



Cidade Universitária "ZEFERINO VAZ", 01 de maio de 2021

Empresa Solicitante:

SOLIDSTEEL INDUSTRIA E COMERCIO DE EQUIPAMENTOS LABORATORIAIS LTDA

Rua Democlácio José Rossim, nº 93, Piracicaba - SP

(19) 3052-2991

Solidsteel@solidsteel.com.br

Referente: Laudo Eficácia a Vírus em Equipamento UV-C

Vimos por meio desta enviar a V.Sa. o laudo de testes de eficácia a vírus realizados neste laboratório.

1. Produto:

Equipamento SteriAir (purificação/desinfecção do ar)

UV-C: 254 nm

Especificações Técnicas

- Circulação de Ar: Ventilação forçada, baixo ruído
- Capacidade: 120m³/h
- Lâmpadas: Fluorescentes germicidas UVC
- Lâmpadas: 4 unidades
- Filtro: Filtro de partículas de fácil higienização
- Dimensões (A x L x C): 84 x 25 x 8 cm
- Cabo de Alimentação: Com plug de 3 pinos, duas fases e um terra, NBR 14136
- Alimentação: Bivolt, 110 ou 220V, com chave seletora



Data dos testes: 11/03/2021

Data resultado: 23/04/2021

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	Características	Linhagens Celulares
Coronavírus MHV-3	Vírus Envelopados com glicoproteínas na superfície	Célula: L929 NCTC clone 929 L cell, (ATCC® CCL-1™)



Cidade Universitária “ZEFERINO VAZ”, 01 de maio de 2021

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 04 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) O aparelho **Equipamento SteriAir** foi analisado, onde um Nebulizador de Ar contendo Coronavírus Cepa MHV-3 (com 100 DICC/mL) com meio de cultura DMEM foi posicionado na entrada de ar do aparelho. Na saída de ar, placas de Petri com DMEM e filtro (estéril) foram posicionadas:
Placa 1: 05 minutos de nebulização; Placa 2: 10 minutos de nebulização e Placa 3: 30 minutos de nebulização.

Após transcorridos os diferentes tempos sob exposição de luz UV-C, as amostras em placas de Petri foram recolhidas, lacradas e congeladas a -80°C até o momento do uso.

d) A placas foram descongeladas 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 da luz UV-C deve ser ativa somente contra o vírus e não às células.



Cidade Universitária "ZEFERINO VAZ", 01 de maio de 2021

d.2) As placas foram submetidas a avaliação quanto a inibição ou não do vírus, a saber: Cada suspensão (Vírus + Diferentes amostras e tempo de contato) foi pipetada 100 µL em microplacas, homogeneizadas e diluídas.

- Em seguida 100 µL 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 de Microscópio Invertido na busca do Efeito Citopático característico do vírus 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: Placas de Petri com o vírus submetidos aos Equipamentos UV-C + Cultivo de Célula;

Controle Negativo: Controle de células, apenas sistema celular, sem a presença de vírus e sem a presença de UV-C;

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", 01 de maio de 2021

4. Resultados:

- 4.1. Título Coronavírus (MHV): $10^{8,25}$ DICT50/mL e a redução da infectividade viral foi até $\geq \log 4$ (virucida).

Tabela 2. Ação do "Equipamento SteriAir" sobre **Coronavírus** (MHV-3) e diferentes tempos de ação.

Equipamento	Tempos de contato	Coronavírus-MHV Resultados em percentual de atividade (Tab 1)	Teste <i>in vitro</i> Citotóxica Linhagem Celular L929
SteriAir	05 minutos	99,99% de atividade virucida	Não Tóxico
	10 minutos	99,99% de atividade virucida	Não Tóxico
	30 minutos	99,99% de atividade virucida	Não Tóxico

5. Conclusões:

- Considerando que houve inativação de até 99,999% (Redução de infectividade viral de ≥ 4 log) da contaminação viral, é possível concluir que **Equipamento SteriAir foi eficaz** na destruição de partículas virais nos tempos testados.
- Portanto, nas condições realizadas *in vitro*, recomendamos o uso do **Equipamento SteriAir** como potencial agente virucida para o grupo Coronavírus.
- A ação do Equipamento em contato com as células *in vitro* não apresentou atividade tóxica.

Prof. 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", 01 de maio de 2021

Bibliografia Consultada:

ANVISA - Ministério da Saúde/Agência Nacional de Vigilância Sanitária
INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 4, DE 2 DE JULHO DE 2013
http://bvsmis.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.