



**NARODOWY INSTYTUT ZDROWIA PUBLICZNEGO -
PAŃSTWOWY ZAKŁAD HIGIENY**

ZAKŁAD WIRUSOLOGII

ul. Chocimska 24, 00-791 Warszawa

telefon: (22) 54-21-230; Fax: (22) 54-21-385;

e-mail: wiruspzh@pzh.gov.pl; <http://www.pzh.gov.pl>

Numer sprawy: B-BW-6011-5/20

Ocena działania wirusobójczego produktu

HAND-DESINFEKSIJON

**Metoda badania zgodna z PN-EN 14476:2013+A2:2019-08 -
„Chemiczne środki dezynfekcyjne i antyseptyczne. Ilościowa
zawiesinowa metoda określania wirusobójczego działania w
obszarze medycznym. Metoda badania i wymagania (faza 2/etap1)”**

ODPIS

PUSTA STRONA



NARODOWY INSTYTUT ZDROWIA PUBLICZNEGO - PAŃSTWOWY ZAKŁAD HIGIENY

ZAKŁAD WIRUSOLOGII

ul. Chocimska 24, 00-791 Warszawa

Telefon: (22) 54-21-230; Fax: (22) 54-21-385;

e-mail: wiruspzh@pzh.gov.pl; <http://www.pzh.gov.pl>

Numer sprawy: B-BW-6011-5/20

Warszawa, 21 września 2020r.

NORENCO-POLSKA Sp.z o.o.
Sidorska 102
21-500 Biała Podlaska

dot.: badania działania wirusobójczego produktu HAND-DESINFEKSJON

Zakład Wirusologii NIZP-PZH informuje, że na zlecenie firmy NORENCO-POLSKA Sp.z o.o. przeprowadzone zostało badanie produktu HAND-DESINFEKSJON przeznaczonego do higienicznej i chirurgicznej dezynfekcji rąk oraz do dezynfekcji powierzchni. Celem przeprowadzonych badań była ocena aktywności środka dezynfekcyjnego HAND-DESINFEKSJON w zakresie „działanie wirusobójcze”, w warunkach czystych badania.

Badanie przeprowadzono wykorzystując ilościową metodą zawiesinową zgodną z normą PN-EN 14476:2013+A2:2019-08. Badanie wykonano według wytycznych w/w normy dla produktów przeznaczonych do higienicznej dezynfekcji rąk metodą wcierania i higienicznego mycia rąk oraz do dezynfekcji powierzchni. Badanie wykonano w warunkach czystych metodą standardową oraz metodą zmodyfikowaną w przypadku wirusa polio typ 1 oraz metodą standardową w przypadku wirusa adeno typ 5 i mysiego norowirusa. Końcowe stężenie badanego środka dezynfekcyjnego HAND-DESINFEKSJON wynosiło 80% (metoda standardowa) oraz 97% (metoda zmodyfikowana).

Przeprowadzone badania wykazały, że środek dezynfekcyjny HAND-DESINFEKSJON, jako produkt gotowy do użycia, w warunkach czystych badania inaktywuje wirusa polio po czasie kontaktu 60 sekund oraz wirusa adeno i mysiego norowirusa po czasie kontaktu 30 sekund.

Na podstawie otrzymanych wyników badań oraz zgodnie z wytycznymi aktualnej na dzień badania edycji normy – PN-EN 14476:2013+A2:2019-08 – można stwierdzić, że badany środek dezynfekcyjny HAND-DESINFEKSJON, jako produkt gotowy do użycia, posiada;

1. „działanie wirusobójcze” po czasie kontaktu 60 sekund, co zgodnie z interpretacją w/w normy oznacza, że jest aktywny zarówno wobec wirusów bezosłonkowych, jak i osłonkowych w obszarze medycznym po tym czasie kontaktu;
2. „ograniczony zakres działania wirusobójczego” po czasie kontaktu 30 sekund, co zgodnie z interpretacją w/w normy oznacza, że jest aktywny wobec wirusów osłonkowych oraz adenowirusów, norowirusów i rotawirusów po tym czasie kontaktu.

p.o. KIEROWNIKA
Zakładu Wirusologii

Dr hab. Katarzyna Pancer

INSTRUKCJA
DZIAŁANIA

10

PUSTA STRONA



W tym celu
zostało
wskazane
na stronie
10



**NARODOWY INSTYTUT ZDROWIA PUBLICZNEGO -
PAŃSTWOWY ZAKŁAD HIGIENY**

ZAKŁAD WIRUSOLOGII

ul. Chocimska 24, 00-791 Warszawa

telefon: (22) 54-21-230; Fax: (22) 54-21-385;

e-mail: wiruspzh@pzh.gov.pl; <http://www.pzh.gov.pl>

Ocena działania wirusobójczego produktu

HAND-DESINFIEKSJON

wobec wirusa polio typ 1

warunki czyste badania

Warszawa, 2020-09-11

PUSTA STRONA



1. Laboratorium wykonujące badanie

Zakład Wirusologii Narodowego Instytutu Zdrowia Publicznego - PZH
 ul. Chocimska 24
 00-791 Warszawa
 tel.: 22 54 21 230
 fax: 22 54 21 385
 e-mail: wiruspzh@pzh.gov.pl

2. Dane identyfikacyjne klienta zlecającego badanie oraz dane badanej próbki

Zleceniodawca badań / Wytwórca	NORENCO-POLSKA Sp.z o.o. Sidorska 102 21-500 Biała Podlaska
Nazwa produktu	HAND-DESINFEKSIJON
Numer serii	Seria próbna nr 1 z 15.06.2020
Data ważności	24 miesiące od daty produkcji
Data produkcji	15.06.2020
Warunki przechowywania	Produkt przechowywać w szczelnie zamkniętych, właściwie oznakowanych pojemnikach, w suchym, chłodnym oraz wentylowanym pomieszczeniu. Przechowywać z dala od utleniaczy i źródeł ciepła. Chronić pojemniki przed bezpośrednim działaniem promieni słonecznych.
Skład produktu lub substancja czynna	Etanol - 75g/100g Alkil (C12-C16) chlorku dimetylobenzyloamoni - 0,9g/100g Gliceryna - 0,5g/100g Woda - do 100g
Wygląd produktu	Bezbarwny płyn
Typ produktu (przeznaczenie)	Produkt do higienicznej i chirurgicznej dezynfekcji rąk oraz do dezynfekcji powierzchni.

3. Warunki doświadczenia

Okres badania	22.06.2020 – 11.09.2020
Wirus testowy	Wirus polio typ 1
Badane stężenia	Produkt gotowy do użycia
Czasy kontaktu	30 oraz 60 sekund
Zakres badania	Działanie wirusobójcze
Temperatura badania	20 ± 1°C
Substancje obciążające	Warunki czyste badania: roztwór albuminy surowicy bydlęcej (końcowe stężenie w procedurze badania 0,3g/litr)

PUSTA STRONA



4. Materiały i metody

4.1 Wirus testowy: wirus polio typ – 1; szczep atenuowany LSc2ab (wirus RNA, nie posiada osłonki). Zawiesinę wirusa przed użyciem przechowywano w małych objętościach w temperaturze poniżej -70°C .

4.2 Hodowla komórkowa: linia L20B – transgeniczna linia komórkowa mysich fibroblastów z receptorem CD155, wrażliwa na wirusa polio. Komórki linii L20B są wysoce selektywne dla wirusa polio, z charakterystycznym wywołanym przez tego wirusa efektem cytopatycznym.

Podłoże wzrostowe: podłoże Eagle'a (MEM) zawierające 10% płodowej surowicy cielęcej, L-glutaminę, roztwór aminokwasów oraz roztwór antybiotyków - penicyliny i streptomycyny.

Podłoże utrzymujące: podłoże Eagle'a (MEM) zawierające 2% płodowej surowicy cielęcej, L-glutaminę, roztwór aminokwasów oraz roztwór antybiotyków - penicyliny i streptomycyny.

4.3 Oznaczanie miana zakaźnego wirusa

Miano zakaźne wirusa polio określano metodą badania obecności / braku efektu cytopatycznego (punkt końcowy mianowania – quantal test) w zawieszynie komórek w 96-dołkowej mikroplątce. Do ośmiu dołków w mikroplątce dodawano 0,1 ml każdego rozcieńczenia wirusa, rozpoczynając od najwyższego rozcieńczenia. Następnie dodawano 0,1 ml zawiesiny hodowli komórkowej w takiej gęstości, aby umożliwić wytworzenie jednowarstwowego wzrostu komórek ($> 90\%$) w hodowli komórek kontrolnych, w czasie nie dłuższym niż 2 dni. Kontrolę hodowli komórkowej stanowiły dołki w mikroplątce do których nie dodawano zawiesiny wirusowej. Mikroplątki z zakażoną hodowlą komórkową inkubowano w temperaturze 37°C w obecności $5\% \text{CO}_2$ przez okres 7 dni. Miano zakaźne wirusa polio obliczano wg metody Spaermana-Kärber'a.

4.4 Określenie cytotoksyczności badanego produktu – efekt cytotoksyczny

W celu sprawdzenia możliwości wystąpienia zmian morfologicznych wywołanych w komórkach L20B przez środek dezynfekcyjny **HAND-DESINFEKSIJON**, przygotowano mieszaninę kontrolną składającą się z 1 ml wody jałowej, 1 ml substancji obciążającej oraz 8 ml roztworu badanego produktu. Następnie w podłożu utrzymującym wykonano serię rozcieńczeń mieszaniny kontrolnej w stosunku dziesiętnym i dodano do zawiesiny hodowli komórkowej w mikroplątce. Wystąpienie ewentualnych zmian w hodowli komórkowej obserwowano w mikroskopie świetlnym.

4.5 Kontrola zakłóceń – kontrola zmiany wrażliwości komórek hodowli na wirusa

Celem kontroli zakłóceń jest sprawdzenie, czy działanie roztworu produktu do badania nie wpływa negatywnie na wrażliwość komórek hodowli na zakażenie wirusem. W celu określenia ewentualnego obniżenia wrażliwości komórek L20B przeprowadzono porównawcze mianowanie wirusa polio na hodowli komórkowej, która miała lub nie kontakt z środkiem dezynfekcyjnym **HAND-DESINFEKSIJON**. Do każdego dołka mikroplątki z hodowlą komórkową dodawano 0,1 ml najniższego, nietoksycznego rozcieńczenia środka dezynfekcyjnego (10^{-4}) lub w przypadku mikroplątki kontrolnej PBS, a następnie inkubowano 1h w 37°C , usuwano płyn nad hodowlą i równolegle na

PUSTA STRONA

komórkach, które były lub nie były poddane działaniu środka dezynfekcyjnego mianowano wirusa polio metodą badania obecności / braku efektu cytopatycznego zgodnie z punktem 4.3.

4.6 Określenie zdolności produktu **HAND-DESINFEKSJON** do inaktywacji wirusa polio typ 1

Zasada badania: określenie zdolności produktu do inaktywacji wirusa polio na podstawie redukcji miana zakaźnego. Jako kryterium wirusobójczego działania badanego produktu wobec wirusa polio przyjęto redukcję miana zakaźnego wirusa o co najmniej 4 w dziesiętej skali logarytmicznej (log) – różnica pomiędzy mianem zakaźnym wirusa w mieszaninie kontrolnej a mianem zakaźnym wirusa w mieszaninie zawierającej określone stężenie badanego produktu.

Zdolność produktu **HAND-DESINFEKSJON** do inaktywacji wirusa polio określono:

I. w warunkach czystych badania metodą standardową

stężenie badanego produktu	80%
czas kontaktu	30 oraz 60 sekund
temperatura badania	20 ± 1°C
substancja obciążająca	roztwór albuminy surowicy bydlęcej (końcowe stężenie - 0,3g/litr)

II. w warunkach czystych badania metodą zmodyfikowaną

stężenie badanego produktu	97%
czas kontaktu	30 oraz 60 sekund
temperatura badania	20 ± 1°C
substancja obciążająca	roztwór albuminy surowicy bydlęcej (końcowe stężenie - 0,3g/litr)

Mieszanina do badania w metodzie standardowej w warunkach czystych badania zawierała:

- 1 ml zawiesiny wirusa polio typ 1;
- 1 ml substancji obciążającej (roztwór albuminy surowicy bydlęcej - końcowe stężenie 0,3g/litr);
- 8 ml badanego produktu **HAND-DESINFEKSJON** (końcowe stężenie produktu w mieszaninie do badania wynosiło 80%).

