

**RESUMO DO ESTUDO *IN VITRO* DE ATIVIDADE ANTIVIRAL DE ACORDO
COM A ISO 21702:2019**

O presente documento tem como objetivo trazer os principais resultados referente a amostra Amostra em PP enviado pela empresa PLAXMETAL S/A – INDÚSTRIA DE CADEIRAS CORPORATIVAS relacionado ao relatório 1210.2023.102.

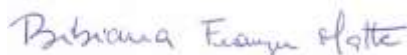
A amostra é utilizada na confecção de diferentes componentes injetados para móveis escolares, cadeiras e brinquedos.

Foi realizado estudo *in vitro* de atividade antiviral de acordo com a ISO 21702:2019 com coronavírus que pertence a mesma família do SARS-CoV-2 em que foi observado o seguinte resultado:

Amostra	Redução log	Porcentagem de redução
NV.1543.02 Amostra em PP	1,0	90,00%

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

- A amostra NV.1543.02, Amostra em PP, reduziu 1,0 logaritmo estando relacionado a redução de 90,00% de partículas virais e, assim, apresenta atividade antiviral.



Bibiana Franzen Matte, PhD
CRO 23877

RELATÓRIO 1210.2023.102
Versão 01

ESTUDO *IN VITRO* DE ATIVIDADE ANTIVIRAL EM SUPERFÍCIES

Amostra NV.1543.02

Patrocinador:	PLAXMETAL S/A - INDÚSTRIA DE CADEIRAS CORPORATIVAS
Endereço:	RODOVIA BR 153, 845, KM 42, INDUSTRIAL DAVIDE ZORZI, ERECHIM -RS, CEP 99702-503
Local de realização da pesquisa:	Núcleo Vitro Serviços Científicos Ltda. Rua da Várzea, 22, Jardim São Pedro, Porto Alegre-RS, Brasil, CEP 91040-600
Código do Produto:	NV.1543.02
Nome do Produto:	Amostra em PP
Recebimento da Amostra:	17/07/2023
Emissão do Relatório:	08/08/2023

1. INTRODUÇÃO

A procura de produtos que ofereçam proteção contra agentes causadores de doenças é crescente. A mudança de hábitos e a inclusão de processos de limpeza e desinfecção rotineiros levou ao aumento a busca por novos produtos, soluções eficazes e práticas. De acordo com essa demanda, compostos com propriedades antimicrobianas vem sendo utilizados e aplicados a diversas indústrias, com o objetivo de incorporar propriedades funcionais agregando valor e qualidade aos produtos – assim promovendo bem estar e saúde ao consumidor.

Produtos com acabamentos antimicrobianos e/ou antivirais possuem características que necessitam de testes específicos para a avaliação da performance, como por exemplo, a avaliação de uma possível atividade antiviral frente à exposição do material a partículas infecciosas de vírus. Para tanto, é utilizada a ISO 21702:2019 como referência para avaliar produtos porosos e não-porosos tratados para ter atividade antibacteriano e/ou antiviral.

Agentes antivirais são produtos capazes de reduzir o número de partículas virais infecciosas que tem contato com a superfície de produtos. Este relatório apresenta os dados do experimento conduzido conforme a ISO 21702 e produziu um resultado quantitativo a fim de testar a performance antiviral do produto.

2. OBJETIVO

Avaliar o potencial da amostra em reduzir a viabilidade viral segundo a metodologia presente na ISO 21702:2019 com devidas adaptações.

3. RELEVÂNCIA DO ESTUDO

As condições experimentais utilizadas são aceitas e condizentes com as metodologias aplicadas atualmente de acordo com a ISO 21702:2019.

4. DESCRIÇÃO DA AMOSTRA

Nome da amostra	Código Interno Núcleo Vitro	Condições de Armazenamento
Amostra em PP	NV.1543.02	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 CO₂ e manipuladas dentro da capela de fluxo laminar. Na passagem 03 após descongelamento, as células foram distribuídas em placas próprias para cultura em monocamada.

5.1 Cultivo de vírus

Foi utilizado o betacoronavírus (MHV-3)s previamente titulado, conforme cálculo apresentado a seguir. Para o ensaio, foi utilizado a concentração de vírus de 10^{5,0} partículas.

5.3 Determinação da dose de uso pelo método TCID₅₀:

$$Y = X \times 10^a$$

$$a = \sum p - 0,5$$

x = Base de diluição - Foi utilizada a base 10

Cálculo da solução estoque de vírus

Cálculo do valor de p, com base no número de replicatas da titulação de acordo com as 7 diluições na base 10.

$$a = \sum 7 - 2,0 ; a = 5,0$$

Concentração de uso no ensaio: 10^{5,0}

5.4 Preparo das amostras

Amostra **NV.1543.02**

- Condições de preparo da amostra nas condições de uso: fragmentos de 5 cm x 5 cm.

