

DR. JOCHEN STEINMANN
Wiss. techn. Leiter der
MikroLab GmbH

Norderoog 2
D-28259 Bremen

phone: +49 (421) 27819102
fax: +49 (421) 2760283
<http://www.mikrolab-gmbh.de>
E-Mail: MikroLab.GmbH@t-online.de

MikroLab GmbH, Norderoog 2, D-28259 Bremen

2007-06-26
Dr. St/NM

B. Braun Medical AG
Seesatz

CH-6204 Sempach

Vaccinia virus efficacy of Meliseptol Foam (pure) in a quantitative suspension test at 20°C

EXPERT OPINION

This expert opinion is based on the test report B07ML458V 2nd version of 21/06/2007.

The virus-inactivating properties of the surface disinfectant Meliseptol Foam (pure) of B. Braun Medical AG against vaccinia virus strain Elstree were investigated by a quantitative suspension test according to the guideline of the Deutsche Vereinigung zur Bekämpfung der Viruskrankheiten e.V. (German Association for the Control of Virus Diseases) and the Robert Koch-Institute (RKI) with an additional soil load (dirty conditions) according EN 14476:2005. According to this suspension test, a disinfectant or a disinfectant solution at a particular concentration is considered as having virus-inactivating properties if within the recommended exposure period the titre is reduced by $\geq 4 \log_{10}$ (inactivation $\geq 99.99 \%$).

Meliseptol Foam (pure) was examined undiluted at 20°C. 1, 2, 3 and 5 minutes were chosen as exposure times. After an exposure time of 1 min virus reduction exceeded 4 \log_{10} -steps in all assays. Therefore, a virucidal activity was measured as follows:

undiluted 1 min.


Dr. J. Steinmann

DR. JOCHEN STEINMANN
Wiss. techn. Leiter der
MikroLab GmbH

Norderoog 2
D-28259 Bremen

Tel.: +49 (421) 27819102
Fax: +49 (421) 2760283
<http://www.mikrolab-gmbh.de>
E-Mail: MikroLab.GmbH@t-online.de

MikroLab GmbH, Norderoog 2, D-28259 Bremen

26.06.2007
Dr. St/NM

B. Braun Medical AG
Seesatz

CH-6204 Sempach

Vakziniavirus-Wirksamkeit von Meliseptol Foam (pure) im quantitativen Suspensionsversuch bei 20°C

GUTACHTEN

Dieses Gutachten basiert auf dem Prüfbericht B07ML458V vom 21.06.2007 2. Version.

Das Flächendesinfektionsmittel Meliseptol Foam (pure) der B. Braun Medical AG wurde gemäß Auftrag auf seine virusinaktivierenden Eigenschaften gegenüber dem Vakziniavirus Stamm Elstree nach der Leitlinie der Deutschen Vereinigung zur Bekämpfung der Viruskrankheiten e.V. (DVV) und des Robert Koch-Instituts (RKI) und zusätzlich mit hoher Belastung nach der EN 14476:2005 untersucht.

In der Leitlinie der DVV und des RKI wird dann von einer Virus-Wirksamkeit eines Desinfektionsmittels ausgegangen, wenn nach einer bestimmten Einwirkzeit eine Reduktion des initialen Virustiters um $\geq 4 \log_{10}$ -Stufen (Inaktivierung $\geq 99,99 \%$) erfolgt ist.

Das Flächendesinfektionsmittel Meliseptol Foam (pure) wurde unverdünnt bei 20°C untersucht. Die Einwirkzeiten betrugen 1, 2, 3 und 5 Minuten. Nach einer Minute war eine Reduktion des Virustiters in allen Ansätzen um \geq vier \log_{10} -Stufen nachweisbar. Somit ergibt sich eine Wirksamkeit wie folgt:

unverdünnt 1 Minute


Dr. J. Steinmann

Prüfbericht B07ML458V 2. Version
für

B. Braun Medical AG
Seesatz
CH-6204 Sempach

**Untersuchungen
zur Wirksamkeit von
Schnelldesinfektion 01/02/02 - 135**

gegenüber dem

Vakziniavirus Stamm Elstree

im
quantitativen Suspensionsversuch

Testmethode nach der Leitlinie der DVV und des RKI
(in der Fassung vom 15. Juni 2005)

Dr. Jochen Steinmann
MikroLab GmbH
Norderoog 2
D-28259 Bremen

Phone: +49 (0) 421-27819102
Fax: +49 (0) 421-2760283
E-mail: Mikrolab.GmbH@t-online.de
<http://www.mikrolab-gmbh.de>

21.06.2007



1. Laboratorium

MikroLab GmbH, Norderoog 2, D-28259 Bremen

2. Identifizierung der Probe (Prüfgegenstand)

Auftraggeber	B. Braun Medical AG
Produktbezeichnung	Schnelldesinfektionsmittel 01/02/02 - 135
Anwendungsbereich	Flächendesinfektion
Chargennummer	01/02/02 - 135
Herstellungsdatum	05.04.2007
Verfall	-
Aktive Substanz(en) und ihre Konzentration(en) in 100 mL	17,0 % Propan-1-ol 0,23 % Didecyldimethylammoniumchlorid
Aussehen und Geruch	klare, farblose Flüssigkeit alkoholisch
pH-Wert(e) (Glaselektrode)	unverdünnt: 5,37 (20°C) 10,0 %: 8,18 (20°C)
Lagerbedingungen	Raumtemperatur, dunkel (Aufbewahrungsbereich nicht frei zugänglich)
Lieferdatum	12.04.2007

