Ativo: 0,6%			
Lote*: 081119PD			
Data de Fabricação*: 30/Jan/2019			
Data de Validade*: 30/Jan/2021			
Quantidade recebida da amostra: 235 g			
Data do recebimento do item de ensaio: 04/Fev/2019			
Data de início do ensaio: 13/Fev/2019			
Data do fim do ensaio: 14/Fev/2019			
DADOS DE ANÁLISE			
Parâmetro analisado: Teor de Tensoativo Catiônico			
Metodologia utilizada: POP-M 2121 Rev.00			
* Informação fornecida pelo cliente e/ou empresa solicitante			
RESULTADOS ANALÍTICOS DA AMOSTRA			
Parâmetro	% (m/m) ⁽¹⁾	Desvio Padrão Relativo (DPR, %):	Variação aceitável (%) ⁽²⁾
Concentração Analisada de Tensoativo Catiônico	0,650	0,833	0,51 – 0,69

⁽¹⁾ Peso Molecular utilizado: 360 g.mol⁻¹

⁽²⁾ Considerando RDC nº 59 de 17 de Dezembro de 2010

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.

Piracicaba, 19 de Fevereiro de 2019.

Marcio José Liberale
 CRQ nº 04444804 – IV Região
 Responsável Técnico

Página 1 de 1

SQB 0623/H – Registro da Qualidade (Elaborado em 24/Agosto/2018)

Bioagri Laboratórios Ltda

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

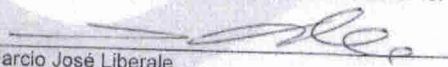

BOLETIM DE ANÁLISE
FQ LFQ-0027/19

DADOS REFERENTES AO CLIENTE			
Empresa solicitante: CICLO FARMA INDÚSTRIA QUÍMICA EIRELI			
Endereço: Rua Benedito Jose de Carvalho Ramos, 150, Serrana, SP, CEP: 14150-000			
DADOS REFERENTES A AMOSTRA			
Identificação do item de ensaio*: CICLO GERM 5G			
Código do item de ensaio: SAN-0077-01/19			
Proposta: 00377/19			
Composição*:			
Componentes		Concentrações (%)	
Água Deionizada		96,04 Q.S.P	
Blend: Cloreto de Didecyl Dimethyl Ammonium, N-Alquil Dimethyl Benzyl Ammonium Chloride, Água.		0,6	
Cloridrato de Polyhexametileno Biguanida		0,26	
Mistura Mit/Cmit 1:3 Metilisotiazololinona/Metilcloro Isotiazololinona		0,1	
Álcool Primário Etoxilado 6,5EO		3,0	
Informação Adicional*: Concentração Declarada do Ativo: 0,26%			
Lote*: 081119PD			
Data de Fabricação*: 30/Jan/2019			
Data de Validade*: 30/Jan/2021			
Quantidade recebida da amostra: 235 g			
Data do recebimento do item de ensaio: 04/Fev/2019			
Data de início do ensaio: 14/Fev/2019			
Data do fim do ensaio: 18/Fev/2019			
DADOS DE ANÁLISE			
Parâmetro analisado: Teor do Ingrediente Ativo			
Metodologia utilizada: POP-M 2245 Rev.00			
* Informação fornecida pelo cliente e/ou empresa solicitante			
RESULTADOS ANALÍTICOS DA AMOSTRA			
Parâmetro	% (m/m)	Desvio Padrão Relativo (DPR, %)	Variação aceitável (%) ⁽¹⁾
Concentração Analisada de Biguanida	0,282	4,576	0,221 – 0,299

⁽¹⁾ Considerando RDC nº 59 de 17 de Dezembro de 2010

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.

Piracicaba, 19 de Fevereiro de 2019.


 Marcio José Libérale
 CRQ nº 04444804 – IV Região
 Responsável Técnico

Página 1 de 1

SQB 0623/H – Registro da Qualidade (Elaborado em 24/Ago/2018)

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 | merieuxnutrisciences.com

