

English Summary:  
Examination of the chemothermal disinfection procedure with  
**Citronensäure-Lösung 50 %®** for its virucidal activity

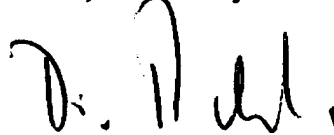
**Citronensäure-Lösung 50 %®** contains citric acid. **Citronensäure-Lösung 50 %®** was examined for its virucidal activity at 73° C and 83° C and concentrations of 3 and 5 % at 15 min. contact times using parvovirus, strain Haden, and the quantitative virucidal suspension test.

**Citronensäure-Lösung 50 %®** inactivated the highly resistant parvovirus, that is included as testvirus in the EN 14476, in a concentration of three and five percent solution and at 73° C and 83° C and 15 minutes contact time for more than 99.999 % or a five log<sub>10</sub> reduction of infectivity.

Parvovirus is a highly resistant virus and serves in the EN 14476 as surrogate virus for testing chemothermal disinfection procedures. Parvovirus was selected, because its inactivation is proof of inactivation of other clinical relevant viruses, such as hepatitis B virus (HBV), hepatitis C Virus (HCV), or human immunodeficiency virus (HIV)<sup>1)</sup>.

**Citronensäure-Lösung 50 %®** can therefore be recommended for the chemothermal disinfection procedure in a solution of 3 or 5 % at more than 73° C and a contact time of 15 minutes to inactivate clinical relevant viruses, such as parvovirus, enteroviruses, HBV, HCV und HIV.

Luckenwalde, 26. January 2003



PD Dr. Thraenhart  
Director of Eurovir

Eurovir-Labor:

Biotechnologiepark  
14 943 Luckenwalde  
Tel./Fax 03371 681 269  
E-mail: [eurovir@Biogate.com](mailto:eurovir@Biogate.com)  
[www.biogate.com/eurovir](http://www.biogate.com/eurovir)

Eurovir-Beratung:

Bernhardstr. 42  
45 239 Essen  
Tel. 0201 403 241  
Fax 0201 406 719  
E-mail: [Thraenhart@Biogate.com](mailto:Thraenhart@Biogate.com)

Eurovir-Aktivitäten:

RDT & Validierung von Produkten und  
Verfahren zur Vorbeugung und  
Behandlung von viralen Infektionen und  
TSE. Desinfektion, Virussicherheit,  
Sterilisation, Therapie, Impfung.

**Prof. Dr. med. W. Solbach**  
 Direktor des Institutes für  
 Med. Mikrobiologie und Hygiene  
 der Medizinischen Universität zu Lübeck  
 (Director of the Institute for  
 Med. Microbiology and Hygiene  
 of the Medical University of Lübeck, Germany)

Ratzeburger Allee 160  
 23538 Lübeck  
 Tel. (0451)500-2800/01  
 Fax (0451)500-2749/2808  
 Dialyse/doxial

B. Braun Melsungen AG

Medical Technology Division  
 P.O.B. 1120

D-34209 Melsungen

Date: May 20, 1998  
 Ohg./Br

Test of the sporocidal efficiency  
 of Citric Acid 50 % (120 ml)  
 at 83 °C in the dialysis machine Dialog 710/700/5  
 (B. Braun Melsungen AG)

→ Telefax

|              |                         |
|--------------|-------------------------|
| Postfach 708 | Fax-Nr.: 00034935881096 |
|              | An: Maria Sales         |
|              | Von: Bernd Bayer        |
|              | Datum: 8/9/98           |

Seiten: 6

## 1. Question

It should be tested, whether the Citric Acid 50 % preparation (120 ml) has a sufficient disinfection efficiency at 83 °C in the dialysis machine Dialog 710/700/5.

## 2. Procedure

The disinfection performance of the machine was tested after artificial contamination of the fluid side circuit. A  $\log_{10}$  reduction factor of minimum 5.0 should be reached at the various check points of the water conducting system.

### 2.1 Test Germs

Spores of bacillus subtilis, variatio globigii were applied, which were suspended in ethanol at a concentration of  $3 \times 10^{10}$ /ml.

These test germs were applied, because the standard vegetative germs, which are commonly used for disinfectant agent tests (e.g. e. coli, pseudomonas aeruginosa, candida albican etc.) are not sufficient for the evaluation of highly efficacious procedures. In general streptococcus faecium is the most resistant vegetative (non sporodial) test germ. A reduction factor of 8 for this test germ is equivalent to a value of approx. 5 with b. subtilis spores. A germ number of  $10^9$  (final dilution in the machine) should be applied for the practical tests. Therefore there would be an unrealistic high contamination with biological material.

