Mantenimiento de la actividad de RELY+ON™ VIRKON™ para la descontaminación de superficies de instalaciones de animales

Pascual Álvarez G.[1], Garrido Velayos D.[2], Mengibar Vallejo M.P.[3], y de Miguel Casas M.P.[3]
[1]*Jefe del Servicio de Seguridad Biológica, Centro de Investigación en Sanidad Animal, INIA*
[2]*Jefe de Equipo de Seguridad Biológica, TRAGSATEC*
[3]*Técnicos de Seguridad Biológica, TRAGSATEC*

Palabras clave: biocidas, Virkon, estabilidad.

RESUMEN

El presente estudio muestra el comportamiento en el tiempo del producto RELY+ON™ VIRKON™ al 2%, cuando es sometido a diferentes temperaturas, rangos de iluminación y cargas orgánicas, y comprobar cómo los posibles cambios afectan a su acción bio-descontaminante o biocida.

Con el fin de prevenir o eliminar la presencia de agentes biológicos patógenos, su estabilidad resulta fundamental para una eficaz aplicación en instalaciones de cualquier tipo.

INTRODUCCIÓN

Los estudios de estabilidad de un biocida se realizan para establecer, garantizar y asegurar su actividad en un tiempo determinado, bajo la influencia de diferentes factores ambientales físicos (temperatura e iluminación), químicos (pH) u otros (presencia de materia orgánica). En todo caso, el estatus de limpieza previo del material empleado debe tomarse siempre en consideración con el fin de garantizar al máximo la acción biocida en su espectro de actuación.

OBJETIVO

Determinar el mantenimiento o disminución de la eficacia en el tiempo del bio-descontaminante Rely+On™ Virkon™ cuando es sometido a la influencia de factores medioambientales; de forma que se mantenga una confianza en su actividad dentro de un rango de seguridad y que este conocimiento pueda ser utilizado como herramienta de control del virus de la peste porcina africana. El presente estudio se desarrolla entre los meses de abril de 2018 y mayo de 2019.

MATERIAL UTILIZADO

- RELY+ON™ VIRKON™. Formato sólido en polvo en contenedor de 5 kg. Lote: 1708BA0247, caducidad 08/2020.
- 2 baños termostáticos P-Selecta.
- 1 frigorífico Liebherr Premium Nofrost.
- 2 estufas (P-Selecta Rotabit). Cualificación térmica vigente.
- Balanza de precisión (Kern, modelo 572). Calibración interna vigente.
- Pipetas Pasteur y 25 botes de cristal (10/20 transparentes y 5 topacios).
- Medidor multiparamétrico de pH, temperatura y conductividad (Hanna Instruments, modelo HI991300). Calibración externa vigente.
- Luxómetro (Testo, modelo 545 Lux fc.). Certificado de calibración vigente.
- Cabina de Seguridad Biológica (Telstar Biostar Plus 3S). Cualificación vigente.
- Incubador Nuaire Us Autoflow. Cualificación térmica y de gases vigente.

METODOLOGÍA

Prueba 1

El ensayo se realizó, durante 5 días, en una estancia con iluminación natural a diferentes temperaturas, en ausencia o en contacto con el aire exterior.

Se tomaron 15 frascos de vidrio transparente, divididos en 5 lotes identificados como "A, B, C, D y E", sometidos a diferentes temperaturas (ver Tabla 1): A. 4ºC; B. 22ºC; C. 30ºC; D. 40ºC; y E. 50ºC.

Cada lote cuenta con 3 réplicas en contenedores numerados del 1 al 3 según el siguiente criterio: 1) ausencia de tapón, 2) presencia de tapón, y 3) control, presencia de tapón y con envoltura exterior de papel de aluminio.

Se preparan los 15 frascos con 500 ml de agua de grifo (procedente del Canal de Isabel II, a 21ºC y con pH entre 6,87-7,23) y 10 g de RELY+ON™ VIRKON™ (mezcla al 2%).

Se monitoriza pH, temperatura, iluminación y un estudio organoléptico (ver Tabla 2).

Prueba 2

El proceso se desarrolla de igual forma que en la prueba 1, pero en una estancia sin iluminación natural y sometido a luz artificial ininterrumpida durante los 5 días de ensayo (ver Tablas 3 y 4).

