

# RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 27/02/2026.



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE  
MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE MEDICINA**

**Heloyza Amaral da Silva**

**IMPLEMENTAÇÃO DE METODOLOGIAS DE AVALIAÇÃO  
DE EFICÁCIA BIOCIDA DE SANEANTES PARA FINS  
REGULATÓRIOS PERANTE EXIGÊNCIAS DA ANVISA**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina,  
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita  
Filho”, Campus de Botucatu, para obtenção do título  
de Mestre em Pesquisa e Desenvolvimento  
(Biotecnologia Médica).

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Rejane Maria Tommasini Grotto  
Coorientador: Dr. Lucas Gabriel Ribeiro

**Botucatu  
2024**

Heloyza Amaral da Silva

**IMPLEMENTAÇÃO DE METODOLOGIAS DE  
AVALIAÇÃO DE EFICÁCIA BIOCIDA DE SANEANTES  
PARA FINS REGULATÓRIOS PERANTE EXIGÊNCIAS  
DA ANVISA**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Pesquisa e Desenvolvimento (Biotecnologia Médica).

Orientadora: Prof.<sup>a</sup>.Dr.<sup>a</sup> Rejane Maria Tommasini Grotto  
Coorientador: Dr. Lucas Gabriel Ribeiro

Botucatu  
2024

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCN. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP  
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: MARIA CAROLINA A. CRUZ E SANTOS-CRB 8/10188

Silva, Heloysa Amaral da.

Implementação de metodologias de avaliação de eficácia biocida de saneantes para fins regulatórios perante exigências da ANVISA / Heloysa Amaral da Silva. - Botucatu, 2024

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Medicina, Botucatu

Orientador: Rejane Maria Tommasini Grotto

Coorientador: Lucas Gabriel Ribeiro

Capes: 21202010

1. Agência Nacional de Vigilância Sanitária.  
2. Desinfetantes. 3. Eficácia. 4. Produtos de limpeza.

Palavras-chave: ANVISA; Biocida; Comitê Europeu de Normatização; Eficácia; Saneantes.

## **AGRADECIMENTOS**

Gostaria de agradecer a minha família, especialmente meus pais Vera e Estêvão, meu irmão Gustavo, minha tia Ana Paula e meu avô Gilberto, que sempre confiaram em mim e nunca mediram esforços para que o meu caminho fosse traçado da melhor forma possível. Obrigada pela força, pelo amor incondicional e pelo melhor exemplo de profissional e cidadã que eu poderia ter. Vocês são essenciais para a concretização de todas as minhas conquistas.

Agradeço a Professora Rejane por ser muito além de minha orientadora, pela bondade, ética e empenho em todas as suas ações. Ao meu coorientador Lucas, que com todo o seu conhecimento técnico e científico nunca mede esforços para realizar as tarefas com extrema excelência e dedicação, figura pela qual eu agradeço os demais membros da Crop Labs que tanto admiro e sou grata por participar dessa jornada: Ana Paula, Aruã, Helena, Letícia, Tainara e Victor. É maravilhoso empreender e inovar diariamente com vocês.

Deixo aqui meu agradecimento e admiração aos profissionais do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu (HCFMB), especialmente aos membros do Laboratório de Biologia Molecular (Laboratório de Biotecnologia Aplicada), pelo esforço e dedicação diários.

Agradeço a UNESP por todas as oportunidades oferecidas a mim, todo o conhecimento que me foi passado é o fruto mais valioso que poderia colher durante o processo da graduação e pós-graduação. Agradeço também a honra e oportunidade de aprender com todos os excelentes docentes do programa de Pós Graduação em Pesquisa e Desenvolvimento (Biotecnologia Médica) que sempre foram motivo de estímulo e inspiração. Por último, agradeço a cidade de Botucatu por me encantar com seus Bons Ares durante todos estes anos. À cidade do meu coração que me trouxe novas perspectivas, novos pensamentos, uma nova família e inegável crescimento acadêmico, profissional e pessoal: gratidão.

## RESUMO

Saneantes são produtos utilizados com a finalidade de higienização, desinfecção, desinfestação, desodorização, limpeza e conservação de ambientes, objetos e superfícies, desempenhando papel importante na promoção da saúde pública, uma vez que auxiliam na prevenção e propagação de doenças. A característica biocida de um saneante se refere à capacidade desse produto de reduzir ou eliminar bactérias, fungos, vírus e outros microrganismos viáveis, o que lhe confere característica de risco 2 perante a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), envolvendo obrigatoriedade de registro para sua comercialização. Além de estudos de estabilidade e toxicidade, a determinação da eficácia biocida de saneantes desempenha um papel fundamental na regulamentação destes produtos, contribuindo com a segurança, saúde pública e preservação do meio ambiente. A implementação de metodologias validadas de verificação de eficácia biocida de saneantes se faz necessária em laboratórios prestadores deste serviço, uma vez que é de suma importância a utilização de metodologias robustas e atualizadas que estejam em conformidade com as diretrizes da ANVISA, e que reproduzam as reais condições de uso do produto testado. Desse modo, este estudo possui como objetivo a implementação de metodologias de avaliação de eficácia biocida de saneantes na empresa Crop Labs, seguindo trilha de requisitos necessários para regulamentação destes produtos de acordo com as diretrizes da ANVISA. Para isso, a padronização de métodos do Comitê Europeu de Normatização (CEN) foi realizada de acordo com a demanda de serviços recebida pela Crop Labs, considerando os campos de aplicação de cada saneante de teste. Este processo esteve vinculado com a interpretação de regulamentações complexas, a padronização do cultivo microbiológico, a adequação e implementação dos procedimentos operacionais padrões desenvolvidos, integrando os testes na demanda operacional, otimizando prazos e entrega de resultados confiáveis, reprodutíveis e de qualidade. Este trabalho representa um produto técnico significativo, atendendo não apenas às exigências regulatórias, mas também à realidade operacional da Crop Labs, uma vez que apresentou importante impacto na prestação de serviços nesta área, consolidando demanda destes serviços advinda do mercado em métodos padronizados e implementados que caminham em paralelo com a prática regulatória.