### 2.2 Artificial Contamination of the Dialysis Machine

Prior to a test run 1 ml of the test germ suspension was injected into the water circuit system, via the mixing chamber. Thus a final concentration of the test germs was realized, which was between  $10^7$  and  $10^8$  /ml of the dialysing fluid.

The artificially contaminated dialysing fluid was recirculated for 10 minutes, to guarantee an uniform distribution of the test germs.

The samples were then taken prior to disinfection at the measurement point 3 (see table 1).

### 2.3 Test Cycles

The disinfection program was started with 120 ml Citric Acid 50 % after the artificial contamination.

Samples were taken after disinfection after completion of the disinfection program at the measurement points 1 through 6 (see table T).

A total of 3 independent test cycles were performed. The tests were performed on April 28, 1998, in the above mentioned institute.

### 2.4 Evaluation

The number of germs were determined, if necessary, via diluted test rows in sterile CPS broth.

The log reduction factor was calculated as a comparative figure for the obtained disinfection efficiency:

$$\log_{10} \frac{\text{Number of Germs prior to Disinfection}}{\text{Number of Germs after Disinfection}}$$

### 3. Results

The germ contamination prior to disinfection for all test cycles was higher than  $10^7$  colony forming units per ml.

The obtained reduction factors are listed in table 2. The figures are arithmetical mean values from double determinations.

### 4 Evaluation

The necessary reduction factors of 5.0 were exceeded at all measurement points, with 120 ml Citric Acid 50 %, at 83 °C.

The tested method is as sufficient as other methods, due to the detected high sporocidal efficiency, for decontamination, e.g. for hepatitis.

(Prof. Dr. med. W. Solbach)

(Prof. Dr. med. H. Ohgke)

Prof. Dr. med. W. Salbach  
Institut für Med. Mikrobiologie und Hygiene  
Med. Universität zu Lübeck  
(Institute for Med. Microbiology and Hygiene  
Med. University of Lübeck, Germany)  
Ratzeburger Allee 160  
23538 Lübeck  
Tel.: 0451/500-2800; Fax: 0451/500-2749

Table 1 for the expertise from May 20, 1998

Measurement points at the Dialysis Machine Dialog 710/700/5

| No. | Location                    |
|-----|-----------------------------|
| 1   | Upline tank                 |
| 2   | In front of balance chamber |
| 3   | Dialyser, arterial inlet    |
| 4   | After balance chamber       |
| 5   | Outlet tubing               |
| 6   | Suction rod                 |

Prof. Dr. med. W. Solbach  
 Institut für Med. Mikrobiologie und Hygiene  
 Med. Universität zu Lübeck  
 (Institute for Med. Microbiology and Hygiene  
 Med. University of Lübeck, Germany)  
 Ratzeburger Allee, 160  
 23538 Lübeck  
 Tel.: 0451/500-2800; Fax: 0451/500-2749

Table 2 for the expertise from May 20, 1998

Test of the Sporocidal Efficiency of Citric Acid 50 % (120 ml) at 83 °C and 15 Minutes  
 Reaction Time in the Dialysis Machine Dialog 710/700/5 from April 28, 1998

| Measurement Point | Test Cycle |       |       |
|-------------------|------------|-------|-------|
|                   | 1          | 2     | 3     |
| 1                 | 6.6        | > 6.6 | > 6.6 |
| 2                 | > 6.6      | 6.6   | 6.3   |
| 3                 | > 6.6      | 6.6   | > 6.6 |
| 4                 | 6.0        | 6.6   | 6.3   |
| 5                 | 6.6        | 6.6   | 6.6   |
| 6                 | > 6.6      | > 6.6 | 5.9   |

**Rezumat în limba engleză:**

**Examinarea procedurii de dezinfectare termochimică  
cu Citronensaure-Losung 50% ® pentru activitatea sa virucidă**

Citronensaure-Losung 50%® conține acid citric. Citronensaure-Losung 50%® a fost examinat pentru activitatea virucidă la 73° C și 83° C și concentrații de 3 și 5% la 15 min. ca timp de contact folosind parvovirusul, tulpina Haden, și suspensia cantitativă virucidă de testare.

