

PLANO DE
VALIDAÇÃO

FO 184



Coliformes totais e Escherichia coli – Determinação
Quantitativa pela Técnica de Múltiplos Poços
(Quanti-Tray/2000) – NMP (Substrato Enzimático)

SMWW 23ª Edição, 2017, Método 9223B 4.c



FORMULÁRIO

Código FO 184

Aprovada em 02/03/2020

Título
PLANO DE VALIDAÇÃO E VERIFICAÇÃO DE MÉTODOS

Revisão
02

Página
1/21

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	2
2.	TÍTULO.....	2
3.	ADVERTÊNCIAS.....	2
4.	ESCOPO	2
5.	DEFINIÇÕES.....	3
6.	PRÍNCIPIO DO MÉTODO	4
7.	REAÇÕES	4
8.	REAGENTES E MATERIAS	5
9.	EQUIPAMENTOS.....	5
10.	AMOSTRAGEM.....	5
11.	PROCEDIMENTO	5
12.	CÁLCULOS	8
13.	DADOS ESTATÍSTICOS	10
14.	QUALIDADE ASSEGURADA E CONTROLE DE QUALIDADE	15
15.	RESULTADO DOS TESTES	19
16.	ANEXOS.....	19
17.	BIBLIOGRAFIA.....	20
18.	PLANO DE TRABALHO	20

SAAE - COMISSÃO DE JULGAMENTO
FL. 868
Ruenna

0



FORMULÁRIO

Código FO 184

Aprovada em 02/03/2020

Revisão
02Página
2/21Título
PLANO DE VALIDAÇÃO E VERIFICAÇÃO DE MÉTODOSCOMISSÃO DE LICITAÇÃO
869
0

1. INTRODUÇÃO

Os testes de substrato enzimático usam substratos cromogênicos e fluorogênicos hidrolisáveis para detectar simultaneamente enzimas produzidas por coliformes totais e *Escherichia coli* (*E. coli*). Nesse método, as bactérias coliformes totais produzem a enzima β -D-galactosidase, que cliva o substrato cromogênico no meio para liberar o cromogênio. A maioria das cepas de *E. coli* produz a enzima β -glucuronidase, que cliva um substrato fluorogênico no meio para liberar fluorogênio. A liberação de cromogênio indica que bactérias coliformes estão presentes, e a liberação de fluorogênio indica que *E. coli* está presente.

Os formatos de tubos múltiplos, poços múltiplos ou presença / ausência (amostra única de 100 mL) estão disponíveis para uso com esses testes de substrato de enzima.

Esses testes de coliformes de substrato enzimático são recomendados para a análise de amostras de água potável, água de fonte, água subterrânea e água residual. Se um laboratório não tiver usado este método antes, é desejável conduzir testes paralelos (incluindo variações sazonais) com o método existente para avaliar a eficácia específica do local e comparar os resultados. Os resultados de muitos estudos de desempenho de métodos estão disponíveis na literatura e as taxas de resultados falso-positivos e negativos diferem entre as várias mídias. Os usuários devem selecionar cuidadosamente o meio e o procedimento que melhor atende às suas necessidades.

As amostras de água contendo húmico ou outro material podem ser coloridas. Se houver uma cor de fundo natural, observe qual é. Se a água for amarelada o suficiente para ser mal interpretada como um positivo fraco após a incubação, use um meio que não fique amarelo. O alto teor de sal de cálcio em algumas águas pode causar precipitação, mas isso não deve afetar a reação.

O método foi validado conforme sessão 9020B.11 para obter orientação sobre como validar novos métodos utilizando o substrato enzimático ONPG-MUG da marca QF-Coli da empresa Quimaflex Científica

2. TÍTULO

Coliformes totais e *Escherichia coli* - Determinação quantitativa pela técnica de múltiplos poços - NMP (Substrato Enzimático).

ADVERTÊNCIAS

Utilizar os devidos EPI's durante o preparo de reagentes e soluções, bem como durante a utilização de solventes no preparo de amostras (Luva nitrílica, jaleco branco, máscara para gases, óculos de segurança).

4. ESCOPO

A água potável não deve conter micro-organismos patogênicos e deve estar livre de bactérias indicadoras de contaminação fecal, por isso o controle desses microorganismos é essencial para a saúde humana. A análise microbiológica da água fornece subsídio a respeito da sua portabilidade, isto é, ausência de risco de ingestão de micro-organismos causadores de doenças. Como indicadores de contaminação fecal, são eleitas como bactérias de referência as do grupo coliforme. O principal representante desse grupo de bactérias chama-se *Escherichia coli*.

É fundamental o fornecimento de água de boa qualidade para atender às necessidades básicas da população e permitir um ótimo padrão de vida. Para garantir sua portabilidade é importante que a água seja verificada, analisando a ausência de coliformes totais e *E. coli*.



FORMULÁRIO

Código FO 1842 FL 820

Aprovada em 02/03/2020

Rubrica

Título
PLANO DE VALIDAÇÃO E VERIFICAÇÃO DE MÉTODOSRevisão
02Página
3/21

O método quantitativo estudado pela cartela de múltiplos poços Quanti Tray 2000 possui faixa de trabalho é de <1 a >2419.6 MPN/100 mL conforme a IDEXX Quanti-Tray®/2000 MPN Table (per 100m.l)

5. DEFINIÇÕES

Limite de Detecção: São menores valores de concentração do analito ou de uma propriedade que pode ser detectado pelo método. É determinado por uma análise completa de uma dada matriz contendo analito.

Limite de Quantificação: É a menor concentração do analito que pode ser determinada com um nível de exatidão e precisão. Pode ser considerado como sendo a concentração do analito correspondente ao valor da média do branco mais 5, 6 ou 10 desvios-
padrão.

Linearidade: É a habilidade de um método analítico em produzir resultados que sejam diretamente proporcionais à concentração do analito em amostras, em uma dada faixa de concentração do analito. A linearidade é obtida através da padronização interna ou externa e formulada com expressão matemática usada para o cálculo da concentração do analito a ser determinada na amostra real. Cabe avaliar a homocedasticidade (homogeneidade de variáveis).

Faixa de Trabalho e Faixa Linear: Todo método quantitativo, há uma faixa de concentrações do analito ou valores da propriedade no qual o método pode ser aplicado. No limite inferior da faixa de concentração, os fatores limitantes são os valores dos limites de detecção e de quantificação. No limite superior, os fatores limitantes dependem do sistema de resposta do equipamento de medição. Dentro da faixa de trabalho pode haver uma faixa de resposta linear e dentro desta, a resposta do sinal terá uma relação linear com o analito ou valor da propriedade. A faixa linear é o intervalo entre os níveis superior e inferior de concentração do analito que foi demonstrado ser possível a determinação com a precisão, exatidão e a linearidade exigidas, sob condições específicas para o ensaio. A faixa linear é normalmente expressa nas mesmas unidades dos resultados obtido pelo método analítico.

Recuperação e Tendência: Recuperação do analito pode ser estimada pela análise de amostras adicionadas com quantidades conhecidas do mesmo (*Spike*). As amostras podem ser misturadas com o analito em pelo menos 3 concentrações diferentes.

Tendência: A tendência pode ser expressa como recuperação analítica, definida como: Valor observado/ valor esperado. É importante no estabelecimento da rastreabilidade aos padrões reconhecidos.

Repetibilidade: É o grau de concordância entre os resultados de medições sucessivas de um mesmo avaliado, efetuadas sob as mesmas condições de medição, chamadas de condições de repetibilidade, seguindo: os mesmos procedimentos da medição, observador, instrumento usado sob as mesmas condições, local e repetições em curto espaço de tempo. A repetibilidade pode ser expressa quantitativamente em termos da característica da dispersão dos resultados, podendo ser determinada por meio da análise de padrões, material de referência ou adição a um branco em várias concentrações na faixa de trabalho. Recomenda-se

e



FORMULÁRIO



Código FO 184

Aprovada em 02/03/2020

Título
PLANO DE VALIDAÇÃO E VERIFICAÇÃO DE MÉTODOSRevisão
02Página
4/21

7 ou mais repetições para cálculos do desvio padrão para cada concentração proposta, chamado de desvio padrão de repetitividade.

Reprodutibilidade ou Precisão Intermediária: Denominada também de reprodutibilidade interna, referindo-se a precisão avaliada sobre a mesma amostra, amostras idênticas ou padrões, utilizando o mesmo método, no mesmo local, mas definindo exatamente quais condições a variar, sendo uma ou mais, tais como: diferentes equipamentos, com diferentes analistas em diferentes tempos. Esta medida de precisão é reconhecida como a mais representativa da variabilidade dos resultados em um laboratório e, como tal, mais recomendável a usar. Desta forma, são efetuadas "n" medições em replicata, ou em único ensaio, sobre a amostra, nas condições pré-definidas, pois existem vários métodos de estudar este tipo de precisão. Em alguns casos, o valor da precisão intermediária é função do nível de concentração do ensaio e seu cálculo é efetuado, preferivelmente, a partir dos resultados obtidos, após eliminação dos resultados dispersos.

Seletividade: Especificidade ou Seletividade é a habilidade de avaliar inequivocadamente o analito na presença de componentes que se esperam estar presentes. Tipicamente, estes componentes podem incluir diluentes, impurezas, degradados e componentes da matriz.