Prueba 3

Se ensayan, durante 5 días, diferentes cantidades crecientes de materia orgánica (MO) como interferente de actividad, a dos temperaturas (22ºC y 30ºC), controlando el pH (ver Tablas 5 y 6) y verificando presencia o ausencia de crecimiento mediante cultivo y conteo de unidades formadoras de colonias (UFC) en placas de Petri con Triptiso y Agar (TSA) (ver Tabla 7). No se realizan pruebas organolépticas.

El agua de partida presenta una temperatura de 19ºC y un pH entre 6,83 y 8,32. Los lotes se organizan en función de la materia orgánica añadida:

- 22ºC: A. 25 g; B. 50 g; C. 75 g; y D. 100 g.
- 30ºC: E. 25 g; F. 50 g; G. 75 g; y H. 100.

Prueba 4

En base a los resultados obtenidos en la prueba 3, se descartan datos y se trabaja con 25 g y 50 g de materia orgánica, durante 5 días, a temperaturas de 22ºC y 30ºC (ver Tablas 8 y 9).

Se realiza, diariamente, un cultivo de ensayo de 0,5 ml en placas TSA (6 muestras: 30 placas) (ver Tabla 10). El agua de partida tiene un pH de 7,50-7,80 y temperatura de 24ºC.

- Lote A (22ºC): A1. sin MO; A2. 25 g de MO; y A3. 50 g de MO.
- Lote B (30ºC): B1. sin MO; B2. 25 g de MO; y B3. 50 g de MO.

Prueba 5

Repetición de ensayos de prueba 4 (ver Tablas 11, 12 y 13) a temperatura de agua 8ºC y pH entre pH 8,80-8,93.

Prueba 6

Repetición de ensayos de pruebas 4 y 5. Temperatura de agua 21,5ºC y pH entre 8,80-8,96 (ver Tablas 14 y 15).

Tabla 1.- Variación de pH a distintas temperaturas (Tª), iluminación natural variable y contacto con aire exterior: (1) frasco abierto; (2) frasco cerrado; (3) frasco cerrado y recubierto con aluminio.

LOTE			LUNES		MARTES		MIÉRCOLES		JUEVES		VIERNES		V final (ml)
			pH	lux	pH	lux	pH	lux	pH	lux	pH	lux	
4 ºC	A	A1	1,95	0	2,04	0	2,13	0	2,07	0	2,13	0	500
		A2	1,86	0	2,05	0	1,97	0	1,97	0	2,12	0	500
		A3	1,87	0	2,06	0	1,99	0	2,02	0	2,08	0	500
22ºC	B	B1	1,84	330	2,04	700	2,05	698	1,98	367	2,04	517	500
		B2	183	330	2,06	700	2,07	698	1,93	367	2,05	517	500
		B3	2,6	330	2,55	700	2,21	698	2,04	367	2,11	517	500
30ºC	C	C1	1,87	330	2,14	595	2,06	595	1,99	565	2,1	370	500
		C2	1,8	330	2,08	595	1,98	595	1,94	565	2,07	370	500
		C3	1,76	330	2,07	595	1,97	595	1,93	565	2,06	370	500
40ºC	D	D1	1,77	23	2,14	50	2	42	1,9	38	1,96	43	425
		D2	180	23	2,08	50	1,99	42	1,87	38	2	43	500
		D3	1,75	23	2,07	50	1,98	42	1,9	38	2,02	43	500
50ºC	E	E1	1,73	330	1,99	642	1,98	573	1,94	723	2,01	1020	425
		E2	1,71	330	2,15	642	1,95	573	1,93	723	2	1020	500
		E3	1,69	330	2,17	642	1,99	573	1,94	723	2,01	1020	500

RESULTADOS

Prueba 1

Semana del 16-20/04/2018

	LUNES	MARTES	MIÉRCOLES	JUEVES	VIERNES
Cambio de color	-	A, D, E	A, D, E	A, D, E	A, D, E
Líquido homogéneo	-	B, C, D, E	B, C, D, E	B, C, D, E	B, C, D, E
Partículas / Precipitación	-	A	A	A	A
Sedimentación	-	A	A	A	A
Olor	-	E	E	E, D	D
Separación de fases	-		A	A	A

Tabla 2.-Estudio Organoléptico de la prueba 1.

Prueba 2

Semana del 7-11/05/2018

Tabla 3.-Variación semanal de pH a distintas temperaturas y nivel de iluminación artificial en lux; (1) frasco abierto; (2) frasco cerrado; (3) frasco cerrado y recubierto con aluminio.

