



Клиника для птиц, рептилий,
земноводных и рыб

Ветеринарная клиника
Гиссенский университет им. Юстуса Либиха.

ЕвроТаб Групп.
BP211- ZAC des Peyrardes
42170 St Just St Rambert
Франция

Штамп: ЕвроТаб

Уставный капитал 1213203 евро
BP211- ZAC des Peyrardes
42170 St Just St Rambert
Франция

Клиника для птиц, рептилий, земноводных и рыб
Профессор, доктор ветеринар, Майкл Лирц
(Директор)
Телефон: +49 0 641/99 384-31
Факс: +49 0 641/99 384-39
Германия, Гиссен, 35392, ул. Франкфуртер, д. 91-93

Доктор ветеринар Айхан Йилмаз
Телефон: +49 0 641/99 384-50
Факс: +49 0 641/99 384-39
Германия, Гиссен, 35392, ул. Франкфуртер, д. 91-93
Электронная почта: ayhan.yilmaz@vetmed.uni-giessen.de

12 июля 2009 года

**ПРОТОКОЛ ИСПЫТАНИЯ
EN 14476, ПРОТИВОВИРУСНАЯ АКТИВНОСТЬ
(с обязательным использованием вируса свиного гриппа А)**

а) Испытательная лаборатория

Вирусологическая лаборатория клиники для птиц, рептилий, земноводных и рыб при Гиссенском университете им. Юстуса Либиха.

б) Идентификация образца

- 1) **Название средства:** NOVELTY CHLOR (Формула 30101)
- 2) **Образец дезинфицирующего средства:** 10 таблеток, каждая по ~3,3г
- 3) **Номер партии:** 17/03/09 03:51
- 4) **Дата изготовления:** 17/03/09
- 5) **Срок поставки средства:** 22/06/2009
- 6) **Срок годности:** не указан

7) **Производитель:** EUROTAB OPERATIONS, ZAC des Peyrardes BP 211, 42170 St Just St Rambert, FRANCE

8) **Условия хранения:** при комнатной температуре, в защищенном от света месте

9) **Внешний вид средства:** круглые таблетки

10) **Активные вещества и их концентрация:** Натрий дихлоризоцианурат дигидрат. Концентрация не указана.

с) Экспериментальные условия

1) **Срок испытания:** 23/06/2009 – 12/07/2009

2) **Температура испытания:** 20 ± 1 °C (обязательно)

3) **Растворитель, рекомендованный для использования производителем:** не указан

4) **Метод титрования:** Количественный анализ при десятичном разведении на монослое клеток на титрационном микропланшете.

5) **Концентрации испытуемого средства:** см. таблицы 1-5

6) **Время воздействия:** 60 мин. (обязательно)

7) **Способ прекращения воздействия средства:** Разведение в охлажденной до 0°C культуральной среде сразу по окончанию периода воздействия.

8) **Интерферирующие вещества:** 0,3 г/л бычьего сывороточного альбумина (БСА) (чистые условия), 3 г/л бычьего альбумина + 3 мл/л фасованных бараньих эритроцитов (грязные условия) в реакционной смеси.

9) **Растворитель:** известковая вода согласно EN 14476

10) **Тест-микроорганизм:** вирус свиного гриппа А (A/swine/Schwarzenbek/1/81, H1N1)

11) **Клеточная культура:** куриные эмбриональные фибробласты.

12) **Инкубационная температура:** 37°C.

д) Валидация результатов испытания

1) **Титр вирусной суспензии:** 7,5-7,6 TCID₅₀/мл (где TCID₅₀ - 50% инфекционная доза для тканевой культуры) в lg₁₀ (после осаджения при помощи ультрацентрифугирования)

2) **Наибольшая определяемая вирусная инаktivация:** 4 lg₁₀

3) Вирусная инаktivация по результатам референтного вирус-инаktivирующего исследования: не проводилась.

е) Презентация результатов

1) **Описание результатов:** В первом тесте титр вируса контроля для чистых условий был 6,5 TCID₅₀/ml, а для грязных условий – 6,6 TCID₅₀/ml. Во втором тесте контрольные титры равнялись 6,6 TCID₅₀/ml (чистые условия) и 6,5 TCID₅₀/ml (грязные условия). В чистых условиях исследуемый вирус был полностью обеззаражен через 60 мин. после взаимодействия с NOVELTY CHLOR в концентрации 0,5 таблетки/10 литров (эквивалентно 1 таблетки на 20 литров). Для дезинфекции в грязных условиях потребовалось 60 мин. воздействие средства с концентрацией 2 таблетки на 10 литров.

