

Spis treści

Spis treści	2
1. Określenie instytucji wykonującej badanie	2
2. Substancja testowa	2
3. Metoda testowa	3
4. Warunki doświadczalne:	3
5. Obliczenie miana wirusów	4
6. Ważność wyników badania	5
7. Wyniki	6
Aneks z tabelami	6
Tabela 1 Kontrola cytotoksyczności VP 12273-39 Formuła 3 za pomocą komórek MA104. 7	
Tabela 2 Kontrola formaldehydowa z bydlęcym rotawirusem	7
Tabela 3 Czulość komórkowa / Pojedyncza warstwa z komórkami MA104	8
Tabela 4 Kontrola wirusowa dla bydlęcego rotawirusa na komórkach MA104	8
Tabela 5 Aktywność VP 12273-39 Formuła 3 (żel do rąk z etanolem) w postaci nierozcieńczonej (80%) przeciwko bydlęcemu rotawirusowi	9

1. Określenie instytucji wykonującej badanie

Henkel AG & Co. KGaA
VSA Corporate Analytics & Microbiology
D-40191 Düsseldorf

2. Substancja testowa

- 2.1. Nazwa produktu: **VP 12273-39 Formuła 3**
żel do rąk z etanolem
- 2.1.2 Producent / dostawca **Ecolab GmbH & Co. OHG, Düsseldorf**
- 2.1.3 Data dostarczenia **05 czerwca 2009**
- 2.1.4 Warunki przechowywania
w laboratorium: w temperaturze pokojowej
- 2.1.5 Substancja czynna
wg klienta: **etanol**
- 2.1.6 Wygląd **przeźroczysty, bezbarwny płyn**

ECOLAB Sp. z o.o.
20-504 Kraków, ul. Kalwaryjska 69
tel. 012/261 61 00, fax 012/261 61 01
REGON 359777119 NIP 677-002-40-11

04.08.2010
**ZA ZGODNOŚĆ
Z ORYGINAŁEM**
Katarzyna Dąbrowska
Prokurent Ecolab Sp. z o.o.



3. Metoda testowa

- 3.1 Chemiczne środki dezynfekujące i antyseptyczne - ilościowy test z zawiesiną oceniający działanie wirusobójcze chemicznych środków dezynfekujących stosowanych w medycynie u ludzi - Metoda testowa i wymagania (faza 2, etap 1)

Wersja niemiecka EN 14476:2005+A1:2006

4. Warunki doświadczalne:

- 4.1 Okres badania

Czerwiec 2009

- 4.2 Rozcieńczalnik

Nie dotyczy, produkt testowano w postaci nierozcieńczonej

- 4.3 Stężenie podczas testu

Bez rozcieńczania (ze względu na metodę badania 80%)

Stężenie testowe zostało podane przez klienta.

- 4.4 Wygląd rozcieńczeń substancji testowej

Oryginalne badane próbki: przezroczysty, bezbarwny płyn

- 4.5 Organizmy testowe

Bydłęcy rotawirus otrzymany od Prof Quero, Uniwersytet w Paryżu 1988

Pasaż 2 z 5 stycznia 2001

- 4.6 Komórki gospodarza

MA 104 (nerka afrykańskiej małpy zielonej), otrzymane od dr Steinmann, MicroLab GmbH

Pasaż 40 z 11 czerwca 2009

- 4.6 Czasy kontaktu

15 sekund, 30 sekund

Czasy kontaktu zostały podane przez klienta.

- 4.7 Temperatura testowa:

20°C

- 4.8 Substancja zaburzająca

Fosforanowy roztwór buforujący - PBS (ang. phosphate buffer solution), zgodnie z metodą badania dla higienicznej dezynfekcji rąk

- 4.9 Neutralizacja

Natychmiastowe rozcieńczenie odczynów testowych

ECOLAB Sp. z o.o.
20-504 Kraków, ul. Kalwaryjska 69
tel. 012/261 61 00, fax 012/261 61 01
specjalizacja: 012/261 61 01

09.08.2010
ZA ZGODNOŚĆ
Z ORYGINAŁEM

Wojciech Jankowski
Prekursor Ecolab Sp. z o.o.



5. Obliczenie miana wirusów

Na podstawie jakościowych wyników resztkowej infekcyjności miano m zakaźnych cząsteczek wirusa w oryginalnych równych objętościach po 100 μ l można przeliczyć na 50% dawkę zakaźną ($TCID_{50}$) wg metody Spearmana & Kärbera

$$m (TCID_{50}) = X_k + d/2 - d \cdot \sum p_i$$

m = ujemny logarytm dziesiętny z $TCID_{50}$ w pierwszej równej części o objętości 100 μ l

X_k = Logarytm dziesiętny z pierwszego rozcieńczenia, gdzie wszystkie równoległe (tutaj 8) dają wynik dodatni (1-4)

d = Logarytm dziesiętny ze współczynnika rozcieńczenia (tutaj 1)

P_i = Wskaźnik wyników dodatnich w jednej serii:

Dodatnie	P_i
0/8	0,000
1/8	0,125
2/8	0,250
3/8	0,375
4/8	0,500
5/8	0,625
6/8	0,750
7/8	0,875
8/8	1,000

Odchylenie standardowe S_m oblicza się na podstawie poniższego wzoru

$$S_m = \sqrt{d^2 \sum [P_i \cdot (1 - P_i) + (n - 1)]}$$

S_m = Odchylenie standardowe wartości logarytmicznej miana

d = Logarytm dziesiętny ze współczynnika rozcieńczenia (tutaj 1)

P_i = liczba wyników dodatnich w równoległych próbkach

W wielu przypadkach obserwuje się, że $P_i = 1$, a $P_{i+2} = 0$. W przypadku serii rozcieńczeń o współczynniku rozcieńczenia 10 i 8 w równoległych próbkach, powyższy wzór można zatem uprościć do

$$S_m = \sqrt{[P_{i-1} \cdot (1 - P_{i-1}) + 7]}$$

Obliczenie działania wirusobójczego (logarytmiczny współczynnik redukcji każności)

Działanie wirusobójcze testowanego produktu jest obliczane jako logarytmiczny współczynnik redukcji RF = różnica między logarytmem z mian kontroli wirusowej (powiadających kontroli wodnej w temperaturze pokojowej i testowym pH) minus logarytm resztkowych mian wirusów wykazanych dla odczynów zawierających produkt.

$$RF = \log (\text{kontrola wirusowa CPE; } 20^\circ\text{C, testowe pH}) - \log (\text{CPE produktu testowego})$$

ECOLAB Sp. z o.o.
20-504 Kraków, ul. Kalwaryjska 69
tel. 012/261 61 00, fax 012/261 61 01
REGON 350577317, NIP 677-002-40-11

04.08.2010
ZA ZGODNOŚĆ
Z ORYGINAŁEM
Katarzyna Bednarzka
Praktykant Ecolab Sp. z o.o.



W przypadkach, w których działania cytotoksyczne (ang. CTE - cytotoxic effects) przekraczają działania cytopatyczne (ang. CPE - cytopathic effects), obliczone wskaźniki redukcji są określone jako "z". Przedziały ufności K_{RF} czynników redukcji są obliczane na podstawie następującego wzoru:

$$K_{RF} = \sqrt{(2S_{\text{maksymalna}})^2 + (2S_{\text{minimalna}})^2}$$

6. Ważność wyników badania

- Zawiesina wirusowa ma wartość logarytmiczną $TCID_{50}$ równą 7,7.
patrz Aneks z tabelami Tabela 4
- Możliwe było stwierdzenie redukcji miana wirusa testowego o $> 4 \log_{10}$
- Nie można było wykazać skutecznej neutralizacji substancji testowej. Testowany wirus był natychmiast inaktywowany wraz z pierwszym kontaktem z substancją o działaniu biobójczym.

Patrz Aneks z tabelami: Tabela 5, wartość dla 0 sekund

- Cytotoksyczność ocenianego produktu w testowanym stężeniu nie ma niekorzystnego wpływu na morfologię komórek i zdolność wzrostu komórek gospodarza lub czułość wirusa testowego.

Z tego powodu wykazanie redukcji miana wirusów o $4 \log_{10}$ nie było zaburzone.

Różnice między mianem wirusa w komórkach gospodarza poddanych działaniu roztworu substancji testowej a mianem wirusa w komórkach, poddanych działaniu PBS była mniejsza niż $1 \log_{10}$.

Patrz Aneks z tabelami: Tabela 3

Zgodnie z metodą testową określoną w normie EN 14476, w rozdziale 6.6.6 zalecane jest wykonanie testu w kierunku skutecznej neutralizacji w postaci natychmiastowego zmieszania próbki odczynu testowego po wymieszaniu składników. Dlatego wirus testowy przez krótki okres czasu jest ekspozowany na działanie testowanego produktu. W przypadku bardzo skutecznych produktów i zasadniczo krótkich testowanych czasów kontaktu (tutaj 15 i 30 sekund) jest to wada metody testowej, jeżeli nie uda się wykonać testu wydajnej neutralizacji. Niezależnie od nieudanej neutralizacji, wyniki badania są uznawane jako miarodajne.



ECOLAB Sp. z o.o.
30-504 Kraków, ul. Kalwaryjska 69
tel. 012/261 61 00, fax 012/261 61 01
REGON 147100, NIP 780-00-40-11

04.08.2010
ZA ZGODNOŚĆ
Z ORYGINAŁEM

Katarzyna Bednarska
Prokurent Ecolab Sp. z o.o.

7. Wyniki

VP 12273-39 Formula 3 (żel do rąk z etanolem) w postaci nierozcieńczonej (ze względu na metodę badania 80%ig) bez substancji zaburzającej (wyłącznie PBS)	
Czas kontaktu	Logarytmiczna redukcja wartości miana rotawirusów
15 sekund	$\geq 4,3$
30 sekund	$\geq 4,3$

Stosowana formuacja VP-12273-33 Formula 3 (żel do rąk z etanolem) w postaci nierozcieńczonej, była w stanie zredukować miano wirusa testowego o wartość $\geq 4.2 \log_{10}$ w ciągu 15 sekund w warunkach badania określonych dla metody testowej dla higienicznej dezynfekcji rąk. Dlatego produkt VP 12273-39 Formula 3 (żel do rąk z etanolem) ma działanie wirusobójcze przeciwko rotawirusom bydlęcym, w rozumieniu metody testowej, określonej w normie EN 14476.

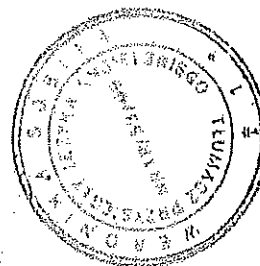
Düsseldorf, 28 sierpnia 2009

[podpis nieczytelny]

Dr R Breves

[podpis nieczytelny]

Dr N Steller



BRAK TREŚCI

ECOLAB Sp. z o.o.
30-504 Kraków, ul. Kalwaryjska 69
tel. 012/261 61 00, fax. 012/261 61 01
REGON 141974, NIP 141-002-40-11

04.08.2010
ZA ZGODNOŚĆ
Z ORYGINAŁEM

[podpis]
Prokurent Ecolab Sp. z o.o.

Aneks z tabelami

Tabela 1 Kontrola cytotoksyczności VP 12273-39 Formuła 3 za pomocą komórek MA104

Odczyn	Komórki gospodarza	log rozcieńczenia									
		-1	-2	-3	-4	-5	-6	-7	-8	Kontrola komórkowa	
VP 12273-39 Formuła 3	n.d.	n.d.	xxxxxxx	00000000	00000000	00000000	00000000	00000000	00000000	00000000	00000000
0,7% formaldehyd	n.d.	n.d.	xxxxxxx	xxxxxxx	xxxxxxx	xxxxxxx	xxxxxxx	xxxxxxx	xxxxxxx	00000000	00000000

Tabela 2 Kontrola formaldehydowa z bydlęcym rotawirusem

m = Miano jako \log_{10} TCID₅₀/100µl wg Spearmana & Kärbera, Sm = Odchylenie standardowe; Pi = Liczba dodatnich wyników w serii równoległych próbek

t (min)	Log rozcieńczenie										Kontrola komórkowa	m	S _m	log ₁₀ RF
	-1	-2	-3	-4	-5	-6	-7	-8	-9					
0	n.d.	xxxxxxxx	xxxxxxxx	xxxxxxxx	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000	4,5	0,000	≥2,3
5	n.d.	xxxxxxxx	xxxxxxxx	xxxxxxxx	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000	4,5	0,000	≥2,3
15	n.d.	xxxxxxxx	xxxxxxxx	xxxxxxxx	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000	4,5	0,000	≥2,3
30	n.d.	xxxxxxxx	xxxxxxxx	xxxxxxxx	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000	4,5	0,000	≥2,3
60	n.d.	xxxxxxxx	xxxxxxxx	xxxxxxxx	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000	4,5	0,000	≥2,3

Stężenie formaldehydu metodą analityczną określono jako 1,4%.

Stężenie formaldehydu metodą analityczną określono jako 1,4%.

ECOLAB Sp. z o.o.
30-504 Kraków, ul. Rybnicka 69
tel. 012 261 61 00 fax 012 261 61 01
REGON 140779777 NIP 677-00-00-00

04.08.2010
ZA ZGODNOŚĆ
Z ORYGINAŁEM

[Podpis]
Przedstawiciel Ecolab Sp. z o.o.



Tabela 3 Czujność komórkowa / Pojedyncza warstwa z komórkami MA104-ce1s

m = Miano jako \log_{10} -TCID₅₀/100 μ l wg Spearman & Kärbera

Odczyn	Komórki gospodarza	Log rozcieńczenie								Kontrola komórkowa	m
		-1	-2	-3	-4	-5	-6	-7	-8		
VP12273-39 Formuła 3	MA104	n.d.	44444444 Pi = 1	44444444 Pi = 1	44444444 Pi = 1	44444444 Pi = 1	22222222 Pi = 1	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000	6,5
PBS		n.d.	44444444 Pi = 1	44444444 Pi = 1	44444444 Pi = 1	44444444 Pi = 1	32222322 Pi = 1	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000	6,5

Tabela 4 Kontrola wirusowa dla bydłęcego rotawirusa na komórkach MA104

m = Miano jako \log_{10} -TCID₅₀/100 μ l wg

Odczyn	Komórki gospodarza	Log rozcieńczenie								Kontrola komórkowa	m
		-1	-2	-3	-4	-5	-6	-7	-8		
0 minut		n.d.	44444444 Pi = 1	44444444 Pi = 1	44444444 Pi = 1	44444444 Pi = 1	22222222 Pi = 1	22000000 Pi = 0,250	00000000 Pi = 0	00000000	6,8
60 minut	MA104	n.d.	44444444 Pi = 1	44444444 Pi = 1	44444444 Pi = 1	44444444 Pi = 1	22222222 Pi = 1	22200000 Pi = 0,375	00000000 Pi = 0	00000000	6,9



04.08.2010
ZA ZGODNOŚĆ
Z ORYGINAŁEM

Katarzyna Bednarska
Pracownik Exelab Sp. z o.o.

ECOLAB Sp. z o.o.
30-504 Kraków, ul. Kłękarska 69
tel. 012 261 61 00, fax 012 261 61 01
REGON 140677317 NIP 577 002 49 11

Tabela 6 Aktywność VP (22/73 39 Formuła 3 (26) do rdk z standardu) w postaci niereakcyjnej (80%) przeciwko bydłom rotawirusowi

m - Miano jako log₁₀ TCID₅₀/100 µl wyciągu z *Spodumina & Kaolona* (m - codziennie standardowe Pi z liczbą dodatnich wyników w serii równoległych próbek)
K_{RF} - Przeważał umocni współczynnika redukcji

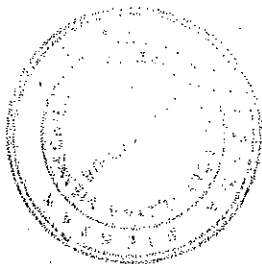
t (s)	log rozcieńczenia										m	BIM	log ₁₀ RF	K _{RF}
	-1	-2	-3	-4	-5	-6	-7	-8	-9	-10				
0	n.d.	xxxxxxx Pi = 1	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	≤2,5	0,000	24,3	0,000
15	n.d.	xxxxxxx Pi = 1	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	≤2,5	0,000	24,3	0,000
30	n.d.	xxxxxxx Pi = 1	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	≤2,5	0,000	24,3	0,000



01.08.2010
ZA ZGODNOŚĆ
Z ORYGINAŁEM

Katarzyna Budnarska
Pracownik Stacji S.S. S.

ECOLAB Sp. z o.o.
31-504 Kraków, ul. Katowicka 69
tel. 012 261 61 00, fax 012 261 61 01
REGON 140777, NIP 671-002-40-11



UWIERZYTELNIONE TLUMACZENIE Z JĘZYKA NIEMIECKIEGO

[Dokument w języku angielskim, sporządzony przez Henkel AG & Co. KGaA]

[Na odwrocie ostatniej strony]

Podklejka [na sznurku łączącym dokument] z odciskiem suchej okrągłej pieczęci z herbem Nadrenii-Północnej Westfalii;

DR. DOMINIK LINNENBRINK NOTARIUSZ W DÜSSELDORFIE-BENRATH
[Pieczętka prostokątna:]

Zaświadczam zgodność niniejszego odpisu z okazanym mi oryginalnym dokumentem [skreślone: kopią/poświadczonym odpisem].

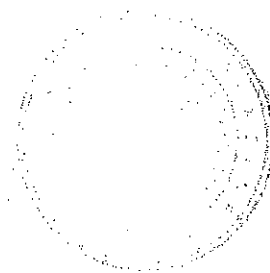
Düsseldorf-Benrath, 20 maja 2010.

Notariusz [podpis odręczny nieczytelny].

Niniejszym potwierdzam zgodność tłumaczenia z treścią dokumentu (uwierzytelniony odpis) w języku niemieckim.

Grażyna Piesiak
Tłumacz Przysięgły

Kraków 14.07.2010
Rep.nr 92/2010



ECOLAB Sp. z o.o.
29-504 Kraków, ul. Kalwaryjska 69
tel. 012/261 61 00, fax 012/261 61 01
REGON 145577317, NIP 677-002-40-11

04.08.2010
ZA ZGODNOŚĆ
Z ORYGINAŁEM

Katarzyna Bednarska
Przedstawiciel Ecolab Sp. z o.o.

Tłumacz Przysięgi Języka Angielskiego
mgr Elżbieta Pawełsk-Lubera
ul. Popieluszki 8/1.0
35-328 Rzeszów

Wpis na Liście Tłumaczy Przysięgłych prowadzoną przez Ministra Sprawiedliwości pod numerem TP/3732/05
Telefon: 604 176 710

TŁUMACZENIE PRZYSIĘGŁE Z JĘZYKA ANGIELSKIEGO

Dwadzieścia cztery strony oryginalnego dokumentu. Tłumaczenie na podstawie oryginału.

ECOLAB

Badania i Rozwój Opieka Zdrowotna
Europa, Bliski Wschód, Afryka
Wsparcie Mikrobiologiczne

Oświadczenie na temat skuteczności działania wirusobójczego produktu Spirigel complete wobec adenowirusa

Niniejszym deklarujemy, że postać „Próbka 3”, testowana pod kątem skuteczności działania wirusobójczego, zgodnie z raportem z testu firmy Dr. Merk & Kollegen z 22 czerwca 2009 r., jest identyczna z produktem Spirigel complete.

Można zatem stwierdzić, że produkt Spirigel complete ma działanie wirusobójcze wobec adenowirusa, zgodnie z normą EN 14476, gdy jest stosowany w postaci nierozcieńczonej, a kontakt ze skórą trwa 2 min.

Düsseldorf, 24 sierpnia 2009 r.

[odręczny podpis]
dr Stefan Jäger

Kierownik Projektu

Badania i Rozwój, Ochrona Zdrowia

[odręczny podpis]
dr Bernhard Meyer

Kierownik Wsparcia Mikrobiologicznego

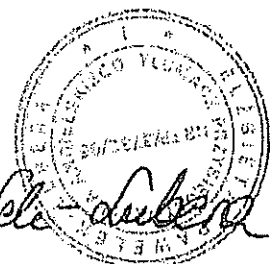
Badania i Rozwój, Ochrona Zdrowia

*W stopce znajdują się dane firmy Ecolab w języku niemieckim.
Na odwrocie znajduje się tekst w języku niemieckim.*

ECOLAB Sp. z o.o.
30-504 Kraków, ul. Kalwaryjska 69
tel. 012/261 61 00, fax 012/261 61 01
REGON 350577317, NIP 677-002-40-11

04.08.2010
ZA ZGODNOŚĆ
Z ORYGINAŁEM

Katarzyna Bednarska
Prokurent Ecolab Sp. z o.o.