Robustez: A robustez é definida como a indicação da capacidade de um método analítico em resistir a pequenas e deliberadas variações dos parâmetros analíticos

6. PRÍNCÍPIO DO MÉTODO

Os meios de cultura contêm nutrientes indicadores que, hidrolisados pelas enzimas específicas dos coliformes provocam uma mudança de cor no meio.

Estes testes enzimáticos usam cromogênicos hidrolizáveis e substratos fluorogênicos para detectar simultaneamente enzimas produzidas por coliformes totais e *Escherichia coli* (*E. coli*). Nesse método, bactérias coliformes totais produzem a enzima - B-galactosidase, que cliva o substrato cromogênico no meio para liberar cromógeno. A maioria das cepas de *E. coli* produzem a enzima -glucuronidase, que cliva um substrato fluorogênico no meio para libertar fluorogênio. A liberação do cromógeno indica que as bactérias coliformes estão presentes, e a liberação de fluorógeno indica que *E. coli* estão presentes.

O método é aplicável para as técnicas de Múltiplos tubos, múltiplos poços ou presença-ausência (em 100-mℓ).

7. REAÇÕES

A enzima D-galactosidase é detectada por meio de substratos cromogênicos (ONPG) que quando adicionado na amostra, é homogeneizado e incubado a uma temperatura de $35,0 \pm 0,5$ ° por 24h. Após o período de incubação, se amarelo é observada, coliformes totais estão presentes.



FORMULÁRIO

SANE - COMISSÃO DE LICENCIAMENTO
FL. 872
Rubrica

Código FO 184

Aprovada em 02/03/2020

Título
PLANO DE VALIDAÇÃO E VERIFICAÇÃO DE MÉTODOSRevisão
02Página
5/21

A detecção da enzima B glucoronidase é por meio do substrato fluorogênico (MUG), que quando hidrolisa o substrato fluorogênico produz uma fluorescência azulada, vista pela luz UV (365 nm), indicando a presença de E. Coli, quando incubada nas mesmas condições do substrato cromogênicos.

8. REAGENTES E MATERIAS

Nome	Código	Validade	Certificado	Incerteza
K. pneumoniae ATCC13883 – Lot: 351-74-5	1322-37593/2022	31/05/2023	351-74-5	N/A
Escherichia coli ATCC25922 – Lot: 335-534-2	295-37593/2022	31/08/2023	335-534-2	N/A
P. aeruginosas ATCC27853 – Lot: 353-474-4	296-37593/2022	30/04/2023	353-474-4	N/A
QF-Coli Quimaflex Cientifica Lot: 220117073	3548-36497/2022	18/01/2023	220117073	N/A
Colilert Idexx Lot: HT52B	3548-36502/2022	12/11/2022	HT52B	N/A
Frasco Estéril com Tiosulfato de Sódio 1mg	4363-36497/2022	23/04/2023	20210423	N/A

9. EQUIPAMENTOS

Nome	Código	Certificado	Incerteza
Estufa Bacteriológica	AB-EQ-148	E43334A/19	± 0,2 °C
Micropipeta 1 à 10 mL	AB-EQ-163	EVV-12072-01/2019	± 0,014 mL
Micropipeta 100 à 1000 uL	AB-EQ-463	EVV-10287-08RV01/2018	± 0,82 uL
Micropipeta 10 à 100 uL	AB-EQ-553	E23289/19	± 0,050 uL

10. AMOSTRAGEM

As amostras deverão ser coletadas em frascos ou bolsas estéreis com preservação química tiosulfato de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$), transportadas sob refrigeração e armazenadas ≤ 10 °C.

11. PROCEDIMENTO

Este procedimento é baseado nas técnicas disponíveis no SMWW 23ª Edição, 2017 na sessão 9223 B. Enzyme Substrat Test. As soluções, meios e caldos preparados, bem como todos os itens de ensaio devem ser registrados no FO 186 – Controle de itens de Ensaio – Biologia.

Os testes realizados neste procedimento de validação visam assegurar a equivalência do produto referenciado no SMWW 23ª Edição, 2017 e o produto QF-Coli do fabricante Quimaflex Cientifica.



FORMULÁRIO

Código FO 184

Aprovada em 02/03/2020

Título
PLANO DE VALIDAÇÃO E VERIFICAÇÃO DE MÉTODOSRevisão
02Página
6/21

As quantidades dos testes foram estabelecidas conforme previstos no DOQ-CGCRE-008 ORIENTAÇÃO SOBRE VALIDAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS Revisão 09 – JUN/2020.

A Tabela 8 (DOQ-CGCRE-008_Rev 09) apresenta um resumo da determinação da repetibilidade, precisão intermediária e reprodutibilidade.

a) Mesmo analista, equipamento, laboratório, período curto (repetibilidade): Testes ≥ 6

Determinar o desvio padrão amostral da repetibilidade de cada concentração.

b) Analistas e equipamentos diferentes, mesmo laboratório, período estendido (precisão intermediária): Testes ≥ 6

Determinar o desvio padrão da reprodutibilidade intralaboratorial de cada concentração.

Todas as etapas do procedimento de ensaio deveram ser executadas utilizando técnicas assépticas em capela de fluxo laminar.

Os reagentes devem ser levados para temperatura ambiente, 20 a 28 ° C antes do uso.

Para realização dos ensaios de LD-LQ, repetibilidade, precisão intermediária, as amostras foram contaminadas com cepa Klebsiella pneumoniae ATCC13883, Escherichia coli ATCC25922 e Pseudomonas aeruginosas ATCC27853 e assepticamente distribuídas em frascos estéreis conforme tabela abaixo:

Amostras Contaminadas: Cepa Klebsiella pneumoniae ATCC13883 – Lot: 351-74-5 Val. 31/05/2023		
Parâmetro de Validação	QF-Coli	Colilert
LD-LQ	7	7

Amostras Contaminadas: Cepa Escherichia coli ATCC25922 – Lot: 335-534-2 Val.31/08/2023		
Parâmetro de Validação	QF-Coli	Colilert
LD-LQ	7	7

Amostras Contaminadas: Cepa Klebsiella pneumoniae ATCC13883 – Lot: 351-74-5 Val. 31/05/2023		
Parâmetro de Validação	QF-Coli	Colilert
Repetibilidade	6	0
Precisão Intermediária	0	6

Amostras Contaminadas: Cepa Escherichia coli ATCC25922 – Lot: 335-534-2 Val.31/08/2023

Parâmetro de Validação	QF-Coli	Colilert
Repetibilidade	6	0
Precisão Intermediária	0	6



Amostras Contaminadas: Cepa Pseudomonas aeruginosas ATCC27853 – Lot: 353-474-4 Val. 30/04/2023

Parâmetro de Validação	QF-Coli	Colilert
Repetibilidade	6	0
Precisão Intermediária	0	6

Preparo das Amostras Contaminadas

- Para o teste **negativo** para Coliformes totais e Escherichia coli, proceder a análise com água estéril contaminadas com cepa de Pseudomonas aeruginosas ATCC27853, preparar o material para teste conforme descreve o procedimento para uso e manutenção das cepas (IT-092). Será adicionado 10 µl da cepa referência em 100 ml de água estéril.
- Para o teste **positivo** para Coliformes totais e **negativo** para Escherichia coli proceder a análise com água estéril contaminadas com cepa Klebsiella pneumoniae ATCC13883, preparar o material para teste conforme descreve o procedimento para uso e manutenção das cepas (IT-092). Será adicionado 10 µl da cepa referência em 100 ml de água estéril.
- Para o teste **positivo** para Coliformes totais e **positivo** para Escherichia coli proceder a análise com água estéril contaminadas com cepa Escherichia coli ATCC25922, preparar o material para teste conforme descreve o procedimento para uso e manutenção das cepas (IT-092). Será adicionado 10 µl da cepa referência em 100 ml de água estéril.

Preparo do local para execução dos Ensaios

- Retirar as amostras do refrigerador 30 minutos (aproximadamente) antes da execução do ensaio.
- Antes de iniciar o ensaio, o analista deve ligar o fluxo de ar acionando o botão operação por 20 a 30 minutos (o fluxo de ar deve ser desligado somente após a limpeza de finalização do ensaio). Em paralelo realizar a limpeza da bancada do local de trabalho e da capela de fluxo laminar com a utilização de luva.
- A limpeza é realizada com papel umedecido com Álcool 70%, e deve ser passado sobre as bancadas e a capela de fluxo laminar em uma única direção.

