



Cidade Universitária, 29 de novembro de 2020

Dados do Patrocinador:

Cartech Dist. Prod. Automotivos
LTDE EPP
Rua Selma Parada, 202 Sala 252
Sr. Reginaldo Moretti
(19) 981686700
reginaldo@cartechautomotive.com.br

Referente: LAUDO VIRUCIDA

1. Produto:

Quaternário de amônia (concentração 0,2%)
Equipamento Nebulizador Cartech

Data chegada ao laboratório: 07/10/2020

2. Vírus testado: Coronavírus cepa MHV-3 gênero *Betacoronavirus* (mesmo gênero e família das espécies SARS-CoV-1, SARS-CoV-2/COVID19, MERS e outros).

Vírus	Linhagens Celulares
Coronavírus MHV-3	Célula: NCTC clone 929 [L cell, L-929, derivative of Strain L] (ATCC® CCL-1™)

3. Metodologia:

- 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 e metodologias descritas nas normas ((BS EN 14476:2013+A2:2019: 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) 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.
- b) A 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



Cidade Universitária, 29 de novembro de 2020

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.

- c) Inicialmente o produto **Equipamento Nebulizador Cartech com Quaternário de amônia** foi testado na linhagem celular para a “Determinação da Dose Máxima Não Tóxica (DMTD)” e definir a concentração que não causa toxicidade às células.
- d) **Equipamento Nebulizador Cartech com Quaternário de amônia** foi ligado pelo compressor para nebulizar o ambiente (Câmara de fluxo de Biossegurança) com placas de petri com 0,5 mL do Coronavírus e meio de cultura. Após, 25 minutos de nebulização dentro da câmara de fluxo, retirou-se as amostras de placa de Petri (**número 01**) e depois foi colocado mais amostras de placa de Petri (**número 02**) com aparelho desligado por 5 minutos de exposição.
- e) Após transcorridos os tempos, as placas, que foram submetidas a nebulização com quaternário de amônia, foram testadas. A mistura (virus+ produto) foi pipetada 100 μ L de cada amostra teste/tempos com vírus em microplacas de 96 orifícios, tituladas (10^1 a 10^{10}) e adicionadas 100 μ L da linhagem celular (L929) 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 ou não 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/Controles:

- Negativo: controle celular (2×10^5 células/mL) em meio DMEM, sem vírus e sem amostras teste;
- Controle de vírus: Titulação de vírus (10^1 a 10^{12}) e cultura de células em meio DMEM;
- Teste positivo: presença de vírus, **PRODUTO** e linhagem celular em meio DMEM.

Cidade Universitária, 29 de novembro de 2020

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% VIRUCIDA
5	100.000	99,999%
6	1.000,000	99,9999%

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

4. Resultados:

Tabela 2 - Resultados dos ensaios com Coronavírus (Cepa MHV-3) em relação Nebulizador Cartech com Quaternário de amônia e tempos de ação.

Produto	Tempos de ação da nebulização	Coronavírus (Cepa MHV-3) Resultado inativação em Percentual (tabela 1)
Equipamento Nebulizador Cartech com Quaternário de amônia		
Número 1: Placas com vírus e meio de cultura - Nebulizador ligado	25 minutos	99,999% (virucida)
Número 2: Placas com vírus e meio de cultura - Nebulizador desligado	5 minutos	99,999% (virucida)

5. Conclusões:

- A utilização do “Nebulizador Cartech com Quaternário de amônia” mostrou inativação de 99,999% do vírus testado, e, portanto, recomendamos o uso como agente virucida para o grupo Coronavírus e no combate a COVID-19.



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

LAUDO VIRUCIDA



Cidade Universitária, 29 de novembro 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)

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.

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.