LABOR
DR.MERK & KOLLEGEN

Labor Dr. Merk & Kollegen GmbH

Beim Braunland 1
D-88416 Ochsenhausen
Deutschland
Tel. +49-(0)73 52-91 19 30
Fax +49-(0)73 52-91 19 40

RAPORT Z TESTU

Numer projektu: 09113DE

Sponsor: Ecolab GmbH & Co. OHG
Postfach 13 04 06
D-40554 Düsseldorf
Niemcy

Tytuł badania: Test środka dezynfekcyjnego pod kątem skuteczności działania wirusobójczego wobec adenowirusa

Produkt testowany: VP-12273-39 Próbką 3., MD11988-89-2
Produkt referencyjny: Nie dotyczy

Autorzy: dr Ingrid Rapp
Miejsce testu: Labor Dr. Merk & Kollegen GmbH
Beim Braunland 1
D-88416 Ochsenhausen

Daty zw. z badaniem:
Otrzymanie prod. test.: 13 maja 2009 r.
Początek testu: 25 maja 2009 r.
Koniec testu: 4 czerwca 2009 r.
Raport końcowy: 22 czerwca 2009 r.

Zgodnie z normą DIN EN ISO/IEC 17025 firma Labor Dr. Merk & Kollegen GmbH nie bierze na siebie odpowiedzialności za ewentualne mylące przedstawienie metod badania i wyników opisanych w tym raporcie, jeśli będzie on powielany fragmentarycznie.

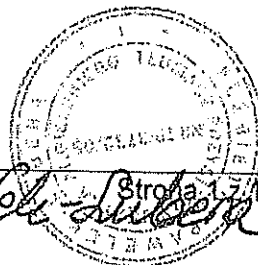
ECOLAB Sp. z o.o.
39-504 Kraków, ul. Kalwaryjska 69
tel. 012/261 61 00, fax 012/261 61 01
REGON 350577317, NIP 677-002-40-11

04.08.2010
ZA ZGODNOŚĆ
Z ORYGINAŁEM

Katarzyna Bednarska
Prokurent Ecolab Sp. z o.o.

Raport z testu
Projekt nr 09113DE

Data: 22 czerwca 2009 r.
Wersja nr 1



LABOR
DR.MERK & KOLLEGEN

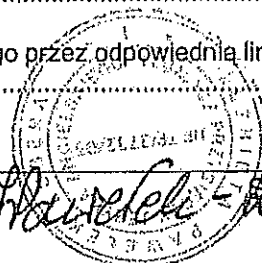
Spis treści

ECOLAB Sp. z o.o.
20-504 Kraków, ul. Kalwaryjska 69
tel. 012 661 61 00, fax 012 261 61 01
e-mail: biuro@ecolab.pl, tel. 6177-002-40-11

04.08.2010
ZA ZGODNOŚĆ
Z ORYGINAŁEM

Strona

Spis treści.....	2
Podpisy kadry projektu.....	4
Streszczenie	5
1. Materiały i produkty testowane	7
1.1. Nośniki i odczynniki.....	7
1.2. Aparatura	7
1.3. System testowy (komórki i wirusy)	8
1.3.1. Komórki	8
1.3.2. Wirusy	8
1.4. Produkt testowany.....	9
2. Stosowne normy	10
3. Metody testu.....	10
3.1. Testy wstępne	10
3.1.1. Identyfikacja stosownej dawki zakaźnej (miano wirusa) za pomocą odpowiedniej linii komórek	10
3.1.2. Identyfikacja stężenia środka dezynfekcyjnego tolerowanego przez odpowiednią linię komórek (cytotoksyczność).....	10
3.1.3. Kontrola miana wirusa przed i po detoksykacji mieszaniny testowej z użyciem siła molekularnego.....	10
3.1.4. Identyfikacja stężenia środka dezynfekcyjnego, które pozostawia odpowiednią linię komórek podatną na zakażenie adenowirusem i wirusem Polio	10
3.1.5. Pozytywna kontrola inaktywacji wirusa z użyciem formaldehydu	11
3.2. Test pod kątem skuteczności działania wirusobójczego	11
4. Wyniki.....	12
4.1. Badania walidacyjne	12
4.1.1. Identyfikacja stosownej dawki zakaźnej (miano wirusa) za pomocą odpowiedniej linii komórek	12
4.1.2. Identyfikacja stężenia środka dezynfekcyjnego tolerowanego przez odpowiednią linię komórek (cytotoksyczność).....	12



LABOR
DR.MERK & KOLLEGEN

4.1.3. Identyfikacja stężenia środka dezynfekcyjnego, które pozostawia odpowiednią linię komórek podatną na zakażenia wirusowe	12
4.1.4. Kontrola pozytywna inaktywacji wirusa po inkubacji z użyciem formaldehydu.....	13
4.2. Test pod kątem skuteczności działania wirusobójczego	14
5. Zapewnienie jakości.....	16
6. Odstępstwa od protokołu badania	16
7. Archiwizacja	16
8. Dystrybucja i liczba raportów	16
Załącznik 1: Dane nieprzetworzone dotyczące testów z VP-12273-39 Próbką 3 i postacią MD11988-89-2	17
Załącznik 2: Liczby dotyczące testów z VP-12273-39 Próbką 3 i postacią MD11988-89-2.....	19
Załącznik 3: Obliczenia i analiza statystyczna mian wirusa	22
Obliczenie odchylenia standardowego:	22
Obliczenie granic 95% przedziału ufności	22
Obliczenie współczynnika redukcji	22
Obliczenie średniego współczynnika redukcji i granicy 95% przedziału ufności	23

ECOLAB Sp. z o.o.
30-504 Kraków, ul. Kalwaryjska 69
tel. 012/261 61 00, fax 012/261 61 01
REGON 350577317, NIP 677-002-40-11

04.08.2010
ZA ZGODNOŚĆ
Z ORYGINAŁEM

Małgorzata Bednarska
Prokurent Ecolab Sp. z o.o.

Raport z testu
Projekt nr 09113DE

Data: 22 czerwca 2009 r.
Wersja nr 1



LABOR
DR.MERK & KOLLEGEN

Podpisy kadry projektu

Ochsenhausen, 29.06.09 [data wpisana odręcznie]

[odręczny podpis]

Anja Braun

Dyrektor Laboratoriów Wirusologicznych
Labor Dr. Merk & Kollegen GmbH

Ochsenhausen, 29.6.2009 [data wpisana odręcznie]

[odręczny podpis]

dr Ingrid Rapp

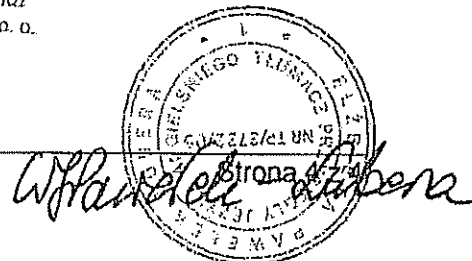
Kierownik Projektu

Labor Dr. Merk & Kollegen GmbH

ECOLAB Sp. z o.o.
20-504 Kraków, ul. Kalwaryjska 69
tel. 012/261 61 00, fax 012/261 61 01
REGON 350677317, NIP 677-002-40-11

04.08.2010
ZA ZGODNOŚĆ
Z ORYGINAŁEM

Katarzyna Budnarska
Prokurent Ecolab Sp. z o.o.



Streszczenie

Celem tego badania było wykazanie skuteczności działania wirusobójczego chemicznego środka dezynfekcyjnego VP-12273-39, Próbką 3, zgodnie z europejską normą DIN EN 14476 (luty 2007). Ponieważ założono, że zagęstnik komplikuje inaktywację wirusa, środek dezynfekcyjny poddano testowi zarówno z użyciem zagęstnika, jak i bez użycia zagęstnika (postać MD11988-89-2). Testy wykonano z użyciem nieotoczkowego ludzkiego adenowirusa. Określoną zawiesinę wirusa inkubowano z nierozcieńczonymi roztworami środka dezynfekcyjnego (co dało 80% rozcieńczenie środka dezynfekcyjnego w mieszaninie testowej) i wysiano na hodowlach odpowiedniej linii komórek. Po 9 dniach zakażone komórki sprawdzono pod kątem działania cytotoksycznego i cytopatogenicznego. Jeśli działanie cytopatogeniczne nie było widoczne, stwierdzano, że udało się inaktywować wirus przy użyciu środka dezynfekcyjnego.

Przeprowadzono następujące etapy walidacji:

- Identyfikacja stosownej dawki zakaźnej (miano wirusa) z użyciem odpowiedniej linii komórek
- Identyfikacja stężenia środka dezynfekcyjnego tolerowanego przez odpowiednią linię komórek
- Kontrola miana wirusa przed i po detoksykacji mieszaniny testowej przez zastosowanie sita molekularnego
- Identyfikacja stężenia środka dezynfekcyjnego, które pozostawia odpowiednią linię komórek podatną na zakażenie adenowirusem
- Kontrola pozytywna inaktywacji wirusa po 5-, 15-, 30- i 60-minutowej inkubacji z użyciem formaldehydu

Po udanym przeprowadzeniu wymienionych wyżej etapów walidacji działanie antywirusowe nierozcieńczonych środków dezynfekcyjnych wobec adenowirusa przetestowano dla 2 przedziałów czasowych (1,0 min i 2,0 min) z użyciem soli fizjologicznej buforowanej fosforanami (PBS), H₂O, jak również H₂O o znormalizowanej twardości jako substancji interferujących.

Obecne badanie wykazuje skuteczność działania wirusobójczego środka dezynfekcyjnego z zagęstnikiem, jak również bez zagęstnika (postać MD11988-89-2) po 2,0 minutach kontaktu dla wszystkich substancji interferujących. W analizie z zagęstnikiem redukcję miana o $\geq 4,71 \log_{10}$ z użyciem H₂O jako substancji interferującej, o $\geq 5,0 \log_{10}$ z użyciem H₂O o znormalizowanej twardości oraz o $\geq 5,43 \log_{10}$ z użyciem PBS wykryto po 2,0 minutach ekspozycji. Testy bez zagęstnika (postać MD11988-89-2) przyniosły redukcję miana wirusa o $\geq 4,71 \log_{10}$ z użyciem H₂O jako substancji interferującej, o $\geq 4,14 \log_{10}$ z użyciem H₂O o znormalizowanej twardości oraz o $\geq 4,43 \log_{10}$ z użyciem PBS po 2,0 minutach kontaktu.

Zgodnie z postanowieniami europejskiej normy DIN EN 14476 (luty 2007) skuteczność działania wirusobójczego środka dezynfekcyjnego wykazuje się, demonstrując redukcję miana wirusa o co najmniej 4 \log_{10} w zalecany czas ekspozycji. W przypadku środka dezynfekcyjnego VP-12273-39 Próbką 3., jak również postaci MD11988-89-2 bez zagęstnika, wymaganą redukcję miana o co najmniej 4 \log_{10} można było zademonstrować po 2,0 minutach kontaktu dla wszystkich substancji interferujących.

A zatem można przyjąć, że ten środek dezynfekcyjny wykazuje odpowiednią skuteczność działania wirusobójczego wobec adenowirusa. Jednak aby osiągnąć pełne działanie środka dezynfekcyjnego zawierającego zagęstnik, konieczne jest odpowiednie wymieszanie. Działania wirusobójczego nie można było zademonstrować przed wytrząsaniem próbek.

Podsumowanie wyników inaktywacji wirusa za pomocą środka dezynfekcyjnego VP-12273-39 Próbką 3 i jej postaci MD11988-89-2 zostały przedstawione w tabeli 1

LABOR
DR.MERK & KOLLEGEN

Tabela 1 Podsumowanie wyników skuteczności działania antywirusowego produktu VP-12273-39 Próbka 3 i MD11988-89-2

Produkt	Stężenie	Substancja interferująca	Log ₁₀ TCID ₅₀ po ... minutach		> 4 log ₁₀ redukcja po
			1,0	2,0	
VP-12273-39 Próbka 3	80%, bez Spin	PBS	4,93	≤3,5	Nieudana z powodu cytotoksyczności
	80%, z Spin		5,21	≤1,64	2,0 min
MD11988-89-2	80%		5,21	≤2,64	2,0 min
Kontrola wirusa	nie dot.		nie zbadano	≤7,07	nie dot.
VP-12273-39 Próbka 3	80%, bez Spin	H ₂ O	4,79	≤3,5	Nieudana z powodu cytotoksyczności
	80%, z Spin		5,5	≤2,5	2,0 min
MD11988-89-2	80%		≤2,5	≤2,5	1,0 min
Kontrola wirusa	nie dot.		nie zbadano	7,21	nie dot.
VP-12273-39 Próbka 3	80%, bez Spin	H ₂ O o znormalizowanej twardości	4,5	≤3,5	Nieudana z powodu cytotoksyczności
	80% z Spin		4,64	≤1,64	2,0 min
MD11988-89-2	80%		≤2,5	≤2,5	1,0 min
Kontrola wirusa	nie dot.		nie zbadano	6,64	nie dot.

ECOLAB Sp. z o.o.
30-504 Kraków, ul. Kalwaryjska 69
tel. 012/261 81 00, fax 012/261 61 01
REGON 330577317 NIP 677-002-40-11

04.08.2010
ZA ZGODNOŚĆ
Z ORYGINAŁEM
Katarzyna Bednarska
Prokurent Ecolab Sp. z o.o.

Raport z testu
Projekt nr 09113DE

Data: 22 czerwca 2009 r.
Wersja nr 1



1. Materiały i produkty testowane

1.1. Nośniki i odczynniki

Nośnikiem testowym zastosowanym w tym badaniu była minimalna objętość podłoża (MEM), uzupełniona płodową surowicą cielęcą oraz penicyliną 100 jednostek/ml i streptomycyną 130 µg/ml

- MEM Hanksa (Invitrogen, seria nr: 521983), 10% płodowa surowica cielęcą (Invitrogen, seria nr: 41F2755K), 1% pen./strep. – roztwór podstawowy (seria nr: 7032)

37% formaldehyd	(seria nr: S60227-348, numer wew.: RM-046)
H ₂ O:	woda, podwójnie destylowana (Roth, seria nr: 50899363)
BSA:	(seria nr: 080119, numer wew.: RM-033)
DPBS:	(seria nr: 427813, numer wew.: RM-184)
MgCl ₂ :	(seria nr: 408255/1, numer wew.: RM-013)
CaCl ₂ :	(seria nr: 1164777, numer wew.: RM-002)
NaHCO ₃ :	(seria nr: 1346077, numer wew.: RM-020)
HCl 1 mol/l:	(seria nr: 70540, numer wew.: RM-054)
NaOH 1 mol/l:	(seria nr: 71100, numer wew.: RM-060)

1.2. Aparatura

Zwykły sprzęt laboratorium mikrobiologicznego, a w szczególności:

- kolumny MicroSpin™ S400 (Amersham Biosciences Europe GmbH, Freiburg, Niemcy, seria nr:356184)
- płytki mikrotestowe z 96 studzienkami (Nunc, Wiesbaden, Niemcy)
- miernik pH (dokładność kalibracji jednostek pH 0,1 w temp. 25°C) (WTW, Weilheim, Niemcy)
- mikroskop odwrócony (Lelte, Wetzlar, Niemcy)
- wyrząsarka Vortex (IKA, Staufen, Niemcy)
- wirówka (Centrifuge 5415C, Eppendorf, Hamburg, Niemcy)
- inkubator 37°C ± 1° (Heraeus, Osterode, Niemcy)

ECOLAB Sp. z o.o.
30-504 Kraków, ul. Kalwaryjska 69
tel. 012/261 61 00, fax 012/261 61 01
REGON 145677 + KRS 000000240-11

04.08.2010
ZA ZGODNOŚĆ
Z ORYGINAŁEM
Katarzyna Bednarska
Prokuratorka Ecolab Sp. z o.o.



1.3. System testowy (komórki i wirusy)

1.3.1. Komórki

A-549: Typ: Ludzkie komórki raka płuc
Pochodzenie: Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ), Braunschweig, Niemcy, No ACC 107
Zastosowanie: Hodowla adenowirusa

Komórki przechowywano jako zawiesiny wyjściowe w temperaturze -196°C . Komórki hodowano w temperaturze $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ bez CO_2 . Komórki regularnie sprawdzano pod kątem obecności mykoplazm.

1.3.2. Wirusy

Adenowirus, typ 5, szczep Adenoid 75

Pochodzenie: Amerykańska Kolekcja Hodowli Komórkowych (ATCC), Rockville, USA, Nr VR-5

System kom.: Komórki A-549

Zawiesiny wyjściowe wirusów zamrożono w temperaturze -80°C . Wirusy wyjściowe namnożono w odpowiedniej linii komórek, aby uzyskać wysokie miana zakaźnych wirusów. Zawiesiny z detrytusem komórkowym zamrożono i odmrożono dwukrotnie. Następnie detrytus komórkowy oddzielono przez wirowanie przy małej prędkości. Zawiesiny wirusów przechowywano w temperaturze -80°C

ECOLAB Sp. z o.o.
20-504 Kraków, ul. Kalwaryjska 69
tel. 012/261 61 00, fax 012/261 61 01
REGON 140777 NIP 677-002-40-11

04.08.2010
ZA ZGODNOŚĆ
Z ORYginałem

Katarzyna Bednarska
Prekurent Ecolab Sp. z o.o.



1.4. Produkt testowany

Zbadano następujący materiał:

Postać z zagęstnikiem

Nazwa produktu testowanego:

Opis produktu:

Numer artykułu:

Numer serii:

Wytwórca:

Data wytworzenia:

Stabilność/Data ważności:

Czystość/Skład na 100 g:

Wartość pH:

Stan fizyczny/wygląd:

Warunki przechowywania:

VP-12273-39 Próbką 3

Środek dezynfekcyjny do rąk

Nieznany jednostce testującej

Nieznany jednostce testującej

Ecolab Deutschland GmbH. Düsseldorf

15 maja 2009 r.

Nieznany jednostce testującej

85 g etanolu/ 100g

8,4

Przezroczysty żel

Temperatura pokojowa

Postać bez zagęstnika

Nazwa produktu testowanego:

Opis produktu:

Numer artykułu:

Numer serii

Wytwórca:

Data wytworzenia:

Stabilność/Data ważności:

Czystość/Skład na 100 g

Wartość pH:

Stan fizyczny/wygląd:

Warunki przechowywania:

MD11988-89-2

Środek dezynfekcyjny do rąk

Nieznany jednostce testującej

Nieznany jednostce testującej

Ecolab Deutschland GmbH. Düsseldorf

15 maja 2009

Nieznany jednostce testującej

85 g etanolu/100g

6,7

Przezroczysty żel

Temperatura pokojowa

Produkt referencyjny

Nie dotyczy

ECOLAB Sp. z o.o.
20-504 Kraków, ul. Kalwaryjska 69
tel. 012/261 61 00, fax 012/261 61 01
REGON 350577317 NIP 677-002-40-11

04.08.2009
ZA ZGODNOŚĆ
Z ORYGINAŁEM
Katarzyna Bednarska
Prekursor Ecolab Sp. z o.o.



2. Stosowne normy

Testy zostały przeprowadzone zgodnie z następującymi normami:

- DIN EN 14476 (luty 2007) [tekst w języku niemieckim]

3. Metody testu

3.1. Testy wstępne

3.1.1. Identyfikacja stosownej dawki zakaźnej (miano wirusa) za pomocą odpowiedniej linii komórek

Aby określić dawkę zakaźną użytych wirusów, 100 μ l zawiesiny komórkowej odpowiedniej linii komórek na płytkach mikrotestowych inokulowano rozcieńczeniami serynymi log₁₀ w ilości 100 μ l na studzienkę zawiesiny wirusa w podłożu utrzymującym (7 odczynników na etap rozcieńczania). Po 9 dniach komórki sprawdzano pod kątem działania cytopatogenicznego (CPE) i ustalono punkt końcowy 50% zakażenia (TCID₅₀/ml). Miano wywołania zakażenia wirusowego obliczono według metody Spaermanna-Karbera.

$$\text{Log}_{10} \text{TCID}_{50} = - (X_0 - 0,5 + \sum r/n)$$

X_0 = log₁₀ etapu najniższego rozcieńczenia ze 100% reakcją pozytywną
 r = liczba wszystkich pozytywnych odczynników etapu najniższego rozcieńczenia ze 100% reakcją pozytywną i wszystkich wyższych (pozytywnych) etapów rozcieńczania
 n = liczba odczynników na etap rozcieńczania

3.1.2. Identyfikacja stężenia środka dezynfekcyjnego tolerowanego przez odpowiednią linię komórek (cytotoksyczność)

Aby określić cytotoksyczne działanie środka dezynfekcyjnego, 2 części PBS wymieszano z 8 częściami środka dezynfekcyjnego. Dalsze etapy rozcieńczania wykonano w pożywce utrzymującej i poddano ekspozycji na hodowle komórek (100 μ l na studzienkę). Po 9-dniowej inkubacji sprawdzono pod kątem działania cytotoksycznego

3.1.3. Kontrola miana wirusa przed i po detoksykacji mieszaniny testowej z użyciem sita molekularnego

Aby zredukować działanie cytotoksyczne środka dezynfekcyjnego zastosowano kolumny Sephacryl. I tak, 250 μ l roztworu testowego przesiano natychmiast po czasie ekspozycji, zgodnie z zaleceniami wytwórcy, przy prędkości obrotowej 3000 rpm. Zastosowano filtrat i przygotowano seryjne rozcieńczenie w pożywce utrzymującej. Wysiew komórek wykonano tak, jak opisano wyżej.

