



Junta de Andalucía

Consejería de Salud y Familias

SERVICIO ANDALUZ DE SALUD

HU VN HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN DE LAS NIEVES

Estudio Microbiológico

Análisis de efectividad antiviral de producto ductFIT® contra coronavirus, enterovirus y virus influenza A H1N1.

Método de Análisis

Metodología internacional ASTM E1053 para prueba de eliminación de virus en superficies

Ubicación del Test

Hospital Universitario Virgen de Las Nieves
Laboratorio Microbiología P3
Avda. de las Fuerzas Armadas Nº2 CP 18014 Granada



DETERMINACIÓN DE EFECTO ANTIVIRAL DE DISPOSITIVO ductFIT® DE Cleanair FRENTE A VIRUS DE LA GRIPE A H1N1, ENTEROVIRUS Y CORONAVIRUS

DISPOSITIVO PROBADO: DuctFIT 100, incluido en un equipo de ventilación similar al que se muestra en imagen (Anexo 1 : Ficha técnica)

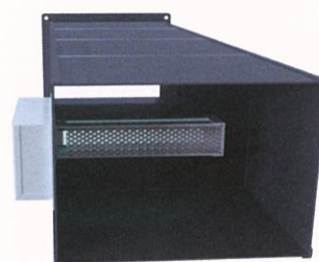


Foto del dispositivo utilizado para la realización del ensayo:



El dispositivo consiste en una unidad ductFIT instalada en un trozo de conducto de aire acondicionado con un pequeño ventilador para simular un equipo instalado en un sistema de aire acondicionado en un entorno real.



CEPAS VÍRICAS Y LÍNEAS CELULARES UTILIZADAS

- Enterovirus (EV): ECHOVIRUS 30 40588727; RD, pase 75.
- Virus de la gripe (FLU): AH1N1pdm09 41525709; MDCK-SIAT, pase 89.
- Coronavirus: CoV 229E ATCC VR-740; MRC-5, pase 28.

DESCRIPCIÓN DE EXPERIMENTO REALIZADO

14/05/20

PREPARACIÓN DE CÉLULAS

- RD (11/05/20): Preparar 2 placas microtiter.
- MDCK-SIAT (11/05/20): Preparar 30 shell vial.
- MRC-5 (29/04/20): Preparar 2 placas microtiter.

15/05/20

PREPARACIÓN DISPOSITIVO VIRICIDA

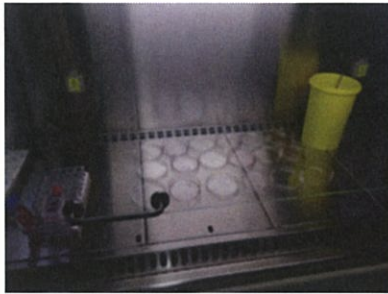
Colocar el dispositivo viricida y el humidificador en la habitación. Encenderlos 1 hora antes del inicio del experimento, humedad 60%.

PREPARACIÓN DE CARRIERS

- Placas de petri estériles tratadas para cultivo celular (100x20 mm).
- Se preparan 3 carriers por cada cepa de virus (total 9 placas).
- En CSB, añadir a la placa 1,1 ml del stock de cada cepa.
- Dejar que se seque durante 20 min.

DESCRIPCIÓN DE CARRIERS

- **C.0** (Control a tiempo 0): Para comprobar la carga vírica inicial. Se neutralizan inmediatamente antes de encender el aparato.
- **T.6** (Inóculo de virus sometido a la acción del equipo durante 6 horas): Colocar los carriers dentro del conducto de aire del dispositivo encendido y retirarlos a las 6 horas.
- **C.6** (Inóculo de virus no sometido a la acción del equipo durante 6 horas): Colocar los carriers fuera del dispositivo, lejos de la acción del mismo, en la misma habitación y retirarlos a las 6 h.



Secado Carriers 20 minutos



Carriers T.6.



Carriers C.6.

Los carriers se neutralizan con 2,2 mL de medio de inoculación correspondiente (dilución 1/2 respecto a lo inoculado): EV: MEM 0%; FLU AH1N1 y CoV 229E: MEM 0% TPCK-TRIPSINA. Re-suspender bien, rascando con asa o pipeta para arrastrar toda la carga vírica.

Poner la suspensión en tubos estériles y procesar inmediatamente.



SIEMBRA EN CULTIVOS CELULARES DE SUSPENSIÓN VIRUS RECUPERADAS DE LOS CARRIERS

1. ENTEROVIRUS (EV)

1.1 Cálculo de TCID₅₀.

100 uL suspensión virus + 900 uL MEM 0% → Hacer diluciones decimales hasta 10⁻⁷.