3. Material

3.1 Medium und Reagenzien

- Eagle's Minimum Essential Medium mit Earle's BSS (EMEM, Cambrex Bio Science Verviers s.p.r.l., Katalog Nr. 12-125F)
- Fötale Kälberserum (Biochrom AG, Artikel Nr. S 0115)
- Formaldehydlösung (Riedel-de-Häen, Artikel Nr. 33220)
- Aqua bidest. (Fresenius Kabi Deutschland, Artikel Nr. P2N 1636071)
- PBS (Invitrogen, Artikel Nr. 18912-014)

3.2 Virus und Zellen

Das Vakziniavirus Stamm Elstree stammte vom Institut für Medizinische Virologie und Immunologie der Universität Essen. Vor den Inaktivierungsversuchen wurde das Virus zehnmal in *GMK AH-1 Zellen* (Green Monkey Kidney, permanente Affennieren-Zelllinie),



dreimal in *HeLa-Zellen* (menschliches Zervix-Karzinom) und fünfmal in *Vero-Zellen* (permanente Affennieren-Zelllinie) passagiert.

Die *Vero-Zellen* (Passage 45) stammten von der Firma Vircell, S.L. aus Spanien, 18320 Santa Fe (jetzt BIOTRIN International GmbH, 69126 Heidelberg). Die Zellen wurden in regelmäßigen Abständen auf morphologische Veränderungen und auf Kontaminationen mit Mykoplasmen untersucht. Morphologische Veränderungen und Mykoplasmen konnten dabei wiederholt nicht nachgewiesen werden.

3.3 Geräte

- Brutschrank (CO₂-Inkubator, Nunc GmbH & Co. KG, Modell QWJ 350)
- Vortex Mischer (Genie Mischer, Typ G 560E)
- pH-Meter 315i (WTW, Artikel Nr. 2A10-100)
- Tischzentrifuge (Sigma-Aldrich-Chemie GmbH, Typ 113)
- Umkehrmikroskop (Olympus, Typ CK 30)
- Zentrifuge 5804 R (Eppendorf AG)
- Wasserbad (JULABO, Julabo U 3)

4. Prüfbedingungen

Prüftemperatur	20°C ± 0,5°C
Prüfkonzentrationen	80,0 % und 10,0 %
Einwirkzeiten	1, 2, 3 und 5 Minuten
Eiweißbelastung	10,0 % fötales Kälberserum (DVV/RKI) hohe Belastung (EN 14476:2005)
Aufhebung der Desinfektionsmittelwirkung	unmittelbare Verdünnung
Verdünnungsmittel	WSH (für die 10,0 %ige Lösung)
Virusstamm	Vakziniavirus Stamm Elstree
Zeitraum der Prüfung	12.04.2007 – 21.06.2007
Abschluss der Prüfung	21.06.2007



5. Methoden

5.1 Herstellung der Virussuspension

Für die Herstellung der Virussuspension wurden *Vero-Zellen*, die mit Eagle's Minimum Essential Medium und 10 % bzw. 2 % fötalem Kälberserum kultiviert worden sind, in 175 cm² Zellkulturflaschen (Nunc GmbH & Co. KG, Artikel Nr. 156502) mit dem Vakziniavirus beimpft. Nach Ausbildung des zytopathogenen Effektes (CPE) (nach ca. 2 Tagen) folgte die Virusernte durch insgesamt drei Einfrier-/Auftauvorgängen und einer Behandlung der Suspension für dreimal 30 sec mit Ultraschall (40 % Leistung). Um den Zelldebris zu entfernen, ist eine weitere Zentrifugation bei 3000 UpM und 4°C für zehn Minuten durchgeführt worden. Der Überstand wurde schließlich als Virussuspension gewonnen, aliquotiert und bei -80°C aufbewahrt.

5.2 Herstellung der Desinfektionsmittel-Verdünnung

Das Prüfpräparat ist unverdünnt eingesetzt worden. Bedingt durch die Zugabe von Virussuspension und der Belastungssubstanzen (FKS und hohe Belastung nach EN 14476:2005) resultierte eine 80,0 %ige Prüfkonzentration.

Ferner wurde das zu prüfende Desinfektionsmittel mit Wasser standardisierter Härte verdünnt, um den unwirksamen Bereich (10,0 %) darzustellen.

5.3 Inaktivierungsversuche und Kontrollansätze

Die Inaktivierungsversuche sind entsprechend der Leitlinie der DVV und des RKI durchgeführt worden (1). Acht Volumenanteile des Desinfektionsmittels wurden mit einem Volumenanteil Virussuspension und einem Volumenanteil Aqua bidest. vermischt. Bei den Versuchen mit Eiweißbelastung wurde anstelle von Aqua bidest. ein Volumenanteil fötales Kälberserum (FKS) zugegeben.

Zusätzlich ist das Desinfektionsmittel mit hoher Belastung geprüft worden, die in der europäischen Norm (EN 14476:2005) der Viruzidie-Prüfung in Europa beschrieben ist (2). Dort wird anstelle von Aqua bidest. eine Lösung zugesetzt, die 3,0 g BSA und 3 mL gewaschene, gepackte Schaferythrozyten pro 100 Milliliter enthält (Konzentration im Testansatz 3,0 g/L BSA + 3 mL/L gewaschene Schaferythrozyten). Die Herstellung dieser Lösung erfolgte nach 5.2.3.3 der europäischen Norm (2).

