



DR. BRILL + DR. STEINMANN
INSTITUTE FOR HYGIENE AND MICROBIOLOGY

Dr. Brill + Partner GmbH, Norderoog 2, DE - 28259 Bremen

Tel: +49 (40) 557631-64

Fax: +49 (40) 557631-61

E-mail: jochen.steinmann@brillhygiene.com

<http://www.brillhygiene.com>

B. Braun Medical AG
CoE Infection Control
Seesatz 17
CH – 6204 Sempach

Bremen, 19.12.2016

Zusammenfassende Stellungnahme zu den virusinaktivierenden Eigenschaften von Helipur H plus N der B. Braun Medical AG im quantitativen Suspensionsversuch nach der Leitlinie von DVV/RKI (01.12.2014)

Folgende Dokumente der Dr. Brill + Partner GmbH für das Instrumentendesinfektionsmittel Helipur H plus N der B. Braun Medical AG liegen dieser Stellungnahme zugrunde:

BVDV Prüfbericht L16/0759bB.1 vom 07.11.2016

Vacciniavirus (Stamm Elstree) L16/0757dV.1 vom 19.12.2016

Unter Einbeziehung dieser beiden Prüfviren resultieren folgende Konzentrationen und Einwirkzeiten:

1,0 % 5 Minuten

um eine Titerreduktion von $\geq 4 \log_{10}$ Stufen (Titerreduktion $\geq 99,99 \%$) im quantitativen Suspensionsversuch entsprechend der Leitlinie der Deutschen Vereinigung zur Bekämpfung der Viruskrankheiten e.V. (DVV) und des Robert Koch-Institutes (RKI) zu erzielen.

Damit erfüllt Helipur H plus N die Bedingungen für die Auslobung „begrenzt viruzid“, die in einer Stellungnahme des Arbeitskreises Viruzidie am RKI formuliert sind (Bundesgesundheitsbl. 2004, 47: 62-66), und ist folglich wirksam gegenüber allen behüllten Viren.

Auf diese Weise schließen diese Prüfungen auch eine Wirksamkeit von Helipur H plus N gegenüber den so genannten „blood-borne viruses“ ein, zu denen HBV, HCV und HIV gehören. Ebenso sind andere behüllte Viren wie z. B. das Herpes Simplex Virus und die humanen und animalischen Influenzaviren einschließlich H5N1 und H1N1 sowie Mitglieder der Familien Filoviridae (z.B. Ebolavirus) und Paramyxoviridae (Masernvirus) eingeschlossen.

Dr. Jochen Steinmann



DR. BRILL + DR. STEINMANN
INSTITUTE FOR HYGIENE AND MICROBIOLOGY

Dr. Brill + Partner GmbH, Norderoog 2, DE - 28259 Bremen

Tel: +49 (40) 557631-64

Fax: +49 (40) 557631-61

E-mail: jochen.steinmann@brillhygiene.com

<http://www.brillhygiene.com>

B. Braun Medical AG
CoE Infection Control
Seesatz 17
CH – 6204 Sempach

Bremen, 19/12/2016

Virus-inactivating properties of the instrument disinfectant Helipur H plus N of B. Braun Medical AG in a quantitative suspension test according to the Guideline of DVV/RKI (01.12.2014)

This summary is based on the following test reports of Dr. Brill + Partner GmbH for the instrument disinfectant Helipur H plus N produced by B. Braun Medical AG:

BVDV test report L16/0759bB.1 dating 07/11/2016

vaccinia virus (strain Elstree) test report L16/0757dV.1 dating 19/12/2016

The following concentration and exposure time are necessary for the inactivation of the two test viruses:

1.0 % 5 minutes

in order to achieve a $\geq 4 \log_{10}$ reduction (inactivation ≥ 99.99 %) in a quantitative suspension test according to the guideline of the Deutsche Vereinigung zur Bekämpfung der Viruskrankheiten e. V. (DVV, German Association for the Control of Virus Diseases) and the Robert Koch-Institute (RKI).

After evaluation with the two test viruses Helipur H plus N can be declared as having "limited virucidal" properties according to a recommendation of an expert committee of RKI (Bundesgesundheitsbl 2004, 47: 62-66) and is thus able to inactivate all enveloped viruses.

