



Cidade Universitária “ZEFERINO VAZ”, 10 de junho 2020.

Ao Sr.
Rubens Miguel Scavassa
TERPENOil- Química VERDE
Av. Arquimedes, 1070 – Galpão 8
Condomínio Industrial Siprel CIS 1
Bairro Casa Branca – Jundiaí – SP
CEP: 13211-840

Referente: **LAUDO VIRUCIDA “TerpenOil-Desinfetante de uso geral”**

Prezado Sr Rubens,
Vimos por meio desta fornecer laudo do ensaio virucida.

1. **Produto:** Desinfetante de uso geral/higiene natural (Diluição 1:200)
Composição: terpenos cítricos e outros terpenos.
2. **Empresa:** TERPENOil Química VERDE
3. **Vírus Testado:**
CORONAVÍRUS/MHV-3 (características semelhantes ao SARS, MERS e Covid-19 uma vez que pertence ao mesmo gênero).
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 e metodologias descritas nas normas (BS EN 14476:2013+A2:2019, ASTM E1053 – 11 e do Instituto Robert Koch – RKI) e obedecendo as Boas Práticas de Laboratório (BPL).
 - b) Os testes foram realizados em quadruplicata (quatro repetições biológicas):
 - A primeira etapa dos ensaios foi realizar a “Determinação da Concentração Máxima não tóxica (CMNT)” nas diferentes células testadas, para determinar a concentração que não causa toxicidade para as células. Pois a substancia teste deve ser ativa somente contra o vírus e não às células.
 - positivo (presença do vírus, com o uso do desinfetante e sistema celular);
 - negativo controle de células (apenas sistema celular, sem a presença de vírus e sem a presença dos desinfetantes);
 - controle da titulação: vírus e cultivo celular.
 - A mistura vírus e **TerpenOil-Desinfetante de uso geral** foi submetida a diluição de 1:200 e diferentes tempos (1, 5, 10 e 15 minutos).
 - c) As microplacas com **TerpenOil-Desinfetante de uso geral** + sistemas celulares + vírus foram incubadas a 37°C em Estufa com 5% de CO₂ durante 48 hs a 04 dias.
 - d) O título do vírus foi expresso como log₁₀TCID₅₀/ml a partir do método Reed-Muench (1938).

LAUDO VIRUCIDA “TerpenOil-Desinfetante de uso geral”

5. Resultados:

Tabela: Vírus Testado, Tempos de contato, Média da Titulação viral, Título da Atividade Virucida e Redução da infectividade viral em relação ao produto “TerpenOil-Desinfetante de uso geral na Diluição 1:200”.

Vírus	Tempo de contato dos Vírus e Desinfetante	Controle Título viral DICT ₅₀ /ml (Log 10) *	Título viral DICT ₅₀ /ml (Log 10) + Produto testado **	Redução da infectividade viral DICT ₅₀ /ml (Log 10) (Média) ***	Toxicidade Celular
Coronavírus-MHV-3	01 minuto	8,5	4,0	4,5 (99,99%)	-
	05 minutos		3,0	5,5 (99,99%)	+
	10 minutos		0,0	8,5 (100%)	++
	15 minutos		0,0	8,5 (100%)	++

*Média de 12 diluições do vírus (de 10¹ a 10¹²)

**Média de 12 diluições do vírus (de 10¹ a 10¹²), desinfetante e repetições

***<https://www.klaran.com/what-is-log-reduction>

Citotoxicidade Celular

- Não tóxico
 + Baixa
 ++ Média

Log Reduction	Reduction Factor	Percent Reduced
1	10	90%
2	100	99%
3	1,000	99.9%
4	10,000	99.99% 
5	100,000	99.999%
6	1,000,000	99.9999%



LAUDO VIRUCIDA “TerpenOil-Desinfetante de uso geral”

6. Conclusões:

- Considerando que o houve inibição da infecção viral, pode-se concluir que o produto **TerpenOil-Desinfetante de uso geral** foi eficaz para a inativação/destruição de partículas virais, e, portanto, recomendamos o uso na forma DILUÍDA 1:200 como potencial agente virucida para o Grupo Coronavírus.
- Os tempos de 01 minuto e 05 minutos de contato com o produto “**TerpenOil-Desinfetante de uso geral**” inibiu 99,99% do vírus.
- Os Tempos de 10 e 15 minutos de contato com o produto “**TerpenOil-Desinfetante de uso geral**” inibiu 100% do vírus.
- Em relação a “redução de infectividade viral”*** a mesma foi de $\geq \log 4$ para Coronavírus/strain MHV-3, já o tempo de contato (vírus e produto **TerpenOil-Desinfetante de uso geral**) o produto mostrou ser ativo a partir de 01 MINUTO.

Atenciosamente,

Prof^ª Dr^ª Clarice Weis Arns
Responsável pelo Laudo

Cidade Universitária “ZEFERINO VAZ”, 10 de junho 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/>

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>

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