Mieszanina do badania w metodzie zmodyfikowanej w warunkach czystych badania zawierała:

- 0,1 ml zawiesiny wirusa polio typ 1;
- 0,2 ml 5x stężonej substancji obciążającej (roztwór albuminy surowicy bydlęcej - końcowe stężenie 0,3g/litr);
- 9,7 ml badanego produktu **HAND-DESINFEKSJON** (końcowe stężenie produktu w mieszaninie do badania wynosiło 97%).



Mieszaniny do badania inkubowano w wymienionych wyżej warunkach. Po upływie wybranego czasu kontaktu wykonywano serię rozcieńczeń w szeregu dziesiętnym w oziębionym na lodzie podłożu utrzymującym (MEM + 2% płodowej surowicy cielęcej), a następnie oznaczono miano zakaźne wirusa polio metodą badania obecności/braku efektu cytopatycznego zgodnie z pkt. 4.3.

4.7 Oznaczenie miana zakaźnego zawiesiny kontrolnej wirusa - mianowanie kontroli wirusa polio

Zakaźność zawiesiny wirusa polio określono w warunkach badania w czasie kontaktu 0 minut, równoległe z badaniem produktu **HAND-DESINFEKSJON**. Roztwór produktu do badania w mieszaninie kontrolnej zastąpiono wodą jałową.

Mieszanina kontrolna w metodzie standardowej w warunkach czystych badania zawierała:

- 1 ml zawiesiny wirusa polio typ 1;
- 1 ml substancji obciążającej (roztwór albuminy surowicy bydlęcej - końcowe stężenie 0,3g/litr);
- 8 ml wody jałowej.

Mieszanina kontrolna w metodzie zmodyfikowanej w warunkach czystych badania zawierała:

- 0,1 ml zawiesiny wirusa polio typ 1;
- 0,2 ml 5x stężonej substancji obciążającej (roztwór albuminy surowicy bydlęcej - końcowe stężenie 0,3g/litr);
- 9,7 ml wody jałowej.

Po upływie czasu kontaktu w oziębionym na lodzie podłożu utrzymującym (MEM + 2% płodowej surowicy cielęcej) wykonywano serię rozcieńczeń w szeregu dziesiętnym, a następnie oznaczono miano zakaźne wirusa polio metodą badania obecności/braku efektu cytopatycznego zgodnie z punktem 4.3.

4.8 Badanie referencyjne inaktywacji wirusa

W celu kontroli prawidłowego działania systemu badania wykonano badanie referencyjne inaktywacji wirusa polio z 0,04% aldehydem glutarowym – oznaczenie działania wirusobójczego aldehydu glutarowego wobec wirusa polio. W tym celu 2 ml zawiesiny wirusa polio typ 1 zmieszano z 8 ml PBS (buforowany roztwór soli fizjologicznej) oraz 10 ml 0,08% aldehydu glutarowego i inkubowano przez określone czasy kontaktu. Czasy kontaktu aldehydu glutarowego z zawiesiną wirusa polio wynosiły 30 i 60 minut. Po upływie określonego czasu kontaktu 0,2 ml badanej mieszaniny aldehydu glutarowego i wirusa polio przenoszono do 1,8 ml oziębionego na lodzie podłoża utrzymującego (MEM + 2% płodowej surowicy cielęcej) i wykonywano serię rozcieńczeń w szeregu dziesiętnym, a następnie oznaczano miano zakaźne wirusa polio metodą badania obecności / braku efektu cytopatycznego zgodnie z punktem 4.3.

Jednocześnie wykonywano badanie kontrolne – określono miano zakaźne zawiesiny wirusa polio w warunkach badania, w czasie kontaktu 0 i 60 minut. Roztwór aldehydu glutarowego w mieszaninie kontrolnej zastąpiono wodą jałową. Mieszanina kontrolna zawierała: 1 ml zawiesiny wirusa polio, 4 ml PBS oraz 5 ml sterylnej wody. Po upływie określonego czasu kontaktu 0,2 ml badanej mieszaniny kontrolnej przenoszono do 1,8 ml

PUSTA STRONA



oziebnionego na lodzie podłoża (MEM + 2% płodowej surowicy cielęcej) i wykonywano serię rozcieńczeń w szeregu dziesiętnym, a następnie oznaczano miano zakaźne wirusa polio metodą badania obecności / braku efektu cytopatycznego - zgodnie z punktem 4.3.

5. Weryfikacja metodyki – walidacja wyników badania

Podczas badania spełnione zostały następujące kryteria:

- a) Miano zakaźne zawiesiny wirusa polio do badania było wystarczająco wysokie, aby pozwolić na określenie redukcji miana o 4 w dziesiętnej skali logarytmicznej (log).
- b) Obserwacja w mikroskopie świetlnym zmian morfologicznych hodowli komórkowej L20B poddanej działaniu różnych rozcieńczeń środka dezynfekcyjnego **HAND-DESINFEKSJON** wykazała, że badany produkt jest wysoce toksyczny dla hodowli komórkowej (do rozcieńczenia 10^{-3}). Mieszaniny do badania po zakończeniu czasu kontaktu dwa razy odtoksyczniano za pomocą kolumnienek do odtoksyczniania MicroSpin S-4010 HR firmy GE HEALTHCARE.
- c) Porównawcze określenie miana zakaźnego wirusa polio na hodowli komórkowej L20B, która była lub nie była poddana działaniu środka dezynfekcyjnego **HAND-DESINFEKSJON** (rozcieńczenie 10^{-4}) wykazało brak znaczących różnic w mianie wirusa polio (różnica była mniejsza niż 1 log i wynosiła $0,0 \pm 0,0$ log).
- d) Różnica miana kontroli wirusa polio oraz miana wirusa polio w badaniu referencyjnym inaktywacji wirusa z 0,04% aldehydem glutarowym wynosiła $2,50 \pm 0,378$ log po 30 minutach oraz $3,00 \pm 0,462$ log po 60 minutach.
- e) W warunkach czystych badania redukcja miana wirusa polio typ 1, w metodzie standardowej wynosiła:
 - po czasie kontaktu 30 sekund - $\leq 1,37 \pm 0,366$ log
 - po czasie kontaktu 60 sekund - $1,62 \pm 0,491$ log
- f) W warunkach czystych badania redukcja miana wirusa polio typ 1, w metodzie zmodyfikowanej wynosiła:
 - po czasie kontaktu 30 sekund $3,13 \pm 0,412$ log (I badanie)
 $3,13 \pm 0,412$ log (II badanie)
 $3,62 \pm 0,412$ log (III badanie)
 $3,00 \pm 0,552$ log (IV badanie)
 $3,63 \pm 0,648$ log (V badanie)
 - po czasie kontaktu 60 sekund $\geq 4,13 \pm 0,412$ log (I badanie)
 $\geq 4,13 \pm 0,412$ log (II badanie)
 $\geq 4,00 \pm 0,354$ log (III badanie)
 $\geq 4,63 \pm 0,366$ log (IV badanie)

6. Wyniki badania produktu – środka dezynfekcyjnego **HAND-DESINFEKSJON** – inaktywacja wirusa polio typ 1 w warunkach czystych badania

Badanie środka dezynfekcyjnego **HAND-DESINFEKSJON** z wirusem polio typ 1 przeprowadzono wykorzystując ilościową metodą zawiesinową zgodną z normą PN-EN

PUSTA STRONA



14476:2013+A2:2019-08 – „Chemiczne środki dezynfekcyjne i antyseptyczne - Ilościowa zawieszinowa metoda określania wirusobójczego działania w obszarze medycznym - Metoda badania i wymagania (faza 2, etap 1)”. Badanie wykonano w warunkach czystych badania według wytycznych w/w normy dla produktów przeznaczonych do higienicznej dezynfekcji rąk metodą wcierania i higienicznego mycia rąk oraz dla produktów do dezynfekcji powierzchni. Końcowe stężenie badanego środka dezynfekcyjnego **HAND-DESINFEKSIJON** w procedurze badania wynosiło 80% (metoda standardowa) lub 97% (metoda zmodyfikowana). Zmodyfikowana metoda badania pozwala na badanie preparatów gotowych do użycia w wyższym stężeniu, zbliżonym do stężenia zastosowania produktu.

Miano wirusa polio określano metodą badania obecności / braku efektu cytopatycznego w hodowli komórkowej. Jako kryterium wirusobójczego działania badanego produktu przyjęto redukcję miana zakaźnego wirusa o co najmniej 4 w dziesiętnej skali logarytmicznej (log) - różnica pomiędzy mianem zakaźnym wirusa w mieszaninie kontrolnej a mianem zakaźnym wirusa w mieszaninie zawierającej określone stężenie badanego produktu oraz substancje obciążającą, inkubowanej przez określony czas kontaktu.

W warunkach czystych badania redukcja miana wirusa polio typ 1, w metodzie standardowej wynosiła:

- po czasie kontaktu 30 sekund - $\leq 1,37 \pm 0,366$ log
- po czasie kontaktu 60 sekund - $1,62 \pm 0,491$ log

W warunkach czystych badania redukcja miana wirusa polio typ 1, w metodzie zmodyfikowanej wynosiła:

- po czasie kontaktu 30 sekund $3,13 \pm 0,412$ log (I badanie)
 $3,13 \pm 0,412$ log (II badanie)
 $3,62 \pm 0,412$ log (III badanie)
 $3,00 \pm 0,552$ log (IV badanie)
 $3,63 \pm 0,648$ log (V badanie)
- po czasie kontaktu 60 sekund $\geq 4,13 \pm 0,412$ log (I badanie)
 $\geq 4,13 \pm 0,412$ log (II badanie)
 $\geq 4,00 \pm 0,354$ log (III badanie)
 $\geq 4,63 \pm 0,366$ log (IV badanie)

Otrzymane wyniki wskazują, że

- w warunkach czystych badania środek dezynfekcyjny **HAND-DESINFEKSIJON**, jako produkt gotowy do użycia, nie inaktywował wirusa polio po 30 sekundowym czasie kontaktu oraz inaktywował wirusa polio po 60 sekundowym czasie kontaktu.

Wyniki badania są przedstawione w tabelach 1 - 6 oraz na rysunku 1.

PUSTA STRONA



7. Wniosek

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że badany środek dezynfekcyjny **HAND-DESINFEKSJON**, jako produkt gotowy do użycia nie inaktywuje wirusa polio typ 1 po czasie kontaktu 30 sekund oraz inaktywuje wirusa polio typ 1 po czasie kontaktu 60 sekund, w warunkach czystych badania (badanie wykonano zgodnie z wytycznymi normy PN-EN 14476:2013+A2:2019-08 dotyczącej obszaru medycznego).

Warszawa, 11 września 2020 rok



NARODOWY INSTYTUT ZDROWIA PUBLICZNEGO
- PAŃSTWOWY ZAKŁAD HIGIENY
Zakład Wirusologii
00-791 Warszawa, ul. Chocimska 24
tel. 022 54 21 230

Sprawozdanie z badań przygotował:



dr Agnieszka Trzeńska
Zakład Wirusologii NIZP-PZH

Tabela 1. Nieopracowane dane dla produktu **HAND-DESINFEKSIJON** badanego z wirusem polio typ 1 (badanie obecności/braku efektu cytopatycznego – quantal test; 8 dołków)