Therefore, after successful experiments with the two above mentioned viruses Helipur H plus N is also effective against the so-called blood-borne viruses including HBV, HCV and HIV as well as against other enveloped viruses e. g. Herpes simplex virus and virus families such as orthomyxoviridae (incl. all human and animal influenza viruses like H5N1 and H1N1), filoviridae (ebola virus) and paramyxoviridae (measles virus).

Dr. Jochen Steinmann

B. Braun Medical AG
Centre of Excellence Infection Control
Seesatz 17
CH-6204 Sempach

Bremen, 7. November 2016

Gutachten

Wirksamkeit von Helipur H plus N gegenüber dem BVDV im quantitativen Suspensionsversuch nach der Leitlinie von DVV/RKI in der Fassung vom 01.12.2014

Dieses Gutachten basiert auf dem Prüfbericht L16/0759bB.1 vom 07.11.2016.

Das Instrumentendesinfektionsmittel Helipur H plus N der B. Braun Medical AG wurde gemäß Auftrag auf seine virusinaktivierenden Eigenschaften gegenüber dem BVDV Stamm NADL im quantitativen Suspensionsversuch gemäß Leitlinie der Deutschen Vereinigung zur Bekämpfung der Viruskrankheiten e.V. (DVV) und des Robert Koch-Institutes (RKI) 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 Instrumentendesinfektionsmittel Helipur H plus N wurde als 1,0 %ige Lösung bei 20 °C untersucht. Die Einwirkzeiten betrugen 5 und 15 Minuten. Die 1,0 %ige Lösung war in allen Ansätzen nach 5 Minuten wirksam. Deshalb ergibt sich eine Wirksamkeit gegenüber dem BVDV wie folgt:

1,0 % 5 Minuten

Dr. Jochen Steinmann

B. Braun Medical AG
Centre of Excellence Infection Control
Seesatz 17
CH-6204 Sempach

Bremen, 07/11/2016

Expert opinion

Activity of Helipur H plus N against BVDV according to the Guideline of DVV/RKI dating 01.12.2014

This expert opinion is based on the test report L16/0759bB.1 dating 07.11.2016.

The virus-inactivating properties of the instrument disinfectant Helipur H plus N of B. Braun Medical AG against BVDV strain NADL 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 of the Robert Koch-Institute (RKI).

According to this Guideline, 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 $\geq 99.99\%$).

Helipur H plus N was examined as 1.0 % solution at 20 °C. 5 and 15 minutes were chosen as exposure times. The virus titre was decreased by $\geq 4 \log_{10}$ steps after 5 minutes in all assays testing the 1.0 % solution. Therefore, a virucidal activity against BVDV was measured as follows:

1.0 % 5 minutes

Dr. Jochen Steinmann



07.11.2016

Prüfbericht Nr. L16/0759bB-1

Untersuchungen zur Wirksamkeit von **Helipur H plus N**

Prüfvirus: Bovine Viral Diarrhea Virus (Surrogat für HCV)

Methode: Leitlinie der DVV und des RKI
(in der Fassung vom 01.12.2014)

Auftraggeber:

B. Braun Medical AG
CoE Infection Control
Seesatz 17
CH – 6204 Sempach

Norderoog 2, DE - 28259 Bremen
Tel.: +49 40-55763164, Fax: +49 40-55763161
info@brillhygiene.com, <http://www.brillhygiene.com>

1. Laboratorium

Dr. Brill + Partner GmbH Institut für Hygiene und Mikrobiologie, Norderoog 2, DE - 28259 Bremen

2. Identifizierung der Probe (Prüfgegenstand)

Hersteller	B. Braun Medical AG
Produktbezeichnung	Helipur H plus N
Anwendungsbereich	Desinfektion von thermolabilen Materialien
Chargennummer	15281M01
Produktionsdatum	-
Verfall	06/2017
Aktive Substanz(en) und ihre Konzentration(en) in 100 g	12 % Glutaraldehyd 7,5 % Propan-2-ol 0,5 % Ethylhexanol
Aussehen und Geruch	klare, grüne Flüssigkeit produktspezifisch
pH-Wert(e) (Glaselektrode)	unverdünnt: 4,20 (20 °C) 1,0 %: 6,26 (20 °C)
Lagerbedingungen	Raumtemperatur, dunkel (Aufbewahrungsbereich nicht frei zugänglich)
Lieferdatum	14.10.2016

3. Material

3.1 Medium und Reagenzien

- Eagle's Minimum Essential Medium mit Earle's Salzen (EMEM, Biozym Scientific GmbH, Katalog Nr. 880121)
- Fötale Kälberserum (Biochrom AG, Artikel Nr. S 0115)
- 1,4 % Formaldehydlösung (Verdünnung von Roti®-Histofix 4 %, Carl Roth GmbH)
- Aqua bidest. (SG Reinstwassersystem, Typ Ultra Clear; Seriennr. 86996-1)
- PBS (Invitrogen, Artikel Nr. 18912-014).