Bedingt durch eine vereinfachte Handhabung und die in geringer Menge zur Verfügung stehende hochtitrige Virussuspension belief sich das Endvolumen auf 1 mL.



Für die Bestimmung des initialen Virustiters im Inaktivierungsversuch wurden Kontrollansätze (Viruskontrollen) nach der längsten der geprüften Einwirkzeit mitgeführt. Ein Volumenanteil der Virussuspension ist mit neun Volumenanteilen Aqua bidest. bzw. mit einem Volumenanteil fötalem Kälberserum und acht Volumenanteilen Aqua bidest. gemischt worden.

Ein weiterer Kontrollansatz des Prüfsystems bestand aus einem Volumenanteil Virussuspension, vier Volumenanteilen PBS (0,1 M, pH-Wert 7,0) und fünf Volumenanteilen einer 1,4 %igen (w/v) Formaldehyd-Lösung. Die Einwirkzeiten für diese Kontrolle betrugen 5, 15, 30 und 60 Minuten.

Für die Bestimmung der Zytotoxizität des Desinfektionsmittels wurden zwei Volumenanteile Aqua bidest. mit acht Volumenanteilen des Desinfektionsmittels bzw. der Desinfektionsmittelverdünnung gemischt und nach serieller Verdünnung in Zehnerschritten in die Mikrotiterplatte überführt. Diese Versuche sind auch unter der Belastung (FKS) durchgeführt worden.

Für die Kontrolle der Zellsuszeptibilität (Interferenzkontrolle) wurden zwei Volumenanteile Aqua bidest. bzw. ein Volumenanteil fötales Kälberserum und ein Volumenanteil Aqua bidest. mit acht Volumenanteilen des Desinfektionsmittels in der Verdünnung, die keine Zytotoxizität zeigte, vermischt. Diese Mischungen wurden jeweils für eine Stunde zu den permissiven Zellen gegeben. Anschließend wurde die Desinfektionsmittellösung wieder von den Zellen entfernt und eine vergleichende Titration der Virussuspension auf den derart vorbehandelten Zellen einschließlich einer PBS -Kontrolle vorgenommen.

Alle Versuchsansätze wurden in geschlossenen Plastikröhrchen (Sarstedt AG & Co., Artikel Nr. 55.468.001) in einem Wasserbad bei $20^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ durchgeführt. Nach den einzelnen Einwirkzeiten wurden Teilmengen entnommen, und die Restinfektiosität der Ansätze ist bestimmt worden.

Die Inaktivierungsansätze sind in zwei vollständig unabhängigen Versuchen an unterschiedlichen Versuchstagen durchgeführt worden.

Eine Nachwirkungskontrolle, wie sie in der Leitlinie der DVV und des RKI beschrieben ist, wurde nicht mitgeführt, da die einzelnen Verdünnungsreihen sofort nach Ablauf der Einwirkzeiten durchgeführt wurden.

Zusätzlich zu den bereits beschriebenen Kontrollen wurde eine Zellkontrolle mitgeführt, in der die Zellen entsprechend der Versuchsansätze nur mit Zellkulturmedium versehen worden sind.



5.4 Bestimmung der Infektiosität

Die Bestimmung der Infektiosität erfolgte mit Hilfe der Endpunkttitration im Mikrotiter-Verfahren. Dabei wurden die Proben nach ihrer Entnahme zunächst in eiskaltem Medium mit dem Faktor 10 verdünnt. Anschließend wurden jeweils 100 µL der einzelnen Verdünnungen in acht Kavitäten einer sterilen 96-well Mikrotiterplatte (Nunc GmbH & Co. KG, Artikel Nr. 149026) mit vorab vorgelegten *Vero-Zellen* überführt (pro Kavität ca. $10\text{-}15 \times 10^3$ Zellen) und die Platten bei 37°C im CO₂-Brutschrank (5 % CO₂-Gehalt) inkubiert. Nach 10 Tagen erfolgte die Auswertung der Ansätze über die Beurteilung des virusspezifischen CPE in den einzelnen Kavitäten der Mikrotiterplatte mit einem inversen Mikroskop. Die Berechnung des Virustiters als mittlere infektiöse Dosis (TCID₅₀) wurde nach der Methode von Spearman (3) und Kärber (4) mit folgender Formel vorgenommen:

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

Dabei ist:

X_0 = log₁₀ der niedrigsten Verdünnung mit 100 % positiven Reaktionen

r = Anzahl der positiven Bestimmungen der niedrigsten Verdünnungsstufe mit 100 % positiver und aller höheren positiven Verdünnungsstufen

n = Anzahl der Bestimmungen pro Verdünnungsstufe.

5.5 Berechnung und Bewertung der virusinaktivierenden Wirksamkeit

Die Beurteilung der virusinaktivierenden Wirksamkeit des zu prüfenden Desinfektionsmittels erfolgte durch Berechnung des Titerabfalls (Subtraktion) gegenüber der jeweils parallel durchgeführten Kontrolltitration ohne Desinfektionsmittel (Viruskontrollprobe). Die Differenz wurde als Reduktionsfaktor (RF) mit dem 95 % Konfidenzintervall angegeben.

