



INFORME DE RESULTADOS

FECHA: **17/07/2020**
NUMERO DE PROTOCOLO: **PVA 2810**
SOLICITANTE: **DORNOCH – Andres Morano**
ANALISIS SOLICITADO: **EVALUACION DE LA INACTIVACIÓN VIRAL POR CONTACTO**
Producto para recubrimiento de superficies

Se evaluó la capacidad de inactivación viral por contacto directo del producto LIQUID GUARD (lote/número de serie no especificado), nano-revestimiento antimicrobial de superficie de la empresa DORNOCH sobre el Coronavirus canino (CCoV).

Se realizaron ensayos de contaminación experimental siguiendo las recomendaciones de la norma ISO 21702:2019 para evaluación de actividad antiviral de plásticos y otras superficies no porosas.

El proceso se realizó de acuerdo al plan de trabajo acordado entre DORNOCH e INTA (“DORNOCH inactivación viral por contacto 28.06.2020”). El ensayo se llevó a cabo y fue verificado por personal del laboratorio de Virus Adventicios del Instituto de Virología de INTA.

DESCRIPCIÓN DEL ENSAYO.

Se trataron portaobjetos de vidrio de 7,5 cm x 2,5 cm con el revestimiento en estudio de acuerdo a las indicaciones dadas por DORNOCH. Estas áreas de estudio tratadas, se contaminaron con 300 ul de una suspensión de CCoV y se dejaron en contacto a temperatura ambiente y humedad controlada por 8 hs. A distintos tiempos durante el periodo de incubación se recuperó el virus lavando las áreas de ensayos con 10 ml de medio neutralizante. Portaobjetos de vidrio sin revestimiento fueron contaminadas con 300 ul de CCoV para evaluar la posible inactivación viral sin tratamiento. Areas de trabajo con el tratamiento en estudio fueron inoculadas con medio de cultivo, y analizadas para verificar la ausencia de efecto tóxico o de interferencia sobre los sustratos celulares utilizados. Una fracción del stock viral original de CCoV utilizado en la contaminación experimental fue ensayada simultáneamente con el resto de las muestras. La Tabla 1 sintetiza las condiciones técnicas del procedimiento, volúmenes y muestras tomadas. Todos los ensayos se realizaron a temperatura ambiente (18-25°C) en una cabina de seguridad biológica de tipo A2 certificada.

Tabla 1. Esquema del proceso de contacto. Todas las condiciones fueron evaluadas por triplicado.

<i>Condición a evaluar</i>	<i>Muestra</i>	<i>Tratamiento</i>	<i>ID Muestras</i>	<i>Momento de toma de la muestra</i>
Control citotoxicidad	Superficie tratada con nano-recubrimiento LIQUID GUARD	Inoculación con 300 ul de medio de cultivo. Incubar a temperatura ambiente y humedad controlada.	ORI	8 hs post-contacto
Propiedad antiviral	Superficie tratada con nano-recubrimiento LIQUID GUARD	Inoculación con 300 ul de suspensión viral. Incubar a temperatura ambiente y humedad controlada.	T.1	1 hs post-contacto
			T.4	4 hs post-contacto
			T.8	8 hs post-contacto
Control no tratado	Superficie sin tratamiento	Inoculación con 400 ul de suspensión viral.	C.0	Inmediatamente post-contacto



INFORME DE RESULTADOS

		Incubar a temperatura ambiente y humedad controlada.	C.1	1 hs post-contacto
			C.4	4 hs post-contacto
			C.8	8 hs post-contacto
Control virus	Stock viral original	N/A	VIRUS	Antes del inicio del proceso

Se determinó la infectividad viral en cada una de las muestras tomadas por ensayos de titulación viral por dosis infecciosas 50% en cultivo de tejidos (TCID₅₀), utilizando el estimador estadístico de Reed y Muench (por duplicado). Se utilizaron como células indicadoras la línea CRFK.

Se realizó el cálculo de la actividad antiviral (A) de acuerdo a la fórmula:

$$A = C - T = \log_{10} [\text{concentración viral en superficie no tratada (C)}] - \log_{10} [\text{concentración viral en superficie tratada (T)}]$$

RESULTADOS

Ensayo de contaminación: EVA 14902

Ensayo de titulación EVA 14903 y EVA 14911

Tabla 2. Log del título viral promedio (TCID₅₀/ml) de cada una de las muestras tomadas durante el ensayo. IC95%: intervalo de confianza 95%.

Muestra	ID Muestras	Título viral (log TCID₅₀ ± IC95%)	Actividad antiviral (A)
Control citotoxicidad	ORI	no detectado	-
Propiedad antiviral	T.1	5,98 ±0,28	0,33
	T.4	5,09 ±0,39	1,72
	T.8	4,14 ±0,43	2,56
Control no tratado	C.0	6,81 ±0,22	-
	C.1	6,31 ±0,10	-
	C.4	6,81 ±0,44	-
	C.8	6,70 ±0,38	-
Control virus	VIRUS	6,42 ±0,29	-

- La muestra correspondiente al medio de cultivo en contacto con el área tratada con el revestimiento, así como las muestras tomadas durante todo el ensayo demostraron no ser citotóxicas cuando fueron inoculadas puras y diluidas 1/10 sobre las monocapa de células de la línea CRFK, ya que no se observó desadherencia, redondeamiento, lisis, depósito o precipitado. El límite de detección (LD) de la técnica se determinó en 10^{2.50} TCID₅₀/ml.
- No se observó reducción de la infectividad viral en la suspensión del CCOV en contacto con la superficie no tratada durante todo el periodo de contacto de 8 hs.



INSTITUTO DE VIROLOGIA
Centro de investigaciones en Ciencias Veterinarias y Agronómicas
INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGIA AGROPECUARIA

INFORME DE RESULTADOS

- Se observó una actividad antiviral por contacto de las áreas en estudio tratadas con el revestimiento LIQUID GUARD frente al CCoV de 0,33 log luego de 1 h de contacto, de 1,72 log luego de 4 h de contacto y de 2,56 log luego de 8 hs de contacto.

NOTA:

El valor de actividad antiviral puede ser usada para caracterizar la efectividad del agente antiviral. El valor de actividad antiviral utilizado para definir la efectividad debe ser acordado.

Los resultados emitidos en este informe se aplican a las muestras recibidas en el laboratorio exclusivamente utilizando el virus CCoV.

Todos los registros de ensayo originales se encuentran disponibles en el laboratorio de Virus Adventicios del Instituto de Virología del INTA, bajo el código interno PVA2810.

Dra. Irene Alvarez
Laboratorio de Virus Adventicios - Instituto de Virología - INTA