**DR. JOCHEN STEINMANN** D-28259 Bremen

Vědecko-technický ředitel Norderoog 2

společnosti MikroLab GmbH

Tel.: +49 (421) 27819102

Fax: +49 (421) 2760283

http://www.mikrolab-gmbh.de

E-mail: MikroLab.GmbH@t-online.de

21.12.2004

MikroLab GmbH, Norderoog 2, D-28259 Bremen Dr. St/sbe

B. Braun Medical AG

Seesatz

CH-6203 Sempach Station

Účinnost přípravku SOFTASEPT N proti viru bovinní virové diarrhoe (BVDV) v rámci kvantitativního suspenzního testu při teplotě 20oC

**ZNALECKÝ POSUDEK**

U dezinfekčního přípravku na kůži SOFTASEPT N společnosti B. Braun Medical AG byly na základě objednávky zkoumány virucidní vlastnosti proti viru bovinní virové diarrhoe (BVDV). Prověření těchto vlastností se provádělo podle směrnice Spolkového zdravotnického úřadu (Bundesgesundheitsamt - BGA, nyní Robert Koch-Institut) a Německého sdružení pro boj proti virovým onemocněním (Deutsche Vereinigung zur Bekämpfung der Viruskrankheiten e.V. - DVV). BVDV přitom sloužil jako surogátní virus pro virus hepatitidy C (HCV), protože tento virus nelze na zvířecím modelu a v systému buněčné kultury rozmnožovat. Testováním tohoto surogátního viru vzniká možnost učinit výpověď ohledně doporučení testovaného přípravku k použití k inaktivaci HCV.

Podle směrnice BGA a DVV je dezinfekční prostředek považován za účinný proti viru, jestliže po určité době působení dojde k redukci výchozího titru viru o ≥ 4 log10 (inaktivace ≥ 99,99 %).

Dezinfekční přípravek na kůži SOFTASEPT N byl zkoumán neředěný. Doby působení činily 15, 30, 60 a 120 sekund. Po 15 sekundách bylo při všech provedeních zkoušky možno prokázat redukci titru viru o 4 log10. Při použití HR kolon MicroSpinTM S-400 nelze o takto krátké době působení vypovídat. Na základě výsledků našich testů lze tudíž doporučit následující použití dezinfekčního přípravku na kůži SOFTASEPT N k inaktivaci BVDV:

**konc. 30 sekund**

*/podpis/*

Dr. J. Steinmann

**DR. JOCHEN STEINMANN** D-28259 Bremen

Vědecko-technický ředitel Norderoog 2

společnosti MikroLab GmbH

Tel.: +49 (421) 27819102

Fax: +49 (421) 2760283

http://www.mikrolab-gmbh.de

E-mail: MikroLab.GmbH@t-online.de

21.12.2004

MikroLab GmbH, Norderoog 2, D-28259 Bremen Dr. St/sbe

B. Braun Medical AG

Seesatz

CH-6203 Sempach Station

Účinnost přípravku SOFTASEPT N proti viru bovinní virové diarrhoe (BVDV) v rámci kvantitativního suspenzního testu při teplotě 20oC

**ZKUŠEBNÍ ZPRÁVA**

Testy inaktivace viru hepatitidy C (HCV) chemickými dezinfekčními prostředky nelze provádět, neboť pro tento patogen nejsou k dispozici vhodné replikační systémy. V nedávné době byl účinek dezinfekčních prostředků s obsahem fenolu a chlóru proti HCV zkoumán na základě schopnosti vázat a na základě infekciozity na Vero buňkách resp. ve Vero buňkách (1). Základem jiného druhu experimentu je výběr testovacích virů, které jsou co do struktury a jejich fyzikálně-chemického chování s patogenem, který nelze replikovat nebo jej lze replikovat jen stěží, do nejvyšší možné míry identické. Pro HCV byl na rozdíl od toho určen virus bovinní virové diarrhoe (BVDV) jako takzvaný surogátní virus (2,3). Tento virus patří stejně jako HCV do čeledi Flaviviridae (Genus Pestivirus). Jedná se malý obalený ssRNA virus s nesegmentovaným vláknem s pozitivní polaritou. Testováním surogátních virů vzniká při zkoušce prováděné za účelem stanovení virucidní účinnosti možnost učinit příslušnou výpověď ohledně aplikačních koncentrací a době působení dezinfekčních přípravků proti humánně patogenním virům, pro které nejsou k dispozici vhodné replikační systémy.

Testovacím virem byl proto z výše uvedených důvodů virus BVDV. Testy inaktivace se prováděly podle směrnice Spolkového zdravotnického úřadu (Bundesgesundheitsamt - BGA, nyní Robert Koch-Institut) a Německého sdružení pro boj proti virovým onemocněním (Deutsche Vereinigung zur Bekämpfung der Viruskrankheiten e.V. - DVV) o ověřování účinnosti chemických dezinfekčních prostředků proti virům (4,5).