Nach der Leitlinie der DVV und des RKI kann immer dann von einer Virus-Wirksamkeit ausgegangen werden, wenn eine Titerreduktion von $\geq 4 \log_{10}$ -Stufen (Inaktivierung $\geq 99,99$ %) darstellbar ist.

6. Ergebnisse

6.1 Bestimmung der Zytotoxizität

Parallel zu den Inaktivierungsversuchen wurde die Zytotoxizität von Schnelldesinfektionsmittel 01/02/02 - 135 (80,0 % und 10,0 %) und der 0,7 %igen Formaldehyd-Lösung ermittelt.



Die als Kontrolle mitgeführte Formaldehyd-Lösung wirkte toxisch auf die eingesetzten Vero-Zellen bei der Anwendung einer 1:100- Verdünnung. Dies bedeutet rechnerisch einen $\log_{10}CD_{50}/mL$ -Wert (in Analogie zum $TCID_{50}$ -Wert) von 3,50 (siehe Tabelle 1).

Bei der Überprüfung von Schnelldesinfektionsmittel 01/02/02 - 135 (80,0 %) ergab sich eine $\log_{10}CD_{50}/mL$ von 3,50. Damit ist in der 1:100-Verdünnung eine Zytotoxizität nachgewiesen worden (Tabelle 1). Die 10,0 %ige Lösung zeigte eine Zytotoxizität in der 1:10-Verdünnung.

Diese Versuche zur Feststellung der Zytotoxizität sind unbedingt erforderlich, um die untere Nachweisbarkeitsschwelle für nicht inaktiviertes Vakziniavirus zu determinieren.

6.2 Kontrolle der Zellsuszeptibilität (Interferenzkontrolle)

Mittels dieser Kontrolle sollte gezeigt werden, dass die Suszeptibilität der Zellen für die Virusinfektion durch die Behandlung mit dem Desinfektionsmittel in einer gerade nicht mehr toxischen Konzentration nicht beeinflusst wurde.

Die Differenz des Titters der Viruskontrollprobe auf den mit dem Desinfektionsmittel und mit Aqua bidest. vorbehandelten Zellen betrug $< 0,50 \log_{10}$ (Tabelle 2; Rohdaten siehe Appendix). Somit ergab sich keine Beeinflussung der Zellen durch das geprüfte Desinfektionsmittel in der hier angegebenen nicht toxischen Konzentration.

6.3 Virusinaktivierende Wirksamkeit der Formaldehyd-Kontrolle

Die als Referenz mitgeführte 0,7 %ige Formaldehyd-Lösung reduzierte den Virustiter nach 5 bzw. 15 Minuten um $0,38 \pm 0,41$ bzw. $0,75 \pm 0,50 \log_{10}$ -Stufen. Nach 30 und 60 Minuten betrugen die RF $1,50 \pm 0,46$ bzw. $3,00 \pm 0,46$ (siehe Tabelle 2; Rohdaten siehe Appendix).

6.4 Virusinaktivierende Wirksamkeit des Desinfektionsmittels

Die Untersuchungsergebnisse der Inaktivierungsversuche finden sich in den Tabellen 2 bis 5 (Rohdaten siehe Appendix).

Das Prüfpräparat Schnelldesinfektionsmittel 01/02/02 - 135 wurde unverdünnt bei 20°C eingesetzt. Bedingt durch die Zugabe der Virussuspension und der interferierenden Substanzen (FKS, hohe Belastung) resultierte daraus eine 80,0 %ige Prüfkonzentration. Für die Überprüfung des unwirksamen Bereiches wurde eine Prüfkonzentration von 10,0 % gewählt. Die Einwirkzeiten betrugen 1, 2, 3 und 5 Minuten.

Das Prüfpräparat Schnelldesinfektionsmittel 01/02/02 - 135 wies in beiden Ansätzen als 80,0 %ige Lösung eine Wirksamkeit gegenüber dem Vakziniavirus auf. Bereits nach einer Minute Einwirkzeit war in allen Ansätzen, also auch in Gegenwart der interferierenden Substanzen, kein Vakziniavirus mehr zu detektieren. Die Reduktionsfaktoren betrugen zu diesem



Zeitpunkt $\geq 5,13 \pm 0,25$ bzw. $\geq 5,13 \pm 0,25$ (Ansatz ohne Belastung), $\geq 4,75 \pm 0,44$ bzw. $\geq 4,75 \pm 0,44$ (Ansatz mit FKS) und $\geq 4,38 \pm 0,51$ (hohe Belastung). Dies entspricht in allen Fällen einer Inaktivierung von $\geq 99,99\%$ und demonstriert damit eine Virus-Wirksamkeit. Daraus errechnen sich folgende mittlere RF: $\geq 5,13 \pm 0,18$ (Ansatz ohne Belastung) und $\geq 4,75 \pm 0,31$ (Ansatz mit FKS).

Die 10,0 %ige Lösung zeigte keine Wirksamkeit nach zwei Minuten Einwirkzeit (Tabelle 5).



Dr. J. Steinmann

Wiss. techn. Leiter der MikroLab GmbH



7. Qualitätssicherung

Eine Qualitätssicherung der Ergebnisse erfolgte u.a. dadurch, dass die Bestimmung der virusinaktivierenden Eigenschaften von Desinfektionsmitteln in Übereinstimmung mit den Grundsätzen der Guten Laborpraxis (GLP) durchgeführt wurde.

