

Comprobacion de las propiedades virucidas sobre superficies de prueba tratadas con biozid

Prueba en portadores de gérmenes recubiertos con virucida en una prueba práctica de portadores basada en la directiva RKI (1995) así como en ISO 21702:2019 contra el virus de la Gastroenteritis transmisible (*TGEV*)

Prueba de funcionamiento S2 del 11./12.03.2020

Breve informe sobre la prueba de detección S2

Por:

PD Dr. Olaf Thraenhart y Dr. Christian Jursch

Investigación: Marzo 2020

Cliente: Nano-Care Deutschland AG
Alfred Nobel-Straße 10
D-66793 Saarwellingen

Cliente: Nano-Care Deutschland AG
Alfred Nobel-Straße 10
D-66793 Saarwellingen

Productos:

- Áreas de prueba: áreas de prueba cortadas a unas medidas de 1,6 cm x 6 cm
- 1er Producto: superficies de prueba recubiertas en un lado; recubierto con sustancia activa (muestras activas)
- 2° Producto: Áreas de prueba sin sustancia activa (muestra en cero)

parámetros de prueba:

- Condiciones de exposición: T = 25 °C y 90 % r.LF
- Carga de proteínas: sin carga (adicional); el material del virus (sobrenadante de cultivo celular) se aplicó sin cambios
- Relación volumen / área: aprox. 20 µL/cm²
- Suspensión de virus recubierto con película (LDPE, 50 µm) y recortada a aprox. 1,2 x 5 cm (6 cm²)
- Incubación durante 1h, 8h y 24h en cámara climática KBF 115 (Fa Binder)

Sistema de prueba:

- Transmissible Gastroenteritis Virus of Swine (TGEV), Cepa: Toyama 36 (Procedencia: Banco de virus del Instituto Friedrich Löffler, Isla de Riems)
- ST75/2 cells (foetal testis cells of swine) (Procedencia: instituto Robert Koch, Berlin)

Procedimiento de prueba:

- Las pruebas se llevaron a cabo según la directriz RKI (1995) e ISO 21702: 2019 en una prueba cuantitativa de portador virucida a T = 25 ° C y 90% HR (en una cámara climática).
- Las pruebas se llevaron a cabo sin una carga adicional.

Tab. 1: MUESTRAS DE PRODUCTOS SOMETIDOS A PRUEBA (Recibidos el: 08.03.2020)

Lfd. Nr.	Producto (s)	Almacenaje ¹
#1	Portador de germen / recubierto con componente activo (muestra activa)	en RT
#2	Portador de germen / sin recubrimiento o sin componente activo (muestra cero)	bei RT

¹= acceso restringido

Resultados:

Observaciones:

- Las áreas de prueba eran en gran parte humectables, haciendo uso de espátulas de vidrio se pudo lograr una capa líquida mas o menos uniforme.
- Después de recubrir la capa húmeda con la película el material del virus durante todo el tiempo de inactividad estable como película y no se secó completamente durante el tiempo de observación, mas sí se notó una reducción de volumen.

Tab. 2.1: Control del virus (Disposición de placa de microtitulación por medio de valoración final)

Prueba Nr.	VK-1a	VK-1b	VK-2a	VK-2b	VK-3a	VK-3b
Apreciación	Contr. Virus / 1 Hra.		Contr. Virus/ 8 Hrs.		Contr. Virus. / 24 Hrs.	
Titer/Testvol. (lg ID ₅₀)	4,2	4,8	4,05	3,9	2,25	2,85
Titulación de virus media ± K (95%)¹	5,50 ± 0,37 / 1 mL		4,98 ± 0,35 / 1 mL		3,55 ± 0,37 / 1 mL	

¹ = Cálculo del valor de titulación así como su intervalo de confidencialidad del 95 % según la norma DVV/RKI

Tab. 2.2: Inactivación de virus (Determinación del título de virus utilizando la valoración del punto final del título)

Prueba Nr.	In-1a	In-1b	In-2a	In-2b	In-3a	In-3b
Apreciación	Inactivación / 1 Hra.		Inactivación / 8 Hrs.		Inactivación / 24 Hrs.	
Título/Vol.de Prueba (lg ID ₅₀)	3,6	3,45	1,35	1,2	≤ 0,30	≤ 0,30
Título de virus mediano ± K (95%) ¹	4,53 ± 0,22 / mL		2,28 ± 0,29 / mL		≤ 1,30 / mL	
Reducción² (lg ID₅₀ ± K[95%])	0,97 ± 0,43		2,70 ± 0,46		≥ 2,25 ± 0,37	

¹ = Cálculo del valor de titulación así como su intervalo de confidencialidad del 95 % según la norma DVV/RKI =

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

Resultados: (cf. Tab. 2)

- A pesar de que el material del virus está cubierto por la película de LDPE, la cantidad de virus se redujo en cierta cantidad sin ninguna acción (adicional) sobre el material portador (después de 8 horas en aproximadamente 0.5 log y después de 24 horas en aproximadamente 2 logs)
- Por lo tanto, para evaluar la propiedad de inactivación del virus del recubrimiento a analizar, se determinó el valor del virus inicial correspondiente en cada tiempo de exposición (control de virus [en]). El valor de referencia del virus en el momento respectivo representa, por lo tanto, el punto de referencia para determinar la inactivación del virus asociada al producto (reducción del virus) (véase la Tabla 2.1).
- Después del término del tiempo de exposición (t = 1, 8 y 24 Stunden) y bajo las condiciones arriba mencionadas, se determinaron los siguientes factores de reducción asociados al producto: después de t = 1 hora: RF = 0,97 ± 0,43 y después de t = 8 horas: RF = 2,70 ± 0,46. Después de t = 24 no se pudieron comprobar virus residuales nachweisbar y la reducción de virus era de RF ≥ 2,25 ± 0,37.
- En el momento de t = 24 horas la cantidad de virus durante el control de virus se redujo a aprox. 2 Log Este era el factor de reducción verificable por razones técnicas en el momento t = 24 h menor a t = 8 h.

Conclusiones:

- La película líquida aplicada a las áreas de prueba fue estable durante el período de observación. eso significa Incluso al final de la exposición más larga, el material del virus no estaba completamente seco. Esto debería garantizar el contacto continuo entre el material del virus y la superficie del portador de gérmenes durante el período de observación y una distribución del material del virus por difusión en la fase líquida era posible.
- Después de $t = 1$ h ya hubo una reducción de virus de 0,97 log (corresponde 90 %) y después de $t = 8$ h el factor de reducción era de $RF = 2,7$ (corresponde 99,8 %).
- Por razones técnicas, el factor de reducción de virus detectable fue: $t = 24$ h $RF \geq 2,25$.
- Cabe señalar que la reducción comprobada del virus se puede atribuir al componente activo (dentro del recubrimiento).
- También debe mencionarse que los términos de la ISO 21702 proyectó eluso de una temperatura de incubación mayor que en S1 S1 (25 vs. 21 °C).
- La reducción de virus después de $t = 8$ h sugiere que con el tiempo de incubación $t = 24$ h se evidencia que la reducción de virus es mayor que con el método de titulación final. Aquí, la determinación del título de virus usando el Recubrimiento de gran volumen (LVP) posiblemente puede proporcionar una mejor declaración.

Luckenwalde, den 19.03.2020



Dr. Ch. Jursch
(GF und Laborleiter Eurovir)