

PRODUTO: “Substrato cromogênico e fluorogênico ColiControl 100” (IRRADIADO)

Código: 100.062.0000

Lote: 202401

Validade: 12/2024

FABRICANTE: POLICONTROL INSTRUMENTOS DE CONTROLE AMBIENTAL INDÚSTRIA E COMÉRCIO EIRELI

CNPJ: 68.867.142/0001-94

ENDEREÇO: Rua Tupinambás, 515, Vila Conceição, Diadema/SP, CEP: 09991-090

Método: COLIFORMES TOTAIS - NMP (CARTELA E SUBSTRATO POLICONTROL)

Ensaio: COLIFORMES TOTAIS

Tipo: Método Oficial (Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 24^a Ed. (2023))

Método: 9223-B (Enzyme Substrate Test)

Repetitividade de Ensaio Microbiológico (contagens)

Diversas amostras foram analisadas em duplicatas e foram calculadas as diferenças absolutas dos Logaritmos em base 10 das contagens e a diferença média (em Log). O uso do teste de Dixon garantiu que diferenças muito altas ou baixas não fossem utilizadas no cálculo da diferença média.

Nome do Teste	Número de Testes	Desvio médio dos Logs
NMP (BAIXAS CONTAGENS)	20	0,0686
NMP (MÉDIAS CONTAGENS)	20	0,0524
NMP (ALTAS CONTAGENS)	20	0,070

Dados Utilizados

(Período: 08/01/24 a 12/01/24)

Teste	Contagem-A	Contagem-B	Log(10) de A	Log(10) de B	Desvio Abs.
1	3,0 X 10 ²	3,5 X 10 ²	2,477	2,544	0,067
2	2,8 X 10 ²	3,0 X 10 ²	2,447	2,477	0,030
3	1,4 X 10 ³	1,3 X 10 ³	3,146	3,114	0,032
4	2,8 X 10 ³	3,2 X 10 ³	3,447	3,505	0,058
5	3,1 X 10 ²	2,8 X 10 ²	2,491	2,447	0,044
6	2,8 X 10 ²	2,4 X 10 ²	2,447	2,380	0,067
7	1,3 X 10 ³	1,1 X 10 ³	3,114	3,041	0,073
8	1,1 X 10 ³	1,4 X 10 ³	3,041	3,146	0,105
9	7,8 X 10 ²	7,4 X 10 ²	2,892	2,869	0,023
10	1,2 X 10 ²	1,6 X 10 ²	2,079	2,204	0,125
11	5,6 X 10 ²	5,2 X 10 ²	2,748	2,716	0,032
12	1,9 X 10 ³	2,1 X 10 ³	3,279	3,322	0,043
13	7,0 X 10	6,0 X 10	1,845	1,778	0,067
14	2,0 X 10	2,2 X 10	1,301	1,342	0,041
15	2,3 X 10 ³	2,1 X 10 ³	3,362	3,322	0,040
16	5,0 X 10 ²	4,6 X 10 ²	2,699	2,663	0,036
17	8,9 X 10 ²	9,2 X 10 ²	2,949	2,964	0,015
18	6,4 X 10 ²	6,8 X 10 ²	2,806	2,833	0,027
19	5,2 X 10 ²	4,9 X 10 ²	2,716	2,690	0,026
20	1,2 X 10 ³	1,5 X 10 ³	3,079	3,176	0,097

Notas

- AMOSTRAS 1 A 10: Água subterrânea
- AMOSTRAS 11 A 20: Água bruta (doce)
- Metodologia: de acordo com as instruções do fabricante.
- Incubação durante 24 horas a 35,0 ± 0,5 °C. Leitura das cartelas utilizando o MPN Reader Policontrol.

Produtos utilizados:

- ColiControl 100. Marca: Policontrol; Código: 100.062.0000; Lote: 202401; Val.: 12/24.
- MPN PoliTray. Marca: Policontrol; Código: 100.060.0001; Lote: 8320; Val.: 07/25.

(Período: 08/01/24 a 12/01/24)

Teste	Contagem-A	Contagem-B	Log(10) de A	Log(10) de B	Desvio Abs.
1	3,0 X 10	4,0 X 10	1,477	1,602	0,125
2	2,2 X 10	3,0 X 10	1,342	1,477	0,135
3	1,7 X 10	2,0 X 10	1,230	1,301	0,071
4	1,0 X 10	1,0 X 10	1,000	1,000	0,000
5	6,0 X 10	4,0 X 10	1,778	1,602	0,176
6	5,0 X 10	7,0 X 10	1,699	1,845	0,146
7	6,0 X 10	6,6 X 10	1,778	1,820	0,042
8	4,0 X 10	5,0 X 10	1,602	1,699	0,097
9	1,0 X 10	1,0 X 10	1,000	1,000	0,000
10	0	0	0,000	0,000	0,000
11	2,3 X 10	2,0 X 10	1,362	1,301	0,061
12	1,5 X 10	2,1 X 10	1,176	1,322	0,146
13	8,0 X 10	9,0 X 10	1,903	1,954	0,051
14	1,3 X 10 ²	1,1 X 10 ²	2,114	2,041	0,073
15	0	0	0,000	0,000	0,000
16	6,0 X 10	5,2 X 10	1,778	1,716	0,062
17	1,0 X 10	1,2 X 10	1,000	1,079	0,079
18	3,0 X 10	2,6 X 10	1,477	1,415	0,062
19	4,0 X 10	3,6 X 10	1,602	1,556	0,046
20	0	0	0,000	0,000	0,000

Notas

- AMOSTRAS 1 A 10: Água subterrânea
- AMOSTRAS 11 A 20: Água bruta (salobra)
- Metodologia: de acordo com as instruções do fabricante.
- Incubação durante 24 horas a 35,0 ± 0,5 °C. Leitura das cartelas utilizando o MPN Reader Policontrol.

Produtos utilizados:

- ColiControl 100. Marca: Policontrol; Código: 100.062.0000; Lote: 202401; Val.: 12/24.
- MPN PoliTray. Marca: Policontrol; Código: 100.060.0001; Lote: 8320; Val.: 07/25.

(Período: 08/01/24 a 12/01/24)

Teste	Contagem-A	Contagem-B	Log(10) de A	Log(10) de B	Desvio Abs.
1	6,1 X 10 ⁸	6,8 X 10 ⁸	8,785	8,833	0,048
2	3,6 X 10 ⁷	2,4 X 10 ⁷	7,556	7,380	0,176
3	5,1 X 10 ⁷	5,9 X 10 ⁷	7,708	7,771	0,063
4	8,2 X 10 ⁷	7,2 X 10 ⁷	7,914	7,857	0,057
5	1,8 X 10 ⁹	2,4 X 10 ⁹	9,255	9,380	0,125
6	5,3 X 10 ⁷	4,8 X 10 ⁷	7,724	7,681	0,043
7	4,9 X 10 ⁶	3,7 X 10 ⁶	6,690	6,568	0,122
8	6,6 X 10 ⁷	6,1 X 10 ⁷	7,820	7,785	0,035
9	3,7 X 10 ⁷	4,8 X 10 ⁷	7,568	7,681	0,113
10	7,2 X 10 ⁷	7,9 X 10 ⁷	7,857	7,898	0,041
11	4,8 X 10 ⁶	5,6 X 10 ⁶	6,681	6,748	0,067
12	8,1 X 10 ⁷	6,8 X 10 ⁷	7,908	7,833	0,075
13	4,1 X 10 ⁸	5,5 X 10 ⁸	8,613	8,740	0,127
14	8,8 X 10 ⁷	7,9 X 10 ⁷	7,944	7,898	0,046
15	6,9 X 10 ⁶	6,1 X 10 ⁶	6,839	6,785	0,054
16	6,2 X 10 ⁷	5,7 X 10 ⁷	7,792	7,756	0,036
17	7,7 X 10 ⁹	6,9 X 10 ⁹	9,886	9,839	0,047
18	6,9 X 10 ⁸	6,4 X 10 ⁸	8,839	8,806	0,033
19	5,7 X 10 ⁷	6,1 X 10 ⁷	7,756	7,785	0,029
20	8,9 X 10 ⁸	7,7 X 10 ⁸	8,949	8,886	0,063

Notas

- AMOSTRAS 1 A 10: Efluente industrial
- AMOSTRAS 11 A 20: Efluente doméstico
- Metodologia: de acordo com as instruções do fabricante.
- Incubação durante 24 horas a 35,0 ± 0,5 °C. Leitura das cartelas utilizando o MPN Reader Policontrol.

Produtos utilizados:

- ColiControl 100. Marca: Policontrol; Código: 100.062.0000; Lote: 202401; Val.: 12/24.
- MPN PoliTray. Marca: Policontrol; Código: 100.060.0001; Lote: 8320; Val.: 07/25.

Limites de Quantificação (LQ)

Foi feita adição de padrão (Spike) em concentração baixa utilizando Material de Referência Certificado (MRC) quantitativo em matriz isenta do analito. Esta amostra foi analisada 10 vezes. O LQ foi atribuído considerando a positividade de uma única célula da cartela multiplicado pela diluição seriada do MRC até a menor concentração cultivável possível (1 UFC) .

Tipo de Testes: Spikes em baixa concentração.

LQ: 1 NMP/100mL.

Dados (Período: 04/01/24 a 08/01/24)

Medições	Conc. Adic.	Conc. Inicial	Res. 1	Res. 2	Res. 3	Res. 4	Res. 5	Res. 6	Res. 7	Res. 8	Res. 9	Res. 10
Teste	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Comparativo de Métodos

Uma série de amostras diferentes foi analisada simultaneamente por 2 métodos diferentes. As diferenças entre os resultados são comparadas através de teste *t* com a hipótese de serem próximas de zero, o que indica métodos com resultados semelhantes.

(Período: 03/01/24 a 06/01/24)

Teste	Amostra	ColiControl 100: Substrato e cartela Policontrol	Collert: Substrato e cartela Quantitay/2000 Idexx	Diferença
1	Efluente industrial	6,8 X 10 ⁵	6,6 X 10 ⁵	0.2000
2	Efluente industrial	4,5 X 10 ³	4,6 X 10 ³	-0.1000
3	Efluente industrial	5,0 X 10 ⁵	4,8 X 10 ⁵	0.2000
4	Efluente industrial	8,4 X 10 ⁶	8,2 X 10 ⁶	0.2000
5	Efluente industrial	7,4 X 10 ⁷	7,7 X 10 ⁷	-0.3000
6	Efluente industrial	6,0 X 10 ⁶	6,2 X 10 ⁶	-0.2000
7	Efluente industrial	4,4 X 10 ⁵	4,5 X 10 ⁵	-0.1000
8	Efluente industrial	8,1 X 10 ⁴	8,0 X 10 ⁴	0.1000
9	Efluente industrial	3,7 X 10 ⁶	3,3 X 10 ⁶	0.4000
10	Efluente industrial	4,5 X 10 ⁵	4,6 X 10 ⁵	-0.1000
11	Efluente industrial	2,8 X 10 ⁴	3,3 X 10 ⁴	-0.5000
12	Efluente industrial	5,5 X 10 ⁵	5,0 X 10 ⁵	0.5000
13	Efluente industrial	9,2 X 10 ⁴	8,9 X 10 ⁴	0.3000
14	Efluente industrial	6,1 X 10 ⁶	5,6 X 10 ⁶	0.5000
15	Efluente industrial	5,4 X 10 ⁵	5,2 X 10 ⁵	0.2000
16	Efluente industrial	8,4 X 10 ⁵	8,0 X 10 ⁵	0.4000
17	Efluente industrial	3,6 X 10 ⁴	3,8 X 10 ⁴	-0.2000
18	Efluente industrial	6,5 X 10 ⁶	6,6 X 10 ⁶	-0.1000
19	Efluente industrial	4,9 X 10 ⁵	5,2 X 10 ⁵	-0.3000
20	Efluente industrial	3,7 X 10 ⁷	3,3 X 10 ⁷	0.4000
21	Água subterrânea	1,5 X 10	1,2 X 10	0.3000
22	Água subterrânea	0	0	0
23	Água subterrânea	9	1,0 X 10	8-Dixon
24	Água subterrânea	1,4 X 10	1,2 X 10	0.2000
25	Água subterrânea	7,5 X 10	8,3 X 10	-0.8000
26	Água subterrânea	1,3 X 10 ²	1,4 X 10 ²	-0.1000
27	Água subterrânea	6,3 X 10	4,4 X 10	1.900
28	Água subterrânea	0	0	0
29	Água subterrânea	0	0	0
30	Água subterrânea	4,2 X 10	5,0 X 10	-0.8000
31	Água subterrânea	2,0 X 10	1,5 X 10	0.5000
32	Água subterrânea	8,5 X 10	7,7 X 10	0.8000
33	Água subterrânea	3,6 X 10	3,3 X 10	0.3000
34	Água subterrânea	0	0	0
35	Água subterrânea	1,2 X 10	1,0 X 10	0.2000
36	Água subterrânea	6	8	-2
37	Água subterrânea	1,5 X 10	1,2 X 10	0.3000
38	Água subterrânea	7,4 X 10	6,0 X 10	1.400
39	Água subterrânea	0	0	0
40	Água subterrânea	1,0 X 10	6	-5
41	Água bruta (rio)	2,4 X 10	2,0 X 10	0.4000
42	Água bruta (rio)	3,9 X 10	4,4 X 10	-0.5000
43	Água bruta (rio)	1,5 X 10 ²	1,6 X 10 ²	-0.1000
44	Água bruta (rio)	2,6 X 10 ²	2,2 X 10 ²	0.4000
45	Água bruta (rio)	5,0 X 10 ²	4,0 X 10 ²	1