Aby zademonstrować, że przesiew nie wpłynął na miano wirusa, miareczkowanie wirusa przesianej i nie poddanej takiemu działaniu zawiesiny wirusa przetestowano zgodnie z opisem w rozdziale 3.1.1.

3.1.4. Identyfikacja stężenia środka dezynfekcyjnego, które pozostawia odpowiednią linie komórek podatną na zakażenie adenowirusem i wirusem Polio

Aby zademonstrować, że środek dezynfekcyjny nie wpłynął na morfologię komórek, wzrost lub podatność na wirusy, podatne komórki poddano działaniu metoksyzynu.

rozcieńczenia środka dezynfekcyjnego. Następnie seryjne rozcieńczenie wirusów poddano ekspozycji na te komórki. Jako kontrolę negatywną zastosowano PBS zamiast środka dezynfekcyjnego. Po 9-dniowej inkubacji komórki sprawdzono pod kątem działania cytotoksycznego i CPE oraz określono TCID₅₀/ml. Porównawcze miareczkowania wirusa na komórki poddane działaniu PBS i komórki poddane działaniu rozcieńczeń środka dezynfekcyjnego powinny dać różnicę $< 1,0 \log_{10}$ miana wirusa

3.1.5. Pozytywna kontrola inaktywacji wirusa z użyciem formaldehydu

Dwie części zawiesiny adenowirusa zmieszano z 8 częściami PBS i 10 częściami 1,4% (w/v) formaldehydu. Przed i po 5-, 15-, 30- i 60-minutowym kontakcie zawiesiny wymieszano, pobrano część i seryjnie rozcieńczono w lodowatej pożywce w kąpiel lodowej. Wszystkie rozcieńczenia poddano ekspozycji (inokulum 100 μ l na każdą studzienkę) na hodowle komórek. Po 9-dniowej inkubacji w temperaturze $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ komórki sprawdzono pod kątem CPE i określono TCID₅₀/ml.

Cytotoksyczność roztworu formaldehydu określono dodatkowo: jedną część 1,4% (w/v) formaldehydu dodano do jednej części PBS. Zawiesinę tę następnie rozcieńczono pożywką w kąpiel lodowej. Następnie rozcieńczenia przetransferowano do studzienek z hodowlą komórek. Po 7-9 dniach w temperaturze $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ komórki sprawdzono pod kątem działania cytotoksycznego

3.2. Test pod kątem skuteczności działania wirusobójczego

Skuteczność działania wirusobójczego środka dezynfekcyjnego przetestowano z i bez zagęstnika (postać MD11988-89-2), używając roztworu soli fizjologicznej buforowanego fosforanem (PBS), H₂O, jak również H₂O o znormalizowanej twardości jako substancji interferujących. Najpierw jedną część substancji interferującej wymieszano z 1 częścią zawiesiny wirusa. Do tej mieszaniny dodano 8 części środka dezynfekcyjnego, wymieszano i poddano inkubacji na dwa różne czasy kontaktu (1,0 min i 2,0 min). Wszystkie testy przeprowadzono, wytrząsając próbki przez cały okres kontaktu.

Po odpowiednich punktach czasowych pobrano część, a działanie wirusobójcze zostało natychmiast poddane supresji przez seryjne rozcieńczanie z użyciem lodowatej pożywki. Rozcieńczenia przechowywano w kąpiel lodowej do czasu dalszego przetwarzania

Na koniec czasów kontaktu oraz po zebraniu i rozcieńczeniu próbek wszystkie rozcieńczenia przetransferowano (100 μ l na każdą studzienkę) do zawiesin hodowli komórek i inkubowano w temperaturze $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Po 9 dniach komórki sprawdzono pod kątem CPE i określono TCID₅₀/ml. Wykrywalna redukcja miana powinna wynosić co najmniej 4 \log_{10}

Ponadto zakaźność zawiesiny testowego wirusa określono w warunkach testowych, ale bez ekspozycji na środek dezynfekcyjny, przy czasie kontaktu 0 min i 2 min. Zamiast środka infekcyjnego zastosowano H₂O

ECOLAB Sp. z o.o.
30-504 Kraków, ul. Kalwaryjska 69
tel. 012/261 61 00, fax 012/261 61 01
REGON 350573117 NIP 677-092-40-11

04.08.2010
ZA ZGODNOŚĆ
Z ORYGINAŁEM

Katarzyna Bednarska
Prokurent Ecolab Sp. z o.o.



Wojciech Lubera

4. Wyniki

4.1. Badania walidacyjne

4.1.1. Identyfikacja stosownej dawki zakaźnej (miana wirusa) za pomocą odpowiedniej linii komórek

Test wykonano zgodnie z rozdziałem 3.1.1 i 3.1.3. Dane przedstawione w tabeli 2 pokazują miano wirusa szczepu adenowirusa przed i po przesiewie molekularnym w kolumnach MicroSpin. Nie wykazano różnicy w mianie wirusa większej niż 0,14 log₁₀. Pojedyncze wyniki zostały przedstawione w załączniku.

Tabela 2. Miano wirusa przed i po przesiewie molekularnym w kolumnach MicroSpin

	Przed przesiewem molekularnym	Po przesiewie molekularnym
Adenowirus (TCID ₅₀ /ml)	10 ^{-7.93}	10 ^{-7.79}

4.1.2. Identyfikacja stężenia środka dezynfekcyjnego tolerowanego przez odpowiednią linię komórek (cytotoksyczność)

Test wykonano zgodnie z rozdziałem 3.1.2. z linią komórek A-549. Środek dezynfekcyjny VP-12273-39 Próbką 3 wykazał silne działanie cytotoksyczne w rozcieńczeniu 1:10 i 1:100 przed przesiewem molekularnym. Po przesiewie molekularnym nie wykryto działania cytotoksycznego w rozcieńczeniu 1:100. Postać MD11988-89-2 wykazała działanie cytotoksyczne w rozcieńczeniu 1:10 przed przesiewem molekularnym. Po przesiewie molekularnym nie miała żadnego działania cytotoksycznego na linię komórek. Załącznik podsumowuje dane nieprzetworzone dotyczące testowania cytotoksyczności.

4.1.3. Identyfikacja stężenia środka dezynfekcyjnego, które pozostawia odpowiednią linię komórek podatną na zakażenia wirusowe

Test wykonano zgodnie z rozdziałem 3.1.4 Wyniki pokazały, że środek dezynfekcyjny nie wpłynął na podatność komórek na wirusa ani na wzrost i morfologię komórek. Porównawcze miareczkowanie wirusa na komórki nie poddane i poddane działaniu środka dezynfekcyjnego VP-12273-39 Próbką 3 wykazało redukcję miana wirusa o 0,15 log₁₀ przy zastosowaniu H₂O i o 0,29 log₁₀ przy zastosowaniu PBS jako substancji interferującej. W przypadku komórek poddanych działaniu postaci MD11988-89-2 nie zaobserwowano żadnej redukcji przy zastosowaniu PBS, natomiast lekką redukcję o 0,15 log₁₀ zademonstrowano przy użyciu H₂O jako substancji interferującej.

Wyniki miareczkowania wirusa na komórki nie poddane i komórki poddane działaniu środka dezynfekcyjnego zostały pokazane w tabeli 3 Dane nieprzetworzone dotyczące tych testów zostały podsumowane w załączniku.

ECOLAB Sp. z o.o.
20-504 Kraków, ul. Kalwaryjska 69
tel. 012/261 61 00, fax 012/261 61 01
REGON 350577317, NIP 677-002-40-11

04.08.2010
ZA ZGODNOŚĆ
Z ORYGINAŁEM
Katarzyna Bednarska
Prokurent Ecolab Sp. z o.o.

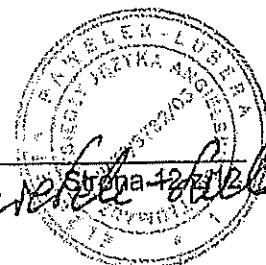


Tabela 3: Miareczkowanie wirusa na komórki nie poddane i poddane działaniu VP-12273-39 Próbką 3 i MD11988-89-2

Poddanie komórek A-549 działaniu	Adenowirus \log_{10} TCID ₅₀ /ml	Różnica \log_{10}
PBS	$10^{-7.36}$	-
VP-12273-39 Próbką 3, H ₂ O	$10^{-7.21}$	0.15
VP-12273-39 Próbką 3, PBS	$10^{-7.07}$	0.29
MD11988-89-2, H ₂ O	$10^{-7.21}$	0.15
MD11988-89-2, PBS	$10^{-7.50}$	0

4.1.4. Kontrola pozytywna inaktywacji wirusa po inkubacji z użyciem formaldehydu

W ramach kontroli systemu testu adenowirus został inaktywowany 0,7% roztworem formaldehydu. Test wykonano zgodnie z rozdziałem 3.1.5. Adenowirus został tak inaktywowany, że po 30-minutowej ekspozycji nie można było wykryć żadnego wirusa. Redukcja miana wirusa wyniosła $\geq 2,43 \log_{10}$ po 30 min. A zatem wymogi normy europejskiej zostały spełnione. Wyniki zostały przedstawione w tabeli 4 i na rys. 1. Dane nieprzetworzone zostały podsumowane w załączniku

Tabela 4: Inaktywacja wirusa formaldehydem

	Kontrola wirusa	Czas ekspozycji na roztwór formaldehydu			
		5 min	15 min	30 min	60 min
Adenowirus (TCID ₅₀ / ml)	$10^{-6.93}$	$10^{-6.21}$	$\leq 10^{-4.93}$	$\leq 10^{-4.5}$	$\leq 10^{-4.5}$
Redukcja miana wirusa	-	0,72 \log_{10}	$\geq 2,0 \log_{10}$	$\geq 2,43 \log_{10}$	$\geq 2,43 \log_{10}$

ECOLAB Sp. z o.o.
20-504 Kraków, ul. Kalwaryjska 69
tel. 012/261 61 00, fax 012/261 61 01
REGON 350577917, NIP 677-002-40-11

04.08.2020
ZA ZGODNOŚĆ
Z ORYGINAŁEM

Katarzyna Bednarska
Prokurent Ecolab Sp. z o.o.

4.2. Test pod kątem skuteczności działania wirusobójczego

Testy te zostały wykonane zgodnie z rozdziałem 3.2. Działanie wirusobójcze VP-12273-39 Próbka 3. i postaci MD11988-89-2 przetestowano dla 2 różnych czasów kontaktu (1,0 min i 2,0 min) z użyciem roztworu soli fizjologicznej buforowanej fosforanem (PBS), H₂O, jak również H₂O o znormalizowanej twardości jako substancji interferujących.

Obecne badanie wykazuje skuteczność działania wirusobójczego środka dezynfekcyjnego z zagęstnikiem, jak również bez zagęstnika (postać MD11988-89-2), po 2,0 minutach kontaktu dla wszystkich substancji interferujących. W analizie z zagęstnikiem redukcje miana o $\geq 4,71 \log_{10}$ przy użyciu H₂O jako substancji interferującej, o $\geq 5,0 \log_{10}$ przy użyciu H₂O o znormalizowanej twardości i o $\geq 5,43 \log_{10}$ przy użyciu PBS wykryto po 2-minutowej ekspozycji. Testy bez zagęstnika (postać MD11988-89-2) przyniosły redukcje miana wirusa o $\geq 4,71 \log_{10}$ przy użyciu H₂O jako substancji interferującej, o $\geq 4,14 \log_{10}$ przy użyciu H₂O o znormalizowanej twardości i o $\geq 4,43 \log_{10}$ przy użyciu PBS po 2-minutowym kontakcie.

Jednak aby osiągnąć pełne działanie środka dezynfekcyjnego zawierającego zagęstnik, konieczne jest odpowiednie wymieszanie. Skuteczności działania wirusobójczego nie można było wykazać przed wytrząsaniem próbek, natomiast postać MD11988-89-2 bez zagęstnika wykazała pełne działanie z lub bez wytrząsania. A zatem można przyjąć, że zagęstnik komplikuje inaktywację wirusa.

Po dodaniu PBS można było zaobserwować silne granulowanie.

Wyniki analiz zostały pokazane w tabeli 5 oraz na rys. 2 i 3. Dane nieprzetworzone zostały przedstawione w załączniku.

ECOLAB Sp. z o.o.
30-504 Kraków, ul. Kalwaryjska 69
tel. 012/261 61 00, fax 012/261 61 01
REGON 350577317, NIP 577-002-40-11

04.08.2010
ZA ZGODNOŚĆ
Z ORYGINAŁEM
Katarzyna Jankowska
Prakurant Ecolab Sp. z o.o.

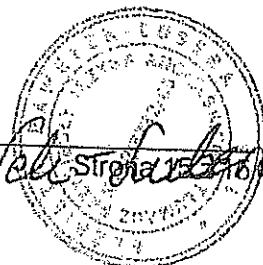


Tabela 5. Test pod kątem skuteczności działania wirusobójczego z adenowirusem

	Substancja interferująca	Czas kontaktu	Adenowirus (TCID ₅₀ /ml)	Redukcja miana wirusa (log ₁₀) + granice 95% przedziału ufności
Kontrola wirusa	H ₂ O	0 min	10 ^{-6,79±0,36}	-
		2,0 min	10 ^{-7,21±0,36}	-
VP-12273-39 Próbka 3, 80%		1,0 min. bez Spin	10 ^{-4,79±0,36}	2,42 ± 0,51
		1,0 z Spin	10 ^{-5,50±0,40}	1,71 ± 0,54
		2,0 bez Spin	≤0 ^{-3,50±0}	≥3,71 ± 0,51
		2,0 z Spin	≤0 ^{-2,50±0}	≥4,71 ± 0,51
MD11988-89-2, 80%		1,0 min. bez Spin	≤0 ^{-2,50±0}	≥4,71 ± 0,51
		2,0 min. bez Spin	≤0 ^{-2,50±0}	≥4,71 ± 0,51
Kontrola wirusa	H ₂ O znormalizowana twardość	0 min	10 ^{-6,79±0,36}	-
		2,0 min	10 ^{-6,64±0,28}	-
VP-12273-39 Próbka 3, 80%		1,0 min. bez Spin	10 ^{-4,50±0,54}	≥2,4 ± 0,61
		1,0 z Spin	10 ^{-4,64±0,46}	2,0 ± 0,54
		2,0 bez Spin	≤0 ^{-3,50±0}	≥3,14 ± 0,40
		2,0 z Spin	≤0 ^{-1,64±0,28}	≥5,0 ± 0,40
MD11988-89-2, 80%		1,0 min. bez Spin	≤0 ^{-2,50±0}	≥4,14 ± 0,40
		2,0 min. bez Spin	≤0 ^{-2,50±0}	≥4,14 ± 0,40
Kontrola wirusa	PBS	0 min	10 ^{-6,93±0,40}	-
		2,0 min	≤10 ^{-7,07±0,49}	-
VP-12273-39 Próbka 3, 80%		1,0 min. bez Spin	10 ^{-4,93±0,57}	2,14 ± 0,75
		1,0 z Spin	10 ^{-5,21±0,36}	1,86 ± 0,61
		2,0 bez Spin	≤0 ^{-3,50±0}	≥3,57 ± 0,69
		2,0 z Spin	≤0 ^{-1,64±0,28}	≥5,43 ± 0,56
MD11988-89-2, 80%		1,0 min. bez Spin	10 ^{-5,21±0,36}	1,86 ± 0,61
		2,0 min. bez Spin	≤0 ^{-2,64±0,28}	≥4,43 ± 0,56

ECOLAB Sp. z o.o.
20-504 Kraków, ul. Kalwaryjska 69
tel. 012261 61 00, fax 012261 61 01
REGON 350577317, NIP 677-002-40-11

04.08.2010
ZA ZGODNOŚĆ
Z ORYGINAŁEM
Katarzyna Bednarska
Pracownik Ecolab Sp. z o.o.



Zgodnie z postanowieniami normy europejskiej DIN EN 14476 (luty 2007) skuteczność działania wirusobójczego środka dezynfekcyjnego wykazuje się przez zademonstrowanie redukcji miana wirusa o co najmniej $4 \log_{10}$ w zalecany czasie ekspozycji. W przypadku środka dezynfekcyjnego VP-12273-39 Próbką 3., jak również postaci MD11988-89-2 bez zagęstnika, wymaganą redukcję mian o co najmniej $4 \log_{10}$ można było wykazać 2,0 minutach kontaktu dla wszystkich substancji interferujących. A zatem można przyjąć, że ten środek dezynfekcyjny wykazuje odpowiednią skuteczność działania wirusobójczego wobec adenowirusa. Jednak jeśli chodzi o środek dezynfekcyjny zawierający zagęstnik, aby osiągnąć pełne działanie, konieczne jest wymieszanie.

5. Zapewnienie jakości

Badanie to zostało przeprowadzone zgodnie z zasadami Dobrej Praktyki Laboratoryjnej

- [tekst w języku niemieckim]
- [tekst w języku niemieckim] Publikacje OECD na temat ochrony środowiska oraz bezpieczeństwa i higieny pracy; seria na temat zasad Dobrej Praktyki Laboratoryjnej i Monitorowania Zgodności – Numer 1., Dyrektoriat Ochrony Środowiska, Organizacja Współpracy Gospodarczej i Rozwoju, Paryż 1998.

6. Odstępstwa od protokołu badania

Nie wystąpiły odstępstwa od protokołu badania.

7. Archiwizacja

Wszelka korespondencja, oryginał raportu z testu oraz dokumentacja wszystkich danych nieprzetworzonych wygenerowanych w trakcie prowadzenia badania (dokumentacja w różnych postaciach, jak również wszelkie inne notatki dotyczące danych nieprzetworzonych, wydruki z aparatury i komputerów) są przechowywane pod numerem rejestrowym 09113DE w archiwum firmy Labor Dr. Merk & Kollegen GmbH, zgodnie z zasadami Dobrej Praktyki Laboratoryjnej

Jeśli sponsor będzie wnosil o akta badania na koniec okresu archiwizowania (obecnie 15 lat), firma Labor Dr. Merk & Kollegen GmbH musi być powiadomiona o tym na piśmie przez sponsora. W innym wypadku wszystkie dokumenty i materiały na koniec okresu archiwizowania mogą zostać zniszczone.