Execução do procedimento: SMWW 23ª Edição, 2017, Método 9223B 4.c

Procedimento multi-poços: Este procedimento é realizado com bandejas multi-poços descartáveis esterilizadas Quanti-Tray/2000

COMISSÃO DE LICENCIAMENTO
875



FORMULÁRIO

Código FO 184 FL 875
Aprovada em 02/03/2020
Rubrica
Revisão 02
Página 8/21

Título
PLANO DE VALIDAÇÃO E VERIFICAÇÃO DE MÉTODOS

- Adicionar assepticamente o meio de cultura (QF-Coli/ Colilert) para uma amostra de água previamente preparada de 100 ml e agitar vigorosamente para dissolver.
- Para abrir o Quanti-Tray, use uma mão para segurar a unidade na vertical (com o lado do poço voltado para a palma) e aperte a parte superior da bandeja de modo que ela se dobre em direção a palma. Puxe suavemente a aba da folha para separar a folha da bandeja, tomando cuidado para não tocar no interior do papel alumínio ou da bandeja.
- Adicionar a mistura de amostra de água e meio de cultura diretamente na bandeja, evitando o contato com aba de folha. Bata suavemente nos poços pequenos (Quanti-Tray 2000) 2 a 3 vezes para liberar quaisquer bolhas de ar que possam estar presas. Esperar a espuma assentar, embora seja aceitável alguma espuma.
- Coloque a bandeja na inserção de borracha apropriada com o lado do poço (plástico) voltado para baixo e sele-a no selador Quanti-Tray.
- O selante dispersa a amostra nos poços e sela a embalagem.
- Incubar por 24 horas a 35 °C ± 0.5 °C. Em seguida fazer a leitura/comparação visual da coloração dos tubos conforme IDEXX Quanti-Tray®/2000 MPN Table (per 100ml)
- Os poços grandes deveram ser lidos verticalmente, enquanto os menores horizontalmente.

12. CÁLCULOS

A linearidade foi avaliada pela construção de uma curva de calibração com 5 pontos em triplicata. Foi avaliada a correlação entre os resultados obtidos pelo coeficiente de correlação R². A homosceidade dos resultados foi avaliada pelo teste de Cochran, sendo :

$$C = \frac{S_{Max}^2}{\sum S^2}$$

onde S²_{Max} é a maior variância entre as réplicas e ∑ S² é o somatório de todas as variâncias. O valor obtido é comparado com um valor tabelado C_{tab} = 0,6838.

A existência de valores aberrantes foi avaliada pelo teste de Grubbs, sendo:

$$G_{sup} = \frac{(y_{máx} - \bar{y})}{s}$$

$$G_{inf} = \frac{(y_{mín} - y)}{s}$$

Onde y_{máx} e y_{mín} são, respectivamente, o maior e menor valor da média das triplicatas das respostas; \bar{y} é o valor médio das triplicatas das respostas, e s é o desvio padrão das médias das triplicatas das respostas. Os valores obtidos são comparados com um valor tabelado G_{crit} = 1,71.

0



FORMULÁRIO

Código FO 1845 FL 876

Aprovada em 02/03/2020

Rubrica
Página
9/21Título
PLANO DE VALIDAÇÃO E VERIFICAÇÃO DE MÉTODOSRevisão
02

O LD foi determinado pela estimativa do desvio padrão do branco de amostra fortificado na menor concentração aceitável do analito, pela equação:

$$LD = 3,143 * s$$

Onde s é o desvio padrão de 7 leituras consecutivas do branco fortificado.

O LQ foi determinado pela estimativa do desvio padrão do branco de amostra fortificado na menor concentração aceitável do analito, pela equação:

$$LQ = 10 * s$$

Onde s é o desvio padrão de 7 leituras consecutivas do branco fortificado.

A recuperação foi estimada pela leitura de uma matriz fortificada (água tratada) em 3 níveis de concentração, em 10 réplicas independentes num período de 5 dias, sendo 2 réplicas por dia. Foram avaliados os percentuais de recuperação (Fator de Recuperação) e os coeficientes de variação das 10 réplicas por nível pelas equações:

$$F_{rec} = \frac{100 * (A - AF)}{Vr}$$

Onde: F_{rec} é o fator de recuperação; A é o valor da leitura da amostra (ou branco); AF é o valor da leitura da amostra fortificada (ou branco fortificado); Vr é o valor da fortificação.

$$C.V.\% = \frac{100 * s}{M_{Frec}}$$

Onde: $C.V.\%$ é o coeficiente de variação; s é o desvio padrão das 10 réplicas por nível; M_{Frec} é o valor médio dos fatores de recuperação obtidos.

A Tendência foi avaliada pelo padrão de distribuição dos resultados em um gráfico contendo limites de advertência e limites críticos, durante o período de estudo. Os limites foram calculados pelas equações:

Limite de Advertência:

$$LA = M_{Frec} \pm 2 * s$$



FORMULÁRIO

Código FO 184

FL 877

Aprovada em 02/03/2020

Título

PLANO DE VALIDAÇÃO E VERIFICAÇÃO DE MÉTODOS

Revisão
02Rubrica
Página
10/21

COMISSÃO DE LICENCIAMENTO

Limite Crítico:

$$LC = M_{Frec} \pm 3 * s$$

A repetibilidade foi avaliada pela medição de padrões 3 níveis de concentração avaliado em 7 réplicas independentes no mesmo dia. Foi avaliado o coeficiente de variação entre as réplicas.

A precisão foi avaliada pela medição de padrões 3 níveis de concentração avaliado em 7 réplicas independentes, por um analista diferente. Foi avaliado o coeficiente de variação entre as réplicas.

13. DADOS ESTATÍSTICOS

Os dados obtidos no procedimento de ensaio devem ser registrados no FO 074 Relatório de Validação de Método Analítico para avaliar se o desvio padrão experimental da reprodutibilidade está compatível com o desvio padrão predito pela equação de Horwitz, modificada por Thompson, que é baseada na concentração c do analito:

A partir do desvio padrão s é útil calcular os limites de precisão. Isso permitirá ao analista decidir quando há uma diferença significativa, a um determinado nível de confiança, entre os resultados de análises duplicadas de uma amostra obtida sob condições especificadas. O limite de repetibilidade (r) é calculado conforme a equação:

$$r = t_{(n-1,1\alpha)} 2 \cdot sr$$

Onde o fator 2 reflete a diferença entre 2 medições, t é o valor da abscissa da distribuição t (Student) bilateral para determinado número de graus de liberdade (relacionados à estimativa do sr) e nível de confiança. Para graus de liberdade relativamente altos, t é aproximadamente igual a 2 para 95,35% de confiança; assim, o limite de repetibilidade é frequentemente aproximado como:

$$r = 2,8 \cdot sr$$

Seletividade é o grau em que o método pode quantificar o analito na presença de outros analitos, matrizes ou de outro material potencialmente interferente (AOAC, 2002). Um método que produz respostas para vários analitos, mas que pode distinguir a resposta de um analito da de outros, é chamado seletivo.

Teste estatístico: Teste F (Snedecor) de homogeneidade de variâncias, por nível de concentração e Teste t (Student) de comparação de médias, por nível de concentração.

0



FORMULÁRIO

Código FO 184

Aprovada em 02/03/2022

878

Rubrica

Título

PLANO DE VALIDAÇÃO E VERIFICAÇÃO DE MÉTODOS

Revisão
02

Página
11/21



Repetitividade

Legenda:

Resultados

Entrada de dados

Data da execução:

25/03/2022

Nível	Operador	Data	Nome do Método	Nº Replicatas	Resultado	Média	Desv. Pad.	C.V.
Nível 1	Amanda K. P. Zago	25/03/2022	Klebsiela. pneumoniae ATCC13883 + QF-Coli	1	30,50000	29,64	0,802	2,71%
				2	29,00000			
				3	30,50000			
				4	29,00000			
				5	29,00000			
				6	30,50000			
				7	29,00000			
Nível 2	Amanda K. P. Zago	25/03/2022	Escherichia coli ATCC25922 + QF-Coli	1	56,10000	54,67	1,336	2,44%
				2	53,60000			
				3	56,10000			
				4	56,10000			
				5	53,60000			
				6	53,60000			
				7	53,60000			
Nível 3	Amanda K. P. Zago	25/03/2022	nonas ATCC27853 Coli	1	0,00000			
				2	0,00000			
				3	0,00000			
Nível 3	Amanda K. P. Zago	25/03/2022	Ps. aeruginosa	6	0,00000			
				7	0,00000			

Limite de repetitividade Nível 1		Limite de repetitividade Nível 2		Limite de repetitividade Nível 3	
t _{tab} (95%)	1,94	t _{tab} (95%)	1,94	t _{tab} (95%)	1,94
n	7	n	7	n	7
s	0,80200	s	1,33600	s	0,00000
r	2,20035	r	3,66542	r	0,00000

0



FORMULÁRIO

Código FO 184
 Aprovada em 02/03/2020
 Revisão 02
 Rubrica
 Página 12/21

Título
 PLANO DE VALIDAÇÃO E VERIFICAÇÃO DE MÉTODOS

Conclusão:
 Critério de aceitação para CV ≤ 20% para medidas de propriedade.

Reprodutibilidade/ Precisão Intermediária

Legenda:
 Resultados
 Entrada de dados

		1,00	Nº Replicatas	Resultado	Média	Desv. Pad.	Variância
		1,00					
Nível 1	Operator: Maria Julia Mieli	Klebsiella pneumoniae ATCC13883 + Colliet - Idexx	1	29,0000	29,36	1,046	1,093406593
			2	27,5000			
			3	27,5000			
			4	29,0000			
			5	30,5000			
			6	29,5000			
			7	30,5000			
	Operator: Amanda K. P. Zago	25/03/2022	1	30,5000			
			2	29,0000			
			3	30,5000			
			4	29,0000			
			5	29,0000			
			6	30,5000			
			7	29,0000			

Limite de reprodutibilidade Nível 1	
t _{tab} (95%)	1,94
n	7
S _R	1,046
R	2,86978
DPRr = C.V.	3,56%

DPRr _(teórico)	2,000	DPRr = 2 ^(1-0,5 log C)
HORRAT	0,017813	

o



FORMULÁRIO

Código FO 484 FL 880

Aprovada em 02/03/2020

Revisão 02

Rubrica 13/21

Título
PLANO DE VALIDAÇÃO E VERIFICAÇÃO DE MÉTODOS

Conclusão:

Critério de aceitação para CV ≤ 20%.