**Palavras-chave:** Saneantes; eficácia; biocida; ANVISA; Comitê Europeu de Normatização.

## ABSTRACT

Sanitizers are products used for the purpose of sanitizing, disinfecting, pest control, deodorizing, cleaning, and preserving environments, objects, and surfaces, playing an important role in promoting public health as they assist in preventing and spreading diseases. The biocidal characteristic of a sanitizer refers to its ability to reduce or eliminate bacteria, fungi, viruses, and other viable microorganisms, which classifies it as a risk level 2 product according to the Brazilian Health Regulatory Agency (ANVISA), requiring registration for commercialization. In addition to stability and toxicity studies, determining the biocidal efficacy of sanitizers plays a fundamental role in the regulation of these products, contributing to safety, public health, and environmental preservation. The implementation of validated methodologies for assessing the biocidal efficacy of sanitizers is necessary in laboratories providing this service, as it is crucial to use robust and updated methodologies that comply with ANVISA guidelines and replicate the actual conditions of product use being tested. Thus, this study aims to implement methodologies for evaluating the biocidal efficacy of sanitizers at Crop Labs, following the necessary requirements for regulating these products according to ANVISA guidelines. To achieve this, standardization of methods from the European Committee for Standardization (CEN) was carried out based on the service demand received by Crop Labs, considering the application fields of each test sanitizer. This process involved interpreting complex regulations, standardizing microbiological cultivation, adapting and implementing developed standard operating procedures, integrating tests into operational demand, optimizing deadlines, and delivering reliable, reproducible, and quality results. This work represents a significant technical output, meeting not only regulatory requirements but also the operational reality of Crop Labs, as it had a significant impact on service provision in this area, solidifying demand for these services from the market in standardized and implemented methods that align with regulatory practice.

**Keywords:** Sanitizers; efficacy; biocide; ANVISA; European Committee for Standardization.

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Microrganismos empregados para avaliação da atividade antimicrobiana de artigos não críticos. Relação da categoria de um produto saneante e os respectivos microrganismos necessários para realizar os testes aplicáveis(4).....	16
<b>Tabela 2.</b> Microrganismos empregados para avaliação da atividade antimicrobiana de artigos críticos e semicríticos. Relação da categoria de um produto saneante e os respectivos microrganismos necessários para realizar os testes aplicáveis(5).....	17
<b>Tabela 3.</b> Especificações determinadas pelo Patrocinador do Estudo, utilizadas no ensaio de implementação metodológica da EN 1650:2019. O método foi realizado em temperatura ambiente ( $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ ), utilizando Caldo Neutralizante D/E como agente neutralizante. ....	22
<b>Tabela 4.</b> Limites básicos exigidos pela norma EN 1650:2019 para validação do teste. ....	22
<b>Tabela 5.</b> Especificações determinadas pelo Patrocinador do Estudo, utilizadas no ensaio de implementação metodológica da EN 13624:2013. O método foi realizado em temperatura ambiente ( $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ ), utilizando Caldo Neutralizante D/E como agente neutralizante. ....	23
<b>Tabela 6.</b> Limites básicos exigidos pela norma EN 13624:2013 para validação do teste. ....	23
<b>Tabela 7.</b> Especificações determinadas pelo Patrocinador do Estudo, utilizadas no ensaio de implementação metodológica da EN 1276:2019. O método foi realizado em temperatura ambiente ( $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ ), utilizando Caldo Neutralizante D/E como agente neutralizante. ....	24
<b>Tabela 8.</b> Limites básicos exigidos pela norma EN 1276:2019 para validação do teste. ....	24
<b>Tabela 9.</b> Especificações determinadas pelo Patrocinador do Estudo, utilizadas no ensaio de implementação metodológica da EN 13727:2012+A2:2015. O método foi realizado em temperatura ambiente ( $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ ), utilizando Caldo Neutralizante D/E como agente neutralizante. ....	25
<b>Tabela 10.</b> Limites básicos exigidos pela norma EN 13727:2012+A2:2015 para validação do teste. ....	26
<b>Tabela 11.</b> Especificações determinadas pelo Patrocinador do Estudo, utilizadas no ensaio de implementação metodológica da EN 14348:2005. O método foi realizado em temperatura ambiente ( $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ ), utilizando Caldo Neutralizante D/E como agente neutralizante. ....	27
<b>Tabela 12.</b> Limites básicos exigidos pela norma EN 14348:2005 para validação do teste. ....	27
<b>Tabela 13.</b> Especificações determinadas pelo Patrocinador do Estudo, utilizadas no ensaio de implementação metodológica da EN 14476:2013+A2:2019. O método foi realizado em temperatura ambiente ( $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ ), utilizando meio de cultura (DMEM) gelado como agente neutralizante.....	28
<b>Tabela 14.</b> Limites básicos exigidos pela norma EN 14476 para validação do teste.....	28
<b>Tabela 15.</b> Especificações determinadas pelo Patrocinador do Estudo, utilizadas no ensaio de implementação metodológica da EN 14561:2006. O método foi realizado em temperatura ambiente ( $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ ), utilizando Caldo Neutralizante D/E como agente neutralizante. ....	32



