



# Instituto Valenciano de Microbiología

Masía El Romeral  
Ctra. Bétera – San Antonio de Benagéber, Km 0,3  
46117 Bétera (Valencia)  
Tel. 96 169 17 02  
Fax 96 169 16 37  
e-mail: [ivami@ivami.com](mailto:ivami@ivami.com)  
[www.ivami.com](http://www.ivami.com)  
CIF B-96337217

Prueba con el certificado de BPLs  
(Buenas Prácticas de Laboratorio)  
Nº. 1/19-C.VAL. Dirección General de Farmacia  
y Productos Sanitarios de la Consellería de  
Sanidad de la Comunidad Valenciana.

## Prueba de actividad virucida con producto “SANIT BIO” frente a Coronavirus 229E (basado en norma EN 14476: 2014 + A2: 2019)

### Informe

Nº de registro: D/20/370

1. **Identificación del laboratorio**..... Instituto Valenciano de Microbiología.
2. **Identificación del cliente**..... S.A PRODER.  
Dirección ..... Paseo Sanllehy, 64.  
08213, Polinyà- Barcelona.
3. **Identificación de la muestra** (información suministrada por el cliente)
  - Nombre del producto ..... SANIT BIO.
  - Número de lote... ..... 59513.
  - Fecha de caducidad ..... 26/03/2023.
  - Fabricante / Proveedor ..... S.A PRODER.
  - Fecha de fabricación ..... No indicado.
  - Condiciones de conservación ..... Almacenar entre 5°C y 30°C. Evitar fuentes de calor, radiación, electricidad estática, y el contacto con alimentos.
  - Condiciones de uso ..... No indicado.
  - Diluyente del producto recomendado por el fabricante ..... No indicado.
  - Sustancia/s activa/s y su/s concentración/es (opcional)..... 1.6% Cloruro de bencil C12-C16 alquil-dimetilamonio, 1.6% de Cloruro de didecildimetilamonio, 1.6% de Cloruro de bencil C12-C14 alquildimetilamonio.
  - Concentración/es solicitada/s ..... 2,5%.

El laboratorio no se hace responsable de la información aportada por el cliente.

#### 4. Información de la recepción de la muestra

- Fecha de entrega del producto..... 08/04/2020.
- Fecha de solicitud con condiciones de prueba ..... 06/04/2020.
- Aspecto del producto recibido..... Líquido verde transparente en botella grande de plástico.

#### 5. Método de ensayo

Procedimiento **DESIN-6225**, basado en norma **EN 14476: 2014 + A2: 2019**.

#### 6. Condiciones experimentales

- Fecha de ensayos ..... 14/04/2020 a 22/04/2020.
- Temperatura de ensayo. ....  $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ .
- Método de titulación .....  $\text{TCID}_{50}$ .  
(Dosis infectiva 50% para cultivo celular)
- Concentraciones de ensayo ..... 10%; 2,5% y 0,1%.
- Tiempos de contacto ..... 1 minuto.
- Temperatura de contacto .....  $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ .
- Procedimiento para eliminar la citotoxicidad del producto ..... Filtración molecular.
- Procedimiento para detener acción del producto. Enfriamiento con hielo.
- Diluyente utilizado ..... Agua dura estéril.
- Aspecto de las diluciones del producto ..... Transparentes.
- Estabilidad de la mezcla ..... Estable.
- Sustancias interferentes:
  - Condiciones sucias en presencia de seroalbúmina bovina 3 g/L y 3 mL/L de eritrocitos.
  - Control interno de condiciones sucias, en presencia de seroalbúmina bovina 3 g/L.
- Identificación del origen de las cepas virales y número de pases .... Alícuota Coronavirus humano 229E: 04/03/19 pase 2.
- Líneas celulares (nombre, origen, nº de pases) ..... MRC-5, ref: FTMR, alícuota de trabajo 4, pases 11, 12 y 14.