Teste	Amostra	ColiControl 100: Substrato e cartela Policontrol	Colilert: Substrato e cartela Quantitay/2000 Idexx	Diferença
46	Água bruta (rio)	7,7 X 10 ²	6,7 X 10 ²	1
47	Água bruta (rio)	0	0	0
48	Água bruta (rio)	3,6 X 10	3,9 X 10	-0.3000
49	Água bruta (rio)	9,0 X 10	9,4 X 10	-0.4000
50	Água bruta (rio)	4,2 X 10	4,0 X 10	0.2000
51	Água bruta (rio)	0	0	0
52	Água bruta (rio)	8,9 X 10 ³	8,1 X 10 ³	0.8000
53	Água bruta (rio)	3,4 X 10 ³	2,9 X 10 ³	0.5000
54	Água bruta (rio)	1,5 X 10 ²	1,3 X 10 ²	0.2000
55	Água bruta (rio)	7,4 X 10 ²	7,6 X 10 ²	-0.2000
56	Água bruta (rio)	2,9 X 10 ³	3,2 X 10 ³	-0.3000
57	Água bruta (rio)	1,9 X 10 ³	2,2 X 10 ³	-0.3000
58	Água bruta (rio)	8,0 X 10	7,2 X 10	0.8000
59	Água bruta (rio)	0	0	0
60	Água bruta (salobra)	1,2 X 10	7	-5.800
61	Água bruta (salobra)	9	10	-1
62	Água bruta (salobra)	1,5 X 10	1,2 X 10	0.3000
63	Água bruta (salobra)	8,8 X 10	8,0 X 10	0.8000
64	Água bruta (salobra)	4,3 X 10	3,8 X 10	0.5000
65	Água bruta (salobra)	0	0	0
66	Água bruta (salobra)	0	0	0
67	Água bruta (salobra)	6,3 X 10	6,6 X 10	-0.3000
68	Água bruta (salobra)	8	1,0 X 10	7-Dixon
69	Água bruta (salobra)	1,2 X 10	8	-6.800
70	Água bruta (salobra)	6	5	1
71	Água bruta (salobra)	2,0 X 10	2,2 X 10	-0.2000
72	Água bruta (salobra)	1,5 X 10	1,8 X 10	-0.3000
73	Água bruta (salobra)	0	0	0
74	Água bruta (salobra)	0	0	0
75	Água bruta (salobra)	4,7 X 10	4,2 X 10	0.5000
76	Água bruta (salobra)	6,9 X 10	7,3 X 10	-0.4000
77	Água bruta (salobra)	1,2 X 10	1,0 X 10	0.2000
78	Água bruta (salobra)	2,5 X 10	2,8 X 10	-0.3000
79	Água bruta (salobra)	0	0	0
80	Água bruta (salobra)	3,0 X 10	2,6 X 10	0.4000

Diferença Média=-0.1218; DP=1.28; n=78.

A Faixa das diferenças (Média $\pm$ t * DP / Raiz(n)) deve incluir zero.

Métodos Equivalentes. Faixa das diferenças: -0.412 a 0.168.

t Crítico=2,00; t Calculado=-0,84. Correlação=0.7948

Notas

- Metodologia: de acordo com as instruções do fabricante.
- Incubação durante 24 horas a 35,0 $\pm$ 0,5 °C. Leitura das cartelas utilizando o MPN Reader Policontrol.

Produtos utilizados:

- ColiControl 100. Marca: Policontrol; Código: 100.062.0000; Lote: 202401; Val.: 12/24.
- MPN PoliTray. Marca: Policontrol; Código: 100.060.0001; Lote: 8320; Val.: 07/25.
- Colilert. Marca: Idexx; Product Catalog Number: WP2001; Part number: 98-12973-00; Lote: FW610; Val.: 07/07/24.
- Quanty-Tray/2000. Marca: Idexx; Product Catalog Number: WQT-2K; Part Number: 98-21675-00; Lote: MU017J; Val.: 01/03/26.

Seletividade

Adição de Padrão em Matriz sem Analito (ALVO)

O comparativo de 2 séries de resultados serve para se verificar 'seletividade/especificidade (interferências)', 'Robustez' e 'Comparar Métodos'. O ensaio foi feito em duplicata, utilizando-se Material de Referência Certificado (MRC) quantitativo. Este comparativo avalia diferenças de variância (precisão) e de exatidão.

(Período: 05/03/24 a 08/03/24)

Teste	ColiControl 100: Substrato e cartela Policontrol	Colilert: Substrato e cartela Quantitay/2000 Idexx
1	180	169
2	166	178
3	178	189
4	169	177
5	191	168
6	166	177
7	178	198
8	159	167
9	188	176
10	190	181

- **ColiControl 100: Substrato e cartela Policontrol:** Média=176.5; DP=11.2; n=10
- **Colilert: Substrato e cartela Quantitay/2000 Idexx:** Média=178; DP=9.65; n=10

F Calc.=1,34 F Tab.=3,18 => **Variâncias semelhantes**

DP Combinado (Pooled)=10.4

t Calc.=0,32 t Tab(9)=2,26 => **Resultados semelhantes**

Notas

- Material de Referência Certificado (MRC): *Klebsiella aerogenes* WDCM 00175 VT001754 Vitroid (130-300 UFC). Marca: Millipore; Lote: BCCJ9058; Val.: 02/25. (2 kits com 10 Vitroid cada).
- Metodologia: de acordo com as instruções do fabricante.
- Incubação durante 24 horas a 35,0 ± 0,5 °C. Leitura das cartelas utilizando o MPN Reader Policontrol.

Produtos utilizados:

- ColiControl 100. Marca: Policontrol; Código: 100.062.0000; Lote: 202401; Val.: 12/24.
- MPN PoliTray. Marca: Policontrol; Código: 100.060.0001; Lote: 8320; Val.: 07/25.
- Colilert. Marca: Idexx; Product Catalog Number: WP200I; Part number: 98-12973-00; Lote: FW610; Val.: 07/07/24.
- Quanty-Tray/2000. Marca: Idexx; Product Catalog Number: WQT-2K; Part Number: 98-21675-00; Lote: MU017J; Val.: 01/03/26.

Adição de Padrão em Matriz sem Analito (NÃO ALVO)

O comparativo de 2 séries de resultados serve para se verificar 'seletividade/especificidade (interferências)', 'Robustez' e 'Comparar Métodos'. O ensaio foi feito em duplicata, utilizando-se Material de Referência Certificado (MRC) quantitativo. Este comparativo avalia diferenças de variância (precisão) e de exatidão.

(Período: 05/03/24 a 08/03/24)

Teste	ColiControl 100: Substrato e cartela Policontrol	Colilert: Substrato e cartela Quantitay/2000 Idexx
1	0	0
2	0	0
3	0	0
4	0	0
5	0	0
6	0	0
7	0	0
8	0	0
9	0	0
10	0	0

- **ColiControl 100: Substrato e cartela Policontrol:** Média=0; DP=0; n=10
- **Colilert: Substrato e cartela Quantitay/2000 Idexx:** Média=0; DP=0; n=10

Notas

- Material de Referência Certificado (MRC): *Enterococcus faecalis* WDCM 00009 VT000096 Vitroid (1.000-10.000 UFC). Marca: Millipore; Lote: BCCL0681; Val.: 10/25. (2 kits com 10 Vitroid cada).
- Metodologia: de acordo com as instruções do fabricante.
- Incubação durante 24 horas a 35,0 ± 0,5 °C. Leitura das cartelas utilizando o MPN Reader Policontrol.

Produtos utilizados:

- ColiControl 100. Marca: Policontrol; Código: 100.062.0000; Lote: 202401; Val.: 12/24.
- MPN PoliTray. Marca: Policontrol; Código: 100.060.0001; Lote: 8320; Val.: 07/25.
- Colilert. Marca: Idexx; Product Catalog Number: WP200I; Part number: 98-12973-00; Lote: FW610; Val.: 07/07/24.
- Quanty-Tray/2000. Marca: Idexx; Product Catalog Number: WQT-2K; Part Number: 98-21675-00; Lote: MU017J; Val.: 01/03/26.

Método: *Escherichia coli* - NMP (CARTELA E SUBSTRATO POLICONTROL)

Ensaio: *Escherichia coli*

Tipo: Método Oficial (Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 24^a Ed. (2023))

Método: 9223-B (Enzyme Substrate Test)

Repetitividade de Ensaio Microbiológico (contagens)

Diversas amostras foram analisadas em duplicatas e foram calculadas as diferenças absolutas dos Logaritmos em base 10 das contagens e a diferença média (em Log). O uso do teste de Dixon garantiu que diferenças muito altas ou baixas não fossem utilizadas no cálculo da diferença média.

Nome do Teste	Número de Testes	Desvio médio dos Logs
NMP (BAIXAS CONTAGENS)	25	0,0849
NMP (MÉDIAS CONTAGENS)	20	0,0583
NMP (ALTAS CONTAGENS)	20	0,0346

Dados Utilizados

(Período: 15/01/24 a 18/01/24)

Teste	Contagem-A	Contagem-B	Log(10) de A	Log(10) de B	Desvio Abs.
1	2,6 X 10 ²	2,4 X 10 ²	2,415	2,380	0,035
2	2,0 X 10 ²	2,3 X 10 ²	2,301	2,362	0,061
3	1,2 X 10 ²	1,0 X 10 ²	2,079	2,000	0,079
4	3,3 X 10 ²	3,6 X 10 ²	2,519	2,556	0,037
5	1,5 X 10 ²	1,7 X 10 ²	2,176	2,230	0,054
6	1,8 X 10 ²	1,9 X 10 ²	2,255	2,279	0,024
7	3,0 X 10 ²	2,7 X 10 ²	2,477	2,431	0,046
8	2,5 X 10 ²	2,1 X 10 ²	2,398	2,322	0,076
9	3,6 X 10 ²	3,9 X 10 ²	2,556	2,591	0,035
10	4,8 X 10 ²	5,3 X 10 ²	2,681	2,724	0,043
11	2,1 X 10 ²	2,6 X 10 ²	2,322	2,415	0,093
12	3,6 X 10 ²	4,1 X 10 ²	2,556	2,613	0,057
13	7,0 X 10 ²	5,9 X 10 ²	2,845	2,771	0,074
14	4,8 X 10 ²	5,5 X 10 ²	2,681	2,740	0,059
15	6,1 X 10 ²	5,4 X 10 ²	2,785	2,732	0,053
16	3,2 X 10 ²	3,7 X 10 ²	2,505	2,568	0,063
17	4,0 X 10 ²	4,4 X 10 ²	2,602	2,643	0,041
18	1,3 X 10 ²	1,5 X 10 ²	2,114	2,176	0,062
19	1,8 X 10 ²	2,2 X 10 ²	2,255	2,342	0,087
20	3,6 X 10 ²	4,4 X 10 ²	2,556	2,643	0,087

Notas

- AMOSTRAS 1 A 10: Água subterrânea
- AMOSTRAS 11 A 20: Água bruta (doce)
- Metodologia: de acordo com as instruções do fabricante.
- Incubação durante 24 horas a 35,0 ± 0,5 °C. Leitura das cartelas utilizando o MPN Reader Policontrol.

Produtos utilizados:

- ColiControl 100. Marca: Policontrol; Código: 100.062.0000; Lote: 202401; Val.: 12/24.
- MPN PoliTray. Marca: Policontrol; Código: 100.060.0001; Lote: 8320; Val.: 07/25.

(Período: 15/01/24 a 18/01/24)

Teste	Contagem-A	Contagem-B	Log(10) de A	Log(10) de B	Desvio Abs.
1	5	6	0,699	0,778	0,079
2	1,2 X 10	1,0 X 10	1,079	1,000	0,079
3	4	6	0,602	0,778	0,176
4	9	1,1 X 10	0,954	1,041	0,087
5	0	0	0,000	0,000	0,000
6	8	7	0,903	0,845	0,058
7	1,2 X 10	1,3 X 10	1,079	1,114	0,035
8	1,7 X 10	2,0 X 10	1,230	1,301	0,071
9	2,0 X 10	1,5 X 10	1,301	1,176	0,125
10	1,6 X 10	1,2 X 10	1,204	1,079	0,125
11	0	0	0,000	0,000	0,000
12	0	0	0,000	0,000	0,000
13	5	5	0,699	0,699	0,000
14	9	1,1 X 10	0,954	1,041	0,087
15	1,1 X 10	8	1,041	0,903	0,138
16	4	6	0,602	0,778	0,176
17	0	0	0,000	0,000	0,000
18	0	0	0,000	0,000	0,000
19	4	2	0,602	0,301	0,301
20	9	5	0,954	0,699	0,255
21	1,2 X 10	1,0 X 10	1,079	1,000	0,079
22	1,5 X 10	1,9 X 10	1,176	1,279	0,103
23	1,3 X 10	1,5 X 10	1,114	1,176	0,062
24	0	0	0,000	0,000	0,000
25	9	1,1 X 10	0,954	1,041	0,087

Notas

- AMOSTRAS 1 A 10: Água subterrânea
- AMOSTRAS 11 A 20: Água bruta (salobra)
- Metodologia: de acordo com as instruções do fabricante.
- Incubação durante 24 horas a $35,0 \pm 0,5$ °C. Leitura das cartelas utilizando o MPN Reader Policontrol.

