



FONE: (19) 3521-6258 Email: arns@unicamp.br

Cidade Universitária "ZEFERINO VAZ", 27 de abril de 2021

Empresa Solicitante:

Erwin Junker Máquinas Ltda Estrada do Capivari, 751 São Bernardo do Campo -SP

A/C: Srs. Claudio Franco e Mauro Daffre

Celular: 11 99585-2417 maurodaffre@uol.com.br

Referente: Teste de eficácia no combate ao coronavírus do Purificador de Ar VC 60

Vimos por meio deste enviar a V.Sa. o relatório do teste virucida conduzido neste laboratório.

1. Equipamento: Purificador de Ar Cleaner VC 60

Características:

O equipamento funciona em 4 estágios: Filtro de entrada, Filtro principal eletrostático, Filtro de saída S10 e Filtro de saída HEPA

Data chegada ao Laboratório: 03/03/2021 Data da finalização dos ensaios: 24/04/2021

2. Vírus testado: Coronavírus cepa MHV-3 gênero *Betacoronavirus* (mesmo gênero e família das espécies SARS-CoV-1, SARS-CoV-2, MERS e outros).

Vírus	Linhagens Celulares	
Coronavírus MHV-3	Célula: L929 NCTC clone 929 L cell, (ATCC® CCL-1™)	

3. Procedimento experimental:

- a) Os ensaios foram realizados em laboratório NB-2 (Biosafety Level 2) seguindo as Recomendações da ANVISA Art. 1 e Art. 3 da IN 04/13 e IN 12/16 (obedecendo as Boas Práticas de Laboratório-BPL), metodologias descritas nas normas (EN14476:2019, ASTM E1053 11 e do Instituto Robert Koch RKI).
 - O meio de cultura para vírus e linhagens celulares foi utilizado o Meio Essencial Mínimo de Dulbecco (DMEM) contendo 2% a 10% de soro fetal bovino.
- b) A titulação do Coronavírus (Cepa MHV-3) foi realizada de acordo com o método DICC₅₀ (Doses Infectantes de Cultivos Células 50%). Diluições sequenciais do vírus na base 10 foram realizadas em 06 repetições, em microplacas 96 orifícios estéreis. A seguir foram adicionadas as células L929 com uma concentração de 2 x 10⁵ células/orifício. Após 48 hs verifica-se o efeito citopático (ECP) da infecção viral, em comparação com controle celular e controle viral.





FONE: (19) 3521-6258 Email: arns@unicamp.br

Cidade Universitária "ZEFERINO VAZ", 27 de abril de 2021

- c) Placas de Petri contendo Coronavírus Cepa MHV-3 (100 DICC/mL) em meio de cultura foram posicionadas ao **Purificador de Ar Cleaner VC 60** nos seguintes tempos: 50 minutos e 10 minutos. As placas foram recolhidas, lacradas e congeladas a 80°C até o momento do uso.
- d) Após os diferentes tempos de ação as placas foram retiradas e testadas: d.1) para a "Determinação da Concentração Máxima não tóxica (CMNT)" na célula testada, para determinar a concentração que não causa toxicidade para a célula. Pois a ação do sanitizante deve ser ativa somente contra o vírus e não às células.
 - d.2) As placas foram submetidas a avaliação quanto a inibição ou não do vírus, a saber: Cada suspensão (Vírus + Diferentes amostras e diferentes tempos de contato) foi pipetada 100 μL em microplacas, homogeneizadas e diluídas.
 - Em seguida 100 μ L da célula (L929) foi pipetada sobre a suspensão e incubadas a 37°C em Estufa com 5% de CO₂ durante 48 horas.
- e) Após 48 horas de incubação as placas foram lidas através do Microscópio Ótico Invertido na busca do Efeito Citopático (ECP) característico do vírus (verifica-se a falta ou não do efeito citopático da infecção viral) e os títulos foram calculados com base no método de Reed and Muench, 1938.

Resumo:

Controle Positivo: Placas de Petri com vírus submetidas ao **Purificador de Ar Cleaner VC 60** (diferentes tempos) + Cultivo de Célula.

