

RELATÓRIO 1165.2023.102  
Versão 01

**ESTUDO *IN VITRO* DE ATIVIDADE ANTIVIRAL**

Amostra NV.1462.02

<b>Patrocinador:</b>	TRILHA INDUSTRIA E COMERCIO LTDA
<b>Endereço:</b>	Av. Jornalista Paulo Zingg, 961, Vila Jaragua, São Paulo – SP, CEP 05157-030
<b>Local de realização da pesquisa:</b>	Núcleo Vitro Serviços Científicos Ltda. Rua da Várzea, 22, Jardim São Pedro, Porto Alegre-RS, Brasil, CEP 91040-600
<b>Código do Produto:</b>	NV.1462.02
<b>Nome do Produto:</b>	Multi Sept HC Gel Antisséptico
<b>Lote / Fabricação / Validade</b>	23002/ 23/02/23/ 02/2025
<b>Recebimento da Amostra:</b>	14/04/2023
<b>Emissão do Relatório:</b>	12/06/2023

## 1. INTRODUÇÃO

Com o objetivo de avaliar a eficácia de produtos em conseguir reduzir a atividade de vírus, é utilizado ensaio virucida por contato direto da amostra com as partículas virais. Esse ensaio utiliza cultivo de células para avaliar a viabilidade das partículas virais e sua capacidade de se replicar na célula em cultivo. Assim, é possível quantificar a presença de partículas virais após o contato com a amostra.

## 2. OBJETIVO

Avaliar o potencial da amostra em reduzir a viabilidade e consequentemente a infectividade viral do vírus da Influenza H1N1.

## 3. RELEVÂNCIA DO ESTUDO

As condições experimentais utilizadas são aceitas e condizentes com as metodologias aplicadas atualmente na comunidade científica internacional, bem como a utilização de células em condições adequadas de cultivo.

## 4. DESCRIÇÃO DA AMOSTRA

Nome da amostra	Referência / Lote	Código Interno Núcleo Vitro	Data de Fabricação	Condições de Armazenamento
Multi Sept HC Gel Antisséptico	23002	<b>NV.1462.02</b>	23/02/2023	Temperatura Ambiente

## 5. METODOLOGIA

### 5.1 Cultura de células

Neste estudo foram utilizadas células MDCK, mantidas em cultivo com DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) com adição de suplementos, em estufa a 37°C e 5% de CO<sub>2</sub> e manipuladas dentro da capela de fluxo laminar. Para o estudo, as células foram distribuídas em placas próprias para cultura em monocamada.

### 5.2 Cultivo de vírus

Foi utilizado o vírus da Influenza H1N1 previamente titulado com objetivo de determinar a quantidade de vírus estoque. O título do vírus no presente ensaio foi de 10<sup>5,0</sup> partículas virais.

### **5.3 Incubação da amostra com o vírus**

O vírus foi inoculado em suspensão para avaliação da amostra. A amostra NV.1462.02 foi aplicado sobre a inoculação em suspensão pelo tempo de 30 segundos. Como controle positivo, foi utilizado álcool 70%. Em seguida, foi adicionado meio de cultura próprio para cultivo celular (Dulbecco's Modified Eagle's Medium com adição de suplementos) para realizar a neutralização e aplicado sobre a cultura de células para avaliar a viabilidade do vírus e potencial de replicação em células. O grupo controle do estudo foi realizado com a inoculação das partículas virais com meio de cultura em suspensão. Após, foi inoculado em monocamada de células em duplicata para cada grupo para avaliação da multiplicação viral.

### **5.4 Análise dos resultados**

Foi realizada coleta de sobrenadante obtido após o crescimento viral para isolamento de RNA viral, quantificação e conversão em fita complementar de DNA. Em seguida, foi realizada análise por técnica de reação em cadeia da polimerase em tempo real com o uso de primers específicos para o vírus de interesse. A partir dos resultados de quantificação obtidos, foi realizada análise comparativa entre os grupos e relação com valores de redução em logaritmo e porcentagem.

