



Clarice Weis Arns (PhD, Professor)
Laboratório de virologia
Instituto de Biologia/Universidade Estadual de Campinas-UNICAMP
CEP:13081-970 Campinas- SP- Brasil
FONE: (19) 3521-6258 Email: arns@unicamp.br



Cidade Universitária "ZEFERINO VAZ", 11 de dezembro de 2020.

Fornecedor:

Linter Filtros Industriais
Rua Missionários, 238
Jardim Caravelas - São Paulo - SP
A/C Sr. Genivaldo Oliveira dos Santos
qualidade@linterfiltros.com.br
11 5643 4477 / 9 97142 1291
www.linterfiltros.com.br

Referente: LAUDO VIRUCIDA Equipamento Unidade de descontaminação LINTER

1. Produto:

Unidade de descontaminação Linter - Modelo UDL 500 PR

Princípios:

1° Estágio: Filtro G4

2° Estágio: Lâmpada UV-C

3° Estágio: Filtro HEPA

Características: O equipamento móvel, utiliza filtragem HEPA (High Efficiency Particulate Air) e luz UVC. Essa unidade permite uma filtração de alto desempenho para microrganismos suspensos no ar.

Data Chegada: 28/10/2020

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-03 | 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



Cidade Universitária “ZEFERINO VAZ”, 11 de dezembro de 2020.

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 realizado de acordo com o método DICCC₅₀ (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 2×10^5 células/orifício. Após 48 hs verifica-se o efeito citopático (ECP) da infecção viral, em comparação com controle celular e controle viral.
- c) Na entrada do ar do Equipamento Unidade de descontaminação Linter foi adicionado um nebulizador contendo Coronavírus-MHV-3 (100 DICCC/mL). O equipamento ficou ligado por para “sugar” o vírus.
Na saída do ar foram acopladas Placas de Petri com Filtros Estéreis umedecidos com meio de cultura sem vírus.
- d) As amostras de filtros em placa de Petri foram obtidas em diferentes tempos pré-determinados: 1 minuto, 5 minutos e 15 minutos. As placas foram recolhidas, lacradas e congeladas a -80°C até o momento do uso.
- e) Após os diferentes tempos de ação os filtros foram retirados e testados:
e.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 da luz UVC deve ser ativa somente e contra o vírus e não às células.



Cidade Universitária "ZEFERINO VAZ", 11 de dezembro de 2020.

e.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 µL da célula (L929) foram pipetadas sobre a suspensão e incubadas a 37°C em Estufa com 5% de CO₂ durante 48 horas (ver item b).

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:

Controle Positivo: filtros estéreis com DMEM que recebeu ar filtrado com UVC + Filtros do Sistema teste (diferentes tempos) + Cultivo de Células;

Controle Negativo: controle de células, apenas sistema celular, sem a presença de vírus e sem a presença do ar filtrado e UVC;

Controle do vírus: titulação Coronavírus (10¹ a 10¹⁰) 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>



Cidade Universitária "ZEFERINO VAZ", 11 de dezembro de 2020.

4. Resultados:

Tabela 2. Ação da "Equipamento Unidade de descontaminação Linter" em relação ao Coronavírus e em diferentes tempos de contato.

| Produto | Tempos de contato | Coronavírus Resultados em percentual de inativação e Atividade (tabela 1) |
|-----------------------------------------------|-------------------|---------------------------------------------------------------------------|
| Equipamento Unidade de descontaminação Linter | 1 minuto | 99,99% (virucida) |
| | 5 minutos | 99,999% (virucida) |
| | 15 minutos | 99,999% (virucida) |

5. Conclusões:

- Considerando que houve inativação de até 99,999% ($\log \geq 5$) da contaminação viral é possível concluir que o **Equipamento Unidade de descontaminação Linter** foi eficaz na destruição de partículas virais.
- Portanto, **Equipamento Unidade de descontaminação Linter** é recomendado para uso virucida no combate do grupo Coronavírus e da COVID-19.

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



Clarice Weis Arns (PhD, Professor)
Laboratório de virologia
Instituto de Biologia/Universidade Estadual de Campinas-UNICAMP
CEP:13081-970 Campinas- SP- Brasil
FONE: (19) 3521-6258 Email: arns@unicamp.br



Cidade Universitária "ZEFERINO VAZ", 11 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 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.