

TENZI Sp. z o.o.
Skarbimierzyce 20
PL-72-002 Doluje



2020-04-08

PRÜFBERICHT / TEST REPORT

Probennummer / <i>sample id number</i> :	SN 29295
Prüfungsnummer / <i>test number</i> :	2020-0522
Prüfprodukt / <i>test sample</i> :	DE-ZAL
Auftraggeber / <i>client</i> :	TENZI Sp. z o.o.
Auftragsdatum / <i>date of order</i> :	2020-03-03
Prüfzeitraum / <i>test period</i> :	2020-03-24 – 2020-03-28 2020-04-02 – 2020-04-05
Prüfmethode / <i>test method</i> :	EN 14476 (2013+A2:2019): Quantitativer Suspensionstest - Viruzide Wirksamkeit (Phase 2, Stufe 1) <i>Quantitative suspension test - virucidal activity</i> (<i>phase 2, step 1</i>)
Information / <i>information</i> :	Testdurchführung mit Bovinem Coronavirus / <i>test run with Bovine Corona Virus</i> niedrige Belastung / <i>clean conditions</i>

Identifizierung der Probe / identification of the sample

Prüfprodukt / <i>test sample</i> :	DE-ZAL
Probennummer / <i>sample id number</i> :	SN 29295
Chargennummer / <i>batch number</i> :	04.03.20
Formulierungscode / <i>formulation code</i> :	nicht angegeben / <i>not specified</i>
Lieferdatum / <i>date of delivery</i> :	2020-03-23
Lagerbedingungen / <i>storage conditions</i> :	die des Herstellers / <i>those of the manufacturer</i>
Vom Hersteller zur Anwendung empfohlenes Verdünnungsmittel / <i>sample diluent recommended by the manufacturer for use</i> :	konzentrierte Anwendung / <i>concentrated application</i>
Aussehen / <i>appearance</i> :	klare, Flüssigkeit / <i>clear, liquid</i>
Geruch / <i>odour</i> :	produktspezifisch / <i>product specific</i>
Wirkstoffsubstanz(en) laut Herstellerangaben / <i>active substance(s) according to the manufacturer</i> :	in 100g / <i>per 100g</i> : D-Gluconsäure, Verbindung mit N,N"-Bis (4-chlorphenyl)-3,12-diimino- 2,4,11,13-tetraazatetradecandiamidin (2:1) (CHDG)) (CAS: 18472-51-0) - 2,2 g, Propan-2-ol (CAS: 67-63-0) - 61 g

Prüfverfahrensbeschreibung / description of the test method

Prüfmethode / test method:

EN 14476 (2013+A2:2019)*:

Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika -
Quantitativer Suspensionsversuch Viruzidie für in
der Humanmedizin verwendete chemische
Desinfektionsmittel und Antiseptika -
Prüfverfahren und Anforderungen
(Phase 2, Stufe 1)

EN 14476 (2013+A2:2019):*

*Chemical disinfectants and antiseptics – Virucidal
quantitative suspension test for chemical
disinfectants and antiseptics used in human
medicine – Test method and requirements
(phase 2, step 1)*

SOP 02-200

* Für den Nachweis der viruziden Wirksamkeit nach EN 14476 werden Suspensionen von 8 Volumenteilen des Desinfektionsmittels (Produktprüflösung) mit einem Teil Belastungssubstanz (0,3% bei der Prüfung von dirty conditions bzw. 0,03% bei der Prüfung von clean conditions) und einem Volumenteil Virussuspension mit einem Titer von mindestens 10^7 TC ID 50 / ml inkubiert. Nach Ablauf der Einwirkungszeit wird die Wirkung des Desinfektionsmittels durch Verdünnen (bzw. Gel-Filtration) gestoppt und zur Ermittlung des Restvirusgehaltes eine Verdünnungsreihe entsprechend der Progression 1:10 / 1:100 / 1:1000 u.s.w. angelegt. Die Titration erfolgt im Mikrotitersystem auf 96-well Platten. Darüber hinaus werden folgende Kontrollen durchgeführt: Viruskontrolle, Zytotoxizitätskontrolle, Suszeptibilitätskontrolle und Referenzinaktivierung. Die Kalkulation der Ergebnisse erfolgt nach Spearman und Kärber und wird als Differenz zwischen dem Titer der Viruskontrolle und dem Titer der Produktprüflösung unter Einbeziehung eines 95%igen Konfidenzintervalles berechnet.