* Test procedure accredited according to DIN EN ISO/IEC 17025. Test report issued by Dr. Brill + Partner GmbH, Norderoog 2, DE – 28259 Bremen, Germany, Telephone +49. 40. 55763164, Telefax +49. 40. 55763161, www.brillhygiene.com. No copying or transmission, in whole or in part, of this test report without the explicit prior written permission. The test results exclusively apply to the tested samples. Information on measurement uncertainty on request. © Dr. Brill + Partner GmbH 2016

3.2 Virus und Zellen

Das BVDV Stamm NADL (VR-534) stammte von Frau Dr. Stephanie Bendfeldt, Institut für Virologie der Tierärztlichen Hochschule Hannover. Vor den Inaktivierungsversuchen wurde das Virus einmal in primären Kälbernierenzellen und fünfmal in *KOP-R-Zellen* (Ösopharynx-gewebe vom Rind) passagiert.

Die *KOP-R-Zellen* stammten vom Friedrich-Löffler-Institut, Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit (ehemals Bundesforschungsanstalt für Virus-krankheiten der Tiere) auf der Insel Riems (Dr. R. Riebe, Katalog Nr. RIE 244). Für die Virustitrationen wurden embryonale Kälberlungenzellen (*eKL*) eingesetzt. Diese stammten von Frau A. Kyas, Henkel KGaA (Abteilung Hygiene und Mikrobiologie), DE-40191 Düsseldorf. 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 und Materialien

- 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)
- Inverses Mikroskop (Olympus, Typ CK 30)
- Zentrifuge 5804 R (Eppendorf AG)
- Wasserbad (JULABO, Julabo U 3)
- Zellkulturflaschen (Nunc GmbH & Co. KG, Artikel Nr. 156502)
- Plastikröhrchen (Sarstedt AG & Co., Artikel Nr. 55.468.001)
- Sterile 96-well Mikrotiterplatten (Nunc GmbH & Co. KG, Artikel Nr. 149026)
- Variable Pipetten (Eppendorf AG).

* Test procedure accredited according to DIN EN ISO/IEC 17025. Test report issued by Dr. Brill + Partner GmbH, Norderoog 2, DE – 28259 Bremen, Germany, Telephone +49. 40. 55763164, Telefax +49. 40. 55763161, www.brillhygiene.com. No copying or transmission, in whole or in part, of this test report without the explicit prior written permission. The test results exclusively apply to the tested samples. Information on measurement uncertainty on request. © Dr. Brill + Partner GmbH 2016

4. Prüfbedingungen

Prüftemperatur	20 °C ± 0,5 °C
Prüfkonzentrationen	1,0 %, 0,1 % und 0,01 %ige (unwirksamer Bereich) Lösungen
Einwirkzeiten	5 und 15 Minuten
Eiweißbelastung	10,0 % fötales Kälberserum
Aufhebung der Desinfektionsmittelwirkung	unmittelbare Verdünnung
Verdünnungsmittel	Wasser standardisierter Härte (WSH)
Virusstamm	BVDV Stamm NADL
Zeitraum der Prüfung	14.10.2016 – 07.11.2016
Abschluss der Prüfung	07.11.2016

5. Methoden

5.1 Herstellung der Virussuspension

Für die Herstellung der Virussuspension wurden *KOP-R-Zellen*, die mit Eagle's Minimum Essential Medium und 10 % bzw. 2 % fötalem Kälberserum (keine Antikörper gegen BVDV nachweisbar) kultiviert worden sind, in 175 cm² Zellkulturflaschen mit dem BVDV beimpft. Nach Ausbildung des zytopathogenen Effektes (CPE) (nach ca. 3-4 Tagen) folgte ein Einfrier-/Auftauvorgang. Die Zelltrümmer wurden durch eine Zentrifugation bei 3000 UpM und 4°C für zehn Minuten entfernt. Der Überstand wurde als Virussuspension gewonnen, aliquotiert und bei –80 °C aufbewahrt.