Produtos utilizados:

- ColiControl 100. Marca: Policontrol; Código: 100.062.0000; Lote: 202401; Val.: 12/24.
- MPN PoliTray. Marca: Policontrol; Código: 100.060.0001; Lote: 8320; Val.: 07/25.

(Período: 15/01/24 a 18/01/24)

Teste	Contagem-A	Contagem-B	Log(10) de A	Log(10) de B	Desvio Abs.
1	5,6 X 10 ⁵	5,9 X 10 ⁵	5,748	5,771	0,023
2	4,0 X 10 ⁵	4,3 X 10 ⁵	5,602	5,633	0,031
3	3,6 X 10 ⁶	3,3 X 10 ⁶	6,556	6,519	0,037
4	2,8 X 10 ⁵	3,1 X 10 ⁵	5,447	5,491	0,044
5	4,9 X 10 ⁵	5,4 X 10 ⁵	5,690	5,732	0,042
6	6,7 X 10 ⁴	6,3 X 10 ⁴	4,826	4,799	0,027
7	8,5 X 10 ⁵	8,0 X 10 ⁵	5,929	5,903	0,026
8	7,4 X 10 ⁶	7,7 X 10 ⁶	6,869	6,886	0,017
9	3,7 X 10 ⁵	3,3 X 10 ⁵	5,568	5,519	0,049
10	8,1 X 10 ⁴	8,8 X 10 ⁴	4,908	4,944	0,036
11	4,4 X 10 ⁶	4,0 X 10 ⁶	6,643	6,602	0,041
12	7,4 X 10 ⁷	6,9 X 10 ⁷	7,869	7,839	0,030
13	6,1 X 10 ⁵	6,7 X 10 ⁵	5,785	5,826	0,041
14	5,6 X 10 ⁷	6,1 X 10 ⁷	7,748	7,785	0,037
15	6,9 X 10 ⁵	7,5 X 10 ⁵	5,839	5,875	0,036
16	7,5 X 10 ⁷	7,0 X 10 ⁷	7,875	7,845	0,030
17	6,9 X 10 ⁵	6,2 X 10 ⁵	5,839	5,792	0,047
18	5,4 X 10 ⁶	5,1 X 10 ⁶	6,732	6,708	0,024
19	5,5 X 10 ⁵	6,0 X 10 ⁵	5,740	5,778	0,038
20	8,9 X 10 ⁶	8,2 X 10 ⁶	6,949	6,914	0,035

Notas

- AMOSTRAS 1 A 10: Efluente industrial
- AMOSTRAS 11 A 20: Efluente doméstico
- Metodologia: de acordo com as instruções do fabricante.
- Incubação durante 24 horas a 35,0 ± 0,5 °C. Leitura das cartelas utilizando o MPN Reader Policontrol.

Produtos utilizados:

- ColiControl 100. Marca: Policontrol; Código: 100.062.0000; Lote: 202401; Val.: 12/24.
- MPN PoliTray. Marca: Policontrol; Código: 100.060.0001; Lote: 8320; Val.: 07/25.

Limites de Quantificação (LQ)

Foi feita adição de padrão (Spike) em concentração baixa utilizando Material de Referência Certificado (MRC) quantitativo em matriz isenta do analito. Esta amostra foi analisada 10 vezes. O LQ foi atribuído considerando a positividade de uma única célula da cartela multiplicado pela diluição seriada do MRC até a menor concentração cultivável possível (1 UFC) .

Tipo de Testes: Spikes em baixa concentração.

LQ: 1 NMP/100mL.

Dados (Período: 04/01/24 a 08/01/24)

Medições	Conc. Adic.	Conc. Inicial	Res. 1	Res. 2	Res. 3	Res. 4	Res. 5	Res. 6	Res. 7	Res. 8	Res. 9	Res. 10
Teste	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Comparativo de Métodos

Uma série de amostras diferentes foi analisada simultaneamente por 2 métodos diferentes. As diferenças entre os resultados são comparadas através de teste *t* com a hipótese de serem próximas de zero, o que indica métodos com resultados semelhantes.

(Período: 03/01/24 a 06/01/24)

Teste	Amostra	ColiControl 100: Substrato e cartela Policontrol	Collert: Substrato e cartela Quantitay/2000 Idexx	Diferença
1	Efluente doméstico	8,8 X 10 ⁴	9,0 X 10 ⁴	-0.2000
2	Efluente doméstico	6,0 X 10 ³	5,6 X 10 ³	0.4000
3	Efluente doméstico	7,5 X 10 ⁴	7,0 X 10 ⁴	0.5000
4	Efluente doméstico	6,6 X 10 ⁵	6,9 X 10 ⁵	-0.3000
5	Efluente doméstico	5,6 X 10 ⁴	5,0 X 10 ⁴	0.6000
6	Efluente doméstico	4,4 X 10 ⁵	4,2 X 10 ⁵	0.2000
7	Efluente doméstico	7,4 X 10 ⁶	7,7 X 10 ⁶	-0.3000
8	Efluente doméstico	8,9 X 10 ⁴	9,2 X 10 ⁴	-0.3000
9	Efluente doméstico	3,7 X 10 ⁵	3,4 X 10 ⁵	0.3000
10	Efluente doméstico	5,8 X 10 ⁴	5,3 X 10 ⁴	0.5000
11	Efluente doméstico	4,5 X 10 ⁶	4,0 X 10 ⁶	0.5000
12	Efluente doméstico	6,9 X 10 ⁴	7,1 X 10 ⁴	-0.2000
13	Efluente doméstico	4,9 X 10 ⁴	5,0 X 10 ⁴	-0.1000
14	Efluente doméstico	2,3 X 10 ⁶	2,6 X 10 ⁶	-0.3000
15	Efluente doméstico	8,1 X 10 ⁵	7,5 X 10 ⁵	0.6000
16	Efluente doméstico	7,4 X 10 ⁴	7,0 X 10 ⁴	0.4000
17	Efluente doméstico	6,5 X 10 ⁵	6,9 X 10 ⁵	-0.4000
18	Efluente doméstico	2,9 X 10 ⁴	3,2 X 10 ⁴	-0.3000
19	Efluente doméstico	6,3 X 10 ⁶	6,6 X 10 ⁶	-0.3000
20	Efluente industrial	5,8 X 10 ⁵	5,2 X 10 ⁵	0.6000
21	Efluente industrial	9,2 X 10 ⁴	8,9 X 10 ⁴	0.3000
22	Efluente industrial	6,3 X 10 ⁶	6,6 X 10 ⁶	-0.3000
23	Efluente industrial	5,8 X 10 ⁴	5,3 X 10 ⁴	0.5000
24	Efluente industrial	5,5 X 10 ⁴	5,0 X 10 ⁴	0.5000
25	Efluente industrial	2,7 X 10 ⁵	2,9 X 10 ⁵	-0.2000
26	Efluente industrial	7,7 X 10 ⁴	7,2 X 10 ⁴	0.5000
27	Efluente industrial	9,1 X 10 ⁶	9,3 X 10 ⁶	-0.2000
28	Efluente industrial	6,9 X 10 ⁴	7,3 X 10 ⁴	-0.4000
29	Efluente industrial	5,7 X 10 ⁴	6,1 X 10 ⁴	-0.4000
30	Efluente industrial	8,4 X 10 ⁶	8,8 X 10 ⁶	-0.4000
31	Efluente industrial	8,8 X 10 ⁵	9,2 X 10 ⁵	-0.4000
32	Efluente industrial	6,9 X 10 ⁴	6,1 X 10 ⁴	0.8000
33	Efluente industrial	5,2 X 10 ⁴	4,7 X 10 ⁴	0.5000
34	Efluente industrial	8,7 X 10 ⁵	9,0 X 10 ⁵	-0.3000
35	Efluente industrial	0	0	0
36	Efluente industrial	0	0	0
37	Efluente industrial	6,9 X 10 ⁴	6,2 X 10 ⁴	0.7000
38	Efluente industrial	5,2 X 10 ⁶	5,5 X 10 ⁶	-0.3000
39	Efluente industrial	4,8 X 10 ⁵	4,2 X 10 ⁵	0.6000
40	Efluente industrial	0	0	0
41	Água bruta (salobra)	3,5 X 10 ²	4,0 X 10 ²	-0.5000
42	Água bruta (salobra)	6,9 X 10 ²	5,5 X 10 ²	1.400
43	Água bruta (salobra)	7,4 X 10 ²	7,9 X 10 ²	-0.5000
44	Água bruta (salobra)	8,5 X 10 ²	8,1 X 10 ²	0.4000

Teste	Amostra	ColiControl 100: Substrato e cartela Policontrol	Colilert: Substrato e cartela Quantitay/2000 Idexx	Diferença
45	Água bruta (salobra)	1,2 X 10 ³	1,5 X 10 ²	-0.3000
46	Água bruta (salobra)	6,9 X 10 ²	6,0 X 10 ²	0.9000
47	Água bruta (salobra)	0	0	0
48	Água bruta (salobra)	0	0	0
49	Água bruta (salobra)	1,2 X 10 ²	1,4 X 10 ²	-0.2000
50	Água bruta (salobra)	4,6 X 10 ²	5,5 X 10 ²	-0.9000
51	Água bruta (salobra)	9,8 X 10 ²	1,1 X 10 ³	8.700-Dixon
52	Água bruta (salobra)	7,4 X 10 ²	8,0 X 10 ²	-0.6000
53	Água bruta (salobra)	8,8 X 10 ²	7,7 X 10 ²	1.100
54	Água bruta (salobra)	0	0	0
55	Água bruta (salobra)	1,3 X 10 ²	1,1 X 10 ²	0.2000
56	Água bruta (salobra)	6,3 X 10 ²	7,1 X 10 ²	-0.8000
57	Água bruta (salobra)	6,6 X 10 ²	6,0 X 10 ²	0.6000
58	Água bruta (salobra)	0	0	0
59	Água bruta (salobra)	0	0	0
60	Água bruta (salobra)	8,5 X 10 ²	9,0 X 10 ²	-0.5000
61	Água bruta (rio)	7,1 X 10 ²	6,8 X 10 ²	0.3000
62	Água bruta (rio)	4,6 X 10 ²	5,1 X 10 ²	-0.5000
63	Água bruta (rio)	5,5 X 10 ²	5,0 X 10 ²	0.5000
64	Água bruta (rio)	0	0	0
65	Água bruta (rio)	0	0	0
66	Água bruta (rio)	9,6 X 10 ²	1,1 X 10 ³	8.500-Dixon
67	Água bruta (rio)	1,2 X 10 ²	1,0 X 10 ²	0.2000
68	Água bruta (rio)	8,2 X 10 ³	7,5 X 10 ²	0.7000
69	Água bruta (rio)	6,3 X 10 ²	7,0 X 10 ²	-0.7000
70	Água bruta (rio)	7,4 X 10 ²	6,4 X 10 ²	1
71	Água bruta (rio)	0	0	0
72	Água bruta (rio)	8,9 X 10 ²	9,5 X 10 ²	-0.6000
73	Água bruta (rio)	1,2 X 10 ³	2,5 X 10 ³	-1.300
74	Água bruta (rio)	3,9 X 10 ²	3,0 X 10 ²	0.9000
75	Água bruta (rio)	0	0	0
76	Água bruta (rio)	8,1 X 10 ²	8,0 X 10 ²	0.1000
77	Água bruta (rio)	1,4 X 10 ³	1,1 X 10 ³	0.3000
78	Água bruta (rio)	0	0	0
79	Água bruta (rio)	9,0 X 10 ²	8,5 X 10 ²	0.5000
80	Água bruta (rio)	4,1 X 10 ²	4,5 X 10 ²	-0.4000

Diferença Média=0.06026; DP=0.504; n=78.

A Faixa das diferenças (Média $\pm$ t * DP / Raiz(n)) deve incluir zero.

Métodos Equivalentes. Faixa das diferenças: -0.0539 a 0.174.

t Crítico=2,00; t Calculado=1,06. Correlação=0

Notas

- Metodologia: de acordo com as instruções do fabricante.
- Incubação durante 24 horas a 35,0 $\pm$ 0,5 °C. Leitura das cartelas utilizando o MPN Reader Policontrol.

Produtos utilizados:

- ColiControl 100. Marca: Policontrol; Código: 100.062.0000; Lote: 202401; Val.: 12/24.
- MPN PoliTray. Marca: Policontrol; Código: 100.060.0001; Lote: 8320; Val.: 07/25.
- Colilert. Marca: Idexx; Product Catalog Number: WP200I; Part number: 98-12973-00; Lote: FW610; Val.: 07/07/24.
- Quanty-Tray/2000. Marca: Idexx; Product Catalog Number: WQT-2K; Part Number: 98-21675-00; Lote: MU017J; Val.: 01/03/26.

Seletividade

Adição de Padrão em Matriz sem Analito (ALVO)

O comparativo de 2 séries de resultados serve para se verificar 'seletividade/especificidade (interferências)', 'Robustez' e 'Comparar Métodos'. O ensaio foi feito em duplicata, utilizando-se Material de Referência Certificado (MRC) quantitativo. Este comparativo avalia diferenças de variância (precisão) e de exatidão.

