



**INFORME DE RESULTADOS**

---

FECHA: **09/12/2020**  
NUMERO DE PROTOCOLO: **PVA 2855**  
SOLICITANTE: **Guillermo Tarquini**  
**EVALUACION DE LA INACTIVACIÓN VIRAL POR CONTACTO**  
ANALISIS SOLICITADO: **Revestimiento con componentes acrílicos aditivado con nanopartículas de plata y zinc**

---

Se evaluó la capacidad de inactivación viral por contacto directo del producto revestimiento en base a copolímeros acrílicos aditivado con nanopartículas de plata y zinc elaborado por la empresa representada por Guillermo Tarquini sobre el Coronavirus Canino (CCoV) (Tabla 1).

Tabla 1: Virus modelo sugerido para el ensayo de evaluación de la inactivación viral.

Virus	Familia	Envoltura	Material genético	Tamaño (nm)	Resistencia	Modelo de:
Coronavirus canino (CCoV)	<i>Coronaviridae</i>	Si	ARN simple cadena	120-150	Baja-media	SARS-CoV2

El virus modelo propuesto para este estudio fue seleccionado, de acuerdo a las recomendaciones de la Agencia Europea para la Evaluación de productos medicinales (EMEA: *Guidance On Virus Validations Studies: The Design, Contribution And Interpretation Of Studies Validating The Inactivation And Removal Of Viruses, CPMP/BWP/268/95; 29.2. 1996.*) ya que:

- No es un agente zoonótico, por lo que no presentan un riesgo adicional para el operador
- Es posible obtener alto título en la producción de los stocks virales.
- Se dispone de un método eficiente y sencillo de evaluar la infectividad viral.

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 Guillermo Tarquini e INTA. 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.**

El ensayo se realizó sobre superficies de 5 x 5 cm<sup>2</sup> recubiertas con el revestimiento con componentes acrílicos aditivado con nanopartículas previamente aplicado (TRATADO). Estas áreas de estudio fueron contaminadas con 400 ul de una suspensión de virus CCoV e incubadas por 8 h en condiciones de temperatura y humedad controladas. Posteriormente se recuperó el virus lavando las áreas de ensayos con 10 ml de medio de cultivo.

Superficies de 5 x 5 cm<sup>2</sup> con el revestimiento con componentes acrílicos sin aditivos (CONTROL) fueron contaminadas con 400 ul de una suspensión 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



**INFORME DE RESULTADOS**

resto de las muestras. La Tabla 2 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 2 certificada.

Tabla 2. Esquema del proceso de contacto con el revestimiento con componentes acrílicos. Todas las condiciones fueron evaluadas por triplicado.

<b>Condición a evaluar</b>	<b>Muestra (1)</b>	<b>Tratamiento</b>	<b>ID Muestras</b>	<b>Momento de toma de la muestra</b>
Control citotoxicidad	Superficie CONTROL	Inoculación con 400 ul de medio de cultivo	ORI-C	8 h post-contacto
	Superficie TRATADA		ORI-T	8 h post-contacto
Propiedad antiviral	Superficie TRATADA	Inoculación con 400 ul de suspensión viral	T0	Inmediatamente post-contacto
			T2	2 h post-contacto
			T4	4 h post-contacto
			T8	8 h post-contacto
Control no tratado	Superficie CONTROL	Inoculación con 400 ul de suspensión viral	C0	Inmediatamente post-contacto
			C1	2 h post-contacto
			C4	4 h post-contacto
			C8	8 h post-contacto
Control virus	Stock viral original	N/A	VIRUS	Antes del inicio del proceso

(1) La superficie CONTROL Y TRATADA fue preparada por el cliente y sanitizada antes del ensayo.

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 (TCID<sub>50</sub>), utilizando el estimador estadístico de Reed y Muench. Se utilizaron como células indicadoras la línea CRFK para el virus CCoV.

