

Laboratoire de Virologie ULR3610

CHU de Lille – Université de Lille

Centre Paul Boulanger, Hôpital A. Calmette

Bd du Pr Jules Leclercq

59037 Lille Cedex

France

Tel : (33) 03.20.44.66.88/48.93/69.30

Fax : (33) 03.20.44.48.95

Email : didier.hober@chru-lille.fr

N° de rapport : 2023/0728-01

Date d'édition : 28/07/2023

RAPPORT D'ESSAI / TRIAL REPORT

DETERMINATION DE L'ACTIVITE VIRUCIDE DE LA FORMULE F3320

**Selon la Norme NF EN 14476+A2 (Juillet 2019)
Vis à vis du Virus de la Vaccine**

EVALUATION OF THE VIRUCIDAL EFFECT OF THE FORMULA F3320

**Test method according to the standard NF EN 14476+A2 (July 2019)
Against the Vaccinia Virus**

Rapport pour / Report submitted to:

**SODEL
190 Rue René Barthélemy
14100 Lisieux, France**

Ce rapport d'essai ne concerne que le produit (cité ci-après) soumis à l'essai. Les résultats ne valent que pour l'échantillon soumis au dosage et tel qu'il a été remis par le client.

This trial report concerns only the product (quoted this later) subjected on approval. The results are only valid for the sample submitted to the dosage and as delivered by the client.

Ce document comporte 12 pages numérotées et 2 annexes de 6 pages.

This report is made of 12 numbered pages and 2 annexes of 6 pages.

La reproduction de ce rapport d'essai n'est autorisée que sous la forme de fac-similé photographique intégral. Seule la version électronique fait foi.

*The reproduction of this trial report is authorized only under the shape of complete photographic reproduction
Only the electronic version is valid.*

I- Introduction / Introduction

A la demande de la société SODEL, la Formule **F3320** a été évaluée pour ses propriétés inactivatrices contre la souche Elstree du Virus de la Vaccine. L'essai a été effectué selon la norme NF EN 14476+A2 : Antiseptiques et désinfectants chimiques – Essai quantitatif de suspension pour l'évaluation de l'activité virucide dans le domaine médical – Méthode d'essai et prescriptions (Phase 2/ Etape 1) – Juillet 2019.

*As requested by the SODEL Society, the Formula **F3320** was evaluated for its virucidal inactivating properties against the Vaccinia Virus strain Elstree. The testing was carried out in accordance with the standard NF EN 14476+A2: Chemical disinfectants and antiseptics – Quantitative suspension test for the evaluation of virucidal activity in the medical area - Test method and requirements (Phase 2/ Step 1) – July 2019.*

II- Identification du produit / Identification of sample

--Nom du produit* / Name of the product* : Formule F3320 / Formula F3320

- Fabricant / Manufacturer : SODEL

- N° de lot – N° de formule* / Batch N° - Formula N°* : 0224E017230404J

- Date d'échantillonnage (réalisé sous la responsabilité du client)* / Date of sampling (carried out under the responsibility of the customer)* :

- Date de réception / Date of receipt : 18/07/2023 / 07/18/2023

- Aspect du produit / Appearance of the product : Liquide limpide et rouge / Clear and red liquid

- Diluant du produit recommandé* / Product diluent recommended* : Eau dure / Hard water

- Substances actives* / Activ substances* : Chlorhexidine 4%

- pH du produit / pH value of the product : Non Dilué (19,1°C) pH=5,02 / Undiluted (19.1°C) pH=5.02

- Conditions de stockage* / Storage conditions* : Température ambiante, à l'abri de la lumière / Room temperature and darkness

- Application* / Use* : Lavage hygiénique des mains et lavage chirurgical/ Hygienic hand washing and surgical scrubbing

NB : * : Données indiquées sous la seule responsabilité du client / Data indicated only in the responsibility of the client

III- Conditions expérimentales / Experimental conditions

- Période d'essai / Period of analysis : du 18/07/23 au 28/07/23 / Through 07/18/23 to 07/28/23

- Température d'essai / Test temperature : 20°C +/- 1°C

- Concentrations en produit testées / Concentrations of the test product : 0.1%, 40% et / and 50%

- Temps de contact / Contact times : 2 minutes

- Diluant du produit / Diluent of the product : Eau dure / Hard water

- Apparence de la formule et de ses dilutions / Appearance formula dilutions : Préparation physiquement homogène et stable pendant l'essai / Preparation physically homogeneous and stable during test

- Substances interférentes / *Interfering substances* : Conditions de saleté : Solution de sérum albumine bovine sérique (SAB) et hématies de mouton à la concentration finale dans l'essai de 3 g de SAB et 3 ml d'hématies de mouton par litre / *Dirty conditions* : *Bovine serum albumin (BSA) and sheep erythrocytes at final concentration of 3 g of BSA and 3 ml of sheep erythrocytes per liter in test*

- Stabilité du mélange (formule et substances interférentes) / *Stability of the mixture (formula and interfering substance)* : Absence de précipité pendant l'essai / *Precipitate absent throughout the test*

- Méthode pour stopper l'activité du produit / *Procedure to inactivate the product* : Filtration par gel / *Gel filtration*

IV- Matériel et Méthodes / Material and methods

1- Matériel / Material

a) Virus / *Virus*

La souche Elstree du virus de la Vaccine (ATCC VR-1549) a été fournie par la société LGC Promochem (Molsheim, France).

The Vaccinia virus strain Elstree (ATCC VR-1549) was obtained from LGC Promochem (Molsheim, France).

- Numéro de lot interne / *internal lot number* : Lot Vac-281222A-PE (passage 02)

- Titre de la suspension d'essai / *Viral title of the assay supernatant* : $10^{7,33}$ DICT₅₀/ml / $10^{7,33}$ TCID₅₀/ml

b) Lignée cellulaire / *Cell line*

La lignée cellulaire Vero (ATCC CCL-81) utilisée pour cultiver le virus de la Vaccine provient de l'European Collection of Cell Cultures (ECACC) (Sigma-Aldrich, L'isle d'Abeau Chesnes, France).

The Vero cell line (ATCC CCL-81) used with the Vaccinia Virus was obtained from the European Collection of Cell Cultures (ECACC) (Sigma-Aldrich, L'isle d'Abeau Chesnes, France).

Nombre de passage / *passage number* : Subculture P24-35

2- Méthodes d'essai / Methods

a) Titrage viral / *Determination of the viral infectivity*

Les suspensions virales traitées ou non traitées par le produit à tester sont diluées en série de 10^{-1} à 10^{-8} , dans du Milieu MEM de Eagle modifié Dulbecco (DMEM, Invitrogen, France) avec 2% de sérum de veau fœtal (SVF, Invitrogen, France) glacé. 0,1 ml de chaque dilution est ensuite transféré dans 6 puits d'une plaque 96 puits de microtitration contenant un tapis monocellulaire pré-établi de cellules Vero, en commençant par la dilution la plus élevée. Après une heure d'incubation à 37°C en présence de 5% de CO₂, 0,1 ml de milieu de culture est additionné à chaque puits. La lecture de l'effet cytopathogène (ECP) se fait au microscope inversé après 12 et 15 jours d'incubation. Le calcul du titre de l'infectivité virale (\log_{10} DICT₅₀/ml) est déterminé par la méthode Spearman-Kärber.

The viral suspensions treated or non-treated with the product were diluted from 10^{-1} to 10^{-8} in ice-cold Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM, Invitrogen, France) containing 2% fetal calf serum (FCS, Invitrogen, France). 0.1 ml of each dilution was transferred, beginning with the highest dilution, into six wells of

a 96 wells microtitre plate with an established Vero monolayer. Microtitre plates were incubated at 37°C in a 5% CO₂-atmosphere. 1 h after 0.1 ml of culture medium was added to each well. The cytopathic effect (CPE) was read by using an inverted microscope after 12 and 15 days in a 5% CO₂-atmosphere. Calculation of estimated virus concentration (log₁₀ TCID₅₀/ml) was carried out by the Spearman-Kärber method.

b) Détermination de la concentration subcytotoxique du produit / *Determination of the product cytotoxicity*

Les solutions d'essai du produit additionnées de 1/10^{ème} de la substance interférente et de 1/10^{ème} d'eau dure sont diluées de 10⁻¹ à 10⁻⁵ dans du milieu de culture glacé avec 2% SVF. 0,1 ml de chaque dilution est distribué dans 6 puits d'une plaque 96 puits de microtitration contenant un tapis monocellulaire pré-établi de cellules Vero. Après une incubation d'une heure à 37°C en présence de 5% de CO₂, 0,1 ml de milieu de culture est ajouté aux puits. L'effet subcytotoxique est apprécié après une incubation de 7 jours en présence de 5% de CO₂.