<b>Tabela 16.</b> Limites básicos exigidos pela norma EN 14561:2006 para validação do teste. ....	32
<b>Tabela 17.</b> Especificações determinadas pelo Patrocinador do Estudo, utilizadas no ensaio de implementação metodológica da EN 16777:2018. O método foi realizado em temperatura ambiente ( $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ ), utilizando meio de cultura (DMEM) gelado como agente neutralizante. ....	33
<b>Tabela 18.</b> Limites básicos exigidos pela norma EN 16777:2018 para validação do teste. ....	33
<b>Tabela 19.</b> Resultados da implementação metodológica da EN 1650. O método foi realizado em temperatura ambiente ( $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ ). ....	34
<b>Tabela 20.</b> Resultados da implementação metodológica da EN 13624:2013. O método foi realizado em temperatura ambiente ( $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ ). ....	35
<b>Tabela 21.</b> Resultados da implementação metodológica da EN 1276:2019. O método foi realizado em temperatura ambiente ( $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ ). ....	36
<b>Tabela 22.</b> Resultados da implementação metodológica da EN 13727. O método foi realizado em temperatura ambiente ( $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ ). ....	37
<b>Tabela 23.</b> Resultados da implementação metodológica da EN 14348:2005. O método foi realizado em temperatura ambiente ( $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ ). ....	38
<b>Tabela 24.</b> Resultados da implementação metodológica da EN 14476:2013+A2:2019. O método foi realizado em temperatura ambiente ( $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ ). ....	39
<b>Tabela 25.</b> Resultados da implementação metodológica da EN 14561. O método foi realizado em temperatura ambiente ( $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ ). ....	40
<b>Tabela 26.</b> Campo para posterior preenchimento dos resultados da implementação metodológica da EN 16777:2018. O método foi realizado em temperatura ambiente ( $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ ). ....	41

## LISTA DE EQUAÇÕES

<b>Equação 1.</b> Cálculo de log de redução de microrganismos em metodologias do CEN de Fase 2, Passo 1. ....	20
<b>Equação 2.</b> Cálculo de log de redução viral. ....	21
<b>Equação 3.</b> Cálculo de log de redução de microrganismos em metodologias do CEN de Fase 2, Passo 2. ....	30

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Ilustração de ensaio de eficácia biocida de saneante seguindo metodologia EN de Fase 2, Passo 1 – Teste Na. Fonte: elaboração própria. ....	19
<b>Figura 2.</b> Ilustração de ensaio de eficácia biocida de saneante seguindo metodologia EN de Fase 2, Passo 2 – Teste Na. Fonte: elaboração própria. ....	29
<b>Figura 3.</b> Gráfico de rosca. Distribuição percentual dos serviços prestados na área de eficácia de saneantes pela Crop Labs, no ano de 2023. ....	42

## SUMÁRIO

1.	<i>Introdução</i> .....	11
1.1.	<i>Saneantes</i> .....	11
1.2.	<i>Registro de saneantes de risco 2</i> .....	12
1.3.	<i>Testes de eficácia biocida</i> .....	13
1.4.	<i>Considerações para testes de eficácia – Métodos CEN</i> .....	14
2.	<i>Justificativa</i> .....	17
3.	<i>Objetivo</i> .....	18
4.	<i>Materiais e Métodos</i> .....	18
4.1.	<i>Metodologias Fase 2, Passo 1</i> .....	19
4.1.1.	<i>Avaliação de eficácia fungicida</i> .....	21
4.1.1.1.	<i>EN 1650</i> .....	21
4.1.1.2.	<i>EN 13624</i> .....	23
4.1.2.	<i>Avaliação de eficácia bactericida</i> .....	24
4.1.2.1.	<i>EN 1276</i> .....	24
4.1.2.2.	<i>EN 13727</i> .....	25
4.1.3.	<i>Avaliação de eficácia micobactericida</i> .....	26
4.1.3.1.	<i>EN 14348</i> .....	26
4.1.4.	<i>Avaliação de eficácia virucida</i> .....	27
4.1.4.1.	<i>EN 14476</i> .....	27
4.2.	<i>Metodologias Fase 2, Passo 2</i> .....	28
4.2.1.	<i>Avaliação de eficácia bactericida</i> .....	31
4.2.1.1.	<i>EN14561</i> .....	31
4.2.2.	<i>Avaliação de eficácia virucida</i> .....	32
4.2.2.1.	<i>EN 16777</i> .....	32
5.	<i>Resultados</i> .....	33
5.1.	<i>Metodologias Fase 2, Passo 1</i> .....	33
5.1.1.	<i>EN 1650</i> .....	34
5.1.2.	<i>EN 13624</i> .....	35
5.1.3.	<i>EN 1276</i> .....	36
5.1.4.	<i>EN 13727</i> .....	36
5.1.5.	<i>EN 14348</i> .....	37
5.1.6.	<i>EN 14476</i> .....	38