Citronensaure-Losung 50% ® a inactivat virusul parvovirus foarte rezistent, care este inclus ca virus de testare în EN 14476, într-o concentrație de soluție trei și cinci la sută, la 73° C și 83° C și 15 minute timp de contact pentru mai mult de 99,999% sau o reducere de cinci log<sub>10</sub> a infectivității.

Parvovirus este un virus extrem de rezistent și este folosit în EN 14476 ca virus surogat pentru procedurile de dezinfectare termochimice de testare. Parvovirus a fost selectat, deoarece inactivarea sa este o dovadă a inactivării altor virusuri relevante din punct de vedere clinic, cum ar fi virusul hepatitei B (HBV), virusul hepatitei C (VHC), sau virusul imunodeficienței umane (HIV).

Citronensaure-Losung 50% ® poate fi, prin urmare, recomandat pentru procedura de dezinfectare termochimică într-o soluție de 3 sau 5%, la mai mult de 73° C și un timp de contact de 15 minute pentru a inactiva virusurile relevante din punct de vedere clinic, cum ar fi parvovirus, enterovirus, HBV, HCV și HIV.

Luckenwalde, 26 ianuarie 2003

PD Dr. Thraenhart

Director Eurovir

/semnătură indescifrabilă/



**Eurovir-Labor:**  
Biotechnologiepark  
14 943 Luckenwalde  
Tel./Fax 03371 681 269  
E-mail: eurovir@Biogate.com  
www.biogate.com/eurovir

**Eurovir-Beratung:**  
Bernhardstr. 42  
45 239 Essen  
Tel. 0201 403 241  
Fax 0201 406 719  
E-mail: Thraenhart@Biogate.com

**Eurovir-Aktivitäten:**  
RDT & Validierung von Produkten und  
Verfahren zur Vorbeugung und  
Behandlung von viralen Infektionen und  
TSE. Desinfektion, Virussicherheit,  
Sterilisation, Therapie, Impfung.

**Prof. Dr. med. W. Solbach**  
Direktor des Institutes für  
Med. Mikrobiologie und Hygiene  
der Medizinischen Universität zu Lübeck  
(Director of the Institute for  
Med. Microbiology and Hygiene  
of the Medical University of Lübeck, Germany)

Ratzeburger Allee 160  
23538 Lübeck  
Tel. (0451)500-2800/01  
Fax (0451)500-2749/2808  
Dialyse/dialial

**B.Braun Melsungen AG**

Medical Technology Division  
P.O.B. 1120

D-34209 Melsungen

Data: 20 mai 1998

Testarea eficienței sporocide  
a acidului citric 50% (120 ml)  
la 83° C în aparatul de dializă Dialog 710/700/5  
(B.Braun Melsungen AG)

→Telefax

|                         |           |
|-------------------------|-----------|
| Fax-Nr.: 00034935881096 |           |
| An: Maria Sales         |           |
| Von: Bernd Dager        |           |
| Datum: 8/8/98           | Seiten: 6 |

### 1. Intrebare

Ar trebui testat dacă preparatul acid citric 50% (120 ml) are o eficiență suficientă de dezinfectare la 83° C în aparatul de dializă Dialog 710/700/5.

## **2. Procedură**

Performanța de dezinfectare a aparatului a fost testată după contaminarea artificială a circuitului secundar de fluid. Un factor de reducere  $\log_{10}$  de minim 5.0 ar trebui să fie atins la diferite puncte de control ale sistemului de conducte de ape.

### **2.1 Germeni de testare**

Au fost aplicați spori de bacillus subtilis, variatio globigii, care au fost suspendați în etanol la o concentrație de  $3 \times 10^{10}$  / ml.

Au fost aplicați acești germeni de testare, deoarece germenii vegetativi standard, care sunt utilizate în mod obișnuit pentru testarea agentului dezinfectant (de exemplu c. coli, pseudomonas aeruginosa, candida albicans etc.) nu sunt suficienți pentru evaluarea procedurilor extrem de eficiente. În general, streptococcus faecium este cel mai rezistent germen vegetativ de testare (nesporodial). Un factor de reducere de 8 pentru acest germen de testare este echivalent cu o valoare de cca. 5 cu spori b. subtilis. Un număr de germeni de  $10^9$  (diluție finală în aparat), ar trebui să se aplice pentru testele practice. Prin urmare, ar exista o contaminare nerealist de mare cu un material biologic.