8. Dystrybucja i liczba raportów

Labor Dr Merk & Kollegen GmbH	1 (oryginał)
Sponsor	1 (oryginał)

ECOLAB Sp. z o.o.
20-504 Kraków, ul. Kalwaryjska 69
tel. 012/261 61 00, fax 012/261 61 01
REGON 350577317, NIP 677-002-40-11

04.08.2010
ZA ZGODNOŚĆ
Z ORYGINAŁEM
Katarzyna Bednarska
Prokurent Ecolab Sp. z o.o.



LABOR
DR.MERK & KOLLEGEN

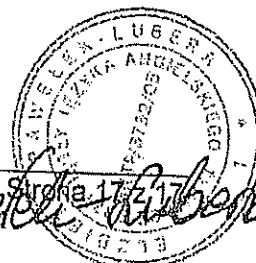
Załącznik 1: Dane nieprzetworzone dotyczące testów z VP-12273-39 Próbką 3 i postacią MD11988-89-2

Stężenie produktu	Proteiny interferujące + czas ekspozycji (min)	Rozcieńczenie log ₁₀								Granica 95% przedziału ufności
		10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸	
VP-12273-39 Próbka 3, 80%	H ₂ O, 1 min bez spin	ZZZZZZZ	ZZZZZZZ	2222222	2002000	0000000	0000000	no.	no.	0,36
	H ₂ O, 1 min z spin	4444444	4444444	3333333	2022222	0000000	0002000	no.	no.	0,40
	H ₂ O, 2 min bez spin	ZZZZZZZ	ZZZZZZZ	0000000	0000000	0000000	0000000	no.	no.	0
	H ₂ O, 2 min z spin	ZZZZZZZ	0000000	0000000	0000000	0000000	0000000	no.	no.	0
	H ₂ O (zl.), 1min bez spin	ZZZZZZZ	ZZZZZZZ	0323220	2000000	2000000	0000000	no.	no.	0,54
	H ₂ O (zl.), 1min z spin	4444444	4444444	3033232	0002020	0000000	0000000	no.	no.	0,46
	H ₂ O (zl.), 2min bez spin	ZZZZZZZ	ZZZZZZZ	0000000	0000000	0000000	0000000	no.	no.	0
	H ₂ O (zl.), 2 min z spin	0002000	0000000	0000000	0000000	0000000	0000000	no.	no.	0,28
	PBS, 1 min bez spin	ZZZZZZZ	ZZZZZZZ	2333302	0020220	0200000	0000000	no.	no.	0,57
	PBS, 1 min z spin	4444444	4444444	3333333	2023022	0000000	0000000	no.	no.	0,36
	PBS, 2 min bez spin	ZZZZZZZ	ZZZZZZZ	0000000	0000000	0000000	0000000	no.	no.	0
	PBS, 2 min z spin	0200000	0000000	0000000	0000000	0000000	0000000	no.	no.	0,28
MD11988-89-2, 80%	H ₂ O, 1 min bez spin	ZZZZZZZ	0000000	0000000	0000000	0000000	0000000	no.	no.	0
	H ₂ O, 2 min bez spin	ZZZZZZZ	0000000	0000000	0000000	0000000	0000000	no.	no.	0
	H ₂ O (zl.), 1min bez spin	ZZZZZZZ	0000000	0000000	0000000	0000000	0000000	no.	no.	0
	H ₂ O (zl.), 2 min bez spin	ZZZZZZZ	0000000	0000000	0000000	0000000	0000000	no.	no.	0
	PBS, 1 min bez spin	ZZZZZZZ	4444444	3333333	0222202	0000000	0000000	no.	no.	0,36
	PBS, 1 min bez spin	ZZZZZZZ	0200000	0000000	0000000	0000000	0000000	no.	no.	0,28

ECOLAB Sp. z o.o.
30-504 Kraków, ul. Kalwaryjska 69
tel. 012/261 61 00, fax 012/261 61 01
REGON 360577317 NIP 677-002-40-11

04.08.2010
ZA ZGODNOŚĆ
Z ORYGINAŁEM

Katarzyna Bednarska
Prekursor Ecolab Sp. z o.o.



Raport z testu
Projekt nr 09113DE

Data: 22 czerwca 2009 r.
Wersja nr 1

Handwritten signature

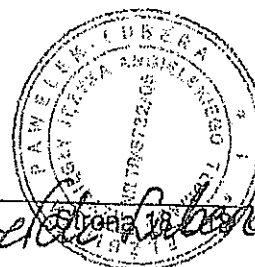
LABOR
DR. MERK & KOLLEGEN

Stężenie produktu	Proteiny interferujące + czas ekspozycji (min)	Rozcieńczenie log ₁₀									Granica 95% ufności
		10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸		
Kontrola wirusa H ₂ O	0	no.	4444444	4444444	4444444	4444444	0000302	0000000	no.	0,36	
	2,0	no.	4444444	4444444	4444444	2444444	3023402	0000000	no.	0,36	
Kontrola wirusa H ₂ O (zt.)	0	no.	4444444	4444444	4444444	4333334	0002020	0000000	no.	0,36	
	2,0	no.	4444444	4444444	4444444	3333333	0030000	0000000	no.	0,28	
Kontrola wirusa PBS	0	no.	4444444	4444444	4444444	4444444	2020002	0000000	no.	0,40	
	2,0	no.	4444444	4444444	4444444	4444333	0002420	3000000	no.	0,49	
Cytotoksyczność VP-12273-39 bez MicroSpin	-	zzzzzzz	zzzzzzz	0000000	0000000	0000000	0000000	no.	no.	-	
Cytotoksyczność VP-12273-39 z MicroSpin	-	zzzzzzz	0000000	0000000	0000000	0000000	0000000	no.	no.	-	
Cytotoksyczność MD11988-89-2 bez MicroSpin	-	zzzzzzz	0000000	0000000	0000000	0000000	0000000	no.	no.	-	
Cytotoksyczność MD11988-89-2 z MicroSpin	-	0000000	0000000	0000000	0000000	0000000	0000000	no.	no.	-	
Kontrola interferencji	-	no.	no.	4444444	4444444	3333333	3011202	0200000	0000000	0,46	
Interferencja VP-12273-39 Próbką 3, H ₂ O	-	no.	no.	4444444	4444444	3333333	2103220	0000000	0000000	0,36	
Interferencja VP-12273-39 Próbką 3, PBS	-	no.	no.	4444444	4444444	3333333	0022200	0020000	0000000	0,29	
Interferencja MD11988-89-2, H ₂ O	-	no.	no.	4444444	4444444	3333333	2220020	0000000	0000000	0,29	
Interferencja MD11988-89-2, PBS	-	no.	no.	4444444	—	3333333	2202022	0000000	0000000	0,15	
Formaldehyd 0,7%	5	zzzzzzz	zzzzzzz	zzzzzzz	3444432	2040222	0000000	no.	no.	0,36	
	15	zzzzzzz	zzzzzzz	zzzzzzz	0120200	0000000	4002000	no.	no.	0,40	
	30	zzzzzzz	zzzzzzz	zzzzzzz	0000000	0000000	0000000	no.	no.	0	
	60	zzzzzzz	zzzzzzz	zzzzzzz	0000000	0000000	0000000	no.	no.	0	
Cytotoksyczność Formaldehyd	-	zzzzzzz	zzzzzzz	zzzzzzz	0000000	0000000	0000000	no.	no.	-	

zt znormalizowana twardość
 no. nie oznaczono
 0 brak wirusa/brak wykrywalnej cytotoksyczności
 1-4 wykrywalny wirus (1 = słabe CPE, 4 = silne CPE)
 z wykrywalna cytotoksyczność

ECOLAB Sp. z o.o.
 30-504 Kraków, ul. Kalwaryjska 69
 tel. 012/261 61 00, fax 012/261 61 01
 REGON 350577317, NIP 677-002-40-11

04.08.2010
 ZA ZGODNOŚĆ
 Z ORYGINAŁEM
 Katarzyna Bednarska
 Prekurent Ecolab Sp. z o.o.



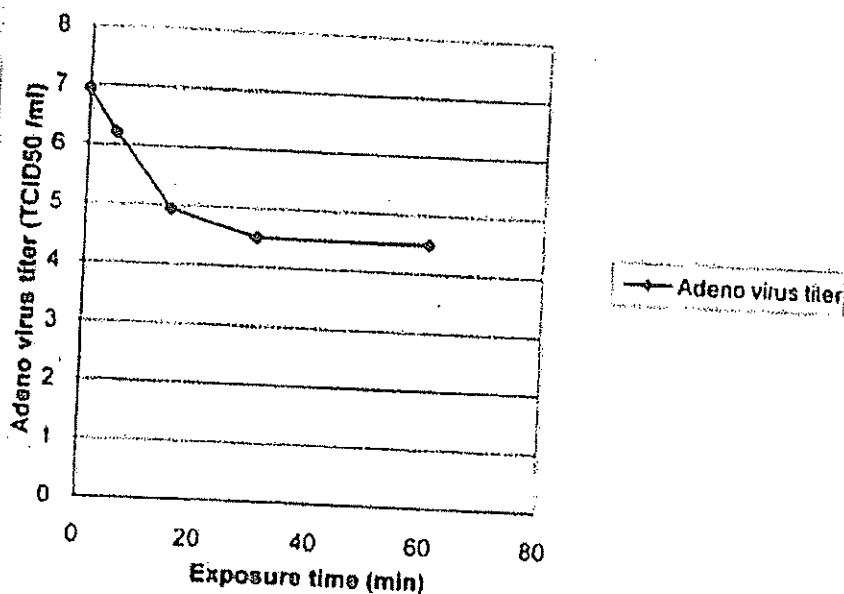
Raport z testu
 Projekt nr 09113DE

Data: 22 czerwca 2009 r.
 Wersja nr 1

[Signature]

Załącznik 2: Liczby dotyczące testów z VP-12273-39 Próbką 3 i postacią MD11988-89-2

Fig. 1: Adeno virus positive inactivation control with 0.7% Formaldehyde



Tekst	Tłumaczenie
Rys. 1: Adenowirus positive inactivation control with 0.7% Formaldehyde	Rys. 1: Pozytywna kontrola inaktywacji adenowirusa 0,7% formaldehydem
Adenowirus titer (TCID50/ml)	Miano adenowirusa (TCID ₅₀ /ml)
Adenowirus titer	Miano adenowirusa
Exposure time (min)	Czas ekspozycji (min)

ECOLAB Sp. z o.o.
20-504 Kraków, ul. Kalwaryjska 69
tel. 012/261 61 00, fax 012/261 61 01
REGON 140577317, NIP 677-002-40-11

04.08.2010
ZA ZGODNOŚĆ
Z ORYGINAŁEM
Katarzyna Bednarska
Praktykant Ecolab Sp. z o.o.

Raport z testu
Projekt nr 09113DE

Data: 22 czerwca 2009 r.
Wersja nr 1

[Signature]
Słubca 192440

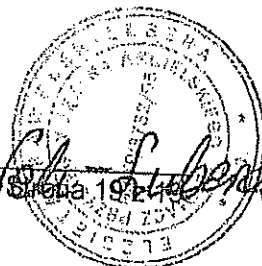
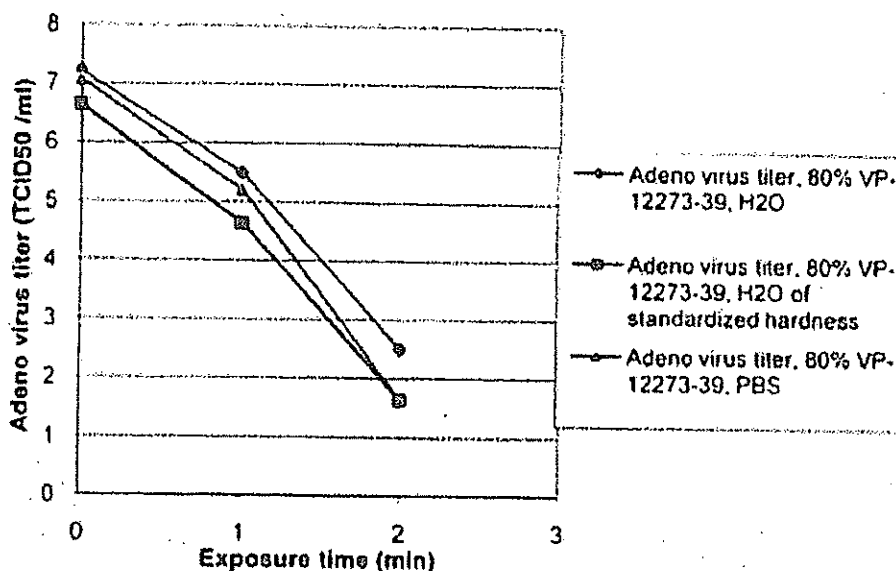


Fig. 2: Adeno virus inactivation with VP-12273-39 sample 3



Tekst	Tłumaczenie
Rys. 2: Adenowirus inactivation with VP-12273-39 Próbka 3	Rys. 2: Inaktywacja adenowirusa z użyciem VP-12273-39, Próbka 3
Adenowirus titer (TCID50 /ml)	Miano adenowirusa (TCID ₅₀ /ml)
Adenowirus titer, 80% VP-12273-39, H2O	Miano adenowirusa, 80% VP-12273-39, H2O
Adenowirus titer, 80% VP-12273-39, H2O o znormalizowanej twardości	Miano adenowirusa, 80% VP-12273-39, H2O o znormalizowanej twardości
Adenowirus titer, 80% VP-12273-39, PBS	Miano adenowirusa, 80% VP-12273-39, PBS
Exposure time (min)	Czas ekspozycji (min)

ECOLAB Sp. z o.o.
20-504 Kraków, ul. Kalwaryjska 69
tel. 012/261 61 00, fax 012/261 61 01
REGON 350577317, NIP 677-002-40-11

04.08.2010
ZA ZGODNOŚĆ
Z ORYGINAŁEM
Katarzyna Bednarska
Pracownik Ecolab Sp. z o.o.

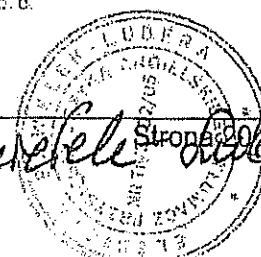
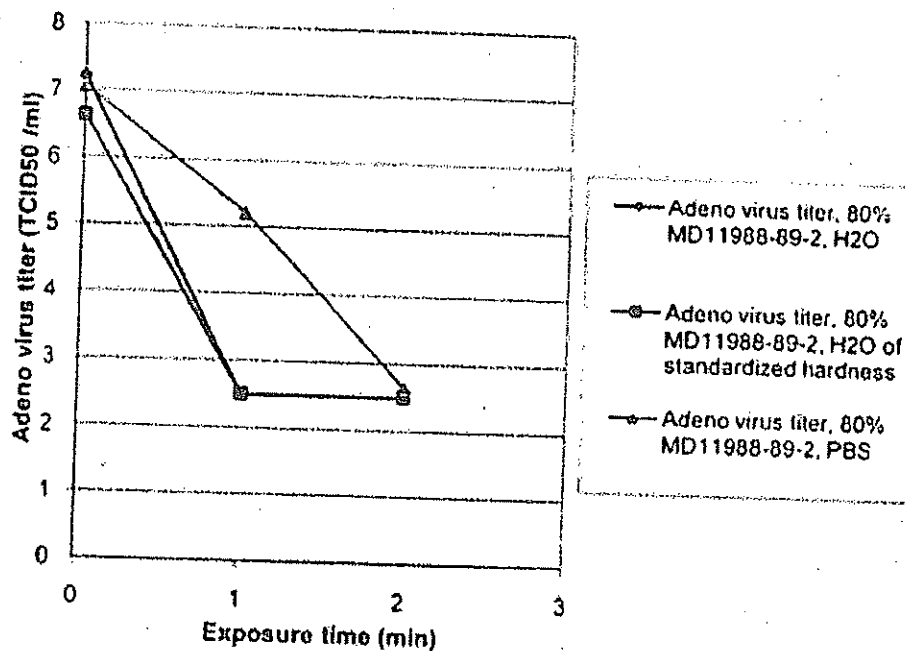


Fig. 3: Adeno virus Inactivation with MD11988-89-2

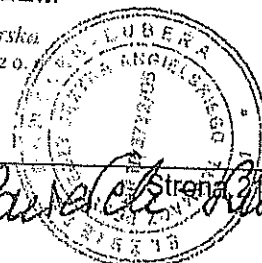


Tekst	Tłumaczenie
Rys. 3: Adenowirus inactivation with MD11988-89-2	Rys. 3: Inaktywacja adenowirusa z użyciem MD11988-89-2
Adenowirus titer (TCID50/ml)	Miano adenowirusa (TCID ₅₀ /ml)
Adenowirus titer. 80% MD1198849-2. H2O	Miano adenowirusa, 80% MD1198849-2, H2O
Adenowirus titer. 80% MD11988-89-2. H2O o znormalizowanej twardości	Miano adenowirusa, 80% MD11988-89-2, H2O o znormalizowanej twardości
Adenowirus titer. 80% MD11988-89-2. PBS	Miano adenowirusa, 80% MD11988-89-2, PBS
Exposure time (min)	Czas ekspozycji (min)

ECOLAB Sp. z o.o.
32-504 Kraków, ul. Kalwaryjska 69
tel. 012/261 61 00, fax 012/261 61 01
REGON 35017317 NIP 677-002-40-11

04.08.2010
ZA ZGODNOŚĆ
Z ORYGINAŁEM

Katarzyna Bednarska
Prokurent Ecolab Sp. z o.o.



Załącznik 3: Obliczenia i analiza statystyczna mian wirusa

Obliczenie odchylenia standardowego:

$$S_m = \sqrt{d^2 \sum [(p_i(1-p_i))/(n-1)]}$$

S_m = odchylenie standardowe

d = logarytm etapu rozcieńczania

p_i = zaobserwowana szybkość reakcji

n = liczba oznaczeń

Obliczenie granic 95% przedziału ufności

$$C_{95\%} = \pm 2 S_m$$

$C_{95\%}$ = granica 95% przedziału ufności

S_m = odchylenie standardowe

Obliczenie współczynnika redukcji

$$RF_{T1} = a - b$$

RF_{T1} = współczynnik redukcji pierwszego testu

$a = \log_{10} TCID_{50}/ml$ w kontroli wirusa (pierwszy test)

$b = \log_{10} TCID_{50} /ml$ w produkcie testowanym z dodatkiem analitu (pierwszy test)

$$K_{RF(T1)} = \sqrt{(2S_a)^2 + (2S_b)^2}$$

$K_{RF(T1)}$ = granica 95% przedziału ufności współczynnika redukcji

S_a = odchylenie standardowe w kontroli wirusa

S_b = odchylenie standardowe w produkcie testowanym z dodatkiem analitu

$2S_b$ = granica 95% przedziału ufności w produkcie testowanym z dodatkiem analitu

ECOLAB Sp. z o.o.
20-504 Kraków, ul. Kalwaryjska 69
tel. 012/261 61 00, fax 012/261 61 01
REGON 143077317, NIP 677-002-40-11

04.08.2010
ZA ZGODNOŚĆ
Z ORYGINAŁEM
Katarzyna Janowska
Prekurent Ecolab Sp. z o.o.

Obliczenie średniego współczynnika redukcji i granicy 95% przedziału ufności

$$RF_{(mi)} = (RF_{T1} + RF_{T2})/2$$

$RF_{(mi)}$ = średni współczynnik redukcji

RF_{T1} = współczynnik redukcji pierwszego testu

RF_{T2} = współczynnik redukcji drugiego testu

$$K_{RF(mi)} = 1/2 \sqrt{(K_{RF(T1)})^2 + (K_{RF(T2)})^2}$$

$K_{RF(mi)}$ = granica 95% przedziału ufności średniego współczynnika redukcji

$K_{RF(T1)}$ = granica 95% przedziału ufności pierwszego testu

$K_{RF(T2)}$ = granica 95% przedziału ufności drugiego testu

Na ostatniej stronie znajduje się tekst w języku niemieckim oraz odcisk pieczęci.

Tłumaczenie składa się z 31 378 znaków ze spacjami (28 stron).

Ja, mgr Elżbieta Pawelek- Lubera, tłumacz przysięgły języka angielskiego, stwierdzam, iż powyższe tłumaczenie w pełni odpowiada tekstowi przedstawionemu mi w języku angielskim./-/

Rep. Nr 438/2010/-/

Rzeszów, 21 lipca 2010/-/

ECOLAB Sp. z o.o.
30-504 Kraków, ul. Kahwaryjska 69
tel. 012/261 61 00, fax 012/261 61 01
REGON 350577317 NIP 577-002-40-11

04.08.2010
ZA ZGODNOŚĆ
Z ORYGINAŁEM

Katarzyna Jednarska
Prakurant ECOLAB Sp. z o.o.



Tłumacz Przysięgły Języka Angielskiego
mgr Elżbieta Pawełek-Lubera
ul. Popieluszków 20
35-328 Rzeszów

Wpis na Liście Tłumaczy Przysięgłych prowadzoną przez Ministra Sprawiedliwości pod numerem TP/3732/05
Telefon: 604 170 160

TŁUMACZENIE PRZYSIĘGŁE Z JĘZYKA ANGIELSKIEGO

Dziewiętnaście stron oryginalnego dokumentu. Tłumaczenie na podstawie oryginału.

ECOLAB

Badania i Rozwój Opieka Zdrowotna
Europa, Bliski Wschód, Afryka
Wsparcie Mikrobiologiczne

Oświadczenie na temat skuteczności działania wirusobójczego produktu Spirigel complete wobec wirusa Polio

Niniejszym oświadczamy, że postać „Próbka 3”, testowana pod kątem skuteczności działania wirusobójczego, zgodnie z raportem z testu firmy Dr. Merk & Kollegen z 18 czerwca 2009 r., jest identyczna z produktem Spirigel complete.

Można zatem stwierdzić, że produkt Spirigel complete ma działanie wirusobójcze wobec wirusa Polio, zgodnie z normą EN 14476, gdy jest stosowany w postaci nierozcieńczonej, a kontakt ze skórą trwa 2 min.

Düsseldorf, 24 sierpnia 2009 r.

