



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO  
INSTITUTO DE BIOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA  
LABORATÓRIO DE VIROLOGIA MOLECULAR

## **LAUDO DE TESTAGEM DE ATIVIDADE VIRICIDA DO PRODUTO SILVER CLEAN 800 DOCTOR PARA O VIRUS SARS COV2 EM CELULAS VERO E ATIVIDADE RESIDUAL DO VIRUCIDA.**

### **CONTRATANTE**

Ética do Brasil Nanotecnologia Indústria Comércio Importação E Exportação Ltda.  
Rua Mendes Pimentel, 45, CEP: 06710-655 Granja Viana, Cotia - SP  
CNPJ/MF: 33.433.584/0001-48

### **CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DO PRODUTO SILVER CLEAN 800 DOCTOR + SPRAY**

O produto **SILVER CLEAN 800 DOCTOR +** é um produto à base de nanop prata.

Descrição do produto:

<b>SILVER CLEAN 800 DOCTOR +</b>
<b>MATÉRIA PRIMA (INCI name)</b>
AQUA
DISODIUM DISTYRYLBIPHENYL DISULFONATE
ALCOHOL
PROPYLENE GLYCOL
CITRIC ACID
POLYSORBATE 20
HIDROXYETHYLCELLULOSE
COLLOIDAL SILVER
BUTANE
PROPANE
ISOBUTANE

### **METODOLOGIA DA ANÁLISE**

**Virus Utilizado:** A cepa do isolado HIAE-02: SARS-CoV-2/SP02/human/2020/BRA (GenBank accession number MT126808.1) foi gentilmente cedido pelo Prof. Édison L. Durigon do Laboratório de Virologia Clínica e Molecular, do ICB/USP.

**Celula Utilizada:** VERO oriundas de rim de macaco verde africano (ATCC# Vero C1008)

**Meio de cultura:** Meio DMEM + 2 mM L-Glutamine + 10% soro fetal bovino.

## Metodologia

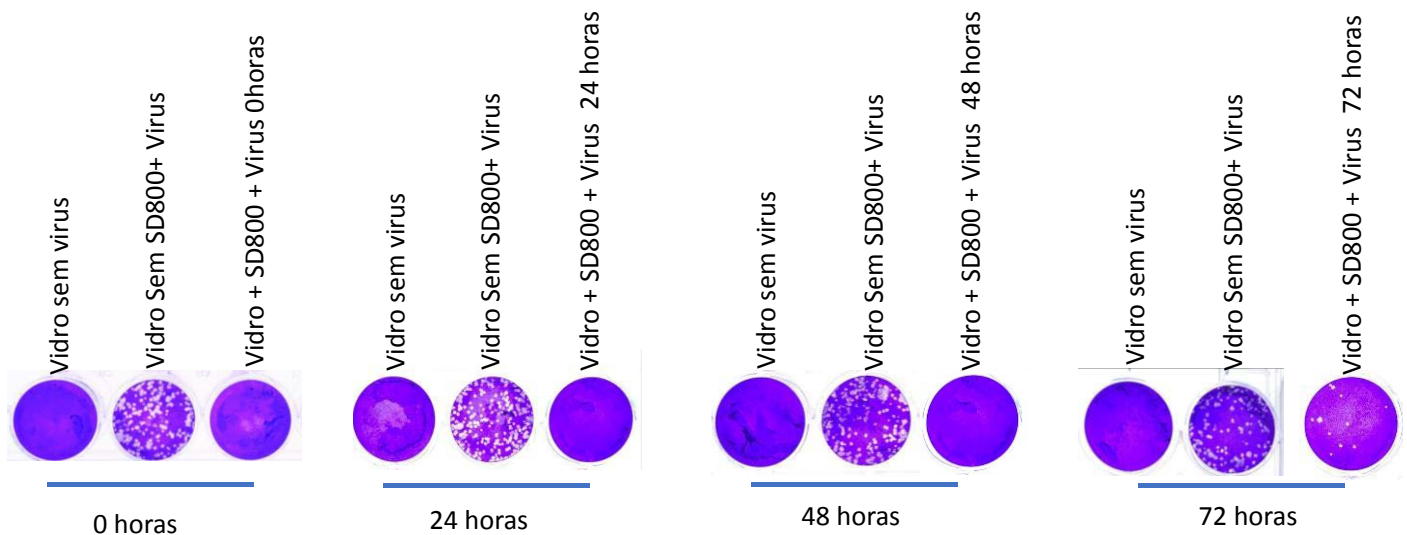
### Atividade Virucida Residual.

O virucida **SILVER CLEAN 800 DOCTOR +** foi aspergido sem diluição diretamente em uma superfície de 4 placas de vidro de 5cm x 5cm, e deixado secar no escuro em uma estufa a 42°C. Após a secagem as placas de vidro tratadas com **SILVER CLEAN 800 DOCTOR +** foram deixadas na temperatura ambiente por tempos diferentes ( 0, 24, 48, 72 horas, respectivamente). Após estes tempo de espera 20ul de uma dose padrão de SARS-CoV-2 (200 unidades formadoras de plaques; PFU) eram colocados na superfície do vidro tratado e deixada **por menos de 30 segundos** a temperatura ambiente. **Após a incubação o material o local de depósito do Vírus + Produto na placa de vidro era removido com um Swab de nylon flocado** e diluído num tubo com a adição de 1,0 ml de meio DEMEM 10% SFB e imediatamente plaquedo em um tapete de células VERO. O experimento correu em placas com 12 poços com 24 mm de diâmetro. O primeiro poço era reservado para um controle de célula e o 2º poço para o MOCK. Todos os poços foram semeados um dia antes com células frescas e tinham um tapete homogêneo de células VERO com 5 x 10<sup>5</sup> células. Após a adição das diluições de vírus + diluições do **SILVER CLEAN 800 DOCTOR +** as células foram incubadas por mais 1h para adsorção das partículas virais. A solução contendo os vírus + **SILVER CLEAN 800 DOCTOR +** eram então removidos e as células incubadas com overlay médium (DMEM, com 2 % de soro fetal bovino e 1,8 % de carboximetilcelulose). Após 3 a 5 dias de cultura a 37 °C, as placas foram coradas com paraformaldeído 4 % e fixadas com cristal violeta a 1 %. O número de plaques foram contados e a queda de número de plaques serão comparadas com o 2º poço (meio de cultura sem droga + vírus). Todos os experimentos foram feitos em triplicata e a Concentração Efetiva (EC) 50% do virucida foi calculado como a concentração de virucida que inibe 50% do número de plaques.