5.2.	<i>Metodologias Fase 2, Passo 2</i> .....	39
5.2.1.	<i>EN 14561</i> .....	39
5.2.2.	<i>EN 16777</i> .....	40
6.	<i>Discussões</i> .....	41
7.	<i>Conflitos de Interesse</i> .....	43
8.	<i>Referências</i> .....	44

## 1. Introdução

### 1.1. Saneantes

Saneantes são produtos utilizados com a finalidade de higienização, desinfecção, desinfestação, desodorização, limpeza e conservação de ambientes, objetos e superfícies (1), desempenhando papel importante na promoção da saúde pública, uma vez que auxiliam na prevenção e propagação de doenças, mantendo a higiene necessária em diversos âmbitos.

Os produtos saneantes podem ser divididos em algumas categorias, incluindo a de finalidade (1):

- Desinfetantes: utilizados para eliminar ou reduzir os microrganismos patogênicos presentes em superfícies, objetos e ambientes.
- Produtos para higiene pessoal: sabonetes líquidos, antissépticos e outros produtos utilizados para a higiene pessoal.
- Detergentes: remoção de sujeira, gordura e outras impurezas de superfícies e objetos.
- Inseticidas e repelentes: controle de pragas, como insetos, roedores e outros animais indesejados.
- Desinfetantes de água para consumo humano: ajudam a purificar a água, tornando-a segura para consumo.
- Produtos para limpeza de piscinas: manutenção da limpeza e segurança para uso da água de piscinas.
- Produtos para limpeza de ambientes hospitalares: produtos específicos para a desinfecção de ambientes hospitalares, contribuindo para a prevenção de infecções.
- Produtos para limpeza de superfícies em contato com alimentos: produtos seguros para a limpeza de superfícies que entram em contato com alimentos, como utensílios de cozinha e superfícies de preparação de alimentos.

Quanto à classificação de risco (1), os produtos saneantes são classificados como de risco 1 quando(2):

- apresentam  $DL_{50}^{(*)}$  oral para ratos superior a 2000mg/kg de peso corpóreo para produtos líquidos e superior a 500mg/kg de peso corpóreo para produtos sólidos;

- o valor de pH na forma pura, à temperatura de 25°C, seja maior que 2 ou menor que 11,5;

- não apresentam características de corrosividade, atividade antimicrobiana, ação desinfestante e não sejam à base de microrganismos viáveis;

- não contenham em sua formulação um dos seguintes ácidos inorgânicos: fluorídrico (HF); nítrico (HNO<sub>3</sub>); sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>); ou seus sais que os liberem nas condições de uso do produto.

Como saneantes de risco 1 se enquadram produtos de limpeza em geral (ceras, detergentes e amaciantes, por exemplo, que demandam somente uma notificação para a sua comercialização, dispensando o processo de registro. Já produtos como água sanitária, alvejantes corrosivos e desinfetantes são exemplos de saneantes classificados como de risco 2, e necessitam de registro e aprovação da ANVISA, pois se enquadram em uma ou mais das seguintes características (2):

- apresentam DL<sub>50</sub><sup>(\*)</sup> oral para ratos superior a 2000mg/kg de peso corpóreo para produtos líquidos e superior a 500mg/kg de peso corpóreo para produtos sólidos;

- o valor de pH na forma pura, à temperatura de 25° C, seja igual ou menor que 2 ou igual ou maior que 11,5;

- apresentam características de corrosividade, atividade antimicrobiana/biocida, ação desinfestante ou sejam à base de microrganismos viáveis; ou

- contenham em sua formulação um dos seguintes ácidos inorgânicos: fluorídrico (HF); nítrico (HNO<sub>3</sub>); sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>); ou seus sais que os liberem nas condições de uso do produto.

(\*): DL<sub>50</sub> se trata de uma forma de expressar o grau de toxicidade aguda de um produto(3), indicando a dose responsável por matar 50% dos animais em questão. É expressa em miligramas por quilograma (mg/kg) de peso do corpo do animal testado.

## **1.2. Registro de saneantes de risco 2**

A característica biocida de um saneante (1) se refere à capacidade desse produto de reduzir ou eliminar bactérias, fungos, vírus e outros microrganismos viáveis, para uso em objetos, sobre superfícies inanimadas e ambientes, em domicílios, em indústrias, em hospitais, estabelecimentos relacionados com o atendimento à saúde e em locais ou

estabelecimentos públicos ou privados (4), fazendo com que o ambiente ou objeto tratado obtenha carga microbiana menor do que a inicialmente observada.