[odręczny podpis]

dr Stefan Jäger

Menedżer Projektu

Badanie i Rozwój Opieka Zdrowotna

[odręczny podpis]

dr Bernhard Meyer

Menedżer Wsparcia Mikrobiologicznego

Badanie i Rozwój Opieka Zdrowotna

W stopce znajdują się dane firmy Ecolab w języku niemieckim.


Na odwrocie znajduje się tekst w języku niemieckim.

ECOLAB Sp. z o.o.
20-504 Kraków, ul. Kalwaryjska 69
tel. 012/261 61 00, fax 012/261 61 01
REGON 350577317, NIP 677-002-40-11

04.08.2010
ZA ZGODNOŚĆ
Z ORYGINAŁEM

Katarzyna Bednarska
Prokurent Ecolab Sp. z o.o.

W Pawełek-Lubera



ECOLAB Sp. z o.o.
20-604 Kraków, ul. Kalwaryjska 69
tel. 012/261 61 00, fax 012/261 61 01
REGON 350577317, NIP 677-002-40-11

04.08.2010
ZA ZGODNOŚĆ
Z ORYGINAŁEM

Katarzyna Budnarska
Prokurent Ecolab Sp. z o.o.

LABOR
DR. MERK & KOLLEGEN

Labor Dr. Merk & Kollegen GmbH

Beim Braunland 1
D-88416 Ochsenhausen
Deutschland
Tel. +49-(0)73 52-91 19 30
Fax +49-(0)73 52-91 19 40

RAPORT Z BADAŃ

Numer projektu: 09107DE

Sponsor: Ecolab GmbH & Co. OHG
Postfach 13 04 06
D-40554 Düsseldorf
Niemcy

Tytuł badania: Test środka dezynfekcyjnego pod kątem skuteczności działania wirusobójczego wobec wirusa Polio

Produkt testowany: VP-12273-33, Próbką 3

Produkt referencyjny: Nie dotyczy

Autorzy: dr Ingrid Rapp

Miejsce testu: Labor Dr. Merk & Kollegen GmbH
Beim Braunland 1
D-88416 Ochsenhausen

Daty zw. z badaniem:

Otrzymanie produktu 11 marca 2009 r.

testowanego:

Początek testu: 24 marca 2009 r.

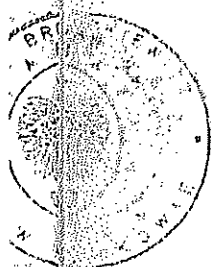
Koniec testu: 15 kwietnia 2009 r.

Raport końcowy: 18 czerwca 2009 r.

Zgodnie z normą DIN EN ISO/IEC 17025 firma Labor Dr. Merk & Kollegen GmbH nie bierze na siebie odpowiedzialności za ewentualne mylące przedstawienie metod badania i wyników opisanych w tym raporcie, jeśli będzie on powielany fragmentarycznie.

LABOR
DR.MERK & KOLLEGEN

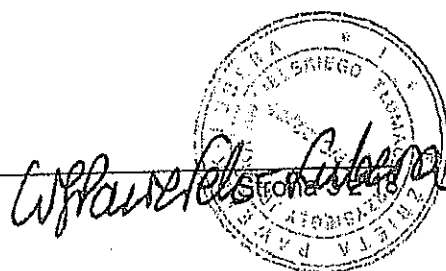
7. Archiwizacja	13
8. Dystrybucja i liczba raportów	13
Załącznik 1: Dane nieprzetworzone dotyczące testów z VP-12273-33, Próbką 3	14
Załącznik 2: Liczby dotyczące testów z VP-12273-33, Próbką 3	15
Załącznik 3: Obliczenia i analiza statystyczna mian wirusa	17
Obliczenie odchylenia standardowego:	17
Obliczenie granic 95% przedziału ufności	17
Obliczenie współczynnika redukcji	17
Obliczenie średniego współczynnika redukcji i granicy 95% przedziału ufności	18



ECOLAB Sp. z o.o.
30-504 Kraków, ul. Kalwaryjska 69
tel. 012/261 61 00, fax 012/261 61 01
REGON 350577317, NIP 577-002-40-11

04.08.2010
ZA ZGODNOŚĆ
Z ORYGINAŁEM

Katarzyna Bednarska
Prokurent Ecolab Sp. z o.o.



LABOR
DR.MERK & KOLLEGEN

Podpisy kadry projektu

Ochsenhausen, 29.06.09 [data wpisana odręcznie]

[odręczny podpis]
Anja Braun
Dyrektor Laboratoriów Wirusologicznych
Labor Dr. Merk & Kollegen GmbH

Ochsenhausen, 29.6.09 [data wpisana odręcznie]

[odręczny podpis]
dr Ingrid Rapp
Kierownik Projektu
Labor Dr. Merk & Kollegen GmbH

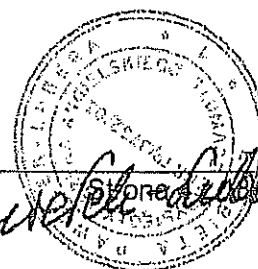
ECOLAB Sp. z o.o.
30-504 Kraków, ul. Kalwaryjska 69
tel. 012/261 61 00, fax 012/261 61 01
REGON 350577317, NIP 677-002-40-11

04.08.2010
ZA ZGODNOŚĆ
Z ORYGINAŁEM

Katarzyna Bednarska
Prokurent Ecolab Sp. z o.o.

Raport z badań
Projekt nr 09107DE

Data: 18 czerwca 2009 r.
Wersja nr 1



04.08.2009
ZA ZGODNOŚĆ
Z ORYGINAŁEM

LABOR

Katarzyna Budnarska
Praktykant/Pracownik

DR.MERK & KOLLEGEN

Streszczenie

Celem badania było wykazanie skuteczności działania wirusobójczego chemicznego środka dezynfekcyjnego VP-12273-33, Próbką 3, zgodnie z europejską normą DIN EN 14476 (luty 2007). Testy wykonano z użyciem nieotoczkowego wirusa Polio.

Określoną zawiesinę wirusa inkubowano z nierozcieńczonym roztworem środka dezynfekcyjnego (co dało 80% rozcieńczenie środka dezynfekcyjnego w mieszaninie testowej) i wysiano na pożywkach odpowiedniej linii komórek. Po 7 dniach zakażone komórki sprawdzono pod kątem działania cytotoksycznego i cytopatogenicznego. Jeśli działanie cytopatogeniczne nie było widoczne, stwierdzano, że udało się inaktywować wirus przy użyciu środka dezynfekcyjnego.

Przeprowadzono następujące etapy walidacji:

- Identyfikacja stosownej dawki zakaźnej (miano wirusa) z użyciem odpowiedniej linii komórek
- Identyfikacja stężenia środka dezynfekcyjnego tolerowanego przez odpowiednią linię komórek
- Identyfikacja stężenia środka dezynfekcyjnego, które pozostawia odpowiednią linię komórek podatną na zakażenie wirusem Polio
- Kontrola pozytywna inaktywacji wirusa po 15-, 30-, 60- i 120-minutowej inkubacji z użyciem formaldehydu

Po udanym przeprowadzeniu wymienionych wyżej etapów walidacji działanie antywirusowe nierozcieńczonego środka dezynfekcyjnego wobec wirusa Polio przetestowano dla 2 przedziałów czasowych (1 min i 2 min) z użyciem soli fizjologicznej buforowanej fosforanami (PBS) jako substancji interferującej.

Obecne badanie wykazuje skuteczność działania wirusobójczego środka dezynfekcyjnego VP-12273-33, Próbką 3, wobec wirusa Polio po 2-minutowym kontakcie. Redukcję miana o 5,14 \log_{10} można było wykazać po 2-minutowym czasie ekspozycji.

Na podstawie postanowień europejskiej normy DIN EN 14476 (luty 2007) skuteczność działania wirusobójczego środka dezynfekcyjnego wykazuje się, demonstrując redukcję miana wirusa o co najmniej 4 \log_{10} w zalecany czasie ekspozycji. W przypadku tego środka dezynfekcyjnego wymaganą redukcję miana o co najmniej 4 \log_{10} można było zademonstrować po 2-minutowym kontakcie.

Podsumowanie wyników inaktywacji wirusa za pomocą środka dezynfekcyjnego VP-12273-33, Próbką 3, zostało przedstawione w tabeli 1.

Tabela 1: Podsumowanie wyników badania skuteczności działania antywirusowego produktu VP-12273-33, Próbką 3

Produkt	Stężenie	Proteiny Interferujące	\log_{10} TCID ₅₀ po ... minutach		> 4 \log_{10} redukcja po
			1,0	2,0	
VP-12273-33, Próbka 3	80%	PBS	4,93	3,5	2 min
Kontrola wirusa	nie dot.		nie badano	≥8,64	nie dot.

LABOR
DR.MERK & KOLLEGEN

1. Materiały i produkty testowane

1.1. Nośniki i odczynniki

Nośnikiem testowym zastosowanym w tym badaniu był DMEM, uzupełniony płodową surowicą cielęcą, czynnikami wzrostu oraz penicyliną 100 jednostek/ml i streptomycyną 130 µg/ml.

- DMEM (Invitrogen, seria nr: 048K24491), 10% płodowa surowica cielęca (Invitrogen, seria nr: 41F2755K), 1% pen./strep. – roztwór podstawowy (seria nr: 6895), 1% L-glutamina (PAA, seria nr: M00608-1464), 1% zbędne aminokwasy (Biochrom, seria nr: 1213S), 1% pirogronian sodu (seria nr: 6989)

37% formaldehyd: (seria nr: S60227-348, numer wew.: RM-046)

H₂O: woda, podwójnie destylowana (Roth, seria nr: 50899363)

DPBS: (seria nr: 427813, numer wewnętrzny: RM-184)

1.2. Aparatura

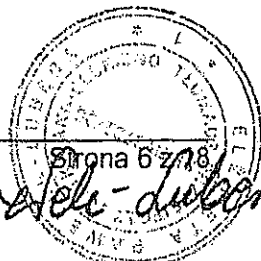
Zwykły sprzęt laboratorium mikrobiologicznego, a w szczególności:

- płytki mikrotestowe z 96 studzienkami (Nunc, Wiesbaden, Niemcy)
- miernik pH (dokładność kalibracji jednostek pH 0,1 przy 25°C) (WTW, Weilheim, Niemcy)
- mikroskop odwrócony (Leitz, Wetzlar, Niemcy)
- wytrząsarka Vortex (IKA, Staufen, Niemcy)
- wirówka (Centrifuge 5415C, Eppendorf, Hamburg, Niemcy)
- inkubator, 37°C ± 1° (Heraeus, Osterode, Niemcy)

ECOLAB Sp. z o.o.
20-504 Kraków, ul. Kalwaryjska 69
tel. 012/261 61 00, fax 012/261 61 01
REGON 350577317, NIP 677-002-40-11

04.08.2010
ZA ZGODNOŚĆ
Z ORYGINAŁEM
Katarzyna Bednarska
Prokurent Ecolab Sp. z o.o.

Wpływ... - Lubomir



DR.MERK & KOLLEGEN

BGM: Typ: Komórki nerkowe afrykańskich małp zielonych
Pochodzenie: Microlab, Bremen, Niemcy
Zastosowanie: Hodowla wirusa Polio

Komórki przechowywano jako zawiesiny wyjściowe w temperaturze -196°C . Hodowano je w temperaturze $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ i w 5% CO_2 . Komórki regularnie sprawdzano pod kątem obecności mykoplazm.

Wirus Polio, serotyp 1, szczep LSc2ab

Pochodzenie: Chiron Behring GmbH & Co., Marburg
Punkt końcowy: CPE
System komórek: Komórki BGM

Zawiesiny wyjściowe wirusów przechowywano w temperaturze -80°C . Wirusy wyjściowe namnożono w odpowiedniej linii komórek, aby uzyskać wysokie miana zakaźnych wirusów. Zawiesiny z detrytusem komórkowym zamrożono i odmrożono dwukrotnie. Następnie detrytus komórkowy oddzielono przez wirowanie przy małej prędkości. Zawiesiny wirusów przechowywano w temperaturze -80°C .

ECOLAB Sp.z o.o.
20-504 Kraków, ul. Kalwaryjska 69
tel.012/261 61 00, fax 012/261 61 01
REGON 350577317, NIP 677-002-40-11

04.08.2010
ZA ZGODNOŚĆ
Z ORYGINAŁEM

Katarzyna Jednarska
Prokurent Egoah Sp. z o. o.

LABOR
DR.MERK & KOLLEGEN

1.3. Produkt testowany

Badano następujący materiał:

Nazwa produktu testowanego:

Opis produktu:

Numer artykułu:

Numer serii:

Wytwórca:

Data wytworzenia:

Stabilność/Termin ważności:

Czystość/Skład na 100 g:

Wartość pH:

Stan fizyczny/wygląd:

Warunki przechowywania:

VP-12273-33, Próbką 3

Środek dezynfekcyjny do rąk

Nieznany jednostce testującej

Nieznany jednostce testującej

Ecolab Deutschland GmbH, Düsseldorf

4 marca 2009 r.

Nieznany jednostce badawczej

85 g etanolu/100g

8,44

Przejrzysty żel

Temperatura pokojowa

Produkt referencyjny:

Nie dotyczy

Stosowne normy

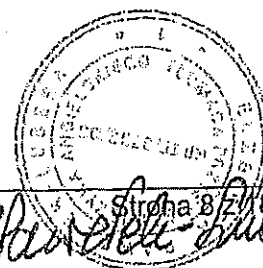
Testy zostały przeprowadzone zgodnie z następującymi normami:

- Norma EN 14476 (luty 2007) DIN [tekst w języku niemieckim]

ECOLAB Sp. z o.o.
30-504 Kraków, ul. Kalwaryjska 69
tel. 012/261 61 00, fax 012/261 61 01
REGON 350577317, NIP 677-002-40-11

04.08.2010
ZA ZGODNOŚĆ
Z ORYGINAŁEM

Katarzyna Bednarska
Prokurent Ecolab Sp. z o.o.



3. Metody badawcze

3.1. Testy wstępne

3.1.1. Identyfikacja stosownej dawki zakaźnej (miana wirusa) za pomocą odpowiedniej linii komórek

Aby określić dawkę zakaźną użytych wirusów, 100 μ l zawiesiny komórkowej odpowiedniej linii komórek na płytkach mikrotęstowych inokulowano rozcieńczeniami seryjnymi \log_{10} w ilości 100 μ l na studzienkę zawiesiny wirusa w podłożu utrzymującym (7 odczynników na etap rozcieńczania). Po 7 dniach komórki sprawdzono pod kątem działania cytopatogenicznego (CPE) i ustalono punkt końcowy 50% zakażenia ($TCID_{50}/ml$). Miano wywołania zakażenia wirusowego obliczono według metody Spaermana-Karbera.

$$\log_{10} TCID_{50} = -(X_0 - 0,5 + \sum r/n)$$

X_0 = \log_{10} etapu najniższego rozcieńczenia ze 100% reakcją pozytywną

r = liczba wszystkich pozytywnych odczynników etapu najniższego rozcieńczenia ze 100% reakcją pozytywną i wszystkimi wyższymi (pozytywnymi) etapami rozcieńczenia

n = liczba odczynników na etap rozcieńczania

3.1.2. Identyfikacja stężenia środka dezynfekcyjnego tolerowanego przez odpowiednią linię komórek (cytotoksyczność)

Aby określić cytotoksyczne działanie środka dezynfekcyjnego, 2 części PBS wymieszano z 8 częściami środka dezynfekcyjnego. Dalsze etapy rozcieńczenia wykonano w pożywce utrzymującej i poddano ekspozycji na hodowle komórek (100 μ l na studzienkę). Po 7-dniowej inkubacji sprawdzono pod kątem działania cytotoksycznego.

3.1.3. Identyfikacja stężenia środka dezynfekcyjnego, które pozostawia odpowiednią linię komórek podatną na zakażenie adenowirusem i wirusem Polio

Aby wykazać, że środek dezynfekcyjny nie wpłynął na morfologię komórek, wzrost lub podatność na wirusy, podatne komórki poddano działaniu nietoksycznego rozcieńczenia środka dezynfekcyjnego. Następnie seryjne rozcieńczenie wirusów poddano ekspozycji na te komórki. Jako kontrolę negatywną, zamiast środka dezynfekcyjnego, zastosowano PBS. Po 7-dniowej inkubacji komórki sprawdzono pod kątem działania cytotoksycznego i CPE, określono $TCID_{50}/ml$. Porównawcze miareczkowania wirusa na komórki poddane działaniu PBS i komórki poddane działaniu rozcieńczeń środka dezynfekcyjnego powinny dać różnicę $< 1,0 \log_{10}$ miana wirusa.

3.1.4. Kontrola pozytywna inaktywacji wirusa z użyciem formaldehydu

Dwie części zawiesiny wirusa Polio zmieszano z 8 częściami PBS i 10 częściami 1,4% (w/v) formaldehydu. Przed i po 15-, 30-, 60- i 120-minutowym kontakcie zawiesinę wymieszano, pobrano część i seryjnie rozcieńczono w lodowatej pożywce w kapeli lodowej. Wszystkie rozcieńczenia poddano ekspozycji (inokulum 100 μ l na każdą studzienkę) na hodowle komórek. Po 7-dniowej inkubacji w temperaturze $37^{\circ}C \pm 1^{\circ}C$ komórki sprawdzono pod kątem CPE i określono $TCID_{50}/ml$.

Cytotoksyczność roztworu formaldehydu określono dodatkowo: jedną część 1,4% (w/v) formaldehydu dodano do jednej części PBS. Zawiesinę tę następnie

rozcieńczono pożywką w kąpieli lodowej. Następnie rozcieńczenia przetransferowano do studzienek z hodowlą komórek. Po 7 dniach w temperaturze $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ komórki sprawdzono pod kątem działania cytotoksycznego.

3.2. Test pod kątem skuteczności działania wirusobójczego

Aby określić skuteczność działania wirusobójczego środka dezynfekcyjnego, jedną część PBS zmieszano z 1 częścią zawiesiny wirusa. Do tej mieszaniny dodano 8 części środka dezynfekcyjnego, wymieszano i inkubowano na 2 różne długości czasu kontaktu (1 min i 2 min).

Po odpowiednich punktach czasowych zawiesiny poddano ponownemu sporządzeniu zawiesiny, pobrano część, a działanie wirusobójcze zostało natychmiast poddane supresji przez seryjne rozcieńczanie z użyciem lodowatej pożywki. Rozcieńczenia przechowywano w lodowej kąpieli do dalszego przetworzenia.

Na koniec czasów kontaktu oraz po zebraniu i rozcieńczeniu próbek wszystkie rozcieńczenia przetransferowano (100 μl na każdą studzienkę) do zawiesin hodowli komórek i inkubowano w temperaturze $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Po 7 dniach komórki sprawdzono pod kątem CPE i określono $\text{TCID}_{50}/\text{ml}$. Wykrywalna redukcja miana powinna wynosić co najmniej 4 \log_{10} .

Ponadto działanie infekcyjne zawiesiny testowanego wirusa określono w warunkach testowych, ale bez ekspozycji na środek dezynfekcyjny, przy czasie kontaktu 0 min i 2 min. Zamiast środka infekcyjnego zastosowano H_2O .

4. Wyniki

4.1. Badania walidacyjne

4.1.1. Identyfikacja stężenia środka dezynfekcyjnego tolerowanego przez odpowiednią linię komórek (cytotoksyczność)

Test przeprowadzono zgodnie z rozdziałem 3.1.2. z linią komórek BGM. Środek dezynfekcyjny wykazał silne działanie cytotoksyczne w roztworze 1:10 i nie wykazywał działania po rozcieńczeniu 1:100 lub wyższym. Załącznik podsumowuje nieprzetworzone dane z testu cytotoksyczności.

4.1.2. Identyfikacja stężenia środka dezynfekcyjnego, które pozostawia odpowiednią linię komórek podatną na zakażenia wirusowe

Test przeprowadzono zgodnie z rozdziałem 3.1.3. Wyniki pokazały, że środek dezynfekcyjny nie wpływa na podatność komórek na wirusa ani na wzrost czy morfologię komórek. Porównawcze miareczkowanie wirusa na nie poddane i poddane działaniu środka dezynfekcyjnego komórki pokazało redukcję wirusa o 0,14 \log_{10} .

Wyniki miareczkowania wirusa na nie poddane i na poddane działaniu środka dezynfekcyjnego komórki zostały pokazane w tabeli 2. Nieprzetworzone dane z tych testów zostały podsumowane z załącznika.