** For the evaluation of the virucidal activity according to EN 14476 suspensions of 8 parts by volume of the disinfectant solution (sample test solution) were mixed with one volume of an interfering substance (0.3% in the test with dirty conditions and 0.03% for clean conditions) and one volume of virus suspension with a titer of at least 10^7 TC ID 50 / ml After the contact time the disinfectant activity was stopped by diluting (or gel filtration). For the determination of residual virus content, a dilution series according to the progression of 1:10 / 1:100 / 1:1000 etc. was prepared. The titration was carried out in microtiter 96-well plates. In addition, the following controls were performed: virus control, cytotoxicity control, susceptibility control and a reference inactivation. The calculation of titer reductions is based on the method of Spearman and Kärber and is measured as the difference between the titer of the virus control and the titer of sample test solution including a 95% confidence interval.*

Prüfverfahrensbeschreibung / description of the test method

Prüftemperatur(en) / <i>test temperature(s):</i>	20°C ± 1°C	
Produktprüfkonzentration(en) / <i>sample test concentration(s):</i>	80%, 50%, 25% (v/v) Tatsächliche Prüfkonzentrationen / <i>real test concentrations</i>	
Aussehen der Produktverdünnungen / <i>Appearance of the product dilutions:</i>	klare, farblose Flüssigkeiten / <i>clear, colourless liquids</i>	
Stabilität der Produktverdünnung / <i>Stability of the product dilution:</i>	Keine Veränderungen der Stabilität und des Aussehens während der Testdurchführung. / <i>no changes in stability and appearance during the test procedure.</i>	
	kein Niederschlag oder Ausfällungen / <i>no flocculants or precipitation</i>	
Belastungssubstanz(en) / <i>interfering substance(s):</i>	niedrige Belastung / <i>clean conditions:</i> 0,3g/l Rinderserumalbumin / <i>0.3g/l bovine serum albumin</i>	
Prüfviren / <i>test organism(s):</i>	Bovines Coronavirus BCoV / <i>Bovine Corona virus</i>	RVB-003
	Passage Nr. / <i>passage no:</i>	P1
Zelllinie zur Vermehrung / <i>cell line for replication:</i>	PT-Zellen / <i>PT-cells</i>	CCLV-RIE 11

Prüfverfahrenbeschreibung / description of the test method

Titrationenverfahren /
method of titration:

Virustitration auf Zellen als Monolayer in 96-Well Mikrotiterplatten. 0,5ml Produktprüflösung werden mit 4,5ml eiskaltem DMEM + 2% FBS bis zu einer Verdünnung von 10^{-8} verdünnt. 100µl von jeder Verdünnung wurden in 8 wells der Mikrotiterplatte pipettiert. / *virus titration on cells as monolayer in 96-well microtitre plates. 0.5ml sample test solution were diluted with 4.5ml icecold DMEM with 2% FBS up to a dilution of 10^{-8} . 100µl of each dilution were pipetted into 8 wells of the microtitre plate.*

Einwirkzeit(en) / *contact time(s):*

30 Sekunden / *seconds*

Bebrütungstemperatur /
incubation temperature:

$36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$

Probenverdünnungsmittel /
diluent used for test solution:

destilliertes Wasser / *distilled water*

Verfahren zur Beendigung der Wirkung des Produktes und / *procedure to stop action of the sample:*

Verdünnung bis 10^{-4} innerhalb von 10sec mit eisgekühltem DMEM + 2% FBS /
Dilution up to 10^{-4} within 10sec with ice-cold DMEM + 2% FBS

Stabilität und Aussehen des Gemisches während des Prüfablaufs / *stability and appearance of the mixture during the procedure:*

kein Niederschlag oder Ausfällungen /
no flocculants or precipitation

pH-Werte / *pH-values 20°C:*

80% in ad¹⁾ 8.04, 7.50
50% in ad¹⁾ 7.75
25% in ad¹⁾ 7.13

¹⁾ destilliertes Wasser / *distilled water*

Elimination der Zytotoxizität /
elimination of cytotoxicity:

Large Volume Plating Method (LVP)

Prüfverfahrenbeschreibung / description of the test method

Kontrolle der Zellsensibilität /
control of cell susceptibility:

Vergleichende Virustitrationen wurden auf Zellen
welche mit 0,1% Produktlösung bzw. PBS
behandelt wurden, durchgeführt / *comparative
virus titrations were performed on cells, which had
been treated with 0.1% solution of the sample
respectively PBS*

Referenz Virusinaktivierung /
reference virus inactivation:

0,7% Formaldehydlösung /
0.7% (V/V) formaldehyde solution
Einwirkzeiten / *contact times: 30, 60min*

50% Ethanol / *ethanol*
Einwirkzeiten / *contact times: 30sec*

Prüfanforderung / test requirement:

EN 14476:

Reduktion / *reduction* $\geq 4lg$

Methodik zur Verringerung der Zytotoxizität / Large Volume Plating Method

Die Large Volume Plating Methode (LVP) wird zur Reduktion der Zytotoxizität angewendet. Die Prüflösung wird sofort mit Zellkulturmedium 1:10000 verdünnt und das komplette Volumen auf Mikrotiterplatten mit permissiven Zellen verimpft. Die Berechnung des Virustiters erfolgt mit der Poisson Formel:

Eine Probe aus dem jeweiligen Prüfansatz wird auf die erste nicht toxische Verdünnungsstufe in einem Gesamtvolumen von 62,5ml verdünnt und danach in 165µl Portionen aufgeteilt vollständig in die Vertiefungen von 96-well Platten mit permissiven Zellen ausgebracht.

