



Cidade Universitária, 10 de setembro de 2020

Delfim Comercio e Industria Ltda.

Sorocaba -SP, (19) 99610-2796

Referente: LAUDO VIRUCIDA TECIDO

- 1. Produto:** Delfim-Protect/9200 (tecido branco tratado com bactericida, impermeabilizante e resina acrílica, Lote 300217)
- 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
Coronavirus (MHV) ATCC® VR-261™	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) foi realizada de acordo com método $DICT_{50}$ (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 2×10^5 células/orifício. As microplacas foram incubadas a 37°C em uma atmosfera de 5% de CO₂ e observadas efeitos citopáticos (CPEs) diariamente por até três dias. Os títulos foram calculados pelo $TCID_{50}$ baseado no método de Reed-Muench (1938). Os tecidos foram tratados individualmente conforme a metodologia e as etapas indicadas na ISO 18148/2019.

Cidade Universitária, 10 de setembro de 2020

- c) Resumindo: Amostras de tecido “Delfim-Protect” foram esterilizadas por autoclave, cortadas em tamanho de 5 cm², 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.
- d) Após 2 horas, as amostras foram coletadas e tratadas:
- d.1) Todas as amostras de tecidos foram testadas na linhagem celular (L929) para a “Determinação da Dose Máxima Não Tóxica (DMTD)”, para definir a concentração que não causa toxicidade às células.
- d.2) A suspensão das amostras foi pipetada 100µL de suspensão de tecido mais vírus em microplacas estéreis de 96 poços bem como tempos diferentes (1, 5, 15 e 2 horas) e adicionado 100µL/poço de célula L929 (com monocamada previamente formada). Em seguida, foram incubados a 37°C com 5% de CO₂ por 48 horas (ver item b).
- e) 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 (2x10⁵ células/mL) em meio DMEM, sem vírus e sem amostra teste.
- Controle de vírus: Titulação de vírus (10¹ a 10¹²) 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%	
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, 10 de setembro de 2020

4. Resultados:

Tabela 2 - Resultados dos ensaios com Tecido Delfim-Protect, tempos de contato e porcentagem de inativação em relação ao Coronavírus (Cepa MHV)

Amostras	Tempo	Coronavírus Porcentagem de inativação (Tabela 1)
Delfim-Protect	1 minuto	99%
	5 minutos	99%
	15 minutos	99,9%
	2 horas	99,9%

5. Conclusões:

- Amostra **Tecido Delfim-Protect** inibiu até 99,9% o grupo Coronavírus nos tempos de contato testados.



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

Este documento contém informações confidenciais. Qualquer reprodução total ou parcial, compartilhamento ou uso impróprio deste conteúdo sem autorização prévia da Delfim Comércio e Indústria Ltda. é expressamente proibido.



Cidade Universitária, 10 de setembro de 2020

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/>

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.