



**dictuc**  
INGENIERÍA QUE TRANSFORMA

Informe Número 1559103

---

# Ensayo de Efectividad Viricida Covid-19

Para New Clean Company Chile SpA

Santiago, 14 de abril de 2021

**Título del Proyecto: "Ensayo de Efectividad Viricida Covid-19"****Datos Mandante**

Razón Social	New Clean Company Chile SpA
RUT	76.173.070-3
Dirección	Av Bicentenario, 3883 of 701, Vitacura.

**Datos Cliente** (si es distinto al Mandante)

Razón Social	New Clean Company Chile SpA
RUT	76.173.070-3

**Contraparte técnica**

Nombre	N. A.
Cargo	N. A.
E-mail	N. A.

**Información Contractual**

Contrato Dictuc	N. A.
Orden de Compra	N. A.
Propuesta	N. A.

**Autores**

Jefe de Proyecto	César Antonio Sáez Navarrete
Empresa	DICTUC SA
RUT	96.691.330-4



Sr. César Sáez Navarrete  
Profesor Responsable  
Dictuc S.A.

Sr. Felipe Bahamondes  
Gerente General  
Dictuc S.A.

## CONTENIDO

1. Normas Generales .....	4
2. Resumen Ejecutivo.....	5
3. Introducción.....	6
4. Objetivos.....	7
5. Alcances .....	7
6. Metodología.....	8
7. Resultados.....	10
8. Conclusiones.....	12

## 1. Normas Generales

- El presente informe presenta los resultados finales del estudio “**Ensayo de Efectividad Viricida Covid-19**” desarrollado durante los meses de Enero-Abril de 2021.
- El presente informe fue preparado por **Dictuc** a solicitud del **Mandante** para verificar su actividad viricida según el test determinado por Dictuc.
- Los alcances de este estudio están definidos explícitamente en el capítulo del mismo nombre en el presente informe. Las conclusiones de este informe se limitan a la información disponible para su ejecución.
- Para el desarrollo de este estudio **Dictuc** utilizó la información individualizada en el Anexo 1. Dicho anexo identifica además las fuentes que proporcionaron dichos antecedentes.
- La información contenida en el presente informe no podrá ser reproducida total o parcialmente, para fines publicitarios, sin la autorización previa y por escrito de **Dictuc** mediante un Contrato de Uso de Marca. Tampoco puede ser representativa de un lote de producción/importación sin haber suscrito un Contrato de Certificación.
- El **Mandante** podrá manifestar y dejar constancia verbal y escrita, frente a terceros, sean estos autoridades judiciales o extrajudiciales, que el trabajo fue preparado por **Dictuc**, y si decide entregar el conocimiento del presente informe de **Dictuc**, a cualquier tercero, deberá hacerlo en forma completa e íntegra, y no partes del mismo.
- El presente informe es propiedad del **Mandante** sin embargo si **Dictuc** recibe la solicitud de una instancia judicial hará entrega de una copia de este documento al tribunal que lo requiera, previa comunicación por escrito al **Mandante**.
- El presente informe es resultado de las metodologías desarrolladas por **Dictuc**, del alcance del informe encomendado y de los antecedentes que el **Mandante** puso a disposición de **Dictuc**. El **Mandante** acepta expresamente que los resultados del presente informe pueden en definitiva, no serles favorables a sus intereses particulares.
- El **Mandante** declara conocer y aceptar los términos y condiciones generales para la prestación de servicios, disponibles para todo el público en su sitio web oficial [www.dictuc.cl/tyc](http://www.dictuc.cl/tyc).

## 2. Resumen Ejecutivo

Se realizó un estudio de actividad antiviral del producto comercialmente identificado como HAND CLEANER (KIDS HAND CLEAR – SURFACE CLEANER. -DELIVERY CLEANER – TOY CLEANER – YOGA CLEANER), proporcionado por el cliente, empleando virus aislado desde pacientes infectados con SARS-CoV-2 durante el periodo de pandemia en Chile en el año 2020. Las muestras virales fueron caracterizadas genéticamente para establecer que se trataba de SAR CoV 2 (variante de Wuhan, China, que había llegado a Chile en 2020). Los ensayos fueron realizados en laboratorio con nivel de bioseguridad NB-3, para el trabajo con virus altamente infecciosos.