## 7. Validación de los resultados del ensayo

### Coronavirus 229E (ATCC VR-740)

Título de la suspensión vírica para el virus control (1 minuto):

- En condiciones sucias.....log10<sup>-5,91</sup>
- En el control interno de condiciones sucias.....log10<sup>-5,91</sup>

Nivel de citotoxicidad (10%).....log10<sup>-0,5</sup>

Máximo detectable de inactivación vírica (diferencia entre título de la suspensión vírica y nivel de citotoxicidad):

- En condiciones sucias.....log10<sup>-5,41</sup>
- En el control interno de condiciones sucias.....log10<sup>-5,41</sup>

### Prueba de referencia (formaldehído 1,4%)

Nivel de citotoxicidad del formaldehído al 0,7%.....log10<sup>-0,5</sup>

Cuantificación vírica en la prueba de referencia (formaldehído) tras 15 minutos y con Coronavirus 229E .....log10<sup>-2,74</sup>

### Intervalo de confianza:

Título del virus con intervalo de confianza del 95% con Coronavirus 229E (1 minuto):

- Condiciones sucias.....log 10<sup>-5,91 ± 0,35</sup>
- Control interno de condiciones sucias.....log 10<sup>-5,91 ± 0,30</sup>

Reducción con el intervalo de confianza del 95%.....Ver tabla 1.

### Control de interferencia de la susceptibilidad celular:

- Título de la suspensión vírica para Coronavirus 229E con células no tratadas por la solución de ensayo del desinfectante " SANIT BIO ".....log10<sup>-5,99</sup>
- Título de la suspensión vírica para Coronavirus 229E con células tratadas por la solución de ensayo del desinfectante " SANIT BIO ".....log10<sup>-5,58</sup>

**Nota:** Para la determinación de la infectividad residual, se pueden utilizar solamente aquellas diluciones de la solución de ensayo del producto que: a) muestren un grado bajo de destrucción celular (< 25% de la monocapa) y b) produzcan una reducción logarítmica decimal del título viral <1log<sub>10</sub>.

## Control de la eficacia de supresión de la actividad del producto:

- Título de la suspensión vírica para Coronavirus 229E después de 30 minutos de incubación en baño de hielo, sin contacto del virus con el desinfectante " SANIT BIO".....log10<sup>-6,08</sup>
- Título de la suspensión vírica para Coronavirus 229E exponiendo el virus al desinfectante " SANIT BIO" e incubación durante 30 minutos en baño de hielo.....log10<sup>-5,74</sup>

**Nota:** La diferencia entre los logaritmos decimales entre el título del virus sin exponer al desinfectante y expuesto al desinfectante debe ser  $\leq 0,5$ .

## 8. Observaciones especiales

- Todos los controles y validaciones se encuentran entre los límites aceptados.
- Una concentración como mínimo muestra una reducción menor a 4 logaritmos.
- Una concentración como mínimo muestra una reducción mayor o igual a 4 logaritmos.

## 9. Presentación de los resultados del ensayo

### 9.1.-Descripción

El producto desinfectante **SANIT BIO**, lote **59513**, en condiciones sucias, a las concentraciones de 10% y 2,5% y con 1 minuto de exposición, **posee** actividad virucida frente a Coronavirus 229E (ATCC VR-740), con una reducción  $\geq 5,41 \pm 0,35$  TCID<sub>50</sub>, para ambas concentraciones, cuando se evalúa la actividad de acuerdo con el procedimiento interno DESIN-6225 basado en la norma EN 14476: 2014 + A2: 2019.

El producto desinfectante **SANIT BIO**, lote **59513**, en condiciones sucias, a la concentración de 0,1% y con 1 minuto de exposición, **no posee** actividad virucida frente a Coronavirus 229E (ATCC VR-740), con una reducción  $0,42 \pm 0,47$  TCID<sub>50</sub>, cuando se evalúa la actividad de acuerdo con el procedimiento interno DESIN-6225 basado en la norma EN 14476: 2014 + A2: 2019.

### 9.2.-Tablas y gráficos de resultados

Ver tablas 1 y 2 y figuras 1.

## 10. Conclusión

El producto desinfectante **SANIT BIO**, lote **59513** en condiciones sucias (3 g/L seroalbúmina bovina + 3 mL/L eritrocitos) y con un tiempo de contacto de 1 minuto, a la concentración de 2,5%, solicitada por el cliente, posee actividad virucida frente a Coronavirus 229E (ATCC VR-740), cuando se evalúa la actividad de acuerdo con el procedimiento interno DESIN-6225 basado en la norma EN 14476: 2014 + A2: 2019.