Produkt	Stężenie	Substancja obciążająca	Odtoksyczenie ³⁾ mieszaniny do badania	Czas kontaktu (sekundy)	Rozcieńczenia (log)							
					2	3	4	5	6	7	8	
HAND-DESINFEKSIJON	80% ¹⁾	BSA (0,3 g/l) warunki czyste	Nie	0	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4400 4004	
				30	TTTT TTTT	TTTT TTTT	4444 4444	4444 4444	4444 4444	nb nb		
				60	TTTT TTTT	TTTT TTTT	4444 4444	4444 4444	4444 0440	nb nb		
Wirus polio - kontrola	nd		Nie	0	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	0440 0040		
HAND-DESINFEKSIJON	97% ²⁾	BSA (0,3 g/l) warunki czyste	Nie	0	nb 4444	4444 4444	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	
			Tak 2x	30	nb TTTT	TTTT TTTT	4444 4444	0000 0000	0000 0000	0000 0000	nb nb	
			Tak 2x	60	nb TTTT	TTTT TTTT	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	nb nb	
			Nie	0	nb 4444	4444 4444	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	
			Tak 2x	30	nb TTTT	TTTT TTTT	4444 4444	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	nb nb
			Tak 2x	60	nb TTTT	TTTT TTTT	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	nb nb
Wirus polio - kontrola	nd		Nie	0	nb 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4044 4444	4400 0000		
			Tak 2x	0	nb 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4440 4044	0400 0000		
HAND-DESINFEKSIJON	97% ²⁾	BSA (0,3 g/l) warunki czyste	Nie	0	nb TTTT	TTTT TTTT	4444 4444	4444 4444	4444 4444	0000 0000	nb nb	
			Tak 2x	60	nb TTTT	TTTT TTTT	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	nb nb	
Wirus polio - kontrola	nd		Nie	0	nb 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4044	0000 0004		
HAND-DESINFEKSIJON	97% ²⁾	BSA (0,3 g/l) warunki czyste	Nie	0	nb TTTT	TTTT TTTT	4444 4444	4444 4444	4440 4444	0000 0000	nb nb	
			Tak 2x	60	nb TTTT	TTTT TTTT	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	nb nb	
Wirus polio - kontrola	nd		Nie	0	nb 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 0040		
HAND-DESINFEKSIJON	97% ²⁾	BSA (0,3 g/l) warunki czyste	Tak 2x	30	nb TTTT	TTTT TTTT	0000 0000	0000 4000	0000 0000	0000 0000	nb nb	
			Nie	0	nb 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4440 4444	0000 0000	0000 0000	
Wirus polio - kontrola	nd		Tak 2x	30	nb TTTT	TTTT TTTT	4404 0440	0040 0000	0000 0000	0000 0000	nb nb	
			Nie	0	nb 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4000 0400		
HAND-DESINFEKSIJON	97% ²⁾	BSA (0,3 g/l) warunki czyste	Tak 2x	30	nb TTTT	TTTT TTTT	4400 0404	0004 4040	0000 0000	0000 0000	nb nb	
			Nie	0	nb 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4000 0444	
Wirus polio - kontrola	nd		Tak 2x	30	nb TTTT	TTTT TTTT	4400 0404	0004 4040	0000 0000	0000 0000	nb nb	
			Nie	0	nb 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4000 0444		

BSA – roztwór albuminy surowicy bydlęcej

4 – obecność wirusa
0 – brak wirusa

T – toksyczny

nd – nie dotyczy
nb – nie badano

1) W trakcie procedury badania metodą standardową produkt gotowy do użycia w mieszaninie do badania ulega rozcieńczeniu do końcowego stężenia 80%.

2) W trakcie procedury badania metodą zmodyfikowaną produkt gotowy do użycia w mieszaninie do badania ulega rozcieńczeniu do końcowego stężenia 97%.

3) Odtoksyczenie mieszanin do badania przeprowadzono przy pomocy kolumn MicroSpin S-4010 HR firmy GE HEALTHCARE

PUSTA STRONA



Tabela 2. Nieopracowane dane dla produktu **HAND-DESINFEKSJON** badanego z wirusem polio typ 1 - test referencyjny oraz kontrola zakłóceń (badanie obecności/braku efektu cytotatycznego – quantal test; 8 dołków)

Produkt	Stężenie	Substancja obciążająca	Czas kontaktu (minuty)	Rozcieńczenia (log)								
				2	3	4	5	6	7	8		
Aldehyd Glutarowy	0,04% (v/v)	PBS	0	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4004 4444	0000 0004	
			30	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 0000	nb	nb		
			60	4444 4444	4444 4444	4444 4444	0444 4440	4000 0004	nb	nb		
Wirus polio - kontrola	nd		0	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444		
			60	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444		
Produkt	Stężenie	Substancja obciążająca	Czas kontaktu (minuty)	Rozcieńczenia (log)								
				2	3	4	5	6	7	8	9	
Kontrola zakłóceń – produkt	10 ⁻⁴	nd	nd	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	0000 0000	
Kontrola zakłóceń – PBS	100%		nd	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	0000 0000	

PBS – zbuforowany roztwór soli fizjologicznej
 4 – obecność wirusa
 0 – brak wirusa
 nd – nie dotyczy
 nb – nie badano

Tabela 3. Wygląd mieszanin do badania z produktem **HAND-DESINFEKSJON**

Stężenie produktu	Substancja obciążająca	Metoda badania	Wygląd mieszaniny
80%	BSA (0,3g/litr) warunki czyste	standardowa	klarowna, bezbarwna
97%	BSA (0,3g/litr) warunki czyste	zmodyfikowana	mleczny kolor, bez wyraźnych strąków i osadu

PUSTA STRONA



Tabela 4. Wyniki badania produktu **HAND-DESINFEKSIJON** z wirusem polio typ 1 w warunkach czystych badania

Badany produkt / kontrola	Stężenie	Substancja obciążająca	log TCID ₅₀ wirusa po danym czasie kontaktu z badanym produktem:			Redukcja miana ≥ 4 log
			0 minut	30 sekund	60 sekund	
HAND-DESINFEKSIJON	80% ¹⁾	BSA (0,3 g/l)	7,50 ± 0,454	≥ 6,50 ± 0,0	6,25 ± 0,321	NIE
Wirus polio - kontrola	nd		7,87 ± 0,359	nb	nb	
HAND-DESINFEKSIJON	97% ²⁾	BSA (0,3 g/l)	5,50 ± 0,0	4,50 ± 0	≤ 3,50 ± 0	Po 30s NIE Po 60s TAK
HAND-DESINFEKSIJON	97% ²⁾		5,50 ± 0,0	4,50 ± 0	≤ 3,50 ± 0	
Wirus polio - kontrola	nd		7,63 ± 0,404	nb	nb	
HAND-DESINFEKSIJON	97% ²⁾	BSA (0,3 g/l)	6,50 ± 0,0	nb	≤ 3,50 ± 0	TAK
Wirus polio - kontrola	nd		7,50 ± 0,346	nb	nb	
HAND-DESINFEKSIJON	97% ²⁾	BSA (0,3 g/l)	6,38 ± 0,245	nb	≤ 3,50 ± 0	TAK
Wirus polio - kontrola	nd		8,13 ± 0,359	nb	nb	
HAND-DESINFEKSIJON	97% ²⁾	BSA (0,3 g/l)	nb	3,63 ± 0,245	nb	NIE
Wirus polio - kontrola	nd		7,25 ± 0,321	nb	nb	
HAND-DESINFEKSIJON	97% ²⁾	BSA (0,3 g/l)	nb	4,25 ± 0,434	nb	NIE
Wirus polio - kontrola	nd		7,25 ± 0,321	nb	nb	
HAND-DESINFEKSIJON	97% ²⁾	BSA (0,3 g/l)	nb	4,37 ± 0,516	nb	NIE
Wirus polio - kontrola	nd		8,00 ± 0,370	nb	nb	

nb – nie badano
nd – nie dotyczy
BSA – roztwór albuminy surowicy bydlęcej

1) W trakcie procedury badania metodą standardową produkt gotowy do użycia w mieszaninie do badania ulega rozcieńczeniu do końcowego stężenia 80%.

2) W trakcie procedury badania metodą zmodyfikowaną produkt gotowy do użycia w mieszaninie do badania ulega rozcieńczeniu do końcowego stężenia 97%.

PUSTA STRONA



Tabela 5. **HAND-DESINFEKSIJON** – otrzymana redukcja miana wirusa polio typ 1

Warunki badania	Stężenie produktu	Czas kontaktu	Obciążenie	Redukcja miana wirusa polio	
Warunki czyste	80% ¹⁾	30 sekund	BSA (0,3g/l)	I	$\leq 1,37 \pm 0,366 \log$
		60 sekund		I	$1,62 \pm 0,491 \log$
Warunki czyste	97% ²⁾	30 sekund	BSA (0,3g/l)	I	$3,13 \pm 0,412 \log$
				II	$3,13 \pm 0,412 \log$
				III	$3,62 \pm 0,412 \log$
				IV	$3,00 \pm 0,552 \log$
				V	$3,63 \pm 0,648 \log$
Warunki czyste	97% ²⁾	60 sekund	BSA (0,3g/l)	I	$\geq 4,13 \pm 0,412 \log$
				II	$\geq 4,13 \pm 0,412 \log$
				III	$\geq 4,00 \pm 0,354 \log$
				IV	$\geq 4,63 \pm 0,366 \log$

1) W trakcie procedury badania metodą standardową produkt gotowy do użycia w mieszaninie do badania ulega rozcieńczeniu do końcowego stężenia 80%.

2) W trakcie procedury badania metodą zmodyfikowaną produkt gotowy do użycia w mieszaninie do badania ulega rozcieńczeniu do końcowego stężenia 97%.

BSA – roztwór albuminy surowicy bydłowej

Tabela 6. Wyniki testu referencyjnego wykonanego z 0,04 % (v/v) aldehydem glutarowym oraz kontroli zakłóceń (kontrola zmiany wrażliwości komórek hodowli na wirusa)

Badany produkt / kontrola	log TCID ₅₀ wirusa po określonym czasie kontaktu z badanym produktem			Redukcja miana
	0 minut	30 minut	60 minut	
Aldehyd Glutarowy (test referencyjny)	$7,37 \pm 0,404$	$6,00 \pm 0,370$	$5,50 \pm 0,454$	Po 30 min: $2,50 \pm 0,378 \log$
Wirus polio - kontrola (test referencyjny)	$8,50 \pm 0$	nb	$8,50 \pm 0$	Po 60 min: $3,00 \pm 0,462 \log$
Kontrola zakłóceń - miano wirusa polio na hodowli komórkowej inkubowanej z produktem 10 ⁻²	Kontrola zakłóceń - miano wirusa polio na hodowli komórkowej inkubowanej z PBS			Redukcja miana
log TCID ₅₀ = $8,50 \pm 0,0$	log TCID ₅₀ = $8,50 \pm 0,0$			$0,0 \pm 0,0 \log$

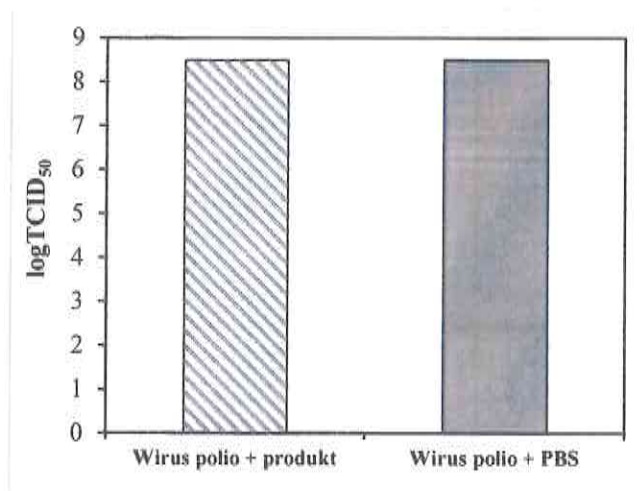
nb – nie badano
nd – nie dotyczy
PBS – zbuforowany roztwór soli fizjologicznej

PUSTA STRONA

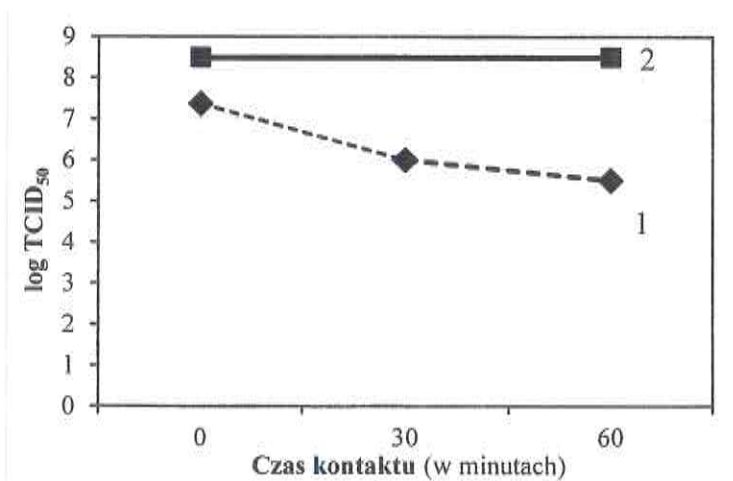


Rysunek 1. Przedstawienie graficzne otrzymanych wyników

- A. Kontrola zakłóceń** – badanie wpływu produktu **HAND-DESINFEKSIJON** na zmianę wrażliwości hodowli komórkowej L20B na wirusa polio typ 1