5.2 Herstellung der Desinfektionsmittel-Verdünnung

Helipur H plus N ist als 1,0 %ige, 0,1 %ige und 0,01 %ige Lösungen eingesetzt worden. Damit die gewünschte Konzentration des Desinfektionsmittels im Versuchsansatz vorliegt, also im Gemisch von Desinfektionsmittel, Belastungssubstanz und Virussuspension, ist die anzusetzende Konzentration einer Verdünnung mit dem Faktor 1,25 zu multiplizieren.

Die Lösungen wurden direkt vor dem Einsatz im Suspensionsversuch in WSH erstellt.

5.3 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 mit einem präformierten

* Test procedure accredited according to DIN EN ISO/IEC 17025. Test report issued by Dr. Brill + Partner GmbH, Norderoog 2, DE – 28259 Bremen, Germany, Telephone +49. 40. 55763164, Telefax +49. 40. 55763161, www.brillhygiene.com. No copying or transmission, in whole or in part, of this test report without the explicit prior written permission. The test results exclusively apply to the tested samples. Information on measurement uncertainty on request. © Dr. Brill + Partner GmbH 2016

Monolayer aus *eKL-Zellen* überführt (pro Kavität ca. $10\text{--}15 \times 10^3$ Zellen) und die Platten bei 37°C im CO_2 -Brutschrank (5 % CO_2 -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 (TCID_{50}) wurde nach der Methode von Spearman (2) und Kärber (3) mit folgender Formel vorgenommen:

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

Dabei ist:

X_0 = \log_{10} 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.

5.4 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 (1).

5.5 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 zugegeben.

Bedingt durch eine vereinfachte Handhabung und die in geringer Menge zur Verfügung stehende hochtitrige Virussuspension belief sich das Endvolumen auf 1 bzw. 0,1 ml.

* Test procedure accredited according to DIN EN ISO/IEC 17025. Test report issued by Dr. Brill + Partner GmbH, Norderoog 2, DE – 28259 Bremen, Germany, Telephone +49. 40. 55763164, Telefax +49. 40. 55763161, www.brillhygiene.com. No copying or transmission, in whole or in part, of this test report without the explicit prior written permission. The test results exclusively apply to the tested samples. Information on measurement uncertainty on request. © Dr. Brill + Partner GmbH 2016

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 Verdünnung gemischt und nach serieller Verdünnung in Zehnerschritten in die Mikrotiterplatte überführt.

Für die Kontrolle der Zellsuszeptibilität (Interferenzkontrolle) wurden zwei Volumenanteile Aqua bidest. mit acht Volumenanteilen des Desinfektionsmittels in der Verdünnung, die keine Zytotoxizität zeigte, vermischt. Diese Mischung wurde 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 in einem Wasserbad bei $20\text{ °C} \pm 0,5\text{ °C}$ durchgeführt. Nach den einzelnen Einwirkzeiten wurden Teilmengen entnommen, und die Restinfektiosität der Ansätze ist bestimmt 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.

* Test procedure accredited according to DIN EN ISO/IEC 17025. Test report issued by Dr. Brill + Partner GmbH, Norderoog 2, DE – 28259 Bremen, Germany, Telephone +49. 40. 55763164, Telefax +49. 40. 55763161, www.brillhygiene.com. No copying or transmission, in whole or in part, of this test report without the explicit prior written permission. The test results exclusively apply to the tested samples. Information on measurement uncertainty on request. © Dr. Brill + Partner GmbH 2016

6. Ergebnisse

6.1 Bestimmung der Zytotoxizität

Parallel zu den Inaktivierungsversuchen wurde die Zytotoxizität von Helipur H plus N (1,0 %, 0,1 % und 0,01 %) und der 0,7 %igen Formaldehyd-Lösung ermittelt (Tabelle 1).

Die als Kontrolle mitgeführte Formaldehyd-Lösung wirkte toxisch auf die eingesetzten *eKL-Zellen* bei der Anwendung einer 1:1.000 Verdünnung. Dies bedeutet rechnerisch einen $\log_{10}CD_{50}/ml$ -Wert (in Analogie zum $TCID_{50}$ -Wert) von 4,50 (siehe Tabelle 1).