The Large Volume Plating Method (LVP) is applied to reduce the cytotoxicity. The test solution will be immediately diluted with cell culture medium 1:10000 and the entire volume distributed on microtiter plates with permissive cells. The calculation of the virus titer is done with the Poisson formula:

One sample of the test solution will be diluted until the first non-toxic dilution step in a total volume of 62.5ml. Afterwards the complete volume was distributed in 165µl aliquots in the wells of four 96-well microtiter plates.

$$c = \frac{\ln p}{-v}$$

- c = Konzentration der Viruspartikel im Prüfgemisch / *concentration of virus particles in the test mixture*
 p = 95%ige Wahrscheinlichkeit zum Nachweis von Viren / *denoting the 95 % probability to detect virus*
 (p= 0,05, ln p= -2,99)
 v = Ausplattiertes Volumen und muss < < V in ml sein / *plated volume and shall be < < V in ml*
 V = Gesamtprüfvolumen in ml / *total test volume in ml*

Wenn eine geringe Menge an Viren nachgewiesen wird, kann die wahrscheinlichste mittlere Anzahl von TCID₅₀ durch die folgende Formel berechnet werden, die sich aus der Taylor-Reihe ergibt / *If a small amount of virus is detected, the most likely mean number of TCID50 can be calculated using the following formula, which is derived from the Taylor series:*

$$c = \frac{D}{V_w} \times \left(-\ln \frac{n - n_p}{n} \right)$$

- c= Konzentration der Viruspartikel im Prüfgemisch / *concentration of virus particles in the test mixture*
 D= Verdünnungsfaktor der vorverdünnten Probe / *dilution factor of the pre-diluted sample*
 Vw= Ausplattierte Volumen je well / *plated volume per well*
 n= Anzahl der inokulierten wells / *number of inoculated wells*
 nP= Anzahl der virus-positiver wells / *number of virus positive wells*

Berechnung der viruziden Wirksamkeit / calculation of the virucidal activity

Der $TCID_{50}$ wurde entsprechend der Methode von Spearman und Kärber berechnet / *TCID₅₀ was calculated according to the method of Spearman and Kärber*

$$m = x_k + d / 2 - d \sum p_i$$

- m = Negativer dekadischer Logarithmus des Titers auf Basis des Prüfvolumens / *negative decimal logarithm of the titre based on the test volume*
 x_k = Logarithmus der niedrigsten Dosierung (Verdünnungsstufe), bei der alle Prüfobjekte eine positive Reaktion abgeben / *logarithm of lowest dose (dilution level) at which all test objects exhibit a positive reaction*
 d = Logarithmus des Verdünnungsfaktors / *logarithm of dilution factor*
 p_i = Beobachtete Reaktionsrate / *observed reaction rate*

Berechnung der Standardabweichung / calculation of the standard error

$$S_m = \sqrt{d^2 \sum \{p_i(1-p_i)\} / (n-1)}$$

- S_m = Standardfehler des logarithmischen Titers / *standard error of logarithmic titre*
 d = Logarithmus des Verdünnungsfaktors / *logarithm of dilution factor*
 p_i = Beobachtete Reaktionsrate / *observed reaction rate*
 n = Anzahl der Prüfobjekte je Verdünnung / *number of test objects per dilution*

Berechnung der Reduktion / calculation of the reduction

$$R_{T1} = a - b$$

- R_{T1} = Reduktion des ersten Prüflaufs / *reduction from first test run*
 a = $\lg TCID_{50}/ml$ der Kontrolltitration aus dem ersten Prüflauf / *$\lg TCID_{50}/ml$ of control titration of the first test run*
 b = $\lg TCID_{50}/ml$ der „Restvirus“-Titration aus dem ersten Prüflauf / *$\lg TCID_{50}/ml$ of "rest virus" titration of the first test run*

Berechnung des 95 %-Vertrauensbereich von R aus der ersten Annäherung (KR(T1)) / calculation of the 95 % confidence interval of R of the first approach

$$K_{R(T1)} = 2 \times \sqrt{S_a^2 + S_b^2}$$

- $K_{R(T1)}$ = 95 %-Vertrauensbereich von R aus dem ersten Prüflauf / *95 % confidence interval of the R of the first test run*
 S_a = Standardfehler der Kontrolltitration aus dem ersten Prüflauf / *standard error of control titration of the first test run*
 $2S_a$ = 95 %-Vertrauensbereich der Kontrolltitration aus dem ersten Prüflauf / *95 % confidence interval of control titration of the first test run*
 S_b = Standardfehler der „Restvirus“-Titration aus dem ersten Prüflauf / *standard error of "rest virus" titration of the first test run*
 $2S_b$ = 95 %-Vertrauensbereich der „Restvirus“-Titration aus dem ersten Prüflauf / *95 % confidence interval of "rest virus" titration of the first test run*

Sofern im Testansatz mit Desinfektionsmittel kein „Restvirus“ mehr nachweisbar ist, entspricht das 95% KI des RF des Testansatzes dem des Kontrollansatzes.

Von einer Wirksamkeit des Desinfektionsmittels gegen Viren wird immer dann ausgegangen, wenn der Reduktionsfaktor $\geq 4\lg$ Stufen beträgt.

In case no "residual virus" is detectable in the test procedure with test corresponds this with the 95% CI of the RF of the test procedure with the control.

For virucidal activity the product shall demonstrate at least a decimal lg reduction factor of $\geq 4\lg$ units.