5.5 Preparo dos grupos controles

Grupo controle celular: meio de cultura suplementado;

Grupo controle viral: meio de cultura suplementado + adição de quantidade conhecida de vírus;

5.6 Análise de citotoxicidade

O grupo controle celular e o grupo NV.1543.02 foram incubados em meio de cultura suplementado nas mesmas condições do ensaio com vírus para avaliar se as amostras apresentam potencial citotóxico celular. O meio de cultura foi adicionado a monocamada de células em duplicata para cada grupo. Ao final de 24 horas, foi avaliado por imagens a cultura de células dos grupos.

5.7 Análise de atividade antiviral

A alíquota de vírus foi diluída em meio de cultivo celular e os fragmentos das amostras NV.1543.02 foram dispostos em placas de Petri estéreis. Foi inoculado 0,4 mL da solução de vírus previamente preparada sobre cada amostra que foi coberta com filme plástico e incubada por 2 horas, em condições estéreis de trabalho. Após contabilizados o tempo de exposição (contato direto), a alíquota foi recuperada e separada em novo tubo, finalizando o contato com a amostra. Esta amostra serviu como primeiro ponto da diluição seriada, que

quantifica a atividade antiviral. O grupo controle viral foi realizado da mesma forma sem contato com nenhum fragmento de amostra. Após, foi inoculado em monocamada de células em quadruplicata para cada grupo para avaliação da multiplicação viral.

5.8 Análise dos resultados

O cultivo celular inoculado foi avaliado conforme mudanças de morfologia, que são caracterizadas pelo efeito citopatogênico (ECP) causado pelos vírus em teste. É realizada a comparação do grupo controle celular (sem vírus) com o grupo controle viral e grupo NV.1543.02 para avaliar a presença de replicação viral através de captura de imagens e comparação com titulação viral realizada, que demonstra a redução do número de partículas virais infecciosas em logaritmos. O resultado é expresso em redução de logaritmos da quantidade de partículas virais entre o grupo controle viral e o grupo NV.1543.02.

6. RESULTADOS

6.1 Análise da citotoxicidade

Para a avaliação da titulação viral, é necessário que também seja realizada a avaliação de potencial citotóxico das amostras. Para isso, é avaliado a monocamada da cultura bem como a morfologia das células. Foi observado uma monocamada confluyente e o estabelecimento da morfologia em todos os grupos.

6.2 Análise da atividade antiviral

Os vírus avaliados causam alterações na morfologia celular que são denominadas como efeito citopatogênico. Através desse efeito, é possível analisar e quantificar a presença de multiplicação viral em cada grupo. É realizada a identificação da titulação viral de cada grupo para então ser realizado o cálculo do valor de atividade antiviral. Os resultados da redução logarítmica da titulação viral e do percentual de redução observado no grupo NV.1543.02 em relação ao grupo controle viral está presente na Tabela 1:

Vírus avaliado: Betacoronavírus (MHV-3)			
Amostra	Tempo de contato (horas)	Redução log	Porcentagem
NV.1543.02	2	1,0	90,00%

Tabela 1. Resultados da titulação viral após o tempo de contato avaliado de redução logarítmica e relação de porcentagem de redução.

7. CONCLUSÕES

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

- A amostra NV.1543.02 reduziu 1,0 logaritmo estando relacionado a redução de 90,00% de partículas virais do betacoronavírus após 2 horas de contato;

8. PARECER

No estudo intitulado “**ESTUDO *IN VITRO* DE ATIVIDADE ANTIVIRAL EM SUPERFÍCIES**” referente ao produto **Amostra em PP**, código **NV.1543.02**, enviado pela empresa **PLAXMETAL S/A – INDÚSTRIA DE CADEIRAS CORPORATIVAS**, pode-se concluir que:

O produto Amostra em PP, código NV.1543.02, possui atividade antiviral.

Este relatório se destina exclusivamente à **Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde** e ao uso interno da empresa **PLAXMETAL S/A – INDÚSTRIA DE CADEIRAS CORPORATIVAS**. 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.

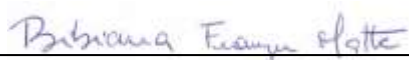
Os resultados apresentados são exclusivamente obtidos de testes *in vitro*.

10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alberts, B. et al. *Biologia molecular da célula*. Artmed: 6ª edição. 2017.
- Carlucci, et al. Antiherpetic activity and mode of action of natural carageenans of diverse structural types. *Antiviral Research*: 1999: 93-102.
- ISO 21702:2019 –Measurement of antiviral activity on plastics and other non-porous surfaces.
- 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.
- 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.
- 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