Previo a los ensayos de actividad antiviral del producto sobre SARS-CoV-2, se realizaron ensayos para establecer la citotoxicidad sobre células biotecnológicas que se emplean como blanco de la infección. Los ensayos de actividad antiviral deben realizarse infectando células vivas biotecnológicas específicas, que son el medio de replicación de este tipo de coronavirus infeccioso; sin embargo, el producto ensayado podría mostrar citotoxicidad, enmascarando la efectividad antiviral del mismo; es decir, el producto podría matar las células biotecnológicas blanco, empleadas para ensayar la actividad antiviral, lo que indicaría un efecto citotóxico del producto, pero no necesariamente un efecto antiviral, que es lo que se desea probar en este estudio.

Los ensayos de actividad antiviral se realizaron bajo la Norma internacional ASTM E1053-20 “Medición de actividad viricida de químicos para desinfección de superficies ambientales inertes no porosas”, empleando la determinación de TCID<sub>50</sub>, o Dosis infecciosa que infecta el 50% de los cultivos celulares. Se ensayó el producto sin diluir y se utilizaron tiempos de contacto desinfectante – virus de 2, 10, 20 y 30 minutos. Se informan los tiempos de contacto de 2 y 10 minutos, ya que son tiempos suficientes para observar efectividad elevada.

De los resultados obtenidos, se concluye que: **(1)** Luego de dos minutos de contacto Producto – SARS-CoV-2, se observa una reducción de la carga viral del 99,99%; **(2)** El efecto potencialmente interferente de fluidos corporales al 5% en volumen, no tiene efecto en la efectividad anti SARS-CoV-2 del producto; **(3)** El neutralizador de citotoxicidad empleado resultó completamente efectivo con el producto ensayado. Esto permite establecer con claridad que el efecto citotóxico del producto, no interfirió con la capacidad anti SARS-CoV-2, determinada experimentalmente; **(4)** Se recomienda el uso del producto dada su elevada capacidad de eliminar el virus SARS-CoV-2 que causa la enfermedad COVID-19. El producto, elimina en 2 minutos el 99,99% de la carga viral existente en específico para de SARS-CoV-2, ya sea en presencia o ausencia de fluidos corporales.

### 3. Introducción

El SARS-CoV-2 es un virus cubierto por una membrana lipídica, característica que resulta beneficiosa al momento de considerar uno de los principales mecanismos que puede inactivarlo o destruirlo. Para este fin, pueden emplearse una miriada de diferentes tipos de compuestos químicos y bioquímicos que pueden microporar o destruir dicha pared viral lipídica, reduciendo o eliminando completamente su actividad antiviral. El virus empleado en este estudio fue obtenido desde pacientes infectados durante el periodo de pandemia en Chile a finales del año 2020. El virus fue caracterizado genéticamente para comprobar que efectivamente se trata de SARS-CoV-2 procedente en sus inicios de la variante China de la ciudad de Wuhan, forma en la que llegó inicialmente al país. Nuevas variantes provienen de la variante mencionada y sus mecanismos de inactivación son equivalentes para todos los coronavirus, de modo que se puede predecir que el efecto inactivador se presentará para otras variantes detectadas y nuevas, aunque la concentración de efectividad del producto pudiera tener algunas diferencias

La USEPA (2019), en su dirección web <https://cfpub.epa.gov/giwiz/disinfectants/index.cfm> ha puesto a disposición al público un listado de agentes activos desinfectantes que han sido testeados con SARS-CoV-2, o con agentes virales similares, demostrando su capacidad de inactivación o destrucción en términos de su concentración de producto activo y del tiempo de exposición necesario para lograr este objetivo. El listado esencialmente considera como agentes activos testeados anti SARS-CoV-2 los siguientes compuestos químicos:

**Tabla 1.** Listado resumido y traducido de agentes activos testeados anti SARS-CoV-2.

1,2 hexanodiol	Ác. glicólico	Tetra acetil etilendiamina
Bicarbonato de amonio	Ác. clorhídrico	Timol ((2-isopropil-5-metilfenol)
Carbonato de amonio	Peróxido de hidrógeno	Trietilenglicol
Dióxido de cloro	Ác. hipocloroso	Alcohol isopropílico
Ácido cítrico	Iodo	Ác. L-láctico
Ác. dodecibencensulfónico	Clorito de sodio	Ác. octanoico
Etanol	Dicloroisocianurato de sodio	Ác. peracético
Glutaraldehído	Hipoclorito de sodio	Ác. peroxi octanoico
Fenol	Peroximonosulfato de potasio	Amonio cuaternario
Plata (ion Plata)	Carbonato de sodio	peroxihidrato de carbonato de sodio
Clorito de sodio		

Este estudio experimental tiene como finalidad comprobar la capacidad viricida del producto HAND CLEANER (KIDS HAND CLEAR – SURFACE CLEANER. -DELIVERY CLEANER – TOY CLEANER – YOGA CLEANER) respecto del virus SARS-CoV-2 de la variante de Wuhan, China, llegado a Chile en 2020.