- B. Test referencyjny z aldehydem glutarowym**

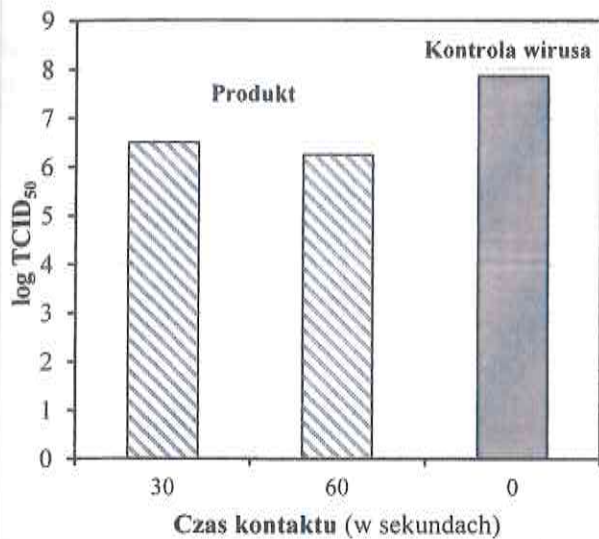


1: Aldehyd glutarowy; 2: Kontrola wirusa polio

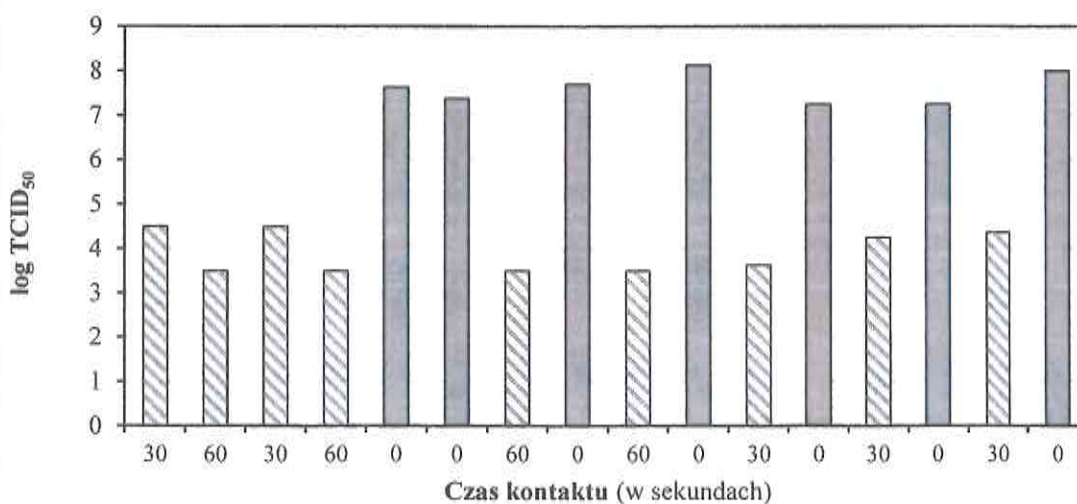
PUSTA STRONA





C. Wyniki badania produktu **HAND-DESINFEKSIJON** z wirusem polio typ 1 w warunkach czystych – metoda standardowa



D. Wyniki badania produktu **HAND-DESINFEKSIJON** z wirusem polio typ 1 w warunkach czystych – metoda zmodyfikowana



 - kontrola wirusa
 - produkt

PUSTA STRONA





**NARODOWY INSTYTUT ZDROWIA PUBLICZNEGO -
PAŃSTWOWY ZAKŁAD HIGIENY**

ZAKŁAD WIRUSOLOGII

ul. Chocimska 24, 00-791 Warszawa

telefon: (22) 54-21-230; Fax: (22) 54-21-385;

e-mail: wiruspzh@pzh.gov.pl; <http://www.pzh.gov.pl>

Ocena działania wirusobójczego produktu

HAND-DESINFEKSIJON

wobec mysiego norowirusa

warunki czyste badania

Warszawa, 2020-07-27

PUSTA STRONA



1. Laboratorium wykonujące badanie

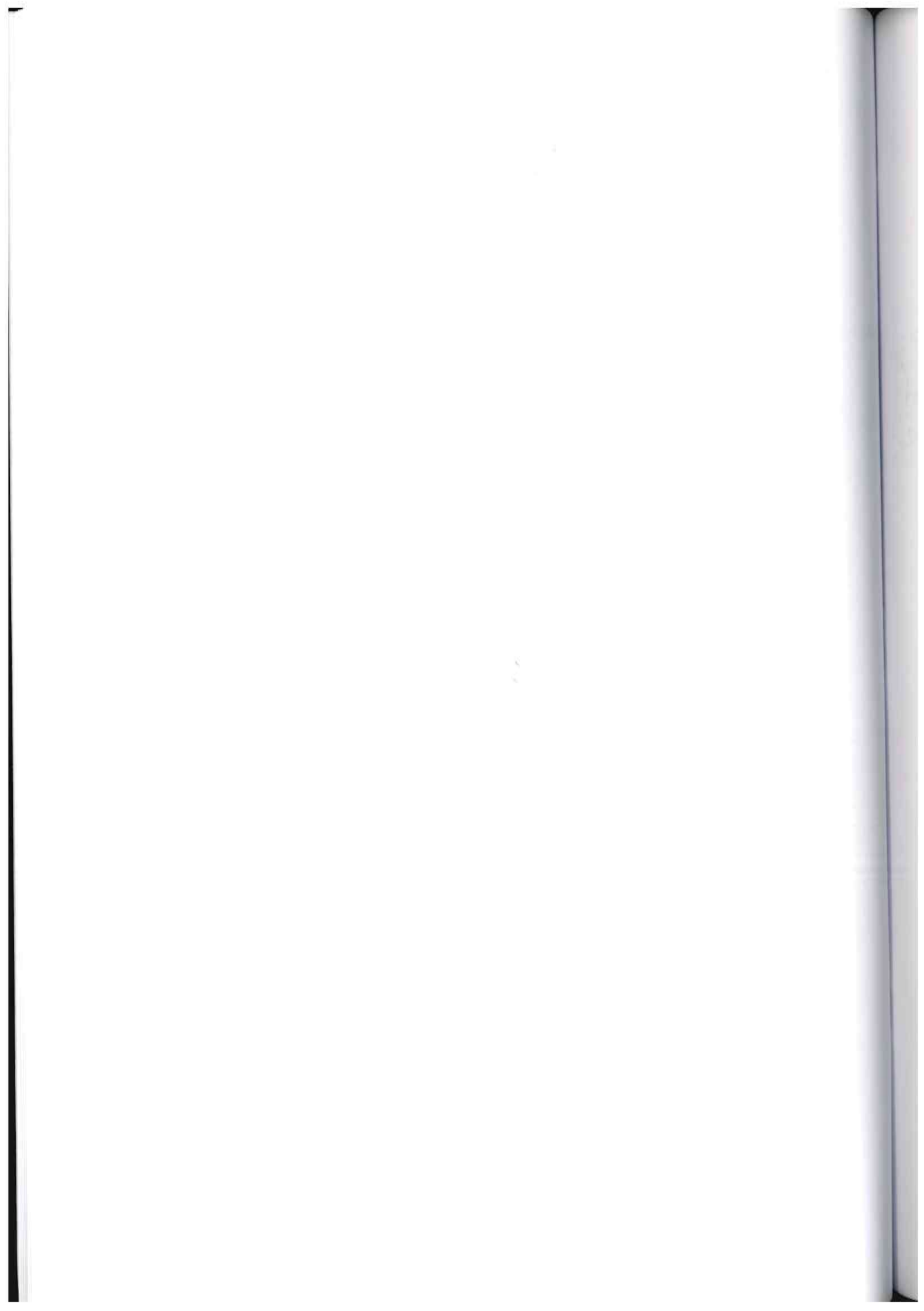
Zakład Wirusologii Narodowego Instytutu Zdrowia Publicznego - PZH
 ul. Chocimska 24
 00-791 Warszawa
 tel.: 22 54 21 230
 fax: 22 54 21 385
 e-mail: wiruspzh@pzh.gov.pl

2. Dane identyfikacyjne klienta zlecającego badanie oraz dane badanej próbki

Zleceniodawca badań / Wytwórca	NORENCO-POLSKA Sp.z o.o. Sidorska 102 21-500 Biała Podlaska
Nazwa produktu	HAND-DESINFEKSIJON
Numer serii	Seria próbna nr 1 z 15.06.2020
Data ważności	24 miesiące od daty produkcji
Data produkcji	15.06.2020
Warunki przechowywania	Produkt przechowywać w szczelnie zamkniętych, właściwie oznakowanych pojemnikach, w suchym, chłodnym oraz wentylowanym pomieszczeniu. Przechowywać z dala od utleniaczy i źródeł ciepła. Chronić pojemniki przed bezpośrednim działaniem promieni słonecznych.
Skład produktu lub substancja czynna	Etanol - 75g/100g Alkil (C12-C16) chlorku dimetylobenzyloamonu – 0,9g/100g Gliceryna – 0,5g/100g Woda – do 100g
Wygląd produktu	Bezbarwny płyn
Typ produktu (przeznaczenie)	Produkt do higienicznej i chirurgicznej dezynfekcji rąk oraz do dezynfekcji powierzchni.

3. Warunki doświadczenia

Okres badania	17.06.2020 – 27.07.2020
Wirus testowy	Mysi norowirus
Badane stężenia	Produkt gotowy do użycia
Czasy kontaktu	30 oraz 60 sekund
Zakres badania	Działanie wirusobójcze
Temperatura badania	20 ± 1°C
Substancje obciążające	Warunki czyste badania: roztwór albuminy surowicy bydlęcej (końcowe stężenie w procedurze badania 0,3g/litr)



4. Materiały i metody

4.1 Wirus testowy: mysi norowirus; szczep S99 Berlin (wirus RNA, nie posiada osłonki). Zawiesinę wirusa przed użyciem przechowywano w małych objętościach w temperaturze poniżej -70°C .

4.2 Hodowla komórkowa: linia RAW264.7 – mysie monocyty/makrofagi transformowane wirusem białaczki mysiej.

Podłoże wzrostowe: podłoże Dulbecco (D-MEM) zawierające 10% płodowej surowicy cielęcej, L-glutaminę, glukozę oraz roztwór antybiotyków - penicyliny i streptomycyny.

Podłoże utrzymujące: podłoże Dulbecco (D-MEM) zawierające 2% płodowej surowicy cielęcej, L-glutaminę, glukozę oraz roztwór antybiotyków - penicyliny i streptomycyny.

4.3 Oznaczanie miana zakaźnego wirusa

Miano zakaźne mysiego norowirusa określano metodą badania obecności / braku efektu cytopatycznego (punkt końcowy mianowania – quantal test) w jednowarstwowej hodowli komórkowej (monolayer) w 96-dółkowej mikroplątce. Do ośmiu dołków w mikroplątce pokrytych jednowarstwową hodowlą komórkową, z których uprzednio usunięto podłoże, dodawano 0,1 ml każdego rozcieńczenia wirusa, inkubowano 1h w temperaturze 37°C , a następnie dodawano 0,1 ml podłoża utrzymującego. Kontrolę hodowli komórkowej stanowiły dołki w mikroplątce do których nie dodawano zawiesiny wirusowej, tylko podłoże utrzymujące. Mikroplątki z zakażoną hodowlą komórkową inkubowano w temperaturze 37°C w obecności 5% CO_2 przez okres 7 dni. Miano zakaźne mysiego norowirusa obliczano wg metody Spaermana-Kärber'a.

4.4 Określenie cytotoksyczności badanego produktu – efekt cytotoksyczny

W celu sprawdzenia możliwości wystąpienia zmian morfologicznych wywołanych w komórkach RAW264.7 przez środek dezynfekcyjny **HAND-DESINFEKSIJON**, przygotowano mieszaninę kontrolną składającą się z 1 ml wody jałowej, 1 ml substancji obciążającej oraz 8 ml roztworu badanego produktu. Następnie w podłożu utrzymującym wykonano serię rozcieńczeń mieszaniny kontrolnej w stosunku dziesiętnym i dodano do jednowarstwowej hodowli komórkowej w mikroplątce. Wystąpienie ewentualnych zmian w hodowli komórkowej obserwowano w mikroskopie świetlnym.

4.5 Kontrola zakłóceń – kontrola zmiany wrażliwości komórek hodowli na wirusa

Celem kontroli zakłóceń jest sprawdzenie, czy działanie roztworu produktu do badania nie wpływa negatywnie na wrażliwość komórek hodowli na zakażenie wirusem. W celu określenia ewentualnego obniżenia wrażliwości komórek RAW264.7 przeprowadzono porównawcze mianowanie mysiego norowirusa na hodowli komórkowej, która miała lub nie kontakt z środkiem dezynfekcyjnym **HAND-DESINFEKSIJON**. Do każdego dołka mikroplątki z hodowlą komórkową dodawano 0,1 ml najniższego, nietoksycznego rozcieńczenia środka dezynfekcyjnego (10^{-4}) lub w przypadku mikroplątki kontrolnej PBS, a następnie inkubowano 1h w 37°C , usuwano płyn z nad hodowli i równolegle na komórkach, które były lub nie były poddane działaniu środka dezynfekcyjnego mianowano mysiego norowirusa metodą badania obecności/braku efektu cytopatycznego zgodnie z punktem 4.3.