(Período: 05/03/24 a 08/03/24)

Teste	ColiControl 100: Substrato e cartela Policontrol	Colilert: Substrato e cartela Quantitay/2000 Idexx
1	66	69
2	58	66
3	69	56
4	50	55
5	58	50
6	63	60
7	54	56
8	50	70
9	65	66
10	61	77

- **ColiControl 100: Substrato e cartela Policontrol:** Média=59.40; DP=6.60; n=10
- **Colilert: Substrato e cartela Quantitay/2000 Idexx:** Média=62.50; DP=8.41; n=10

F Calc.=1,62 F Tab.=3,18 => **Variâncias semelhantes**

DP Combinado (Pooled)=7.56

t Calc.=0,92 t Tab(9)=2,26 => **Resultados semelhantes**

Notas

- Material de Referência Certificado (MRC): *Escherichia coli* WDCM 00090 VT000902 Vitroid (15-80 UFC). Marca: Millipore; Lote: BCCL2400; Val.: 12/25 (2 kits com 10 Vitroid cada).
- Metodologia: de acordo com as instruções do fabricante.
- Incubação durante 24 horas a 35,0 ± 0,5 °C. Leitura das cartelas utilizando o MPN Reader Policontrol.

Produtos utilizados:

- ColiControl 100. Marca: Policontrol; Código: 100.062.0000; Lote: 202401; Val.: 12/24.
- MPN PoliTray. Marca: Policontrol; Código: 100.060.0001; Lote: 8320; Val.: 07/25.
- Colilert. Marca: Idexx; Product Catalog Number: WP200I; Part number: 98-12973-00; Lote: FW610; Val.: 07/07/24.
- Quanty-Tray/2000. Marca: Idexx; Product Catalog Number: WQT-2K; Part Number: 98-21675-00; Lote: MU017J; Val.: 01/03/26.

Adição de Padrão em Matriz sem Analito (NÃO ALVO)

O comparativo de 2 séries de resultados serve para se verificar 'seletividade/especificidade (interferências)', 'Robustez' e 'Comparar Métodos'. O ensaio foi feito em duplicata, utilizando-se Material de Referência Certificado (MRC) quantitativo. Este comparativo avalia diferenças de variância (precisão) e de exatidão.

(Período: 05/03/24 a 08/03/24)

Teste	ColiControl 100: Substrato e cartela Policontrol	Colilert: Substrato e cartela Quantitay/2000 Idexx
1	0	0
2	0	0
3	0	0
4	0	0
5	0	0
6	0	0
7	0	0
8	0	0
9	0	0
10	0	0

- **ColiControl 100: Substrato e cartela Policontrol:** Média=0; DP=0; n=10
- **Colilert: Substrato e cartela Quantitay/2000 Idexx:** Média=0; DP=0; n=10

Notas

- Material de Referência Certificado (MRC): *Enterococcus faecalis* WDCM 00009 VT000096 Vitroid (1.000-10.000 UFC). Marca: Millipore; Lote: BCCL0681; Val.: 10/25. (2 kits com 10 Vitroid cada).
- Metodologia: de acordo com as instruções do fabricante.
- Incubação durante 24 horas a 35,0 ± 0,5 °C. Leitura das cartelas utilizando o MPN Reader Policontrol.

Produtos utilizados:

- ColiControl 100. Marca: Policontrol; Código: 100.062.0000; Lote: 202401; Val.: 12/24.
- MPN PoliTray. Marca: Policontrol; Código: 100.060.0001; Lote: 8320; Val.: 07/25.
- Colilert. Marca: Idexx; Product Catalog Number: WP200I; Part number: 98-12973-00; Lote: FW610; Val.: 07/07/24.
- Quanty-Tray/2000. Marca: Idexx; Product Catalog Number: WQT-2K; Part Number: 98-21675-00; Lote: MU017J; Val.: 01/03/26.

Método: COLIFORMES TOTAIS - PRESENÇA/AUSÊNCIA (SUBSTRATO ENZIMÁTICO)

Ensaio: COLIFORMES TOTAIS

Tipo: Método Oficial (Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 24^a Ed. (2023))

Método: 9223-B (Enzyme Substrate Test)

Repetitividade de Ensaio Microbiológico (contagens)

Diversas amostras foram analisadas em duplicatas e foram calculadas as diferenças absolutas dos Logaritmos em base 10 das contagens e a diferença média (em Log). O uso do teste de Dixon garantiu que diferenças muito altas ou baixas não fossem utilizadas no cálculo da diferença média.

Para os resultados dos ensaios de PRESENÇA/AUSÊNCIA foram atribuídos os valores 10 e 100 para os resultados de AUSÊNCIA e PRESENÇA, respectivamente, obtendo-se o desvio absoluto em cada teste.

Nome do Teste	Número de Testes	Desvio médio dos Logs
Presença/Ausência	50	0,040

Dados Utilizados

(Período: 09/01/24 a 12/01/24)

Teste	Contagem-A	Contagem-B	Log(10) de A	Log(10) de B	Desvio Abs.
1	100	100	2,000	2,000	0,000
2	100	100	2,000	2,000	0,000
3	100	100	2,000	2,000	0,000
4	10	10	1,000	1,000	0,000
5	10	10	1,000	1,000	0,000
6	100	100	2,000	2,000	0,000
7	10	10	1,000	1,000	0,000
8	100	100	2,000	2,000	0,000
9	100	100	2,000	2,000	0,000
10	10	10	1,000	1,000	0,000
11	100	100	2,000	2,000	0,000
12	100	100	2,000	2,000	0,000
13	100	100	2,000	2,000	0,000
14	100	100	2,000	2,000	0,000
15	10	10	1,000	1,000	0,000
16	100	100	2,000	2,000	0,000
17	10	10	1,000	1,000	0,000
18	10	10	1,000	1,000	0,000
19	10	10	1,000	1,000	0,000
20	100	100	2,000	2,000	0,000
21	100	100	2,000	2,000	0,000
22	100	100	2,000	2,000	0,000
23	10	10	1,000	1,000	0,000
24	100	100	2,000	2,000	0,000
25	100	100	2,000	2,000	0,000
26	100	100	2,000	2,000	0,000
27	100	100	2,000	2,000	0,000
28	10	10	1,000	1,000	0,000
29	10	10	1,000	1,000	0,000
30	10	10	1,000	1,000	0,000
31	100	100	2,000	2,000	0,000
32	10	10	1,000	1,000	0,000
33	100	100	2,000	2,000	0,000

Teste	Contagem-A	Contagem-B	Log(10) de A	Log(10) de B	Desvio Abs.
34	100	100	2,000	2,000	0,000
35	100	100	2,000	2,000	0,000
36	100	100	2,000	2,000	0,000
37	100	100	2,000	2,000	0,000
38	10	10	1,000	1,000	0,000
39	10	10	1,000	1,000	0,000
40	100	100	2,000	2,000	0,000
41	10	10	1,000	1,000	0,000
42	100	100	2,000	2,000	0,000
43	10	10	1,000	1,000	0,000
44	100	100	2,000	2,000	0,000
45	10	10	1,000	1,000	0,000
46	10	10	1,000	1,000	0,000
47	100	100	2,000	2,000	0,000
48	100	100	2,000	2,000	0,000
49	100	100	2,000	2,000	0,000
50	100	100	2,000	2,000	0,000

Notas

- Amostras: Água potável
- Metodologia: de acordo com as instruções do fabricante, baseada no Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 24ª Ed., 2023 (método 9223).
- Incubação durante 24 horas a $35,0 \pm 0,5$ °C.

Produtos utilizados:

- ColiControl 100. Marca: Policontrol; Código: 100.062.0000; Lote: 202401; Val.: 12/24.
- Colilert. Marca: Idexx; Product Catalog Number: WP200I; Part number: 98-12973-00; Lote: FW610; Val.: 07/07/24.

Limites de Quantificação (LQ)

Foi feita adição de padrão (Spike) em concentração baixa utilizando Material de Referência Certificado (MRC) quantitativo em matriz isenta do analito. Esta amostra foi analisada 10 vezes. O LQ foi atribuído considerando a positividade de uma única célula da cartela multiplicado pela diluição seriada do MRC até a menor concentração cultivável possível (1 UFC) .

Tipo de Testes: Spikes em baixa concentração.

LQ: 1 UFC/100mL.

Dados (Período: 09/01/24 a 12/01/24)

Medições	Conc. Adic.	Conc. Inicial	Res. 1	Res. 2	Res. 3	Res. 4	Res. 5	Res. 6	Res. 7	Res. 8	Res. 9	Res. 10
Teste	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Comparativo de Métodos

Uma série de amostras diferentes foi analisada simultaneamente por 2 métodos diferentes. As diferenças entre os resultados são comparadas através de teste *t* com a hipótese de serem próximas de zero, o que indica métodos com resultados semelhantes.

Para os resultados dos ensaios de PRESENÇA/AUSÊNCIA foram atribuídos os valores 10 e 100 para os resultados de AUSÊNCIA e PRESENÇA, respectivamente, obtendo-se o desvio absoluto em cada teste.

(Período:09/01/24 a 12/01/24)

Teste	Amostra	ColiControl 100 (Policontrol)	Colilert (Idexx)	Diferença
1	Água potável	10	10	0
2	Água potável	10	10	0
3	Água potável	10	10	0
4	Água potável	100	100	0
5	Água potável	10	100	-90
6	Água potável	10	10	0
7	Água potável	10	10	0
8	Água potável	100	10	90
9	Água potável	10	10	0
10	Água potável	10	10	0
11	Água potável	10	10	0
12	Água potável	100	100	0
13	Água potável	100	10	90
14	Água potável	10	10	0
15	Água potável	100	100	0
16	Água potável	100	100	0
17	Água potável	100	10	90
18	Água potável	10	10	0
19	Água potável	10	10	0
20	Água potável	100	100	0
21	Água potável	10	10	0
22	Água potável	10	10	0
23	Água potável	10	10	0
24	Água potável	100	100	0
25	Água potável	10	10	0
26	Água potável	100	100	0
27	Água potável	100	100	0
28	Água potável	10	100	-90
29	Água potável	10	10	0
30	Água potável	10	10	0
31	Água subterrânea	10	10	0
32	Água subterrânea	100	100	0
33	Água subterrânea	10	10	0
34	Água subterrânea	10	10	0
35	Água subterrânea	100	100	0
36	Água subterrânea	10	10	0
37	Água subterrânea	10	10	0
38	Água subterrânea	100	10	90
39	Água subterrânea	10	10	0
40	Água subterrânea	10	10	0
41	Água subterrânea	10	10	0
42	Água subterrânea	10	10	0
43	Água subterrânea	10	10	0
44	Água subterrânea	100	100	0

Teste	Amostra	ColiControl 100 (Policontrol)	Colilert (Idexx)	Diferença
45	Água subterrânea	10	10	0
46	Água subterrânea	10	10	0
47	Água subterrânea	10	10	0
48	Água subterrânea	100	10	90
49	Água subterrânea	100	10	90
50	Água subterrânea	100	100	0
51	Água subterrânea	10	10	0
52	Água subterrânea	100	100	0
53	Água subterrânea	10	10	0
54	Água subterrânea	10	10	0
55	Água subterrânea	10	100	-90
56	Água subterrânea	10	10	0
57	Água subterrânea	100	100	0
58	Água subterrânea	10	10	0
59	Água subterrânea	100	10	90
60	Água subterrânea	10	100	-90

Diferença Média=4.500; DP=38.6; n=60.

A Faixa das diferenças (Média $\pm$ t * DP / Raiz(n)) deve incluir zero.

Métodos Equivalentes. Faixa das diferenças: -5.57 a 14.6.

t Crítico=2,02; t Calculado=0,90. Correlação=0.5871

Notas

- Metodologia: de acordo com as instruções do fabricante, baseada no Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 24ª Ed., 2023 (método 9223).
- Incubação durante 24 horas a 35,0 $\pm$ 0,5 °C.

Produtos utilizados:

- ColiControl 100. Marca: Policontrol; Código: 100.062.0000; Lote: 202401; Val.: 12/24.

- Colilert. Marca: Idexx; Product Catalog Number: WP200I; Part number: 98-12973-00; Lote: FW610; Val.: 07/07/24.

Seletividade

Adição de Padrão em Matriz sem Analito (ALVO)

O comparativo de 2 séries de resultados serve para se verificar 'seletividade/especificidade (interferências)', 'Robustez' e 'Comparar Métodos'. O ensaio foi feito em duplicata, utilizando-se Material de Referência Certificado (MRC) quantitativo. Este comparativo avalia diferenças de variância (precisão) e de exatidão.

Para os resultados dos ensaios de PRESENÇA/AUSÊNCIA foram atribuídos os valores 10 e 100 para os resultados de AUSÊNCIA e PRESENÇA, respectivamente.

(Período: 05/03/24 a 08/03/24)

Teste	ColiControl 100: Substrato Policontrol	Colilert: Substrato Idexx
1	100	100
2	100	100
3	100	100
4	100	100
5	100	100
6	100	100
7	100	100
8	100	100
9	100	100
10	100	100

- **ColiControl 100: Substrato Policontrol:** Média=100; DP=0; n=10
- **Colilert: Substrato Idexx:** Média=100; DP=0; n=10

Notas

- Material de Referência Certificado (MRC): *Klebsiella aerogenes* WDCM 00175 VT001754 Vitroid (130-300 UFC).
Marca: Millipore; Lote: BCCJ9058; Val.: 02/25. (2 kits com 10 Vitroid cada).
- 10 = resultado negativo; 100 = resultado positivo.
- Metodologia: de acordo com as instruções do fabricante.
- Incubação durante 24 horas a 35,0 ± 0,5 °C.