LOTE			LUNES		MARTES		MIÉRCOLES		JUEVES		VIERNES		V final (ml)
			pH	lux	pH	lux	pH	lux	pH	lux	pH	lux	
4 ºC	A	A1	3,16	0	2,06	0	1,93	0	1,91	0	1,93	0	500
		A2	2,65	0	2,04	0	2,03	0	1,99	0	1,93	0	500
		A3	2,85	0	2,05	0	2,05	0	1,95	0	1,87	0	500
22ºC	B	B1	2,67	20	1,95	24	2,23	32	1,88	27	1,95	23	500
		B2	2,28	20	1,93	24	2,14	32	1,99	27	1,96	23	500
		B3	2,28	20	1,97	24	2,12	32	2,01	27	1,94	23	500
30ºC	C	C1	2,27	15	2,06	18	2,05	23	2,04	11	2,06	17	500
		C2	2,9	15	2,07	18	2,21	23	1,96	11	2	17	500
		C3	3,09	15	2,01	18	2,11	23	1,95	11	1,98	17	500
40ºC	D	D1	2,98	0	2	0	1,99	0	1,94	0	1,9	0	425
		D2	3,01	0	2,09	0	2,09	0	2,05	0	1,99	0	500
		D3	3,11	0	1,97	0	1,95	0	1,97	0	1,93	0	500
50ºC	E	E1	2,46	17	2,6	13	2,08	22	2,02	17	2,07	16	425
		E2	3,01	17	1,97	13	2,03	22	1,96	17	2,01	16	500
		E3	3,12	17	1,99	13	2,06	22	2,02	17	2,98	16	500

	LUNES	MARTES	MIÉRCOLES	JUEVES	VIERNES
Variación de color	-	D1, E	D1, E1, E2	D1, E1, E2	D, E
Homogeneidad	-	A, B, C, D2, D3, E	A, B, C, D2, D3, E	A, B, C, D2, D3, E	A, B, C1, C3, D, E
Partículas/Precipitación	-	A1	A1	Ninguno	Ninguno
Sedimentación	-	A1	A1	Ninguno	Ninguno
Olor	-	E	E1, E2	D1	C, D, E
Separación de fases	-	D1	D1	D1	C2

Tabla 4.-Prueba 2. Estudio Organoléptico.

Prueba 3

Semana del 21-25/05/2018

Tabla 5.- Comparativa de pH e iluminación (en lux) a 22ºC y 30ºC; a distinto contenido de materia orgánica (MO en g): (1) frasco abierto; (2) frasco cerrado; (3) frasco cerrado y recubierto con aluminio.

LOTE			MO (g)	LUNES		MARTES		MIÉRCOLES		JUEVES		VIERNES	
				pH	lux	pH	lux	pH	lux	pH	lux	pH	lux
22ºC	A	A1	25	2,62	112	2,75	157	2,18	157	2,18	252	2,16	215
		A2		2,62	112	2,41	157	2,27	157	2,27	252	2,24	215
		A3		2,61	112	2,27	157	2,29	157	2,28	252	2,22	215
	B	B1	50	2,25	112	2,43	157	2,41	157	2,4	252	2,34	215
		B2		2,25	112	2,48	157	2,58	157	2,56	252	2,54	215
		B3		2,25	112	2,7	157	2,42	157	2,43	252	2,38	215
	C	C1	75	2,26	112	2,63	157	2,56	157	2,52	252	2,51	215
		C2		2,26	112	3,1	157	3,55	157	3,65	252	3,67	215
		C3		2,26	112	2,96	157	3,27	157	3,34	252	3,46	215
	D	D1	100	2,27	112	4,01	157	4,38	157	4,53	252	4,61	215
		D2		2,27	112	3,01	157	3,28	157	3,25	252	3,21	215
		D3		2,27	112	2,88	157	2,86	157	2,84	252	3,37	215
30ºC	E	E1	25	2,27	0	2,35	0	2,3	0	2,27	0	2,27	0
		E2		2,27	0	2,25	0	2,23	0	2,21	0	2,2	0
		E3		2,27	0	2,31	0	2,26	0	2,24	0	2,24	0
	F	F1	50	2,27	0	2,5	0	2,52	0	2,47	0	2,48	0
		F2		2,27	0	2,42	0	2,44	0	2,41	0	2,47	0
		F3		2,27	0	2,78	0	2,96	0	2,93	0	2,94	0
	G	G1	75	2,25	0	2,67	0	2,61	0	2,61	0	2,64	0
		G2		2,25	0	2,65	0	2,74	0	2,76	0	2,79	0
		G3		2,25	0	2,6	0	2,63	0	2,61	0	2,67	0
	H	H1	100	2,28	0	2,51	0	2,73	0	2,74	0	2,76	0
		H2		2,28	0	2,83	0	2,77	0	2,77	0	2,79	0
		H3		2,28	0	2,46	0	2,61	0	2,7	0	2,75	0

Tabla 6.- Prueba 3. Evolución del pH respecto a la carga orgánica/tiempo.