For determination of cytotoxicity of the disinfectant solutions, 8 parts by volume of solutions of disinfectant mixed with 1 part of interfering substance and 1 part by volume of hard water, were diluted from 10⁻¹ to 10⁻⁵ with ice-cold culture medium containing 2% FCS. 0.1 ml of each dilution was transferred, into 6 wells of a 96 wells microtitre plate with an established Vero monolayer. Microtitre plates were incubated at 37°C in a 5% CO₂-atmosphere. 1 h after 0.1 ml of culture medium was added to each well. The cytotoxic effect was read after 7 days in a 5% CO₂-atmosphere.

c) Elimination de la cytotoxicité du produit / *Elimination of the product cytotoxicity*

0,1ml des solutions d'essai du produit additionnées de 1/10^{ème} de la substance interférente et de 1/10^{ème} d'eau dure, sont filtrées sur colonne Microspin S-400 HR (GE Healthcare). Les filtrats sont ensuite dilués de 10⁻¹ à 10⁻³ dans du milieu DMEM à 2% de SVF glacé. 0,1 ml de chaque dilution est distribué dans 6 puits d'une plaque 96 puits de microtitration contenant un tapis monocellulaire pré-établie de cellules Vero. Après une incubation d'une heure à 37°C en présence de 5% de CO₂, 0,1 ml de milieu de culture DMEM 2% est ajouté aux puits. L'effet subcytotoxique est apprécié après une incubation de 10 jours à 37°C en présence de 5% de CO₂.

For elimination of cytotoxicity of the disinfectant solutions, 0.1 ml of 8 parts by volume of solutions of disinfectant mixed with 1 part of interfering substance and 1 part by volume of hard water, were filtrated on Microspin S-400 HR column (GE Healthcare). Then filtrates were diluted from 10⁻¹ to 10⁻³ with ice-cold DMEM + 2% FCS. 0.1 ml of each dilution was transferred, into 6 wells of a 96 wells microtitre plate with an established Vero monolayer. Microtitre plates were incubated at 37°C in a 5% CO₂-atmosphere. 1 h after 0.1 ml of culture medium was added to each well. The cytotoxic effect was read after incubation during 10 days in a 5% CO₂-atmosphere.

d) Sensibilité des cellules au virus / *Cell sensitivity to the virus*

Un titrage comparatif du virus est réalisé sur les cellules Vero traitées ou non par le désinfectant afin de tester la réduction de sensibilité des cellules au virus en présence du produit. 0,1 ml de la plus basse dilution apparemment non cytotoxique du désinfectant ou de PBS est distribué dans 8 x 6 puits d'une plaque 96 puits de microtitration contenant un tapis monocellulaire pré-établi de cellules Vero. Après 1 h à 37°C en présence de 5% de CO₂, 0,1 ml de virus dilués de 10⁻¹ à 10⁻⁸ dans du milieu de culture avec 2% de SVF, est distribué en parallèle sur les cellules traitées ou non traitées. La lecture de l'effet cytopathogène (ECP) se fait après 12 et 15 jours d'incubation à 37°C en présence de 5% de CO₂ et le titre viral est calculé.

A comparative virus titration is performed on Vero cells that have or have not been treated with the disinfectant to check the reduction of the cells sensitivity to the virus. 0.1 ml of the lowest apparently non-cytotoxic dilution of the disinfectant or of PBS are distributed onto 8 x 6 wells of a 96 wells microtitre plate with an established Vero monolayer. After 1 h at 37°C in a 5% CO₂-atmosphere, 0.1 ml of virus diluted from 10⁻¹ to 10⁻⁸ with culture medium containing 2% FCS was added on treated or untreated cells in parallel. The cytopathic effect (CPE) was read after incubation during 12 and 15 days at 37°C in a 5% CO₂-atmosphere and the virus titer was calculated.

e) *Mesure de l'activité virucide du produit / Determination of the virucidal activity*

Les essais de virucidie du produit consistent à mettre en contact 1 volume de suspension de virus avec 1 volume de substance interférente et 8 volumes de la solution d'essai. Après différents temps de contact à une température de 20°C +/- 1°C, 0,1ml de mélange est prélevé et filtré sur colonne Microspin S-400 HR. La quantité de virus résiduel dans le filtrat est évaluée par la technique de titrage sur cellule Vero.

L'activité virucide du produit test est mesurée en calculant la chute du titre viral obtenu après traitement par comparaison avec un témoin de titrage obtenu en absence de désinfectant. La différence est exprimée en facteur de réduction (FR).

To test the virucidal activity of the product 1 part by volume of virus was incubated at 20°C +/- 1°C with 1 part by volume of interfering substances and 8 parts by volume of the solution of disinfectant. After different time of contacts, 0.1ml of mixture was taken and filtered on Microspin S-400 HR column. The quantity of residual virus in the filtrate was evaluated by titration on Vero cell.

The virucidal activity of the test disinfectant was evaluated by calculating the decrease in titre in comparison with the control titration without disinfectant. The difference is given as reduction factor (RF).

f) *Contrôle de l'efficacité de l'arrêt de l'activité du désinfectant / Control of the efficiency for suppression of the disinfectant activity*

- Méthode par dilution / Dilution method :

Huit Volumes des solutions d'essai du produit sont additionnés à 1 volume de milieu de culture et 1 volume de substance interférente. Immédiatement après la préparation du mélange, au temps 0, 1 volume du mélange est additionné à 8 volumes de milieu de culture et 1 volume de virus et incubés pendant 30 min dans un bain de glace fondante. Puis les suspensions virales sont diluées de 10⁻² à 10⁻⁹ dans du milieu de culture glacé et la quantité de virus résiduel est évaluée par la technique de titrage sur cellule Vero.

Eight parts by volume of solutions of disinfectant are mixed with 1 part by volume of interfering substances and 1 part by volume culture medium. Immediately after preparation of the mixture, at time 0, 1 part by volume of the mixtures is mixed with 8 parts by volume of culture medium and 1 part by volume of virus and the mixtures are leaved in an ice bath for 30 min. Then the viral suspensions were diluted from 10⁻² to 10⁻⁹ in ice-cold culture medium and the quantity of residual virus was evaluated by titration on Vero cell.

- Méthode par filtration / Filtration method :

Huit Volumes des solutions d'essai du produit sont additionnés à 1 volume de milieu de culture et 1 volume de substance interférente. Immédiatement après la préparation du mélange, au temps 0, 0,1ml du mélange sont filtrées sur colonne Microspin S-400 HR. Les filtrats sont ensuite additionnés à 8 volumes de milieu de culture et 1 volume de virus et incubés pendant 30 min dans un bain de glace fondante. Puis les suspensions virales sont diluées de 10⁻² à 10⁻⁹ dans du milieu de culture glacé et la quantité de virus résiduel est évaluée par la technique de titrage sur cellule Vero.

Eight parts by volume of solutions of disinfectant are mixed with 1 part by volume of interfering substances and 1 part by volume culture medium. Immediately after preparation of the mixture, at time 0, 0.1ml

of the mixtures are filtered on Microspin S-400 HR column. Then the filtrates are mixed with 8 parts by volume of culture medium and 1 part by volume of virus and the mixtures are leaved in an ice bath for 30 min. Then the viral suspensions were diluted from 10^{-2} to 10^{-9} in ice-cold culture medium and the quantity of residual virus was evaluated by titration on Vero cell.

g) Inactivation du virus au Formaldéhyde à 0,7% (m/v) / *Inactivation of the virus with 0.7% (w/v) Formaldehyde*

La suspension de virus a été soumise à des essais virucides vis-à-vis du Formaldéhyde à 0,7% (m/v) comme substance de référence pour l'inactivation virale afin de contrôler l'uniformité du comportement de notre souche virale aux agents chimiques au cours du temps.

Les essais consistent à mettre en contact 1 volume de suspension de virus avec 4 volumes de solution tamponnée au phosphate (PBS, Invitrogen, France) et 5 volumes de Formaldéhyde à 1,4% (m/v). Après des temps de contact de 5 min et 15 min à une température de $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, un aliquote de mélange est prélevé et filtré sur colonne Microspin S-400 HR. La quantité de virus résiduel dans le filtrat a été évaluée par la technique de titrage sur cellule Vero.

The suspension of virus was subjected to virucidal tests against 0.7% (w/v) Formaldehyde solution as reference substance for viral inactivation in order to control the uniformity of the behaviour of our virus stock to the chemical agents during the time.