Produtos utilizados:

- ColiControl 100. Marca: Policontrol; Código: 100.062.0000; Lote: 202401; Val.: 12/24.
- Colilert. Marca: Idexx; Product Catalog Number: WP200I; Part number: 98-12973-00; Lote: FW610; Val.: 07/07/24.

Adição de Padrão em Matriz sem Analito (NÃO ALVO)

O comparativo de 2 séries de resultados serve para se verificar 'seletividade/especificidade (interferências)', 'Robustez' e 'Comparar Métodos'. O ensaio foi feito em duplicata, utilizando-se Material de Referência Certificado (MRC) quantitativo. Este comparativo avalia diferenças de variância (precisão) e de exatidão.

Para os resultados dos ensaios de PRESENÇA/AUSÊNCIA foram atribuídos os valores 10 e 100 para os resultados de AUSÊNCIA e PRESENÇA, respectivamente.

(Período: 05/03/24 a 08/03/24)

Teste	ColiControl 100: Substrato Policontrol	Colilert: Substrato Idexx
1	10	10
2	10	10
3	10	10
4	10	10
5	10	10
6	10	10
7	10	10
8	10	10
9	10	10
10	10	10

- **ColiControl 100: Substrato Policontrol:** Média=10; DP=0; n=10
- **Colilert: Substrato Idexx:** Média=10; DP=0; n=10

Notas

- Material de Referência Certificado (MRC): *Enterococcus faecalis* WDCM 00009 VT000096 Vitroid (1.000-10.000 UFC).
Marca: Millipore; Lote: BCCL0681; Val.: 10/25. (2 kits com 10 Vitroid cada).
- 10 = resultado negativo; 100 = resultado positivo.
- Metodologia: de acordo com as instruções do fabricante.
- Incubação durante 24 horas a 35,0 ± 0,5 °C.

Produtos utilizados:

- ColiControl 100. Marca: Policontrol; Código: 100.062.0000; Lote: 202401; Val.: 12/24.
- Colilert. Marca: Idexx; Product Catalog Number: WP200I; Part number: 98-12973-00; Lote: FW610; Val.: 07/07/24.

Método: *Escherichia coli* - PRESENÇA/AUSÊNCIA (SUBSTRATO ENZIMÁTICO)

Ensaio: *Escherichia coli*

Tipo: Método Oficial (Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 24^a Ed. (2023))

Método: 9223-B (Enzyme Substrate Test)

Repetitividade de Ensaio Microbiológico (contagens)

Diversas amostras foram analisadas em duplicatas e foram calculadas as diferenças absolutas dos Logaritmos em base 10 das contagens e a diferença média (em Log). O uso do teste de Dixon garantiu que diferenças muito altas ou baixas não fossem utilizadas no cálculo da diferença média.

Para os resultados dos ensaios de PRESENÇA/AUSÊNCIA foram atribuídos os valores 10 e 100 para os resultados de AUSÊNCIA e PRESENÇA, respectivamente, obtendo-se o desvio absoluto em cada teste.

Nome do Teste	Número de Testes	Desvio médio dos Logs
Presença/Ausência	50	0

Dados Utilizados

(Período: 09/01/24 a 12/01/24)

Teste	Contagem-A	Contagem-B	Log(10) de A	Log(10) de B	Desvio Abs.
1	10	10	1,000	1,000	0,000
2	10	10	1,000	1,000	0,000
3	100	100	2,000	2,000	0,000
4	100	100	2,000	2,000	0,000
5	10	10	1,000	1,000	0,000
6	10	10	1,000	1,000	0,000
7	100	100	2,000	2,000	0,000
8	100	100	2,000	2,000	0,000
9	10	10	1,000	1,000	0,000
10	10	10	1,000	1,000	0,000
11	100	100	2,000	2,000	0,000
12	100	100	2,000	2,000	0,000
13	10	10	1,000	1,000	0,000
14	10	10	1,000	1,000	0,000
15	10	10	1,000	1,000	0,000
16	100	100	2,000	2,000	0,000
17	100	100	2,000	2,000	0,000
18	10	10	1,000	1,000	0,000
19	10	10	1,000	1,000	0,000
20	100	100	2,000	2,000	0,000
21	100	100	2,000	2,000	0,000
22	10	10	1,000	1,000	0,000
23	10	10	1,000	1,000	0,000
24	10	10	1,000	1,000	0,000
25	100	100	2,000	2,000	0,000
26	10	10	1,000	1,000	0,000
27	100	100	2,000	2,000	0,000
28	10	10	1,000	1,000	0,000
29	10	10	1,000	1,000	0,000
30	10	10	1,000	1,000	0,000
31	100	100	2,000	2,000	0,000
32	10	10	1,000	1,000	0,000
33	10	10	1,000	1,000	0,000
34	10	10	1,000	1,000	0,000

Teste	Contagem-A	Contagem-B	Log(10) de A	Log(10) de B	Desvio Abs.
35	100	100	2,000	2,000	0,000
36	100	100	2,000	2,000	0,000
37	100	100	2,000	2,000	0,000
38	100	100	2,000	2,000	0,000
39	10	10	1,000	1,000	0,000
40	10	10	1,000	1,000	0,000
41	100	100	2,000	2,000	0,000
42	100	100	2,000	2,000	0,000
43	10	10	1,000	1,000	0,000
44	10	10	1,000	1,000	0,000
45	10	10	1,000	1,000	0,000
46	10	10	1,000	1,000	0,000
47	10	10	1,000	1,000	0,000
48	100	100	2,000	2,000	0,000
49	100	100	2,000	2,000	0,000
50	10	10	1,000	1,000	0,000

Notas

- Amostras: Água potável
- Metodologia: de acordo com as instruções do fabricante, baseada no Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 24^a Ed., 2023 (método 9223).
- Incubação durante 24 horas a 35,0 ± 0,5 °C.

Produtos utilizados:

- ColiControl 100. Marca: Policontrol; Código: 100.062.0000; Lote: 202401; Val.: 12/24.
- Colilert. Marca: Idexx; Product Catalog Number: WP200I; Part number: 98-12973-00; Lote: FW610; Val.: 07/07/24.

Limites de Quantificação (LQ)

Foi feita adição de padrão (Spike) em concentração baixa utilizando Material de Referência Certificado (MRC) quantitativo em matriz isenta do analito. Esta amostra foi analisada 10 vezes. O LQ foi atribuído considerando a positividade de uma única célula da cartela multiplicado pela diluição seriada do MRC até a menor concentração cultivável possível (1 UFC) .

Tipo de Testes: Spikes em baixa concentração.

LQ: 1 UFC/100mL.

Dados (Período: 09/01/24 a 12/01/24)

Medições	Conc. Adic.	Conc. Inicial	Res. 1	Res. 2	Res. 3	Res. 4	Res. 5	Res. 6	Res. 7	Res. 8	Res. 9	Res. 10
Teste	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Comparativo de Métodos

Uma série de amostras diferentes foi analisada simultaneamente por 2 métodos diferentes. As diferenças entre os resultados são comparadas através de teste *t* com a hipótese de serem próximas de zero, o que indica métodos com resultados semelhantes.

(Período:09/01/24 a 12/01/24)

Teste	Amostra	ColiControl 100 (Policontrol)	Colilert (Idexx)	Diferença
1	Água potável	10	10	0
2	Água potável	10	10	0
3	Água potável	100	100	0
4	Água potável	10	10	0
5	Água potável	10	10	0
6	Água potável	10	100	-90
7	Água potável	100	100	0
8	Água potável	10	100	-90
9	Água potável	10	100	-90
10	Água potável	10	10	0
11	Água potável	10	10	0
12	Água potável	10	10	0
13	Água potável	100	100	0
14	Água potável	100	100	0
15	Água potável	10	100	-90
16	Água potável	10	10	0
17	Água potável	100	100	0
18	Água potável	10	100	-90
19	Água potável	10	10	0
20	Água potável	10	10	0
21	Água potável	100	100	0
22	Água potável	100	10	90
23	Água potável	100	100	0
24	Água potável	100	100	0
25	Água potável	100	10	90
26	Água potável	100	100	0
27	Água potável	10	10	0
28	Água potável	10	10	0
29	Água potável	10	10	0
30	Água potável	10	100	-90
31	Água potável	10	10	0
32	Água potável	100	100	0
33	Água potável	10	100	-90
34	Água potável	10	10	0
35	Água potável	100	100	0
36	Água potável	10	10	0
37	Água potável	10	10	0
38	Água potável	10	10	0
39	Água potável	10	10	0
40	Água potável	10	100	-90
41	Água potável	100	100	0
42	Água potável	100	10	90
43	Água potável	100	100	0
44	Água potável	10	100	-90
45	Água potável	10	10	0
46	Água potável	100	100	0
47	Água potável	100	100	0

Teste	Amostra	ColiControl 100 (Policontrol)	Colilert (Idexx)	Diferença
48	Água potável	10	10	0
49	Água potável	10	10	0
50	Água potável	10	10	0
51	Água subterrânea	100	10	90
52	Água subterrânea	10	10	0
53	Água subterrânea	10	100	-90
54	Água subterrânea	10	10	0
55	Água subterrânea	100	10	90
56	Água subterrânea	10	10	0
57	Água subterrânea	100	100	0
58	Água subterrânea	100	100	0
59	Água subterrânea	100	100	0
60	Água subterrânea	100	100	0
61	Água subterrânea	10	10	0
62	Água subterrânea	10	100	-90
63	Água subterrânea	10	10	0
64	Água subterrânea	100	10	90
65	Água subterrânea	10	100	-90
66	Água subterrânea	100	100	0
67	Água subterrânea	10	10	0
68	Água subterrânea	10	10	0
69	Água subterrânea	10	10	0
70	Água subterrânea	100	100	0
71	Água subterrânea	100	100	0
72	Água subterrânea	10	10	0
73	Água subterrânea	10	10	0
74	Água subterrânea	10	10	0
75	Água subterrânea	10	10	0
76	Água subterrânea	100	100	0
77	Água subterrânea	10	10	0
78	Água subterrânea	10	10	0
79	Água subterrânea	100	100	0
80	Água subterrânea	10	100	-90
81	Água subterrânea	100	100	0
82	Água subterrânea	100	10	90
83	Água subterrânea	100	10	90
84	Água subterrânea	100	100	0
85	Água subterrânea	10	10	0
86	Água subterrânea	10	10	0
87	Água subterrânea	10	10	0
88	Água subterrânea	10	10	0
89	Água subterrânea	10	10	0
90	Água subterrânea	10	10	0
91	Água subterrânea	100	100	0
92	Água subterrânea	10	10	0
93	Água subterrânea	10	10	0
94	Água subterrânea	10	100	-90
95	Água subterrânea	100	10	90
96	Água subterrânea	100	100	0
97	Água subterrânea	10	10	0
98	Água subterrânea	10	10	0
99	Água subterrânea	100	10	90
100	Água subterrânea	10	100	-90

Diferença Média=-4.500; DP=45; n=;100.

A Faixa das diferenças (Média $\pm$ t * DP / Raiz(n)) deve incluir zero.

Métodos Equivalentes. Faixa das diferenças: -13.5 a 4.50.

t Crítico=2,00; t Calculado=-1,00. Correlação=0.4852

Notas

- Metodologia: de acordo com as instruções do fabricante, baseada no Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 24ª Ed., 2023 (método 9223).
- Incubação durante 24 horas a 35,0 $\pm$ 0,5 °C.

Produtos utilizados:

- ColiControl 100. Marca: Policontrol; Código: 100.062.0000; Lote: 202401; Val.: 12/24.
- Colilert. Marca: Idexx; Product Catalog Number: WP200I; Part number: 98-12973-00; Lote: FW610; Val.: 07/07/24.

Seletividade

Adição de Padrão em Matriz sem Analito (ALVO)

O comparativo de 2 séries de resultados serve para se verificar 'seletividade/especificidade (interferências)', 'Robustez' e 'Comparar Métodos'. O ensaio foi feito em duplicata, utilizando-se Material de Referência Certificado (MRC) quantitativo. Este comparativo avalia diferenças de variância (precisão) e de exatidão.

Para os resultados dos ensaios de PRESENÇA/AUSÊNCIA foram atribuídos os valores 10 e 100 para os resultados de AUSÊNCIA e PRESENÇA, respectivamente.

(Período:05/03/24 a 08/03/24)

Teste	ColiControl 100: Substrato Policontrol	Colilert: Substrato Idexx
1	100	100
2	100	100
3	100	100
4	100	100
5	100	100
6	100	100
7	100	100
8	100	100
9	100	100
10	100	100

- **ColiControl 100: Substrato Policontrol:** Média=100; DP=0; n=10
- **Colilert: Substrato Idexx:** Média=100; DP=0; n=10

Notas

- Material de Referência Certificado (MRC): *Escherichia coli* WDCM 00090 VT000902 Vitroid (15-80 UFC). Marca: Millipore; Lote: BCCL2400; Val.: 12/25 (2 kits com 10 Vitroid cada).
- 10 = resultado negativo; 100 = resultado positivo.
- Metodologia: de acordo com as instruções do fabricante.
- Incubação durante 24 horas a 35,0 ± 0,5 °C.

Produtos utilizados:

- ColiControl 100. Marca: Policontrol; Código: 100.062.0000; Lote: 202401; Val.: 12/24.
- Colilert. Marca: Idexx; Product Catalog Number: WP200I; Part number: 98-12973-00; Lote: FW610; Val.: 07/07/24.