## RESULTADOS

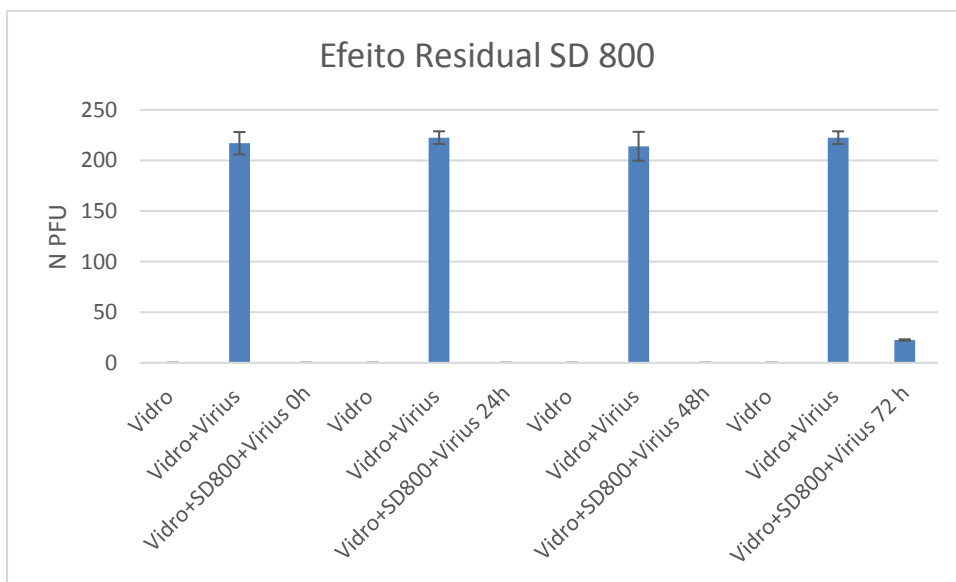
### Atividade Virucida Residual.

A Figura 1 abaixo mostra a atividade virucida residual do **SILVER CLEAN 800 DOCTOR +** aplicado diretamente no vidro.



**Figura 1-** Montagem da placa de cultura típica mostrando a experimento do efeito residual virucida do produto **SILVER CLEAN 800 DOCTOR +** aplicado nas superfícies de uma placa de vidro. Os resultados estão mostrados com a incubação da placa de vidro de 0, 24, 48 e 72 horas. Em cada tempo de incubação tínhamos uma superfície de vidro não tratada para servir de controle onde num ponto colocávamos somente meio MEM (sem vírus) e num outro ponto colocávamos 200 pfu de SARS COV2 (Vidro Sem SD800+ Virus) por menos de 30 segundos. Na placa de vidro tratada e deixada na temperature ambiente por diferentes tempos colocávamos 200 pfu de SARS COV2 por 30 segundos sobre o vidro (Vidro +SD800+ Virus) e plaqueamos o resultado final num tapete de células VERO.

Como podemos ver na Figura 1, o **SILVER CLEAN 800 DOCTOR +** aplicado nas superfícies de uma placa de vidro teve uma atividade virucida de > 99.9 % até 48 horas após sua aplicação. Já no tempo de 72 horas pudemos observar a sobrevivência de 10% das partículas virais.



**Figura 2.** Histograma mostrando o número de plaques virais do SARS CoV2 em células VERO . Temos indicados nas barras o número de plaques depois da incubação da placa de vidro de 0, 24, 48 e 72 horas. Em cada tempo de incubação tínhamos uma superfície de vidro não tratada para servir de controle onde num ponto colocávamos somente meio MEM (sem vírus) e num outro ponto colocávamos 200 pfu de SARS COV2 (Vidro Sem SD800+ Virus). Na placa de vidro tratada e deixada na temperature ambiente por diferentes tempos colocávamos 200 pfu de SARS COV2 (Vidro +SD800+ Virus). As linhas verticais no topo das barras são os desvios padrões de 3 experimentos independentes.

## CONCLUSÃO

Baseado nestes dados podemos verificar que a diluição do produto **SILVER CLEAN 800 DOCTOR** + teve uma ação residual contra o SARS COV2 até 48 horas mostrando um excelente efeito virucida com uma inibição total na formação de plaques (>99.9%) após aplicação do produto em uma placa de vidro. Já no tempo de 72 horas temos um efeito virucida parcial (90%).

Rio de Janeiro 10/9/2020



---

Laboratório de Virologia Molecular  
Departamento de Genética  
Instituto de Biologia  
Universidade Federal do Rio de Janeiro  
21 99615 4920 21 25643353