



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
CoE Infection Control
Seesatz 17
CH – 6204 Sempach

Bremen, 19. Dezember 2016

Gutachten

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

Dieses Gutachten basiert auf dem Prüfbericht L16/0757dV.1 vom 19.12.2016.

Das Instrumentendesinfektionsmittel Helipur H plus N der B. Braun Medical AG wurde gemäß Auftrag auf seine virusinaktivierenden Eigenschaften gegenüber dem Vacciniavirus Stamm Elstree 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. Zusammenfassend ergibt sich eine Wirksamkeit gegenüber dem Vacciniavirus Stamm Elstree wie folgt:

1,0 % 5 Minuten

Dr. Jochen Steinmann

Helipur H plus N – Gutachten nach Leitlinie DVV/RKI 2014

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

Bremen, 19/12/2016

Expert opinion

Activity of Helipur H plus N against vaccinia virus strain Elstree according to the Guideline of DVV/RKI dating 01/12/2014

This expert opinion is based on the test report L16/0757dV.1 dating 19/12/2016.

The virus-inactivating properties of the instrument disinfectant Helipur H plus N 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 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. In summary, a virucidal activity against vaccinia virus strain Elstree was measured as follows:

1.0 % 5 minutes

Dr. Jochen Steinmann



DR. BRILL + DR. STEINMANN
INSTITUT FÜR HYGIENE UND MIKROBIOLOGIE



19.12.2016

Prüfbericht Nr. L16/0757dV.1

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

Prüfvirus: Vacciniavirus Stamm Elstree

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 %: 6,10 (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 Vacciniavirus 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 189) stammten von der Firma Vircell, S.L. aus Spanien, 18320 Santa Fe (jetzt BIOTRIN International GmbH, DE - 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 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).

* 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 % und 0,1 %ige (unwirksamer Bereich) Lösungen
Einwirkzeiten	5 und 15 Minuten
Eiweißbelastung	10,0 % fötales Kälberserum
Aufhebung der Desinfektionsmittelwirkung	unmittelbare Verdünnung
Verdünnungsmittel	Aqua bidest.
Virusstamm	Vacciniavirus Stamm Elstree
Zeitraum der Prüfung	14.10.2016 – 19.12.2016
Abschluss der Prüfung	19.12.2016

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 mit dem Vacciniavirus beimpft. Nach Ausbildung des zytopathogenen Effektes (CPE) (nach ca. 2 Tagen) folgte die Virusernte durch insgesamt drei Einfrier-/Auftauvorgänge und eine Behandlung der Suspension für dreimal 30 sec mit Ultraschall (40 % Leistung). Um den Zelldebris zu entfernen, ist eine weitere Zentrifugation bei 3.000 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

Helipur H plus N ist als 1,0 %ige und 0,1 %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 vorab vorgelegten *Vero-*

* 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

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 (2) und Kärber (3) 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.

5.4 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 0,1 bzw. 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. Für

* 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

die Viruskontrolle zur Bestimmung des initialen Virustiters in den 90,0 %-Ansätzen wurden 0,1 Volumenanteile der Virussuspension ist mit 9,9 Volumenanteilen Aqua bidest. bzw. mit 0,9 Volumenanteilen fötalem Kälberserum und neun Volumenanteilen Aqua bidest. gemischt.

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 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 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.

6. Ergebnisse

6.1 Bestimmung der Zytotoxizität

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

* 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

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 Helipur H plus N (1,0 %) ergab sich eine \log_{10} CD_{50}/ml von 2,50 (Tabelle 1). Die 0,1 %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 Vacciniavirus 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 $\leq 0,5 \log_{10}$ ($7,88 \pm 0,37$ (PBS) versus $8,00 \pm 0,44$ (Desinfektionsmittel, 1,0 %) \log_{10} $TCID_{50}/ml$) (Tabelle 3; 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 Referenzlösung mitgeführte 0,7 %ige Formaldehyd-Lösung reduzierte den Virustiter nach 5 bzw. 15 Minuten um $0,38 \pm 0,37$ bzw. $1,25 \pm 0,33 \log_{10}$ Stufen. Nach 30 und 60 Minuten betrugen die RF $1,75 \pm 0,33$ bzw. $\geq 3,50 \pm 0,38$ (siehe Tabelle 2; Rohdaten siehe Appendix).