- 1) Chemikaliengesetz der Bundesrepublik Deutschland, Anhang 1, datiert vom 01.08 1994 (BGBl. I, 1994, S. 1703). Anhang zuletzt geändert am 14. Mai 1997 (BGBl. I, 1997, S. 1060).
- 2) OECD Grundsätze der Guten Laborpraxis (überarbeitet 1997); OECD Environmental Health and Safety Publications; Series on Principles of Good Laboratory Practice and Compliance Monitoring – Number 1. Environment Directorate, Organization for Economic Co-operation and Development, Paris 1998.

Die Plausibilität der Ergebnisse wurde zusätzlich durch die unterschiedlichen Kontrollen gesichert, die in den Inaktivierungsansätzen mitgeführt wurden (siehe 5.3).

8. Archivierung

Ein Original des Prüfberichtes und alle Protokolle der Schriftwechsel wurden im Archiv der MikroLab GmbH archiviert.

Gemäß DIN EN ISO/IEC 17025:2000 übernimmt die MikroLab GmbH keine inhaltliche Verantwortung für eine eventuell sinnentstellende Darstellung der Prüfmethode und Prüfergebnisse aufgrund von auszugsweiser Wiedergabe des vorliegenden Prüfberichtes.



9. Literatur

1. Leitlinie der Deutschen Vereinigung zur Bekämpfung der Viruskrankheiten (DVV) e.V. und des Robert Koch-Institutes (RKI) zur Prüfung von chemischen Desinfektionsmitteln auf Wirksamkeit gegen Viren in der Humanmedizin (in der Fassung vom 15. Juni 2005)
Hyg & Med, 30, 2005, 460-467
2. EN 14476:2005: Chemical disinfectants and antiseptics – virucidal quantitative suspension test - Test method and requirements (phase 2, step 1)
3. Spearman, C.: The method of 'right or wrong cases' (constant stimuli) without Gauss's formulae.
Brit J Psychol; 2 1908, 227-242
4. Kärber, G.: Beitrag zur kollektiven Behandlung pharmakologischer Reihenversuche.
Arch Exp Path Pharmac; 162, 1931, 480-487

Tabelle 1: Zytotoxizität von Schnelldesinfektionsmittel 01/02/02 - 135 und der 0,7%igen Formaldehyd-Lösung (Prüfbericht M07ML458V 2. Version)

	Konz.	Belastung	Verdünnungsstufen				
			10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
Prüfpräparat	10,0%	Aqua bidest.	-	-	-	-	-
Prüfpräparat	10,0%	10,0% FKS	-	-	-	-	-
Prüfpräparat	80,0%	Aqua bidest.	+	-	-	-	-
Prüfpräparat	80,0%	10,0% FKS	+	-	-	-	-
Prüfpräparat	80,0%	hohe Belastung	+	-	-	-	-
Formaldehyd	0,7%	PBS	+	+	-	-	-

Tabelle 2 (1. Ansatz): Inaktivierung des Vakziniavirus durch Schnelldeinfektionsmittel 01/02/02 - 135 (80,0%) im quantitativen Suspensionsversuch bei 20°C (Prüfnummer B07ML458V 2. Version)

Produkt	Konz.	Belastung	log ₁₀ TCID ₅₀ /mL einschließlich 95% Konfidenzintervall nach				Reduktionsfaktor einschließlich 95% Konfidenzintervall nach				≥ 4 log ₁₀ Reduktion nach
			1 Min.	2 Min.	3 Min.	5 Min.	1 Min.	2 Min.	3 Min.	5 Min.	
Prüfpräparat	80,0%	Aqua bid.	≤3,50±0,00	≤3,50±0,00	≤3,50±0,00	≤3,50±0,00	≥5,13±0,25	≥5,13±0,25	≥5,13±0,25	≥5,13±0,25	1 Min.
Prüfpräparat	80,0%	10,0% FKS	≤3,50±0,00	≤3,50±0,00	≤3,50±0,00	≤3,50±0,00	≥4,75±0,44	≥4,75±0,44	≥4,75±0,44	≥4,75±0,44	1 Min.
Kontrollen	Konz.	Belastung	log ₁₀ TCID ₅₀ /mL einschließlich 95% Konfidenzintervall nach				Reduktionsfaktor einschließlich 95% Konfidenzintervall nach				≥ 4 log ₁₀ Reduktion nach
			5 Min.	15 Min.	30 Min.	60 Min.	5 Min.	15 Min.	30 Min.	60 Min.	
Formaldehyd	0,7%	PBS	7,38±0,25	7,00±0,38	6,25±0,33	4,75±0,33	0,38±0,41	0,75±0,50	1,50±0,46	3,00±0,46	> 60 Min
Virus-Kontrollprobe	n.a.	Aqua bid.	n.d.	n.d.	n.d.	8,63±0,25	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Virus-Kontrollprobe	n.a.	10,0% FKS	n.d.	n.d.	n.d.	8,25±0,44	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Interferenz-Kontrolle PBS	n.a.	-	n.d.	n.d.	n.d.	8,00±0,38	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Interferenz-Kontrolle Des.	n.a.	Aqua bid.	n.d.	n.d.	n.d.	8,00±0,38	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Interferenz-Kontrolle Des.	n.a.	10,0% FKS	n.d.	n.d.	n.d.	8,50±0,00	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.

n.d. = nicht durchgeführt n.a. = nicht anwendbar

Tabelle 3 (2. Ansatz): Inaktivierung des Vakziniavirus durch Schnelldesinfektionsmittel 01/02/02 - 135 (80,0%) im quantitativen Suspensionsversuch bei 20°C (Prüfnummer B07ML458V 2. Version).