Valor de HORRAT ≤ 2, os valores da reprodutibilidade do método são satisfatórios.

Reprodutibilidade/ Precisão Intermediária

Legenda:

Resultados

Entrada de dados

Nível 2	1,00		Nº Replicatas	Resultado	Média	Desv. Pad.	Variância
	Operador:	25/03/2022					
Maria Julia Mieli	Escherichia coli ATCC25922 + Colilert - Idexx	1	51,2000	53,98	1,892	3,578736264	
		2	51,2000				
		3	53,6000				
		4	56,1000				
		5	56,1000				
		6	53,6000				
		7	51,2000				
Amanda K. P. Zago	25/03/2022	1	56,1000	53,98	1,892	3,578736264	
		2	53,6000				
		3	56,1000				
		4	56,1000				
		5	53,6000				
		6	53,6000				
		7	53,6000				

Limite de reprodutibilidade Nível 2	
t _{tab} (95%)	1,94
n	7
S _R	1,892
R	5,19084
DPRr = C.V.	3,51%

DPRr _(teórico)	2,000	$DPRr = 2^{(1-0,5 \log C)}$
HORRAT	0,017525	

e



FORMULÁRIO

Código FO 184

Aprovada em 02/03/2020

Título
PLANO DE VALIDAÇÃO E VERIFICAÇÃO DE MÉTODOS

Revisão
02

Página
14/21

Conclusão:

Critério de aceitação para CV ≤ 20%.

Valor de HORRAT ≤ 2, os valores da reprodutibilidade do método são satisfatórios.



Reprodutibilidade

Legenda:
Resultados
Entrada de dados

Nível 3		Operador:		1,00	Nº Replicatas	Resultado	Média	Desv. Pad.	Variância
Maria Julia Mieli	Pseudomonas aeruginosas ATCC27853 + Colilert - Idexx	1	0,0000	0,00	0,000	0,00000000			
		2	0,0000						
		3	0,0000						
		4	0,0000						
		5	0,0000						
		6	0,0000						
		7	0,0000						
Amanda K. P. Zago	25/03/2022	1	0,0000	0,00	0,000	0,00000000			
		2	0,0000						
		3	0,0000						
		4	0,0000						
		5	0,0000						
		6	0,0000						
		7	0,0000						

Limite de reprodutibilidade	
Nível 3	
t _{tab} (95%)	1,94
n	7
S _R	0,000
R	0,00000
DPRr = C.V.	#DIV/0!

DPRr _(teórico)	2,000	$DPRr = 2^{(1-0,5 \log C)}$
HORRAT	#DIV/0!	



FORMULÁRIO

Código FO 184

Aprovada em 02/03/2020

Título
PLANO DE VALIDAÇÃO E VERIFICAÇÃO DE MÉTODOSRevisão
02Página
15/21

Conclusão:

Critério de aceitação para $CV \leq 20\%$.Valor de HORRAT ≤ 2 , os valores da reprodutibilidade do método são satisfatórios**14. QUALIDADE ASSEGURADA E CONTROLE DE QUALIDADE**

Os controles de qualidades aplicáveis ao procedimento estão descritos no *PSGQ 007 – Garantia da Qualidade dos Resultados* conforme descreve SMWW 23ª Edição, 2017, Método sessão 9020 tabela 9020:1 Key Quality Control Practices.

Comparador de Cor

- Comparador fluorescente para *Coliformes Totais/ Escherichia coli*. O resultado deve ser igual a tabela de interpretação abaixo:

Aparência	Resultado
Menos amarelo que o comparador	Negativo para Coliformes totais e <i>E. coli</i>
Amarelo igual ou superior ao comparador	Positivo para Coliformes totais
Amarelo e fluorescência igual ou superior ao comparador	Positivo para <i>E. coli</i>

Meio de Cultura – Substrato Cromogênico/Fluorogênico

- A cada novo lote, realizar o controle de positivo e negativo do teste de funcionalidade
- Para o teste **negativo** para Coliformes totais e *Escherichia coli*, proceder a análise com água estéril contaminadas com cepa de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, preparar o material para teste conforme descreve o procedimento para uso e manutenção das cepas (IT-092).
- Para o teste **positivo** para Coliformes totais e **negativo** para *Escherichia coli* proceder a análise com água estéril contaminadas com cepa *Klebsiella pneumoniae* ATCC13883, preparar o material para teste conforme descreve o procedimento para uso e manutenção das cepas (IT-092).
- Para o teste **positivo** para Coliformes totais e **positivo** para *Escherichia coli* proceder a análise com água estéril contaminadas com cepa *Escherichia coli* ATCC25922, preparar o material para teste conforme descreve o procedimento para uso e manutenção das cepas (IT-092).
- Caso houver divergência nos resultados, repetir o processo. Se persistir, o lote de substrato deverá ser substituído.
- Registrar os controles realizados no FO- 186 Controle de uso dos itens de ensaio Biologia, na aba teste de funcionalidade.

Controle de Asséptico – Fluxo Laminar

- **Fluxo de Ar**
- Verificar semanalmente se o fluxo de ar está funcionando corretamente.
- Erguer o vidro da capela de fluxo laminar e colocar o umidificador dentro da capela, ligá-lo conforme a IT-112 Umidificador ultrassônico.

**FORMULÁRIO**

Código FO 184

Aprovada em 02/03/2020

Título
PLANO DE VALIDAÇÃO E VERIFICAÇÃO DE MÉTODOSRevisão
02Página
16/21

- Baixar o vidro da capela de fluxo laminar e ligar o fluxo de ar.
- Verificar se o fluxo de ar da capela irá sugar o vapor do umidificador ultrassônico.
- Registrar no FO 156 – Verificação do Fluxo de Ar.

**Luz Germicida**

- Realizar o monitoramento do ar mensalmente com as placas TSA e SDA e, da(s) superfície (s) a cada uso com a placa TSA Rodac, para averiguar e monitorar a eficiência da Luz U.V na assepsia do ambiente, conforme a IT – 088.
- Fazer o preparo do local de trabalho, em seguida realizar a desinfecção.
- Registrar no FO 106 – Verificação das condições assépticas do Laboratório.

Controle de Coleta

A cada novo lote, realizar o controle de esterilidade do frasco com caldo nutritivo e a eficácia de eliminação cloro residual livre.

Caldo Nutritivo de Lactose

Pesar $3,25 \pm 0,05$ g do caldo de lactose e dissolver em 250 ml de água purificada. Transferir para um frasco reagente e autoclavar a meia rosca a 121 °C por 15 minutos. Registrar os controles realizados FO-186 no Controle de Uso de Itens de Ensaio Biologia, na aba: Preparo de Soluções e Cepas.

- Preparar o caldo a cada uso.

Teste de Esterilidade do Frasco

- Preparar o local de trabalho.
- Abrir o frasco microbiológico e rapidamente adicionar 100 ml do Caldo Nutritivo de Lactose.
- Incubar o frasco em estufa bacteriológica a $35 \pm 0,5$ °C por 24 horas.
- Ao término, repetir a limpeza da capela de fluxo laminar com papel umedecido com álcool 70% e desligar o fluxo de ar.
- Após o tempo de incubação realizar o teste de fluorescência e o teste visual, garantindo que o caldo incubado no frasco não apresente nenhuma mudança em suas características físicas, como material em suspensão, turvação ou algo similar.
- Registrar os controles realizados FO-186 no Controle de Uso de Itens de Ensaio Biologia, nas abas: Teste de Funcionalidade e Controle de Qualidade.

Teste de Eliminação do Cloro

- Preparar o local de trabalho.
- Abrir o frasco microbiológico e rapidamente adicionar 100 ml de água da torneira.
- Seguir conforme IT 047 Determinação de Cloro Residual Livre Com N,N-DIETIL-P-FENILENOTETRAMINA (DPD).

Teste de Volume

- Preparar o local de trabalho.



FORMULÁRIO

Código FO 186 FL 884

Aprovada em 02/03/2020

Rubrica
Página
17/21Título
PLANO DE VALIDAÇÃO E VERIFICAÇÃO DE MÉTODOS

- Preencher uma proveta de 100 ml calibrada com água e ver no frasco microbiológico observando se atinge a marcação de volume.
- Caso o lote apresente desvio significativo, desprezar e substituir por um novo lote.
- Registrar os controles realizados FO-186 no Controle de Uso de Itens de Ensaio Biologia, nas abas: Teste de Funcionalidade e Controle de Qualidade.

Estufa Bacteriológica

- Realizar o monitoramento da temperatura da estufa diariamente nos períodos de análise. Realizar a leitura da temperatura na parte da manhã e da tarde
- Registrar no FO 040 – Registro de Inspeção da Temperatura da Estufa

Monitoramento da Água Reagente

Monitoramento da qualidade da água reagente conforme Tabela 9020:II Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater.

Para execução dos ensaios abaixo, seguir conforme os procedimentos vigentes no laboratório e reportar os resultados nesse formulário atentando-se a periodicidade de cada ensaio.

