



Cidade Universitária, 28 de novembro de 2020

Empresa Solicitante:

Everstar Textil Comércio e Indústria Ltda.
Avenida River 2419 anexo D - Bairro Água Chata
CEP 07251-370
Guarulhos - São Paulo
CNPJ 38.904.998/0001-21
IE 127.218.736.113
Contato: Mario Suh 942752689

Referente: LAUDO VIRUCIDA TECIDO POLIESTER

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

1. Produto:

TECIDO BRANCO POLIESTER (base de Íons de Prata)

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

Vírus	Linhagens Celulares
Vírus da Hepatite B (DHBV)	D2 cells
Coronavírus MHV-3	Célula: L 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 (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.
- b) A titulação dos Vírus da Hepatite B (DHBV) e Coronavírus (Cepa MHV-3) foram realizadas 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 as respectivas células L929 e D2 cells com



Cidade Universitária, 28 de novembro de 2020

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) Os tecidos foram tratados individualmente conforme a metodologia e as etapas indicadas na ISO 18148/2019.

Resumindo: “Amostra- TECIDO BRANCO POLIESTER (base de Íons de Prata)” foi esterilizada por autoclave, cortadas em tamanho de 5 cm^2 , adicionados vírus e deixado agir por diferentes tempos 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) A suspensão das amostras foi pipetada em Microplacas estéreis de 96 orifícios com 100uL da suspensão dos TECIDOS (diferentes tempos 15 e 30 minutos e 2 horas) e os respectivos 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_2 durante 48 (ver item b).
- 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/Controles:

- Negativo: controle celular (2×10^5 células/mL) em meio DMEM, sem vírus e sem amostra teste.
- Controle de vírus: Titulação de vírus (10^1 a 10^{12}) 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%	
6	1.000.000	99,9999%	

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

Cidade Universitária, 28 de novembro de 2020

4. Resultados:

Tabela 2 - Resultados dos ensaios com Vírus da Hepatite B (DHBV) e Coronavírus (Cepa MHV-3) em relação a “Amostra TECIDO BRANCO POLIESTER (base de Íons de Prata)”.

Produtos	Tempos de contato	Resultado em Percentual (tabela 1) Vírus da Hepatite B (DHBV)	Resultado em Percentual (tabela 1) Coronavírus (Cepa MHV-3)	Citotoxicidade Celular <i>in vitro</i> Célula L929
TECIDO BRANCO POLIESTER (base de Íons de Prata)	1 minuto	99,99%	99,999%	Não tóxico
	15 minutos	99,99%	99,999%	Não tóxico
	2 horas	99,99%	99,999%	Não tóxico

5. Conclusões:

- Considerando que houve inativação (99,999%) dos vírus testados, pode-se concluir que o **TECIDO POLIESTER com base de Íons de Prata** foi eficaz para a inativação de partículas virais, e, portanto, recomendamos o uso como potencial agente virucida para o Vírus da Hepatite B (DHBV) e para grupo Coronavírus e no combate a COVID-19.
- O TECIDO POLIESTER com base de Íons de Prata no teste *in vitro* para as células L929 não identificou toxicidade.



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



Cidade Universitária, 28 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/>

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.