Produkt	Konz.	Belastung	log ₁₀ TCID ₅₀ /mL einschließlich 95% Konfidenzintervall nach				Reduktionsfaktor einschließlich 95% Konfidenzintervall nach				≥ 4 log ₁₀ Reduktion nach
			1 Min.	2 Min.	3 Min.	5 Min.	1 Min.	2 Min.	3 Min.	5 Min.	
Prüfpräparat	80,0%	Aqua bid.	≤3,50±0,00	≤3,50±0,00	n.d.	n.d.	≥5,13±0,25	≥5,13±0,25	n.d.	n.d.	1 Min.
Prüfpräparat	80,0%	10,0% FKS	≤3,50±0,00	≤3,50±0,00	n.d.	n.d.	≥4,75±0,44	≥4,75±0,44	n.d.	n.d.	1 Min.
Kontrollen	Konz.	Belastung	log ₁₀ TCID ₅₀ /mL einschließlich 95% Konfidenzintervall nach				Reduktionsfaktor einschließlich 95% Konfidenzintervall nach				≥ 4 log ₁₀ Reduktion nach
			5 Min.	15 Min.	30 Min.	60 Min.	5 Min.	15 Min.	30 Min.	60 Min.	
Formaldehyd	0,7%	PBS	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Virus-Kontrollprobe	n.a.	Aqua bid.	n.d.	n.d.	n.d.	8,63±0,25	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Virus-Kontrollprobe	n.a.	10,0% FKS	n.d.	n.d.	n.d.	8,25±0,44	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Interferenz-Kontrolle PBS	n.a.	-	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Interferenz-Kontrolle Des.	n.a.	Aqua bid.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Interferenz-Kontrolle Des.	n.a.	10,0% FKS	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.

n.d. = nicht durchgeführt n.a. = nicht anwendbar

Tabelle 4: Inaktivierung des Vakziniavirus durch Schnelldesinfektionsmittel 01/02/02 - 135 (80,0%) und Formaldehyd (0,7%) im quantitativen Suspensionsversuch bei 20°C (Prüfnummer B07ML458V 2. Version).

Produkt	Konz.	Belastung	log ₁₀ TCID ₅₀ /mL einschließlich 95% Konfidenzintervall nach					Reduktionsfaktor einschließlich 95% Konfidenzintervall nach					≥ 4 log ₁₀ Reduktion nach
			1 Min.	2 Min.	3 Min.	5 Min.		1 Min.	2 Min.	3 Min.	5 Min.		
Prüfpräparat	80,0%	geringe B.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.		n.d.	n.d.	n.d.	n.d.		n.d.
Prüfpräparat	80,0%	hohe B.	≤3,50±0,00	≤3,50±0,00	≤3,50±0,00	≤3,50±0,00		≥4,38±0,51	≥4,38±0,51	≥4,38±0,51	≥4,38±0,51		1,0 Min.
Kontrollen	Konz.	Belastung	log ₁₀ TCID ₅₀ /mL einschließlich 95% Konfidenzintervall nach					Reduktionsfaktor einschließlich 95% Konfidenzintervall nach					≥ 4 log ₁₀ Reduktion nach
			5 Min.	15 Min.	30 Min.	60 Min.		5 Min.	15 Min.	30 Min.	60 Min.		
Formaldehyd	0,7%	PBS	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.		n.d.	n.d.	n.d.	n.d.		n.d.
Virus-Kontrollprobe	n.a.	geringe B.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.		n.a.	n.a.	n.a.	n.a.		n.a.
Virus-Kontrollprobe	n.a.	hohe B.	n.d.	n.d.	n.d.	7,88±0,51		n.a.	n.a.	n.a.	n.a.		n.a.
Interferenz-Kontrolle PBS	n.a.	-	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.		n.a.	n.a.	n.a.	n.a.		n.a.
Interferenz-Kontrolle Des.	n.a.	Aqua bid.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.		n.a.	n.a.	n.a.	n.a.		n.a.
Interferenz-Kontrolle Des.	n.a.	10,0% FKS	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.		n.a.	n.a.	n.a.	n.a.		n.a.

n.d. = nicht durchgeführt n.a. = nicht anwendbar

Tabelle 5: Inaktivierung des Vakziniavirus durch Schnelldesinfektionsmittel 01/02/02 - 135 (10,0%) und Formaldehyd (0,7%) im quantitativen Suspensionsversuch bei 20°C (Prüfnummer B07ML458V 2. Version).