PUSTA STRONA



4.6 Określenie zdolności produktu **HAND-DESINFEKSIJON** do inaktywacji mysiego norowirusa

Zasada badania: określenie zdolności produktu do inaktywacji mysiego norowirusa na podstawie redukcji miana zakaźnego. Jako kryterium wirusobójczego działania badanego produktu wobec mysiego norowirusa przyjęto redukcję miana zakaźnego wirusa o co najmniej 4 w dziesiętnej skali logarytmicznej (log) – różnica pomiędzy mianem zakaźnym wirusa w mieszaninie kontrolnej a mianem zakaźnym wirusa w mieszaninie zawierającej określone stężenie badanego produktu.

Zdolność produktu **HAND-DESINFEKSIJON** do inaktywacji mysiego norowirusa określono w warunkach czystych badania metodą standardową

stężenie badanego produktu	80%
czas kontaktu	30 oraz 60 sekund
temperatura badania	20 ± 1°C
substancja obciążająca	roztwór albuminy surowicy bydlęcej (końcowe stężenie - 0,3g/litr)

Mieszanina do badania w metodzie standardowej w warunkach czystych badania zawierała:

- 1 ml zawiesiny mysiego norowirusa;
- 1 ml substancji obciążającej (roztwór albuminy surowicy bydlęcej - końcowe stężenie 0,3g/litr);
- 8 ml badanego produktu **HAND-DESINFEKSIJON** (końcowe stężenie produktu w mieszaninie do badania wynosiło 80%).

Mieszaninę do badania inkubowano w wymienionych wyżej warunkach. Po upływie wybranego czasu kontaktu wykonywano serię rozcieńczeń w szeregu dziesiętnym w oziębionym na lodzie podłożu utrzymującym (D-MEM + 2% płodowej surowicy cielęcej), a następnie oznaczono miano zakaźne mysiego norowirusa metodą badania obecności/braku efektu cytopatycznego zgodnie z pkt. 4.3.

4.7 Oznaczenie miana zakaźnego zawiesiny kontrolnej wirusa - mianowanie kontroli mysiego norowirusa

Zakaźność zawiesiny mysiego norowirusa określono w warunkach badania w czasie kontaktu 0 minut, równoległe z badaniem produktu **HAND-DESINFEKSIJON**. Roztwór produktu do badania w mieszaninie kontrolnej zastąpiono wodą jałową.

Mieszanina kontrolna w metodzie standardowej w warunkach czystych badania zawierała:

- 1 ml zawiesiny mysiego norowirusa;
- 1 ml substancji obciążającej (roztwór albuminy surowicy bydlęcej - końcowe stężenie 0,3g/litr);
- 8 ml wody jałowej.

Po upływie czasu kontaktu w oziębionym na lodzie podłożu utrzymującym (D-MEM + 2% płodowej surowicy cielęcej) wykonywano serię rozcieńczeń w szeregu dziesiętnym, a następnie oznaczono miano zakaźne mysiego norowirusa metodą badania obecności/braku efektu cytopatycznego zgodnie z punktem 4.3.

PUSTA STRONA



4.8 Badanie referencyjne inaktywacji wirusa

W celu kontroli prawidłowego działania systemu badania wykonano badanie referencyjne inaktywacji mysiego norowirusa z 0,03% aldehydem glutarowym – oznaczenie działania wirusobójczego aldehydu glutarowego wobec mysiego norowirusa. W tym celu 2 ml zawiesiny mysiego norowirusa zmieszano z 8 ml PBS (buforowany roztwór soli fizjologicznej) oraz 10 ml 0,06% aldehydu glutarowego i inkubowano przez określone czasy kontaktu. Czasy kontaktu aldehydu glutarowego z zawiesiną mysiego norowirusa wynosiły 30 i 60 minut. Po upływie określonego czasu kontaktu 0,2 ml badanej mieszaniny aldehydu glutarowego i mysiego norowirusa przenoszono do 1,8 ml oziębionego na lodzie podłoża utrzymującego (D-MEM + 2% płodowej surowicy cielęcej) i wykonywano serię rozcieńczeń w szeregu dziesiętnym, a następnie oznaczano miano zakaźne mysiego norowirusa metodą badania obecności/braku efektu cytopatycznego zgodnie z punktem 4.3.

Jednocześnie wykonywano badanie kontrolne – określono miano zakaźne zawiesiny mysiego norowirusa w warunkach badania, w czasie kontaktu 0 i 60 minut. Roztwór aldehydu glutarowego w mieszaninie kontrolnej zastąpiono wodą jałową. Mieszanina kontrolna zawierała: 1 ml zawiesiny mysiego norowirusa, 4 ml PBS oraz 5 ml sterylnej wody. Po upływie określonego czasu kontaktu 0,2 ml badanej mieszaniny kontrolnej przenoszono do 1,8 ml oziębionego na lodzie podłoża (D-MEM + 2% płodowej surowicy cielęcej) i wykonywano serię rozcieńczeń w szeregu dziesiętnym, a następnie oznaczano miano zakaźne mysiego norowirusa metodą badania obecności/braku efektu cytopatycznego - zgodnie z punktem 4.3.

5. Weryfikacja metodyki – walidacja wyników badania

Podczas badania spełnione zostały następujące kryteria:

- a) Miano zakaźne zawiesiny mysiego norowirusa do badania było wystarczająco wysokie, aby pozwolić na określenie redukcji miana o 4 w dziesiętnej skali logarytmicznej (log).
- b) Obserwacja w mikroskopie świetłym zmian morfologicznych hodowli komórkowej RAW264.7 poddanej działaniu różnych rozcieńczeń środka dezynfekcyjnego **HAND-DESINFEKSIJON** wykazała, że badany produkt jest wysoce toksyczny dla hodowli komórkowej (do rozcieńczenia 10^{-3}). Mieszaniny do badania po zakończeniu czasu kontaktu dwa razy odtoksyczniano za pomocą kolumnienek do odtoksyczniania MicroSpin S-4010 HR firmy GE HEALTHCARE.
- c) Porównawcze określenie miana zakaźnego mysiego norowirusa na hodowli komórkowej RAW264.7, która była lub nie była poddana działaniu środka dezynfekcyjnego **HAND-DESINFEKSIJON** (10^{-4}) wykazało brak znaczących różnic w mianie mysiego norowirusa (różnica była mniejsza niż 1 log i wynosiła $0,0 \pm 0,464$ log).

PUSTA STRONA



- d) Różnica miana kontroli mysiego norowirusa oraz miana mysiego norowirusa w badaniu referencyjnym inaktywacji wirusa z 0,03% aldehydem glutarowym wynosiła $2,01 \pm 0,354$ log po 30 minutach oraz $3,13 \pm 0,510$ log po 60 minutach.
- e) W warunkach czystych badania redukcja miana mysiego norowirusa w metodzie standardowej wynosiła:
- po czasie kontaktu 30 sekund
- $\geq 4,88 \pm 0,412$ log (I badanie)
 - $\geq 5,00 \pm 0,354$ log (II badanie)
- po czasie kontaktu 60 sekund
- $\geq 4,88 \pm 0,412$ log (I badanie)
 - $\geq 5,00 \pm 0,354$ log (II badanie).

6. Wyniki badania produktu – środka dezynfekcyjnego **HAND-DESINFEKSIJON** – inaktywacja mysiego norowirusa w warunkach czystych badania

Badanie środka dezynfekcyjnego **HAND-DESINFEKSIJON** z mysim norowirusem przeprowadzono wykorzystując ilościową metodą zawiesinową zgodną z normą PN-EN 14476:2013+A2:2019-08 – „Chemiczne środki dezynfekcyjne i antyseptyczne - Ilościowa zawiesinowa metoda określania wirusobójczego działania w obszarze medycznym - Metoda badania i wymagania (faza 2, etap 1)”. Badanie wykonano w warunkach czystych badania według wytycznych w/w normy dla produktów przeznaczonych do higienicznej dezynfekcji rąk metodą wcierania i higienicznego mycia rąk oraz dla produktów do dezynfekcji powierzchni. Końcowe stężenie badanego, gotowego do użycia, środka dezynfekcyjnego **HAND-DESINFEKSIJON** w procedurze badania wynosiło 80% (metoda standardowa).

Miano mysiego norowirusa określano metodą badania obecności / braku efektu cytopatycznego w hodowli komórkowej. Jako kryterium wirusobójczego działania badanego produktu przyjęto redukcję miana zakaźnego wirusa o co najmniej 4 w dziesiętnej skali logarytmicznej (log) - różnica pomiędzy mianem zakaźnym wirusa w mieszaninie kontrolnej a mianem zakaźnym wirusa w mieszaninie zawierającej określone stężenie badanego produktu oraz substancje obciążającą, inkubowanej przez określony czas kontaktu.

W warunkach czystych badania redukcja miana mysiego norowirusa w metodzie standardowej wynosiła:

po czasie kontaktu 30 sekund

- $\geq 4,88 \pm 0,412$ log (I badanie)
- $\geq 5,00 \pm 0,354$ log (II badanie)

po czasie kontaktu 60 sekund

- $\geq 4,88 \pm 0,412$ log (I badanie)
- $\geq 5,00 \pm 0,354$ log (II badanie).

PUSTA STROMA



Otrzymane wyniki wskazują, że

- w warunkach czystych badania środek dezynfekcyjny **HAND-DESINFEKSJON**, jako produkt gotowy do użycia, inaktywował mysiego norowirusa, po 30 sekundowym oraz 60 sekundowym czasie kontaktu.

Wyniki badania są przedstawione w tabelach 1 - 6 oraz na rysunku 1.

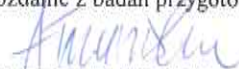
7. Wniosek

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że badany środek dezynfekcyjny **HAND-DESINFEKSJON**, jako produkt gotowy do użycia inaktywuje mysiego norowirusa, po czasie kontaktu 30 oraz 60 sekund, w warunkach czystych badania (badanie wykonano zgodnie z wytycznymi normy PN-EN 14476:2013+A2:2019-08 dotyczącej obszaru medycznego).

Warszawa, 27 lipca 2020 rok

NAJWYŻSZY INSTYTUT ZDROWIA PUBLICZNEGO
- PAŃSTWOWY ZAKŁAD HIGIENY
Zakład Wirusologii
00-791 Warszawa, ul. Chocimska 24
tel. 022 54 21 230

Sprawozdanie z badań przygotował:


dr Agnieszka Trzcińska
Zakład Wirusologii NIZP-PZH

PUSTA STRONA



Tabela 1. Nieopracowane dane dla produktu **HAND-DESINFEKSJON** badanego z mysim norowirusem (badanie obecności/braku efektu cytopatycznego – quantal test; 8 dołków)

Produkt	Stężenie	Substancja obciążająca	Czas kontaktu (sekundy)	Rozcieńczenia (log)							
				2	3	4	5	6	7	8	
HAND-DESINFEKSJON	80% ¹⁾	BSA (0,3 g/l) warunki czyste	0	4444 4444	4444 4444	4444 4444	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	
			30	TTTT TTTT	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	nb nb	nb nb	
			60	TTTT TTTT	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	nb nb	nb nb	
Mysi norowirus - kontrola	nd		0	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 0044	0000 0040	
HAND-DESINFEKSJON	80% ¹⁾	BSA (0,3 g/l) warunki czyste	0	4444 4444	4444 4444	4444 4444	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	
			30	TTTT TTTT	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	nb nb	nb nb	
			60	TTTT TTTT	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	nb nb	nb nb	
Mysi norowirus - kontrola	nd		0	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4440 4444	0400 0000	
BSA – roztwór albuminy surowicy bydlęcej			4 – obecność wirusa 0 – brak wirusa T – toksyczny				nd – nie dotyczy nb – nie badano				
1) W trakcie procedury badania metodą standardową produkt gotowy do użycia w mieszaninie do badania ulega rozcieńczeniu do końcowego stężenia 80%.											