Controle Negativo: Controle de células, apenas sistema celular, sem a presença de vírus

e sem a presença do vapor com sanitizante.

Controle do vírus: Titulação Coronavírus (10¹ a 10¹¹) e cultivo celular.

Tabela 1 - Os resultados são expressos em percentual de inativação viral em comparação com o controle viral não tratado:

Log de Redução	Fator de Redução	Percentual de Inativação/Redução
1	10	90%
2	100	99%
3	1000	99,9%
4	10.000	99,99%
5	100.000	99,999%
6	1.000,000	99,9999%

https://microchemlab.com/information/log-and-percent-reductions-microbiology-and-antimicrobial-testing





FONE: (19) 3521-6258 Email: <u>arns@unicamp.br</u>

Cidade Universitária "ZEFERINO VAZ", 27 de abril de 2021

4. Resultados:

Tabela 2. Ação do Purificador de Ar Cleaner VC 60 em diferentes tempos de contado sobre o Coronavírus (Cepa MHV).

Equipamento	Tempos de contato	Coronavírus Resultados em percentual de inativação e Atividade (tabela 1)
Purificador de Ar Cleaner VC 60	5 minutos	99,99% de inativação do vírus
	10 minutos	99,99% de inativação do vírus

5. Conclusões:

- Considerando que houve inativação de 99,99% da contaminação viral é possível concluir que o Equipamento Purificador de Ar Cleaner VC 60 foi eficaz na destruição de partículas virais nos tempos testados.
- Portanto, o ensaio realizado nas condições in vitro, recomendamos o uso do Equipamento como potencial agente virucida para o grupo dos Coronavírus.

Profa Dra Clarice Weis Arns (ID Lattes: 8635038112182716) (Responsável pelo Laudo)





FONE: (19) 3521-6258 Email: arns@unicamp.br

Cidade Universitária "ZEFERINO VAZ", 27 de abril de 2021

Bibliografia Consultada:

ANVISA - Ministério da Saúde/Agência Nacional de Vigilância Sanitária INSTRUÇÃO NORMATIVA № 4, DE 2 DE JULHO DE 2013 http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2013/int0004 02 07 2013.html

ANVISA- INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 12, DE 11 DE OUTUBRO DE 2016 – ANVISA. https://alimentusconsultoria.com.br/instrucao-normativa-no-12-2016-anvisa/
https://alimentusconsultoria.com.br/instrucao-normativa-in-no-50-de-3-de-dezembro-de-2019-anvisa/

BS EN 14476:2013+A2:2019

Incorporating corrigendum August 2019

Chemical disinfectants and antiseptics -Quantitative suspension test for the evaluation of virucidal activity in the medical area - Test method and requirements (Phase 2/Step 1)

DIN EN 14476:2015. Chemical disinfectants and antiseptics. Virucidal quantitative suspension test for chemical disinfectants and antiseptics used in human medicine. Test method and requirements [phase 2, step 1]. Brussels 2015, CEN-Comité Européen de Normalisation.

ASTM E1053 – 11: Standard Practice to Assess Virucidal Activity of Chemicals Intended for Disinfection of Inanimate, Nonporous Environmental Surfaces. This standard is issued under the fixed designation E1053; This international standard was developed in accordance with internationally recognized principles on standardization established in the Decision on Principles for the

Development of International Standards, Guides and Recommendations issued by the World Trade Organization Technical Barriers to Trade (TBT) Committee.

https://compass.astm.org/download/E1053.26326.pdf https://compass.astm.org/EDIT/html_annot.cgi?E1053+20

Rabenau HF, Schwebke I, Blumel J, Eggers M, Glebe D, Rapp I, Sauerbrei A, Steinmann E, Steinmann J, Willkommen H, Wutzler P.

Guideline of the German Association for the Control of Virus Diseases (DVV) e.V. and the **Robert Koch-Institute (RKI)** for testing chemical disinfectants for effectiveness against viruses in human medicine. Version of 1st December, 2014.

Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz.

2015;58: 493-504

Reed, L.I.; Muench, H.;

A simple method of estimating fifty percent endpoints. Journal of Epidemiology, Volume 27, Issue 3, 1 May **1938**, Pages 493–497.