Inocular en placa microtiter RD, 100 ul/pocillo x 4 pocillos de cada dilución, 2 pocillos CN (MEM 0%).

2. Gripe AH1N1

2.1 Dado la poca capacidad de producir ECP evaluable de la cepa de gripe utilizada, se ha optado por Siembra en Shell Vial, para después cuantificar, por inmunofluorescencia (IF), el número de focos que se producen sobre la monocapa celular a las 48H.

Se ha inoculado 200 ul de suspensión virus, en 10 Shell-vial MDCK-SIAT (2 mL).

3. Coronavirus 229E

3.1 3.1. Cálculo TCID₅₀

100 uL suspensión virus + 900 uL MEM 0% TPCK-tripsina → Hacer diluciones decimales hasta 10⁻⁶.

Inocular en placa microtiter MRC-5, 100 ul/pocillo x 4 pocillos de cada dilución, 2 pocillos CN (MEM 0% TPCK-tripsina).

LECTURA DE RESULTADOS

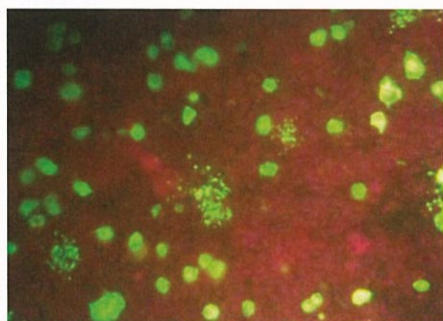
Para EV y coronavirus se realizará lectura ECP diaria para calcular TCID₅₀. Para AH1N1 se realizará tinción IF a las 48h para determinar no focos fluorescentes.

RESULTADOS

- Gripe AH1N1. Lectura de focos fluorescentes por SV:

N.º FOCOS FLUORESCENCIA			
	C.0	C.6.	T.6
1	68	37	0
2	67	48	0
3	77	38	0
4	70	28	0
5	63	35	1
6	81	46	0
7	70	47	0
8	64	32	0
9	73	41	0
10	78	31	0
TOTAL	711	383	1

C.0: inóculo inicial obtenido del carrier. C.6: inóculo obtenido del control a las 6 horas
T.6: inóculo obtenido de la muestra sometida a la acción del dispositivo a las 6 horas



Monocapa MDCK con focos fluorescentes de virus influenza A



Monocapa MDCK con ausencia de focos fluorescentes

Con respecto al inóculo inicial, el recuento de focos fluorescentes en muestra control a las 6 horas, detectó un 53,8%. La reducción de focos fluorescentes de T.6 respecto a C.6 fue del 99,75%, lo que indica una alta capacidad viricida del sistema frente al virus de la gripe probado.

Reducción virus H1N1 en 6 horas: 99.75%



- Enterovirus. TCID₅₀:

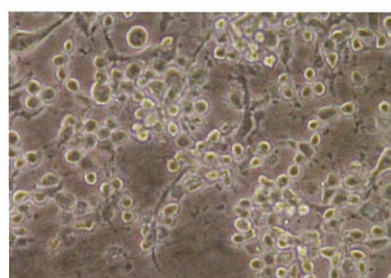
C.0	1	2	3	4	5	6	7	8
	10E-1	10E-2	10E-3	10E-4	10E-5	10E-6	10E-7	CN
A	P	P	P	P	P	P	P	N
B	P	P	P	P	P	P	N	N
C	P	P	P	P	P	P	P	
D	P	P	P	P	P	P	P	
T.6	1	2	3	4	5	6	7	8
	10E-1	10E-2	10E-3	10E-4	10E-5	10E-6	10E-7	CN
A	P	P	P	N	N	N	N	N
B	P	P	N	N	N	N	N	N
C	P	N	N	N	N	N	N	
D	P	P	N	N	N	N	N	
C.6	1	2	3	4	5	6	7	
	10E-1	10E-2	10E-3	10E-4	10E-5	10E-6	10E-7	CN
E	P	P	P	P	P	P	N	N
F	P	P	P	P	P	P	N	N
G	P	P	P	P	P	P	P	
H	P	P	P	P	P	N	P	

C.0: inóculo inicial obtenido del carrier. C.6: inóculo obtenido del control a las 6 horas

T.6: inóculo obtenido de la muestra sometida a la acción del dispositivo a las 6 horas



Monocapa RD normal (N)



Monocapa RD con ECP enterovirus (P)

La TCID₅₀ del inóculo inicial es $10^{-7,25}$. La del control a las 6 horas de $10^{6,75}$ y la de T.6 de $10^{-2,5}$; por tanto, hay una diferencia de 4,25 logaritmos entre C.6 y T.6, lo que indica una alta capacidad viricida del sistema frente al enterovirus probado.