To test the virucidal activity 1 part by volume of virus was incubated with 4 parts by volume of phosphate buffered saline (PBS, Invitrogen, France) and 5 parts by volume of 1.4% (w/v) Formaldehyde. After incubation time of 5 min and 15 min at $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, an aliquot of mixture was taken and filtered on Microspin S-400 HR column. The quantity of residual virus in the filtrate was evaluated by titration on Vero cell.

V- Résultats / Results

1) Détermination de la dilution subcytotoxique de la Formule F3320 et du filtrat sur colonne Microspin / Determination of the subcytotoxic dilution of the Formula F3320 and filtrate on Microspin column :

Méthode / Method	Dilution subcytotoxique / subcytotoxic dilution			
	Formule F3320 (0,1%) / Formula F3320 (0.1%)	Formule F3320 (40%) / Formula F3320 (40%)	Formule F3320 (50%) / Formula F3320 (50%)	Formaldéhyde (0,7%) / Formaldehyde (0.7%)
Technique par dilution / Dilution method	1/100	1/10 000	1/10 000	1/10 000
Filtration sur Microspin / Microspin filtration	1/10	1/10	1/10	1/10

Interprétation / Interpretation

La solution d'essai du produit n'affecte pas la morphologie et la croissance cellulaires.
The product test solution does not affect cell morphology and growth

2) Evaluation de la sensibilité des cellules au virus suite au traitement par la Formule F3320 ou le Formaldéhyde à 0,7% / Evaluation of the cell sensitivity to the virus after treatment with the Formula F3320 or 0.7% Formaldehyde

	Log ₁₀ DICT ₅₀ (FR) / Log ₁₀ TCID ₅₀ (RF)	
	Formule F3320 (50%) / Formula F3320 (50%)	Formaldéhyde (0,7%) / Formaldehyde (0.7%)
Cellules non traitées / Non treated cells	6.33 +/- 0.27	6.33 +/- 0.27
Cellules traitées / Treated cells	6.33 +/- 0.17 (0.00 +/- 0.63)	6.17 +/- 0.21 (0.17 +/- 0.68)

Légende / legend :

FR/RF : Facteur de réduction (en log) / Reducing factor (log)

Interprétation / Interpretation

Si $FR < 1 \log_{10}$, les conditions expérimentales sont applicables lors de l'essai pour les quantités de produit mises en œuvre.

If $RF < 1 \log_{10}$, the experimental conditions are usable during the test for the quantities of product used.

3) Contrôle de l'efficacité de l'arrêt de l'activité du désinfectant / Control of the efficiency for suppression of the disinfectant activity

- Méthode par dilution / Dilution method :

Produit / Product	Concentration	Log ₁₀ DICT ₅₀ (FR) / Log ₁₀ TCID ₅₀ (RF)
Témoin virus / Virus control	n.a.	6.17 +/- 0.21
Formule F3320 / Formula F3320	0.1%	6.17 +/- 0.28 (0.00 +/- 0.70)
Formule F3320 / Formula F3320	40%	6.00 +/- 0.22 (0.17 +/- 0.61)
Formule F3320 / Formula F3320	50%	6.17 +/- 0.28 (0.00 +/- 0.70)
Témoin virus / Virus control	n.a.	6.17 +/- 0.28
Formaldéhyde / Formaldehyde	0.7%	6.33 +/- 0.17 (-0.17 +/- 0.65)

Légende / legend :

n.a. : non applicable / non applicable

FR/RF : Facteur de réduction (en log) / Reducing factor (log)

Interprétation / Interpretation

Si $FR \leq 0,5 \log_{10}$, les conditions expérimentales sont applicables lors de l'essai pour les quantités de produit mises en œuvre. Si $FR > 0,5 \log_{10}$, possibilité d'utiliser la méthode par filtration.

If $RF \leq 0.5 \log_{10}$, the experimental conditions are usable during the test for the quantities of product used. If $RF > 0.5 \log_{10}$, possibility of using the filtration method.

- Méthode par filtration / Filtration method :

Produit / Product	Concentration	Log ₁₀ DICT ₅₀ (FR) / Log ₁₀ TCID ₅₀ (RF)
Témoin virus / Virus control	n.a.	6.17 +/- 0.28
Formule F3320 / Formula F3320	0.1%	6.00 +/- 0.22 (0.17 +/- 0.71)
Formule F3320 / Formula F3320	40%	6.17 +/- 0.21 (0.00 +/- 0.70)
Formule F3320 / Formula F3320	50%	6.00 +/- 0.22 (0.17 +/- 0.71)
Témoin virus / Virus control	n.a.	6.00 +/- 0.22
Formaldéhyde / Formaldehyde	0.7%	6.00 +/- 0.22 (0.00 +/- 0.63)

Légende / legend :

n.a. : non applicable / non applicable

FR/RF : Facteur de réduction (en log) / Reducing factor (log)

Interprétation / Interpretation

Si $FR \leq 0,5 \log_{10}$, les conditions expérimentales sont applicables lors de l'essai pour les quantités de produit mises en œuvre.

If $RF \leq 0.5 \log_{10}$, the experimental conditions are usable during the test for the quantities of product used.

4) Evaluation de l'effet virucide de la Formule F3320 / Evaluation of the virucidal activity of the Formula F3320:

Tableau des résultats de virucidie de la Formule F3320 en conditions de saleté sur la souche Elstree du virus de la Vaccine

Table on the virucidal activity of the Formula F3320 in dirty conditions on the Vaccinia Virus strain Elstree

Produit / Product	Concentration	Substance interférente / Interfering solution	Log ₁₀ DICT ₅₀ après xx min (FR) / Log ₁₀ TCID ₅₀ after xx min (RF)		≥4 log réduction après xx min / ≥4 log reduction after xx min
			<0.25	2	
Témoin virus / Virus control	n.a.	3 g/l SAB et 3 ml/l hématies de mouton / 3 g/l BSA and 3 ml/l sheep erythrocyte	5.00 +/- 0.22	4.83 +/- 0.21	n.a.
Formule F3320 / Formula F3320	50%		0.83 +/- 0.21 (4.17 +/- 0.61)	0.50 +/- 0.00 (4.33 +/- 0.42)	≥2 min
Formule F3320 / Formula F3320	40%		2.00 +/- 0.37 (3.00 +/- 0.87)	0.50 +/- 0.00 (4.33 +/- 0.42)	≥2 min
Formule F3320 / Formula F3320	0.1%		4.33 +/- 0.17 (0.67 +/- 0.56)	3.50 +/- 0.00 (1.33 +/- 0.42)	>2 min

Légende / legend :

n.a. : non applicable / non applicable

FR/RF : Facteur de réduction (en log) / Reducing factor (log)

Interprétation / Interpretation

Taux de réduction minimum sur les virus (activité virucide) : FR ≥ 4 log₁₀

Minimal reduction rate on virus (virucidal activity): RF ≥ 4 log₁₀

Tableau des résultats de virucidie du Formaldéhyde 0,7% sur la souche Elstree du virus de la Vaccine

Table on the virucidal activity of 0.7% Formaldehyde on the Vaccinia Virus strain Elstree

Produit / Product	Concentration	Substance interférente / Interfering solution	Log ₁₀ DICT ₅₀ après xx min (FR) / Log ₁₀ TCID ₅₀ after xx min (RF)			≥4 log réduction après xx min / ≥4 log reduction after xx min
			<0.25	5	15	
Témoin virus / Virus control	n.a.	PBS	5.00 +/- 0.22	n.t	5.00 +/- 0.22	n.a.
Formaldéhyde / Formaldehyde	0.7%		3.83 +/- 0.21 (1.17 +/- 0.61)	2.83 +/- 0.21 (2.17 +/- 0.61)	2.00 +/- 0.22 (3.00 +/- 0.63)	>15 min

Légende / legend :

n.a. : non applicable / non applicable

FR/RF : Facteur de réduction (en log) / Reducing factor (log)

Interprétation / Interpretation

L'essai est valable si FR compris entre 0,75 log₁₀ et 3,5 log₁₀ après 5 min et entre 2 log₁₀ et ≥4 log₁₀ après 15 min.

The test is valid if RF is between 0.75 log₁₀ and 3.5 log₁₀ after 5 min and between 2 log₁₀ and ≥4 log₁₀ after 15 min.

VI- Avis/Conclusion / Advice/Conclusion

La Formule **F3320** est active (réduction ≥ 4 log du titre viral) aux concentrations 40% et 50 % après un temps de contact de 2 minutes à 20°C, selon la norme NF EN 14476+A2 (Juillet 2019), en conditions de saleté vis-à-vis de la souche Elstree du virus de la Vaccine.