Sendo produtos de risco 2, os saneantes com característica antimicrobiana devem ser registrados perante a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), autoridade reguladora responsável por estabelecer diretrizes e regulamentos para a avaliação e registro desses produtos no Brasil.

A RDC nº 774 de 15 de fevereiro de 2023 (4) dispõe sobre as condições para registro de saneantes com ação antimicrobiana utilizados em artigos não críticos, que se tratam de produtos de uso geral, hospitalar, em indústria alimentícia e afins ou de uso específico, e que entram em contato superficial com a pele intacta do organismo. Já a RDC nº 700 de 13 de maio de 2022 (5), dispõe sobre as condições para registro de saneantes com ação antimicrobiana em artigos críticos (utilizados em procedimentos de alto risco, que penetra em tecidos e órgãos e requer esterilização para seu uso) e artigos semicríticos (materiais que entram em contato com a pele não íntegra ou com a mucosa, que requerem desinfecção de alto nível ou esterilização para seu uso).

De forma geral, o registro de um saneante com ação biocida perante a ANVISA envolve o envio de diversas documentações específicas, como autorizações de funcionamento do fabricante, dados do detentor do registro e dados específicos do produto, como nome, forma física, apresentação, fórmula completa, especificações químicas, instruções de uso e condições de armazenamento. Além de estudos de estabilidade e toxicidade, a determinação da eficácia biocida de saneantes desempenha um papel fundamental na regulamentação destes produtos, contribuindo com a segurança, saúde pública e preservação do meio ambiente.

Após uma análise documental e técnica, caso todos os requisitos sejam atendidos, a ANVISA emite o registro de saneantes de risco 2.

### **1.3. Testes de eficácia biocida**

Para registro, os produtos com ação biocida devem comprovar sua eficácia para os fins propostos por meio de análises prévias, realizadas com o produto nas diluições e condições de uso indicadas (4). Para tal, metodologias reconhecidas internacionalmente devem ser utilizadas, como AOAC - *Association of Official Analytical Chemists* ou

métodos adotados pelo CEN - Comitê Europeu de Normatização (4). Quando não existirem métodos destas instituições, fica a cargo da Autoridade Sanitária competente analisar caso a caso.

Testes realizados conforme a AOAC “*Use Dilution Method for Testing Disinfectants*” (6) são executados mergulhando carreadores cilíndricos de aço inoxidável em microrganismos, tratando-os com o produto e, em seguida, determinando se há algum microrganismo sobrevivente após colocar os carreadores em um meio de crescimento. Os testes padrões utilizam 60 carreadores e podem testar a eficácia de um desinfetante contra diferentes organismos e em diferentes momentos, conforme necessidade comercial. O resultado obtido é qualitativo (aprovado ou não aprovado), sendo a aprovação perante a ANVISA de fase única.

Seguindo as metodologias do Comitê Europeu de Normatização (CEN), a aprovação perante a ANVISA é realizada em duas fases, sendo de Fase 1, Passo 1: Teste em suspensão com condições representativas de uso; e Fase 1, Passo 2: Teste de aplicação em carreadores, simulando o comportamento de eficácia do produto em uma superfície. Os ensaios de Fase 1 do CEN não são exigidos no processo de registro, uma vez que não englobam a utilização de substância de interferência nas condições experimentais e se tratam de testes iniciais de *screening* de eficácia.

Os métodos podem variar, desde testes preliminares básicos em suspensão, até protocolos mais complexos que simulam condições reais de aplicação do produto (7). Cada metodologia exige uma porcentagem de redução mínima de viabilidade de cada microrganismo para sua aprovação. Além disso, os métodos trazem resultados quantitativos de redução da carga microbiana, sendo de grande interesse comercial.

#### **1.4. Considerações para testes de eficácia – Métodos CEN**

Os métodos do CEN trazem condições ideais de testagem (temperatura, condições de sujidade, microrganismos alvo, tempo de exposição etc.) com o objetivo de determinar a eficácia de formulações comerciais ou substâncias ativas nas condições em que são utilizadas, e, a depender do tipo de produto e da sua aplicação, as condições podem ser modificadas e adequadas para cada produto. Detalhes específicos do produto e sua forma de uso devem ser considerados para delinear o correto ensaio de eficácia: Campo

de aplicação do produto; Tempo de exposição, concentração e temperatura; Condições de sujidade e microrganismos alvo.

