

RELATÓRIO 143.2020.102
Versão 01

**ESTUDO *IN VITRO* DE ATIVIDADE ANTIVIRAL DE ACORDO COM A ISO
18184:2019**

Amostras NV.203.02 e 204.02

Patrocinador:	Dalila Têxtil Ltda
Endereço:	Rua João Januarino Ayroso 3850, São Luiz, Jaraguá do Sul, SC, CEP 89253-100
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.203.02; NV.204.02
Nome do Produto:	Malha Antiviral Dalila Têxtil 50 lavagens
Lote / Fabricação / Validade	NI; NI; NI
Recebimento da Amostra:	31/08/2020
Emissão do Relatório:	10/09/2020

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 indústrias como a têxtil, 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 18184:2019 como referência para avaliar se um produto têxtil possui ação antiviral.

Produtos têxteis antivirais, são produtos capazes de reduzir o número de partículas virais infecciosas que tem contato com o tecido. Este relatório apresenta os dados do experimento conduzido conforme a ISO 18184 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 de Coronavírus canino de acordo com a ISO 18184:2019.

3. RELEVÂNCIA DO ESTUDO

As condições experimentais utilizadas são aceitas e condizentes com as metodologias aplicadas atualmente de acordo com a ISO 18184:2019.

4. DESCRIÇÃO DA AMOSTRA

Nome da amostra	Referência / Lote	Código Interno Núcleo Vitro	Data de Fabricação	Condições de Armazenamento
Sem antiviral sem lavação	NI	NV.203.02	NI	Temperatura Ambiente
Malha Antiviral Dalila Têxtil 50 lavagens	NI	NV.204.02	NI	Temperatura Ambiente

*NI = não informado;

5. INFORMAÇÕES DO PRODUTO FORNECIDAS PELO PATROCINADOR

5.1 Nome do Produto: Malha Antiviral Dalila Têxtil 50 lavagens

6. METODOLOGIA

6.1 Cultura de células

Neste estudo foram utilizadas células VERO, 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 06 após descongelamento, as células foram distribuídas em placas próprias para cultura em monocamada.

6.2 Cultivo de vírus

Foi utilizado o Coronavírus Canino previamente titulado, conforme cálculo apresentado a seguir. Para o ensaio, foi utilizado a concentração de vírus de 10^{5,0} partículas.

6.3 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.

$$a = \sum 7^{-0,5}; a = 5,0$$

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

6.4 Preparo das amostras

Amostras NV.203.02 e 204.02

- Condições de preparo da amostra nas condições de uso: 0,2g de cada tecido nas dimensões 20mmX20mm (± 2 mm), seguido de autoclavagem conforme preconizado na ISO 18184:2019;
- Aspecto da amostra nas condições de análise: em suspensão;
- Presença de solvente adicional na maior concentração testada da amostra: não se aplica.
- Medida de pH na maior concentração testada da amostra: não determinado.

6.5 Preparo dos grupos controles

Grupo controle celular: meio de cultura suplementado;

Grupo controle viral: meio de cultura suplementado;

6.6 Análise de citotoxicidade

O grupo controle celular e os grupos NV.203.02 e NV.204.02 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.

6.7 Análise de atividade antiviral

A alíquota de vírus foi diluída em meio de cultivo celular e os fragmentos de tecido dos grupos NV.203.02 e NV.204.02 foram embebidos em tubos fechados por 60 minutos, em condições estéreis de trabalho. Após contabilizados os 60 minutos de exposição (contato direto), uma alíquota foi separada em novos tubos, finalizando o contato com a amostra. O grupo controle viral foi realizado da mesma forma sem ter contato com nenhum fragmento de tecido. Após, foi inoculado em monocamada de células em duplicata para cada grupo para avaliação da multiplicação viral.

6.8 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 grupos NV.203.02 e NV.204.02 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, e transformado em valores de referência conforme preconizado na ISO 18184:2019.

7. RESULTADOS

7.1 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.

7.2 Análise da atividade antiviral

O vírus avaliado causa 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 (Mv), sendo:

$$Mv = \log (Vb) - \log (Vc)$$

Mv = valor da atividade antiviral

log (Vb) = média logarítmica do grupo da amostra controle;

log (Vc) = média logarítmica do grupo da amostra com tratamento antiviral;

Para esse experimento, temos:

$$\log (NV.203.02) = \log 10^{2,5}$$

$$\log (NV.204.02) = \log 10^{0,5}$$

$$Mv = 10^{2,5} - 10^{0,5} = \log 10^{2,0} = \mathbf{2,0}$$

A redução de 2,0 logaritmos na titulação viral causado pelo grupo NV.204.02 apresentou, de acordo com tabela da ISO 18184:2019 (Figura 2), um efeito bom de redução antiviral que está relacionado a redução de 99% de partículas virais.

Table F.1 — Antiviral performance standard

Item	Antiviral efficacy value, <i>Mv</i>	Standard
Tested textile product	$3,0 > Mv \geq 2,0$	Good effect
	$Mv \geq 3,0$	Excellent effect

Figura 2. Tabela extraída da ISO 18184:2019 com os valores de *Mv* relacionados a performance antiviral.

8. CONCLUSÕES

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

- A amostra NV.204.02 reduziu 2,0 logaritmos ($Mv = 2,0$) estando relacionado a redução de 99% de partículas virais.

9. PARECER

No estudo intitulado “**ESTUDO *IN VITRO* DE ATIVIDADE ANTIVIRAL DE ACORDO COM A ISO 18184:2019**” referente ao produto **Malha Antiviral Dalila Têxtil 50 lavagens**, código **NV.204.02**, enviado pelo patrocinador **Dalila Têxtil Ltda**, pode-se concluir que:

O produto Malha Antiviral Dalila Têxtil 50 lavagens, código NV.204.02, possui atividade antiviral.

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

10. 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*.

11. 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 carotenoids of diverse structural types. *Antiviral Research*: 1999: 93-102.
- ISO 18481:2019 –Textiles – determination of antiviral activity of textile products.
- 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.

12. ASSINATURA

Diretor responsável pela Núcleo Vitro:

Bibiana Franzen Matte

Bibiana Franzen Matte, PhD
CRO 23877