Las pruebas realizadas solo con Coronavirus 229E (ATCC VR-740), no permiten concluir que el producto probado muestra una actividad virucida general, sino solo que muestra actividad frente a Coronavirus.

Nota 1: Los resultados corresponden al producto recibido en el laboratorio.

Nota 2: Los datos que dependen de la información del cliente, y no sean facilitados por el mismo, aparecen como “no indicado”

Bétera (Valencia) a, 27 de abril de 2020

Fdo. Miguel Ángel Fernández  
Técnico responsable  
(Investigador)

### Revisión Garantía de Calidad:

La realización del ensayo y los resultados obtenidos ha sido supervisada por la Directora del Estudio.

La Directora Garante de Calidad ha inspeccionado la realización del ensayo comprobando que se realiza con el procedimiento y materiales/reactivos adecuados y con equipos calibrados, cumpliendo las especificaciones de Buenas Prácticas de Laboratorio (BPLs), y el informe final refleja fielmente los datos primarios.

Fdo. Ruth Novella  
Responsable de área  
(Directora de estudio)

Fdo. Encarnación Esteban  
Director técnico  
(Directora Garante de Calidad)

### Referencia:

- EN 14476: 2014 + A2 2019. Ensayo cuantitativo de suspensión para la evaluación de la actividad virucida en Medicina. Método de ensayo y requisitos (Fase 2/Etapa 1).

DESIN-6225-b//EN 14476: 2014 + A2: 2019, con Coronavirus

Nº. de registro D/20/370

Versión 1 (30-01-20)

Página 5 de 9

Instituto Valenciano de Microbiología

**Tabla 1.** Resultados de la actividad del producto **SANIT BIO**, lote **59513**, con Coronavirus 229E (ATCC VR-740), en condiciones sucias.

Producto	Concen- tración	Sustancia interferente	Nivel de citoto- xicidad	log <sub>10</sub> TCID <sub>50</sub> después de ..				Reducción con el intervalo de confianza del 95% después de 1 minuto
				0 min	1 min	5 min	15 min	
<b>SANIT BIO</b>	10%	3 g/L SAB + 3 mL/L eritrocitos	0,5	-	0,50	-	-	$\geq 5,41 \pm 0,35$
	2,5%		0,5	-	0,50	-	-	$\geq 5,41 \pm 0,35$
	0,1%		0,5	-	5,49	-	-	$0,42 \pm 0,47$
<b>SANIT BIO</b>	10%	3 g/L SAB	0,5	-	0,50	-	-	$\geq 5,41 \pm 0,30$
	2,5%		0,5	-	0,50	-	-	$\geq 5,41 \pm 0,30$
	0,1%		0,5	-	5,58	-	-	$0,33 \pm 0,46$
Control de virus	NA	3 g/L SAB + 3 mL/L eritrocitos	NA	5,99	5,91	NR	NR	NA
Control de virus	NA	3 g/L SAB	NA	6,00	5,91	NR	NR	NA
Formaldehído	0,7% (p:v)	NA	0,5	NR	NR	3,82	2,74	NA
Control de virus del formaldehído	0,7% (p:v)	NA	NA	5,91	NR	NR	5,83	NA
Control de susceptibilidad celular (diferencia logarítmica entre los títulos víricos utilizando células tratadas y sin tratar) .....log <sub>10</sub> <sup>-0,41</sup> Control de la eficacia de supresión de la actividad del producto (diferencia logarítmica entre los títulos víricos entre el virus control y el de la suspensión de ensayo) .....log <sub>10</sub> <sup>-0,34</sup>								
NA: no aplica; NR: no realizado Tiempos recomendados por Norma para superficies: máximo 5 ó 60 min Tiempos recomendados por Norma para instrumentos: máximo 60 min Tiempos recomendados por Norma para tratamiento higiénico de manos por fricción y lavado higiénico de manos: entre 30 y 120 segundos Existe actividad virucida cuando el título del virus muestra una reducción $\geq 4$ log. PBS: tampón fosfato salino, SAB: seroalbúmina bovina *: ver “Observaciones especiales” para entender el significado de estas concentraciones.								

**Tabla 2.** Resultados de la actividad del producto **SANIT BIO**, lote **59513** con Coronavirus 229E (ATCC VR-740), en condiciones de sucias (prueba de titulación con 12 pocillos).