*The Formula **F3320** is active (reduction ≥ 4 log of the viral titer) at the concentrations 40% and 50% after 2 minutes of exposure time at 20°C, according to the standard NF EN 14476+A2 (July 2019), in dirty conditions against the Vaccinia Virus strain Elstree.*

Lille, le 28/07/2023

Responsable technique



Dr. F SANE

Chef de Service



Pr. D. HOBER

Fin du rapport (rapport complet) / End of the report (complete report)

Aucun résultat ne sera diffusé sans l'autorisation du client.

Les réclamations peuvent être transmises par mail à l'adresse : didier.hober@chru-lille.fr

Les modalités de gestion sont disponibles sur demande auprès de la cellule qualité CelluleQualiteLABO@chru-lille.fr

No results will be published without the client's authorization.

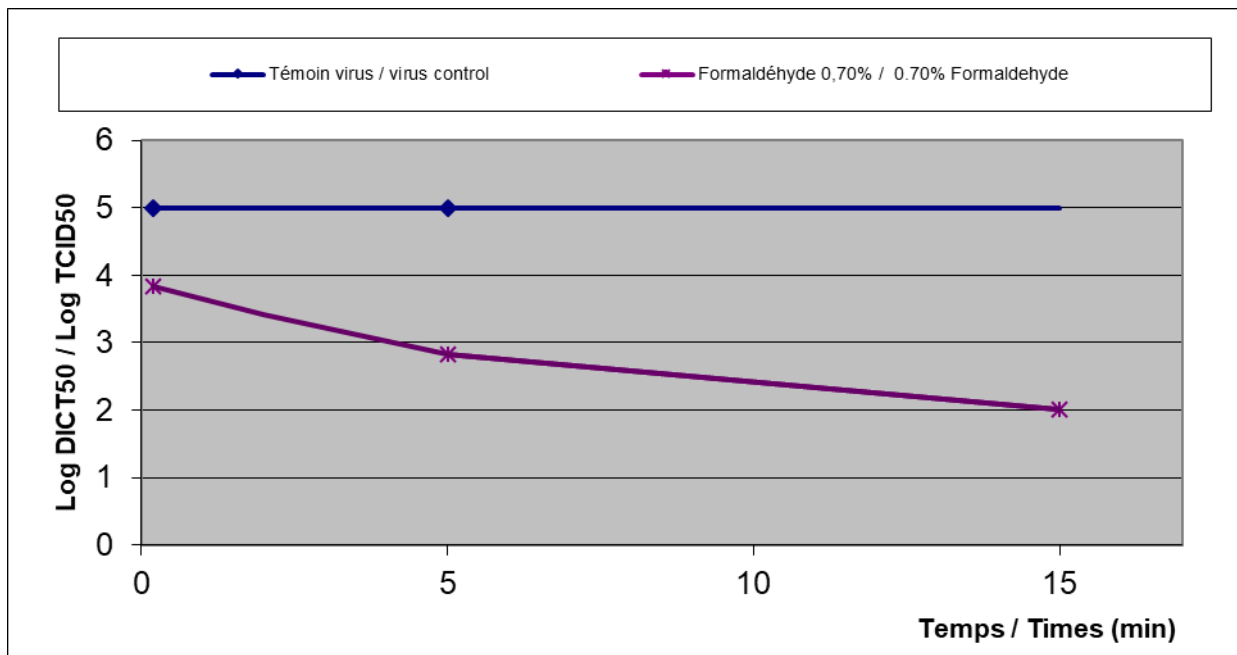
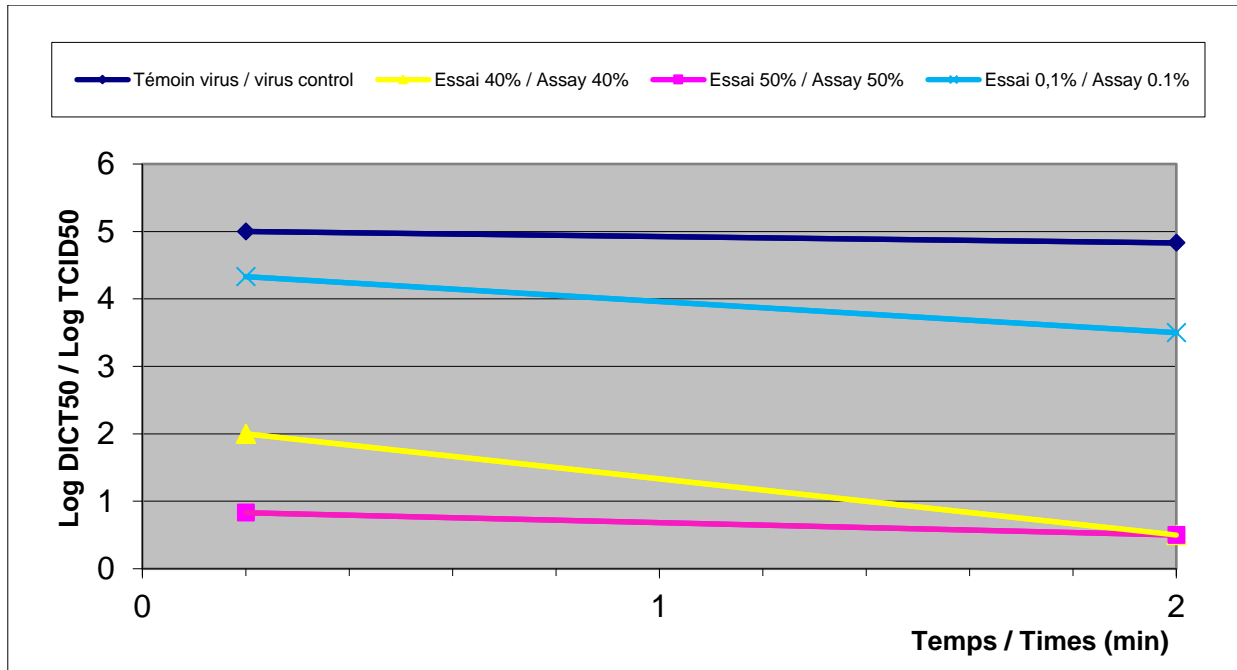
Complaints can be sent by email to the address: didier.hober@chru-lille.fr

Management procedures are available on request from the quality unit CelluleQualiteLABO@chru-lille.fr

Annexe 1 / Annex 1 :

Représentation graphique des résultats de virucidie de la Formule **F3320** en conditions de saleté et du Formaldéhyde à 0,7% vis-à-vis du Virus de la vaccine

*Figure of the virucidal activity of the Formula **F3320** in dirty conditions and 0.7% Formaldehyde against the Vaccinia Virus*



Annexe 2 / Annex 2 :

Données brutes relatives aux tests réalisés

Raw data about the assays

- Titre de la suspension d'essai / *Viral title of the assay supernatant :*

Produit / <i>Product</i>	Dilution (log) ^(a)							
	2	3	4	5	6	7	8	9
Suspension d'essai <i>/ essai supernatant</i>	4 4	4 4	4 4	4 4	0 4	0 0	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 0	0 0	0 0

- Détermination de la dilution subcytotoxique de la Formule F3320 et du filtrat sur colonne Microspin / *Determination of the subcytotoxic dilution of the Formula F3320 and filtrate on Microspin column :*

Produit <i>/ Product</i>	Méthode <i>/ Method</i>	Dilution (log)								
		1	2	3	4	5	6	7	8	
Formule F3320 (0,1%) <i>/ Formula F3320 (0.1%)</i>	Technique par dilution <i>/ Dilution method</i>	T T T	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	n.t.	n.t.	n.t.
	Filtration sur Microspin <i>/ Microspin filtration</i>	0 0 0	0 0 0	0 0 0	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	
Formule F3320 (40%) <i>/ Formula F3320 (40%)</i>	Technique par dilution <i>/ Dilution method</i>	T T T	T T T	T T T	0 0 0	0 0 0	n.t.	n.t.	n.t.	
	Filtration sur Microspin <i>/ Microspin filtration</i>	0 0 0	0 0 0	0 0 0	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	
Formule F3320 (50%) <i>/ Formula F3320 (50%)</i>	Technique par dilution <i>/ Dilution method</i>	T T T	T T T	T T T	0 0 0	0 0 0	n.t.	n.t.	n.t.	
	Filtration sur Microspin <i>/ Microspin filtration</i>	0 0 0	0 0 0	0 0 0	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	
Formaldéhyde (0,7%) <i>/ Formaldehyde (0.7%)</i>	Technique par dilution <i>/ Dilution method</i>	T T T	T T T	T T T	0 0 0	0 0 0	n.t.	n.t.	n.t.	
	Filtration sur Microspin <i>/ Microspin filtration</i>	0 0 0	0 0 0	0 0 0	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	

Légende / legend :