#### 4. Objetivos

El objetivo de este estudio es cuantificar la capacidad antiviral del producto HAND CLEANER (KIDS HAND CLEAR – SURFACE CLEANER. -DELIVERY CLEANER – TOY CLEANER – YOGA CLEANER) empleando ensayos de citotoxicidad, neutralización de citotoxicidad y actividad antiviral empleando SARS-CoV-2 y células biotecnológicas como medio de infección.

#### 5. Alcances

Los ensayos se realizarán empleando una muestra del producto HAND CLEANER (KIDS HAND CLEAR – SURFACE CLEANER. -DELIVERY CLEANER – TOY CLEANER – YOGA CLEANER), proporcionado por el cliente. El virus utilizado proviene de cultivos de pacientes infectados durante el periodo de pandemia en Chile de fines de 2020 (variante de Wuhan, China, que había llegado a Chile en 2020).

## 6. Metodología

La metodología se basó en ensayos TCID<sub>50</sub>, o Dosis infecciosa que infecta el 50% de los cultivos celulares, empleando la Norma internacional ASTM E1053-20 sobre “Medición de actividad viricida de químicos para desinfección de superficies ambientales inertes no porosas”. Para ello, se contactó el virus directamente con el producto concentrado y diluido, contactando la carga viral resultante con células para estudios biotecnológicos, susceptibles de ser infectadas por el virus. Una infectividad nula de las células empleadas implicará entonces que el virus se encontraría inactivo, incapaz de infectar y de propagarse. Ensayos adicionales fueron realizados simulando la presencia de fluidos corporales empleando suero fetal bobino al 5% en volumen, contactando el producto viral resultante con las células biotecnológicas empleadas para determinar su capacidad infectiva. Los ensayos se desarrollaron además para diversos tiempos de contacto de los cuales se informan 2 min.

Para los ensayos con SARS-CoV-2 se utilizaron concentraciones virales iniciales del orden de  $5 \times 10^6$  unidades formadoras de placa por mililitro.

Previo a los ensayos con SARS-CoV-2, se realizaron ensayos de citotoxicidad contactando el producto HAND CLEANER (KIDS HAND CLEAR – SURFACE CLEANER. -DELIVERY CLEANER – TOY CLEANER – YOGA CLEANER) a diversas concentraciones con las células para estudios biotecnológicos empleadas, de modo de establecer si el producto por sí solo eliminaba las células. Dado que este efecto podría ser confundente respecto de la efectividad antiviral del producto ensayado, se procedió a indagar y probar diferentes compuestos neutralizadores del efecto citotóxico del producto.

Luego de probar neutralizadores de citotoxicidad disponibles en el mercado, se seleccionó el Caldo Dey-Engley para estos fines. El Caldo Dey-Engley se utiliza para cultivar una amplia variedad de microorganismos, debido a su efecto neutralizador de la mayoría de los productos desinfectantes y antimicrobianos existentes comercialmente.

Los ensayos de evaluación de actividad antiviral TCID<sub>50</sub>, o de dosis infecciosa o de dilución viral que infecta el 50% de los cultivos celulares, para cada dilución del producto y diversos tiempos de contacto, se llevaron a cabo. Un volumen de 200  $\mu$ L de virus infeccioso SARS-CoV-2 a una concentración de  $5 \times 10^6$  unidades formadoras de placa por mililitro, fue agregado a una serie de recipientes para cultivo celular, dejándola secar por 15 minutos en una campana de flujo laminar. Una vez seco cada recipiente de la placa, se agregó a cada una de ellas 1 mL del producto y se contactó por tiempos variables para evaluar el efecto del tiempo de contacto. Posteriormente, se agregó a cada pocillo 1 mL de neutralizador citotóxico. Luego se realizaron una serie de diluciones seriadas, donde cada dilución fue agregada en duplicados a una placa de 96 pocillos con una monocapa de células para ensayos biotecnológicos. El tiempo de incubación del virus en las células empleadas se realizó a 37°C, simulando la temperatura de un ser humano. A través de un microscopio se observaron los pocillos que mostraban células con efecto citopático, para registrarlos por pocillo, dilución y tiempo de contacto. Los lotes control se incubaron sin producto y con medio de infección al virus específico para referirlos a los ensayos con el producto a modo de referencia.