Zusammenfassungen der Ergebnisse des quantitativen Suspensionstests entsprechend EN 14476 mit **DE-ZAL** und Bovinem Coronavirus sind in den Tabellen 1- 2 dargestellt. In Tabelle 3 sind die Ergebnisse der Kontrollen zusammengefasst.

*Summaries of the results of the quantitative suspension test according EN 14476 with **DE-ZAL** and Bovine Coronavirus are shown in tables 1-2. In table 3 the results of the controls are summarized.*

Ergebnisse Bovinem Coronavirus / test results Bovine Coronavirus

Tabelle 1 / table 1: Zusammenfassung der Ergebnisse von **DE-ZAL** und Bovinem Coronavirus / summary of the results with **DE-ZAL** and Bovine Coronavirus

Produktkonzentration / test sample concentration	Belastung / interfering substance	CD ₅₀	Ig-TCID ₅₀ nach ... sek Ig-TCID ₅₀ after ... sec	Titerreduktion ≥ 4lg nach...sek ≥ 4lg reduction after ... sec
(v/v)			30	
DE-ZAL 80%	0.3g/l BSA	≤ 4.50	≤ 4.50 ± 0.00	-
DE-ZAL 80% LVP-Method	0.3g/l BSA	≤ 2.50	≤ 2.84 ± 0.00	30
DE-ZAL 50%	0.3g/l BSA	≤ 4.50	≤ 4.50 ± 0.00	-
DE-ZAL 25%	0.3g/l BSA	≤ 3.50	5.63 ± 0.26	-
Viruskontrolle / virus control 2020-03-24	0.3g/l BSA	n.a.	6.88 ± 0.36	n.a.
Viruskontrolle / virus control 2020-04-02	0.3g/l BSA	n.a.	7.50 ± 0.36	n.a.
TCID ₅₀	Tissue culture infectious dose			
CD ₅₀	Zytotoxische Dosis / cytotoxic dose			
n.a.	nicht anwendbar / not applicable			
n.d.	nicht durchgeführt / not done			
BSA	Rinderserumalbumin / bovine serum albumin			

Ergebnisse Bovinem Coronavirus / test results Bovine Coronavirus

Tabelle 2 / table 2: Zusammenfassung der Ergebnisse von **DE-ZAL** und Bovinem Coronavirus anhand der Reduktionsfaktoren / *summary of the results with **DE-ZAL** and Bovine Coronavirus showing the reduction factors*

Produktkonzentration / test sample concentration	Belastung / interfering substance	CD ₅₀	Viruskontrolle / virus control [lg-TCID ₅₀]	Reduktionsfaktor / reduction factor [lg-TCID ₅₀]
(v/v)				30sec
DE-ZAL 80%	0.3g/l BSA	≤ 4.50	6.88 ± 0.36	≥ 2.38 ± 0.36
DE-ZAL 50%	0.3g/l BSA	≤ 3.50		≥ 2.38 ± 0.36
DE-ZAL 25%	0.3g/l BSA	≤ 2.50		1.25 ± 0.44
DE-ZAL 80% (LVP-Method)	0.3g/l BSA	≤ 2.84	7.50 ± 0.36	≥ 4.66 ± 0.36
TCID ₅₀	Tissue culture infectious dose			
CD ₅₀	Zytotoxische Dosis / <i>cytotoxic dose</i>			
n.a.	nicht anwendbar / <i>not applicable</i>			
n.d.	nicht durchgeführt / <i>not done</i>			
BSA	Rinderserumalbumin / <i>bovine serum albumin</i>			

Ergebnisse Bovinem Coronavirus / test results Bovine Coronavirus

Tabelle 3 / table 3: Viruskontrollen und Referenzinaktivierung mit Bovinem Coronavirus /
virus controls and reference inactivation of Bovine Coronavirus

Konzentration der Kontrolle / concentration of the control	Belastung / interfering substance	CD ₅₀	lg-TCID ₅₀ nach ... lg-TCID ₅₀ after ...			
			0	30sec	30min	60min
(v/v)			0	30sec	30min	60min
Formaldehyd 0.7% (V/V)	PBS	≤ 3.50	n.d.	n.d.	5.25 ± 0.32	5.25 ± 0.32
Ethanol 50%	0.3g/l BSA		n.d.	5.25 ± 0.32	n.d.	n.d.
Viruskontrolle / virus control 20°C 2020-03-24	0.3g/l BSA	n.a.	n.d.	n.d.	n.d.	6.88 ± 0.36
Viruskontrolle / virus control 20°C 2020-04-02	0.3g/l BSA	n.a.	n.d.	n.d.	n.d.	7.50 ± 0.42.
Nachwirkungskontrolle / inactivation control 80% DE-ZAL	0.3g/l BSA	n.a.	6.75 ± 0.32	n.d.	n.d.	n.d.
Nachwirkungskontrolle / inactivation control distilled water	0.3g/l BSA	n.a.	7.25 ± 0.44	n.d.	n.d.	n.d.
Zellsensibilität / cell susceptibility (PBS)	0.3g/l BSA	n.a.	n.d.	n.d.	n.d.	6.75 ± 0.32
Zellsensibilität / cell susceptibility (0.1% DE-ZAL)	0.3g/l BSA	n.a.	n.d.	n.d.	n.d.	6.50 ± 0.00
TCID ₅₀	Tissue culture infectious dose					
CD ₅₀	Zytotoxische Dosis / cytotoxic dose					
n.a.	nicht anwendbar / not applicable					
n.d.	nicht durchgeführt / not done					
BSA	Rinderserumalbumin / bovine serum albumin					
PBS	Phosphat gepufferte Salzlösung / phosphate buffered salt solution					