#### **I) Campo de aplicação do produto**

a) **Uso hospitalar/área médica:** produtos para uso exclusivo em hospitais e estabelecimentos relacionados com atendimento à saúde (desinfetantes hospitalares para superfícies fixas e artigos não críticos). Abrange os produtos para uso em ambientes, pisos, paredes, mobiliários e artigos (objetos, equipamentos e acessórios) utilizados exclusivamente em hospitais e estabelecimentos relacionados com o atendimento à saúde.

b) **Uso em indústria alimentícia e afins:** produtos destinados à utilização em locais dedicados à produção/elaboração, fracionamento ou manipulação de alimentos (sanitizantes e desinfetantes de superfícies e equipamentos que entram em contato com o alimento). Abrange os produtos para uso em objetos, equipamentos e superfícies inanimadas e ambientes onde se dá o preparo, consumo e estocagem dos gêneros alimentícios, utilizados em cozinhas, indústrias alimentícias, laticínios, frigoríficos, restaurantes e demais locais produtores ou manipuladores de alimentos.

c) **Uso geral:** produtos para uso domiciliar e em ambientes públicos. Os produtos abrangidos nesta categoria são os desinfetantes, desodorizantes e sanitizantes, destinados exclusivamente à desinfecção, desodorização e/ou sanitização de pisos, paredes, mobiliários e outras superfícies, ambientes, sanitários e utensílios que não entrem em contato com alimentos.

d) **Uso específico:** produtos destinados a serem utilizados com fim específico, segundo as indicações do rótulo. Os produtos com ação antimicrobiana de uso específico são classificados como: desinfetante para lactários, desinfetante para piscinas, desinfetante para água de consumo humano, sanitizante/desinfetante para tecidos e roupas, sanitizante/desinfetante para roupas hospitalares.

#### **II) Tempo de exposição, concentração do produto e temperatura do teste**

A determinação de um período curto ou longo de exposição está intimamente relacionada com o uso prático do produto, bem como a sua concentração e temperatura do ambiente de aplicação.

#### **III) Condições de sujidade e microrganismos alvo**



Os ensaios devem considerar condições realistas de sujidade em relação ao uso prático do saneante, utilizando substâncias específicas de cada método (*clean/dirty conditions*) para considerar possíveis interferentes relevantes.

A determinação dos microrganismos alvo mais relevantes para as condições de uso esperadas e que representem desafios realistas para o produto no seu campo de aplicação é de suma importância, podendo ser realizada:

- a) Seguindo as diretrizes padrões do método e/ou;
- b) Seguindo indicações da ANVISA, como consta no Anexo da RDC nº 774, de 15 de fevereiro de 2023 (4) os microrganismos empregados para avaliação da atividade antimicrobiana em artigos não críticos (**Tabela 1**) e/ou;
- c) Seguindo indicações da ANVISA, como consta no Anexo da RDC nº 700, de 13 de maio de 2022 (5) os microrganismos empregados para avaliação da atividade antimicrobiana em artigos críticos e semicríticos (**Tabela 2**) e/ou;
- d) Seguindo *claim* de interesse do Patrocinador do Estudo para rotulagem comercial do produto.

**Tabela 1.** Microrganismos empregados para avaliação da atividade antimicrobiana de artigos não críticos. Relação da categoria de um produto saneante e os respectivos microrganismos necessários para realizar os testes aplicáveis(4).

<b>Categoria</b>	<b>Microrganismos</b>
Desinfetantes de uso geral	
Desinfetante/Sanitizante de uso específico para roupas	<i>S. choleraesuis</i> e <i>S. aureus</i>
Desinfetante da Indústria alimentícia e afins	
Desodorizantes	
Sanitizantes	
Sanitizante de Indústria alimentícia e afins	<i>E. coli</i> , <i>S. choleraesuis</i> e <i>S. aureus</i>
Uso específico Desinfetante para lactários	
Desinfetante Hospitalar para superfície fixa e artigo não crítico	<i>S. choleraesuis</i> , <i>S. aureus</i> e <i>P. aeruginosa</i>
Uso específico Desinfetante/sanitizante para roupas hospitalares	
Uso específico Desinfetante para água de consumo humano	<i>Enterococcus faecium</i> e <i>E. coli</i>
Uso específico para desinfecção de hortifrutícolas	
Desinfetante para piscinas	

**Tabela 2.** Microrganismos empregados para avaliação da atividade antimicrobiana de artigos críticos e semicríticos. Relação da categoria de um produto saneante e os respectivos microrganismos necessários para realizar os testes aplicáveis(5).

<b>Categoria</b>	<b>Microrganismos</b>
Desinfetantes de nível intermediário	<i>S. aureus</i> , <i>S. choleraesuis</i> , <i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>T. mentagrophytes</i> , <i>C. albicans</i> , <i>M. smegmatis</i> , <i>M. bovis</i>
Desinfetante de alto nível	<i>S. aureus</i> , <i>S. choleraesuis</i> , <i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>T. mentagrophytes</i> , <i>C. albicans</i> , <i>M. smegmatis</i> , <i>M. bovis</i> , <i>M. massiliense</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>C. sporogenes</i>
Esterilizante	<i>B. subtilis</i> , <i>C. sporogenes</i> , <i>M. massiliense</i>

Legenda: Um desinfetante de nível intermediário: destrói bactérias vegetativas, micobactérias, maioria dos vírus e fungos em um período comprovado. Um desinfetante de alto nível: um produto que destrói todos os microrganismos em um período comprovado, exceto um número elevado de esporos bacterianos. Esterilizante: produto com a capacidade de destruir todas as formas de vida microbiana, em um período comprovado, incluindo os esporos bacterianos. (5)

A implementação de metodologias validadas de verificação de eficácia biocida de saneantes se faz necessária em laboratórios prestadores deste serviço, uma vez que é de suma importância a utilização de metodologias robustas e atualizadas que estejam em conformidade com as diretrizes da ANVISA, e que reproduzam as reais condições de uso do produto testado.