Adição de Padrão em Matriz sem Analito (NÃO ALVO)

O comparativo de 2 séries de resultados serve para se verificar 'seletividade/especificidade (interferências)', 'Robustez' e 'Comparar Métodos'. O ensaio foi feito em duplicata, utilizando-se Material de Referência Certificado (MRC) quantitativo. Este comparativo avalia diferenças de variância (precisão) e de exatidão.

Para os resultados dos ensaios de PRESENÇA/AUSÊNCIA foram atribuídos os valores 10 e 100 para os resultados de AUSÊNCIA e PRESENÇA, respectivamente.

(Período: 05/03/24 a 08/03/24)

Teste	ColiControl 100: Substrato Policontrol	Colilert: Substrato Idexx
1	10	10
2	10	10
3	10	10
4	10	10
5	10	10
6	10	10
7	10	10
8	10	10
9	10	10
10	10	10

- **ColiControl 100: Substrato Policontrol:** Média=10; DP=0; n=10
- **Colilert: Substrato Idexx:** Média=10; DP=0; n=10

Notas

- Material de Referência Certificado (MRC): *Pseudomonas aeruginosa* WDCM 00114 VT001145 (1.000-10.000 UFC).
Marca: Millipore; Lote: BCCK7891; Val.: 08/25. (2 kits com 10 Vitroid cada).
- 10 = resultado negativo; 100 = resultado positivo.
- Metodologia: de acordo com as instruções do fabricante.
- Incubação durante 24 horas a 35,0 ± 0,5 °C.

Produtos utilizados:

- ColiControl 100. Marca: Policontrol; Código: 100.062.0000; Lote: 202401; Val.: 12/24.
- Colilert. Marca: Idexx; Product Catalog Number: WP200I; Part number: 98-12973-00; Lote: FW610; Val.: 07/07/24.

MATERIAIS DE REFERÊNCIA CERTIFICADOS (MRC) UTILIZADOS NOS ENSAIOS

Millipore®

www.sigmaaldrich.com

Certified reference material – Vitroids™
Reference material certificate

***Escherichia coli* WDCM 00090 VT000902**

Product no.: VT000902
Lot no.: BCCL2400
Description of CRM: Vitroids™ are disc-shaped, microbiological reference materials. Each disc contains a quantified number of microorganisms (colony forming units; cfu), immobilized in a solid water soluble matrix.
Expiry date: DEC 2025
Storage: -20 ± 5 °C; store the mylar bag containing the plastic vials with the Vitroids™ unopened
Starting material: CECT 515 batch 26-07-2017 (freeze-dried microorganism in a glass ampoule)
No. of passages: 2 (upon receipt from cell culture collection CECT)

Sample: <i>Escherichia coli</i> WDCM 00090 VT000902		
Certified value (geometric mean value)	Expanded uncertainty (log ₁₀ value)	Expected range
5.5E+01 cfu per disc	0.043	2.5E+01 - 1.2E+02 cfu per disc
Conditions:	ISO 6579 Nutrient agar / aerobic / 37 °C / 24 hrs	
Date of testing:	08 JAN 2024	
cfu: colony forming units The reference values are calculated by (US EPA Environmental Systems Monitoring Laboratory in Cincinnati) EMSL-CIN's computer program "BIWEIGHT". The measurement of uncertainty originates from the generated biweight standard deviation (SD) resulting from the biweight geometric mean value obtained during homogeneity testing. The expected range takes into account media batch to batch variability, which is done by multiplying the biweight standard deviation by 1.6.		

Metrological traceability: Details see "Certification process details" on page 2.
Measurement method: The certified value is established by plate counting in accordance with ISO/IEC 17025^[1].
Intended, correct use & handling instructions: Please follow the instructions given in "General instructions for intended uses of this reference material" on page 3.
Health and safety information: Please refer to the Safety Data Sheet (link on page 3) for detailed information about the nature of any hazard and appropriate precautions to be taken.
Accreditation: Sigma-Aldrich Production GmbH is accredited by the Swiss Accreditation Service SAS as reference material producer under no. SRMS 0001 in accordance with international standard ISO 17034^[2].
Certificate issue date: 13 FEB 2024



ISO 17034
SRMS 0001



Dr. Thomas Bühner – CRM Operations



Dr. Philipp Zell – Approving Officer

Sigma-Aldrich Production GmbH, Industriestrasse 25, 9471 Buchs, Switzerland; Tel +41-81-755-2511
www.sigmaaldrich.com
Sigma-Aldrich Production GmbH is a subsidiary of Merck KGaA, Darmstadt, Germany.

Certificate Page 1 of 3

Certificate version 01



Packaging: Vitroids™ are filled into plastic vials containing a self-indicating silica gel desiccant. Ten vials are enclosed in a sealed mylar bag.

Starting material details: Organisms supplied by Spanish Type Culture Collection (CECT)
Tel: +34 96 354 46 12, Email: pedidos@cect.org,
Website: <https://www.uv.es/cect>

Expanded uncertainty:

The expanded uncertainty U_{CRM} is calculated as $U_{CRM} = k \cdot u_{CRM}$, where $k = 2$ is the coverage factor for a 95% coverage probability and u_{CRM} is the combined standard uncertainty in accordance with ISO 17034 [2]. In addition to the certified values on page 1, the following values are calculated, taking into account media batch to batch variability, which is done by multiplying the biweight standard deviation by 1.6.:

Geometric mean-3SD	Geometric mean+3SD
2.1E+01 cfu per disc	1.5E+02 cfu per disc

Certification process details:

The counts were undertaken by surface inoculation and incubation as described above. This is in accordance with the technique described in Sigma-Aldrich's Standard Operating Procedures, which are based on ISO 4833 Part 2 [3]. The whole workflow follows the ISO 17034 guidelines. The certificate is designed in accordance with ISO Guide 31 [4].

Metrological traceability chain - biological (qualitative):

This strain is traceable back to the CECT seed stock (refer to page 1 for starting material details), ensuring that the characteristics are retained. This strain has been verified by process controls based on classical microbiological or biochemical tests and MALDI-TOF-MS analysis.

Metrological traceability to a measurement unit (quantitative):

The viable organism level per Vitroids™ is measured by Sigma-Aldrich as colony forming units (cfu). This is carried out using plate culturing techniques based on ISO 4833 Part 2 [3].

Where the reference material contains a high level of organisms ($> 5 \times 10^3$), a serial diluter and plater (interscience easySpiral Dilute®) may be used to enumerate the seed stock and the reference material produced as Vitroids™. The cfu are counted per plate and the cfu per disc is calculated.

The plates and plate counts are photographically documented using a plate counter (interscience Scan® 1200). The viable organism level per Vitroids™ is reconfirmed as colony forming units (cfu) after packaging.

CECT ampoules used for the starting material are not quantified.

Homogeneity assessment: The QC batch size (14 Vitroids™) was used to confirm batch homogeneity according to ISO Guide 35 [5]. This reference material was prepared in accordance with Sigma-Aldrich's Standard Operating Procedures (which have been shown to produce a homogeneous product).

Homogeneity calculations include (but are not limited to):

- The geometric mean: the reverse log of the biweight mean of the log values of the 2 x 7 samples from the first and last discs produced
- Expanded uncertainty using 95 % Confidence Intervals (CI): batch is accepted if the value is < 0.050
- Within batch variation is calculated using the biweight 2SD of the log values: batch is accepted if the value is ≤ 0.2
- Anova (one way): is used to test that there is no difference of the means and variance of the 2 x 7 samples from the first and last discs produced. A batch is accepted if the P value returned is > 0.05 or if the overall mean log variation of the counts between the groups is ≤ 0.1



Stability assessment:

Accelerated stability tests are performed with samples stored above the recommended storage temperature. The long-term stability of every batch is monitored in appropriate time intervals during the entire shelf life by analysis of samples stored at the recommended storage temperature.

General instructions for intended uses of this reference material:

Vitroids™ are dispatched under the Dangerous Goods Classification: UN 3373 Biological substances, Category B. Refer to the Safety Data Sheet for further information: <http://www.sigmaaldrich.com/msds>. The silica gel self-indicating inserts are not classified as dangerous material.

Vitroids™ are suitable for quality controls of culture media, antibiotics, disinfectants, for process and internal quality controls, for food, beverage and environmental testing, as well as for method development and validation in general.

The discs can be used in combination with any medium suitable for the microorganism provided in Vitroids™ disc format and with any volume; however, please note, the certified colony forming units (cfu) value is method and media specific.

If Vitroids™ are to be used for media and methods other than those stipulated above in the certified values section, you are advised to calibrate the discs for the conditions in your own laboratory.

Vitroids™ are water soluble and therefore easily reconstituted:

- 1) Remove the tube(s) to be used from the freezer and allow the disc(s) to reach ambient temperature (5 to 10 minutes) before use. Do not refreeze and use the disc(s) within one hour of transfer to ambient temperature.
- 2) Open the tube and remove the Vitroids™ by inverting the tube over the medium to be used. Vitroids™ can be rehydrated on solid medium or in liquid medium or buffer, respectively. Please do not rehydrate the discs directly in distilled water. Instead, rehydrate in a small volume of a suitable buffer. Please adjust the salt concentration according to the needs of the organism used (e.g. for *Vibrio* spp.).
- 3) Leave at room temperature to rehydrate (for 10 to 15 minutes) and ensure that the disc is completely dissolved.
- 4) Solid media: spread the resulting drop with a loop over the entire plate. Liquid media: mix thoroughly.
- 5) Test and incubate the sample in accordance with routine enumeration procedures.

References:

- [1] The accredited testing laboratory STS 0490 performs the measurements for the certification of this CRM under ISO/IEC 17025:2017, "General requirements for the competence of testing and calibration laboratories".
- [2] ISO 17034:2016, "General requirements for the competence of reference material producers"
- [3] ISO 4833-2:2013, "Microbiology of the food chain - Horizontal method for the enumeration of microorganisms - Part 2: Colony count at 30 °C by the surface plating technique"
- [4] ISO Guide 31:2015, "Reference materials - Contents of certificates, labels and accompanying documentation"
- [5] ISO Guide 35:2017, "Reference materials - Guidance for characterization and assessment of homogeneity and stability"

Certificate of analysis revision history:

Certificate version	Date	Reason for version
01	13 FEB 2024	Initial version

Disclaimer:

The purchaser must determine the suitability of this product for its particular use. Sigma-Aldrich Production GmbH makes no warranty of any kind, express or implied, other than its products meet all quality control standards set by Sigma-Aldrich Production GmbH. We do not guarantee that the product can be used for a special application.

The vibrant M, Millipore, Vitroids, and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources. © 2018 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All Rights Reserved.

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the US and Canada.



Millipore[®]

www.sigmaaldrich.com

Certified reference material – Vitroids™ Reference material certificate

Klebsiella aerogenes WDCM 00175 VT001754

Product no.: VT001754
Lot no.: BCCJ9058
Description of CRM: Vitroids™ are disc-shaped, microbiological reference materials. Each disc contains a quantified number of microorganisms (colony forming units; cfu), immobilized in a solid water soluble matrix.
Expiry date: FEB 2025
Storage: -20 ± 5 °C; store the mylar bag containing the plastic vials with the Vitroids™ unopened
Starting material: CECT 684 batch 09-06-2016 (freeze-dried microorganism in a glass ampoule)
No. of passages: 2 (upon receipt from cell culture collection CECT)

Sample: <i>Klebsiella aerogenes</i> WDCM 00175 VT001754		
Certified value (geometric mean value)	Expanded uncertainty (log ₁₀ value)	Expected range
2.7E+02 cfu per disc	0.032	1.3E+02 - 5.5E+02 cfu per disc
Conditions:	ISO 6579 Nutrient agar / aerobic / 37 °C / 24 hrs	
Date of testing:	02 MAR 2023	
cfu: colony forming units The reference values are calculated by (US EPA Environmental Systems Monitoring Laboratory in Cincinnati) EMSL-CIN's computer program "BIWEIGHT". The measurement of uncertainty originates from the generated biweight standard deviation (SD) resulting from the biweight geometric mean value obtained during homogeneity testing. The expected range takes into account media batch to batch variability, which is done by multiplying the biweight standard deviation by 1.6.		

Metrological traceability:

Details see "Certification process details" on page 2.

Measurement method:
Intended, correct use & handling instructions:

The certified value is established by plate counting in accordance with ISO/IEC 17025^[1]. Please follow the instructions given in "General instructions for intended uses of this reference material" on page 3.

Health and safety information:

Please refer to the Safety Data Sheet (link on page 3) for detailed information about the nature of any hazard and appropriate precautions to be taken.

Accreditation:

Sigma-Aldrich Production GmbH is accredited by the Swiss Accreditation Service SAS as reference material producer under no. SRMS 0001 in accordance with international standard ISO 17034 ^[2].

Certificate issue date: 14 APR 2023



ISO 17034
SRMS 0001



Dr. Thomas Bühner – CRM Operations



Dr. Philipp Zell – Approving Officer

Sigma-Aldrich Production GmbH, Industriestrasse 25, 9471 Buchs, Switzerland; Tel +41-81-755-2511
www.sigmaaldrich.com
Sigma-Aldrich Production GmbH is a subsidiary of Merck KGaA, Darmstadt, Germany.