Producto	Concen- tración	Sustancia interferente	Tiempo de contacto (min)	Diluciones (log10) <sup>a</sup>							
				1	2	3	4	5	6	7	8
<b>SANIT BIO</b>	10%	3 g/L SAB + 3 mL/L eritrocitos	1	0000 0000 0000	0000 0000 0000	0000 0000 0000	0000 0000 0000	0000 0000 0000	0000 0000 0000	0000 0000 0000	NR
	2,5%		1	0000 0000 0000	0000 0000 0000	0000 0000 0000	0000 0000 0000	0000 0000 0000	0000 0000 0000	0000 0000 0000	NR
	0,1%		1	4444 4444 4444	4444 4444 4444	4444 4444 4444	4444 4444 4444	3220 2223 2220	0000 0032 0000	0000 0000 0000	NR
<b>SANIT BIO</b>	10%	3 g/L SAB	1	0000 0000 0000	0000 0000 0000	0000 0000 0000	0000 0000 0000	0000 0000 0000	0000 0000 0000	0000 0000 0000	NR
	2,5%		1	0000 0000 0000	0000 0000 0000	0000 0000 0000	0000 0000 0000	0000 0000 0000	0000 0000 0000	0000 0000 0000	NR
	0,1%		1	4444 4444 4444	4444 4444 4444	4444 4444 4444	4444 4444 4444	2233 0230 2222	0110 0000 0020	0000 0000 0000	NR
Citotoxicidad	10%	3 g/L SAB + 3 mL/L eritrocitos	NA	0000 0000 0000	0000 0000 0000	0000 0000 0000	0000 0000 0000	0000 0000 0000	0000 0000 0000	0000 0000 0000	NR
Control de virus	NA	3g/L SAB + 3mL/L eritrocitos	0	4444 4444 4444	4444 4444 4444	4444 4444 4444	4444 4444 4444	3230 3223 2222	1020 0121 0202	0000 0000 0000	NR
			1	4444 4444 4444	4444 4444 4444	4444 4444 4444	4444 4444 4444	2423 0333 3222	0110 0201 2010	0000 0000 0000	NR
Control de virus	NA	3 g/L SAB	0	4444 4444 4444	4444 4444 4444	4444 4444 4444	4444 4444 4444	4444 4434 4344	0320 2000 1220	0000 0000 0000	NR
			1	4444 4444 4444	4444 4444 4444	4444 4444 4444	4444 4444 4444	4434 4444 3344	0200 2210 0200	0000 0000 0000	NR
Formaldehído	0,7 (p/v)	NA	5	4444 4444 4444	4444 4444 4444	2322 2320 2332	0102 2200 0010	0000 0000 0000	0000 0000 0000	0000 0000 0000	NR
			15	4444 4444 4444	2322 2223 2023	0021 0102 0000	0000 0000 0000	0000 0000 0000	0000 0000 0000	0000 0000 0000	NR
Control de citotoxicidad del formaldehído	0,7 (p/v)	3 g/L SAB + 3 mL/L eritrocitos	NA	0000 0000 0000	0000 0000 0000	0000 0000 0000	0000 0000 0000	0000 0000 0000	0000 0000 0000	0000 0000 0000	NR
Control de virus del formaldehído	0,7 (p/v)	NA	0	4444 4444 4444	4444 4444 4444	4444 4444 4444	4444 4444 4444	2332 0232 3322	0100 0021 1012	0000 0000 0000	NR
			15	4444 4444 4444	4444 4444 4444	4444 4444 4444	4444 4444 4444	2322 0302 3222	0212 0002 0110	0000 0000 0000	NR