Condutividade	IT 025 – Determinação da Condutividade Eletrolítica
Metais pesados*	IT 097 – Determinação de Metais Totais e Metais Dissolvidos por Espectrometria de Emissão Plasma Óptico Indutivamente Acoplado (ICP-OES)
Metais Totais	
Cloro Residual Livre	IT 047 – Determinação Residual Livre com N, N Dietil – P – Fenilenotetramina (DPD)
Bactérias Heterotróficas	IT 016 – Determinação de Bactérias Heterotróficas Pour Plate
Carbono Orgânico	IT 158 – Determinação de Carbono Orgânico Total

TESTES QUÍMICOS

Teste	Data	Frequência	Método	Resultado	Limite Máximo	Responsável
Condutividade		Diário	SMWW 2510B		< 2 µS/ cm	
Carbono Orgânico		Mensal	EPA 9060A:2004		< 1,0 mg/L	
Metais pesados*		Anual**	EPA 6010D:2018		< 0,05 mg/L	
Metais Totais		Anual**	EPA 6010D:2018		< 0,10 mg/L	
Cloro Residual Livre		Diário	SMWW 4500Cl – G		< 0,10 mg/L	

* Metais pesados (Cd, Cr, Cu, Ni, Pb e Zn)

** Deverá ser avaliado criticamente ao longo do ano, caso ocorra algum problema deve-se estabelecer um monitoramento com maior frequência.

TESTES MICROBIOLÓGICOS

Teste	Data	Frequência	Método	Resultado	Limite Máximo	Responsável
Bactérias Heterotróficas		Mensal	SMWW 9215B		< 500 UFC/ mL	

2



FORMULÁRIO

Código FO 1844

Aprovada em 02/03/2028



Título

PLANO DE VALIDAÇÃO E VERIFICAÇÃO DE MÉTODOS

Revisão
02Página
18/21**Manutenção das Cepas de Referência**

A técnica de Gram, mundialmente conhecida como coloração de Gram, é um método de coloração de bactérias desenvolvido pelo médico dinamarquês Hans Christian Joachim Gram permite diferenciar bactérias com diferentes estruturas de parede celular a partir das colorações que estas adquirem após tratamento com agentes químicos específicos. O método consiste em tratar sucessivamente um esfregaço bacteriano, fixado pelo calor, com os reagentes violeta de genciana, lugol, etanol-acetona fucsina. As bactérias que adquirem a coloração azul violeta são chamadas de Gram-positivas e aquelas que adquirem a coloração vermelho são chamadas de Gram-negativas.

Procedimento Técnico

Materiais necessários Cepas padrão: ATCC® (American Type Culture Collection)

Parâmetro	Resultado esperado
Staphylococcus aureus ATCC® 25923	Cocos Gram Positivos: Células esféricas coradas em tonalidade violeta
Escherichia coli ATCC® 25922	Bacilos Gram Negativos: Células em formato de bastão coradas em tonalidade rósea
Pseudomonas aeruginosa ATCC® 27853	Bacilo Gram-Negativo: Bastão reto, não esporulado, móvel, contendo um flagelo polar em tonalidade rósea
Klebsiella pneumoniae ATCC® 13883	Bacilo Gram-Negativo: encapsulada, anaeróbia facultativa em forma de bastonete, não móvel
Coloração de Fundo o fundo da lâmina	Apresenta-se límpido e isento de sujidades ou precipitados

a- Preparar as lâminas para coloração:

- Materiais líquidos: espalhar o material sobre uma lâmina limpa e desengordurada, deixar secar ao ar e fixar o material passando a lâmina pela chama do bico de Bunsen, deixar resfriar;
- Material de culturas em meio sólido: usando uma alça, colocar uma gota de água estéril no centro de uma lâmina limpa e desengordurada, e em seguida pegar a alçada de uma colônia bacteriana, emulsionar na água estéril, deixar secar ao ar e fixar o material na chama de um bico de Bunsen, deixar resfriar;
- Amostras diretas: Espalhar a amostra no centro de uma lâmina limpa e desengordurada, deixar secar ao ar, e em seguida fixar passando-a pela chama de um bico de Bunsen, deixando resfriar;

b- Coloração:

- Cobrir o material com a solução de violeta genciana e deixar atuar por um minuto, lavando em água corrente rapidamente;



FORMULÁRIO

Código FO 184 FI 886

Aprovada em 02/03/2020

Título
PLANO DE VALIDAÇÃO E VERIFICAÇÃO DE MÉTODOSRevisão
02Página
19/21

COMISSÃO DE LICITAÇÃO

- Cobrir a lâmina com o lugol fraco e deixar atuar um minuto; -
- Remover o lugol da lâmina gotejando sobre está a solução descolorante até que o líquido se torne incolor (em torno de 15 segundos); -
- Lavar em água corrente e cobrir a lâmina com a solução para Gram (deixando atuar por 30 a 60 segundos); -
- Lavar com água corrente, deixar secar na posição vertical e observar ao microscópio usando a objetiva de imersão (100x de aumento total).

c- Precauções e cuidados especiais

- Esfregaços muito delgados ou muito espessos dificultam o processo de coloração;

● Cuidar na etapa da descoloração, pois a falta ou o excesso podem igualmente prejudicar o resultado;

As células microbianas que apresentarem escura são consideradas Gram positivas ao passo que as coradas em tonalidade avermelhada são consideradas Gram negativas. Estruturas como células epiteliais, leucócitos e muco coram tonalidade avermelhada.

15. RESULTADO DOS TESTES

Os critérios de aceitação utilizados para a verificação do método foram:

Linearidade: $R^2 \geq 0,995$; Se G_{superior} ou $G_{\text{inferior}} \geq 1,156$ o valor aberrante para $n=3$ a 5%: as variâncias podem ser consideradas iguais e as respostas instrumentais são homoscedásticas (H_0).

Recuperação: todas as fortificações devem ter resultado dentro de $\pm 20\%$ do valor de referência e desvio padrão relativo (coeficiente de variação), com valor de no máximo 20%.

● Precisão e precisão intermediária:

Foi avaliado o valor do desvio padrão relativo (coeficiente de variação), com valor de no máximo 20%.

LQ: Pelo cálculo de LQ, compostos que obtiveram LQs em concentrações menores que a concentração do primeiro ponto da sua respectiva curva de calibração. Visto isso, foi padronizado que, nesses casos, o valor do LQ será correspondente à concentração do primeiro ponto da curva de calibração.

Os resultados obtidos, deveram ser apresentados no FO 074 Relatório de Validação de Método Analítico de cada composto avaliado.

16. ANEXOS

FO 074 Relatório de Validação de Método Analítico

FO 212 Declaração de Validade do Método

0



FORMULÁRIO

Código FO 184

Aprovada em 02/03/2022

Título

PLANO DE VALIDAÇÃO E VERIFICAÇÃO DE MÉTODOS

Revisão
02Rubrica
Página
20/21COMISSÃO DE LICITAÇÃO
FL 887

17. BIBLIOGRAFIA

1. DOC-CGECRE-008rev09 ORIENTAÇÃO SOBRE VALIDAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS: Junho, 2020.
2. EURACHEM Guide: *The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics*. Magnusson, B. and U. Örnemark (Ed.), 2014.
3. Standard Methods For The Examination Of Water And Wastewater, 23rd Ed.
4. Guia Nacional de Preservação de Amostras, disponível em: <http://arquivos.ana.gov.br/institucional/sge/CEDOC/Catalogo/2012/GuiaNacionalDeColeta.pdf>.
5. CALDWELL, E.L. & L.W. PARR. 1933. Present status of handling water samples—Comparison of bacteriological analyses under varying temperatures and holding conditions, with special reference to the direct method. Amer. J. Pub. Health 23:467.
6. AGÊNCIA DE PROTEÇÃO AMBIENTAL DOS EUA. 1992. Regulamento Nacional de Água Potável Primária: Técnicas analíticas; Bactérias Coliformes; Regra final. 40 CFR Parte 141; Fed. Reg. 57:24744.
7. U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. 1994. National Primary and Secondary Drinking Water Regulation: Analytical methods for regulated drinking water contaminants; Final Rule. 40 CFR Parts 141 & 143; Fed. Reg. 59:62456.