T : Toxique / Toxic

T* : Toxicité partielle / Partial toxicity

n.t. : non soumis à l'essai / non tested

- Résultats de la sensibilité des cellules au virus suite au traitement par la Formule F3320 ou le Formaldéhyde à 0,7% / Cell sensitivity to the virus after treatment with the Formula F3320 or 0.7% Formaldehyde

Produit / Product	Méthode / Method	Dilution (log) ^(a)							
		2	3	4	5	6	7	8	9
Formule F3320 (50%) / Formula F3320 (50%)	Cellules non traitées / Non treated cells	4 4	4 4	4 4	4 4	4 0	0 0	0 0	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	0 4	0 0	0 0	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 4	0 0	0 0
	Cellules traitées / Treated cells	4 4	4 4	4 4	4 4	4 0	0 0	0 0	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0	0 0
Formaldéhyde (0,7%) / Formaldehyde (0.7%)	Cellules non traitées / Non treated cells	4 4	4 4	4 4	4 4	4 0	0 0	0 0	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	0 4	0 0	0 0	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 4	0 0	0 0
	Cellules traitées / Treated cells	4 4	4 4	4 4	4 4	4 0	0 0	0 0	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	0 4	0 0	0 0	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0	0 0

Légende / legend :

(a) 1 à 4 : virus présents, degré de l'ECP dans 6 puits de plaques de microtitration
0 : aucun virus présent.

- Résultats de l'efficacité de l'arrêt de l'activité du désinfectant / Control of the efficiency for suppression of the disinfectant activity

- Méthode par dilution / Dilution method

Produit / Product	Dilution (log) ^(a)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Témoin virus / Virus control	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 0	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 0	0 0	0 0
Formule F3320 (0,1%) / Formula F3320 (0.1%)	T T	4 4	4 4	4 4	4 4	4 0	0 4	0 0
	T T	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0
	T T	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0	0 0
Formule F3320 (40%) / Formula F3320 (40%)	T T	T T	T T	4 4	4 4	0 0	0 0	0 0
	T T	T T	T T	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0
	T T	T T	T T	4 4	4 4	4 0	0 0	0 0
Formule F3320 (50%) / Formula F3320 (50%)	T T	T T	T T	4 4	4 4	0 0	0 0	0 0
	T T	T T	T T	4 4	4 4	4 0	0 0	0 0
	T T	T T	T T	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0
Témoin virus / Virus control	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 0	0 4	0 0
Formaldéhyde (0,7%) / Formaldehyde (0.7%)	T T	T T	T T	4 4	4 4	4 0	0 0	0 0
	T T	T T	T T	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0
	T T	T T	T T	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0

Légende / legend :

(a) 1 à 4 : virus présents, degré de l'ECP dans 6 puits de plaques de microtitration

0 : aucun virus présent.
 T : Toxique / Toxic

- Méthode par filtration / *Filtration method*

Produit / <i>Product</i>	Dilution (log) ^(a)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Témoin virus / <i>Virus control</i>	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 4	4 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 4	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 0	0 0	0 0
Formule F3320 (0,1%) / <i>Formula F3320 (0.1%)</i>	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 0	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 4	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 0	0 0	0 0
Formule F3320 (40%) / <i>Formula F3320 (40%)</i>	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 0	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 0	0 0	0 0
Formule F3320 (50%) / <i>Formula F3320 (50%)</i>	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 0	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0	0 0
Témoin virus / <i>Virus control</i>	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 4	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 0	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 4	0 0	0 0
Formaldéhyde (0,7%) / <i>Formaldehyde (0.7%)</i>	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 0	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0	0 0

Légende / legend :

(a) 1 à 4 : virus présents, degré de l'ECP dans 6 puits de plaques de microtitration
 0 : aucun virus présent.
 T : Toxique / Toxic

- Résultats de virucidie de la Formule F3320 / *Virucidal activity of the Formula F3320*

Produit / Product	Substance interférente / Interfering solution	Temps de contact / Contact times	Dilution (log) ^(a)							
			1	2	3	4	5	6	7	8
Témoin virus / Virus control	3 g/l SAB et 3 ml/l hématies de mouton / 3 g/l BSA and 3 ml/l sheep erythrocyte	<0.25 min	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0
			4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0
2 min		4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0	
		4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0	
Formule F3320 (0,1%) / Formula F3320 (0.1%)		<0.25 min	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 0 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0
			4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0
Formule F3320 (40%) / Formula F3320 (40%)	2 min	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0	
		4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0	
Formule F3320 (40%) / Formula F3320 (40%)	<0.25 min	4 0 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	
		4 0 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	
Formule F3320 (50%) / Formula F3320 (50%)	2 min	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	
		0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	
Formule F3320 (50%) / Formula F3320 (50%)	<0.25 min	4 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	
		0 4 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	
Formule F3320 (50%) / Formula F3320 (50%)	2 min	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	
		0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	

Légende / legend :

- (a) 1 à 4 : virus présents, degré de l'ECP dans 6 puits de plaques de microtitration
 0 : aucun virus présent.
 T : Toxique / Toxic

- Résultats de virucidie du Formaldéhyde 0,7% / *Virucidal activity of 0.7% Formaldehyde*

Produit / Product	Substance interférente / Interfering solution	Temps de contact / Contact times	Dilution (log) ^(a)							
			1	2	3	4	5	6	7	8
Témoin virus / Virus control	PBS	<0.25 min	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 0 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0
			4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 4 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0
15 min		4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 0 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0	
		4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	
Formaldéhyde (0,7%) / Formaldehyde (0.7%)		<0.25 min	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 0 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0
			4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 4 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0
	5 min	4 4 4	4 4 4	4 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	
		4 4 4	4 4 4	0 0 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	
15 min	4 4 4	4 0 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0		
	4 4 4	4 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0		

Légende / legend :

(a) 1 à 4 : virus présents, degré de l'ECP dans 6 puits de plaques de microtitration

0 : aucun virus présent.

T : Toxique / Toxic



POLE DE BIOLOGIE PATHOLOGIE GENETIQUE

Laboratoire de Virologie ULR3610

CHU de Lille – Université de Lille

Centre Paul Boulanger, Hôpital A. Calmette

Bd du Pr Jules Leclercq

59037 Lille Cedex

Franța

Tel.: (33) 03.20.44.66.88/48.93/69.30

Fax: (33) 03.20.44.48.95

Email: didier.hober@chru-lille.fr

Traducere din limba engleză
model PPA-FE-URV-021, V4 din 31.03.2021



Nr. raport: 2023/0728-01

Data ediției: 28.07.2023

RAPORT DE TESTARE

**EVALUAREA EFECTULUI VIRUCID AL
FORMULEI F3320**

**Metoda de testare conform cu standardul NF EN 14476+A2 (iulie 2019)
împotriva virusului Vaccinia**

Raport depus la:

**SODEL
190 Rue René Barthélemy
14100 Lisieux, Franța**

Acest raport de analiză se referă doar la produsul (citată mai târziu) supus analizei. Rezultatele sunt valabile numai pentru proba trimisă la dozare și așa cum a fost livrată de către client.

Acest raport este alcătuit din 12 pagini numerotate și 2 anexe de 6 pagini.

*Reproducerea acestui raport de analiză este autorizată numai sub forma unei reproduceri fotografice complete
Doar versiunea electronică este valabilă.*



I- Introducere

La cererea societății SODEL, formula **F3320** a fost evaluată în ceea ce privește proprietățile sale de inactivare virucidă împotriva tulpinii Elstree a virusului Vaccinia. Testele au fost efectuate în conformitate cu standardul NF EN 14476+A2: Dezinfectanți chimici și antiseptice - Test cantitativ în suspensie pentru evaluarea activității virucide în domeniul medical - Metodă de testare și cerințe (faza 2/etapa 1) - iulie 2019.

II- Identificare eșantion

- Denumirea produsului*: Formula F3320
- Producător: SODEL

- Lotul nr. - Formula nr.*: 0224E017230404J

- Data prelevării de probe (efectuată pe răspunderea clientului)*:
- Data de primire: 18.07.2023
- Aspectul produsului: Lichid limpede, de culoare roșie
- Diluant de produs recomandat*: Apă dură
- Substanțe active*: Chlorhexidină 4%
- valoarea pH a produsului: Nediluat (19,1°C) pH=5,02
- Condiții de depozitare*: Temperatura ambiantă și ferit de lumină

- Utilizare*: Spălarea mâinilor și spălarea mâinilor înainte de operație

NB: * Date indicate numai pe răspunderea clientului

III- Condiții experimentale

- Perioada de testare de la 18.07.2023 la 28.07.2023
- Temperatura de testare: 20°C +/- 1°C
- Concentrații ale produsului de testare: 0,1%, 40% și 50%
- Durata de contact: 2 minute
- Diluant al produsului: Apă dură
- Aspectul diluțiilor: Preparare omogenă din punct de vedere fizic și stabilă în timpul testului
- Substanțe interferente: Condiții de murdărie: Albumină serică bovină (BSA) și eritrocite de oaie la o concentrație finală de 3 g de BSA și 3 ml de eritrocite de oaie pe litru în test.
- Stabilitatea amestecului (formula și substanță interferentă): Precipitat absent pe tot parcursul testului
- Procedura de inactivare a produsului: Filtrarea gelului



IV- Materiale și metode

1- Material

a) Virus

Tulpina Elstree a virusului Vaccinia (ATCC VR-1549) a fost obținută de la LGC Promochem (Molsheim, Franța).