Produkt	Konz.	Belastung	log ₁₀ TCID ₅₀ /mL einschließlich 95% Konfidenzintervall nach				Reduktionsfaktor einschließlich 95% Konfidenzintervall nach				≥ 4 log ₁₀ Reduktion nach
			1 Min.	2 Min.	3 Min.	5 Min.	1 Min.	2 Min.	3 Min.	5 Min.	
Prüfpräparat	10,0%	Aqua bid.	7,38±0,41	7,13±0,45	n.d.	n.d.	1,25±0,48	1,50±0,52	n.d.	n.d.	> 2,0 Min.
Prüfpräparat	10,0%	10,0% FKS	8,25±0,44	8,00±0,38	n.d.	n.d.	0,00±0,63	0,25±0,58	n.d.	n.d.	> 2,0 Min.
Kontrollen	Konz.	Belastung	log ₁₀ TCID ₅₀ /mL einschließlich 95% Konfidenzintervall nach				Reduktionsfaktor einschließlich 95% Konfidenzintervall nach				≥ 4 log ₁₀ Reduktion nach
			5 Min.	15 Min.	30 Min.	60 Min.	5 Min.	15 Min.	30 Min.	60 Min.	
Formaldehyd	0,7%	PBS	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Virus-Kontrollprobe	n.a.	Aqua bid.	n.d.	n.d.	n.d.	8,63±0,25	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Virus-Kontrollprobe	n.a.	10,0% FKS	n.d.	n.d.	n.d.	8,25±0,44	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Interferenz-Kontrolle PBS	n.a.	-	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Interferenz-Kontrolle Des.	n.a.	Aqua bid.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Interferenz-Kontrolle Des.	n.a.	10,0% FKS	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.

n.d. = nicht durchgeführt n.a. = nicht anwendbar

Appendix Tabelle 1: Rohdaten (Vakziniavirus) für Schnelldesinfektionsmittel 01/02/02 - 135 (1. Versuch) (Prüfnummer: B07ML458V 2. Version)

Produkt	Konzentration	Interferierende Substanz	Einwirkzeit (Min)	Verdünnungen (log ₁₀)										
				1	2	3	4	5	6	7	8	9		
Testpräparat	80,0%	Aqua bidest.	1	tttt	tttt	0000	0000	0000	0000	0000	0000	n.d.	n.d.	
			2	tttt	tttt	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	n.d.	n.d.
			3	tttt	tttt	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	n.d.	n.d.
			5	tttt	tttt	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	n.d.	n.d.
			1	tttt	tttt	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	n.d.	n.d.
		10,0% FKS	2	tttt	tttt	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	n.d.	n.d.
			3	tttt	tttt	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	n.d.	n.d.
			5	tttt	tttt	0000	0000	0000	0000	0000	0000	0000	n.d.	n.d.
			n.a.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
			n.a.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Testpräparat Zytotoxizität mit Säulen	80,0%	Aqua bidest.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.		
		10,0% FKS	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	
Testpräparat Zytotoxizität ohne Säulen	80,0%	Aqua bidest.	n.a.	tttt	tttt	0000	0000	0000	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	
		10,0% FKS	n.a.	tttt	tttt	0000	0000	0000	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	
Viruskontrolle mit Säulen	n.a.	Aqua bidest.	n.a.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	
		10,0% FKS	n.a.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	
Viruskontrolle ohne Säulen	n.a.	Aqua bidest.	n.a.	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	3000	0000	0000	
		10,0% FKS	n.a.	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	0300	0000	0000	

n.a. = nicht anwendbar
n.d. = nicht durchgeführt

t = zytotoxisch

0 = kein Virus vorhanden
1 bis 4 = Virus vorhanden (Grad des CPE in 8 Kavitäten einer Mikrotiterplatte)

Appendix Tabelle 2: Rohdaten (Vakziniavirus) für Schnelldesinfektionsmittel 01/02/02 - 135 (2. Versuch) (Prüfnummer: B07ML458V 2. Version)

Produkt	Konzentration	Interferierende Substanz	Einwirkzeit (Min)	Verdünnungen (log ₁₀)									
				1	2	3	4	5	6	7	8	9	
Testpräparat	80,0%	Aqua bidest.	1	tttt tttt	tttt tttt	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	n.d.	n.d.	
			2	tttt tttt	tttt tttt	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	n.d.	n.d.	
			3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	
			5	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	
		10,0% FKS	1	tttt tttt	tttt tttt	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	n.d.	n.d.
			2	tttt tttt	tttt tttt	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	n.d.	n.d.
			3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
			5	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Testpräparat Zytotoxizität mit Säulen	80,0%	Aqua bidest.	n.a.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	
		10,0% FKS	n.a.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	
Testpräparat Zytotoxizität ohne Säulen	80,0%	Aqua bidest.	n.a.	tttt tttt	tttt tttt	0000 0000	0000 0000	0000 0000	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	
		10,0% FKS	n.a.	tttt tttt	tttt tttt	0000 0000	0000 0000	0000 0000	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	
Viruskontrolle mit Säulen	n.a.	Aqua bidest.	n.a.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	
	n.a.	10,0% FKS	n.a.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	
Viruskontrolle ohne Säulen	n.a.	Aqua bidest.	n.a.	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	0004 0000	0000 0000	
	n.a.	10,0% FKS	n.a.	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	0200 3143	0100 0000	0000 0000	

n.a. = nicht anwendbar
n.d. = nicht durchgeführt

t = zytotoxisch

0 = kein Virus vorhanden
1 bis 4 = Virus vorhanden (Grad des CPE in 8 Kavitäten einer Mikrotiterplatte)

Appendix Tabelle 3: Rohdaten (Vakziniavirus) für Schnelldesinfektion 01/02/02 - 135 (Prüfnummer: B07ML458V 2. Version)