Tabela 2: Miano wirusa komórek niepoddanych i poddanych działaniu produktu VP-12273-33, Próbką 3

	Poddanie komórek BGM działaniu		
	PBS	VP-12273-33 Próbka 3	Różnica \log_{10}
Wirus Polio $\log_{10} \text{TCID}_{50}/\text{ml}$	$10^{-7,93}$	$10^{-7,79}$	0,14

4.1.3. Kontrola pozytywna inaktywacji wirusa po inkubacji z użyciem formaldehydu

Jako kontrola systemu testu wirus Polio został inaktywowany 0,7% roztworem formaldehydu. Test przeprowadzono zgodnie z rozdziałem 3.1.4. Wirusa Polio nie można było całkowicie inaktywować nawet po 120-minutowej ekspozycji. Ale redukcję miana o $\leq 2,57 \log_{10}$ można było zademonstrować po 60 min, a o $\geq 3,57 \log_{10}$ po 120 minutach ekspozycji. A zatem wymogi normy europejskiej zostały spełnione. Wyniki zostały przedstawione w tabeli 3 i na rys. 1. Dane nieprzetworzone zostały podsumowane w załączniku.

Tabela 3: Inaktywacja wirusa formaldehydem

	Kontrola wirusa	Czas ekspozycji na roztwór formaldehydu			
		15 min	30 min	60 min	120 min
Wirus Polio (TCID ₅₀ /ml)	$10^{-8.64}$	$\geq 10^{-7.07}$	$10^{-6.21}$	$\geq 10^{-6.07}$	$\leq 10^{-5.07}$
Redukcja miana wirusa	-	$\leq 1,57 \log_{10}$	$2,43 \log_{10}$	$\leq 2,57 \log_{10}$	$\geq 3,57 \log_{10}$

4.2. Test pod kątem skuteczności działania wirusobójczego

Testy te przeprowadzono zgodnie z rozdziałem 3.2. Działanie wirusobójcze produktu VP-12273-33, Próbką 3, przetestowano dla 2 różnych czasów kontaktu (1 min i 2 min) przy użyciu roztworu soli fizjologicznej buforowanej fosforem (PBS) jako substancji interferującej.

Obecne badanie wykazuje skuteczność działania wirusobójczego środka dezynfekcyjnego wobec wirusa Polio. Redukcję miana wirusa o $5,14 \log_{10}$ można było zademonstrować po 2 minutach czasu ekspozycji.

Po dodaniu PBS można było zaobserwować silne granulowanie.

Wyniki analizy zostały pokazane w tabeli 4 i na rys. 2. Nieprzetworzone dane zostały przedstawione w załączniku.

Tabela 4: Test pod kątem skuteczności działania wirusobójczego środka dezynfekcyjnego VP-12273-33, Próbką 3

	Kontrola wirusa		Inaktywacja wirusa przez VP-12273-33, Próbką 3	
	0 min	2,0 min	1,0 min	2,0 min
Wirus Polio (TCID ₅₀ /ml)	$10^{-8.5 \pm 0.40}$	$10^{-8.64 \pm 0.28}$	$10^{-4.93 \pm 0.46}$	$10^{-3.50 \pm 0}$
Redukcja miana wirusa (log ₁₀) + granice 95% przedziału ufności	-	-	$3,71 \pm 0,54$	$5,14 \pm 0,40$

Na podstawie postanowień europejskiej normy DIN EN 14476 (luty 2007) skuteczność działania wirusobójczego środka dezynfekcyjnego wykazuje się przez zademonstrowanie redukcji miana wirusa o co najmniej $4 \log_{10}$ w zalecany czas ekspozycji.

W przypadku tego środka dezynfekcyjnego wymagana redukcja miana o co najmniej $4 \log_{10}$ można było zademonstrować po 2 minutach kontaktu. A zatem można przyjąć, że środek dezynfekcyjny wykazuje odpowiednią skuteczność działania wirusobójczego wobec wirusa Polio.

LABOR
DR.MERK & KOLLEGEN

5. Zapewnienie jakości

Badanie to zostało przeprowadzone zgodnie z zasadami Dobrej Praktyki Laboratoryjnej.

- [tekst w języku niemieckim]
- [tekst w języku niemieckim]; Publikacje OECD na temat ochrony środowiska oraz bezpieczeństwa i higieny pracy; seria na temat zasad Dobrej Praktyki Laboratoryjnej i Monitorowania Zgodności – Numer 1., Dyrektoriat Ochrony Środowiska, Organizacja Współpracy Gospodarczej i Rozwoju, Paryż 1998.

6. Odstępstwa od protokołu badania

Nie wystąpiły odstępstwa od protokołu badania.

ECOLAB Sp. z o.o.
20-504 Kraków, ul. Kalwaryjska 69
tel. 012/261 61 00, fax 012/261 61 01
REGON 350577317 NIP 577-002-40-11

04.08.2010
**ZA ZGODNOŚĆ
Z ORYGINAŁEM**

Katarzyna Bednarska
Prokurent Ecolab Sp. z o.o.



7. **Archiwizacja**

Wszelka korespondencja, oryginał raportu z testu oraz dokumentacja wszystkich danych nieprzetworzonych wygenerowanych w trakcie prowadzenia badania (dokumentacja w różnych postaciach, jak również wszelkie inne notatki dotyczące danych nieprzetworzonych, wydruki z aparatury i komputerów) są przechowywane pod numerem rejestrowym 09107DE w archiwum firmy Labor Dr. Merk & Kollegen GmbH, zgodnie z zasadami Dobrej Praktyki Laboratoryjnej.

Jeśli sponsor będzie wnosil o akta badania na koniec okresu archiwizowania (obecnie 15 lat), firma Labor Dr. Merk & Kollegen GmbH musi być powiadomiona o tym na piśmie przez sponsora. W innym wypadku wszystkie dokumenty i materiały na koniec okresu archiwizowania mogą zostać zniszczone.

8. **Dystrybucja i liczba raportów**

Labor Dr. Merk & Kollegen GmbH: 1 (oryginał)
Sponsor: 1 (oryginał)

ECOLAB Sp. z o.o.
20-504 Kraków, ul. Kalwaryjska 69
tel. 012/261 61 00, fax 012/261 61 01
REGON 353577317 NIP 377-002-40-11

04.08.2010
ZA ZGODNOŚĆ
Z ORYGINAŁEM

Katarzyna Bednarska
Prokurent Ecolab Sp. z o.o.

LABOR
DR.MERK & KOLLEGEN

Załącznik 1: Dane nieprzetworzone dotyczące testów z VP-12273-33, Próbką 3

Proteiny Interferujące	Czas ekspozycji (min)	Rozcieńczenie log TM								Granica 95% przedziału ufności
		10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸	
PBS	1,0	4444444	4444444	4444444	0000404	0004000	0000000	no.	no.	0,46
	2,0	4444444	4444444	0000000	0000000	0000000	0000000	no.	no.	0,0
Kontrola wirusa PBS	0	no.	4444444	4444444	4444444	4444444	4044444	0000004	no.	0,40
	2,0	no.	4444444	4444444	4444444	4444444	4444444	0400000	no.	0,28
Cytotoksyczność bez MicroSpin	-	zzzzzzzz	0000000	0000000	0000000	0000000	0000000	no.	no.	-
Cytotoksyczność z MicroSpin	-	zzzzzzzz	0000000	0000000	0000000	0000000	0000000	no.	no.	-
Kontrola Interferencji	-	no.	no.	4444444	4444444	4444444	0004040	0040000	0000000	0,46
Środek dezynfekcyjny Interferujący	-	no.	no.	4444444	4444444	4444444	0004000	0000004	0000000	0,40
Formaldehyd 0,7%	15	zzzzzzzz	zzzzzzzz	zzzzzzzz	4444444	4444444	0440044	no.	no.	0,40
	30	zzzzzzzz	zzzzzzzz	zzzzzzzz	4444444	4440044	0000000	no.	no.	0,36
	60	zzzzzzzz	zzzzzzzz	zzzzzzzz	4444444	4000044	0040000	no.	no.	0,49
	120	zzzzzzzz	zzzzzzzz	zzzzzzzz	0404400	0004000	0000000	no.	no.	0,49
Cytotoksyczność Formaldehyd	-	zzzzzzzz	zzzzzzzz	zzzzzzzz	0000000	0000000	0000000	no.	no.	-

no. nie oznaczono
0 brak wirusa/brak wykrywalnej cytotoksyczności
1-4 wykrywalny wirus (1 = słabe CPE, 4 = silne CPE)
z wykrywalna cytotoksyczność

ECOLAB Sp. z o.o.
20-504 Kraków, ul. Kalwaryjska 69
tel. 012/261 61 00, fax 012/261 61 01
REGON 330577317 NIP 677-002-40-11

04.08.2010
ZA ZGODNOŚĆ
Z ORYGINAŁEM

Katarzyna Bednarska
Prókurka Ecolab Sp. z o.o.

Raport z badań
Projekt nr 09107DE

Data: 18 czerwca 2009 r.
Wersja nr 1

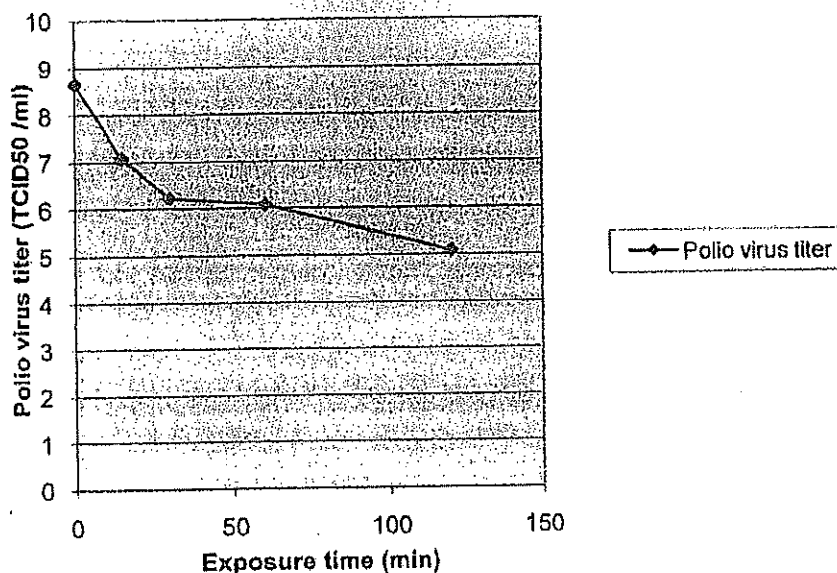
Strona 3 z 18



LABOR
DR.MERK & KOLLEGEN

Załącznik 2: Liczby dotyczące testów z VP-12273-33, Próbką 3

**Fig. 1: Polio virus positive inactivation control
with 0.7% Formaldehyde**



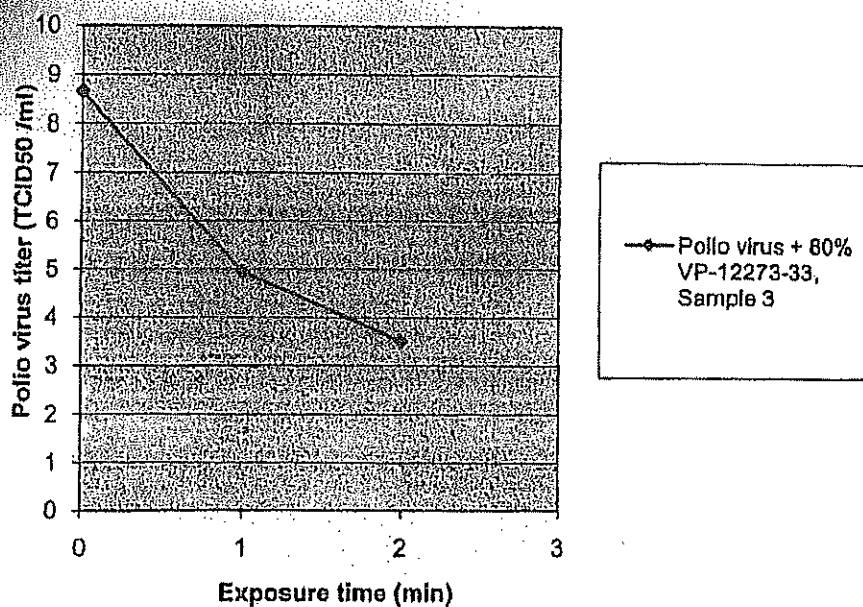
Tekst	Tłumaczenie
Rys. 1: Polio virus positive inactivation control with 0.7% Formaldehyde	Rys. 1: Kontrola pozytywna inaktywacji wirusa Polio 0,7% formaldehydem
Polio virus titer	Miano wirusa Polio
Polio virus titer (TCID50 /ml)	Miano wirusa Polio (TCID50 /ml)
Exposure time (min)	Czas ekspozycji (min)

ECOLAB Sp.z o.o.
30-504 Kraków, ul. Kalwaryjska 69
tel. 012/261 61 00, fax 012/261 61 01
REGON 35017217 NIP 677-002-40-11

04.08.2010
**ZA ZGODNOŚĆ
Z ORYGINAŁEM**

Katarzyna Bednarska
Prokurent Ecolab Sp. z o.o.

Fig. 2: Polio virus inactivation

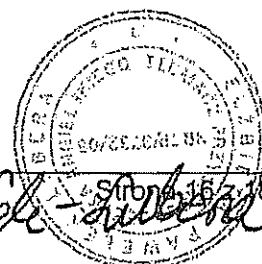


Tekst	Tłumaczenie
Rys. 2: Polio virus inactivation	Rys. 2: Inaktywacja wirusa Polio
Polio virus + 80% VP-12273-33, Próbką 3	Wirus Polio + 80% VP-12273-33, Próbką 3
Polio virus titer (TCID50 /ml)	Miano wirusa Polio (TCID50 /ml)
Exposure time (min)	Czas ekspozycji (min)

ECOLAB Sp. z o.o.
30-504 Kraków, ul. Kalwaryjska 69
tel. 012/261 61 00, fax 012/261 61 01
REGON 350577317, NIP 677-002-40-11

04.08.2010
ZA ZGODNOŚĆ
Z ORYGINAŁEM

Katarzyna Bednarska
Prokurent Ecolab Sp. z o.o.



Załącznik 3: Obliczenia i analiza statystyczna mian wirusa

Obliczenie odchylenia standardowego:

$$S_m = \sqrt{d^2 \sum [(pi(1 - pi)/(n - 1))]$$

S_m = odchylenie standardowe

d = logarytm etapu rozcieńczania

PI = obserwowana szybkość reakcji

n = liczba oznaczeń

Obliczenie granic 95% przedziału ufności

$$C_{95\%} = \pm 2 S_m$$

$C_{95\%}$ = granica 95% przedziału ufności

S_m = odchylenie standardowe

Obliczenie współczynnika redukcji

$$RF_{T1} = a - b$$

RF_{T1} = współczynnik redukcji pierwszego testu

$a = \log_{10} TCID_{50} / ml$ w kontroli wirusa (pierwszy test)

$b = \log_{10} TCID_{50} / ml$ w produkcie testowanym z dodatkiem analitu (pierwszy test)

$$K_{RF(T1)} = \sqrt{(2S_a)^2 + (2S_b)^2}$$

$K_{RF(T1)}$ = granica 95% przedziału ufności współczynnika redukcji

S_a = odchylenie standardowe w kontroli wirusa

S_b = odchylenie standardowe produkcie testowanym z dodatkiem analitu

$2S_b$ = granica 95% przedziału ufności w produkcie testowanym z dodatkiem analitu

ECOLAB Sp. z o.o.
20-504 Kraków, ul. Kalwaryjska 69
tel. 012/261 61 00, fax 012/261 61 01
REGON 350577317, NIP 677-002-40-11

04.08.2019
ZA ZGODNOŚĆ
Z ORYGINAŁEM

Katarzyna Bednarska
Prokurent Ecolab Sp. z o.o.

LABOR
DR.MERK & KOLLEGEN

Obliczenie średniego współczynnika redukcji i granicy 95% przedziału ufności

$$RF_{(m)} = (RF_{T1} + RF_{T2})/2$$

$RF_{(m)}$ = średni współczynnik redukcji

RF_{T1} = współczynnik redukcji pierwszego testu

RF_{T2} = współczynnik redukcji drugiego testu

$$K_{RF(m)} = \frac{1}{2} \sqrt{(K_{RF(T1)})^2 + (K_{RF(T2)})^2}$$

$K_{RF(m)}$ = granica 95% przedziału ufności średniego współczynnika redukcji

$K_{RF(T1)}$ = granica 95% przedziału ufności pierwszego testu

$K_{RF(T2)}$ = granica 95% przedziału ufności drugiego testu

Na ostatniej stronie znajduje się tekst w języku niemieckim oraz odcisk pieczęci.

Tłumaczenie składa się z 21 376 znaków ze spacjami (19 stron).

Ja, mgr Elżbieta Pawelek- Lubera, tłumacz przysięgły języka angielskiego, stwierdzam, iż powyższe tłumaczenie w pełni odpowiada tekstowi przedstawionemu mi w języku angielskim./-/

Rep. Nr 437/2010/-/

Rzeszów, 21 lipca 2010/-/

ECOLAB Sp. z o.o.
20-504 Kraków, ul. Kalwaryjska 69
tel. 012/261 61 00, fax 012/261 61 01
REGON 350577317, NIP 677-002-40-11

04.08.2010
ZA ZGODNOŚĆ
Z ORYGINAŁEM

Katarzyna Bećnarzka
Pracownik Ecolab Sp. z o.o.

Elżbieta Pawelek-Lubera



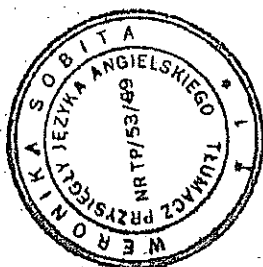
TŁUMACZENIE POŚWIADCZONE Z JĘZYKA ANGIELSKIEGO

Do poświadczenia przedłożono tłumaczenie dokumentu w języku angielskim składającego się z 12 stron. Wszystkie strony dokumentu zostały związane w sposób trwały, a miejsce łączenia zabezpieczono rozetą z odciskiem pieczęci suchej notariusza. Na odwrocie pierwszej i ostatniej strony dokumentu znajduje się poświadczenie notarialne w języku niemieckim, którego tłumaczenie poświadczone dołączono do tłumaczenia. Dokument załączono do niniejszego tłumaczenia i stanowi on jego integralną część. Układ tłumaczenia odwzorowuje układ oryginalnego dokumentu. Uwagi tłumacza ujęto w kwadratowy nawias i oznaczono kursywą.

Ja, Weronika Sobita, tłumacz przysięgły języka angielskiego, wpisana na listę tłumaczy przysięgłych prowadzoną przez Ministra Sprawiedliwości pod numerem TP/53/09 niniejszym poświadczam zgodność tego tłumaczenia z załączonym dokumentem w języku angielskim.

Kraków, dnia 15 lipca 2010 r.

Nr repertorium: 149/2010



Weronika Sobita

ECOLAB Sp. z o.o.
20-504 Kraków, ul. Kalwaryjska 69
tel. 012/261 61 00, fax 012/261 61 01
REGON 350577317, NIP 677-002-40-11

04.08.2010
ZA ZGODNOŚĆ
Z ORYGINAŁEM
Katarzyna Bednarska
Prokurent Ecolab Sp. z o.o.

ECOLAB

Małgorzata Podnarska
Przedstawicielka
Przedsiębiorstwa Ecolab Sp. z o.o.

Research & Development Health Care

Europa, Bliski Wschód, Afryka

Dział Mikrobiologii

Eksportyza dotycząca skuteczności preparatu Spirigel complete przeciwko wirusom osłonkowym

Niniejszym oświadczamy, że formuła „Formuła 3”, oceniana pod kątem skuteczności wirusobójczej przeciwko wirusom osłonkowym w raporcie z badania firmy Henkel AG & Co KgaA Microbiology, z 25 czerwca 2009, ma identyczne właściwości jak preparat Spirigel complete.

Produkt był testowany pod kątem posiadanych właściwości wirusobójczych zgodnie z Dyrektywą RKI-/DVV przeciwko wirusom krowianki i wirusowi BVDV (wirus wirusowej biegunki bydła, ang. Bovine Virus Diarrhoea Virus)¹²³

Udowodniono, że produkt działa skutecznie przeciwko obu wirusom użytym w badaniu. Z zanieczyszczeniem białkowym i bez zanieczyszczenia uzyskano wskaźnik redukcji przynajmniej >99.9% (BVDV) i >99.99% (wirus krowianki) po zastosowaniu stężenia równego 80% (bez rozcieńczania) i czasu kontaktu równego 15 sekund. Takie same wyniki można było uzyskać stosując nierozcieńczony produkt w czasie 30 sekund. Kryterium zaliczenia testu była redukcja zakaźności wirusa o 99.99%. Nie można było tego wykazać dla wirusa BVDV, z przyczyn metodologicznych (cytotoksyczność produktu udaremnia uzyskanie wyższej czułości wykrywania wirusa). Tym niemniej fakt, że wirus BVDV jest już inaktywowany do poziomu poniżej progu wykrywalności po czasie kontaktu równym 15 sekund pozwala na postawienie następujących wniosków:

Preparat Spirigel complete jest skuteczny przeciwko wirusom osłonkowym w postaci nierozcieńczonej, w czasie kontaktu równym 30 sekund.