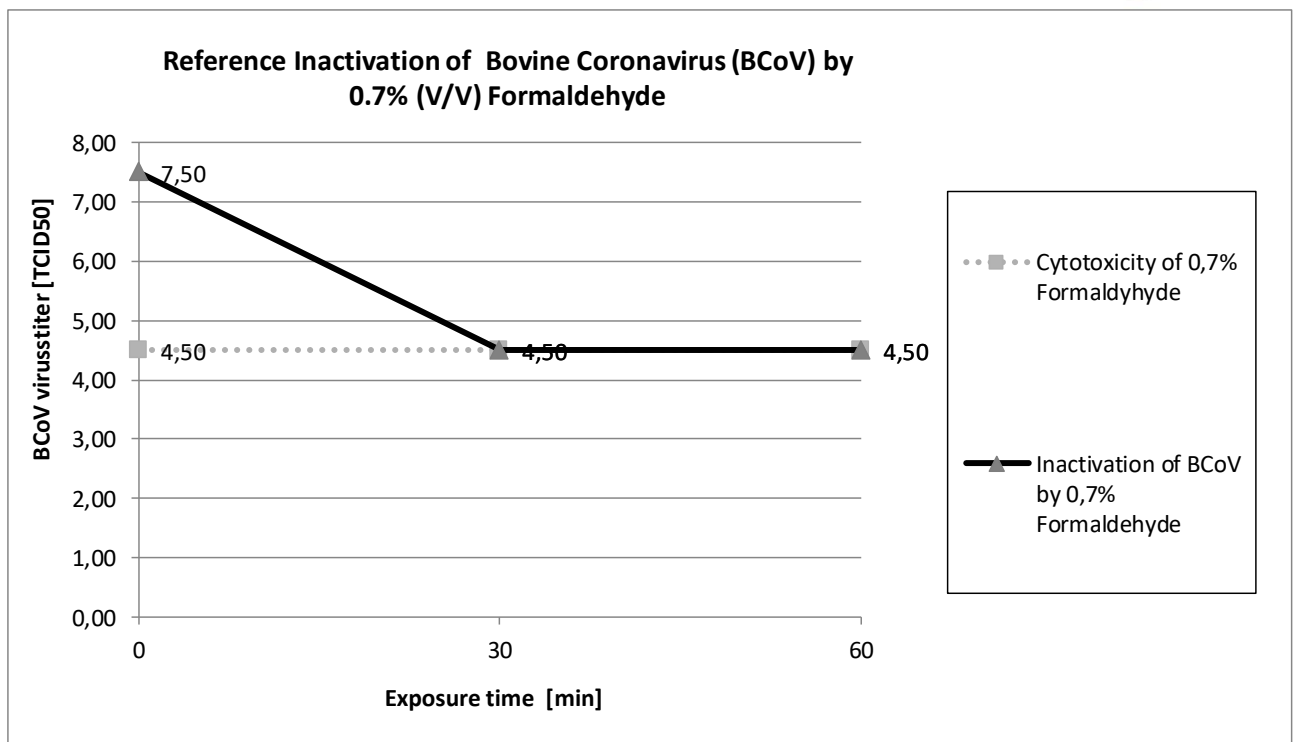


Abb. 1 / fig. 1 : Referenzinaktivierung von Bovinem Coronavirus durch 0,7% Formaldehyd / *reference inactivation of Bovine Coronavirus by 0.7% formaldehyde*