- număr de lot intern: Lot Vac-281222A-PE (trecere 02)
- titrul testului surpermatant: $10^{7,33}$ TCID₅₀/ml

b) Linie celulară

Linia celulară Vero (ATCC CCL-81) utilizată cu virusul Vaccinia a fost obținută de la European Collection of Cell Cultures (ECACC) (Sigma-Aldrich, L'isle d'Abeau Chesnes, Franța).

număr pasaj: Subcultura P24-35

2- Metode

a) Determinarea infectivității virale

Suspensiile virale tratate sau netratate cu produsul au fost diluate de la 10^{-1} la 10^{-8} în mediul de cultură Dulbecco's Modified Eagle's (DMEM, Invitrogen, Franța) rece ca gheața, cu 2% ser fetal de vițel (FCS, Invitrogen, Franța). 0,1 ml din fiecare diluție a fost transferat, începând cu cea mai mare diluție, în șase godeuri dintr-o placă de microtitrare cu 96 de godeuri cu un monostrat Vero stabilit. Plăcile de microtitrare au fost incubate la 37°C într-o atmosferă cu 5% CO₂. La 1 oră după aceea, în fiecare godeu s-a adăugat 0,1 ml de mediu de cultură. Efectul citopatic (CPE) a fost citit cu ajutorul unui microscop inversat după 12 și 15 zile într-o atmosferă cu 5% CO₂. Calculul concentrației estimate a virusului (\log_{10} TCID₅₀/ml) a fost efectuat prin metoda Spearman-Kärber.

b) Determinarea citotoxicității produsului

Pentru determinarea citotoxicității soluțiilor de dezinfectant, 8 părți în volum de soluții de dezinfectant amestecate cu 1 parte de substanță interferentă și 1 parte în volum de apă dură au fost diluate de la 10^{-1} la 10^{-5} cu mediu de cultură rece ca gheața conținând 2% FCS. 0,1 ml din fiecare diluție a fost transferat în 6 godeuri dintr-o placă de microtitrare de 96 de godeuri cu un monostrat Vero stabilit. Plăcile de microtitrare au fost incubate la 37°C într-o atmosferă cu 5% CO₂. La 1 oră după aceea, în fiecare godeu s-a adăugat 0,1 ml de mediu de cultură. Efectul citotoxic a fost citit după 7 zile într-o atmosferă cu 5% CO₂.

c) Eliminarea citotoxicității produsului

Pentru eliminarea citotoxicității soluțiilor de dezinfectant, 0,1 ml din 8 părți în volum de soluții de dezinfectant amestecate cu 1 parte de substanță interferentă și 1 parte în volum de apă dură au fost filtrate pe coloana Microspin S-400 HR (GE Healthcare). Apoi filtratele au fost diluate de la 10^{-1} la 10^{-3} cu DMEM rece ca gheața + 2% FCS. 0,1 ml din fiecare diluție a fost transferat în 6 godeuri dintr-o placă de microtitrare de 96 de godeuri cu un monostrat Vero stabilit. Plăcile de microtitrare au fost incubate la 37°C într-o atmosferă cu 5% CO₂. La 1 oră după aceea, în fiecare godeu s-a adăugat 0,1 ml de mediu de cultură. Efectul citotoxic a fost citit după o incubare de 10 zile într-o atmosferă cu 5% CO₂.

d) Sensibilitatea celulară la virus

Se efectuează o titrare comparativă a virusului pe celule Vero care au fost sau nu au fost tratate cu dezinfectant pentru a verifica reducerea sensibilității celulelor la virus. 0,1 ml din cea mai mică diluție aparent necitotoxică de dezinfectant sau de PBS se distribuie în 8 x 6 godeuri dintr-o placă de microtitrare de 96 de



godeuri cu un monostrat Vero stabilit. După 1 oră la 37°C într-o atmosferă cu 5% CO₂, 0,1 ml de virus diluat de la 10⁻¹ la 10⁻⁸ cu mediu de cultură conținând 2% FCS a fost adăugat în paralel pe celulele tratate sau netratate. Efectul citopatic (CPE) a fost citit după incubare timp de 12 și 15 zile la 37°C într-o atmosferă cu 5% CO₂ și s-a calculat titrul virusului.

e) *Determinarea activității virucide*

Pentru a testa activitatea virucidă a produsului, 1 parte în volum de virus a fost incubată la 20°C +/- 1°C cu 1 parte în volum de substanțe interferente și 8 părți în volum de soluție de dezinfectant. După diferite perioade de contact, s-a prelevat 0,1 ml de amestec și s-a filtrat pe coloana Microspin S-400 HR. Cantitatea de virus rezidual din filtrat a fost evaluată prin titrare pe celule Vero.

Activitatea virucidă a dezinfectantului testat a fost evaluată prin calcularea scăderii titrului în comparație cu titrarea controlului fără dezinfectant. Diferența este dată ca factor de reducere (RF).

f) *Controlul eficienței pentru suprimarea activității dezinfectante*

- Metodă de diluare:

Opt părți în volum de soluții de dezinfectant se amestecă cu o parte în volum de substanțe interferente și o parte în volum de mediu de cultură. Imediat după prepararea amestecului, la momentul 0, se amestecă 1 parte în volum din amestec cu 8 părți în volum de mediu de cultură și 1 parte în volum de virus, iar amestecurile se lasă într-o baie de gheață timp de 30 de minute. Apoi, suspensiile virale au fost diluate de la 10⁻² la 10⁻⁹ în mediu de cultură rece ca gheața și cantitatea de virus rezidual a fost evaluată prin titrare pe celule Vero.

- Metoda de filtrare:

Opt părți în volum de soluții de dezinfectant se amestecă cu o parte în volum de substanțe interferente și o parte în volum de mediu de cultură. Imediat după prepararea amestecului, la momentul 0, se filtrează 0,1 ml din amestecuri pe coloana Microspin S-400 HR. Apoi filtratele se amestecă cu 8 părți în volum de mediu de cultură și 1 parte în volum de virus, iar amestecurile se lasă într-o baie de gheață timp de 30 de minute. Apoi, suspensiile virale au fost diluate de la 10⁻² la 10⁻⁹ în mediu de cultură rece ca gheața și cantitatea de virus rezidual a fost evaluată prin titrare pe celule Vero.

g) *Inactivarea virusului cu 0,7 (g/v) formaldehidă*

Suspensia virală a fost supusă unor teste virucide față de o soluție de formaldehidă de 0,7% (g/v), ca substanță de referință pentru inactivarea virală, pentru a controla uniformitatea comportamentului în timp al stocului nostru de virus față de agenții chimici.

Pentru a testa activitatea virucidă, 1 parte din volumul de virus a fost incubată cu 4 părți din volumul de soluție salină tamponată cu fosfat (PBS, Invitrogen, Franța) și 5 părți din volumul de formaldehidă 1,4% (g/v). După un timp de incubare de 5 min și 15 min la 20°C +/- 1°C, s-a luat o parte alicotă din amestec și s-a filtrat pe coloana Microspin S-400 HR. Cantitatea de virus rezidual din filtrat a fost evaluată prin titrare pe celule Vero.



V- Rezultate

1) Determinarea diluției subcitotoxice a formulei F3320 și a filtratului pe coloana Microspin:

Metodă	diluție subcitotoxică			
	Formula F3320 (0,1%)	Formula F3320 (40%)	Formula F3320 (50%)	Formaldehidă (0,7%)
Metodă de diluare	1/100	1/10 000	1/10 000	1/10 000
Filtrare cu Microspin	1/10	1/10	1/10	1/10

Interpretare

Soluția de testare a produsului nu afectează morfologia și creșterea celulelor

2) Evaluarea sensibilității celulare la virus după tratamentul cu formula F3320 sau cu 0,7 % formaldehidă

	Log ₁₀ TCID ₅₀ (RF)	
	Formula F3320 (50%)	Formaldehidă (0,7%)
Celule netratate	6,33 +/- 0,27	6,33 +/- 0,27
Celule tratate	6,33 +/- 0,17 (0,00 +/- 0,63)	6,17 +/- 0,21 (0,17 +/- 0,68)

Legendă:

RF: Factor de reducere (log)

Interpretare

În cazul în care $RF < 1 \log_{10}$, condițiile de testare sunt utilizabile în timpul testului pentru cantitățile de produs utilizate.