### **2.2 Contaminarea artificială a aparatului de dializă**

Înainte unui test, s-a injectat 1 ml din suspensia de germeni de testare în sistemul de circuit de apă, prin camera de amestecare. Astfel, s-a atins o concentrație finală a germenilor de testare, care a fost între  $10^7$  și  $10^8$  / ml din lichidul de dializă.

Lichidul de dializă contaminat artificial a fost recirculat timp de 10 minute, pentru a garanta o distribuție uniformă a germenilor de testare.

Probele au fost apoi luate înainte de dezinfectare la punctul de măsurare 3 (vezi tabelul 1).

### **2.3 Cicluri de testare**

Programul de dezinfectare a început cu 120 ml de acid citric 50 % după contaminarea artificială.

Probele s-au luat după dezinfectarea după terminarea programului de dezinfectare la punctele de măsurare 1 până la 6 (a se vedea tabelul T).

S-au efectuat un total de 3 cicluri de teste independente. Testele au fost efectuate pe 28 aprilie 1998. în institutul menționat mai sus.

### **2.4 Evaluare**

Numărul de germeni a fost determinat, dacă s-a dovedit necesar, prin intermediul testelor de diluare în bulion steril CPS.

Factorul de reducere log a fost calculat ca o figură comparativă pentru eficacitatea obținută a dezinfectării.

LOG<sub>10</sub>

Numărul de germeni înainte de dezinfectare  
Numărul de germeni după dezinfectare

### 3. Rezultate

Contaminarea cu germeni înainte de dezinfectare pentru toate ciclurile de testare a fost mai mare decât  $10^7$  unități formatoare de colonii per ml.

Factorii de reducere obținuți sunt prezentați în tabelul 2. Cifrele sunt valori medii aritmetice din determinări duble.

### 4. Evaluare

Factorii de reducere necesari de 5.0 au fost depășiți la toate punctele de măsurare, cu 120 ml de acid citric 50%, la 83° C.

Metoda testată este la fel de suficientă ca alte metode, datorită eficienței ridicate sporocide detectate, pentru decontaminarea, de ex. a hepatitei.

(Prof. Dr. med. W. Solbach)

(Prof. Dr. med. H. Ohgke)

Prof. Dr. med. W. Salbach  
 Institut für Med. Mikrobiologie und Hygiene  
 Med. Universität zu Lübeck  
 (Institute for Med. Microbiology and Hygiene  
 Med. University of Lübeck, Germany)  
 Ratzeburger Allee 160  
 23538 Lübeck  
 Tel.: 0451/500-2800; Fax: 0451/500-2749

Tabelul 1 pentru expertiza din 20 mai 1998

**Puncte de măsurare la Aparatul de dializă Dialog 710/700/5**

| Nr. | Amplasare                   |
|-----|-----------------------------|
| 1   | Rezervor partea superioară  |
| 2   | In fața camerei de balans   |
| 3   | Dializor, intrare arterială |
| 4   | După camera de balans       |
| 5   | Tubulatură de evacurare     |
| 6   | Tijă de aspirație           |

Tabelul 2 pentru expertiza din 20 mai 1998

Testarea eficacității sporocide a acidului citric 50% (120 ml) la 83° C și 15 minute timp de reacție în aparatul de dializă Dialog 710/700/5 din 28 aprilie 1998

| Punct de măsurare | Ciclu de testare |       |      |
|-------------------|------------------|-------|------|
|                   | 1                | 2     | 3    |
| 1                 | 6.6              | >6.6  | >6.6 |
| 2                 | > 6.6            | 6.6   | 6.3  |
| 3                 | >6.6             | 6.6   | >6.6 |
| 4                 | 6.0              | 6.6   | 6.3  |
| 5                 | 6.6              | 6.6   | 6.6  |
| 6                 | >6.6             | > 6.6 | 5.9  |

Subsemnata, **VALERICA PĂTRU**, interpret și traducător autorizat pentru limbile ENGLEZĂ, FRANCEZĂ și ITALIANĂ în temeiul autorizației nr. 17602, eliberată de Ministerul Justiției din România, certific exactitatea traducerii efectuate din limba ENGLEZĂ în limba ROMÂNĂ, că textul prezentat spre traducere a fost tradus în întregime, fără omisiuni, și că, prin traducere, înscrisului nu i-au fost denaturate conținutul și sensul.

Traducător și interpret autorizat,  
*Valerica Pătru (17602)*