Adicionalmente, se simuló la acción del producto con suero fetal bobino al 5% en volumen como agente que emula la presencia de secreciones corporales que podrían resultar interferentes al efecto viricida del producto que se quiere cuantificar.

## 7. Resultados

### Neutralizador de citotoxicidad para células biotecnológicas empleadas como medio de infección viral

HAND CLEANER (KIDS HAND CLEAR – SURFACE CLEANER. -DELIVERY CLEANER – TOY CLEANER – YOGA CLEANER) no presentó citotoxicidad en las concentraciones ensayadas, empleando el agente neutralizante Caldo Dey-Engley, recomendado para la mayoría de los productos desinfectantes y antimicrobianos comerciales.

### Evaluación de la actividad viricida (anti SARS-CoV-2) del producto

La tabla siguiente muestra los resultados obtenidos de la actividad antiviral del producto para tiempos de contacto del producto y el SARS-CoV-2 de 2 y 10 minutos.

**Tabla 2.** Efectividad antiviral del producto sobre SARS-CoV-2.

Tiempo de contacto	10 minutos	2 minutos	10 minutos
	<b>Control</b>	<b>NGXCELL al 100%</b>	<b>NGXCELL al 100%</b>
<b>Log<sub>10</sub> TCID<sub>50</sub></b>	5,50	1,50	1,50
<b>Log reducción</b>	---	4,00	4,00
<b>% Reducción</b>	---	99,990	99,990

Se emplea la notación Log<sub>10</sub> TCID<sub>50</sub> debido a que las concentraciones virales empleadas y cuantificadas luego de los tratamientos se encuentran entre 10<sup>1,5</sup> y 10<sup>5,5</sup>. En efecto, y a modo de ejemplo explicatorio de las cuantificaciones resumidas en la Tabla 4; una reducción de la carga viral de 10<sup>5,5</sup> hasta 10<sup>1,5</sup> implica una reducción de la misma de  $(1-(10^{1,5}/10^{5,5})) * 100$ , en términos de reducción porcentual; esto es, un 99,990% de eliminación de carga viral.

Se observa, por tanto, una reducción de la carga viral incluso con solo 2 minutos de contacto, mostrando su gran capacidad viricida frente al SARS-CoV-2.

### Evaluación de la capacidad viricida (anti SARS-CoV-2) del producto, en presencia de fluidos corporales como potenciales interferentes

La Tabla 3 (3a y 3b), a continuación, muestra los resultados de los ensayos empleando suero vacuno fetal como interferente que emula fluidos o secreciones corporales diversas.

**Tabla 3a.** Valores promedio del título viral en ausencia o presencia de 5% Suero Fetal Bovino

Muestra	NCGXCELL al 100%	Control
<b>Suero +</b>	0,95	5,05
<b>Suero -</b>	0,92	5,10
<b>Diferencia Log<sub>10</sub> TCID<sub>50</sub></b>	< 0,5 Log <sub>10</sub>	< 0,5 Log <sub>10</sub>

**Tabla 3b.** Valores promedio del porcentaje de reducción de virus infeccioso en ausencia o presencia de Suero Fetal Bovino al 5%.

Muestra	NCGXCELL al 100%
<b>Suero + (% Reducción)</b>	99,992
<b>Suero - (% Reducción)</b>	99,993

De los resultados obtenidos se observa que la presencia de suero fetal bobino como emulador de fluidos corporales como interferentes (ensayo relevante para aplicaciones en centros de salud y hospitales), no muestra un efecto sobre la elevada capacidad anti SARS-CoV-2 del producto

## 8. Conclusiones

**(1)** Luego de dos minutos de contacto Producto – SARS-CoV-2, se observa una reducción de la carga viral del 99,99%.

**(2)** El efecto potencialmente interferente de fluidos corporales al 5% en volumen, no tiene efecto en la efectividad anti SARS-CoV-2 del producto.

**(3)** El neutralizador de citotoxicidad empleado resultó completamente efectivo con el producto ensayado. Esto permite establecer con claridad que el efecto citotóxico del producto, no interfirió con la capacidad anti SARS-CoV-2, determinada experimentalmente.

**(4)** Se recomienda el uso del producto dada su elevada capacidad de eliminar el virus SARS-CoV-2 que causa la enfermedad COVID-19. El producto, elimina en 2 minutos el 99,99% de la carga viral existente en específico para de SARS-CoV-2, ya sea en presencia o ausencia de fluidos corporales.