

Cidade Universitária "ZEFERINO VAZ", 10 março de 2021

### Empresa Solicitante:

Pensabio

Rua Pinto Gonçalves, 84 – Perdizes –

CEP: 05005-010 – São Paulo/SP - Brazil

Cel: +55 11 94556-5914 | Tel: +55 11 3868-6514

A/C Gustavo Parra, Ph.D.

Especialista de Serviços e Aplicações | Service and Application Specialist

[gustavo.parra@pensabio.com.br](mailto:gustavo.parra@pensabio.com.br)

[www.pensabio.com.br](http://www.pensabio.com.br)

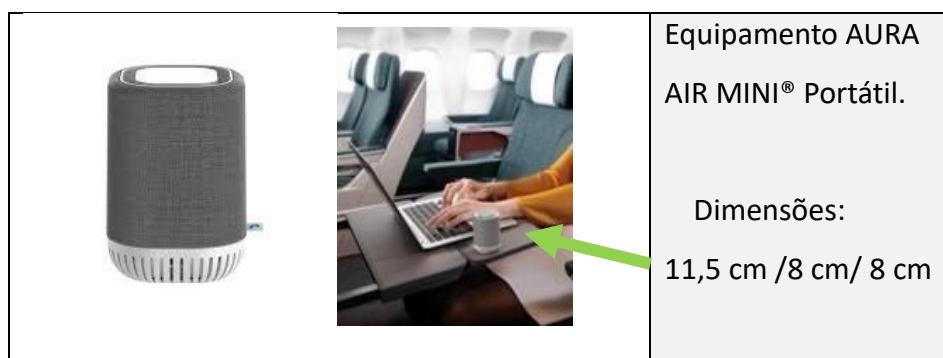
### Referente: LAUDO VIRUCIDA Equipamento AURA AIR MINI®

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

#### 1. Produto:

- Equipamento AURA AIR MINI® (Purificador de Ar) -Portátil.

Características: A purificação do ar é realizada pelo sistema **ionização bipolar e com um pré filtro.**



Equipamento AURA  
AIR MINI® Portátil.

Dimensões:  
11,5 cm /8 cm/ 8 cm

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

3.

Vírus	Características	Linhagens Celulares
Coronavírus MHV-3	Vírus Envelopados com glicoproteínas na superfície <b>(menos resistentes)</b>	Célula: L929 NCTC clone 929 L cell, (ATCC® CCL-1™)
Norovirus (Murine norovirus/MNV strain 99)	Virus encapsidados com proteínas na superfície <b>(mais resistentes)</b> . É indicado pela Norma EN14476	RAW 264.7 (ATCC® TIB-71™)



Cidade Universitária "ZEFERINO VAZ", 10 março de 2021

#### 4. 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.
- b) A titulação do Coronavírus (Cepa MHV-3) e Norovírus foram realizadas 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 e RAW 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) O ensaio foi realizado dentro de uma câmara de biossegurança. Placas de Petri contendo Coronavírus Cepa MHV-3 e Norovírus (com 100 DICC/mL/cada) e meio de cultura foram posicionadas ao **Equipamento AURA AIR MINI®**.
- d) O equipamento ficou ligado e as amostras em placa de Petri foram obtidas em diferentes tempos pré-determinados: 5, 10 e 15 minutos. As placas foram recolhidas, lacradas e congeladas a -80°C até o momento do uso.
- e) Após os diferentes tempos de ação as placas foram retiradas e testadas:
- e.1) para a "Determinação da Concentração Máxima não tóxica (CMNT)" na célula testada, para determinar a concentração que não causa toxicidade para a célula. Pois a ação da ionizador bipolar deve ser ativa somente contra o vírus e não às células.
- e.2) As placas foram submetidas a avaliação quanto a inibição ou não do vírus, a saber: Cada suspensão (Vírus + Diferentes amostras e diferentes tempos de contato) foi pipetada 100 µL em microplacas, homogeneizadas e diluídas.
- Em seguida 100 µL de cada linhagem celular (L929 e RAW 264.7) foi pipetada sobre a suspensão e incubadas a 37°C em Estufa com 5% de CO<sub>2</sub> durante 03 dias.



Cidade Universitária "ZEFERINO VAZ", 10 março de 2021

- f) Após o período 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 os dois vírus submetidos ao Equipamento AURA AIR MINI (diferentes tempos) + Cultivo de Célula;

**Controle Negativo:** Controle de células, apenas sistema celular, sem a presença de vírus e sem a presença do equipamento;

**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", 10 março de 2021

## 5. Resultados:

**Tabela 2.** Ação do Equipamento "AURA AIR MINI® (portátil)" sobre o Coronavírus e Norovírus em diferentes tempos de contato.

Equipamento Portátil	Tempos de contato	Coronavírus Resultados em percentual de inativação e Atividade (Tab 1)	Norovírus Resultados em percentual de inativação e Atividade (Tab 1)	Teste <i>in vitro</i> Citotoxicidade Celular Linhagem Celular L929
AURA AIR MINI®	5 minutos	99,9999% de atividade	99,99% de atividade	Não Tóxico
	10 minutos	99,9999% de atividade	99,99% de atividade	
	15 minutos	99,9999% de atividade	99,999% de atividade	

## 6. Conclusões:

- Considerando que houve inativação de 99,99% a 99,9999% (com redução de infectividade log 6) da contaminação viral é possível concluir que o **Equipamento AURA AIR MINI® (portátil)** testado **foi eficaz** na destruição de vírus resistente.
- Portanto, nas condições realizadas *in vitro*, recomendamos o uso do Equipamento **AURA AIR MINI®** como potencial agente virucida para o grupo dos Coronavírus e Norovírus.
- Uma vez inativando o Norovírus é possível concluir que inativa todos os vírus, incluindo o SARS-COV-2.
- A ação do Equipamento **AURA AIR MINI®** em contato com células em multiplicação 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", 10 março de 2021

### **Bibliografia Consultada:**

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