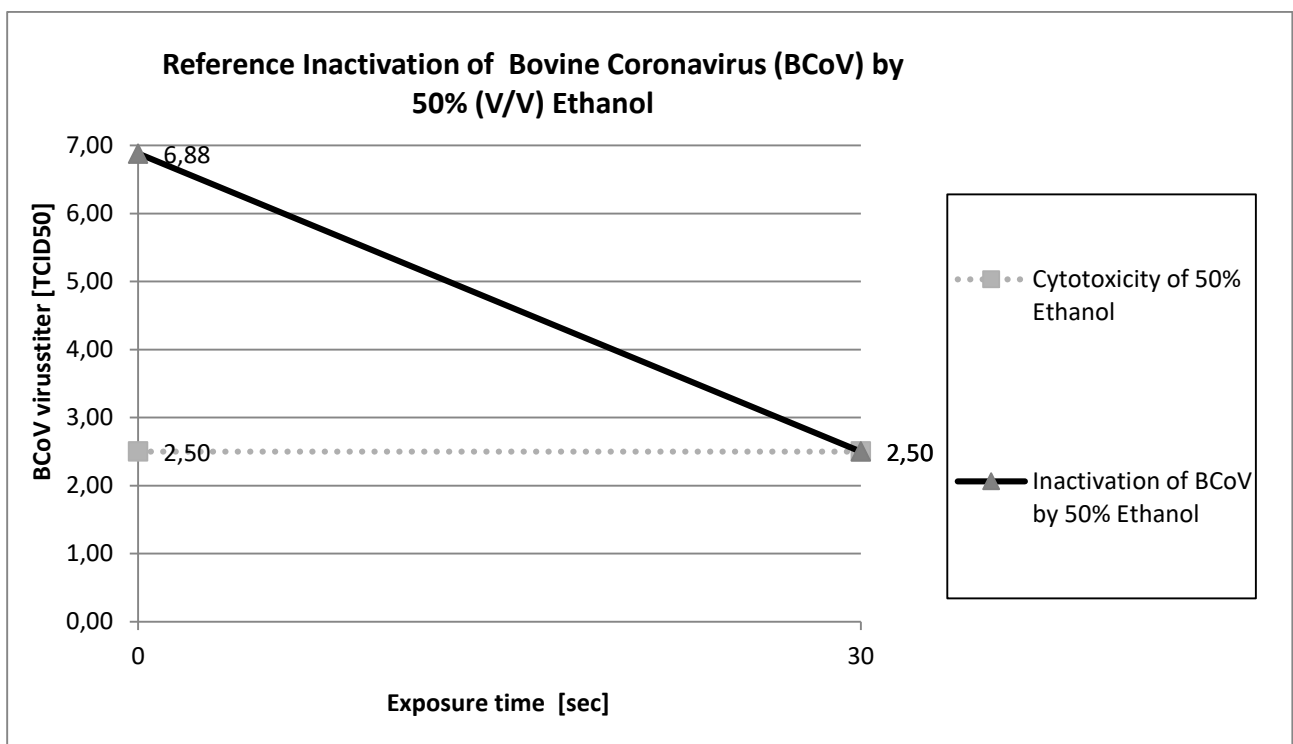


Abb. 2 / fig. 2 : Referenzinaktivierung von Bovinem Coronavirus durch 50% Ethanol / *reference inactivation of Bovine Coronavirus by 50% ethanol*

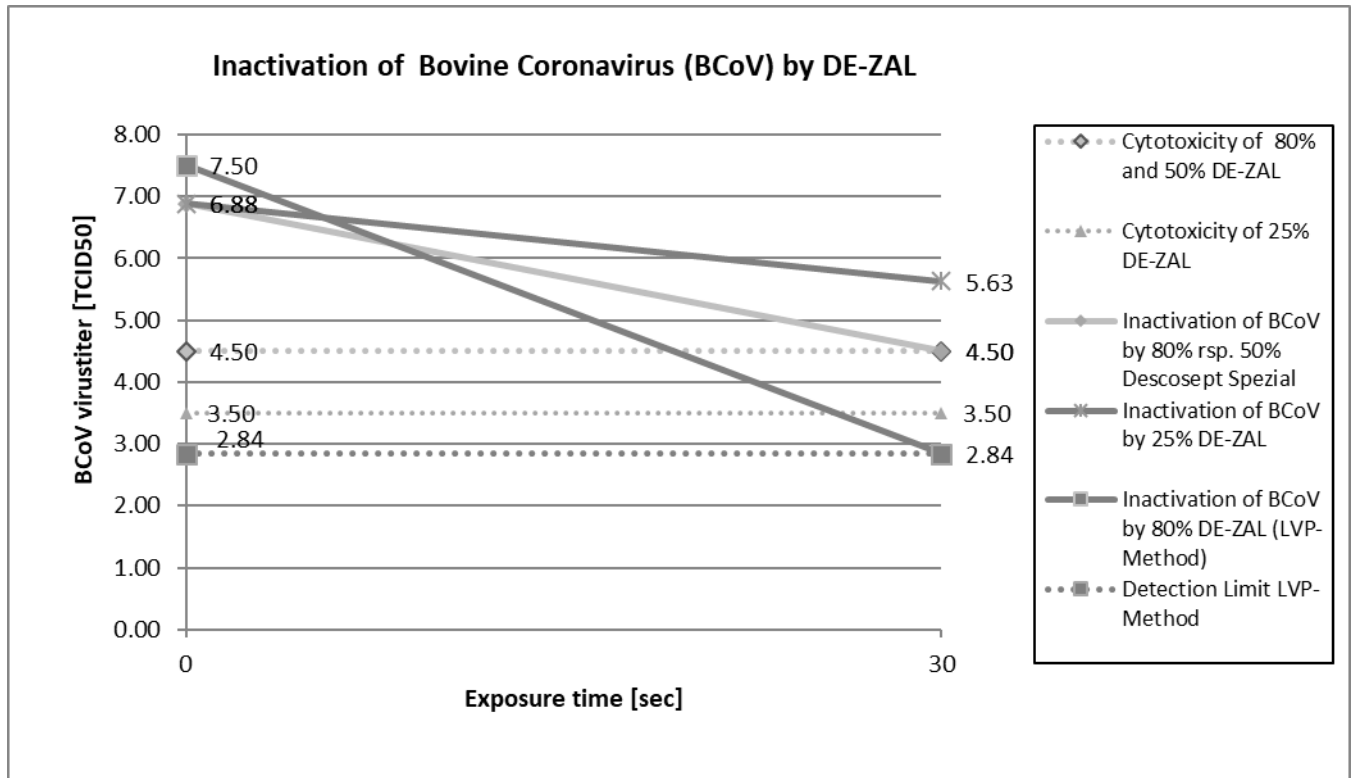


Abb. 3 / fig. 3: Inaktivierung von Bovinem Coronavirus durch DE-ZAL / *inactivation of Bovine Coronavirus by DE-ZAL*