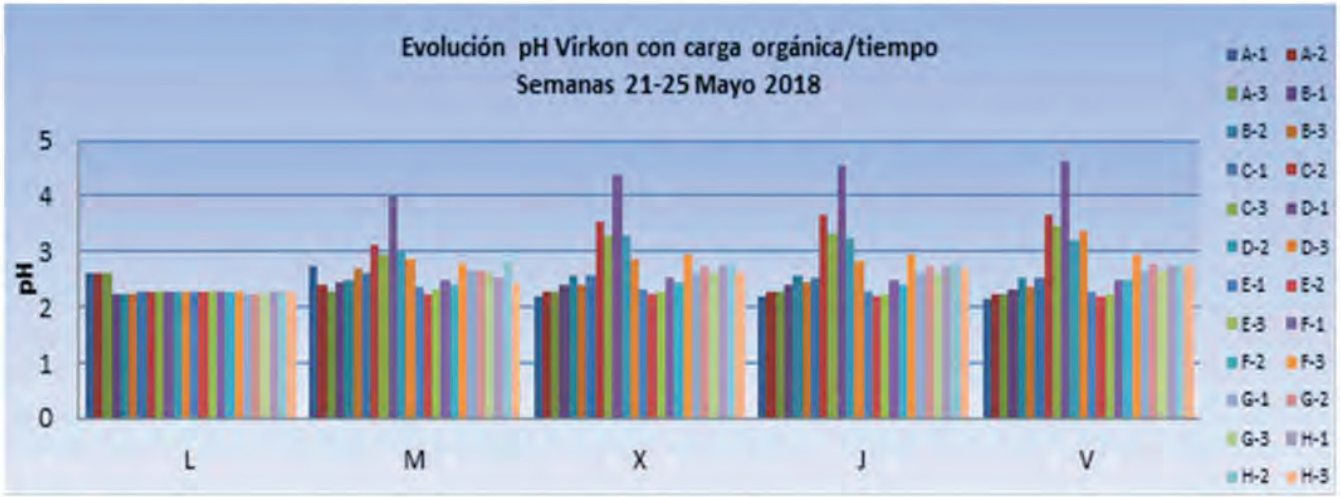

Tabla 7.- Prueba 3. Cultivo de placas TSA (UFC, Unidades Formadoras de Colonia. (1) frasco abierto; (2) frasco cerrado; (3) frasco cerrado y recubierto con aluminio.

LOTE			MO (g)	UFC
22ºC	A	A1	25	-
		A2		-
		A3		-
	B	B1	50	-
		B2		SI
		B3		-
	C	C1	75	-
		C2		SI
		C3		SI
	D	D1	100	SI
		D2		SI
		D3		SI

LOTE			MO (g)	UFC
30°C	E	E1	25	-
		E2		-
		E3		-
	F	F1	50	-
		F2		-
		F3		SI
	G	G1	75	SI
		G2		SI
		G3		SI
	H	H1	100	SI
		H2		SI
		H3		SI

Prueba 4

Semana del 9-13/07/2018

Tabla 8.-Comparativa de pH e iluminación (en lux) a 22ºC y 30ºC; M.O. seleccionadas: (1) frasco abierto; (2) frasco cerrado; (3) frasco cerrado y recubierto con aluminio.

LOTE			MO (g)	LUNES		MARTES		MIÉRCOLES		JUEVES		VIERNES	
				pH	lux	pH	lux	pH	lux	pH	lux	pH	lux
22 ºC	A	A1	0	2,24	120	2,16	120	2,08	120	2,08	73	2,06	69
		A2	25	2,33	120	2019	120	2,67	120	2,62	73	2,53	69
		A3	50	2,83	120	3,66	120	2,69	120	3,65	73	3,6	69
30 ºC	B	B1	0	2,22	120	2,12	120	2,06	120	2,05	73	2,01	69
		B2	25	2,46	120	2,66	120	2,56	120	2,5	73	2,39	69
		B3	50	2,66	120	3,57	120	3,55	120	3,53	73	3,48	69

Tabla 9.-Prueba 4. Evolución del pH respecto a la carga orgánica / tiempo.