## **6. RESULTADOS**

Após a aplicação da amostra NV.1462.02 com as partículas virais de Influenza H1N1, essas foram expostas às células para observar a viabilidade do vírus e sua capacidade de se replicar. Nesse estudo, foram avaliados os seguintes grupos:

- 1- Grupo controle celular: cultura de células sem presença de partículas virais;
- 2- Grupo exposição ao vírus: cultura de células com a presença de partículas virais;
- 3- Grupo NV.1462.02: cultura de células com a presença de partículas virais que foram expostas ao produto NV.1462.02;
- 4- Grupo controle positivo: cultura de células com a presença de partículas virais que foram expostas a álcool 70%;

No grupo exposição ao vírus, foi realizada quantificação da presença de partículas virais através de biologia molecular o que confirma a presença de viabilidade e replicação viral. A titulação observada para o grupo exposição ao vírus foi de  $10^{5,0}$ . Com o contato de 30 segundos, foi observada a redução de 3,0 logaritmos pela amostra NV.1462.02 e pelo controle positivo o que está relacionado a redução de 99,9% das partículas virais. O grupo controle celular

demonstrou células viáveis. Esses resultados validam o estudo e estão apresentados na Tabela 1.

Grupo	Tempo de contato	Redução em logaritmo	Porcentagem de redução de partículas virais
NV.1462.02	30 segundos	3,0	99,90%
Controle positivo	30 segundos	3,0	99,90%

Tabela 1. Resultados em logaritmo e porcentagem da redução de partículas virais após exposição aos grupos indicados.

## 7. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos, é possível afirmar que:

- A amostra NV.1462.02 reduziu 3,0 logaritmos estando relacionado a redução de 99,9% a viabilidade do vírus avaliado e, assim, apresenta eficácia antiviral em 30 segundos de contato;

## 8. PARECER

No estudo intitulado “**ESTUDO *IN VITRO* DE ATIVIDADE ANTIVIRAL**” referente ao produto **Multi Sept HC Gel Antisséptico**, código **NV.1462.02**, enviado pelo patrocinador **TRILHA INDUSTRIA E COMERCIO LTDA**, pode-se concluir que:

**O produto Multi Sept HC Gel Antisséptico, código NV.1462.02, demonstrou eficácia antiviral, pois reduziu em 99,9% a viabilidade do vírus avaliado em 30 segundos de contato.**

Este relatório se destina exclusivamente à **Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde** e ao uso interno da empresa **TRILHA INDUSTRIA E COMERCIO LTDA**. Nenhuma informação deste relatório pode ser divulgada em quaisquer veículos de comunicação sem autorização por escrito do autor.

## 9. NOTAS

Os resultados aqui descritos são aplicáveis somente à(s) amostra(s) testada(s), nas condições e concentrações avaliadas neste estudo.

Os resultados apresentados são exclusivamente obtidos de testes *in vitro*.

## 10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alberts, B. et al. *Biologia molecular da célula*. Artmed: 6ª edição. 2017.
- Buonavoglia C, Decaro N, Martella V, Elia G, Campolo M, Desario C, et al. Canine coronavirus highly pathogenic for dogs. *Emerg Infect Dis*. 2006;12(3):492–4.
- Carlucci, et al. Antiherpetic activity and mode of action of natural carterpenes of diverse structural types. *Antiviral Research*: 1999: 93-102.
- Carvalho, O. et al. Potencial antiviral da quercetina sobre o parvovirus canino. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec*; 2013.
- ISO 10993.5: 2009 – Biological evaluation for medical devices Test for cytotoxicity: *in vitro* methods.
- Su, et al. Modes of antiviral action of chemical portions and constituents from woad root extract against influenza virus A FM1. *Evidence-based complementary and alternative medicine*. 2016.
- Whitley RJ, Roizman B. Herpes simplex virus infections. Vol. 357, *Lancet*. Elsevier Limited; 2001. p. 1513–8.

## 11. ASSINATURA

**Diretor responsável pela Núcleo Vitro:**



---

Bibiana Franzen Matte, PhD  
CRO 23877