Zgodnie z wyżej wymienioną wytyczną dotyczy to skuteczności przeciwko wirusowi HBV (wirus wirusowego zapalenia wątroby typu B), HCV (wirus wirusowego zapalenia wątroby typu C) oraz wirusowi HIV.

Düsseldorf, 25 sierpnia 2009 r.

[podpis nieczytelny]

PD dr dr F. v. Rheinbaben

Dyrektor Techniczny

Shared Technologies

[podpis nieczytelny]

Dr Bernhard Meyer

Dyrektor Działu Mikrobiologicznego

Research & Development Health Care

1) Stellungnahme des Arbeitskreises Viruzide beim Robert Koch-Institut (RKI) stwue des Fachausschusses „Virusdesinfektion“ der Deutschen Gesellschaft zur Bekämpfung der Viruskrankheiten (DVV) und der Desinfektionsmittelkommission der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM): Prüfung und Deklaration der Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln gegen Viren, Bundesgesundheitsbl. – Gesundheitsforsch. – Gesundheitsschutz: 47, 62 – 68 (2004)

2) Leitlinie der Deutschen Vereinigung zur Bekämpfung der Viruskrankheiten e.V. und des Robert Koch-Institut zur Prüfung der Wirksamkeit von chemischen Desinfektionsmitteln auf Wirksamkeit gegen Viren in der Humanmedizin, Fassung vom 15 Juni 2005. Bundesgesundheitsbl. – Gesundheitsforsch. – Gesundheitsschutz: 48, 1420 – 1426 (2005)

3) Leitlinie der Deutschen Vereinigung zur Bekämpfung der Viruskrankheiten e.V. und des Robert Koch-Institut zur Prüfung der Wirksamkeit von chemischen Desinfektionsmitteln auf Wirksamkeit gegen Viren in der Humanmedizin, Fassung vom 1 August 2008. Bundesgesundheitsbl. – Gesundheitsforsch. – Gesundheitsschutz: 8, 937 – 945 (2008)





UWIERZYTELNIŁONE TŁUMACZENIE Z JĘZYKA NIEMIECKIEGO

[Dokument w języku angielskim, sporządzony przez ECOLAB]

1. Stanowisko grupy roboczej „Skuteczność wirusobójcza” w Robert Koch-Institut (RKI) [*Instytut Roberta Kocha*] oraz komisji specjalistycznej „Inaktywacja wirusów” w Deutsche Gesellschaft zur Bekämpfung der Viruskrankheiten (DGV) [*Niemieckie Stowarzyszenie Zwalczania Chorób Wirusowych*] i komisji ds. środków dezynfekcyjnych w Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM) [*Niemieckie Towarzystwo ds. Higieny i Mikrobiologii*]: kontrola i deklaracja skuteczności wirusobójczej środków dezynfekcyjnych.

Bundesgesundheitsbl. – Gesundheitsforsch. – Gesundheitsschutz

[Federalne czasopismo Zdrowie – Badanie zdrowia – Ochrona zdrowia]:

47, 62-66 (2004)

2. Wytyczna Deutsche Vereinigung zur Bekämpfung der Viruskrankheiten e.V. [*Niemieckie Zrzeszenie ds. Zwalczania Chorób Wirusowych związek zarejestrowany*] i Robert Koch-Institut w sprawie badania działania chemicznych środków dezynfekcyjnych pod kątem skuteczności wirusobójczej - stosowanych u ludzi - wersja z dnia 15 czerwca 2005, Bundesgesundheitsbl. – Gesundheitsforsch. – Gesundheitsschutz: 48, 1420-1426 (2005)

3. Wytyczna Deutsche Vereinigung zur Bekämpfung der Viruskrankheiten e.V. i Robert Koch-Institut w zakresie badania działania chemicznych środków dezynfekcyjnych pod kątem skuteczności wirusobójczej - stosowanych u ludzi - wersja z dnia 01 sierpnia 2008, Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz: 8, 937-945 (2008).

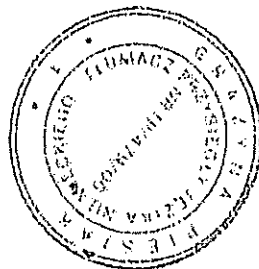
[w stopce dane adresowe i rejestracyjne firmy – nie przetłumaczono na życzenie klienta]

ECOLAB Sp. z o.o.
20-504 Kraków, ul. Kalwaryjska 69
tel. 012/261 61 00, fax 012/261 61 01
REGON 350577317, NIP 677-002-40-11

04.08.2010
ZA ZGODNOŚĆ
Z ORYGINAŁEM

Catarzyna Podnarska
Prokurent Ecolab Sp. z o.o.

Grażyna Niebia





[Na odwrocie 1 strony]

Okrągła pieczęć z herbem Nadrenii-Północnej Westfalii i napisem:

DR. DOMINIK LINNENBRINK NOTARIUSZ W DÜSSELDORFIE-BENRATH

[Pieczęćka prostokątna:]

Zaświadczam zgodność niniejszego odpisu z okazanym mi oryginalnym dokumentem [skreślone: kopia/poświadczonym odpisem].

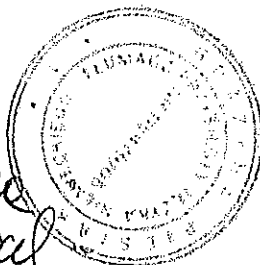
Düsseldorf-Benrath, 20 maja 2010.

Notariusz [podpis odręczny nieczytelny]

Niniejszym potwierdzam zgodność tłumaczenia z treścią dokumentu (wierzyletniony odpis) w języku niemieckim.

Grażyna Piesiak
Tłumacz Przysięgły

Kraków 14.07.2010
Rep.nr 81/2010



Grażyna Piesiak
Miejsce

ECOLAB Sp. z o.o.
20-504 Kraków, ul. Kalwaryjska 69
tel. 012/261 61 00, fax 012/261 61 01
REGON 350577317, NIP 677-002-40-11

04.08.2010
ZA ZGODNOŚĆ
Z ORYGINAŁEM

Katarzyna Bednarska
Prokurent Ecolab Sp. z o.o.

ECOLAB Sp. z o.o.
20-504 Kraków, ul. Kalwaryjska 69
tel. 012/261 61 00, fax 012/261 61 01
REGON 1459177317 NIP 677-002-40-11

04.08.2010.
ZA ZGODNOŚĆ
Z ORYGINAŁEM

Matylda Bednarska
Pracownik Ecolab Sp. z o.o.

Henkel AG & Co. KGaA

Mikrobiologia

Henkel



Certyfikat wydany
przez DQS
zgodny z
DIN EN ISO 9001
(Nr rej. Nr 379798 QM)

RAPORT Z BADANIA

09.00882

Aktywność wirusobójcza
preparatu VP 12273-39 Formula 3

(żel do rąk z etanolem)

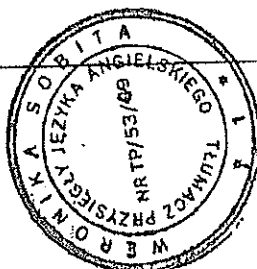
Oceniana przeciwko

Wirusowi krowianki (*Vaccinia virus*)

**Wirusowi wirusowej biegunki bydła (ang. *Bovine viral diarrhoea virus* –
BVDV)**

Klient: ECOLAB GmbH & Co. OHG
Autor: Dr N. Stelter
Data: 25 czerwca 2009

Henkel AG & Co. KGaA
VSA Corporate Analytics & Microbiology
D-40191 Düsseldorf



Tel: (0211)7978992
Faks (0211)7982245

Spis treści

Spis treści	2
1. Określenie instytucji wykonującej badanie	2
2. Substancja testowa	2
3. Metoda testowa	3
4. Warunki doświadczalne	3
5. Obliczenie miana wirusów	4
6. Wyniki	5
Aneks z tabelami	6
Tab. 1.1 Kontrole interferencji dla VP 12273-39 Formuła 3 (żel do rąk z etanolem) w ocenie wirusa krowianki (<i>Vaccinia virus</i>)	6
Tab. 1.2 Kontrole interferencji dla VP 12273-39 Formuła 3 (żel do rąk z etanolem) w ocenie BVDV 6	7
Tab. 2.1 Kontrole cytotoksyczności dotyczące wirusa krowianki	8
Tab. 2.2 Kontrole cytotoksyczności dotyczące BVDV	8
Tab. 3.1 Kontrola formaldehydowa dotycząca wirusa krowianki	8
Tab. 3.2 Kontrola formaldehydowa dotycząca wirusa BVDV	9
Tab. 4.1. Dane dotyczące skuteczności dla VP 12273-39 Formuła 3 <i>Wirus krowianki</i> w czasie 15 sekund i 30 sekund; Badanie 1	9
Tab. 4.2 Dane dotyczące skuteczności dla VP 12273-39 Formuła 3 <i>Wirus krowianki</i> w czasie 15 sekund i 30 sekund; Badanie 2	10
Tab. 4.3 Dane dotyczące skuteczności VP 12273-39 Formuła 3, <i>wirus BVDV</i> , w czasie 15 sekund i 30 sekund; Badanie 1	11
Tab. 4.4 Dane dotyczące skuteczności VP 12273-39 Formuła 3, <i>wirus BVDV</i> , w czasie 15 sekund i 30 sekund; Badanie 2	12
Tab. 5.1 Skuteczność VP 12273-39 Formuła 3 przeciwko wirusowi krowianki Temperatura testowa 20°C; czas kontaktu 15 sekund i 30 sekund	13
Tab. 5.2 Skuteczność VP 12273-39 Formuła 3 przeciwko wirusowi BVDV Temperatura testowa 20°C; czas kontaktu 15 sekund i 30 sekund	13

1. Określenie instytucji wykonującej badanie

Henkel AG & Co KGaA

VSA Corporate Analytics & Microbiology

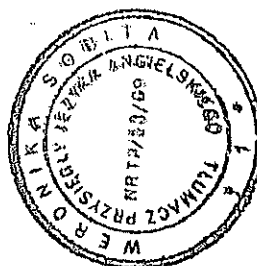
D-40191 Düsseldorf

2. Substancja testowa

- 2.1. Nazwa produktu: **VP 12273-39 Formuła 3**
żel do rąk z etanolem
- 2.1.2 Producent / dostawca **Ecolab GmbH & Co OHG, Düsseldorf**
- 2.1.3 Data dostarczenia **05 czerwca 2009**
- 2.1.4 Warunki przechowywania **w temperaturze pokojowej w laboratorium**
- 2.1.5 Substancja czynna **Etanol**
wg klienta
- 2.1.6 Wygląd

ECOLAB Sp. z o.o.
20-004 Kraków, ul. Kalwaryjska 69
tel. 012/261 61 00, fax 012/261 61 01
REGON 1350577317, NIP 677-002-40-11

przezroczysty, bezbarwny płyn
04.08.2010
ZA ZGODNOŚĆ
Z ORYGINAŁEM
Katarzyna Bednarska
Prakurka Ecolab Sp. z o.o.



3. Metoda testowa

- 3.1 Wytyczne Niemieckiego Towarzystwa Kontroli Chorób Wirusowych (DVV) i Instytutu Roberta Kocha (RKI) dotyczące testowania chemicznych środków dezynfekujących w kierunku aktywności przeciwko wirusom w medycynie u ludzi.
Bundesgesundheitsblatt 2008, 51, 937-945

4. Warunki doświadczalne:

- 4.1 Okres badania
Czerwiec 2009
- 4.2 Rozcieńczalnik
nie dotyczy
- 4.3 Stężenie podczas testu
bez rozcieńczania
Stężenie testowe zostało podane przez klienta.
- 4.4 Wygląd substancji testowej i rozcieńczeń
Oryginalna substancja przezroczysty, bezbarwny płyn
- 4.5 Organizmy testowe
Wirus krowianki szczep *Elstree* - VACV otrzymany od Dr Sauerbrei. Uniwersytet Jena
Pasaż 2 z 15 maja 2008
Wirus wirusowej biegunki bydła – BVDV, uzyskany od Prof. Beer, FLI 2003
Pasaż 4 z 6 listopada 2007
- 4.6 Komórki gospodarza
VACV: Vero-B4 (nerka afrykańskiej małpy zielonej) DSMZ ACC-33
Pasaż 13 z 11 czerwca 2009
BVDV: Embrionalne komórki bydła płuc i komórki nerki: samodzielne przygotowanie
Pasaż 2 z 11 czerwca 2009
- 4.6 Czas(y) kontaktu
15 sekund i 30 sekund
Czasy kontaktu zostały podane przez klienta.
- 4.7 Temperatura testowa:
20°C
- 4.8 Substancja zaburzająca
- bez substancji zaburzającej
-10% cieleń surowica płodowa FCS (ang. FCS – fetal calf serum)
- 4.9 Neutralizacja
Natychmiastowe rozcieńczenie odczynów testowych

ECOLAB Sp. z o.o.
20-504 Kraków, ul. Kalwaryjska 69
tel. 012/261 61 00, fax 012/261 61 01
REGON 350577317, NIP 677-002-40-11

04.08.2010
ZA ZGODNOŚĆ
Z ORYGINAŁEM

Katarzyna Bednarska
Prokurent Ecolab Sp. z o.o.



5. Obliczenie miana wirusów

Na podstawie jakościowych wyników resztkowej infekcyjności miano m zakaźnych cząsteczek wirusa w oryginalnych równych próbkach po 100 μ l można przeliczyć na 50% dawkę zakaźną ($TCID_{50}$) wg metody Spearmana & Kärbera

$$m (TCID_{50}) = X_1 + d/2 - d \cdot \sum p_i$$

- m = ujemny logarytm dziesiętny z $TCID_{50}$ w pierwszej równej części o objętości 100 μ l
 X_1 = Logarytm dziesiętny z pierwszego rozcieńczenia, gdzie wszystkie równoległe (tutaj 8) dają wynik dodatni (1-4)
 d = Logarytm dziesiętny z współczynnika rozcieńczenia (tutaj 1)
 P_i = Wskaźnik wyników dodatnich w jednej serii:

Dodatnie	P_i
0/8	0,000
1/8	0,125
2/8	0,250
3/8	0,375
4/8	0,500
5/8	0,625
6/8	0,750
7/8	0,875
8/8	1,000

Odchylenie standardowe S_m oblicza się na podstawie poniższego wzoru

$$S_m = \sqrt{d^2 \sum [P_i \cdot (1 - P_i) : (n - 1)]}$$

- S_m = Odchylenie standardowe wartości logarytmicznej miana
 d = Logarytm dziesiętny ze współczynnika rozcieńczenia (tutaj 1)
 P_i = Ilość wyników dodatnich w równoległych próbkach

W wielu przypadkach obserwuje się, że $P_1 = 1$ a $P_{i+2} = 0$. W przypadku serii rozcieńczeń o współczynniku rozcieńczenia 10 i 8 równoległych próbkach, powyższy wzór można zatem uprościć do

$$S_m = \sqrt{[P_1 \cdot (1 - P_1) : 7]}$$

Obliczenie działania wirusobójczego (logarytmiczny współczynnik redukcji zakaźności)

Działanie wirusobójcze testowanego produktu jest obliczane jako logarytmiczny współczynnik redukcji RF = różnica między logarytmem z miana kontroli wirusów (odpowiadających kontroli wodnej w temperaturze pokojowej i testowym pH) minus logarytm z resztkowych mian wirusów wykazanych dla odczynów zawierających produkt.

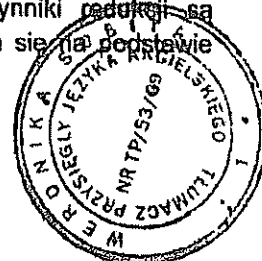
$$RF = \log (\text{Kontrola wirusowa CPE: } 20^\circ\text{C, testowe pH}) - \log (\text{testowany produkt CPE})$$

W przypadkach, w których działania cytotoksyczne (ang. cytotoxic effects – CTE) są większe niż działania cytopatyczne (ang. CPE – cytopathic effects), obliczone współczynniki redukcji są przedstawione jako "≥". Przedziały ufnosci K_{RF} współczynników redukcji oblicza się na podstawie poniższego wzoru:

ECOLAB Sp. z o.o.
 20-504 Kraków, ul. Kalwaryjska 69
 tel. 012/261 61 00, fax 012/261 61 61
 REGON 350577317, NIP 677-002-40-11

04.08.2010
 ZA ZGODNOŚĆ
 Z ORYGINAŁEM

Podpisany: [podpis]
 Prokurent Ecolab Sp. z o.o.



$$K_{(n)} = \sqrt{(2S_{(n)control})^2 + (2S_{(n)sample})^2}$$

6. Wyniki

VP 12273-39 Formuła 3				
żel do rak z etanolem				
Logarytmiczny współczynnik redukcji				
Wirus krowianki			Wirus BVDV	
Czas kontaktu	bez substancji zaburzającej	10% FCS	bez substancji zaburzającej	10% FCS
15 sekund	≥ 4	≥ 4	≥ 3	≥ 3
30 sekund	≥ 4	≥ 4	≥ 3	≥ 3

Stosowana w postaci nierozcieńczonej formułka VP 12273-39 Formuła 3 była w stanie zredukować miano wirusa krowianki o $\geq 4 \log_{10}$ w ciągu 15 sekund. W takich samych warunkach badania, formułka VP 12273-39 Formuła 3 była w stanie zmniejszyć miano wirusa BVDV o $\geq 3 \log_{10}$ w ciągu 15 lub 30 sekund. Ze względu na cytotoksyczność testowanej substancji, dla BVDV nie mogły zostać określone współczynniki redukcji zakaźności > 3 . Resztkowa zakaźność wirusów użytych w badaniu nie została określona w żadnym z odczynów testowych z badanym produktem.

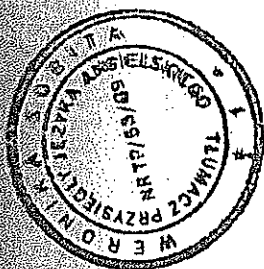
Düsseldorf, 25 czerwca 2009

[podpis nieczytelny]

Dr R. Breves

[podpis nieczytelny]

Dr N. Stelter



ECOLAB Sp. z o.o.
20-504 Kraków, ul. Kalwaryjska 69
tel. 012/261 61 00, fax 012/261 61 01
REGON 350577317, NIP 677-002-40-11

04.08.2010
ZA ZGODNOŚĆ
Z ORYGINAŁEM

Katarzyna Bednarska
Prokurentka Ecolab Sp. z o.o.

Aneks z tabelami

Tab.1.1 Kontrole interferencji dla VP 12273-39 Formula 3 (żel do rąk z etanolem) w ocenie wirusa krowianki

Test	Odczyn	FCS	Rozcień- zenie produktu	Log z rozcieńczenia								m	S _r
				-2	-3	-4	-5	-6	-7	-8	-9		
Kontrola interferencji produkt 1	VP 12273-39 Formula 3	-	1:100	44444444 Pi = 1,0	44444444 Pi = 1,0	44444444 Pi = 1,0	44444444 Pi = 1,0	44044040 Pi = 0,625	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	6,1	0,1f
		+	1:100	44444444 Pi = 1,0	44444444 Pi = 1,0	44444444 Pi = 1,0	44444444 Pi = 1,0	44044040 Pi = 0,625	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	6,1	0,1f
Kontrola interferencji bez produktu 1	PBS	-		44444444 Pi = 1,0	44444444 Pi = 1,0	44444444 Pi = 1,0	44444444 Pi = 1,0	00444444 Pi = 0,750	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	6,3	0,1f
		+		44444444 Pi = 1,0	44444444 Pi = 1,0	44444444 Pi = 1,0	44444444 Pi = 1,0	00444444 Pi = 0,750	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	6,3	0,1f
Kontrola interferencji produkt 2	VP12273-39 Formula 3	-	1:100	44444444 Pi = 1,0	44444444 Pi = 1,0	44444444 Pi = 1,0	44444444 Pi = 1,0	00444444 Pi = 0,750	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	6,3	0,1f
		+	1:100	44444444 Pi = 1,0	44444444 Pi = 1,0	44444444 Pi = 1,0	44444444 Pi = 1,0	00444444 Pi = 0,625	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	6,1	0,1f
Kontrola interferencji bez produktu 2	PBS	-		44444444 Pi = 1,0	44444444 Pi = 1,0	44444444 Pi = 1,0	44444444 Pi = 1,0	00444444 Pi = 0,750	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	6,3	0,1f
		+		44444444 Pi = 1,0	44444444 Pi = 1,0	44444444 Pi = 1,0	44444444 Pi = 1,0	00444444 Pi = 0,750	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	6,3	0,1f



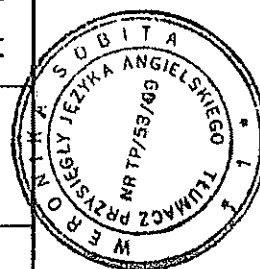
ECOLAB Sp. z o.o.
20-504 Kraków, ul. Kalwaryjska 69
tel. 012/261 61 00, fax 012/261 61 01
REGON 350577317, NIP 677-002-40-11

04.08.2010
ZA ZGODNOŚĆ
Z ORYGINAŁEM

Katarzyna Bednarska
Pracownik Ecolab Sp. z o.o.

