



Cidade Universitária “Zeferino Vaz”, 15 de dezembro de 2020

Empresa Solicitante:

O2 Led Illumination
Av. Abrahão Gonçalves Braga, 412 Parte A
São Paulo CEP: 04186-220
A/C Sr. Benedito L. Visentainer
bene@o2led.com.br
(11) 2539-5199

Referente: **LAUDO TÉCNICO AÇÃO VIRUCIDA**

Vimos por meio desta enviar os resultados dos testes virucidas *in vitro* realizados por este laboratório.

1) Produtos:

- **Ster Box** / Higienizador ambiental / Princípio ativo: UV-C LED
- **Clean Bag** / Maleta higienizadora/ Princípio ativo: UV-C LED

2) Vírus testado:

Coronavírus cepa MHV gênero *Betacoronavirus* (mesmo gênero e família das espécies SARS-CoV-1, SARS-CoV-2/COVID19, MERS e outros).

Vírus	Linhagens Celulares
Coronavírus MHV	Célula: NCTC clone 929 [L cell, L-929, derivative of Strain L] (ATCC® CCL-1™)

3) Procedimento experimental:

- Os ensaios *in vitro* foram realizados em laboratório NB-2 (Biosafety Level 2) seguindo as metodologias descritas nas normas EN14476:2019 e Instituto Robert Koch - RKI (Alemanha) e obedecendo as Boas Práticas de Laboratório (BPL).
O meio de cultura para vírus e linhagens celulares foi utilizado o Meio Essencial Mínimo de Dulbecco (DMEM) contendo 10% de soro fetal bovino.
- A titulação dos vírus foi realizada de acordo com o método DICC₅₀ (Doses Infectantes de Cultivos de Célula 50%). Diluições sequenciais do vírus na base 10 foram realizadas em quadruplicata, em microplacas 96 orifícios estéreis. A seguir foram adicionadas as células permissivas 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.
- Inicialmente foi realizada a “Determinação da Concentração Máxima não tóxica (CMNT)” nas diferentes células testadas, para determinar a concentração que não causa toxicidade para as células. Pois as substancias testes devem ser ativas somente contra o vírus e não às células.

Cidade Universitária “Zeferino Vaz”, 15 de dezembro de 2020

- d) **Os equipamentos Ster Box e Clean Bag** foram tratados separadamente onde cada um recebeu tratamentos, a saber:
- d.1. Equipamento Ster Box:** O ensaio foi realizado dentro de uma cabine de Biossegurança que foi contaminado com de Coronavírus (100DICT) através de nebulizador (por volta de 20 minutos). Depois o aparelho foi colocado no fluxo para higienizar o ambiente e deixados agir por diferentes tempos de ação (30 min, 45 min, 1 h, 1h e 30 min, 1h e 45 min e 2 horas).
- d.2. Equipamento Clean Bag:** Foram distribuídas PLACAS DE PETRI de com 0,5 ml de Coronavírus (100DICT dentro da maleta Clean Bag e em diferentes posições. A Maleta foi ligada e fechada por diferentes tempos de ação (1 min, 5 min, 10 min, 20 min e 30 minutos).
- e) Após terem realizados os ensaios (item d.1 e d.2) as microplacas de 96 orifícios com 100 µL de vírus + os diferentes tempos de contato (submetidas a luz UVC+O₃), foram homogeneizadas e diluídas com meio de cultura DMEM.
Em seguida 100 µL de célula (2 x 10⁵ células/orifício) foi pipetada sobre a suspensão e incubadas a 37°C em Estufa com 5% de CO₂ durante 48 horas.
- f) Após 48 horas de incubação as placas foram lidas através de Microscópio Ótico Invertido na busca do Efeito Citopático característico do vírus (verifica-se a falta ou não do efeito citopático (ECP) da infecção viral) e os títulos foram calculados com base no método de Reed and Muench, 1938.
Os resultados são expressos em percentual inativação viral (Tabela 1) em comparação com o controle viral (título do vírus) não tratado.

Resumo/controles:

- Negativo: controle células (2x10⁵ células/mL) em meio DMEM, sem vírus e sem amostra teste.
- Controle de vírus: Titulação de vírus (10¹ a 10¹⁰) e cultura de células em meio DMEM
- Teste positivo: presença de vírus, **cada amostra teste** e linhagens celulares em meio DMEM.

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

Log de Redução	Fator de Redução	Percentual de Inativação/Redução Atividade
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>

Cidade Universitária “Zeferino Vaz”, 15 de dezembro de 2020

4) Resultados:

Tabela 2 - Resultados *in vitro* da ação dos equipamentos “Ster Box e Clean Bag” e tempos de contato sobre o Coronavírus-MHV.

EQUIPAMENTOS	TEMPOS de ação	Resultados em percentual Atividade (tabela 1) Coronavírus-MHV
Ster Box / Higienizador ambiental / UV-C LED	30 minutos	99% de inibição
	45 minutos	99,9% de inibição
	1 hora	99,9% de inibição
	1h30 minutos	99,9% de inibição
	1h45 minutos	99,9% de inibição
	2 horas	99,99% de inibição
Clean Bag / Maleta higienizadora/UV-C LED	01 minuto	99% de inibição
	05 minutos	99,9% de inibição
	10 minutos	99,9% de inibição
	20 minutos	99,99% de inibição
	30 minutos	99,99% de inibição

5) Conclusões:

- Os equipamentos LED_UV-C Ster Box e Clean Bag testados *in vitro* inibiram o grupo Coronavírus nos tempos de contato testados.
- Considerando que houve inibição de até 99,99%, pode-se concluir que os equipamentos LED_UV-C Ster Box e Clean Bag foram eficazes para a inibição de partículas virais, e, portanto, recomendamos para o combate do grupo Coronavírus e para a COVID-19.



Prof^a Dr^a Clarice Weis Arns (ID Lattes: 8635038112182716)
Responsável pelo Laudo



Cidade Universitária “Zeferino Vaz”, 15 de dezembro 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/>

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

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.

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

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 LJ, Muench H.

A simple method of estimating fifty per cent endpoints. Am J Hyg. 1938; 27:493–497.