



Cidade Universitária, 18 de agosto de 2020

Sr. Luiz Lago

Conexão Malhas e Desenvolvimento

luiz.lago@conexaomalhas.com.br

(11) 992121938

### Referente: LAUDO VIRUCIDA TECIDO

#### 1. Produto:

- Tecido Colchão Poliéster VBacBlock c/ antibactericida
- Tecido SEM PRODUTO conexão malhas (A/C Pierre)

#### 2. Vírus testados: 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. 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 (ISO 18184/ 2019-06-25: "Textiles — Determination of antiviral activity of textile products" e do Instituto Robert Koch – RKI) 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 2% a 10% de soro fetal bovino.
- A titulação do Coronavírus (Cepa MHV-3) foi realizada de acordo com método DICT<sub>50</sub> (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  $2 \times 10^5$  células/orifício. Após 48 hs verifica-se o efeito citopático (ECP) da infecção viral, em comparação com controle celular e controle viral.
- Os tecidos foram tratados individualmente conforme a metodologia e as etapas indicadas na ISO 18148/2019.



Cidade Universitária, 18 de agosto de 2020

- d) Resumindo: As amostras de tecido foram esterilizadas por autoclave, cortadas em tamanho de 5 cm<sup>2</sup>, adicionados vírus e deixado agir por 2 h em temperatura ambiente. Após foi adicionado MEIO DMEM em tubos e agitado com o misturador Vortex para eliminar o vírus do tecido. A suspensão foi usada no teste virucida/antiviral. Os controles do tecido (sem vírus) foram tratados da mesma forma.
- e) **Tecido Colchão Poliéster VBacBlock c/ antibactericida e Tecido SEM PRODUTO conexão malhas** foram pipetadas em Microplacas estéreis de 96 orifícios com 100uL da suspensão dos TECIDOS (diferentes tempos 1, 5, 15 e 2 horas) e vírus foram inoculadas com 100uL DMEM, tituladas/diluídas e adicionadas à célula L929 (com monocamada previamente formada). Logo a seguir foram incubadas a 37°C em Estufa com 5% de CO<sub>2</sub> durante 48 (ver item b).
- f) Os títulos foram calculados com base no método de Reed and Muench (1938). Os resultados são expressos em **percentual de inativação viral** (tabela 1) em comparação com o controle viral (título do vírus) não tratado.

#### Resumo/Controles:

- Negativo: controle celular (2x10<sup>5</sup> células/mL) em meio DMEM, sem vírus e sem amostra teste.
- Controle de vírus: Titulação de vírus (10<sup>1</sup> a 10<sup>12</sup>) 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%	virucida
5	100.000	99,999%	virucida
6	1.000,000	99,9999%	virucida

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

Cidade Universitária, 18 de agosto de 2020

#### 4. Resultados:

- 4.1. Título Coronavírus (MHV):  $10^{8,25}$  DICT50/mL e a redução da infectividade viral foi  $\geq \log 5$  (virucida).

**Tabela 2** - Resultados dos ensaios com Coronavírus (Cepa MHV-3) nos Tecidos SEM produto e COM produto.

Resultado inativação em Percentual* (tabela 2)		
Produtos	Tempos de contato	Coronavírus (Cepa MHV-3) Redução de Log
Tecido SEM PRODUTO	1 minuto 5 minutos 15 minutos 2 horas	Não inativou
Tecido Colchão Poliéster VBacBlock c/ antibactericida	1 minuto 5 minutos 15 minutos 2 horas	99,99% ( $\log \geq 4$ ) 99,99% ( $\log \geq 4$ ) 99,99% ( $\log \geq 4$ ) 99,99% ( $\log \geq 4$ )

#### 5. Conclusões:

- Considerando que houve inibição de 99,99% do vírus testado, pode-se concluir que o **Tecido Colchão Poliéster VBacBlock c/ antibactericida** foi eficaz para a inativação de partículas virais, e, portanto, recomendamos o uso como potencial agente virucida para o grupo Coronavírus semelhante ao COVID-19.
- O Tecido SEM PRODUTO não inibiu e não apresentou atividade para grupo Coronavírus.



Prof. Dr. Clarice Weis-Arns (ID Lattes: 8635038112182716)  
(Responsável pelo Laudo)

#### Bibliografia Consultada:



Cidade Universitária, 18 de agosto de 2020

ANVISA - Ministério da Saúde/Agência Nacional de Vigilância Sanitária  
INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 4, DE 2 DE JULHO DE 2013  
[http://bvsmis.saude.gov.br/bvsmis/saudelegis/anvisa/2013/int0004\\_02\\_07\\_2013.html](http://bvsmis.saude.gov.br/bvsmis/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

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