Таблица 1: Результаты испытания NOVELTY CHLOR с вирусом свиного гриппа А (A/swine/Schwarzenbek/1/81, H1N1) в чистых условиях в соответствии с EN 14476

Средство	Концентрация (таблетка/10 литров)	Интерферирующее вещество	Уровень цитотоксичности	Номер теста	Ig ₁₀ TCID ₅₀ /мл*	>4 Ig ₁₀ уменьшение через... мин.	
NOVELTY CHLOR	0,25	0,3 г/л БСА	≤2,5	1	≤3,1	п. а.	
				2	≤2,9	п. а.	
	0,5		1	≤2,5	60		
			2	≤2,5	60		
	1		1	≤2,5	60		
			2	≤2,5	60		
	2		1	≤2,5	60		
			2	≤2,5	60		
	Контроль вируса		п. а.	п. а.	1	6,5	п. а.
					2	6,6	п. а.
Контроль вируса или испытание стабильности	10 ⁻² на 2 таблетка/10 л	п. а.	1	6,3	п. а.		

п. а = не применялось = не проводилось

* TCID₅₀ ml = 50% инфекционная доза для тканевой культуры в 1 мл

Таблица 2: Результаты испытания NOVELTY CHLOR с вирусом свиного гриппа А (A/swine/Schwarzenbek/1/81, H1N1) в грязных условиях в соответствии с EN 14476

Средство	Концентрация (таблетка/10 литров)	Интерферирующее вещество	Уровень цитотоксичности	Номер теста	lg TCID ₅₀ /мл* через 60 мин.	>4lg уменьшение через... мин.
NOVELTY CHLOR	0,5	3 г/л БСА + 3 мл/л эритроцитов	≤2,5	1	5,4	п. а.
				2	5,6	п. а.
	1		≤2,5	1	≤3,4	п. а.
				2	4,3	п. а.
	2		≤2,5	1	≤2,5	60
				2	≤2,5	60
	3		≤2,5	1	≤2,5	60
				2	≤2,5	60
Контроль вируса	п. а.	п. а.	п. а.	1	6,6	п. а.
				2	6,5	п. а.
Контроль вируса или испытание стабильности	10 ⁻² на 3 таблетка/10 л	п. а.	п. а.	1	6,8	п. а.

п, а. = не применялось
* TCID₅₀ ml = 50% инфекционная доза для тканевой культуры в 1 мл

Таблица 3: Результаты испытания, проведенного для определения клеточной чувствительности к исследуемому вирусу (A/swine/Schwarzenbek/1/81, H1N1) в соответствии с EN 14476

Концентрация средства (таблетка/ 10 литров) Интерферирующее вещество Шаг разведения (10 ⁿ)	Разведения (lg ₁₀) ^a									
	2	3	4	5	6	7	8			
ПРЕВЕНТРОЛ 50 Цитотоксичность в 96- луночных планшетах	2	0,3 г/л БСА	2	4444	4444	2133	0100	1000	0000	0000
				4444	4444	4333	1211	0000	0000	0000
	3	/л БСА + 3 мл/л эритроцитов	2	4444	4444	3233	2111	1003	0000	0000
				4444	3444	3433	1111	0000	0000	0000

^a 4 степень цитопатогенного эффекта (цитопатогенный эффект = наличие вируса) в 8 юнитах клеточной культуры
тствие вируса проводилось

Таблица 4: Необработанные данные по исследуемому средству NOVELTY CHLOR против вируса свиного гриппа А (A/swine/Schwarzenbek/1/81, H1N1) (количественное исследование; 8 лунок)

Средство	Концентрация (таблетка/10 литров)	Интерферирующее вещество	Время воздействия (мин.)	Номер теста	Разведения (\lg_{10}) ^a							
					2	3	4	5	6	7		
NOVELTY CHLOR (Исследование инаktivации)	0,25	0,3 г/л БСА	60	1	0111 1004	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000		
				2	0420 0000	0000 0001	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000		
	1			0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000			
	2			0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000			
	1			0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000			
	2			0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000			
	1			0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000			
	2			0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000			
	0,5			3 г/л БСА + 3 мл/л эритроцитов	60	1	4344 4444	4444 4444	2011 1111	0000 0000	0000 0000	0000 0000
	2					4444 4444	4444 4444	3243 3111	1000 0000	0000 0000	0000 0000	
	1	1112 0110	0010 0000			0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000			
	2	4334 3233	3213 1010			0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000			
	1	0000 0000	0000 0000			0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000			
	2	0000 0000	0000 0000			0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000			
	1	0000 0000	0000 0000			0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000			
	2	0000 0000	0000 0000			0000 0000	0000 0000	0000 0000	0000 0000			