Zkouška ke stanovení virucidního účinku (BVDV) přípravku SOFTASEPT N 21.12.2004, strana 2/6

**1. Laboratoř**

MikroLab GmbH, Norderoog 2, D-28259 Bremen

**2. Identifikace vzorku**

|  |  |
| --- | --- |
| Název přípravku | SOFTASEPT N |
| Výrobce | B. Braun Medical AG |
| Číslo šarže | 1323M12 |
| Oblast použití | dezinfekce kůže |
| Vzhled a vůně | čirá červená kapalina  vůně alkoholová |
| Hodnota pH (skleněná elektroda) | neředěno: 8,54 (20oC) |
| Datum dodání | 21.07.2004 |
| Podmínky pro skladování | pokojová teplota, temno  (prostor pro uchovávání není volně přístupný) |
| Účinná látka (účinné látky) a její (jejich) koncentrace ve 100 g | 74,1 g etanolu  10,2 g 2-propanolu |

**3. Podmínky pro provedení zkoušky**

|  |  |
| --- | --- |
| Doba provádění zkoušky | 09.11.2004 - 16.12.2004 |
| Zkušební teplota | 20oC ± 1oC |
| Zkušební koncentrace přípravku | konc. (80,0%) |
| Doby působení | 15, 30, 60 a 120 sekund |
| Bílkovinná zátěž | 0,2% sérového albuminu (BGA/DVV)  10,0% fetálního telecího séra (BGA/DVV) |
| Zrušení účinku dezinfekčního  prostředku | gelová filtrace |
| Ředidlo | odpadá |
| Virový kmen | BVDV, kmen NADL |

Zkouška ke stanovení virucidního účinku (BVDV) přípravku SOFTASEPT N 21.12.2004, strana 5/6

**4.5 Redukce cytotoxicity**

Protože titr BVDV nedosáhl při našich testech hodnoty 108,0ID50/ml a protože byla u testovaného přípravku naměřena vyšší cytotoxicita, byly pro vykázání poklesu titru 4 log10 použity HR kolony MicroSpinTM S-400. Bezprostředně po uplynutí doby působení bylo do HR kolon MicroSpinTM S-400 umístěno vždy 100 μl preparátů, přičemž kolony byly před tím preparovány podle údajů výrobce a dodatečně propláchnuty pomocí 200 μl 0,5% roztoku BSA.

**4.6 Výpočet virucidní účinnosti**

Posouzení virucidního účinku testovaného dezinfekčního přípravku se provádělo na základě výpočtu redukce titru vůči příslušným souběžně prováděným kontrolním titracím bez dezinfekčního přípravku. Rozdíl se udává jako redukční faktor (RF).

**5. Výsledky**

Souběžně se zkouškami inaktivace byla zjišťována cytotoxicita formaldehydového roztoku 0,7% a dezinfekčního přípravku na kůži SOFTASEPT N (80,0%). Formaldehydový roztok, jenž byl současně veden jako kontrola, působil při použití ředění 0,1% (1:1000) na použité buňky bovinní orofaryngeální tkáně (KOP-R) toxicky. Z početního hlediska to znamená, že hodnota log10 CD50/ml (analogicky k hodnotě ID50) činí 4,5 (Tabulka 1).

Naproti tomu při ověřování dezinfekčního přípravku na kůži SOFTASEPT N jako neředěného preparátu činila hodnota log10 CD50/ml 2,5. V ředění 1:10 byla tudíž prokázána cytotoxicita.

Hodnota log10 CD50/ml se po ošetření HR kolonami MicroSpinTM S-400 snížila u přípravku SOFTASEPT N (80,0%) na ≤ 1,5 a u formaldehydového roztoku na 2,5.

Tyto zkoušky ke stanovení cytotoxicity jsou bezpodmínečně nezbytné pro to, aby bylo možné určit spodní mez prokazatelnosti u viru BVDV, jenž nebyl inaktivován.

Zkouška ke stanovení virucidního účinku (BVDV) přípravku SOFTASEPT N 21.12.2004, strana 6/6

Při souběžně prováděné kontrole titru viru před ošetřením HR kolonami MicroSpinTM S-400 nedošlo při zde popisovaných testech k redukci resp. redukce byla nepatrná a byla ve všech případech menší než 0,5 log10 (titr viru bez HR kolon MicroSpinTM S-400: 6,00, 5,75 a 5,87 log10CD50/ml; údaje nejsou znázorněny v podobě tabulky).

Výsledky zkoušek inaktivace jsou uvedeny v Tabulce 2 (hrubá data - viz příloha). Grafické znázornění výsledků se vzhledem k chybějící kinetice inaktivace viru neprovádělo.

0,7% formaldehydový roztok snížil titr BVDV po 5 resp. 15 minutách o 0,75 resp. ≥ 3,00 log10. Redukční faktor činil po 30 resp. 60 minutách ≥ 3,25.

Dezinfekční přípravek na kůži SOFTASEPT N byl zkoumán neředěný. Přidáním virové suspenze a interferujících látek byla získána 80,0% zkušební koncentrace. Doby působení činily 15, 30, 60 a 120 sekund.

Z tabulky 2 je patrné, že dezinfekční přípravek na kůži SOFTASEPT N vykázal jako neředěný velmi vysokou účinnost proti BVDV. Po 15 sekundách doby působení nebyl již detekován žádný virus BVDV. Redukční faktory činily ≥ 4,25 (provedení zkoušky bez zátěže), ≥ 4,25 (provedení s BSA) resp. ≥ 4,37 (provedení s FKS). To znamená, že inaktivace činí ≥ 99,99% a že je vykázána účinnost proti BVDV. Jak je známo, je podle směrnice BGA a DVV účinnost proti viru dána vždy tehdy, jestliže lze vykázat redukci titru ≥ 4 log10 (inaktivace ≥ 99,99 %).

*/podpis/*

Dr. J. Steinmann