Bei der Überprüfung von Helipur H plus N (1,0 %) ergab sich eine $\log_{10}CD_{50}/ml$ von 3,50. Die 0,1 %ige Lösung wies eine Zytotoxizität in der 1:10-Verdünnung auf. Die 0,01 %ige Lösung zeigte keine Zytotoxizität in der 1:10-Verdünnung.

Diese Versuche zur Feststellung der Zytotoxizität sind unbedingt erforderlich, um die untere Nachweisbarkeitsschwelle für nicht inaktiviertes BVDV 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 Titers der Viruskontrollprobe auf den mit dem Desinfektionsmittel und mit PBS vorbehandelten Zellen betrug weniger als 0,5 \log_{10} ($6,38 \pm 0,25$ (PBS) versus $6,38 \pm 0,41$ (Desinfektionsmittel) $\log_{10} TCID_{50}/ml$, siehe Tabelle 3). 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 Referenzlösung mitgeführte 0,7 %ige Formaldehyd-Lösung reduzierte den Virustiter nach 5 bzw. 15 Minuten um $\geq 1,13 \pm 0,53$ bzw. $\geq 2,00 \pm 0,46 \log_{10}$ Stufen. Nach 30 und 60 Minuten betrugen die RF jeweils $\geq 2,00 \pm 0,46$ (siehe Tabelle 6; Rohdaten siehe Appendix).

6.4 Virusinaktivierende Wirksamkeit des Desinfektionsmittels

Die Untersuchungsergebnisse der Inaktivierungsversuche finden sich in den Tabellen 2 bis 6 (Rohdaten siehe Appendix).

Helipur H plus N wies als 1,0 %ige Lösung eine Wirksamkeit gegenüber dem BVDV nach 5 Minuten auf (Tabellen 2, 3 und 4). Die Reduktionsfaktoren betrugen zu diesem Zeitpunkt $\geq 4,50 \pm 0,27$ und $\geq 4,88 \pm 0,18$ (ohne Belastung) bzw. $\geq 4,25 \pm 0,25$ und $\geq 5,00 \pm 0,25$ (mit FKS als Belastung). Die Mittelwerte betrugen $\geq 4,69 \pm 0,16$ (ohne Belastung) und $\geq 4,63 \pm$

* Test procedure accredited according to DIN EN ISO/IEC 17025. Test report issued by Dr. Brill + Partner GmbH, Norderoog 2, DE – 28259 Bremen, Germany, Telephone +49. 40. 55763164, Telefax +49. 40. 55763161, www.brillhygiene.com. No copying or transmission, in whole or in part, of this test report without the explicit prior written permission. The test results exclusively apply to the tested samples. Information on measurement uncertainty on request. © Dr. Brill + Partner GmbH 2016

0,18 (mit FKS als Belastung). Die genannten Mittelwerte entsprechen einer Inaktivierung von $\geq 99,99\%$ und demonstrieren damit eine Wirksamkeit gegenüber dem BVDV.

Die 0,1 %ige sowie die 0,01 %ige Lösung zeigte mit FKS-Belastung nach 15 Minuten Einwirkzeit keine Wirksamkeit (Tabellen 5 und 6).

6.5 Schlussfolgerung

Das Präparat zur Desinfektion von thermolabilen Materialien Helipur H plus N war wirksam gegenüber dem BVDV wie folgt:

1,0 % 5 Minuten

- Dr. Britta Becker -
Head of Laboratory

- Dr. Dajana Paulmann -
Scientific Project Manager

* Test procedure accredited according to DIN EN ISO/IEC 17025. Test report issued by Dr. Brill + Partner GmbH, Norderoog 2, DE – 28259 Bremen, Germany, Telephone +49. 40. 55763164, Telefax +49. 40. 55763161, www.brillhygiene.com. No copying or transmission, in whole or in part, of this test report without the explicit prior written permission. The test results exclusively apply to the tested samples. Information on measurement uncertainty on request. © Dr. Brill + Partner GmbH 2016

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

Alle Testdaten, Protokolle, Protokoll-Änderungen, Prüfberichte und Korrespondenz zwischen der Dr. Brill + Partner GmbH und dem Auftraggeber werden in den Archiven der Dr. Brill + Partner GmbH gespeichert

Die Verwendung des Namens, des Logos oder einer anderen Darstellung der Dr. Brill + Partner GmbH mit Ausnahme dieser Prüfberichtes ist ohne schriftliche Genehmigung der Dr. Brill + Partner GmbH untersagt. Außerdem darf sich in irgendeiner Form von Werbematerialien, Pressemitteilungen, Werbung oder Ähnlichem (ob durch Print-, Rundfunk-, Kommunikations- oder elektronische Form) nicht ohne ausdrückliche Genehmigung auf die Dr. Brill + Partner GmbH bezogen werden.