Produkt	Konzentration	Interferierende Substanz	Einwirkzeit (min)	Verdünnungen (log ₁₀)									
				1	2	3	4	5	6	7	8	9	
Testpräparat	80,0%	geringe Belastung	1	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
			2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
			3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
			5	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
		hohe Belastung	1	ttt tttt	ttt tttt	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	n.d.	n.d.
			2	ttt tttt	ttt tttt	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	n.d.	n.d.
			3	ttt tttt	ttt tttt	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	n.d.	n.d.
			5	ttt tttt	ttt tttt	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	n.d.	n.d.
			n.a.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
			n.a.	ttt tttt	ttt tttt	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	n.d.	n.d.
Testpräparat Zytotoxizität	80,0%	geringe Belastung	n.a.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	
		hohe Belastung	n.a.	ttt tttt	ttt tttt	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	n.d.	n.d.	n.d.
Viruskontrolle	n.a.	geringe Belastung	n.a.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
		hohe Belastung	n.a.	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	4444 4444	0002 0041	0000 4000	0000 0000

n.a. = nicht anwendbar
n.d. = nicht durchgeführt

t = zytotoxisch

0 = kein Virus vorhanden
1 bis 4 = Virus vorhanden (Grad des CPE in 8 Kavitäten einer Mikrotiterplatte)

Appendix Tabelle 4: Rohdaten (Vakziniavirus) für Schnelldesinfektionsmittel 01/02/02 - 135 (Prüfnummer: B07ML458V 2. Version)

Produkt	Konzentration	Interferierende Substanz	Einwirkzeit (Min)	Verdünnungen (log ₁₀)									
				1	2	3	4	5	6	7	8	9	
Testpräparat	10,0%	Aqua bidest.	1	tttt	4444	4444	4444	4444	4444	0440	0004	0000	n.d.
			2	tttt	4444	4444	4444	4444	4040	4000	0000	n.d.	
			3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	
		5	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.		
		1	tttt	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4004	0000	n.d.	
		2	tttt	4444	4444	4444	4444	4444	4444	0044	0000	n.d.	
Testpräparat Zytotoxizität mit Säulen	10,0%	Aqua bidest.	3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	
			5	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	
			n.a.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	
Testpräparat Zytotoxizität ohne Säulen	10,0%	Aqua bidest.	n.a.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	
			10,0% FKS	n.a.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
		Aqua bidest.	n.a.	0000	0000	0000	0000	0000	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Viruskontrolle mit Säulen	n.a.	Aqua bidest.	n.a.	0000	0000	0000	0000	0000	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	
			10,0% FKS	n.a.	0000	0000	0000	0000	0000	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
		Aqua bidest.	n.a.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Viruskontrolle ohne Säulen	n.a.	Aqua bidest.	n.a.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	
			10,0% FKS	n.a.	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4221	0004	0000
		Aqua bidest.	n.a.	4444	4444	4444	4444	4444	4444	4444	0100	0000	0000

n.a. = nicht anwendbar
n.d. = nicht durchgeführt

t = zytotoxisch

0 = kein Virus vorhanden
1 bis 4 = Virus vorhanden (Grad des CPE in 8 Kavitäten einer Mikrotiterplatte)

Appendix Tabelle 5: Rohdaten (Vakziniavirus) für die Formaldehyd-Kontrolle (Prüfnummer B07ML458V 2. Version)

Produkt	Konzentration	Interferierende Substanz	Einwirkzeit (min)	Verdünnungen (log ₁₀)								
				1	2	3	4	5	6	7	8	9
Formaldehyd	0,7% (m/V)	PBS	5	tttt tttt	tttt tttt	4444 4444	4444 4444	4444 4444	2232 1110	0000 0000	0000 0000	n.d.
			15	tttt tttt	tttt tttt	4444 4444	4444 4444	2222 2221	0001 2102	0000 0000	0000 0000	n.d.
			30	tttt tttt	tttt tttt	3343 4443	2222 2222	0110 1111	0000 0000	0000 0000	0000 0000	n.d.
			60	tttt tttt	tttt tttt	1111 1111	1010 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	n.d.
Formaldehyd Zytotoxizität	0,7% (m/V)	PBS	n.a.	tttt tttt	tttt tttt	0000 0000	0000 0000	0000 0000	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

n.a. = nicht anwendbar
n.d. = nicht durchgeführt

t = zytotoxisch

0 = kein Virus vorhanden
1 bis 4 = Virus vorhanden (Grad des CPE in 8 Kavitäten einer Mikrotiterplatte)

Appendix Tabelle 6: Rohdaten für die Zellsuszeptibilität (Schnelldesinfektionsmittel 01/02/02 - 135) (Prüf-Nummer: B07ML458V 2. Version)

Produkt	interferierende Substanz	Verdünnung	Verdünnungen (log ₁₀)								
			1	2	3	4	5	6	7	8	9
Aqua bidest.		ohne	4444	4444	4444	4444	4444	4444	0214	0000	0000
			4444	4444	4444	4444	4444	4444	1000	0000	0000
Testprodukt	Aqua bidest.	1:10	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
		1:100	4444	4444	4444	4444	4444	4444	0424	0000	0000
		1:1000	4444	4444	4444	4444	4444	4444	0200	0000	0000
Testprodukt	FKS	1:10	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
		1:100	4444	4444	4444	4444	4444	4444	2422	0000	0000
		1:1000	4444	4444	4444	4444	4444	4444	2441	0000	0000

n.a. = nicht anwendbar
n.d. = nicht durchgeführt

t = zytotoxisch

0 = kein Virus vorhanden

1 bis 4 = Virus vorhanden (Grad des CPE in 8 Kavitäten einer Mikrotiterplatte)