Certificate Page 1 of 3

Certificate version 01



Packaging: Vitroids™ are filled into plastic vials containing a self-indicating silica gel desiccant. Ten vials are enclosed in a sealed mylar bag.

Starting material details: Organisms supplied by Spanish Type Culture Collection (CECT)
Tel: +34 96 354 46 12, Email: pedidos@cect.org,
Website: <https://www.uv.es/cect>

Expanded uncertainty:

The expanded uncertainty U_{CRM} is calculated as $U_{CRM} = k \cdot u_{CRM}$, where $k = 2$ is the coverage factor for a 95% coverage probability and u_{CRM} is the combined standard uncertainty in accordance with ISO 17034 [2]. In addition to the certified values on page 1, the following values are calculated, taking into account media batch to batch variability, which is done by multiplying the biweight standard deviation by 1.6.:

Geometric mean-3SD	Geometric mean+3SD
1.2E+02 cfu per disc	6.3E+02 cfu per disc

Certification process details:

The counts were undertaken by surface inoculation and incubation as described above. This is in accordance with the technique described in Sigma-Aldrich's Standard Operating Procedures, which are based on ISO 4833 Part 2 [3]. The whole workflow follows the ISO 17034 guidelines. The certificate is designed in accordance with ISO Guide 31[4].

Metrological traceability chain - biological (qualitative):

This strain is traceable back to the CECT seed stock (refer to page 1 for starting material details), ensuring that the characteristics are retained. This strain has been verified by process controls based on classical microbiological or biochemical tests and MALDI-TOF-MS analysis.

Metrological traceability to a measurement unit (quantitative):

The viable organism level per Vitroids™ is measured by Sigma-Aldrich as colony forming units (cfu). This is carried out using plate culturing techniques based on ISO 4833 Part 2 [3].

Where the reference material contains a high level of organisms ($>5 \times 10^3$), a serial diluter and plater (interscience easySpiral Dilute®) may be used to enumerate the seed stock and the reference material produced as Vitroids™. The cfu are counted per plate and the cfu per disc is calculated.

The plates and plate counts are photographically documented using a plate counter (interscience Scan® 1200). The viable organism level per Vitroids™ is reconfirmed as colony forming units (cfu) after packaging.

CECT ampoules used for the starting material are not quantified.

Homogeneity assessment: The QC batch size (14 Vitroids™) was used to confirm batch homogeneity according to ISO Guide 35 [5]. This reference material was prepared in accordance with Sigma-Aldrich's Standard Operating Procedures (which have been shown to produce a homogeneous product).

Homogeneity calculations include (but are not limited to):

- The geometric mean: the reverse log of the biweight mean of the log values of the 2 x 7 samples from the first and last discs produced
- Expanded uncertainty using 95 % Confidence Intervals (CI): batch is accepted if the value is < 0.050
- Within batch variation is calculated using the biweight 2SD of the log values: batch is accepted if the value is ≤ 0.2
- Anova (one way): is used to test that there is no difference of the means and variance of the 2 x 7 samples from the first and last discs produced. A batch is accepted if the P value returned is > 0.05 or if the overall mean log variation of the counts between the groups is ≤ 0.1

Sigma-Aldrich Production GmbH, Industriestrasse 25, 9471 Buchs, Switzerland; Tel +41-81-755-2511
www.sigmaaldrich.com
Sigma-Aldrich Production GmbH is a subsidiary of Merck KGaA, Darmstadt, Germany.

Certificate Page 2 of 3

Certificate version 01



Stability assessment:

Accelerated stability tests are performed with samples stored above the recommended storage temperature. The long-term stability of every batch is monitored in appropriate time intervals during the entire shelf life by analysis of samples stored at the recommended storage temperature.

General instructions for intended uses of this reference material:

Vitroids™ are dispatched under the Dangerous Goods Classification: UN 3373 Biological substances, Category B. Refer to the Safety Data Sheet for further information: <http://www.sigmaaldrich.com/msds>. The silica gel self-indicating inserts are not classified as dangerous material.

Vitroids™ are suitable for quality controls of culture media, antibiotics, disinfectants, for process and internal quality controls, for food, beverage and environmental testing, as well as for method development and validation in general.

The discs can be used in combination with any medium suitable for the microorganism provided in Vitroids™ disc format and with any volume; however, please note, the certified colony forming units (cfu) value is method and media specific.

If Vitroids™ are to be used for media and methods other than those stipulated above in the certified values section, you are advised to calibrate the discs for the conditions in your own laboratory.

Vitroids™ are water soluble and therefore easily reconstituted:

- 1) Remove the tube(s) to be used from the freezer and allow the disc(s) to reach ambient temperature (5 to 10 minutes) before use. Do not refreeze and use the disc(s) within one hour of transfer to ambient temperature.
- 2) Open the tube and remove the Vitroids™ by inverting the tube over the medium to be used. Vitroids™ can be rehydrated on solid medium or in liquid medium or buffer, respectively. Please do not rehydrate the discs directly in distilled water. Instead, rehydrate in a small volume of a suitable buffer. Please adjust the salt concentration according to the needs of the organism used (e.g. for *Vibrio* spp.).
- 3) Leave at room temperature to rehydrate (for 10 to 15 minutes) and ensure that the disc is completely dissolved.
- 4) Solid media: spread the resulting drop with a loop over the entire plate. Liquid media: mix thoroughly.
- 5) Test and incubate the sample in accordance with routine enumeration procedures.

References:

- [1] The accredited testing laboratory STS 0490 performs the measurements for the certification of this CRM under ISO/IEC 17025:2017, "General requirements for the competence of testing and calibration laboratories".
- [2] ISO 17034:2016, "General requirements for the competence of reference material producers"
- [3] ISO 4833-2:2013, "Microbiology of the food chain - Horizontal method for the enumeration of microorganisms - Part 2: Colony count at 30 °C by the surface plating technique"
- [4] ISO Guide 31:2015, "Reference materials - Contents of certificates, labels and accompanying documentation"
- [5] ISO Guide 35:2017, "Reference materials - Guidance for characterization and assessment of homogeneity and stability"

Certificate of analysis revision history:

Certificate version	Date	Reason for version
01	14 APR 2023	Initial version

Disclaimer:

The purchaser must determine the suitability of this product for its particular use. Sigma-Aldrich Production GmbH makes no warranty of any kind, express or implied, other than its products meet all quality control standards set by Sigma-Aldrich Production GmbH. We do not guarantee that the product can be used for a special application.

The vibrant M, Millipore, Vitroids, and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources.
© 2018 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All Rights Reserved.
The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the US and Canada.



Millipore[®]

www.sigmaaldrich.com

Certified reference material – Vitroids™ Reference material certificate

Enterococcus faecalis WDCM 00009 VT000096

Product no.: VT000096
Lot no.: BCCL0681
Description of CRM: Vitroids™ are disc-shaped, microbiological reference materials. Each disc contains a quantified number of microorganisms (colony forming units; cfu), immobilized in a solid water soluble matrix.
Expiry date: OCT 2025
Storage: -20 ± 5 °C; store the mylar bag containing the plastic vials with the Vitroids™ unopened
Starting material: CECT 481 batch 03-02-2021 (freeze-dried microorganism in a glass ampoule)
No. of passages: 2 (upon receipt from cell culture collection CECT)

Sample: <i>Enterococcus faecalis</i> WDCM 00009 VT000096		
Certified value (geometric mean value)	Expanded uncertainty (log ₁₀ value)	Expected range
9.7E+03 cfu per disc	0.045	4.3E+03 - 2.2E+04 cfu per disc
Conditions:	Trypcase soy agar / aerobic / 37 °C / 48 hrs	
Date of testing:	20 NOV 2023	
cfu: colony forming units The reference values are calculated by (US EPA Environmental Systems Monitoring Laboratory in Cincinnati) EMSL-CIN's computer program "BIWEIGHT". The measurement of uncertainty originates from the generated biweight standard deviation (SD) resulting from the biweight geometric mean value obtained during homogeneity testing. The expected range takes into account media batch to batch variability, which is done by multiplying the biweight standard deviation by 1.6.		

Metrological traceability: Details see "Certification process details" on page 2.
Measurement method: The certified value is established by plate counting in accordance with ISO/IEC 17025^[1].
Intended, correct use & handling instructions: Please follow the instructions given in "General instructions for intended uses of this reference material" on page 3.
Health and safety information: Please refer to the Safety Data Sheet (link on page 3) for detailed information about the nature of any hazard and appropriate precautions to be taken.
Accreditation: Sigma-Aldrich Production GmbH is accredited by the Swiss Accreditation Service SAS as reference material producer under no. SRMS 0001 in accordance with international standard ISO 17034^[2].
Certificate issue date: 11 JAN 2024



ISO 17034
SRMS 0001



Dr. Thomas Bühner – CRM Operations



Dr. Philipp Zell – Approving Officer

Sigma-Aldrich Production GmbH, Industriestrasse 25, 9471 Buchs, Switzerland; Tel +41-81-755-2511
www.sigmaaldrich.com
Sigma-Aldrich Production GmbH is a subsidiary of Merck KGaA, Darmstadt, Germany.

Certificate Page 1 of 3

Certificate version 01



Packaging:

Vitroids™ are filled into plastic vials containing a self-indicating silica gel desiccant. Ten vials are enclosed in a sealed mylar bag.

Starting material details:

Organisms supplied by Spanish Type Culture Collection (CECT)
Tel: +34 96 354 46 12, Email: pedidos@cect.org,
Website: <https://www.uv.es/cect>

Expanded uncertainty:

The expanded uncertainty U_{CRM} is calculated as $U_{CRM} = k \cdot u_{CRM}$, where $k = 2$ is the coverage factor for a 95% coverage probability and u_{CRM} is the combined standard uncertainty in accordance with ISO 17034 [2]. In addition to the certified values on page 1, the following values are calculated, taking into account media batch to batch variability, which is done by multiplying the biweight standard deviation by 1.6.:

Geometric mean-3SD	Geometric mean+3SD
3.6E+03 cfu per disc	2.7E+04 cfu per disc

Certification process details:

The counts were undertaken by surface inoculation and incubation as described above. This is in accordance with the technique described in Sigma-Aldrich's Standard Operating Procedures, which are based on ISO 4833 Part 2 [3]. The whole workflow follows the ISO 17034 guidelines. The certificate is designed in accordance with ISO Guide 31[4].

Metrological traceability chain - biological (qualitative):

This strain is traceable back to the CECT seed stock (refer to page 1 for starting material details), ensuring that the characteristics are retained. This strain has been verified by process controls based on classical microbiological or biochemical tests and MALDI-TOF-MS analysis.

Metrological traceability to a measurement unit (quantitative):

The viable organism level per Vitroids™ is measured by Sigma-Aldrich as colony forming units (cfu). This is carried out using plate culturing techniques based on ISO 4833 Part 2 [3].

Where the reference material contains a high level of organisms ($>5 \times 10^3$), a serial diluter and plater (interscience easySpiral Dilute®) may be used to enumerate the seed stock and the reference material produced as Vitroids™. The cfu are counted per plate and the cfu per disc is calculated.

The plates and plate counts are photographically documented using a plate counter (interscience Scan® 1200). The viable organism level per Vitroids™ is reconfirmed as colony forming units (cfu) after packaging.

CECT ampoules used for the starting material are not quantified.

Homogeneity assessment:

The QC batch size (14 Vitroids™) was used to confirm batch homogeneity according to ISO Guide 35 [5]. This reference material was prepared in accordance with Sigma-Aldrich's Standard Operating Procedures (which have been shown to produce a homogeneous product).

Homogeneity calculations include (but are not limited to):

- The geometric mean: the reverse log of the biweight mean of the log values of the 2 x 7 samples from the first and last discs produced
- Expanded uncertainty using 95 % Confidence Intervals (CI): batch is accepted if the value is < 0.050
- Within batch variation is calculated using the biweight 2SD of the log values: batch is accepted if the value is ≤ 0.2
- Anova (one way): is used to test that there is no difference of the means and variance of the 2 x 7 samples from the first and last discs produced. A batch is accepted if the P value returned is > 0.05 or if the overall mean log variation of the counts between the groups is ≤ 0.1



Stability assessment:

Accelerated stability tests are performed with samples stored above the recommended storage temperature. The long-term stability of every batch is monitored in appropriate time intervals during the entire shelf life by analysis of samples stored at the recommended storage temperature.

General instructions for intended uses of this reference material:

Vitroids™ are dispatched under the Dangerous Goods Classification: UN 3373 Biological substances, Category B. Refer to the Safety Data Sheet for further information: <http://www.sigmaaldrich.com/msds>. The silica gel self-indicating inserts are not classified as dangerous material.

Vitroids™ are suitable for quality controls of culture media, antibiotics, disinfectants, for process and internal quality controls, for food, beverage and environmental testing, as well as for method development and validation in general.

The discs can be used in combination with any medium suitable for the microorganism provided in Vitroids™ disc format and with any volume; however, please note, the certified colony forming units (cfu) value is method and media specific.

If Vitroids™ are to be used for media and methods other than those stipulated above in the certified values section, you are advised to calibrate the discs for the conditions in your own laboratory.