Tabla 10.-Cultivo de placas TSA (UFC, Unidades Formadoras de Colonia). (1) frasco abierto; (2) frasco cerrado; (3) frasco cerrado y recubierto con aluminio.

LOTE			MO (g)	UFC					
				LUNES	MARTES	MIÉRCOLES	JUEVES	VIERNES	A LOS 7 DÍAS
22 ºC	A	A1	Sin carga	-	-	-	-	-	-
		A2	25	-	SI	-	-	-	-
		A3	50	SI	SI	SI	SI	-	-
30 ºC	B	B1	Sin carga	-	-	-	-	-	-
		B2	25	SI	-	SI	-	-	-
		B3	50	SI	-	SI	-	-	-

Prueba 5

Semana del 24-28/09/2018

Tabla 11.- Comparativa de pH e iluminación (en lux) a 22ºC y 30ºC (lunes: estancia a oscuras); (en ausencia/presencia de materia orgánica). (1) frasco abierto; (2) frasco cerrado; (3) frasco cerrado y recubierto con aluminio.

LOTE			MO (g)	LUNES		MARTES		MIÉRCOLES		JUEVES		VIERNES	
				pH	lux	pH	lux	pH	lux	pH	lux	pH	lux
22 ºC	A	A1	0	2,09	-	2,05	412	2,05	450	2,03	414	2,05	412
		A2	25	2,27	-	2,4	412	2,4	450	2,33	414	2,33	412
		A3	50	2,32	-	3,07	412	3,21	450	3,24	414	3,26	412
30 ºC	B	B1	0	2,21	-	2,11	381	2,09	391	2,05	367	2,05	367
		B2	25	2,23	-	2,47	381	2,51	391	2,47	367	2,47	367
		B3	50	2,33	-	2,75	381	2,92	391	2,85	367	2,85	367

Tabla 12.- Prueba 5. Evolución del pH respecto a la carga orgánica/tiempo.

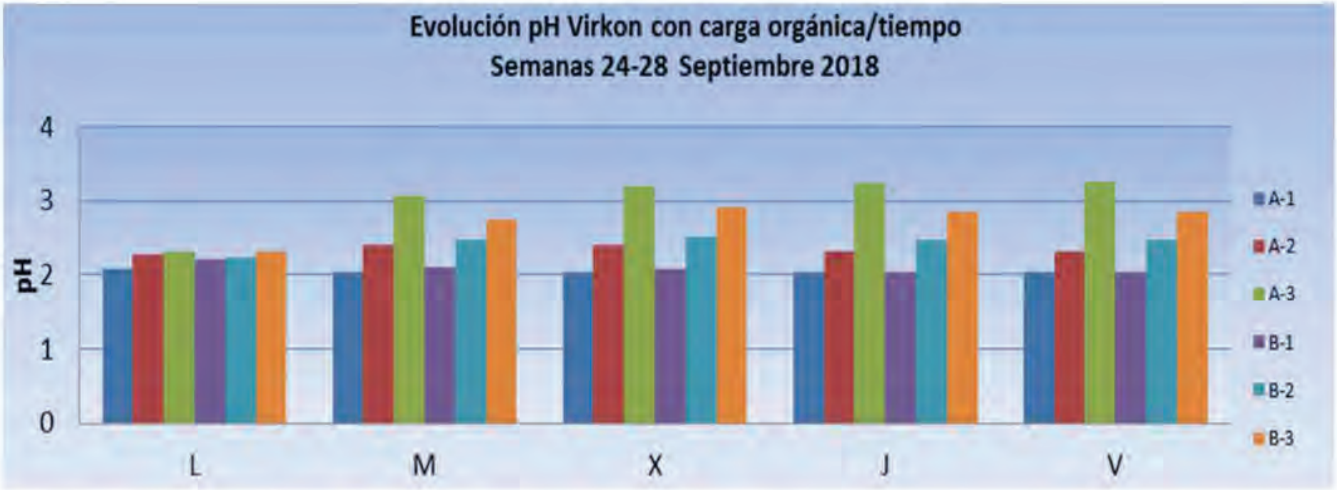

Tabla 13.- Cultivo de placas TSA (UFC, Unidades Formadoras de Colonia). (1) frasco abierto; (2) frasco cerrado; (3) frasco cerrado y recubierto con aluminio.