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

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



**INFORME DE RESULTADOS**

**RESULTADOS**

Ensayo de contaminación: EVA 15142

Ensayo de titulación EVA 15143

Tabla 3. Log del título viral promedio (TCID<sub>50</sub>/ml) de cada una de las muestras tomadas durante el ensayo y reducción viral. IC95%: intervalo de confianza 95%.

Condición a evaluar	Tratamiento	ID Muestras	Título viral (Log TCID <sub>50</sub> )	Título viral promedio (Log TCID <sub>50</sub> ± IC95%)	Reducción viral (Log)
Control citotoxicidad	24 hs post contacto	ORI-C1	Efecto citotóxico	<3,06 ± 0,00	-
		ORI-C2	Efecto citotóxico		
		ORI-C3	Efecto citotóxico		
		ORI-T1	Efecto citotóxico	<3,06 ± 0,00	-
		ORI-T2	Efecto citotóxico		
		ORI-T3	Efecto citotóxico		
Propiedad antiviral	inmediatamente después de contaminado	T0.1	4,90	5,01 ± 0,39	0,67
		T0.2	5,40		
		T0.3	4,73		
	2 hs post contacto	T2.1	<3,06	<3,06 ± 0,00	No APLICA
		T2.2	<3,06		
		T2.3	<3,06		
	4 hs post contacto	T4.1	<3,06	<3,06 ± 0,00	No APLICA
		T4.2	<3,06		
		T4.3	<3,06		
	8 hs post contacto	T8.1	<3,06	<3,06 ± 0,00	No APLICA
		T8.2	<3,06		
		T8.3	<3,06		
Control no tratado	inmediatamente después de contaminado	C0.1	5,40	5,67 ± 0,29	-
		C0.2	5,90		
		C0.3	5,73		
	2 hs post contacto	C2.1	<3,06	<3,06 ± 0,00	>2,62
		C2.2	<3,06		
		C2.3	<3,06		
	4 hs post contacto	C4.1	<3,06	<3,06 ± 0,00	>2,62
		C4.2	<3,06		
		C2.3	<3,06		
	8 hs post contacto	C8.1	<3,06	<3,06 ± 0,00	>2,62
		C8.2	<3,06		
		C8.3	<3,06		
Control virus	N/A	VIRUS 1	5,90	6,01 ± 0,39	-
		VIRUS 2	5,73		
		VIRUS 3	6,40		



**INFORME DE RESULTADOS**

---

- La muestra correspondiente al medio de cultivo en contacto con el área tratada con el revestimiento con componentes acrílicos TRATADO y CONTROL, así como las muestras tomadas durante todo el ensayo demostraron ser citotóxicas cuando fueron inoculadas puras sobre las monocapa de células de la línea CRFK, ya que se observó desadherencia, redondeamiento, lisis celular. En las muestras diluidas 1/10 y mayores no se observó efecto citotóxico. El límite de detección (LD) de la técnica se determinó en  $10^{3.06}$  TCID<sub>50</sub>/ml.
- No se observó infectividad viral del CCoV en contacto con la superficie CONTROL durante el periodo de contacto de 2, 4 y 8 hs. El factor de reducción viral obtenido por contacto con la superficie CONTROL fue de >2,62 log.
- No se observó infectividad viral en la muestra tomada luego de las 2, 4 y 8 hs de contacto del CCoV con la superficie TRATADA.
- Si bien no se observó infectividad viral en la muestra tomada luego de las 2, 4 y 8 hs de contacto del CCoV con la superficie TRATADA, no puede establecerse un factor de actividad antiviral del revestimiento con componentes acrílicos aditivados TRATADO dado que no se observa infectividad viral en la superficie CONTROL usada como referencia.

**NOTA:**

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

*Los resultados emitidos en este informe se aplican exclusivamente a los ensayos realizados y descritos en este informe sobre a las muestras recibidas en el Laboratorio de virus Adventicios del INTA utilizando el virus modelo 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 PVA2855.*

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