

Comprobación de las propiedades virucidas de superficies de prueba tratadas con biocidas

Ensayo de portadores de gérmenes recubiertos con virucidas en la prueba práctica de portadores virucidas según la directiva del RKI (1995) así como de la JIS Z 2801 (2010) frente al Influenzavirus A (H1N1) -
Realización del ensayo S1 /21/01/2020

Informe breve acerca de la prueba de cribado

por
el Dr. Olaf Thraenhart y el Dr. Christian Jursch

Análisis: Enero de 2020

**Por encargo de: Nano-Care Deutschland AG
Alfred Nobel-Straße 10
D-66793 Saarwellingen**

Eurovir Hygiene-Labor GmbH
Im Biotechnologiepark 9
D-14943 Luckenwalde
Director general: Dr. Christian Jursch
Accionista principal: PD Dr. Olaf Thraenhart

Tribunal del distrito de Potsdam,
n.º de registro mercantil: HRB
26128 P
CIF: 050/108/05610 NIF:
DE 288863508

Banco: Mittelbrandenburgische
Sparkasse in Potsdam
SWIFT/BIC: WELA DE D1 PMB
IBAN: DE14 1605 0000 1000 9939 37

Por encargo de: Nano-Care Deutschland AG
Alfred Nobel-Straße 10
D-66793 Saarwellingen

Productos:

- Superficies de prueba: superficies cortadas en unas dimensiones de 1,6 x 6 cm
- 1.er producto: superficies de prueba recubiertas por un lado; con sustancia activa (muestras activas)
- 2.º producto: superficies de prueba sin sustancia activa (muestras en blanco)

Parámetro de prueba:

- Condiciones para que haya efecto: T = 21 °C y 60 % de humedad relativa del aire
- Carga de proteína: sin (más) carga; el material vírico (cobertura de cultivo celular) se aplicó sin modificación alguna
- Volumen/proporción de la superficie: aprox. 20 µL/cm²
- Suspensión vírica cubierta con lámina (LDPE, 50 µm) y recortada a aprox. 1,2 x 5 cm (6 cm²)
- Incubación para 1h, 8 h y 24 h en cámara climática KBF 115 (empresa Binder)

Sistema del ensayo:

- Influenzavirus A; H1N1; cepa: New Caledonia (origen: Chiron Behring, Marburgo)
- Células MDCK (células de riñón de mono verde africano [Cercopithecus aethiops]) (origen: Robert Koch-Institut, Berlín)

Método de ensayo:

- Los ensayos se llevaron a cabo de acuerdo con la directiva del RKI (1995), así como con la de JIS Z 2801 (2010) en una prueba cuantitativa de portadores virucidas a una T = 21 °C y 60 % de humedad relativa del aire (en cámara climática).
- Los ensayos se efectuaron sin ninguna carga adicional.

Tab. 1: Muestra de producto probado (recibida el: 13/01/2020)

N.º de orden	Producto (s)	Almacenamiento ¹
#1	Portador de gérmenes/recubierto con componente activo (muestra activa)	en tiempo real
#2	Portador de gérmenes/no recubierto o sin componentes activos (muestra en blanco)	en tiempo real

¹ = acceso restringido

Resultados:

Observaciones:

- Las superficies de prueba pudieron humedecerse ampliamente. Utilizando espátulas de vidrio se pudo crear una película líquida más o menos uniforme.
- Después de cubrir la película líquida con la lámina, el material del virus permaneció estable durante todo el tiempo de exposición, sin llegar a secarse por completo durante el periodo de observación. No obstante, no se observó ninguna reducción del volumen.

Tab. 2.1: Control del virus (determinación del título viral mediante titulación de punto final)

N.º de muestra	VK-1a	VK-1b	VK-2a	VK-2b	VK-3a	VK-3b
Criterio	Control del virus/1 h		Control del virus/8 h		Control del virus/24 h	
Título/volumen de ensayo (lg ID ₅₀)	3,15	3,3	3,45	3,15	2,7	3,15
Título de virus medio ± K (95%)¹	3,23 ± 0,36 / 100 µL		3,30 ± 0,33 / 100 µL		2,93 ± 0,34 / 100 µL	

¹ = cálculo del valor del título así como de su intervalo de confianza del 95 % según la directiva DVV/RKI

Tab. 2.2: Activación del virus (determinación del título viral mediante titulación de punto final)

N.º de muestra	In-1a	In-1b	In-2a	In-2b	In-3a	In-3b
Criterio	Inactivación/1 h		Inactivación/8 h		Inactivación/24 h	
Título/volumen de ensayo (lg ID ₅₀)	3,45	3,15	2,4	2,4	1,2	1,2
Título de virus medio ± K (95%) ¹	3,30 ± 0,32		2,40 ± 0,29		1,20 ± 0,33	
Reducción² (lg ID₅₀ ± K [95%])	-0,07 ± 0,48		0,90 ± 0,44		1,73 ± 0,47	

¹ = cálculo del valor del título así como de su intervalo de confianza del 95 % según la directiva DVV/RKI

² = reducción del virus: lg ID₅₀ del control del virus menos lg ID₅₀ de la muestra; según la directiva DVV/RKI

Resultados: (compárese Tab. 2)

- Debido al tiempo de permanencia del material del virus sobre las superficies de prueba, el virus de ensayo se redujo un poco pasadas 24 h, incluso sin una acción (adicional). En principio, esto es algo que ya se sabía y, por lo tanto, esperable. Cabe señalar que el alcance de la reducción puede clasificarse como muy bajo en comparación con la estabilidad general del virus de ensayo utilizado.
- Para evaluar la propiedad de inactivación del virus del revestimiento a probar, se determinó el correspondiente valor inicial del virus en cada momento de exposición (control(es) del virus en cada momento). El valor inicial del virus en el momento respectivo representa, pues, el punto de referencia para determinar la inactivación (reducción) del virus asociada al producto (compárese Tab. 2.1)
-

Dr. Christian Jursch

- Una vez expirado el tiempo de exposición ($t = 1, 8$ y 24 horas), y bajo las condiciones de prueba arriba indicadas, se determinaron los siguientes factores de reducción asociados al producto: tras 1 hora: $RF = -0,07 \pm 0,48$, después de $t = 8$ horas: $RF = 0,90 \pm 0,44$ y a las $t = 24$ horas: $RF = 1,73 \pm 0,47$ (compárese Tab. 2.2)

Conclusión:

- La película líquida aplicada a las superficies de prueba se mantuvo estable durante el período de observación; es decir, incluso al final del tiempo de exposición más largo el material del virus no estaba completamente seco. Esto indica que durante el período de observación debió darse un contacto continuo entre el material del virus y la superficie del portador del germen (en la fase líquida, la distribución del material del virus fue posible por difusión).
- Los datos llevan a la conclusión de que existe una reducción del virus, cuya causa puede atribuirse al recubrimiento con la sustancia activa.
- La velocidad de reacción fue más bien lenta durante el período de observación. Tras un tiempo de contacto de 1 hora todavía no se apreciaba ninguna inactivación del virus. Después de 8 horas la reducción del virus fue de aprox. un 90 % y pasadas 24 horas de casi un 99 %.
- El efecto de activación del virus observado en el revestimiento se registró con el virus de la gripe A (Influenzavirus A). Este virus de ensayo se considera generalmente como fácilmente inactivable, incluso dentro de los virus envueltos.

Dado en Luckenwalde, a 29 de enero de 2020



Dr. Christian Jursch
(Director general y jefe de laboratorio de Eurovir)