3) Controlul eficienței pentru suprimarea activității dezinfectante

- Metodă de diluare:

Produs	Concentrație	Log ₁₀ TCID ₅₀ (RF)
Controlul virusurilor	n.a.	6,17 +/- 0,21
Formula F3320	0,1%	6,17 +/- 0,28 (0,00 +/- 0,70)
Formula F3320	40%	6,00 +/- 0,22 (0,17 +/- 0,61)
Formula F3320	50%	6,17 +/- 0,28 (0,00 +/- 0,70)
Controlul virusurilor	n.a.	6,17 +/- 0,28
Formaldehidă	0,7%	6,33 +/- 0,17 (-0,17 +/- 0,65)

Legendă:

n.a.: nu este cazul

RF: Factor de reducere (log)

Interpretare

În cazul în care $RF \leq 0,5 \log_{10}$, condițiile de testare sunt utilizabile în timpul testului pentru cantitățile de produs utilizate. Dacă $RF > 0,5 \log_{10}$, se poate utiliza metoda de filtrare.



- Metoda de filtrare:

Produs	Concentrație	Log ₁₀ TCID ₅₀ (RF)
Controlul virusurilor	n.a.	6,17 +/- 0,28
Formula F3320	0,1%	6,00 +/- 0,22 (0,17 +/- 0,71)
Formula F3320	40%	6,17 +/- 0,21 (0,00 +/- 0,70)
Formula F3320	50%	6,00 +/- 0,22 (0,17 +/- 0,71)
Controlul virusurilor	n.a.	6,00 +/- 0,22
Formaldehidă	0,7%	6,00 +/- 0,22 (0,00 +/- 0,63)

Legendă:

n.a.: nu este cazul

RF: Factor de reducere (log)

Interpretare

În cazul în care $RF \leq 0,5 \log_{10}$, condițiile de testare sunt utilizabile în timpul testului pentru cantitățile de produs utilizate.



4) Evaluarea efectului virucid al formulei F3320:

Tabel privind activitatea virucidă a formulei F3320 în condiții de murdărie asupra tulpinii Elstree a virusului Vaccinia

Produs	Concentrație	Substanță care interferează	Log ₁₀ TCID ₅₀ după xx min (RF)		≥ reducere logaritmică 4 log după xx min
			<0,25	2	
Controlul virusurilor	n.a.	3 g/l BSA și 3 ml/l eritrocite de oaie	5,00 +/- 0,22	4,83 +/- 0,21	n.a.
Formula F3320	50%		0,83 +/- 0,21 (4,17+/- 0,61)	0,50 +/- 0,00 (4,33+/- 0,42)	≥2 min
Formula F3320	40%		2,00 +/- 0,37 (3,00+/- 0,87)	0,50 +/- 0,00 (4,33+/- 0,42)	≥2 min
Formula F3320	0,1%		4,33 +/- 0,17 (0,67+/- 0,56)	3,50 +/- 0,00 (1,33+/- 0,42)	>2 min

Legendă:

n.a.: nu este cazul

RF: Factor de reducere (log)

Interpretare

Rata minimă de reducere a virusului (activitate virucidă): $RF \geq 4 \log_{10}$



Tabel privind activitatea virucidă a formaldehidei 0,7% asupra tulpinii Elstree a virusului Vaccinia

Produs	Concentrație	Substanță care interferează	Log ₁₀ TCID ₅₀ după xx min (RF)			≥ reducere logaritmică 4 log după xx min
			<0,25	5	15	
Controlul virusurilor	n.a.	PBS	5,00 +/- 0,22	n.t.	5,00 +/- 0,22	n.a.
Formaldehidă	0,7%		3,83 +/- 0,21 (1,17 +/- 0,61)	2,83 +/- 0,21 (2,17 +/- 0,61)	2,00 +/- 0,22 (3,00 +/- 0,63)	>15 min

Legendă:

n.a.: nu este cazul

RF: Factor de reducere (log)

Interpretare

Testul este valid dacă RF se situează între 0,75 log₁₀ și 3,5 log₁₀ după 5 minute și între 2 log₁₀ și ≥4 log₁₀ după 15 min.



VI- Recomandare/Concluzie

Formula **F3320** este activă (reducere logaritmică ≥ 4 a titrului viral) la concentrații de 40% și 50% după 2 minute după timp de contact de 2 min. la 20°C, în conformitate cu standardul NF EN 14476+A2 (iulie 2019), în condiții de murdărie împotriva tulpinii Elstree a virusului Vaccinia.

Lille, 28.07.2023

Responsabil tehnic

Șef serviciu

Semnătură indescifrabilă

Semnătură indescifrabilă

Dr. F SANE

Pr. D. HOBER

Sfârșitul raportului (raport complet)

Niciun rezultat nu va fi publicat fără acordul clientului.

Reclamațiile pot fi trimise pe e-mail la adresa: didier.hober@chru-lille.fr

Procedurile de management sunt disponibile la cerere de la unitatea de calitate

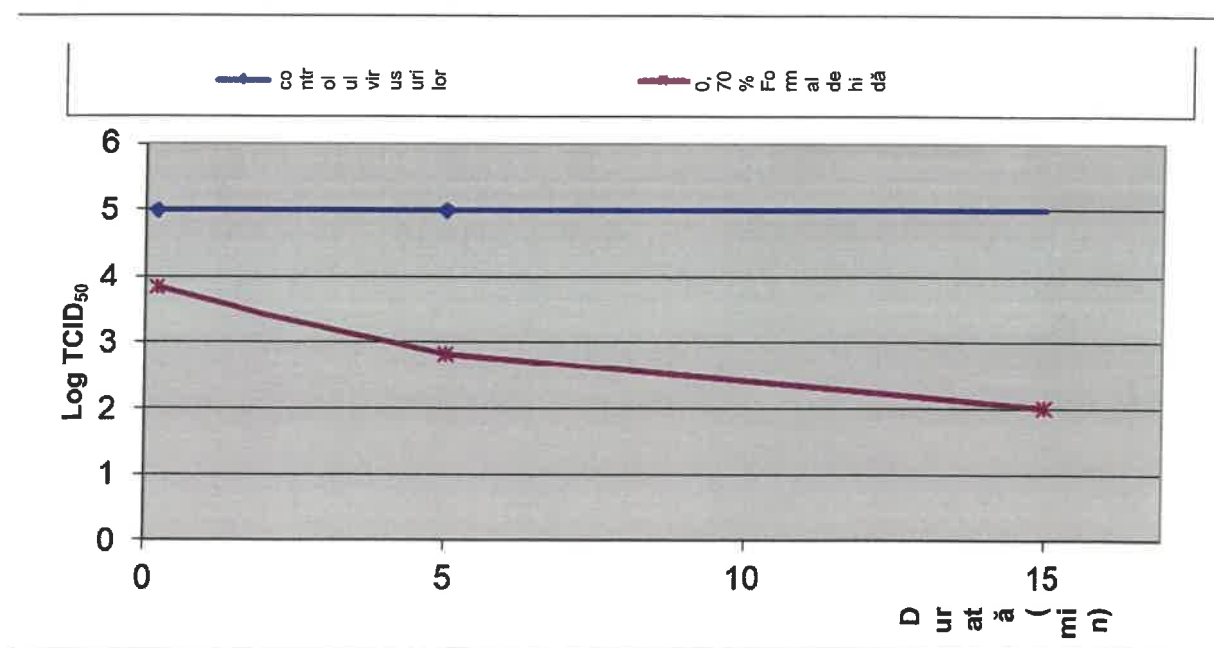
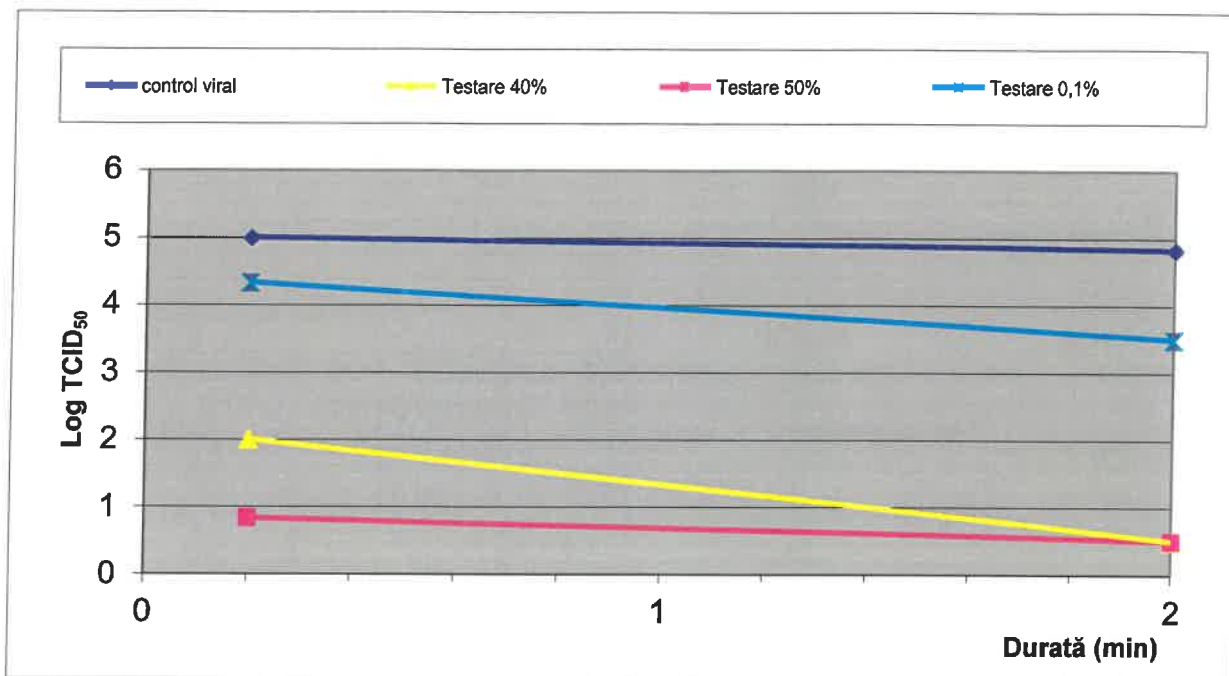
CelluleQualiteLABO@chru-lille.fr