Tab. 1.2 Kontrole interferencji dla VP 12273-39 Formula 3 (żel do rąk z etanolem) w ocenie BVDV

Test	Odczyn	FCS	Rozcień- zenie produktu	Log z rozcieńczenia								m	S
				-2	-3	-4	-5	-6	-7	-8	-9		
Kontrola interferencji produkt 1	VP 12273-39 Formula 3	-	1:100	xxxxxxx Pi = 1,0	44444444 Pi = 1,0	44444444 Pi = 1,0	44444444 Pi = 1,0	44044040 Pi = 0,625	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	6,1	0,1
		+	1:100	xxxxxxx Pi = 1,0	44444444 Pi = 1,0	44444444 Pi = 1,0	44444444 Pi = 1,0	44044040 Pi = 0,625	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	6,1	0,1
Kontrola interferencji bez produktu 1	PBS	-		44444444 Pi = 1,0	44444444 Pi = 1,0	44444444 Pi = 1,0	44444444 Pi = 1,0	00444444 Pi = 0,750	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	6,3	0,1
		+		44444444 Pi = 1,0	44444444 Pi = 1,0	44444444 Pi = 1,0	44444444 Pi = 1,0	00444444 Pi = 0,750	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	6,3	0,1
Kontrola interferencji produkt 2	VP 12273-39 Formula 3	-	1:100	xxxxxxx Pi = 1,0	44444444 Pi = 1,0	44444444 Pi = 1,0	44444444 Pi = 1,0	00444444 Pi = 0,625	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	6,1	0,1
		+	1:100	xxxxxxx Pi = 1,0	44444444 Pi = 1,0	44444444 Pi = 1,0	44444444 Pi = 1,0	00044444 Pi = 0,625	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	6,1	0,1
Kontrola interferencji bez produktu 2	PBS	-		44444444 Pi = 1,0	44444444 Pi = 1,0	44444444 Pi = 1,0	44444444 Pi = 1,0	00044444 Pi = 0,625	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	6,1	0,1
		+		44444444 Pi = 1,0	44444444 Pi = 1,0	44444444 Pi = 1,0	44444444 Pi = 1,0	00444444 Pi = 0,750	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	6,3	0,1



04.08.2010
ZA ZGODNOŚĆ
Z ORYGINAŁEM

ECOLAB Sp. z o.o.
20-504 Kraków, ul. Kalwaryjska 69
tel. 012/261 61 00, fax 012/261 61 01
REGON 350577317, NIP 677-002-40-11

Katarzyna Bednarska
Prokurent Ecolab Sp. z o.o.

Tab. 2.1 Kontrole cytotoksyczności dotyczące wirusa krowianki

Odczyn	Test	log rozcieńczenia								Kontrola komórek
		-2	-3	-4	-5	-6	-7	-8	-9	
VP 12273-39 Formula 3	1	xxxxxxx	0000000	0000000	0000000	0000000	0000000	0000000	0000000	00000000
	2	xxxxxxx	0000000	0000000	0000000	0000000	0000000	0000000	0000000	00000000
0,7% formaldehyd	1	xxxxxxx	xxxxxxx	xxxxxxx	0000000	0000000	0000000	0000000	0000000	00000000
	2	xxxxxxx	xxxxxxx	xxxxxxx	0000000	0000000	0000000	0000000	0000000	00000000

Tab. 2.2 Kontrole cytotoksyczności dotyczące BVDV

Odczyn	Test	log rozcieńczenia								Kontrola komórek
		-2	-3	-4	-5	-6	-7	-8	-9	
VP 12273-39 Formula 3	1	xxxxxxx	xxxxxxx	0000000	0000000	0000000	0000000	0000000	0000000	00000000
	2	xxxxxxx	xxxxxxx	0000000	0000000	0000000	0000000	0000000	0000000	00000000
0,7% formaldehyd	1	xxxxxxx	xxxxxxx	xxxxxxx	0000000	0000000	0000000	0000000	0000000	00000000
	2	xxxxxxx	xxxxxxx	xxxxxxx	0000000	0000000	0000000	0000000	0000000	00000000

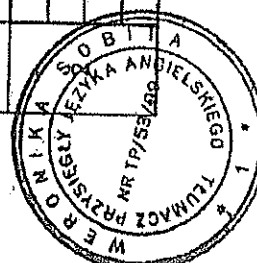
Tab. 3.1 Kontrola formaldehydowa dotycząca wirusa krowianki

Czas (min.)	Test	log rozcieńczenia								Kontrola komórkowa	m	log RF
		-2	-3	-4	-5	-6	-7	-8	-9			
5	xxxxxxx	xxxxxxx	xxxxxxx	xxxxxxx	0000000	0000000	0000000	0000000	0000000	0000000	4,5	≥2
15	xxxxxxx	xxxxxxx	xxxxxxx	xxxxxxx	0000000	0000000	0000000	0000000	0000000	0000000	4,5	≥2
30	xxxxxxx	xxxxxxx	xxxxxxx	xxxxxxx	0000000	0000000	0000000	0000000	0000000	0000000	4,5	≥2
60	xxxxxxx	xxxxxxx	xxxxxxx	xxxxxxx	0000000	0000000	0000000	0000000	0000000	0000000	4,5	≥2
5	xxxxxxx	xxxxxxx	xxxxxxx	xxxxxxx	0000000	0000000	0000000	0000000	0000000	0000000	4,5	≥2
15	xxxxxxx	xxxxxxx	xxxxxxx	xxxxxxx	0000000	0000000	0000000	0000000	0000000	0000000	4,5	≥2
30	xxxxxxx	xxxxxxx	xxxxxxx	xxxxxxx	0000000	0000000	0000000	0000000	0000000	0000000	4,5	≥2
60	xxxxxxx	xxxxxxx	xxxxxxx	xxxxxxx	0000000	0000000	0000000	0000000	0000000	0000000	4,5	≥2

ECOLAB Sp. z o.o.
20-504 Kraków, ul. Kalwaryjska 69
tel. 012/261 61 00, fax 012/261 61 01
REGON 350577317, NIP 677-002-40-11

ZA ZGODNOŚĆ
Z ORYGINAŁEM

Katarzyna Białowska
Prokurent Ecolab Sp. z o.o.

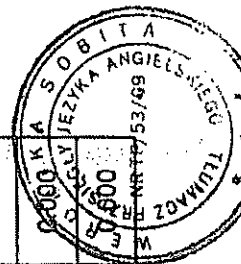


Tab. 3.2 Kontrola formaldehydowa dotycząca wirusa BVDV

Test		log rozcieńczenia								Kontrola komórkowa	m	log RF
		-2	-3	-4	-5	-6	-7	-8	-9			
1	5	xxxxxxxx	xxxxxxxx	xxxxxxxx	00000000	00000000	00000000	00000000	00000000	00000000	4,5	≥2
	15	xxxxxxxx	xxxxxxxx	xxxxxxxx	00000000	00000000	00000000	00000000	00000000	00000000	4,5	≥2
	30	xxxxxxxx	xxxxxxxx	xxxxxxxx	00000000	00000000	00000000	00000000	00000000	00000000	4,5	≥2
	60	xxxxxxxx	xxxxxxxx	xxxxxxxx	00000000	00000000	00000000	00000000	00000000	00000000	4,5	≥2
2	5	xxxxxxxx	xxxxxxxx	xxxxxxxx	00000000	00000000	00000000	00000000	00000000	00000000	4,5	≥2
	15	xxxxxxxx	xxxxxxxx	xxxxxxxx	00000000	00000000	00000000	00000000	00000000	00000000	4,5	≥2
	30	xxxxxxxx	xxxxxxxx	xxxxxxxx	00000000	00000000	00000000	00000000	00000000	00000000	4,5	≥2
	60	xxxxxxxx	xxxxxxxx	xxxxxxxx	00000000	00000000	00000000	00000000	00000000	00000000	4,5	≥2

Tab. 4.1. Dane dotyczące skuteczności VP 12273-39 Formuła 3 Vaccinia virus w ciągu 15 sekund i 30 sekund; Badanie 1

Odczyn	FCS	log rozcieńczenia									m	S _m
		-2	-3	-4	-5	-6	-7	-8	-9			
VP 12273-39 Formula 3 15 sekund	-	xxxxxxx Pj = 1	00000000 Pj = 0	00000000 Pj = 0	00000000 Pj = 0	00000000 Pj = 0	00000000 Pj = 0	00000000 Pj = 0	00000000 Pj = 0	00000000 Pj = 0	≤2,5	0,000
	+	xxxxxxx Pj = 1	00000000 Pj = 0	00000000 Pj = 0	00000000 Pj = 0	00000000 Pj = 0	00000000 Pj = 0	00000000 Pj = 0	00000000 Pj = 0	00000000 Pj = 0	≤2,5	0,000
VP 12273-39 Formula 3 30 sekund	-	xxxxxxx Pj = 1	44444444 Pj = 1	22200000 Pj = 0,375	00000000 Pj = 0	00000000 Pj = 0	00000000 Pj = 0	00000000 Pj = 0	00000000 Pj = 0	00000000 Pj = 0	≤2,5	0,000
	+	xxxxxxx Pj = 1	44444444 Pj = 1	22120000 Pj = 0,5	00000000 Pj = 0	00000000 Pj = 0	00000000 Pj = 0	00000000 Pj = 0	00000000 Pj = 0	00000000 Pj = 0	≤2,5	0,000
30 sekund Kontrola wodna	-	44444444 Pj = 1	44444444 Pj = 1	44444444 Pj = 1	44444444 Pj = 1	44444444 Pj = 1	00000000 Pj = 0	00000000 Pj = 0	00000000 Pj = 0	00000000 Pj = 0	6,5	0,000
	+	44444444 Pj = 1	44444444 Pj = 1	44444444 Pj = 1	44444444 Pj = 1	44444444 Pj = 1	00000000 Pj = 0	00000000 Pj = 0	00000000 Pj = 0	00000000 Pj = 0	6,5	0,000



ECOLAB Sp. z o.o.
30-504 Kraków, ul. Kalwaryjska 69
tel. 012/261 61 00, fax 012/261 61 01
REGON 350577317, NIP 677-002-40-11

04.08.2016
ZA ZGODNOŚĆ
Z ORYGINAŁEM
Katarzyna Podnurska
Prokurent Ecolab Sp. z o.o.

Tab. 4.3. Dane dotyczące skuteczności VP 12273-39 Formuła 3, wirus BVDV, w ciągu 15 sekund i 30 sekund; Badanie 1

Odczyn	FCS	log rozcieńczenia									m	S _m
		-2	-3	-4	-5	-6	-7	-8	-9			
VP 12273-39 Formuła 3 15 sekund	-	xxxxxxx Pi = 1	xxxxxxx Pi = 1	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	≤3,5	0,000	
	+	xxxxxxx Pi = 1	xxxxxxx Pi = 1	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	≤3,5	0,000	
VP 12273-39 Formuła 3 15 minut 30 s	-	xxxxxxx Pi = 1	xxxxxxx Pi = 1	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	≤3,5	0,000	
	+	xxxxxxx Pi = 1	xxxxxxx Pi = 1	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	≤3,5	0,000	
30 sekund	-	44444444 Pi = 1	44444444 Pi = 1	44444444 Pi = 1	44444444 Pi = 1	44444444 Pi = 1	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	6,5	0,000	
	+	44444444 Pi = 1	44444444 Pi = 1	44444444 Pi = 1	44444444 Pi = 1	44444444 Pi = 1	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	6,5	0,000	
Kontrola wodna												



ECOLAB Sp. z o.o.
20-504 Kraków, ul. Kalwaryjska 69
tel. 012/261 61 00, fax 012/261 61 01
REGON 55367/317 NIP 577-002-40-11

04.08.2010
ZA ZGODNOŚĆ
Z ORYGINAŁEM

[Signature]
Przedstawiciel Ecolab Sp. z o.o.

Tab. 4.2. Dane dotyczące skuteczności VP 12273-39 Formuła 3, wirus krowianki, w ciągu 15 sekund i 30 sekund; Badanie 2

Odczyn	FCS	log rozcieńczenia								m	S _m
		-2	-3	-4	-5	-6	-7	-8	-9		
VP 12273-39 Formuła 3 15 sekund	-	xxxxxxx Pi = 1	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	≤2,5	0,000
	+	xxxxxxx Pi = 1	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	≤2,5	0,000
VP 12273-39 Formuła 3 30 sekund	-	xxxxxxx Pi = 1	44444444 Pi = 1	22200000 Pi = 0,375	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	≤2,5	0,000
	+	xxxxxxx Pi = 1	44444444 Pi = 1	22120000 Pi = 0,5	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	≤2,5	0,000
30 sekund	-	44444444 Pi = 1	44444444 Pi = 1	44444444 Pi = 1	44444444 Pi = 1	44444444 Pi = 1	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	6,5	0,000
	+	44444444 Pi = 1	44444444 Pi = 1	44444444 Pi = 1	44444444 Pi = 1	44444444 Pi = 1	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	6,5	0,000
Kontrola wodna											



ECOLAB Sp. z o.o.
37-504 Kraków, ul. Kalwaryjska 69
tel. 012/261 61 00, fax 012/261 61 01
REGON 36057317, NIP 677-002-40-11

04.06.2010
ZA ZGODNOŚĆ
Z ORYGINAŁEM

Katarzyna Bednarska
Pracownik Ecolab Sp. z o.o.

Tab. 4.4. Dane dotyczące skuteczności VP 12273-39 Formuła 3 BVDV w ciągu 15 sekund i 30 sekund; Badanie 2

Odczyn	FCS	log rozcieńczenia								m	S _m
		-2	-3	-4	-5	-6	-7	-8	-9		
VP 12273-39 Formuła 3 15 sekund	-	xxxxxxx Pi = 1	xxxxxxx Pi = 1	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	≤3,5	0,000
	+	xxxxxxx Pi = 1	xxxxxxx Pi = 1	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	≤3,5	0,000
VP 12273-39 Formuła 3 30 sekund	-	xxxxxxx Pi = 1	xxxxxxx Pi = 1	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	≤3,5	0,000
	+	xxxxxxx Pi = 1	xxxxxxx Pi = 1	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	00000000 Pi = 0	≤3,5	0,000
30 sekund	-	44444444 Pi = 1	44444444 Pi = 1	44444444 Pi = 1	44444444 Pi = 1	44444444 Pi = 1	44444444 Pi = 0	44444444 Pi = 0	44444444 Pi = 0	6,5	0,000
	+	44444444 Pi = 1	44444444 Pi = 1	44444444 Pi = 1	44444444 Pi = 1	44444444 Pi = 1	44444444 Pi = 0	44444444 Pi = 0	44444444 Pi = 0	6,5	0,000
Kontrola wodna											



04.08.2010
ZA ZGODNOŚĆ
Z ORYGINAŁEM

ECOLAB Sp. z o.o.
20-504 Kraków, ul. Kalwaryjska 69
tel. 012/261 61 00, fax 012/261 61 01
REGON 35057317 NIP 577-902-40-11

Katarzyna Budnarska
Pracownik Ecolab Sp. z o.o.

Tab. 5.1 Skuteczność VP 12273-39 Formula 3 przeciwko wirusowi krowianki
Temperatura testowa 20°C; czas kontaktu 15 sekund i 30 sekund

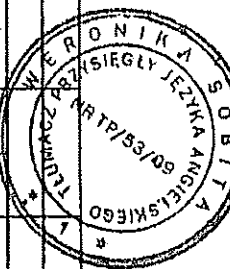
	FCS	Badanie 1					Badanie 2					Średni przedział ufności	Średni współczynnik redukcji
		Czas (s)	Miano wirusa	Odchylenie standardowe	Współczynnik redukcji	Przedział ufności	Miano wirusa	Odchylenie standardowe	Współczynnik redukcji	Przedział ufności			
										K _{RF}			
VP12273-39 Formula 3	-	15	≤2,5	0,000	≥4,0	0,000	m	S _m	RF	0,000	≥4,00	0,00	
	+	15	≤2,5	0,000	≥4,0	0,000	≤2,5	0,000	≥4,0	0,000	≥4,00	0,00	
	-	30	≤2,5	0,000	≥4,0	0,000	≤2,5	0,000	≥4,0	0,000	≥4,00	0,00	
	+	30	≤2,5	0,000	≥4,0	0,000	≤2,5	0,000	≥4,0	0,000	≥4,00	0,00	
Kontrola wodna	-	30	6,5	0,000			6,5	0,000					
	+	30	6,5	0,000			6,5	0,000					

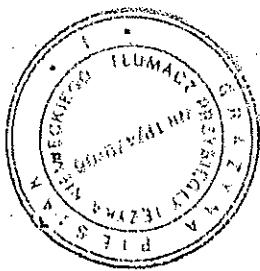
Tab. 5.2 Skuteczność VP 12273-39 Formula 3 przeciwko wirusowi BVDV
Temperatura testowa 20°C; czas kontaktu 15 sekund i 30 sekund

Pełne stężenie	FCS	Badanie 1					Badanie 2					Średni przedział ufności
		Czas (s)	Miano wirusa	Odchylenie standardowe	Współczynnik redukcji	Przedział ufności	Miano wirusa	Odchylenie standardowe	Współczynnik redukcji	Przedział ufności	Średni współczynnik redukcji	
VP12273-39 Formula 3	-	15	≤3,5	0,000	≥3,0	0,000	m	S _m	RF	K _{RF}	≥3,00	0,00
	+	15	≤3,5	0,000	≥3,0	0,000	≤3,5	0,000	≥3,0	0,000	≥3,00	0,00
	-	30	≤3,5	0,000	≥3,0	0,000	≤3,5	0,000	≥3,0	0,000	≥3,00	0,00
	+	30	≤3,5	0,000	≥3,0	0,000	≤3,5	0,000	≥3,0	0,000	≥3,00	0,00
Kontrola wodna	-	30	6,5	0,000			6,5	0,000				
	+	30	6,5	0,000			6,5	0,000				

ECOLAB Sp. z o.o.
30-504 Kraków, ul. Kławińska 69
tel. 012/261 61 00, fax 012/261 61 01
REGON 35557317, NIP 677-002-40-11

04.08.2010
ZA ZGODNOŚĆ
Z ORYGINAŁEM
(data wydania)





UWIERZYTELNIŁONE TŁUMACZENIE Z JĘZYKA NIEMIECKIEGO

[Dokument w języku angielskim, sporządzony przez Henkel AG & Co. KGaA]

[Na odwrocie ostatniej strony]

Podklejka [na sznurku łączącym dokument] z odciskiem suchej okrągłej pieczęci z herbem Nadrenii-Północnej Westfalii:

DR. DOMINIK LINNENBRINK NOTARIUSZ W DÜSSELDORFIE-BENRATH
[Pieczętka prostokątna:]

Zaświadczam zgodność niniejszego odpisu z okazanym mi oryginalnym dokumentem [skreślone: kopia/poświadczonym odpisem].

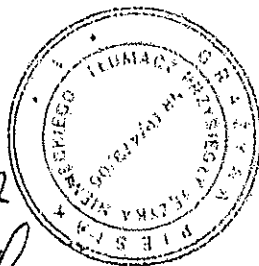
Düsseldorf-Benrath, 20 maja 2010.

Notariusz [podpis odręczny nieczytelny]

Niniejszym potwierdzam zgodność tłumaczenia z treścią dokumentu (uwierzytelniony odpis) w języku niemieckim.

Grażyna Piesiak
Tłumacz Przysięgły

Kraków 14.07.2010
Rep.nr 82/2010



Grażyna Piesiak

ECOLAB Sp. z o.o.
20-504 Kraków, ul. Kalwaryjska 69
tel. 012/261 61 00, fax 012/261 61 01
REGON 550577317, NIP 677-002-40-11

09.08.2010
ZA ZGODNOŚĆ
Z ORYGINAŁEM

Katarzyna Bednarska
Pracownik Ecolab Sp. z o.o.