* 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

6.4 Virusinaktivierende Wirksamkeit des Desinfektionsmittels

Die Untersuchungsergebnisse der Inaktivierungsversuche finden sich in den Tabellen 2 bis 4 (Rohdaten siehe Appendix).

Helipur H plus N wurde im quantitativen Suspensionsversuch als 1,0 %ige und 0,1 %ige Lösungen bei 20 °C eingesetzt. Die gewählten Einwirkzeiten betrugen 5 und 15 Minuten.

Helipur H plus N wies als 1,0 %ige Lösung eine Wirksamkeit gegenüber dem Vacciniavirus nach 5 Minuten auf (Tabellen 2 und 3). Die Reduktionsfaktoren betrugen zu diesem Zeitpunkt $\geq 5,00 \pm 0,00$ und $\geq 5,25 \pm 0,31$ (ohne Belastung) bzw. $\geq 5,00 \pm 0,00$ und $\geq 5,75 \pm 0,35$ (mit FKS als Belastung). Die Mittelwerte betrugen $\geq 5,13 \pm 0,16$ (ohne Belastung) und $\geq 5,38 \pm 0,18$ (mit FKS als Belastung). Die genannten Mittelwerte entsprechen einer Inaktivierung von $\geq 99,999\%$ und demonstrieren damit eine Wirksamkeit gegenüber dem Vacciniavirus.

Die 0,1 %ige Lösung zeigte mit FKS-Belastung nach 5 Minuten Einwirkzeit keine Wirksamkeit (Tabelle 4).

6.5 Schlussfolgerung

Das Flächendesinfektionsmittel Helipur H plus N war wirksam gegenüber dem Vacciniavirus 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 Prüfberichte 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)
Bundesgesundheitsbl; 58, 2015, 493-504
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

* 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	-	-	-	-
Prüfpräparat	1,0 %	10,0 % FKS	t	-	-	-	-
Prüfpräparat	0,1 %	Aqua bidest.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Prüfpräparat	0,1 %	10,0 % FKS	-	-	-	-	-
Formaldehyd	0,7 %	PBS	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 Vacciniavirus 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 bid.	≤2,50±0,00	≤2,50±0,00	n.d.	n.d.	≥5,00±0,00	≥5,00±0,00	n.a.	n.a.	5 min
Prüfpräparat	1,0 %	10,0 % FKS	≤2,50±0,00	≤2,50±0,00	n.d.	n.d.	≥5,00±0,00	≥5,00±0,00	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	7,13±0,37	6,25±0,33	5,75±0,33	≤4,00±0,38	0,38±0,37	1,25±0,33	1,75±0,33	≥3,50±0,38	> 60 min
Virus-Kontrollprobe	n.a.	Aqua bid.	n.d.	n.d.	n.d.	7,50±0,00	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Virus-Kontrollprobe	n.a.	10,0 % FKS	n.d.	n.d.	n.d.	7,50±0,00	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 Vacciniavirus 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 bid.	≤2,50±0,00	n.d.	n.d.	n.d.	≥5,25±0,31	n.a.	n.a.	n.a.	5 min
Prüfpräparat	1,0 %	10,0 % FKS	≤2,50±0,00	n.d.	n.d.	n.d.	≥5,75±0,35	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 bid.	n.d.	n.d.	n.d.	7,75±0,44	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±0,50	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Interferenz-K. PBS	n.a.	-	n.d.	n.d.	n.d.	7,88±0,37	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Interferenz-K. Testprodukt	n.a.	Aqua bidest.	n.d.	n.d.	n.d.	8,00±0,44	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 Vacciniavirus 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 bid.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
Prüfpräparat	0,1 %	10,0 % FKS	4,38±0,41	n.d.	n.d.	n.a.	3,88±0,65	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 bid.	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.	8,25±0,50	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