Die Testergebnisse in diesem Bericht beziehen sich nur auf die untersuchten Gegenstände.

* Test procedure accredited according to DIN EN ISO/IEC 17025. Test report issued by Dr. Brill + Partner GmbH, Norderoog 2, DE – 28259 Bremen, Germany, Telephone +49. 40. 55763164, Telefax +49. 40. 55763161, www.brillhygiene.com. No copying or transmission, in whole or in part, of this test report without the explicit prior written permission. The test results exclusively apply to the tested samples. Information on measurement uncertainty on request. © Dr. Brill + Partner GmbH 2016

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 01.12.2014)
Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz: 58, (4) 2015, 491-492
2. Spearman, C.: The method of 'right or wrong cases' (constant stimuli) without Gauss's formulae.
Brit J Psychol; 2 1908, 227-242
3. Kärber, G.: Beitrag zur kollektiven Behandlung pharmakologischer Reihenversuche.
Arch Exp Path Pharmac; 162, 1931, 480-487
4. Rabenau HF., Schwebke I., Blümel J, Eggers M, Rapp I, Steinmann J, Willkommen H.: 2. Mitteilung des DVV/GfV-Fachausschusses Virusdesinfektion zur DVV/RKI-Leitlinie in der Fassung vom 01.12.2014. Erläuterung zur Bedeutung, Anwendung und Berechnung des „Large-Volume-Platings“ (LVP). Bundesgesundheitsbl. 59, 2016, 540-542.

* Test procedure accredited according to DIN EN ISO/IEC 17025. Test report issued by Dr. Brill + Partner GmbH, Norderoog 2, DE – 28259 Bremen, Germany, Telephone +49. 40. 55763164, Telefax +49. 40. 55763161, www.brillhygiene.com. No copying or transmission, in whole or in part, of this test report without the explicit prior written permission. The test results exclusively apply to the tested samples. Information on measurement uncertainty on request. © Dr. Brill + Partner GmbH 2016

Tabelle 1: Zytotoxizität von Helipur H plus N und der 0,7 %igen Formaldehyd-Lösung

Produkt	Konz.	Belastung	Verdünnungsstufen				
			10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
Prüfpräparat	1,0 %	Aqua bidest.	t	t	-	-	-
Prüfpräparat	1,0 %	10,0 % FKS	t	t	-	-	-
Prüfpräparat	0,1 %	Aqua bidest.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Prüfpräparat	0,1 %	10,0 % FKS	t	-	-	-	-
Prüfpräparat	0,01 %	Aqua bidest.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Prüfpräparat	0,01 %	10,0 % FKS	-	-	-	-	-
Formaldehyd	0,7%	PBS	t	t	t	-	-

n.d. = nicht durchgeführt t = zytotoxisch

* Test procedure accredited according to DIN EN ISO/IEC 17025. Test report issued by Dr. Brill + Partner GmbH, Norderoog 2, DE – 28259 Bremen, Germany, Telephone +49. 40. 55763164, Telefax +49. 40. 55763161, www.brillhygiene.com. No copying or transmission, in whole or in part, of this test report without the explicit prior written permission. The test results exclusively apply to the tested samples. Information on measurement uncertainty on request. © Dr. Brill + Partner GmbH 2016

Tabelle 2: Inaktivierung des BVDV durch Helipur H plus N (1,0 %) und Formaldehyd (0,7 %) im quantitativen Suspensionsversuch bei 20 °C

Produkt	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	
Prüfpräparat	1,0 %	Aqua bidest.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Prüfpräparat	1,0 %	10,0 % FKS	≤3,50±0,00	≤3,50±0,00	n.d.	n.d.	≥4,25±0,25	≥4,25±0,25	n.a.	n.a.	5 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 bidest.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Virus-Kontrollprobe	n.a.	10,0 % FKS	n.d.	n.d.	n.d.	7,75±0,35	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Interferenz-K. PBS	n.a.	-	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Interferenz-K. Testprodukt	n.a.	Aqua bidest.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Interferenz-K. Testprodukt	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 K. = Kontrolle

