



02 de agosto de 2020

Vinix Industria e Com. (Glix Química)

Laudo TESTE VIRUCIDA

1) Produto:

Desinfetante **G-MED BIGUAN**

Diluição: 1 parte do produto para 100 partes de água

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

Vírus	Linhagens Celulares
Coronavírus MHV-03	L929 NCTC clone 929 [L cell, L-929, derivative of Strain L] (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 e metodologias descritas nas normas (EN14476:2019, ASTM E1053 – 11 e do Instituto Robert Koch – RKI) e seguindo 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 o 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 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.



02 de agosto de 2020

- c) O desinfetante “**G-MED BIGUAN**” diluído foi misturado ao vírus e posteriormente submetido a diferentes tempos de contato (imediate, 5, 10 e 15 minutos). A seguir foi inoculado na célula permissiva (células L929).
- d) As microplacas com o desinfetante “**G-MED BIGUAN**”, vírus e sistema celular foram incubadas a 37°C em estufa com 5% de CO₂ durante 48 hs.
- 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 (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, desinfetante “**G-MED BIGUAN**” e linhagens celulares em meio DMEM.

***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>

02 de agosto de 2020

4) Resultados:

Tabela 2 - Resultados do produto desinfetante “G-MED BIGUAN” e tempos de contato com Coronavírus.

Produto	Tempos	Percentual inativação viral Coronavírus MHV-3 (tabela1) *
Desinfetante “G-MED BIGUAN” Diluição: 1:100 de água	Imediato	90%
	5 minutos	90%
	10 minutos	99%
	15 minutos	99%

5) Conclusões:

- O desinfetante “G-MED BIGUAN” mostrou inativação de 90% a 99% para o Grupo Coronavírus em todos os tempos testados.

Atenciosamente,



Profª Drª Clarice Weis Arns
(Responsável pelo laudo)



02 de agosto 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/>

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.

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

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.