18. PLANO DE TRABALHO

METAS	DESCRIÇÃO	EXECUÇÃO
1	21/03/2022: Planejamento dos ensaios de validação e definição do cronograma para execução.	Raphael Fernandes Amanda K. P. Zago
2	23/03/2022: Preparo das amostras para ensaio de LD e LQ. Avaliação parcial dos dados.	Raphael Fernandes Amanda K. P. Zago Maria Julia Mielli
3	25/03/2022: Preparo das amostras para ensaio de Repetibilidade do método em 3 níveis. Avaliação parcial dos dados.	Raphael Fernandes Amanda K. P. Zago Maria Julia Mielli
4	28/03/2022: Preparo das amostras para ensaio de Precisão Intermediária do método. Avaliação parcial dos dados.	Raphael Fernandes Amanda K. P. Zago Maria Julia Mielli
5	01/04/2022: Preenchimento dos documentos de Validação FO 074 Relatório de Validação de Método Analítico	Raphael Fernandes Amanda K. P. Zago Maria Julia Mielli
6	02/04/2022: Revisão, avaliação e discussão final do resultados para aprovação.	Raphael Fernandes Amanda K. P. Zago Maria Julia Mielli

0



FORMULÁRIO

Código FO 18 FL 888
Aprovada em 02/03/2022

Título
PLANO DE VALIDAÇÃO E VERIFICAÇÃO DE MÉTODOS

Revisão
02

Rubrica
Página
21/21

19. APROVAÇÃO

Raphael

NOME/FUNÇÃO	Raphael Fernandes/ Gerente Técnico	Amanda K. P. Zago/ Analista de Laboratório	Maria Julia Mieli/ Analista de Laboratório
AÇÃO	Planejamento	Participação	Participação
DATA	21/03/2022	21/03/2022	21/03/2022

e



ANÁLISE E DECISÃO DE RECURSO

PREGÃO ELETRÔNICO Nº 048/2020

PROCESSO Nº 056/2020

FORNECIMENTO DE MEIO DE CULTURA ESPECÍFICO- SUBSTRATO CROMOGÊNICO DEFINIDO ONPG-MUG, CONFORME ESPECIFICAÇÕES TÉCNICAS E QUANTIDADES CONSTANTES NO TERMO DE REFERÊNCIA

LICITANTE RECORRENTE: IDEXX BRASIL LABORATÓRIOS LTDA.

LICITANTE RECORRIDA: QUIMAFLEX PRODUTOS QUÍMICOS LTDA.

Trata-se da análise e decisão do recurso interposto pela licitante IDEXX BRASIL LABORATÓRIOS LTDA, segundo lugar no certame, em face da declaração da RECORRIDA como vencedora do referido pregão.

1. DA TEMPESTIVIDADE

A RECORRIDA foi declarada vencedora no dia 18/08/2020 às 14h23 através do sistema de pregões eletrônicos do Banco do Brasil (Licitações e). A intenção de recursos foi manifestada no dia 18/08/2020 às 14h37. O prazo para apresentação das razões recursais, conforme item 10.3. do edital, é de 3 dias. Em 21/08/2020 a RECORRENTE apresentou a referida documentação via email. Portanto, o recurso foi considerado TEMPESTIVO.

2. BREVE HISTÓRICO DOS FATOS

O Pregão Eletrônico nº 048/2020 transcorreu normalmente, tendo a QUIMAFLEX PRODUTOS QUÍMICOS LTDA ofertado a melhor proposta para o objeto em questão, sendo o valor total final de R\$ 21.800,00. A RECORRIDA enviou todos os documentos de habilitação dentro do prazo, conforme as exigências do edital.

A documentação foi analisada pela Pregoeira e pelo representante técnico do Setor Solicitante, tendo sido aprovada por ambos. Desta forma, no dia 18/08/2020 a RECORRIDA foi declarada vencedora, oportunidade em que a licitante detentora do 2º lugar na disputa, IDEXX BRASIL LABORATÓRIOS LTDA, interpôs recurso sob as seguintes alegações:

- I. Que as especificações técnicas do referido Pregão dispõem que o produto seja aprovado pelo *Standard Methods* ou entidade equivalente.
- II. Que o produto ofertado pela empresa RECORRIDA “*não possui nem provou possuir aprovação no Standard Methods ou em qualquer órgão creditado pela legislação, o que impede sua aceitação.*”
- III. Que os substratos para análise de qualidade de água, como o objeto desta contratação, devem estar de acordo com o Artigo 22, da Portaria Consolidação nº 05/2017, que diz:

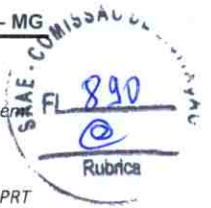
“Art. 22. As metodologias analíticas para determinação dos parâmetros previstos neste Anexo devem atender às normas nacionais ou internacionais mais recentes, tais como: (Origem: PRT MS/GM 2914/2011, Art. 22)

I - *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, de autoria das instituições American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA) e Water Environment Federation (WEF); (Origem: PRT MS/GM 2914/2011, Art. 22, I)

II - *United States Environmental Protection Agency (USEPA)*; (Origem: PRT MS/GM 2914/2011, Art. 22, II)

III - Normas publicadas pela International Standardization Organization (ISO); e (Origem: PRT MS/GM 2914/2011, Art. 22, III)

IV - Metodologias propostas pela Organização Mundial à Saúde (OMS). (Origem: PRT MS/GM 2914/2011, Art. 22, IV)"



- IV. Que "o simples fato de o produto ofertado pela QUIMAFLEX usar o meio ONPG – MUG já implicaria sua aprovação pela EPA ou STANDARD METHODS, como exigido pelo edital" e que "se isso fosse verdade, bastaria o edital referir-se a um substrato cromogênico definido ONP – Mug (qualquer um), sem que fosse necessário exigir a aprovação pelos organismos creditados na norma legal, como expressamente ali disposto".
- V. Cita e envia tradução juramentada do Standard Methods em que os únicos testes nomeados na norma são Colilert, Colilert-18 e Colisure.
- VI. Solicita, por fim, que "devido à falta de apresentação de qualquer comprovação das aprovações exigidas expressamente no edital" a RECORRIDA seja desclassificada pela falta de garantia de qualidade do produto oferecido.

Tendo em vista os argumentos apresentados pela RECORRENTE, a peça recursal foi enviada para a empresa RECORRIDA em 24 de agosto de 2020 tendo sido as contrarrazões apresentadas em 25 de agosto de 2020.

A empresa QUIMAFLEX, em sua defesa, apresenta o que se segue:

- I. Que "a exigência expressa no edital respeita ao método aprovador pelo Standard Methods for Examination of Water and Wastewater e não ao produto".
- II. Que a Portaria nº 2914/2011, consolidada na Portaria nº 5/2017 do Ministério da Saúde "nada dispõe acerca de documentos ou certificados de comprovação de qualidade de produto porquanto trata apenas e tão somente de metodologias analíticas"
- III. Que o produto ora ofertado segue o método do referenciado Colilert, metodologia ONPG-MUG, descrita sob o código 9223B no Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater.
- IV. Cita que de acordo com a Resolução Diretoria Colegiada – RDC nº 36, da ANVISA, dispensa produtos desta categoria de registro e cadastro e, portanto, "não há cogitar-se em validação do produto em apreço pelo Ministério da Saúde" e que, no Brasil, não existe norma que valide produtos como o objeto deste Pregão,
- V. Salaria que "o Certificado do Produto corrobora o conjunto probatório ao demonstrar todos os dados relevantes do produto, o que no caso inclui a metodologia empregada na produção dos reagentes, sendo assim, comprova que o produto da recorrida está em conformidade com a metodologia incluída e expressa no Standard Methods [...]"
- VI. Finaliza requerendo que o recurso ora apresentado pela RECORRENTE seja julgado improcedente e que o produto ofertado seja reconhecido como observante das exigências expressas no ato convocatório.

3. ANÁLISE E FUNDAMENTAÇÃO

Primeiramente, é importante ressaltar exatamente o que foi solicitado e exigido por esta autarquia no Termo de Referência que subsidiou a abertura do Pregão nº 048/2020, no item 4.1.

"Meio de cultura específico - Substrato cromogênico definido ONPG-MUG - Composto da combinação de dois substratos, sendo um cromogênico (orto-nitrofenil-beta-d-galactopiranosídeo - ONPG) e outro fluorogênico (4-metilumbeliferil-beta-d-glucoronídeo - MUG), [...] Método aprovado pelo Standard Methods for Examination of Water and Wastewater - Atende a legislação pertinente de controle e vigilância da qualidade da água para o consumo humano - Portaria nº2914/11-MS)" (grifo nosso)

Na passagem grifada fica evidenciado que está sendo afirmado que o produto solicitado é o meio de cultura específico – substrato cromogênico ONPG – MUG, que é um método aprovado pelo Standard Methods e que atende a legislação pertinente.

Ainda é necessário observar que no item 12.1.4, é listado de forma detalhada quais os documentos exigidos para a Qualificação Técnica da vencedora:

12.1.4 – A documentação relativa à Qualificação Técnica consiste em:

12.1.4.1 – Atestado (s) de fornecimento e capacidade técnica de objeto similar ao licitado em características, quantidades e prazos, emitido (s) por pessoa (s) jurídica (s) de direito público ou privado, que comprove o bom desempenho do solicitante e o correto cumprimento das obrigações contratuais.

Além disso, no item 6 do Termo de Referência, são especificadas as condições exigidas para contratação, que diz:

6 – DAS CONDIÇÕES EXIGIDAS PARA CONTRATAÇÃO

6.1. Fornecer catálogo contendo as especificações do material, devendo ser anexado com a proposta em caso de pregão presencial ou eletrônico. O motivo do catálogo técnico é para verificação de conformidade e de qualidade com o objeto especificado.

Portanto, não há no instrumento convocatório qualquer exigência de documentações comprobatórias de que o produto seja certificado por qualquer órgão internacional.

Em relação ao *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater*, é importante ressaltar que tal publicação é um compêndio de métodos analíticos e, no próprio site da publicação é dito que “you are assured of having the latest water analysis **methodology** with *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater.*, ou seja, o Standard Methods diz respeito a metodologias de análises de água.

Sobre isso, como forma de realização de diligência e a pedido do setor solicitante, foi solicitado à RECORRIDA em 12/08/2020 informações acerca de comprovação de que a metodologia utilizada atendia àquela descrita no Standard Methods.

