



Cidade Universitária, 10 de julho de 2020

Recebe:

José Francisco Goulart
Suprimentos
+55 (11) 9 9904-8277
+55 (19) 3601-6660
www.icycold.com.br

Referente: LAUDO VIRUCIDA Equipamento: Air Deco Pyramide Iozinador Bipolar by Bioclimatic GmbH, Alemanha.

Vimos por meio desta enviar a V.Sa. o laudo de teste virucida.

- 1. Produto:** Equipamento: Air Deco Pyramide Iozinador Bipolar by Bioclimatic GmbH, Alemanha.
- 2. Solicitante:**
LV ENGENHARIA, MAQUINAS E EQUIPAMENTOS EIRELI
R DO VIDRACEIRO, 72 - JARDIM WERNER PLAAS
AMERICANA - SP CEP: 13478734 FONE: (19) 3601-6660
Nome fantasia: Icy Cold
- 3. Vírus testados: 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-03	célula: L929, NCTC clone 929 L cell, (ATCC® CCL-1™)

4. Metodologia:

- 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 e metodologias descritas nas normas DIN EN 14476: Chemical disinfectants and antiseptics - Quantitative suspension test for the evaluation of virucidal activity in the medical area - Test method and requirements, ASTM E1053- 11 e do Instituto Robert Koch – RKI. Todo o ensaio seguiu normas de Boas Práticas de Laboratório (BPL).
O meio de cultura para vírus e linhagem celular foi utilizado o Meio Essencial Mínimo de Dulbecco (DMEM).
- No interior da CABINE BIOSSEGURANÇA CLASSE II (AC2-4E8) foi colocado o equipamento Air Deco Pyramide. Coronavírus cepa MHV-3, com título de 100 DICT₅₀, foi distribuído por meio de spray e Placas de Petri estéril (Ø 90mm x 15mm) com 1 mL meio de cultura



Cidade Universitária, 10 de julho de 2020

DMEM foram distribuídas em diferentes posições. O equipamento Air Deco Pyramide ficou ligado por 10 minutos, 20 minutos e 30 minutos.

Após transcorridos os tempos, as Placas de Petri foram recolhidas e realizadas as etapas do teste virucida. O controle negativo, Placas de Petri com 1 mL de meio DMEM, foi distribuído após transcorridos 30 minutos e com o equipamento ligado por mais 5 minutos.

- b) As microplacas de 96 orifícios foram inoculadas com 50uL de cada teste e diferentes tempos, 50 uL de vírus e 100 uL sistema celular (L929). Após foram incubadas a 37°C em Estufa com 5% de CO₂ durante 48 hs. Os títulos foram calculados com base no método de Reed and Muench, 1938.
- c) Titulação do Coronavírus (Cepa MHV-3) foi realizada de acordo com método DICT₅₀ (Doses Infectantes de Cultivos Tecidos 50%). Diluições sequenciais do vírus na base 10 foram realizadas em quadruplicata, em microplacas 96 orifícios estéreis. A seguir foram adicionadas células L929 com uma concentração de 2×10^5 células/orifício. Após 48 hs verifica-se o efeito citopático (ECP) da infecção viral, em comparação com controle celular e controle viral.
- d) As microplacas com meio DMEM e sistema celular (L929) foram incubadas a 37°C em Estufa com 5% de CO₂ durante 48 hs. Os títulos foram calculados com base no método de Reed and Muench, 1938.
- e) Os resultados são expressos em **percentual de inativação viral** em comparação com o controle viral (título do vírus) não tratado.

Resumo:

- Negativo: controle celular (2×10^5 células/mL) em meio DMEM, sem vírus e sem amostra teste;
- Controle de vírus: Titulação de vírus (10^1 a 10^{10}) e cultura de células em meio DMEM
- Teste positivo: AMOSTRAS TESTSE e linhagem celular (2×10^5 células/mL) em meio DMEM

Cidade Universitária, 10 de julho de 2020

5. Resultados:

Tabela 1 – Equipamento Air Deco Pyramide, tempos de contato em relação ao Coronavírus (strain MHV-3).

Produtos	Tempos de contato	Diferentes posições das placas na Cabine de Biossegurança	Coronavírus (Cepa MHV-3) Tabela 3*	Controle Negativo
Equipamento: Air Deco Pyramide	10 minutos	L1	*99,999% virucida)	Negativo (sem vírus)
	20 minutos	L2, L5	99,999% virucida)	Negativo (sem vírus)
	30 minutos	L3, L4	99,999% (virucida)	Negativo (sem vírus)

Tabela 2 – Título do Coronavírus (strain MHV-3), Título do vírus após tratamento com “Air Deco Pyramide”, Redução da infectividade viral, percentual de inativação e toxicidade celular.

Virus	Título do vírus TCID ₅₀ /ml (Log 10) (controle)	Título viral após tratamento com Equipamento teste TCID ₅₀ /ml (Log 10)	Redução da infectividade viral (log10) TCID ₅₀ /mL	Percentual de Inativação	Citotoxicidade Linhagem de célula L929
Coronavirus-Strain MHV-3	8,0	3,0	5,0	99,999%	Não foi tóxico

***Tabela 3** - 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%



Clarice Weis Arns (PhD, Professor)
Laboratório de virologia
Instituto de Biologia/Universidade Estadual de Campinas-UNICAMP
CEP:13083-862 Campinas- SP- Brasil
FONE: (19) 3521-6258 Email: arns@unicamp.br



Cidade Universitária, 10 de julho de 2020

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

6) Conclusões:

- Considerando que houve inibição de 99,999% do vírus testado, pode-se concluir que **Equipamento Air Deco Pyramide** foi eficaz para a inativação de partículas virais, e, portanto, recomendamos o uso como potencial agente virucida para o grupo Coronavírus.
- O produto do Equipamento **Air Deco Pyramide** em contato com as células não produziu toxicidade *in vitro*.

Profª Drª Clarice Weis Arns
(Responsável pelo Laudo)



Clarice Weis Arns (PhD, Professor)
Laboratório de virologia
Instituto de Biologia/Universidade Estadual de Campinas-UNICAMP
CEP:13083-862 Campinas- SP- Brasil
FONE: (19) 3521-6258 Email: arns@unicamp.br



Cidade Universitária, 10 de julho de 2020

Bibliografia Consultada:

ANVISA - Ministério da Saúde/Agência Nacional de Vigilância Sanitária
INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 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/>

ISO 18184/ 2019-06-25: “Textiles — Determination of antiviral activity of textile products”

BS EN 16777:2018: *Chemical disinfectants and antiseptics. Quantitative non-porous surface test without mechanical action for the evaluation of virucidal activity of chemical disinfectants used in the medical area*

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.

Britta Becker, Lars Henningsen, Dajana Paulmann, Birte Bischoff, Daniel Todt , Eike Steinmann, Joerg Steinmann, Florian H. H. Brill and Jochen Steinmann
Evaluation of the virucidal efficacy of disinfectant wipes with a test method simulating practical conditions
Antimicrobial Resistance and Infection Control (2019) 8:121
<https://doi.org/10.1186/s13756-019-0569-4>

G. Kampf D., Todt, S. Pfaender , E. Steinmann
Persistence of coronaviruses on inanimate surfaces and their inactivation with biocidal agents
Journal of Hospital Infection 104 (2020) 246e251
<https://doi.org/10.1016/j.jhin.2020.01.022> 0195-6701

JEFF MILLER and ROLF ULRICH
On the analysis of psychometric functions: **The Spearman–Kärber method**
Perception & Psychophysics 2001, 63 (8), 1399-1420

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