Verifizierung des Verfahrens / verification of the methodology

Zytotoxizität / cytotoxicity: Das 80%ige und 50%ige Produkt **DE-ZAL** zeigte bei einer Verdünnung von 10^{-4} (4,50 CD_{50}) keinen zytotoxischen Effekt. Das 25%ige Produkt zeigte bei einer Verdünnung von 10^{-3} (3,50 CD_{50}) keinen zytotoxischen Effekt.
Dies stört folglich die erforderlichen Verdünnungen zum Nachweis einer viruziden Wirkung.
Mit der Large Volume Plating Methode konnte die Zytotoxizität auf $\leq 2,84 CD_{50}$ reduziert werden.

*The 80% und 50% sample **DE-ZAL** showed no cytotoxic effect at a dilution of 10^{-4} (4.50 CD_{50}). The 25% product showed no cytotoxic effect at a dilution of 10^{-3} (3.50 CD_{50}). Therefore this does affect the dilutions needed to demonstrate the virucidal activity.
With the Large Volume Plating Method die cytotoxicity could be reduced to $\leq 2.84 CD_{50}$.*

**Viruskontrolle /
virus control:**

Der Virustiter für das Bovine Coronavirus betrug am 24.03.2020 $6,88 \pm 0,36 TCID_{50}$ sowie am 02.04.2020 $7,50 \pm 0,36 TCID_{50}$. Die nachweisbare Titerreduktion betrug somit $\geq 4lg$.

*The virus titre for Bovine Coronavirus was on 2020-03-24 $6.88 \pm 0.36 TCID_{50}$ as well as on 2020-04-02 $7.50 \pm 0.36 TCID_{50}$.
The detectable titre reduction was $\geq 4lg$.*

**Zellsensibilität /
cell susceptibility:**

Die vergleichende Virustitration auf vorbehandelten und nicht vorbehandelten Zellen zeigte einen Unterschied von $< 1lg$ Stufen.

The comparative virus titration on pretreated cells and not pretreated cells showed a difference $< 1lg$ units of the virus titre.

**Referenzinaktivierung /
reference inactivation:**

Der Reduktionsfaktor von 0,7% Formaldehyd betrug nach 30 und 60 Minuten Einwirkungszeit $\geq 1,63lg$.
Der Reduktionsfaktor von 50% Ethanol betrug nach 30 Sekunden Einwirkungszeit $\geq 4,38lg$.

*The reduction factor of 0.7% formaldehyde was $\geq 1.63lg$ after 30 and 60 minutes contact time.
The reduction factor of 50% ethanol was $\geq 4.38lg$ after 30 seconds contact time.*

**Nachwirkungskontrolle /
inactivation control:**

Die vergleichende Virustitration der Nachwirkungskontrolle und der Viruskontrolle zeigte einen Unterschied von $< 0,5lg$ Stufen.
The comparative virus titration of the control of efficiency of suppression of samples activity and the virus control showed a difference of $< 0.5lg$ units.

Schlussfolgerung / conclusion:

Nach einer Einwirkzeit von 30 Sekunden mit dem 80%igen Produkt **DE-ZAL** bei niedriger Belastung konnte keine Vermehrung von Bovinem Coronavirus in Kulturen von PT-Zellen nachgewiesen werden.

Mit der Large Volume Plating Methode konnte die erforderliche ≥ 4 lg Stufen Titerreduktion nachgewiesen werden.

*After an exposure time of 30 seconds with 80% **DE-ZAL** product under clean conditions no replication of Bovine Coronavirus could be detected in cultures of PT-cells.*

With the Large Volume Plating Method the required ≥ 4 lg unit titre reduction could be demonstrated.

Archivierung: Eine Ausfertigung des Berichtes wird zusammen mit den Rohdaten im Archiv des Auftragnehmers aufbewahrt.

archiving: *A copy of the test report will be kept together with the raw data in the contractor's archive.*

Hinweis: Die Prüfergebnisse beziehen sich ausschließlich auf die genannten Prüfprodukte. Auszugsweise Wiedergabe dieses Berichtes nur mit schriftlicher Genehmigung der HygCen Germany GmbH.

note: *The test results refer only to the named test samples. Reproduction of any part of this report requires the written permission of HygCen Germany GmbH.*



Dr. med. univ. S. Werner
Head of Scientific-Technical Affairs
Microbiological Test Methods



Dipl. Umweltwiss. J. Köhnlein
Division manager

Annex

Rohdaten – Quantitativer Suspensionsversuch Viruzidie (Phase 2, Stufe 1) mit Bovinem Coronavirus Raw data – Virucidal quantitative suspension test (phase 2, step 1) according to EN 14476 with DE-ZAL and Bovine Coronavirus