---

## 6. Discussões

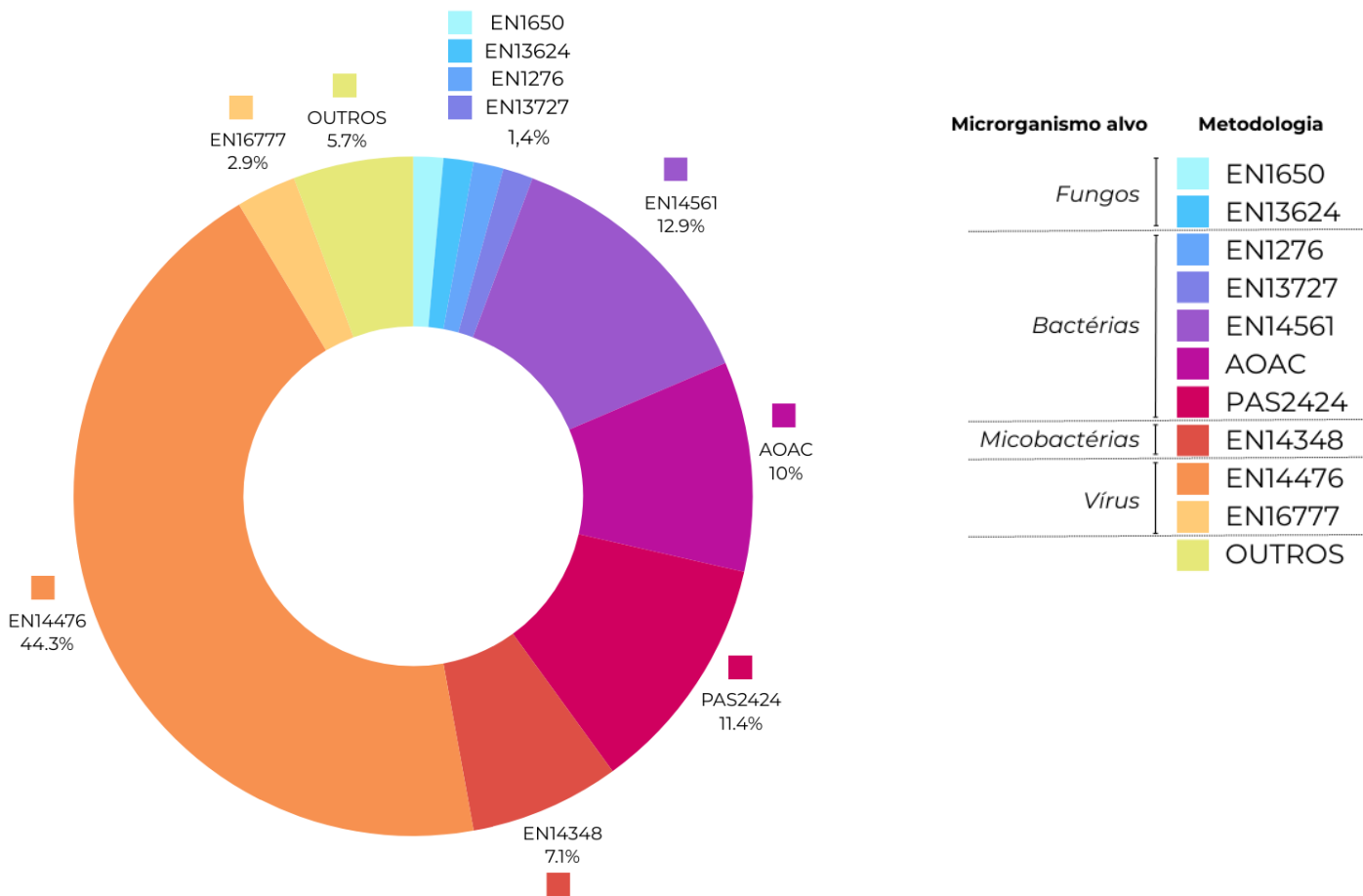
Ao longo do trabalho, foi explorada a implementação de metodologias de avaliação de eficácia biocida de saneantes, com foco nas demandas regulatórias da ANVISA. Este processo esteve vinculado a uma série de dificuldades até a sua conclusão, como a

interpretação de regulamentações complexas, a padronização do cultivo microbiológico, a adequação e implementação dos procedimentos operacionais padrões desenvolvidos, integrando os testes na demanda operacional, otimizando prazos e entrega de resultados confiáveis, reprodutíveis e de qualidade. Este trabalho representa, portanto, um produto

técnico significativo, atendendo não apenas às exigências regulatórias, mas também à realidade operacional da Crop Labs.

O gráfico abaixo (**Figura 3**) traz uma distribuição percentual dos serviços prestados pela Crop Labs na área de eficácia biocida de saneantes no ano de 2023, considerando a implementação das metodologias desenvolvidas ao longo no ano nesta pesquisa de mestrado. Este gráfico oferece uma perspectiva visual clara sobre a influência e impacto

direto das novas metodologias implementadas na procura e execução dos serviços.