TCID = Tissue Culture Infectious Dose

Tabelle 3: Inaktivierung des BVDV durch Helipur H plus N (1,0 %) und Formaldehyd (0,7 %) im quantitativen Suspensionsversuch bei 20 °C

Produkt	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	
Prüfpräparat	1,0 %	Aqua bidest.	≤3,50±0,00	n.d.	n.d.	n.d.	≥4,50±0,27	n.a.	n.a.	n.a.	5 min
Prüfpräparat	1,0 %	10,0 % FKS	≤3,50±0,00	n.d.	n.d.	n.d.	≥5,00±0,25	n.a.	n.a.	n.a.	5 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 bidest.	n.d.	n.d.	n.d.	8,00±0,38	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Virus-Kontrollprobe	n.a.	10,0 % FKS	n.d.	n.d.	n.d.	8,50±0,35	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Interferenz-K. PBS	n.a.	-	n.d.	n.d.	n.d.	6,38±0,25	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Interferenz-K. Testprodukt	n.a.	Aqua bidest.	n.d.	n.d.	n.d.	6,38±0,41	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Interferenz-K. Testprodukt	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 K. = Kontrolle

TCID = Tissue Culture Infectious Dose

Tabelle 4: Inaktivierung des BVDV durch Helipur H plus N (1,0 %) und Formaldehyd (0,7 %) im quantitativen Suspensionsversuch bei 20 °C

Produkt	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	
Prüfpräparat	1,0 %	Aqua bidest.	≤3,50±0,00	≤3,50±0,00	n.d.	n.d.	≥4,88±0,18	≥4,88±0,18	n.a.	n.a.	5 min
Prüfpräparat	1,0 %	10,0 % FKS	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
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 bidest.	n.d.	n.d.	n.d.	8,38±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.	n.d.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Interferenz-K. PBS	n.a.	-	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Interferenz-K. Testprodukt	n.a.	Aqua bidest.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Interferenz-K. Testprodukt	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 K. = Kontrolle

TCID = Tissue Culture Infectious Dose

Tabelle 5: Inaktivierung des BVDV durch Helipur H plus N (0,1 %) und Formaldehyd (0,7 %) im quantitativen Suspensionsversuch bei 20 °C

Produkt	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	
Prüfpräparat	0,1 %	Aqua bidest.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Prüfpräparat	0,1 %	10,0 % FKS	5,50±0,35	3,75±0,33	n.d.	n.d.	0,88±0,61	2,63±0,59	n.a.	n.a.	> 15 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 bidest.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Virus-Kontrollprobe	n.a.	10,0 % FKS	n.d.	n.d.	n.d.	6,38±0,49	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Interferenz-K. PBS	n.a.	-	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Interferenz-K. Testprodukt	n.a.	Aqua bidest.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Interferenz-K. Testprodukt	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 K. = Kontrolle

TCID = Tissue Culture Infectious Dose

Tabelle 6: Inaktivierung des BVDV durch Helipur H plus N (0,01 %) und Formaldehyd (0,7 %) im quantitativen Suspensionsversuch bei 20 °C

Produkt	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	
Prüfpräparat	0,01 %	Aqua bidest.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Prüfpräparat	0,01 %	10,0 % FKS	n.d.	6,00±0,38	n.d.	n.d.	n.a.	0,50±0,60	n.a.	n.a.	> 15 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	≤5,38±0,25	≤4,50±0,00	≤4,50±0,00	≤4,50±0,00	≥1,13±0,53	≥2,00±0,46	≥2,00±0,46	≥2,00±0,46	≥ 15 min
Virus-Kontrollprobe	n.a.	Aqua bidest.	n.d.	n.d.	n.d.	6,50±0,46	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Virus-Kontrollprobe	n.a.	10,0 % FKS	n.d.	n.d.	n.d.	6,50±0,46	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Interferenz-K. PBS	n.a.	-	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Interferenz-K. Testprodukt	n.a.	Aqua bidest.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Interferenz-K. Testprodukt	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 K. = Kontrolle

TCID = Tissue Culture Infectious Dose