Raport nr. 2023/0728-01 - Pagina 10/10

Anexa 1 :

Reprezentare grafică a activității virucide a formulei F3320 în condiții de murdărie și 0,7% formaldehidă împotriva virusului Vaccinia



Anexa 2 :

Date primare cu privire la teste

- Titrul viral al testului surpernatant :

Produs	Diluție (log) ^(a)							
	2	3	4	5	6	7	8	9
Test supernatant	44	44	44	44	04	00	00	00
	44	44	44	44	44	00	00	00
	44	44	44	44	44	40	00	00

- Determinarea diluției subcitotoxice a formulei F3320 și a filtratului pe coloana Microspin:

Produs	Metodă	Diluare (log)							
		1	2	3	4	5	6	7	8
Formula F3320 (0,1%)	Metodă de diluare	TTT	000	000	000	000	n.t.	n.t.	n.t.
	Filtrare cu Microspin	000	000	000	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.
Formula F3320 (40%)	Metodă de diluare	TTT	TTT	TTT	000	000	n.t.	n.t.	n.t.
	Filtrare cu Microspin	000	000	000	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.
Formula F3320 (50%)	Metodă de diluare	TTT	TTT	TTT	000	000	n.t.	n.t.	n.t.
	Filtrare cu Microspin	000	000	000	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.
Formaldehidă (0,7%)	Metodă de diluare	TTT	TTT	TTT	000	000	n.t.	n.t.	n.t.
	Filtrare cu Microspin	000	000	000	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.

Legendă:

T: Toxic

T*: Toxicitate parțială

n.t. : netestat



- Sensibilitatea celulară la virus după tratamentul cu formula F3320 sau cu 0,7 % formaldehidă

Produs	Metodă	Diluție (log) ^(a)							
		2	3	4	5	6	7	8	9
Formula F3320 (50%)	Celule netratate	4 4	4 4	4 4	4 4	4 0	0 0	0 0	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	0 4	0 0	0 0	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 4	0 0	0 0
	Celule tratate	4 4	4 4	4 4	4 4	4 0	0 0	0 0	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0	0 0
Formaldehidă (0,7%)	Celule netratate	4 4	4 4	4 4	4 4	4 0	0 0	0 0	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	0 4	0 0	0 0	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 4	0 0	0 0
	Celule tratate	4 4	4 4	4 4	4 4	4 0	0 0	0 0	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	0 4	0 0	0 0	0 0
		4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0	0 0

Legendă:

(a) 1 până la 4: virusuri prezente, gradul de CPE în 6 godeuri de plăci de microtitrare 0: niciun virus prezent.

- Controlul eficienței pentru suprimarea activității dezinfectante

- Metodă de diluare

Produs	Diluție (log) ^(a)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Controlul virusurilor	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 0	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 0	0 0	0 0
Formula F3320 (0,1%)	T T	4 4	4 4	4 4	4 4	4 0	0 4	0 0
	T T	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0
	T T	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0	0 0
Formula F3320 (40%)	T T	T T	T T	4 4	4 4	0 0	0 0	0 0
	T T	T T	T T	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0
	T T	T T	T T	4 4	4 4	4 0	0 0	0 0
Formula F3320 (50%)	T T	T T	T T	4 4	4 4	0 0	0 0	0 0
	T T	T T	T T	4 4	4 4	4 0	0 0	0 0
	T T	T T	T T	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0
Controlul virusurilor	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 0	0 4	0 0
Formaldehidă (0,7%)	T T	T T	T T	4 4	4 4	4 0	0 0	0 0
	T T	T T	T T	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0
	T T	T T	T T	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0

Legendă:

(a) 1 până la 4: virusuri prezente, gradul de CPE în 6 godeuri de plăci de microtitrare

0: niciun virus prezent.

T: Toxic



- Metoda de filtrare

Produs	Diluție (log) ^(a)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Controlul virusurilor	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 4	4 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 4	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 0	0 0	0 0
Formula F3320 (0,1%)	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 0	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 4	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 0	0 0	0 0
Formula F3320 (40%)	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 0	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 0	0 0	0 0
Formula F3320 (50%)	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 0	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0	0 0
Controlul virusurilor	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 4	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 0	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 4	0 0	0 0
Formaldehidă (0,7%)	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 0	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0
	4 4	4 4	4 4	4 4	4 4	0 0	0 0	0 0

Legendă:

(a) 1 până la 4: virusuri prezente, gradul de CPE în 6 godeuri de plăci de microtitrare

0: niciun virus prezent.

T: Toxic



- Activitatea virucidă a formulei F3320

Produs	Soluție interferentă	Durate de contact	Diluție (log) ^(a)							
			1	2	3	4	5	6	7	8
Controlul virusurilor	3 g/l BSA și 3 ml/l eritrocite de oaie	<0,25 min	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0
			4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0
2min		4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0	
		4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0	
Formula F3320 (0,1%)		<0,25 min	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 0 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0
			4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0
2min		4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0	
		4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0	
Formula F3320 (40%)	<0,25 min	4 0 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	
		4 0 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	
2min	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0		
	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0		
Formula F3320 (50%)	<0,25 min	4 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	
		0 4 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	
2min	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0		
	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0		

Legendă:

- (a) 1 până la 4: virusuri prezente, gradul de CPE în 6 godeuri de plăci de microtitrare
 0: niciun virus prezent.
 T: Toxic



- Activitate virucidă a formaldehidei 0,7%

Produs	Soluție interferentă	Durate de contact	Diluție (log) ^(a)							
			1	2	3	4	5	6	7	8
Controlul virusurilor	PBS	<0,25 min	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 0 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0
			4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 4 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0
15 min		4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 0 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0	
		4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 4 4	4 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	
Formaldehidă (0,7%)		<0,25 min	4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 0 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0
			4 4 4	4 4 4	4 4 4	0 4 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0
	5 min	4 4 4	4 4 4	4 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	
		4 4 4	4 4 4	0 0 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	
	15 min	4 4 4	4 0 4	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	
4 4 4		4 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0	0 0 0		

Legendă:

- (a) 1 până la 4: virusuri prezente, gradul de CPE în 6 godeuri de plăci de microtitrare
 0: niciun virus prezent.
 T: Toxic



Subsemnata, **Lascu Raluca Teodora**, interpret și traducător autorizat pentru limbile străine engleză și franceză, în temeiul Autorizației nr. 20862 din data de 12/11/2007, eliberată de Ministerul Justiției din România, certific exactitatea traducerii efectuate din limba engleză în limba română, că textul prezentat a fost tradus complet, fără omisiuni, și că, prin traducere, înscrisului nu i-au fost denaturate conținutul și sensul.

