



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](mailto:arns@unicamp.br)



Cidade Universitária "ZEFERINO VAZ", 17 de abril de 2021

### Empresa Solicitante:

Interozone do Brasil Ltda  
Av. da Uva, 111 - Engordadouro,  
Jundiaí - SP,  
CEP: 13213-235  
[qualidade@interozone.com.br](mailto:qualidade@interozone.com.br)  
A/C Sr. Laércio Atuati  
Gerente Comercial  
+55 (11) 4587-2048  
+55 (11) 4527-3462  
[laercio@interozone.com.br](mailto:laercio@interozone.com.br)

### Referente # 80/2021: Laudo Eficácia a Vírus Equipamentos UV-C e Ozônio

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

#### 1. Produtos:

- 1.1. Equipamento OXI - SANITIZAÇÃO VEICULAR LINHA XT XT-44 R1/card:  
Gerador de ozônio
- 1.2. Equipamento UV-C e Ozônio:  
UVC: 2 lâmpadas 3W, 274 nm  
Ozônio: 0.1-0.08 ppm (NR15)  
veículo - 1.3 - 0.8 ppm, residual

Data dos testes em equipamentos: 03/02/2021

Data resultado: 16/04/2021

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™)

#### 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.



Cidade Universitária "ZEFERINO VAZ", 17 de abril de 2021

- b) A titulação do Coronavírus (Cepa MHV-3) foi realizada de acordo com o método DICC<sub>50</sub> (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  $2 \times 10^5$  células/orifício. Após 48 hs verifica-se o efeito citopático (ECP) da infecção viral, em comparação com controle celular e controle viral.
- c) Os dois **Equipamentos OXI - SANITIZAÇÃO VEICULAR LINHA XT XT-44 R1/card: Ozônio E Equipamento UV-C e gerador de Ozônio** foram submetidos a 30 minutos. Placas de Petri contendo Coronavírus Cepa MHV-3 (com 100 DICC/mL) com meio de cultura DMEM foram posicionadas aos aparelhos. As placas foram recolhidas, lacradas e congeladas a -80°C até o momento do uso.
- d) Os testes foram realizados da seguinte forma:
- d.1) Determinação da Concentração Máxima não tóxica (CMNT) foi analisada na célula de linhagem L929 para determinar a concentração que não causa toxicidade para a célula. Pois a ação da luz UV-C e Ozônio devem ser ativas somente contra o vírus e não às células.
- 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 CO<sub>2</sub> 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 + Cultivo de Célula;

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

**Controle do vírus:** Titulação Coronavírus ( $10^1$  a  $10^{10}$ ) 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", 17 de abril de 2021

#### 4. Resultados:

**Tabela 2.** Ação do Equipamento "OXI - SANITIZAÇÃO VEICULAR LINHA XT XT-44 R1/card: Gerador de ozônio" sobre Coronavírus, cepa MHV-3

Equipamento	Tempos de contato	Coronavírus-MHV Resultados em percentual de inativação (Tab 1)	Teste <i>in vitro</i> Citotoxicidade Celular
OXI - SANITIZAÇÃO VEICULAR LINHA XT XT-44 R1/card: Ozônio	30 minutos	99,99% de atividade	Não Tóxico

**Tabela 3.** Ação do Equipamento "UV-C e Gerador de ozônio" sobre Coronavírus, cepa MHV-3

Equipamento	Tempos de contato	Coronavírus-MHV Resultados em percentual de inativação (Tab 1)	Teste <i>in vitro</i> Citotoxicidade Celular
UV-C e Ozônio	30 minutos	99,99% de atividade	Não Tóxico

#### 5. Conclusões:

- Considerando que houve inativação de 99,99% (Redução de infectividade viral de  $\geq 4$  log) da contaminação viral, é possível concluir que os **Equipamentos** testados **foram eficazes** na destruição do vírus no tempo de 30 minutos.
- Portanto, os ensaios realizados *in vitro*, recomendamos o uso dos Equipamentos **OXI - SANITIZAÇÃO VEICULAR LINHA XT XT-44 R1/card** e **UV-C e Ozônio** como potenciais agentes virucida para o grupo dos Coronavírus.
- A ação dos Equipamentos 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](mailto:arns@unicamp.br)



Cidade Universitária "ZEFERINO VAZ", 17 de abril de 2021

### 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](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](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.