

RELATÓRIO 1129.2023.102  
Versão 02

**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.

Os coronavírus são vírus com genoma RNA pertencentes à família Coronaviridae. A subfamília Orthocoronaviridae se divide em 4 gênero: Alpha, Beta, Gamma e Deltacoronavírus. Há seis espécies dentro destes gêneros que causam infecções em humanos. Neste ensaio utilizamos o betacoronavírus (MHV-3), como modelo de partícula viral pertencente à família do SARS-CoV-2.

## 2. OBJETIVO

Avaliar o potencial da amostra em reduzir a viabilidade e consequentemente a infectividade viral do betacoronavírus (MHV-3).

## 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 L929, 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 betacoronavírus (MHV-3) previamente titulado com objetivo de determinar a quantidade de vírus estoque. O título do vírus no presente ensaio foi de  $10^{5,0}$  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 e 2 minutos. 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.

### **5.3 Análise dos resultados**

Depois de tempo estipulado do contato do vírus com o cultivo celular, a titulação viral foi avaliada. As células foram avaliadas conforme mudanças de morfologia, que são caracterizadas pelo efeito citopatogênico (ECP) causado pelos vírus em teste. As visualizações destas mudanças em comparação ao controle celular indicam que há replicação viral no período avaliado. Foi realizada a comparação em logaritmos na base 10 de vírus e foi realizada relação com porcentagem de partículas virais presentes.

A metodologia do estudo foi validada internamente seguindo literatura científica. Para considerar o estudo válido para avaliação antiviral da amostra, o grupo exposição ao vírus deve apresentar titulação viral igual ou maior que  $10^{5,0}$ . A eficácia antiviral é considerada quando há redução de 3 ou mais logaritmos com exposição ao produto que está relacionada a redução de 99,9% das partículas virais. Para validação do estudo, o grupo controle positivo deve apresentar 3 ou mais logaritmos de redução.

## **6. RESULTADOS**

Após a aplicação da amostra NV.1462.02 com as partículas virais de betacoronavírus (MHV-3), 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 observado efeito citopatogênico nas células 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. Com o contato de 2 minutos, foi observada a redução de 3,5 logaritmos pela amostra NV.1462.02 o que está relacionado com a redução de 99,96% das partículas virais. O grupo controle positivo demonstrou redução de 3,5 logaritmos em 2 minutos o que está relacionado a redução de 99,96% 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%
	2 minutos	3,5	99,96%
Controle positivo	30 segundos	3,0	99,90%
	2 minutos	3,5	99,96%

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;
- A amostra NV.1462.02 reduziu 3,5 logaritmos estando relacionado a redução de 99,96% a viabilidade do vírus avaliado e, assim, apresenta eficácia antiviral em 2 minutos 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 carageenans 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*

---

Bibiana Franzen Matte, PhD  
CRO 23877