Ficou esclarecido que o método utilizado é o mesmo apresentado na referida publicação, tanto no meio de cultura utilizado bem como no tempo e temperatura de incubação.

Também como forma de realização de diligência, tanto a Pregoeira como o setor técnico entraram em contato com empresas emittentes de Atestados de Capacidade Técnica apresentados pela RECORRIDA, verificando a exatidão das informações ali contidas e o desempenho satisfatório do produto.

Tendo em vista a aplicação do produto na realização de análises de água no laboratório do DMAE, é fundamental que se observe o atendimento à legislação pertinente (Portaria Consolidação nº 05/2017 – Ministério da Saúde). Nesta, conforme transcrição abaixo é clara a referência às **metodologias**:

“Art. 22. As **metodologias** analíticas para determinação dos parâmetros previstos neste Anexo devem atender às normas nacionais ou internacionais mais recentes, tais como: (Origem: PRT MS/GM 2914/2011, Art. 22) [...]” (grifo nosso)

Uma metodologia pode ser entendida como a reunião de procedimentos, maneiras de se executar atividades, com vistas a determinado fim. Neste caso, como os procedimentos de



análises são os mesmos citados no *Standard Methods*, entende-se o atendimento a tal metodologia.

Assim, entendeu-se que a citação apenas da marca Idexx na publicação é referencial e não, necessariamente, exclui os demais produtos que seguem exatamente a mesma metodologia.

Ressalta-se ainda que, em nenhum momento foi solicitado pela RECORRENTE vistas ao processo ou à documentação de habilitação e qualificação técnica da RECORRIDA.

4. DECISÃO

Considerando todas as argumentações anteriormente citadas, os dispostos no edital, bem como a obrigatória observância dos princípios da legalidade, vinculação ao instrumento convocatório, julgamento objetivo, publicidade e, principalmente, ao da competitividade trazidos pela Lei nº 8.666/93, bem como o princípio constitucional da isonomia, esta PREGOEIRA decide **NEGAR PROVIMENTO** ao recurso apresentado, mantendo a decisão de HABILITAÇÃO da licitante QUIMAFLEX PRODUTOS QUÍMICOS LTDA, por não haver nenhum fato que a invalide. Além disso, encaminha o processo devidamente instruído para análise e decisão da autoridade competente do DMAE e do Diretor Presidente, autoridade superior desta Autarquia.

Poços de Caldas, 31 de agosto de 2.020.

Leda Carolina Carvalho Menezes
Pregoeira

①



SERVIÇO AUTÔNOMO MUNICIPAL DE ÁGUA E ESGOTO
SÃO BENTO DO SUL ♦ SANTA CATARINA



DECISÃO AO RECURSO INTERPOSTO NO PREGÃO ELETRÔNICO N. 58/2021

Trata-se de recurso interposto pela empresa IDEXX BRASIL LABORATÓRIOS LTDA., em face do resultado do certame acima referido, onde pleiteia que se proceda a desclassificação da participante vencedora, por, supostamente, não cumprir a integralidade do produto exigido no Lote 06, concernente à ausência de aprovação do produto pela USEPA ou Standard Methods for Examination of Water and Wastewater método 9223-B.

Apresentadas contrarrazões, a empresa QUIMAFLEX CIENTÍFICA LTDA., vencedora, aduz que “[a aprovação] respeita metodologias e não produtos”. Anexa Portarias e documentos complementares.

O recurso não merece prosperar.

Isso porque, conforme trazido nas contrarrazões, no parecer técnico e no parecer jurídico, a Recorrente deu interpretação diversa ao contido no Edital.

Consta no Termo de Referência: “O método recomendado pelo fabricante deverá ser aprovado pela USEPA ou Standard Methods for Examination of Water and Wastewater método 9223-B.” (grifamos)

Ou seja, em momento algum se exigiu aprovação do produto substrato ao Standard Methods, mas, sim, que o método ofertado atendesse o art. 22 – Seção V da Portaria de Consolidação n. 05. A empresa Quimaflex assim o fez, trazendo a comprovação de que a metodologia analítica é a 9223-B, conforme exposto no Standard Methods for Examination of Water and Wastewater.

Cumpra-se assim as exigências do Edital e a legislação pertinente à potabilidade da água recomendada.

De forma a melhor explicar, é necessário trazer que, se caso o objeto do lote se tratasse de exigência de registro de produto que a empresa recorrente fosse fornecedora exclusiva, esta deveria ter impugnado o Edital, conquanto a aquisição deveria se dar por processo licitatório diverso – inexigibilidade/dispensa.

Comprova-se, assim, que esta Autarquia observou as exigências do Edital, as normas sanitárias e, mais ainda, o princípio da eficiência, aliado ao da qualidade e da economicidade.



SERVIÇO AUTÔNOMO MUNICIPAL DE ÁGUA E ESGOTO
SÃO BENTO DO SUL ♦ SANTA CATARINA

Não tendo qualquer outra argumentação da Recorrente se não a não aprovação DO PRODUTO da Quimaflex pelo Standard Methods for Examination of Water and Wastewater, o objeto do recurso encontra-se analisado.

Diante do exposto, tendo em vista que as condições do objeto de aquisição previsto no Termo de Referência foram cumpridas de maneira integral, tenho que as alegações recursais não devem ser acolhidas, pelo que decido pelo **CONHECIMENTO E IMPROVIMENTO** do recurso, mantendo a empresa Quimaflex Científica Ltda. como vencedora do Lote 06 do Pregão Eletrônico 58/2021.

Comuniquem-se as empresas interessadas.

São Bento do Sul/SC, 29 de novembro de 2021, às 09h54.

Gevalcir Peters
Diretor Presidente

Edelson Ilg
Pregoeiro



SERVIÇO AUTÔNOMO MUNICIPAL DE ÁGUA E ESGOTO
SÃO BENTO DO SUL ♦ SANTA CATARINA



De: ANDRÉ LUIZ DE LIMA
Coordenador ETA


Para: EDELSON ILG
Divisão de Suprimentos

Eu, André Luiz de Lima, efetivo no cargo de Operador de Eta/Ete, Coordenador da Estação de Tratamento de Água do Samae, venho através deste parecer me manifestar sobre os termos técnicos levantados nas razões do recurso da licitante Idexx do Brasil Laboratórios Ltda e nas contrarrazões da licitante Quimaflex Produtos Químicos, referente ao Pregão Presencial nº 58/2021 (especificamente o item 18 do lote 06) da seguinte forma:

Entendo que o produto em questão deve conter todos os componentes necessários para a determinação de coliformes totais e *E. coli* em água tratada ou não (in natura), conforme descrito no Termo de Referência do edital. Uma vez que a empresa Quimaflex comprovou, ao longo do certame, que seu produto atende às especificações exigidas e, da mesma forma, comprovou, através de laboratório acreditado, que o método utilizado para a realização das análises é o método 9223-B descrito no Standard Methods for Examination of Water and Wastewater, não encontramos razão plausível para acatar o recurso impetrado pela empresa Idexx.

Portanto, caso o SAMAE de São Bento do Sul opte por excluir do processo a empresa Quimaflex, poderá estar infringindo o §5º do artigo 7º da Lei 8666/93 onde está dito que: *"é vedada a realização de licitação cujo objeto inclua bens e serviços sem similaridade ou de marcas, características e especificações exclusivas, salvo nos casos em que for tecnicamente justificável..."*.

São Bento do Sul, 26 de novembro de 2021.


ANDRÉ LUIZ DE LIMA
Coordenador ETA


26.11.2021



PARECER JURÍDICO Nº 0216/2021

Assunto: Recurso administrativo contra resultado Pregão Eletrônico n. 58/2021

1. Do relatório

Trata-se, em uma breve síntese, de recurso administrativo interposto pela empresa INDEXX BRASIL LABORATÓRIOS LTDA., no âmbito do processo licitatório n. 58/2021, após a empresa QUIMAFLEX CIENTÍFICA LTDA. sagrar-se vencedora do Lote n. 06.

A Recorrente afirma que o produto fornecido pela empresa vencedora não atende às disposições do Termo de Referência.

O Coordenador da Estação de Tratamento de Água emitiu parecer técnico.

É o relato do necessário.

2. Do mérito

O recurso administrativo foi interposto no prazo e forma legal, tal qual previsto na Lei n. 8.666/93, pelo que deve ser conhecido.

Há que se argumentar inicialmente que a Administração possui a obrigatoriedade de obediência ao Princípio da Vinculação ao Instrumento Convocatório, cuja inobservância tem efeito de nulidade para todos os fins.

Nesse sentido, o art. 41 da Lei 8666/93, que rege o edital do certame objeto dos autos, afirma que "A Administração não pode descumprir as normas e condições do edital, ao qual se acha estritamente vinculada".

Igualmente, o art. 43 do mesmo diploma:

Art. 43. A licitação será processada e julgada com observância dos seguintes procedimentos:

(...)

V - julgamento e classificação das propostas de acordo com os critérios de avaliação constantes do edital;

Tal vinculação ao que é proposto no Edital não ocorre somente com a Administração em seu julgamento, mas, igualmente, com o particular que se sujeita às regras por ele estabelecidas.