Control de la susceptibilidad celular	NA	NA	Células sin tratar	CCCC CCCC CCCC	CCCC CCCC CCCC	CCCC CCCC CCCC	CCCC CCCC CCCC	CCCC CCCC CCCC	CCCC CCCC CCCC	CCCC CCCC CCCC	CCCC CCCC CCCC	NR
			Células tratadas	CCCC CCCC CCCC	CCCC CCCC CCCC	CCCC CCCC CCCC	CCCC CCCC CCCC	CCCC CCCC CCCC	CCCC CCCC CCCC	CCCC CCCC CCCC	CCCC CCCC CCCC	NR
Control de la eficacia de supresión de la actividad del producto	NA	3 g/L SAB + 3 mL/L eritrocitos	Sin producto	CCCC CCCC CCCC	CCCC CCCC CCCC	CCCC CCCC CCCC	CCCC CCCC CCCC	CCCC CCCC CCCC	CCCC CCCC CCCC	CCCC CCCC CCCC	CCCC CCCC CCCC	NR
			Con producto	CCCC CCCC CCCC	CCCC CCCC CCCC	CCCC CCCC CCCC	CCCC CCCC CCCC	CCCC CCCC CCCC	CCCC CCCC CCCC	CCCC CCCC CCCC	CCCC CCCC CCCC	NR

a) 1 a 4, virus presente y grado de efecto citopático en 12 unidades de cultivo celular, o grado de lesión celular en prueba de citotoxicidad.

C = efecto citopático con presencia de virus (en este caso y según norma no se tiene en cuenta el grado de efecto citopático únicamente, la presencia o ausencia del mismo).

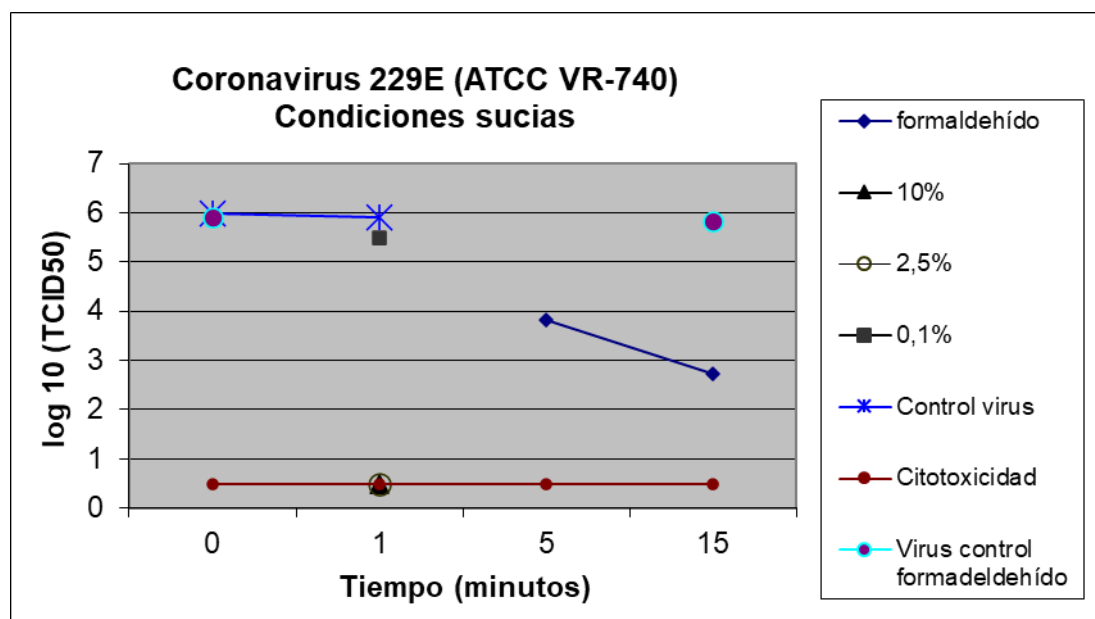
0 = virus no presente, o ausencia de lesión celular en prueba de citotoxicidad.

NA: no aplica; NR: no realizado; PBS: tampón fosfato salino; SAB: seroalbúmina bovina

\*: ver “Observaciones especiales” para entender el significado de estas concentraciones.



**Figura 1.** Resultados de la actividad del producto **SANIT BIO**, lote **59513**, a las concentraciones de 10%, 2,5% y 0,1%, con Coronavirus 229E (ATCC VR-740), en condiciones sucias y para el tiempo de contacto indicado.



**Figura 1.1** Resultados de la actividad del producto **SANIT BIO**, lote **59513**, a las concentraciones de 10%, 2,5% y 0,1%, con Coronavirus 229E (ATCC VR-740), bajo el control interno de condiciones sucias y para el tiempo de contacto indicado.