Vitroids™ are water soluble and therefore easily reconstituted:

- 1) Remove the tube(s) to be used from the freezer and allow the disc(s) to reach ambient temperature (5 to 10 minutes) before use. Do not refreeze and use the disc(s) within one hour of transfer to ambient temperature.
- 2) Open the tube and remove the Vitroids™ by inverting the tube over the medium to be used. Vitroids™ can be rehydrated on solid medium or in liquid medium or buffer, respectively. Please do not rehydrate the discs directly in distilled water. Instead, rehydrate in a small volume of a suitable buffer. Please adjust the salt concentration according to the needs of the organism used (e.g. for *Vibrio* spp.).
- 3) Leave at room temperature to rehydrate (for 10 to 15 minutes) and ensure that the disc is completely dissolved.
- 4) Solid media: spread the resulting drop with a loop over the entire plate. Liquid media: mix thoroughly.
- 5) Test and incubate the sample in accordance with routine enumeration procedures.

References:

- [1] The accredited testing laboratory STS 0490 performs the measurements for the certification of this CRM under ISO/IEC 17025:2017, "General requirements for the competence of testing and calibration laboratories".
- [2] ISO 17034:2016, "General requirements for the competence of reference material producers"
- [3] ISO 4833-2:2013, "Microbiology of the food chain - Horizontal method for the enumeration of microorganisms - Part 2: Colony count at 30 °C by the surface plating technique"
- [4] ISO Guide 31:2015, "Reference materials - Contents of certificates, labels and accompanying documentation"
- [5] ISO Guide 35:2017, "Reference materials - Guidance for characterization and assessment of homogeneity and stability"

Certificate of analysis revision history:

Certificate version	Date	Reason for version
01	11 JAN 2024	Initial version

Disclaimer:

The purchaser must determine the suitability of this product for its particular use. Sigma-Aldrich Production GmbH makes no warranty of any kind, express or implied, other than its products meet all quality control standards set by Sigma-Aldrich Production GmbH. We do not guarantee that the product can be used for a special application.

The vibrant M, Millipore, Vitroids, and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources. © 2018 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All Rights Reserved.

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the US and Canada.



Millipore[®]

www.sigmaaldrich.com

Certified reference material – Vitroids™ Reference material certificate

Pseudomonas aeruginosa WDCM 00114 VT001145

Product no.: VT001145
Lot no.: BCCK7891
Description of CRM: Vitroids™ are disc-shaped, microbiological reference materials. Each disc contains a quantified number of microorganisms (colony forming units; cfu), immobilized in a solid water soluble matrix.
Expiry date: AUG 2025
Storage: -20 ± 5 °C; store the mylar bag containing the plastic vials with the Vitroids™ unopened
Starting material: CECT 118 batch 17-11-2015 (freeze-dried microorganism in a glass ampoule)
No. of passages: 2 (upon receipt from cell culture collection CECT)

Sample: <i>Pseudomonas aeruginosa</i> WDCM 00114 VT001145		
Certified value (geometric mean value)	Expanded uncertainty (log ₁₀ value)	Expected range
3.5E+03 cfu per disc	0.039	1.6E+03 - 7.6E+03 cfu per disc
Conditions:	Trypcase soy agar / aerobic / 37 °C / 24 hrs	
Date of testing:	28 AUG 2023	
cfu: colony forming units The reference values are calculated by (US EPA Environmental Systems Monitoring Laboratory in Cincinnati) EMSL-CIN's computer program "BIWEIGHT". The measurement of uncertainty originates from the generated biweight standard deviation (SD) resulting from the biweight geometric mean value obtained during homogeneity testing. The expected range takes into account media batch to batch variability, which is done by multiplying the biweight standard deviation by 1.6.		

Metrological traceability: Details see "Certification process details" on page 2.

Measurement method: The certified value is established by plate counting in accordance with ISO/IEC 17025^[1].

Intended, correct use & handling instructions: Please follow the instructions given in "General instructions for intended uses of this reference material" on page 3.

Health and safety information: Please refer to the Safety Data Sheet (link on page 3) for detailed information about the nature of any hazard and appropriate precautions to be taken.

Accreditation: Sigma-Aldrich Production GmbH is accredited by the Swiss Accreditation Service SAS as reference material producer under no. SRMS 0001 in accordance with international standard ISO 17034^[2].

Certificate issue date: 27 SEP 2023



ISO 17034
SRMS 0001



Dr. Thomas Bühner – CRM Operations



Dr. Philipp Zell – Approving Officer

Sigma-Aldrich Production GmbH, Industriestrasse 25, 9471 Buchs, Switzerland; Tel +41-81-755-2511
www.sigmaaldrich.com
Sigma-Aldrich Production GmbH is a subsidiary of Merck KGaA, Darmstadt, Germany.

Certificate Page 1 of 3

Certificate version 01



Packaging: Vitroids™ are filled into plastic vials containing a self-indicating silica gel desiccant. Ten vials are enclosed in a sealed mylar bag.

Starting material details: Organisms supplied by Spanish Type Culture Collection (CECT)
Tel: +34 96 354 46 12, Email: pedidos@cect.org,
Website: <https://www.uv.es/cect>

Expanded uncertainty:

The expanded uncertainty U_{CRM} is calculated as $U_{CRM} = k \cdot u_{CRM}$, where $k = 2$ is the coverage factor for a 95% coverage probability and u_{CRM} is the combined standard uncertainty in accordance with ISO 17034 [2]. In addition to the certified values on page 1, the following values are calculated, taking into account media batch to batch variability, which is done by multiplying the biweight standard deviation by 1.6.:

Geometric mean-3SD	Geometric mean+3SD
1.4E+03 cfu per disc	8.9E+03 cfu per disc

Certification process details:

The counts were undertaken by surface inoculation and incubation as described above. This is in accordance with the technique described in Sigma-Aldrich's Standard Operating Procedures, which are based on ISO 4833 Part 2 [3]. The whole workflow follows the ISO 17034 guidelines. The certificate is designed in accordance with ISO Guide 31[4].

Metrological traceability chain - biological (qualitative):

This strain is traceable back to the CECT seed stock (refer to page 1 for starting material details), ensuring that the characteristics are retained. This strain has been verified by process controls based on classical microbiological or biochemical tests and MALDI-TOF-MS analysis.

Metrological traceability to a measurement unit (quantitative):

The viable organism level per Vitroids™ is measured by Sigma-Aldrich as colony forming units (cfu). This is carried out using plate culturing techniques based on ISO 4833 Part 2 [3].

Where the reference material contains a high level of organisms ($>5 \times 10^3$), a serial diluter and plater (interscience easySpiral Dilute®) may be used to enumerate the seed stock and the reference material produced as Vitroids™. The cfu are counted per plate and the cfu per disc is calculated.

The plates and plate counts are photographically documented using a plate counter (interscience Scan® 1200). The viable organism level per Vitroids™ is reconfirmed as colony forming units (cfu) after packaging.

CECT ampoules used for the starting material are not quantified.

Homogeneity assessment: The QC batch size (14 Vitroids™) was used to confirm batch homogeneity according to ISO Guide 35 [5]. This reference material was prepared in accordance with Sigma-Aldrich's Standard Operating Procedures (which have been shown to produce a homogeneous product).

Homogeneity calculations include (but are not limited to):

- The geometric mean: the reverse log of the biweight mean of the log values of the 2 x 7 samples from the first and last discs produced
- Expanded uncertainty using 95 % Confidence Intervals (CI): batch is accepted if the value is < 0.050
- Within batch variation is calculated using the biweight 2SD of the log values: batch is accepted if the value is ≤ 0.2
- Anova (one way): is used to test that there is no difference of the means and variance of the 2 x 7 samples from the first and last discs produced. A batch is accepted if the P value returned is > 0.05 or if the overall mean log variation of the counts between the groups is ≤ 0.1



Stability assessment:

Accelerated stability tests are performed with samples stored above the recommended storage temperature. The long-term stability of every batch is monitored in appropriate time intervals during the entire shelf life by analysis of samples stored at the recommended storage temperature.

General instructions for intended uses of this reference material:

Vitroids™ are dispatched under the Dangerous Goods Classification: UN 3373 Biological substances, Category B. Refer to the Safety Data Sheet for further information: <http://www.sigmaaldrich.com/msds>. The silica gel self-indicating inserts are not classified as dangerous material.

Vitroids™ are suitable for quality controls of culture media, antibiotics, disinfectants, for process and internal quality controls, for food, beverage and environmental testing, as well as for method development and validation in general.

The discs can be used in combination with any medium suitable for the microorganism provided in Vitroids™ disc format and with any volume; however, please note, the certified colony forming units (cfu) value is method and media specific.

If Vitroids™ are to be used for media and methods other than those stipulated above in the certified values section, you are advised to calibrate the discs for the conditions in your own laboratory.

Vitroids™ are water soluble and therefore easily reconstituted:

- 1) Remove the tube(s) to be used from the freezer and allow the disc(s) to reach ambient temperature (5 to 10 minutes) before use. Do not refreeze and use the disc(s) within one hour of transfer to ambient temperature.
- 2) Open the tube and remove the Vitroids™ by inverting the tube over the medium to be used. Vitroids™ can be rehydrated on solid medium or in liquid medium or buffer, respectively. Please do not rehydrate the discs directly in distilled water. Instead, rehydrate in a small volume of a suitable buffer. Please adjust the salt concentration according to the needs of the organism used (e.g. for *Vibrio* spp.).
- 3) Leave at room temperature to rehydrate (for 10 to 15 minutes) and ensure that the disc is completely dissolved.
- 4) Solid media: spread the resulting drop with a loop over the entire plate. Liquid media: mix thoroughly.
- 5) Test and incubate the sample in accordance with routine enumeration procedures.

References:

- [1] The accredited testing laboratory STS 0490 performs the measurements for the certification of this CRM under ISO/IEC 17025:2017, "General requirements for the competence of testing and calibration laboratories".
- [2] ISO 17034:2016, "General requirements for the competence of reference material producers"
- [3] ISO 4833-2:2013, "Microbiology of the food chain - Horizontal method for the enumeration of microorganisms - Part 2: Colony count at 30 °C by the surface plating technique"
- [4] ISO Guide 31:2015, "Reference materials - Contents of certificates, labels and accompanying documentation"
- [5] ISO Guide 35:2017, "Reference materials - Guidance for characterization and assessment of homogeneity and stability"

Certificate of analysis revision history:

Certificate version	Date	Reason for version
01	27 SEP 2023	Initial version

Disclaimer:

The purchaser must determine the suitability of this product for its particular use. Sigma-Aldrich Production GmbH makes no warranty of any kind, express or implied, other than its products meet all quality control standards set by Sigma-Aldrich Production GmbH. We do not guarantee that the product can be used for a special application.

The vibrant M, Millipore, Vitroids, and Sigma-Aldrich are trademarks of Merck KGaA, Darmstadt, Germany or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. Detailed information on trademarks is available via publicly accessible resources.

© 2018 Merck KGaA, Darmstadt, Germany and/or its affiliates. All Rights Reserved.

The life science business of Merck KGaA, Darmstadt, Germany operates as MilliporeSigma in the US and Canada.



CONCLUSÃO:

A validação é essencial para definir se métodos desenvolvidos estão completamente adequados aos objetivos a que se destinam, a fim de se obter resultados confiáveis que possam ser satisfatoriamente interpretados. Desta forma, possibilita o conhecimento das limitações e da confiabilidade nas medidas realizadas nos ensaios.

De acordo com os resultados apresentados, a metodologia em estudo “**Substrato cromogênico e fluorogênico ColiControl 100[®] (IRRADIADO)**”, produzido pela POLICONTROL INSTRUMENTOS DE CONTROLE AMBIENTAL INDÚSTRIA E COMÉRCIO EIRELI, CNPJ: 68.867.142/0001-94, situada na Rua Tupinambás, 515, Vila Conceição, Diadema/SP, está apta para uso no CETAN, laboratório de ensaios Acreditado pela CGCRE na ISO 17025:2017 sob o número CRL 0540, nas matrizes e determinações a seguir, por apresentar resultados equivalentes ao produto Colilert Idexx:

- **Coliformes totais e *Escherichia coli*: contagem em cartela (NMP/100mL) em águas residuais (efluentes industriais e domésticos), águas subterrâneas e águas brutas (doces e salobras) segundo o Standard Methods 24^a Ed. (2023) método 9223-B (*);**
- **Coliformes totais e *Escherichia coli*: teste de Presença/Ausência em águas potáveis e águas subterrâneas segundo o Standard Methods 24^a Ed. (2023) método 9223-B (*).**

(*) De acordo com o Prof. Dr. Terry E. Baxter, Editor do Standard Methods 24^a Ed. (2023), este compêndio não valida ou aprova produtos e sim, métodos, por meio de um processo de desenvolvimento e análise com base em consenso. Nenhuma empresa tem exclusividade sobre o artigo 9223-B do referido compêndio e é possível utilizar produtos equivalentes. Este compêndio considera fundamental que se demonstre que um produto supostamente equivalente é, de fato, equivalente, através de estudos de validação de métodos analíticos. Isso serviria para proteger os possíveis usuários deste produto e para proteger o público em geral que poderá ser afetado pelas decisões de saúde pública que forem tomadas com base nos dados resultantes do uso deste produto. Em suas páginas iniciais, o Standard Methods 24^a Ed. (2023) informa, ainda, que “o uso de nomes ou marcas comerciais neste livro não implica no endosso da American Public Health Association, American Water Works Association ou Water Environment Federation” (entidades responsáveis pela publicação do Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 24^a Ed., 2023).

Vila Velha-ES, 20 de abril de 2024.



Carlos Henrique P.M.Silva
Diretor Técnico/Microbiologista
Responsável Legal
CRF/ES: 1075