Por certo que, apesar de haver tal prerrogativa à Administração, as empresas proponentes não podem ficar refém de quaisquer exigências feitas, motivo pelo qual lhe é garantida a faculdade de impugnar o Edital.

O Termo de Referência traz a disposição expressa que "O método recomendado pelo fabricante deverá ser aprovado pela USEPA ou Standard Methods for Examination of Water and Wastewater método 9223-B", ou seja, não se fala em produto aprovado, mas, sim, em método de análise aprovado, o que é inegavelmente diferente.

O rol constante na publicação se trata de mera referência, devendo ser analisado de modo exemplificativo e não exaustivo.

Mesmo que assim não o fosse, a discordância com os termos do Edital / Termo de Referência deveria ser atacada por meio de Impugnação, até dois dias úteis anteriores à solenidade, oportunizando à Autarquia a revisão – ou não – das condições impostas aos participantes.

Em assim não o fazendo oportunamente, presume-se plena aceitação ao que ali está disposto, como se vê do §2º do art. 41 da Lei 8666/93:

§ 2º Decairá do direito de impugnar os termos do edital de licitação perante a administração o licitante que não o fizer até o segundo dia útil que anteceder a abertura dos envelopes de habilitação em concorrência, a abertura dos envelopes com as propostas em convite, tomada de preços ou concurso, ou a realização de leilão, as falhas ou irregularidades que viciariam esse edital, hipótese em que tal comunicação não terá efeito de recurso.

Deste modo, ao interpretar o Standard Methods de forma direcional como vislumbra a empresa Recorrente, a Administração Pública estaria recaindo fatalmente a grave infringência de direcionamento de marca, o que não é permitido.

Tendo o setor responsável e apto para analisar o mérito principal do recurso emitido relatório técnico aduzindo que o método apresentado pela vencedora enquadra-se no exigido, o recurso não deve ser conhecido.

3. Conclusão

Diante do exposto, opino pelo conhecimento do recurso e, quando da análise do mérito, a IMPROCEDÊNCIA, por não possui base técnica para tanto, uma vez que o Termo de Referência fala de aprovação de método e não de produto, como tenta a Recorrente fazer crer.

[Handwritten signature] 2

Ⓞ



SERVIÇO AUTÔNOMO MUNICIPAL DE ÁGUA E ESGOTO
SÃO BENTO DO SUL ♦ SANTA CATARINA

Destarte, nos termos do §4º do artigo 109 da Lei 8666/93, remeto os autos à
Autoridade Superior para análise e decisão.

É o parecer.

São Bento do Sul/SC, 26 de novembro de 2021.

MAIANE FRANCINE DE MIRANDA
OAB/SC 48.627

Secretaria de
Estado da
SaúdeESTADO DE GOIÁS
SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
LACEN - ANÁLISES DE ÁGUA

PROCESSO: 202000010007595

INTERESSADO: LABORATÓRIO ESTADUAL DE SAÚDE PÚBLICA DR. GIOVANNI CYSNEIROS- LACEN

ASSUNTO: AQUISIÇÃO DE SUBSTRATO CROMOGÊNICO

DESPACHO Nº 4/2020 - ANA- 15679

Em atenção ao Despacho nº 1382/2020 - CLICIT- 09368 que encaminha ao LACEN/SES-GO para análise e deliberação das razões recursais interpostas pelas empresas Quality Científica Ltda e Idexx Brasil Laboratórios, bem como das contrarrazões interpostas pela empresa Quimaflex Produtos Químicos Ltda, informamos que diante de todas as questões levantadas, este Laboratório julgou ser pertinente entrar em contato com o senhor Nathan Edman, responsável pelas informações técnicas do Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, referência bibliográfica utilizada pelo LACEN/GO para as análises de água, para sanar qualquer tipo de dúvida sobre a possibilidade de utilização de produtos que alegam utilizar o princípio do substrato enzimático para a pesquisa de coliformes e *E.coli* em amostras de água, o que pode ser observado por meio do e-mail (000015193854) que segue pensado ao processo.

Destacamos que houve outra tentativa de contato com o senhor Nathan Edman para esclarecimentos aos questionamentos apresentado no e-mail que segue aderido ao processo. Entretanto, até o presente momento, não obtivemos retorno ao questionamento apresentado e, diante da necessidade de concluirmos a aquisição, pois o estoque do item objeto deste processo encontra-se em nível crítico, é que o LACEN/GO ratifica o PARECER ANA- 15679 Nº 1/2020 (000014568739), em que classifica o produto ofertado pela empresa Quimaflex Produtos Químicos Ltda como atendendo ao especificado tecnicamente no edital.

Salientamos que o LACEN/GO não é um laboratório responsável pela validação de produtos, o procedimento realizado para aprovação do item ofertado pela Quimaflex foi uma análise comparativa dos resultados de 100 amostras de água para consumo humano (água tratada e água não tratada) em que foram utilizados o produto da empresa detentora da melhor oferta e um produto de referência, que para o caso em comento foi o Colilert, fabricado pela empresa IDEXX. Além disso, foram utilizadas também cepas de referência ATCC, conforme descrito nas bulas dos produtos, para a realização dos testes.

Pelo processo de aquisição se tratar de ato contínuo, em caso de desvio de qualidade do produto ao longo do processo, o mesmo será relatado devendo a empresa Contratada promover a regularização das falhas ou defeitos observados sendo passível a aplicação de sanções administrativas em caso de descumprimento.

Diante do exposto retornem-se os autos à Coordenação de Licitação – GCG/SGI/SES para prosseguimento do feito.

LACEN - ANÁLISES DE ÁGUA DO (A) SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE, ao(s) 25 dia(s) do mês de setembro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **MARILIA PORTILHO GOMES, Biomédico (a)**, em 25/09/2020, às 13:40, conforme art. 2º, § 2º, III, "b", da Lei 17.039/2010 e art. 3ºB, I, do Decreto nº 8.808/2016.



Documento assinado eletronicamente por **MARLUCIA CATULIO, Coordenador (a)**, em 25/09/2020, às 14:20, conforme art. 2º, § 2º, III, "b", da Lei 17.039/2010 e art. 3ºB, I, do Decreto nº 8.808/2016.

Documento assinado eletronicamente por **CARMEN HELENA RAMOS, Diretor (a)**, em 25/09/2020, às 17:10, conforme

SAE - COMISSAO DE LICITACAO
FL 800
@
Rubrica



art. 2º, § 2º, III, "b", da Lei 17.039/2010 e art. 3ºB, I, do Decreto nº 8.808/2016.



A autenticidade do documento pode ser conferida no site http://sei.go.gov.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=1 informando o código verificador 000015555677 e o código CRC BF30B399.

LACEN - ANÁLISES DE ÁGUA
Av. Contorno, nº 3556 - Bairro Jardim Bela Vista- GOIANIA - GO - CEP 74850-320



Referência: Processo nº 202000010007595



SEI 000015555677

0

ESTADO DE GOIAS
SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
LACEN - ANÁLISES DE ÁGUA

Processo: 202000010007595

Nome: LABORATÓRIO ESTADUAL DE SAÚDE PÚBLICA DR. GIOVANNI CYSNEIROS- LACEN

Assunto: Parecer Técnico Insumo Meio Cromogênico

PARECER ANA- 15679 Nº 1/2020



Em atenção ao **Despacho nº 1/2020 - CLICIT-09368** processo nº **202000010007595** com a finalidade de aquisição do insumo laboratorial meio cromogênico e fluorogênico a ser utilizado na Seção de Microbiologia de Alimentos e Águas do LACEN/GO que resultou no pregão eletrônico nº 55/2020. Segue abaixo avaliação técnica da proposta dos fornecedores classificados.

Item	Empresa	Marca/Fabricante	Justificativa
01	Quimaflex Produtos Químicos Ltda	Quimaflex	O item ofertado ATENDE aos critérios técnicos, após avaliação de amostras.
02	Quimaflex Produtos Químicos Ltda	Quimaflex	O item ofertado ATENDE aos critérios técnicos, após avaliação de amostras.

A empresa Quimaflex Produtos Químicos LTDA, detentora da melhor oferta do pregão eletrônico nº 55/2020, encaminhou amostras do produto QF QUIMAFLEX e seu comparador colorimétrico, conforme solicitação contida **Despacho nº 1/2020 - ANA- 15679** para avaliar o desempenho do produto. Após análises verificou-se que não houve divergência na detecção de Coliformes totais e *Escherichia coli* em paralelo com o meio de cultura de referência e o meio de cultura em teste.

Dito isto, volvam-se os autos à Gerência de Licitação de Contratos e Convênios-GELCC para prosseguimento.

Laboratório de Saúde Pública Dr. Giovanni Cysneiros-LACEN-GO da SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE, aos 05 dias do mês de agosto de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **MARILIA PORTILHO GOMES, Biomédico (a)**, em 05/08/2020, às 10:38, conforme art. 2º, § 2º, III, "b", da Lei 17.039/2010 e art. 3º B, I, do Decreto nº 8.808/2016.



A autenticidade do documento pode ser conferida no site http://sei.go.gov.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=1 informando o código verificador **000014568739** e o código CRC **E431BEB6**.



Referência: Processo nº 202000010007595

LACEN - ANÁLISES DE ÁGUA
Avenida Contorno nº 3556 - Bairro Jardim Bela Vista - CEP 74850-320 - GOIÂNIA - GO - 5201-9685

SEI 000014568739