PUSTA STRONA

1. (18/10/2024) 01

Tabela 2. Nieopracowane dane dla produktu **HAND-DESINFEKSIJON** badanego z mysim norowirusem - test referencyjny oraz kontrola zakłóceń (badanie obecności/braku efektu cytotatycznego – quantal test; 8 dołków)

Produkt	Stężenie	Substancja obciążająca	Czas kontaktu (minuty)	Rozcieńczenia (log)								
				2	3	4	5	6	7	8		
Aldehyd Glutarowy	0,03% (v/v)	PBS	0	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4004 0444	0000 0000		
			30	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4044	nb	nb		
			60	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4004 0444	0400 0000	nb	nb		
Mysi norowirus - kontrola	nd	PBS	0	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4044	0000 0040		
			60	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4004 0044	4000 0000		
Produkt	Stężenie	Substancja obciążająca	Czas kontaktu (minuty)	Rozcieńczenia (log)								
				2	3	4	5	6	7	8	9	
Kontrola zakłóceń – produkt	10 ⁻⁴	nd	nd	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	0004 0004	0000 0000	
Kontrola zakłóceń – PBS	100%		nd	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4040 0000	0000 0000	

PBS – zbuforowany roztwór soli fizjologicznej
4 – obecność wirusa
0 – brak wirusa
nd – nie dotyczy
nb – nie badano

Tabela 3. Wygląd mieszanin do badania z produktem **HAND-DESINFEKSIJON**

Stężenie produktu	Substancja obciążająca	Metoda badania	Wygląd mieszaniny
80%	BSA (0,3g/litr) warunki czyste	standardowa	mieszanina o lekko mlecznym zabarwieniu, bez strąków i osadu

PUSTA STRONA



18. 1. 2018. 10:07:00

Tabela 4. Wyniki badania produktu **HAND-DESINFEKSIJON** z mysim norowirusem w warunkach czystych badania

Badany produkt / kontrola	Stężenie	Substancja obciążająca	log TCID ₅₀ wirusa po danym czasie kontaktu z badanym produktem:			Redukcja miana ≥ 4 log
			0 minut	30 sekund	60 sekund	
HAND-DESINFEKSIJON	80% ¹⁾	BSA (0,3 g/l)	4,50 ± 0,0	≤ 2,50 ± 0,0	≤ 2,50 ± 0,0	TAK
Mysi norowirus - kontrola	nd		7,38 ± 0,404	nb	nb	
HAND-DESINFEKSIJON	80% ¹⁾	BSA (0,3 g/l)	4,50 ± 0,0	≤ 2,50 ± 0,0	≤ 2,50 ± 0,0	TAK
Mysi norowirus - kontrola	nd		7,50 ± 0,346	nb	nb	

nb – nie badano
nd – nie dotyczy
BSA – roztwór albuminy surowicy bydlęcej

1) W trakcie procedury badania metodą standardową produkt gotowy do użycia w mieszaninie do badania ulega rozcieńczeniu do końcowego stężenia 80%.

Tabela 5. **HAND-DESINFEKSIJON** – otrzymana redukcja miana mysiego norowirusa

Warunki badania	Stężenie produktu	Czas kontaktu	Obciążenie	Redukcja miana mysiego norowirusa	
Warunki czyste	80% ¹⁾	30 sekund	BSA (0,3g/l)	I	$\geq 5,00 \pm 0,354$ log
				II	$\geq 4,88 \pm 0,412$ log
Warunki czyste	80% ¹⁾	60 sekund	BSA (0,3g/l)	I	$\geq 5,00 \pm 0,354$ log
				II	$\geq 4,88 \pm 0,412$ log

1) W trakcie procedury badania metodą standardową produkt gotowy do użycia w mieszaninie do badania ulega rozcieńczeniu do końcowego stężenia 80%.

BSA – roztwór albuminy surowicy bydlęcej

PUSTA STRONA



Handwritten text, possibly a page number or reference, located on the right edge of the page.

Tabela 6. Wyniki testu referencyjnego wykonanego z 0,03 % (v/v) aldehydem glutarowym oraz kontroli zakłóceń (kontrola zmiany wrażliwości komórek hodowli na wirusa)

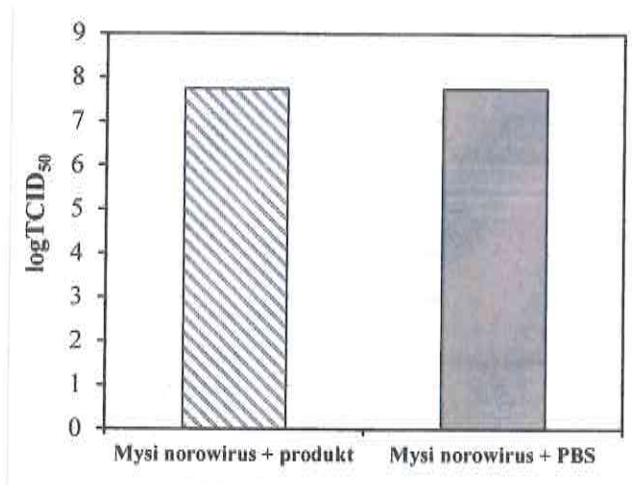
Badany produkt / kontrola	log TCID ₅₀ wirusa po określonym czasie kontaktu z badanym produktem			Redukcja miana
	0 minut	30 minut	60 minut	
Aldehyd Glutarowy (test referencyjny)	7,13 ± 0,359	6,37 ± 0,245	5,25 ± 0,434	Po 30 min: 2,01 ± 0,354 log
Mysi norowirus - kontrola (test referencyjny)	8,38 ± 0,245	nb	8,50 ± 0,0	Po 60 min: 3,13 ± 0,510 log
Kontrola zakłóceń - miano mysiego norowirusa na hodowli komórkowej inkubowanej z produktem 10⁻⁴	Kontrola zakłóceń - miano mysiego norowirusa na hodowli komórkowej inkubowanej z PBS		Redukcja miana	
log TCID ₅₀ = 7,75 ± 0,321	log TCID ₅₀ = 7,75 ± 0,321		0,0 ± 0,464 log	
nb – nie badano PBS – zbuforowany roztwór soli fizjologicznej				

PUSTA STRONA

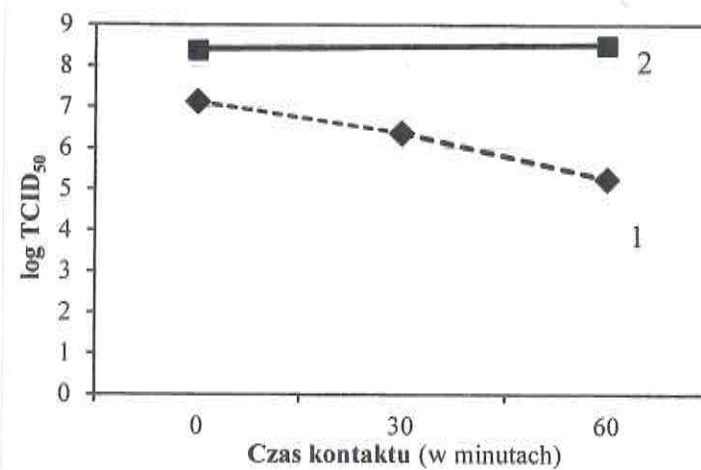


Rysunek 1. Przedstawienie graficzne otrzymanych wyników

- A. Kontrola zakłóceń** – badanie wpływu produktu **HAND-DESINFEKSIJON** na zmianę wrażliwości hodowli komórkowej RAW 264.7 na mysiego norowirusa



- B. Test referencyjny z aldehydem glutarowym**

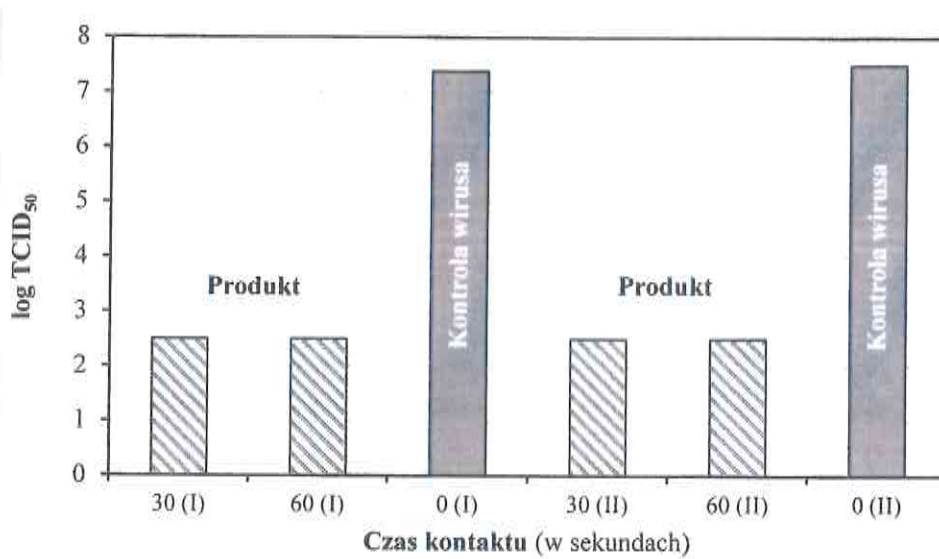


1: Aldehyd glutarowy; 2: Kontrola mysiego norowirusa

PUSTA STRONA



C. Wyniki badania produktu **HAND-DESINFEKSIJON** z mysim norowirusem w warunkach czystych – metoda standardowa



PUSTA STRONA





**NARODOWY INSTYTUT ZDROWIA PUBLICZNEGO -
PAŃSTWOWY ZAKŁAD HIGIENY**

ZAKŁAD WIRUSOLOGII

ul. Chocimska 24, 00-791 Warszawa

telefon: (22) 54-21-230; Fax: (22) 54-21-385;

e-mail: wiruspzh@pzh.gov.pl; <http://www.pzh.gov.pl>

Ocena działania wirusobójczego produktu

HAND-DESINFEKSIJON

wobec wirusa adeno typ 5

warunki czyste badania

Warszawa, 2020-07-12

PUSTA STRONA



1. Laboratorium wykonujące badanie

Zakład Wirusologii Narodowego Instytutu Zdrowia Publicznego - PZH
 ul. Chocimska 24
 00-791 Warszawa
 tel.: 22 54 21 230
 fax: 22 54 21 385
 e-mail: wiruspzh@pzh.gov.pl

2. Dane identyfikacyjne klienta zlecającego badanie oraz dane badanej próbki

Zleceniodawca badań / Wytwórca	NORENCO-POLSKA Sp.z o.o. Sidorska 102 21-500 Biała Podlaska
Nazwa produktu	HAND-DESINFEKSIJON
Numer serii	Seria próbna nr 1 z 15.06.2020
Data ważności	24 miesiące od daty produkcji
Data produkcji	15.06.2020
Warunki przechowywania	Produkt przechowywać w szczelnie zamkniętych, właściwie oznakowanych pojemnikach, w suchym, chłodnym oraz wentylowanym pomieszczeniu. Przechowywać z dala od utleniaczy i źródeł ciepła. Chronić pojemniki przed bezpośrednim działaniem promieni słonecznych.
Skład produktu lub substancja czynna	Etanol - 75g/100g Alkil (C12-C16) chlorku dimetylobenzyloamonu – 0,9g/100g Gliceryna – 0,5g/100g Woda – do 100g
Wygląd produktu	Bezbarwny płyn
Typ produktu (przeznaczenie)	Produkt do higienicznej i chirurgicznej dezynfekcji rąk oraz do dezynfekcji powierzchni.

3. Warunki doświadczenia

Okres badania	01.07.2020 – 12.07.2020
Wirus testowy	Wirus adeno typ 5
Badane stężenia	Produkt gotowy do użycia
Czasy kontaktu	30 oraz 60 sekund
Zakres badania	Działanie wirusobójcze
Temperatura badania	20 ± 1°C
Substancje obciążające	Warunki czyste badania: roztwór albuminy surowicy bydlęcej (końcowe stężenie w procedurze badania 0,3g/litr)

PUSTA STRONA



4. Materiały i metody

4.1 Wirus testowy: wirus adeno człowieka typ 5; szczep Adenoid 75, ATCC VR-5 (wirus DNA, nie posiada osłonki).

4.2 Hodowla komórkowa: linia ciągła A549 wyprowadzona z ludzkich komórek nowotworowych raka płuc.

Podłoże wzrostowe: podłoże Dulbecco (D-MEM) zawierające 10% płodowej surowicy cielęcej, L-glutaminę oraz roztwór antybiotyków penicyliny i streptomycyny.

Podłoże utrzymujące: podłoże Dulbecco (D-MEM) zawierające 2% płodowej surowicy cielęcej, L-glutaminę oraz roztwór antybiotyków penicyliny i streptomycyny.

