



# 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 "ZOTAL ZERO" frente a Coronavirus, con desviaciones a la norma (basado en norma EN 14476: 2014 + A2: 2019)

### Informe

Nº de registro: D/20/232

1. Identificación del laboratorio..... Instituto Valenciano de Microbiología.
2. Identificación del cliente..... LABORATORIOS ZOTAL, S.L.  
Dirección ..... Carretera Nacional 630, Km. 809  
41900- Camas.
3. Identificación de la muestra (información suministrada por el cliente)
  - Nombre del producto ..... ZOTAL ZERO.
  - Número de lote... P002L01F20/03-1.
  - Fecha de caducidad ..... Marzo 2025.
  - Fabricante / Proveedor ..... LABORATORIOS ZOTAL.
  - Fecha de fabricación ..... No indicado.
  - Condiciones de conservación ..... Temperatura ambiente.
  - Condiciones de uso ..... Superficies.
  - Diluyente del producto recomendado por el fabricante ..... Agua.
  - Sustancia/s activa/s y su/s concentración/es (opcional)..... Bifenol-2-ol 4% - Clorocresol 0,9% - Ácido Glicólico 0,1%.
  - Concentración/es solicitada/s ..... 5%, 2,5% y 1%.

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..... 23/03/2020.
- Fecha de solicitud con condiciones de prueba ..... 23/03/2020.
- Aspecto del producto recibido..... Líquido transparente marrón en envase metálico comercial.

#### 5. Método de ensayo

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

#### 6. Condiciones experimentales

- Fecha de ensayos ..... 24/03/20 a 08/04/20.
- Temperatura de ensayos .....  $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ .
- Método de titulación ..... TCID<sub>50</sub>.  
(Dosis infectiva 50% para cultivo celular)
- Concentraciones de ensayo ..... 5%; 2,5% y 1%.
- Tiempos de contacto ..... 30 minutos.
- 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.
- 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 3, pases 16, 18 y 19.

## 7. Validación de los resultados del ensayo

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

Título de la suspensión vírica para el virus control (30 minutos):

- En condiciones sucias.....log10<sup>-5,82</sup>
  - En el control interno de condiciones sucias.....log10<sup>-5,82</sup>
- Nivel de citotoxicidad (80%).....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>-5,32</sup>
- En el control interno de condiciones sucias.....log10<sup>-5,32</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 (30 minutos):

- Condiciones sucias.....log 10<sup>-5,82 ± 0,34</sup>
- Control interno de condiciones sucias.....log 10<sup>-5,82 ± 0,34</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 " ZOTAL ZERO " .....log10<sup>-5,91</sup>
- Título de la suspensión vírica para Coronavirus 229E con células tratadas por la solución de ensayo del desinfectante " ZOTAL ZERO " .....log10<sup>-5,66</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 " ZOTAL ZERO".....log10<sup>-5,99</sup>
- Título de la suspensión vírica para Coronavirus 229E exponiendo el virus al desinfectante " ZOTAL ZERO" e incubación durante 30 minutos en baño de hielo.....log10<sup>-5,66</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.
- Ninguna concentración 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 **ZOTAL ZERO**, lote **P002L01F20/03-1**, en condiciones sucias, a las concentraciones de 5%, 2,5% y 1% y con 30 minutos de exposición, **posee** actividad virucida frente a Coronavirus 229E (ATCC VR-740), con una reducción  $\geq 5,32 \pm 0,34$  TCID<sub>50</sub>, para las tres concentraciones, cuando se evalúa la actividad de acuerdo con el procedimiento interno DESIN-6225 basado en la norma EN 14476: 2014 + A2: 2019, con desviaciones.

### 9.2.-Tablas y gráficos de resultados

Ver tablas 1 y 2 y figuras 1.

## 10. Conclusión

El producto desinfectante **ZOTAL ZERO**, lote **P002L01F20/03-1** en condiciones sucias (3 g/L seroalbúmina bovina + 3 mL/L eritrocitos) y con un tiempo de contacto de 30 minutos, a las concentraciones de **5% 2,5% y 1%**, solicitadas 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, con desviaciones a la norma puesto que no se ha ensayado ninguna concentración no activa.

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, 14 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/20/232

Versión 1 (30-01-20) Página 5 de 9

Instituto Valenciano de Microbiología