**Figura 3.** Gráfico de rosca. Distribuição percentual dos serviços prestados na área de eficácia de saneantes pela Crop Labs, no ano de 2023.

Cada setor do gráfico representa uma metodologia utilizada para avaliação da eficácia biocida de produtos saneantes. A porcentagem atribuída a cada setor destaca a contribuição relativa de cada método no escopo geral oferecido pela empresa no ano de 2023. A implementação das novas metodologias correspondeu a 72,9% dos serviços de eficácia em relação aos demais da mesma área, reforçando a relevância e a proeminência das contribuições deste estudo no contexto de prestação de serviços de eficácia biocida de saneantes com fins de regulamentação.

Considerando, ainda, as metodologias AOAC e PAS2424 anteriormente implementadas, que também são reconhecidas na prática regulatória, a empresa forneceu 94,3% dos serviços de teste de eficácia visando fins de regulamentação perante

a ANVISA, sendo apenas 5,7% referente à outras metodologias para fins iniciais de *screening* e pesquisa e desenvolvimento, sem finalidade regulamentadora.

Este panorama visual reforça o impacto das metodologias, demonstrando seu papel fundamental na prestação de serviços na área de eficácia biocida de saneantes. Além disso, consolida a demanda destes serviços advinda do mercado em métodos padronizados e implementados que caminham em paralelo com a prática regulatória.

## **7. Conflitos de Interesse**

O projeto em questão não apresenta conflitos de interesse entre o setor público e privado, todos os participantes envolvidos no estudo, incluindo as figuras orientadoras e os colaboradores, estão comprometidos com a integridade e imparcialidade da pesquisa. As atividades do projeto foram conduzidas de acordo com as diretrizes éticas e os princípios de imparcialidade, assegurando a integridade e transparência científica e a confiabilidade dos dados obtidos.

## 8. Referências

1. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC Nº 59, DE 17 DE DEZEMBRO DE 2010 - Procedimentos e requisitos técnicos para a notificação e o registro de produtos saneantes e dá outras providências. 2010.
2. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Classificação de saneantes [Internet]. 2020. Available from: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/setorregulado/regularizacao/saneantes/classificacao-de-saneantes>
3. IUPAC. Median Letal Dose [Internet]. 2019. Available from: <https://doi.org/10.1351/goldbook.M03810>
4. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC Nº 774, DE 15 DE FEVEREIRO DE 2023 - Dispõe sobre as condições para o registro e a rotulagem de produtos saneantes com ação antimicrobiana. 2023.
5. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC Nº 700, DE 13 DE MAIO DE 2022 -Dispõe sobre produtos com ação antimicrobiana utilizados em artigos críticos e semicríticos, e seu registro. 2022.
6. US Environmental Protection Agency. Standard Operating Procedure for AOAC Use Dilution Method for Testing Disinfectants. 2020.
7. Maillard JY. Testing the Effectiveness of Disinfectants and Sanitizers. In: Handbook of Hygiene Control in the Food Industry: Second Edition. Elsevier Inc.; 2016. p. 569–86.
8. European Committee for Standardization. EN 1650:2019 “Chemical disinfectants and antiseptics - Quantitative suspension test for the evaluation of fungicidal or yeasticidal activity of chemical disinfectants and antiseptics used in food, industrial, domestic and institutional areas - Test method and requirements (phase 2, step 1).” 2019;
9. European Committee for Standardization. EN 13624:2013 “Chemical disinfectants and antiseptics - Quantitative suspension test for the evaluation of fungicidal or yeasticidal activity in the medical area - Test method and requirements (phase 2, step 1).” 2013.
10. European Committee for Standardization. EN 1276:2019 “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).” 2019;
11. European Committee for Standardization. EN 13727:2012+A2:2015 “Chemical disinfectants and antiseptics - Quantitative suspension test for the evaluation of bactericidal activity in the medical area - Test method and requirements (phase 2, step 1).” 2015;
12. European Committee for Standardization. EN 14348:2005 “Chemical disinfectants and antiseptics - Quantitative suspension test for the evaluation of mycobactericidal activity of chemical disinfectants in the medical area including instrument disinfectants - Test methods and requirements (phase 2, step 1).” 2005.
13. European Committee for Standardization. EN 14476:2013+A2:2019 “Chemical disinfectants and antiseptics - Quantitative suspension test for the

- evaluation of virucidal activity in the medical area - Test method and requirements (Phase 2/Step 1).” 2019;
14. European Committee for Standardization. EN 14561:2006 “Chemical disinfectants and antiseptics - Quantitative carrier test for the evaluation of bactericidal activity for instruments used in the medical area-Test method and requirements (phase 2, step 2).” 2023.
  15. European Committee for Standardization. EN 16777:2018 “Chemical disinfectants and antiseptics - Quantitative non-porous surface test without mechanical action for the evaluation of virucidal activity of chemical disinfectants used in the medical area - Test method and requirements (phase 2/step 2).” 2018.