4.3 Oznaczanie miana zakaźnego wirusa

Miano zakaźne wirusa adeno określano metodą badania obecności lub braku efektu cytopatycznego (punkt końcowy mianowania – quantal test) w zawieszynie komórek w 96-dołkowej mikropłytkce. Do ośmiu dołków w mikropłytkce dodawano 0,1 ml każdego rozcieńczenia wirusa, rozpoczynając od najwyższego rozcieńczenia. Następnie dodawano 0,1 ml zawieszyny hodowli komórkowej w takiej gęstości, aby umożliwić wytworzenie jednowarstwowego wzrostu komórek (> 90%) w hodowli komórek kontrolnych, w czasie nie dłuższym niż 2 dni. Kontrolę hodowli komórkowej stanowiły dołki w mikropłytkce do których nie dodawano zawieszyny wirusowej. Mikropłytki z zakażoną hodowlą komórkową inkubowano w temperaturze 37°C w obecności 5% CO₂ przez okres 10-12 dni. Miano zakaźne wirusa adeno obliczano wg metody Spaermana-Kärber'a.

4.4 Określenie cytotoksyczności badanego produktu – efekt cytotoksyczny

W celu sprawdzenia możliwości wystąpienia zmian morfologicznych wywołanych w komórkach A549 przez środek dezynfekcyjny **HAND-DESINFEKSIJON**, przygotowano mieszaninę kontrolną składającą się z 1 ml wody jałowej, 1 ml substancji obciążającej oraz 8 ml roztworu badanego produktu. Następnie w podłożu utrzymującym wykonano serię rozcieńczeń mieszaniny kontrolnej w stosunku dziesiętnym i dodano do zawieszyny hodowli komórkowej w mikropłytkce. Wystąpienie ewentualnych zmian w hodowli komórkowej obserwowano w mikroskopie świetlnym.

4.5 Kontrola zakłóceń – kontrola zmiany wrażliwości komórek hodowli na wirusa

Celem kontroli zakłóceń jest sprawdzenie, czy działanie roztworu produktu do badania nie wpływa negatywnie na wrażliwość komórek hodowli na zakażenie wirusem. W celu określenia ewentualnego obniżenia wrażliwości komórek A549 przeprowadzono porównawcze mianowanie wirusa adeno na hodowli komórkowej, która miała lub nie kontakt z środkiem dezynfekcyjnym **HAND-DESINFEKSIJON**. Do każdego dołka mikropłytki z hodowlą komórkową dodawano 0,1 ml najniższego, nietoksycznego rozcieńczenia środka dezynfekcyjnego (10⁻⁴) lub w przypadku mikropłytki kontrolnej PBS, a następnie inkubowano 1h w 37°C, usuwano płyn z nad hodowli i równolegle na komórkach, które były lub nie były poddane działaniu środka dezynfekcyjnego mianowano wirusa adeno metodą badania obecności/braku efektu cytopatycznego zgodnie z punktem 4.3.

PUSTA STRONA



4.6 Określenie zdolności produktu **HAND-DESINFEKSJON** do inaktywacji wirusa adeno typ 5

Zasada badania: określenie zdolności produktu do inaktywacji wirusa adeno na podstawie redukcji miana zakaźnego. Jako kryterium wirusobójczego działania badanego produktu wobec wirusa adeno przyjęto redukcję miana zakaźnego wirusa o co najmniej 4 w dziesiętnej skali logarytmicznej (log) – różnica pomiędzy mianem zakaźnym wirusa w mieszaninie kontrolnej a mianem zakaźnym wirusa w mieszaninie zawierającej określone stężenie badanego produktu.

Zdolność produktu **HAND-DESINFEKSJON** do inaktywacji wirusa adeno określono w warunkach czystych badania metodą standardową

stężenie badanego produktu	80%
czas kontaktu	30 oraz 60 sekund
temperatura badania	20 ± 1°C
substancja obciążająca	roztwór albuminy surowicy bydlęcej (końcowe stężenie - 0,3g/litr)

Mieszanina do badania w metodzie standardowej w warunkach czystych badania zawierała:

- 1 ml zawiesiny wirusa adeno typ 5;
- 1 ml substancji obciążającej (roztwór albuminy surowicy bydlęcej - końcowe stężenie 0,3g/litr);
- 8 ml badanego produktu **HAND-DESINFEKSJON** (końcowe stężenie produktu w mieszaninie do badania wynosiło 80%).

Mieszaninę do badania inkubowano w wymienionych wyżej warunkach. Po upływie wybranego czasu kontaktu wykonywano serię rozcieńczeń w szeregu dziesiętnym w oziębionym na lodzie podłożu utrzymującym (D-MEM + 2% płodowej surowicy cielęcej), a następnie oznaczono miano zakaźne wirusa adeno metodą badania obecności/braku efektu cytopatycznego zgodnie z pkt. 4.3.

4.7 Oznaczenie miana zakaźnego zawiesiny kontrolnej wirusa - mianowanie kontroli wirusa adeno

Zakaźność zawiesiny wirusa adeno określono w warunkach badania w czasie kontaktu 0 minut, równoległe z badaniem produktu **HAND-DESINFEKSJON**. Roztwór produktu do badania w mieszaninie kontrolnej zastąpiono wodą jałową.

Mieszanina kontrolna w metodzie standardowej w warunkach czystych badania zawierała:

- 1 ml zawiesiny wirusa adeno typ 5;
- 1 ml substancji obciążającej (roztwór albuminy surowicy bydlęcej - końcowe stężenie 0,3g/litr);
- 8 ml wody jałowej.

Po upływie czasu kontaktu w oziębionym na lodzie podłożu utrzymującym (D-MEM + 2% płodowej surowicy cielęcej) wykonywano serię rozcieńczeń w szeregu dziesiętnym, a następnie oznaczono miano zakaźne wirusa adeno metodą badania obecności/braku efektu cytopatycznego zgodnie z punktem 4.3.

PUSTA STRONA



4.8 Badanie referencyjne inaktywacji wirusa

W celu kontroli prawidłowego działania systemu badania wykonano badanie referencyjne inaktywacji wirusa adeno z 0,004% aldehydem glutarowym – oznaczenie działania wirusobójczego aldehydu glutarowego wobec wirusa adeno. W tym celu 2 ml zawiesiny wirusa adeno typ 5 zmieszano z 8 ml PBS (buforowany roztwór soli fizjologicznej) oraz 10 ml 0,008% aldehydu glutarowego i inkubowano przez określone czasy kontaktu. Czasy kontaktu aldehydu glutarowego z zawiesiną wirusa adeno wynosiły 30 i 60 minut. Po upływie określonego czasu kontaktu 0,2 ml badanej mieszaniny aldehydu glutarowego i wirusa adeno przenoszono do 1,8 ml oziębionego na lodzie podłoża (D-MEM + 2% płodowej surowicy cielęcej) i wykonywano serię rozcieńczeń w szeregu dziesiętnym, a następnie oznaczano miano zakaźne wirusa adeno metodą badania obecności/braku efektu cytopatycznego - zgodnie z punktem 4.3.

Jednocześnie wykonywano badanie kontrolne – określono miano zakaźne zawiesiny wirusa adeno w warunkach badania, w czasie kontaktu 0 i 60 minut. Roztwór aldehydu glutarowego w mieszaninie kontrolnej zastąpiono wodą sterylną. Mieszanina kontrolna zawierała: 1 ml zawiesiny wirusa adeno, 4 ml PBS oraz 5 ml sterylnej wody. Po upływie określonego czasu kontaktu 0,2 ml badanej mieszaniny kontrolnej przenoszono do 1,8 ml oziębionego na lodzie podłoża (D-MEM + 2% płodowej surowicy cielęcej) i wykonywano serię rozcieńczeń w szeregu dziesiętnym, a następnie oznaczano miano zakaźne wirusa adeno metodą badania obecności/braku efektu cytopatycznego - zgodnie z punktem 4.3.

5. Weryfikacja metodyki – walidacja wyników badania

Podczas badania spełnione zostały następujące kryteria:

- a) Miano zakaźne zawiesiny wirusa adeno do badania było wystarczająco wysokie, aby pozwolić na określenie redukcji miana o 4 w dziesiętnej skali logarytmicznej (log).
- b) Obserwacja w mikroskopie świetłym zmian morfologicznych hodowli komórkowej A549 poddanej działaniu różnych rozcieńczeń środka dezynfekcyjnego **HAND-DESINFEKSIJON** wykazała, że badany produkt jest wysoce toksyczny dla hodowli komórkowej (do rozcieńczenia 10^{-3}). Mieszaniny do badania po zakończeniu czasu kontaktu dwa razy odtoksyczniano za pomocą kolumniek do odtoksyczniania MicroSpin S-4010 HR firmy GE HEALTHCARE.
- c) Porównawcze określenie miana zakaźnego wirusa adeno na hodowli komórkowej A549, która była lub nie była poddana działaniu środka dezynfekcyjnego **HAND-DESINFEKSIJON** (rozcieńczenie 10^{-4}) wykazało brak znaczących różnic w mianie wirusa adeno (różnica była mniejsza niż 1 log i wynosiła $0,13 \pm 0,491$ log).
- d) Różnica miana kontroli wirusa adeno oraz miana wirusa adeno w badaniu referencyjnym inaktywacji wirusa z 0,004% aldehydem glutarowym wynosiła $3,13 \pm 0,412$ log po 30 minutach oraz $5,00 \pm 0,354$ log po 60 minutach.

PUSTA STRONA



- e) W warunkach czystych badania redukcja miana wirusa adeno typ 5 w metodzie standardowej wynosiła:

po czasie kontaktu 30 sekund:

– $\geq 4,25 \pm 0,328 \log$ (I badanie)

– $\geq 4,38 \pm 0,366 \log$ (II badanie)

po czasie kontaktu 60 sekund:

– $\geq 4,25 \pm 0,328 \log$ (I badanie)

– $\geq 4,38 \pm 0,366 \log$ (II badanie)

6. Wyniki badania produktu – środka dezynfekcyjnego HAND-DESINFEKSJON – inaktywacja wirusa adeno typ 5 w warunkach czystych badania

Badanie środka dezynfekcyjnego **HAND-DESINFEKSJON** z wirusem adeno typ 5 przeprowadzono wykorzystując ilościową metodą zawiesinową zgodną z normą PN-EN 14476:2013+A2:2019-08 – „Chemiczne środki dezynfekcyjne i antyseptyczne - Ilościowa zawiesinowa metoda określania wirusobójczego działania w obszarze medycznym - Metoda badania i wymagania (faza 2, etap 1)”. Badanie wykonano w warunkach czystych badania według wytycznych w/w normy dla produktów przeznaczonych do higienicznej dezynfekcji rąk metodą wcierania i higienicznego mycia rąk oraz do dezynfekcji powierzchni. Końcowe stężenie badanego środka dezynfekcyjnego **HAND-DESINFEKSJON** w procedurze badania wynosiło 80% (metoda standardowa).

Miano wirusa adeno określano metodą badania obecności / braku efektu cytopatycznego w hodowli komórkowej. Jako kryterium wirusobójczego działania badanego produktu przyjęto redukcję miana zakaźnego wirusa o co najmniej 4 w dziesiętnej skali logarytmicznej (log) - różnica pomiędzy mianem zakaźnym wirusa w mieszaninie kontrolnej a mianem zakaźnym wirusa w mieszaninie zawierającej określone stężenie badanego produktu oraz substancje obciążającą, inkubowanej przez określony czas kontaktu.

W warunkach czystych badania redukcja miana wirusa adeno w metodzie standardowej wynosiła:

po czasie kontaktu 30 sekund:

– $\geq 4,25 \pm 0,328 \log$ (I badanie)

– $\geq 4,38 \pm 0,366 \log$ (II badanie)

po czasie kontaktu 60 sekund:

– $\geq 4,25 \pm 0,328 \log$ (I badanie)

– $\geq 4,38 \pm 0,366 \log$ (II badanie)

PUSTA STRONA



Otrzymane wyniki wskazują, że

- w warunkach czystych badania środek dezynfekcyjny **HAND-DESINFEKSIJON**, jako produkt gotowy do użycia, inaktywował wirusa adeno, po 30 sekundowym oraz 60 sekundowym czasie kontaktu.

Wyniki badania są przedstawione w tabelach 1 - 6 oraz na rysunku 1.

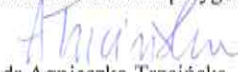
7. Wniosek

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że badany środek dezynfekcyjny **HAND-DESINFEKSIJON**, jako produkt gotowy do użycia inaktywuje wirusa adeno typ 5, po czasie kontaktu 30 oraz 60 sekund, w warunkach czystych badania (badanie wykonano zgodnie z wytycznymi normy PN-EN 14476:2013+A2:2019-08 dotyczącej obszaru medycznego).