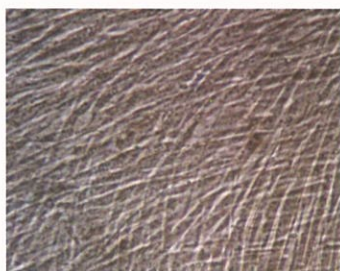
Reducción Enterovirus en 6 horas: 99.994%

- Coronavirus. TCID50

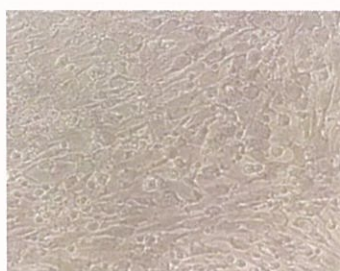
C.0	1	2	3	4	5	6	7
	10E-1	10E-2	10E-3	10E-4	10E-5	10E-6	CN
A	P	P	P	P	P	P	N
B	P	P	P	P	P	P	N
C	P	P	P	P	P	N	
D	P	P	P	P	N	N	
T.6	1	2	3	4	5	6	7
	10E-1	10E-2	10E-3	10E-4	CN	10E-6	CN
A	N	N	N	N	N	N	N
B	N	N	N	N	N	N	N
C	N	N	N	N	N	N	
D	N	N	N	N	N	N	
C.6	1	2	3	4	5	6	7
	10E-1	10E-2	10E-3	10E-4	10E-5	10E-6	CN
E	P	P	P	P	N	N	N
F	P	P	P	P	N	N	N
G	P	P	P	N	N	N	
H	P	P	P	N	N	N	

C.0: inóculo inicial obtenido del carrier. C.6: inóculo obtenido del control a las 6 horas

T.6: inóculo obtenido de la muestra sometida a la acción del dispositivo a las 6 horas



Monocapa MRC-5 normal (N)



Monocapa de MRC-5 con ECP de coronavirus (P)

La TCID50 del inóculo inicial es $10^{-5.7}$. La del control a las 6 horas de 10^{-4} y en T.6, no se obtuvo crecimiento en ningún pocillo; por tanto, hay una diferencia, como mínimo, de 4 logaritmos, entre C.6 y T.6, lo que indica una alta capacidad viricida del sistema, frente al coronavirus probado.

Reducción Coronavirus en 6 horas: 100%



RESUMEN DE RESULTADOS

Los equipos analizados han demostrado una reducción de virus tanto encapsulados como desnudos y se puede certificar de acuerdo al estudio realizado la alta capacidad viricida del sistema en todos los virus testados.

Virus	Reducción conseguida
Coronavirus	100%
Enterovirus	99.994%
Influenza A H1N1	99.75%

Granada 21 de mayo de 2020

Fdo. José Mª Navarro Mari
Jefe de Servicio Microbiología
HU Virgen de las Nieves. Granada

Fdo. Sara Sanbonmatsu Gámez F.E.A.
Microbiología
HU Virgen de las Nieves. Granada



ANEXO 1: FICHA TÉCNICA DE PRODUCTO EVALUADO

ductFIT®|100



Tecnología patentada ductFIT® CAS para eliminar hasta el 99.99% de virus y bacterias en aire y superficies.

Descripción

- Cubre una superficie de hasta 100 M2.
- Reduce sustancialmente olores, gases, humos, formaldehídos, benceno, COVs y otros tóxicos en el aire.
- 100% seguros para personas, animales y alimentos.

Aplicaciones

Hoteles, Oficinas, Hospitales, Residencias de ancianos, Gimnasios, Colegios, Administraciones Públicas...

Especificaciones

- Electricidad: 100 - 250 V
- Dimensiones: 29cm L x 18cm A x 32cm P
- Potencia: <18 W
- Max temp: < 94°C
- Peso: 2.5 Kg

Instalación

En los plenum o conductos de aire de los sistemas de climatización o de ventilación.

- La unidad puede cablearse a una conexión de 100 a 250 voltios.
- Necesario una apertura aproximada de 9 cm en el conducto
- Bajo mantenimiento – no se requiere limpieza