Produkt / Product	Konzentration / Concentration	Belastung / Interfering substance	Einwirkzeit / Contact time	Verdünnung lg / dilution																			
				-1	-2	-3	-4	-5	-6	-7	-8												
DE-ZAL	80,00%	0.3g/l BSA	30 sec	ct	ct	ct	ct	ct	ct	ct	ct	ct	ct	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
DE-ZAL	80,00%	0.3g/l BSA	30 sec	ct	ct	ct	ct	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
DE-ZAL	LVP-Method			ct	ct	ct	ct	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
DE-ZAL	50,00%	0.3g/l BSA	30 sec	ct	ct	ct	ct	ct	ct	ct	ct	ct	ct	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
DE-ZAL	25,00%	0.3g/l BSA	30 sec	ct	ct	ct	ct	ct	ct	ct	ct	ct	ct	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
DE-ZAL	80,00%	0.3g/l BSA	n.a.	ct	ct	ct	ct	ct	ct	ct	ct	ct	ct	0	0	0	0	0	0	n.a.	n.a.	n.a.	
Zytotoxizität / Cytotoxicity				ct	ct	ct	ct	ct	ct	ct	ct	ct	ct	0	0	0	0	0	0				
DE-ZAL	80,00%	0.3g/l BSA	n.a.	ct	ct	ct	ct	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	n.a.	n.a.	n.a.		
Zytotoxizität / Cytotoxicity	LVP-Method			ct	ct	ct	ct	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0					
DE-ZAL	50,00%	0.3g/l BSA	n.a.	ct	ct	ct	ct	ct	ct	ct	ct	ct	ct	0	0	0	0	0	n.a.	n.a.	n.a.		
Zytotoxizität / Cytotoxicity				ct	ct	ct	ct	ct	ct	ct	ct	ct	ct	0	0	0	0	0					
DE-ZAL	25,00%	0.3g/l BSA	n.a.	ct	ct	ct	ct	ct	ct	ct	0	0	0	0	0	0	0	0	n.a.	n.a.	n.a.		
Zytotoxizität / Cytotoxicity				ct	ct	ct	ct	ct	ct	ct	0	0	0	0	0	0	0	0					
Formaldehyd	0,7%	PBS	n.a.	ct	ct	ct	ct	ct	ct	ct	0	0	0	0	0	0	0	0	n.a.	n.a.	n.a.		
Zytotoxizität / Cytotoxicity				ct	ct	ct	ct	ct	ct	ct	0	0	0	0	0	0	0	0					
Formaldehyd 20°C	0,7%	PBS	30 min	ct	ct	ct	ct	ct	ct	ct	3	3	3	2	2	2	0	0	0	0	0	0	0
			60 min	ct	ct	ct	ct	ct	ct	ct	3	3	3	2	2	2	0	0	0	0	0	0	0
				ct	ct	ct	ct	ct	ct	ct	3	3	3	2	2	2	0	0	0	0	0	0	0
Ethanol	50,0%	0.3g/l BSA	n.a.	ct	ct	ct	ct	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	n.a.	n.a.	n.a.		
Zytotoxizität / Cytotoxicity				ct	ct	ct	ct	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0					
Ethanol 20°C	50,0%	0.3g/l BSA	30 sec	ct	ct	ct	ct	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Suszeptibilität von PT-Zellen	PBS	0.3g/l BSA	60 min	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3	3	3	2	2	2	0	0	0	0
Suszeptibilität von PT-Zellen	Produkt	0.3g/l BSA	60 min	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3	3	3	1	1	1	0	0	0	0
Suszeptibilität von PT-Zellen	0,10%			4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3	3	3	1	1	1	0	0	0	0
Inactivation control	Produkt	0.3g/l BSA	0 min	ct	ct	ct	ct	ct	ct	ct	ct	ct	ct	3	3	3	3	3	2	0	0	0	0
Nachwirkungskontrolle	80%			ct	ct	ct	ct	ct	ct	ct	ct	ct	ct	3	3	3	3	3	0	0	0	0	0
Inactivation control	VE	0.3g/l BSA	0 min	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3	3	3	3	3	2	2	0	0	0
Nachwirkungskontrolle				4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3	3	3	3	3	2	0	0	0	0
Viruskontrolle / virus control	n. a.	0.3g/l BSA	30 sec	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3	3	3	2	2	2	0	2	0	0
Viruskontrolle / virus control	1,0ml 24.03.2020			4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3	3	3	2	2	2	0	2	0	0
Viruskontrolle / virus control	n. a.	0.3g/l BSA	30 sec	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3	3	3	2	0	2	0	0
Viruskontrolle / virus control	1,0ml 02.04.2020			4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	3	3	3	2	2	2	0	0
WSH Kontrolle			0 min	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
WSH Control				0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1 to 4 Virus nachweisbar / virus detectable (1=25% CPE, 4=100% CPE)																							
0 / kein Virus / keine Zytotoxizität nachweisbar / no virus / no cytotoxicity																							
n.a. nicht anwendbar / not applicable																							
n.d. nicht durchgeführt / not done																							
CPE Zytopathogener Effekt / Cytopathogenic effect																							
FBS Fötales Kälberserum / Fetal Bovine Serum Albumine																							
CT Zytotoxischer Effekt / Cytotoxic effect																							