Warszawa, 12 lipca 2020 rok

NARODOWY INSTYTUT ZDROWIA PUBLICZNEGO
- PAŃSTWOWY ZAKŁAD HIGIENY
Zakład Wirusologii
00-791 Warszawa, ul. Chocimska 24
tel. 022 54 21 230

Sprawozdanie z badań przygotował:


dr Agnieszka Trzcicka
Zakład Wirusologii NIZP-PZH

PUSTA STRONA



Tabela 1. Nieopracowane dane dla produktu **HAND-DESINFEKSIJON** badanego z wirusem adeno typ 5 (badanie obecności/braku efektu cytopatycznego – quantal test; 8 dołków)

Produkt	Stężenie	Substancja obciążająca	Czas kontaktu (sekundy)	Rozcieńczenia (log)							
				2	3	4	5	6	7	8	
HAND-DESINFEKSIJON	80% ¹⁾	BSA (0,3 g/l) warunki czyste	0	4444 4444	4444 4444	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	
			30	TTTT TTTT	TTTT TTTT	0000 0000	0000 0000	0000 0000	nb	nb	
			60	TTTT TTTT	TTTT TTTT	0000 0000	0000 0000	0000 0000	nb	nb	
Wirus adeno - kontrola	nd		0	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4000 0400	
HAND-DESINFEKSIJON	80% ¹⁾	BSA (0,3 g/l) warunki czyste	0	4444 4444	4444 4444	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	
			30	TTTT TTTT	TTTT TTTT	0000 0000	0000 0000	0000 0000	nb	nb	
			60	TTTT TTTT	TTTT TTTT	0000 0000	0000 0000	0000 0000	nb	nb	
Wirus adeno - kontrola	nd		0	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	0440 0040	
BSA – roztwór albuminy surowicy bydlęcej			4 – obecność wirusa 0 – brak wirusa T – toksyczny				nd – nie dotyczy nb – nie badano				
1) W trakcie procedury badania metodą standardową produkt gotowy do użycia w mieszaninie do badania ulega rozcieńczeniu do końcowego stężenia 80%.											

PUSTA STRONA



Tabela 2. Nieopracowane dane dla produktu **HAND-DESINFEKSIJON** badanego z wirusem adeno typ 5 - test referencyjny oraz kontrola zakłóceń (badanie obecności/braku efektu cytopatycznego – quantal test; 8 dołków)

Produkt	Stężenie	Substancja obciążająca	Czas kontaktu (minuty)	Rozcieńczenia (log)								
				2	3	4	5	6	7	8		
Aldehyd Glutarowy	0,004% (v/v)	PBS	0	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4044	0004 4044	
			30	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4404 0444	0000 0400	nb	nb		
			60	4444 4444	4440 4444	0000 4000	0000 0000	0000 0000	nb	nb		
Wirus adeno - kontrola	nd	PBS	0	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444		
			60	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444		
Produkt	Stężenie	Substancja obciążająca	Czas kontaktu (minuty)	Rozcieńczenia (log)								
				2	3	4	5	6	7	8	9	
Kontrola zakłóceń – produkt	10 ⁻⁴	nd	nd	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	0400 0404	0000 0000	
Kontrola zakłóceń – PBS	100%		nd	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	0444 4444	4444 4444	0000 4040	0000 0000	

PBS – zbuforowany roztwór soli fizjologicznej
 4 – obecność wirusa
 0 – brak wirusa
 nd – nie dotyczy
 nb – nie badano

Tabela 3. Wygląd mieszanin do badania z produktem **HAND-DESINFEKSIJON**

Stężenie produktu	Substancja obciążająca	Metoda badania	Wygląd mieszaniny
80%	BSA (0,3g/litr) warunki czyste	standardowa	lekko mleczny kolor, brak strąków i osadu

PUSTA STRONA



Tabela 4. Wyniki badania produktu **HAND-DESINFEKSJON** z wirusem adeno typ 5 w warunkach czystych badania

Badany produkt / kontrola	Stężenie	Substancja obciążająca	log TCID ₅₀ wirusa po danym czasie kontaktu z badanym produktem:			Redukcja miana ≥ 4 log
			0 minut	30 sekund	60 sekund	
HAND-DESINFEKSJON	80% ¹⁾	BSA (0,3 g/l)	3,50 ± 0,0	≤ 3,50 ± 0,0	≤ 3,50 ± 0,0	TAK
Wirus adeno - kontrola	nd		7,75 ± 0,321	nb	nb	
HAND-DESINFEKSJON	80% ¹⁾	BSA (0,3 g/l)	3,50 ± 0,0	≤ 3,50 ± 0,0	≤ 3,50 ± 0,0	TAK
Wirus adeno - kontrola	nd		7,88 ± 0,359	nb	nb	

nb – nie badano
nd – nie dotyczy
BSA – roztwór albuminy surowicy bydlęcej

1) W trakcie procedury badania metodą standardową produkt gotowy do użycia w mieszaninie do badania ulega rozcieńczeniu do końcowego stężenia 80%.

Tabela 5. **HAND-DESINFEKSJON** – otrzymana redukcja miana wirusa adeno typ 5

Warunki badania	Stężenie produktu	Czas kontaktu	Obciążenie	Redukcja miana wirusa adeno	
				I	II
Warunki czyste	80% ¹⁾	30 sekund	BSA (0,3g/l)	I	≥ 4,25 ± 0,328 log
				II	≥ 4,38 ± 0,366 log
Warunki czyste	80% ¹⁾	60 sekund	BSA (0,3g/l)	I	≥ 4,25 ± 0,328 log
				II	≥ 4,38 ± 0,366 log

1) W trakcie procedury badania metodą standardową produkt gotowy do użycia w mieszaninie do badania ulega rozcieńczeniu do końcowego stężenia 80%.

BSA – roztwór albuminy surowicy bydlęcej

PUSTA STRONA



Tabela 6. Wyniki testu referencyjnego wykonanego z 0,004 % (v/v) aldehydem glutarowym oraz kontroli zakłóceń (kontrola zmiany wrażliwości komórek hodowli na wirusa)

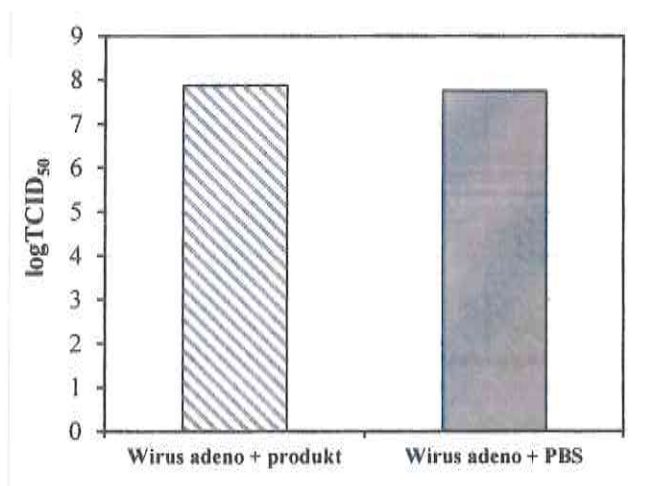
Badany produkt / kontrola	log TCID ₅₀ wirusa po określonym czasie kontaktu z badanym produktem			Redukcja miana
	0 minut	30 minut	60 minut	
Aldehyd Glutarowy (test referencyjny)	8,00 ± 0,370	5,37 ± 0,404	3,50 ± 0,346	Po 30 min: 3,13 ± 0,412 log
Wirus adeno - kontrola (test referencyjny)	8,50 ± 0,0	nb	8,50 ± 0,0	Po 60 min: 5,00 ± 0,354 log
Kontrola zakłóceń - miano wirusa polio na hodowli komórkowej inkubowanej z produktem 10 ⁻⁴	Kontrola zakłóceń - miano wirusa polio na hodowli komórkowej inkubowanej z PBS		Redukcja miana	
log TCID ₅₀ = 7,88 ± 0,359	log TCID ₅₀ = 7,75 ± 0,321		0,13 ± 0,491 log	
nb – nie badano PBS – zbuforowany roztwór soli fizjologicznej				

PUSTA STRONA

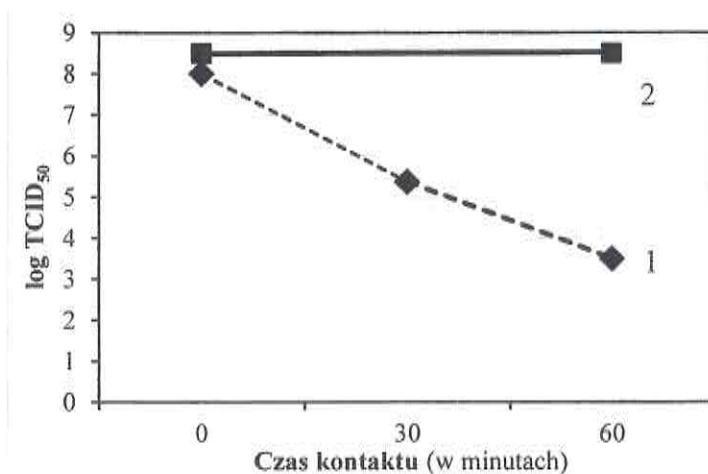


Rysunek 1. Przedstawienie graficzne otrzymanych wyników

- A. Kontrola zakłóceń** – badanie wpływu produktu **HAND-DESINFEKSIJON** na zmianę wrażliwości hodowli komórkowej A549 na wirusa adeno typ 5



- B. Test referencyjny z aldehydem glutarowym**

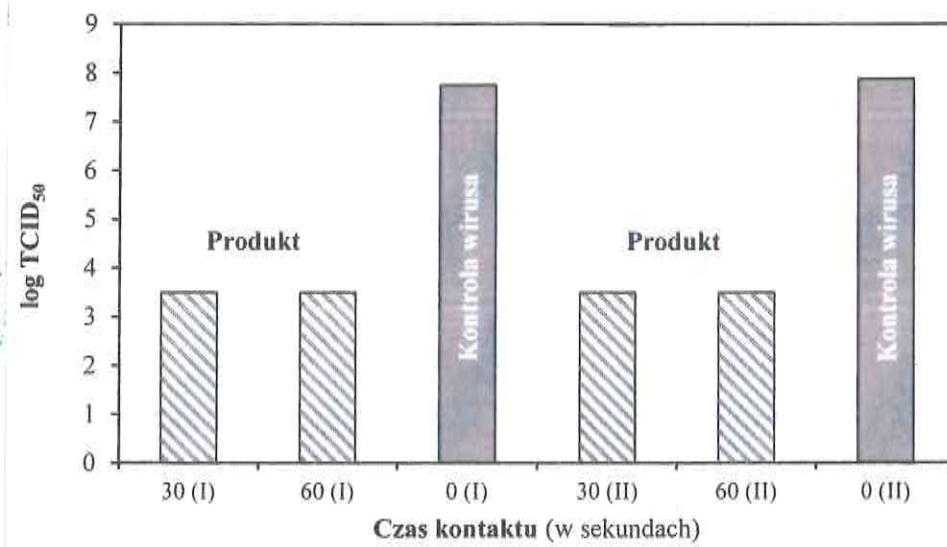


1: Aldehyd glutarowy; 2: Kontrola wirusa adeno

PUSTA STRONA



C. Wyniki badania produktu **HAND-DESINFEKSIJON** z wirusem adeno typ 5 w warunkach czystych – metoda standardowa



PUSTA STRONA





KNUPLERZ&KNUPLERZ NOTARIUSZE SPÓŁKA PARTNERSKA

31-559 Kraków, ul. Grzegórzecka 105/1 | tel.: +48 12 421-95-74, mobile: +48 501-142-542 | e-mail: rejent@knuplerz.pl, web: www.knuplerz.pl

Rep. A nr 30141/2020.

POŚWIADCZAM ZGODNOŚĆ TEJ KSEROKOPII Z OKAZANYM DOKUMENTEM.

Pobrano:

1) tytułem wynagrodzenia notarialnego na podstawie rozp. Min. Spraw. z dnia 28 czerwca 2004 roku (Dz. U. z 2013 r., poz. 237) kwotę: 252 zł,

2) podatek od towarów i usług w stawce 23%, na podstawie art. 41 ust. 1 ustawy z dnia 11 marca 2004 roku (Dz. U. z 2011 r. nr 177, poz. 1054 ze zm.) w kwocie: 57,96 zł.

Ogółem pobrano: 309,96 zł (trzysta dziewięć złotych dziewięćdziesiąt sześć groszy).

Kraków, dnia 28 października 2020 roku.