LOTE			MO (g)	UFC					
				LUNES	MARTES	MIÉRCOLES	JUEVES	VIERNES	A LOS 7 DÍAS
22 ºC	A	A1	Sin carga	-	-	-	-	-	
		A2	25	-	-	-	-	-	
		A3	50	-	-	-	-	SI	
30 ºC	B	B1	Sin carga	-	-	-	-	-	
		B2	25	-	-	-	-	SI	
		B3	50	-	-	-	SI	SI	

Prueba 6

Semana del 15-19/10/2018

Tabla 14.- Comparativa de pH e iluminación (en lux) a 22ºC y 30ºC; (ausencia de materia orgánica). (1) frasco abierto; (2) frasco cerrado; (3) frasco cerrado y recubierto con aluminio.

LOTE			MO (g)	LUNES		MARTES		MIÉRCOLES		JUEVES		VIERNES	
				pH	lux	pH	lux	pH	lux	pH	lux	pH	lux
22 ºC	A	A1	0	2	397	2,03	458	1,98	575	1,98	455	2	462
		A2	25	2,25	397	2,81	458	2,61	575	2,56	455	2,53	462
		A3	50	2,25	397	3,22	458	3,55	575	3,72	455	3,76	462
30 ºC	B	B1	0	2,09	467	2,1	486	2,04	487	2,03	419	2,06	459
		B2	25	2,26	467	2,79	486	2,73	487	2,71	419	2,66	459
		B3	50	2,42	467	3,82	486	4,03	487	4,18	419	4,22	459

Tabla 15.- Cultivo de placas TSA (UFC, Unidades Formadoras de Colonia): (1) frasco abierto; (2) frasco cerrado; (3) frasco cerrado y recubierto con aluminio.

LOTE			MO (g)	UFC					
				LUNES	MARTES	MIÉRCOLES	JUEVES	VIERNES	A LOS 7 DÍAS
22 ºC	A	A1	Sin carga	-	-	-	-	-	-
		A2	25	-	-	-	-	-	-
		A3	50	-	-	-	-	-	-
30 ºC	B	B1	Sin carga	-	-	-	-	-	-
		B2	25	-	-	-	-	-	-
		B3	50	-	-	SI	SI	SI	SI

CONCLUSIONES

1. RELY+ON™ VIRKON™ se descompone a temperaturas ≥40ºC, perdiendo su estabilidad.
2. A 4ºC, aunque se observa turbidez, sigue manteniéndose el pH estable, por lo que RELY+ON™ VIRKON™ mantiene su actividad.
3. A temperatura >30ºC, RELY+ON™ VIRKON™ sufre pérdida de color o aparición de olor clorado (producto de su descomposición en cloro e hipoclorito) y óxidos/dióxidos de azufre.
4. La ausencia o presencia de luz natural o artificial no afecta a la estabilidad de RELY+ON™ VIRKON™.
5. En ausencia de materia orgánica, RELY+ON™ VIRKON™ el pH se mantiene estable a cualquier temperatura.
6. En presencia de materia orgánica y en cantidades superiores a 25 g/l, el pH aumenta y RELY+ON™ VIRKON™ pierde su acción descontaminante.

AGRADECIMIENTOS

A la empresa FHP S.L. por su colaboración y asesoramiento técnico.

BIBLIOGRAFÍA

1. Biocidas. Ministerio para la transición ecológica. 2020.www.miteco.gob.es/es/calidad-y-evaluacion-ambiental/temas/productos-quimicos/biocidas/
2. Broadley J., Furr J.R., Jenkins P.A., *et al. Antimycobacterial activity of "Virkon S".* The Journal of Hospital Infection. 1993;23(3):189-97.
3. Guía para la realización y presentación de estudios de estabilidad. 2018. Instituto de Salud pública, Ministerio de Salud, Chile. www.ispch.cl/sites/default/files/GUIA%20DE%20ESTABILIDAD
4. Ficha de datos de seguridad. Dupont. www.dupont.hk
5. Hospital Disinfection Experts. Biosteril. www.biosterit.it/en/virkon
6. Organoléptico. https://boletinagrario.com/ap-6,organoleptico,963.html