а)

от 1 до 4 - степень цитопатогенного эффекта (цитопатогенный эффект = наличие вируса) в 8 юнитах клеточной культуры

0 - отсутствие вируса

n.d. - не проводилось

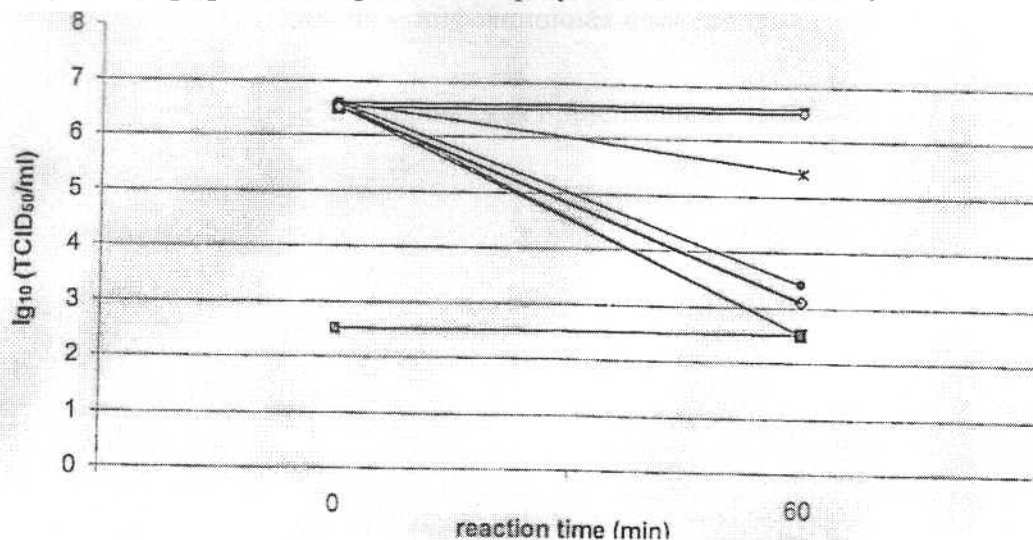
Таблица 5: Необработанные данные по исследуемому средству NOVELTY CHLOR против вируса свиного гриппа А (A/swine/Schwarzenbek/1/81, H1N1) (количественное исследование; 8 лунок)

Product	Концентрация (таблетка/10 литров)	Интерферирующее вещество	Время воздействия (мин.)	Номер теста	Разведение (lg_{10}) ^a 4							
					2	3	4	5	6	7		
NOVELTY CHLOR (Цитотоксичность в 9-луночных планшетах)	0,25	0,3 г/л БСА	п. а.	1	0000 0000	0000 0000	0000 0000	n. d.	n. d.	n. d.		
	0,5			2	0000 0000	0000 0000	0000 0000	n. d.	n. d.	n. d.		
	1			1	0000 0000	0000 0000	0000 0000	n. d.	n. d.	n. d.		
	2			2	0000 0000	0000 0000	0000 0000	n. d.	n. d.	n. d.		
	0.5	3 г/л БСА + 3 мл/л эритроцитов		1	0000 0000	0000 0000	0000 0000	n. d.	n. d.	n. d.		
	1			2	0000 0000	0000 0000	0000 0000	n. d.	n. d.	n. d.		
	2			1	0000 0000	0000 0000	0000 0000	n. d.	n. d.	n. d.		
	3			2	0000 0000	0000 0000	0000 0000	n. d.	n. d.	it d.		
	Вирус-контроль	п. а.		0,3 г/л БСА	60	1	4444 4444	3443 4444	3211 2123	1111 0111	0030 0000	0000 0000
						2	4444 4444	4444 4444	3432 3333	0110 3111	1001 0100	0000 0000
		3 г/л БСА + 3 мл/л эритроцитов	1	4444 4444		4444 4444	3232 1224	2111 3111	0000 0100	0000 0000		
			2	4444 4444		4444 4444	3432 4222	0041 1211	0004 0001	0000 0000		

а)
от 1 до 4 - степень цитопатогенного эффекта (цитопатогенный эффект = наличие вируса) в 8 единицах клеточной культуры для определения уровня цитотоксичности цитотоксических эффектов в единице клеточной культуры.
0 - отсутствие вируса и цитотоксического эффекта
n.d. - не проводилось
п. а - не применялось

3) Графическая презентация всех результатов

Рисунок 1: Графическая презентация результатов из Таблицы 1,

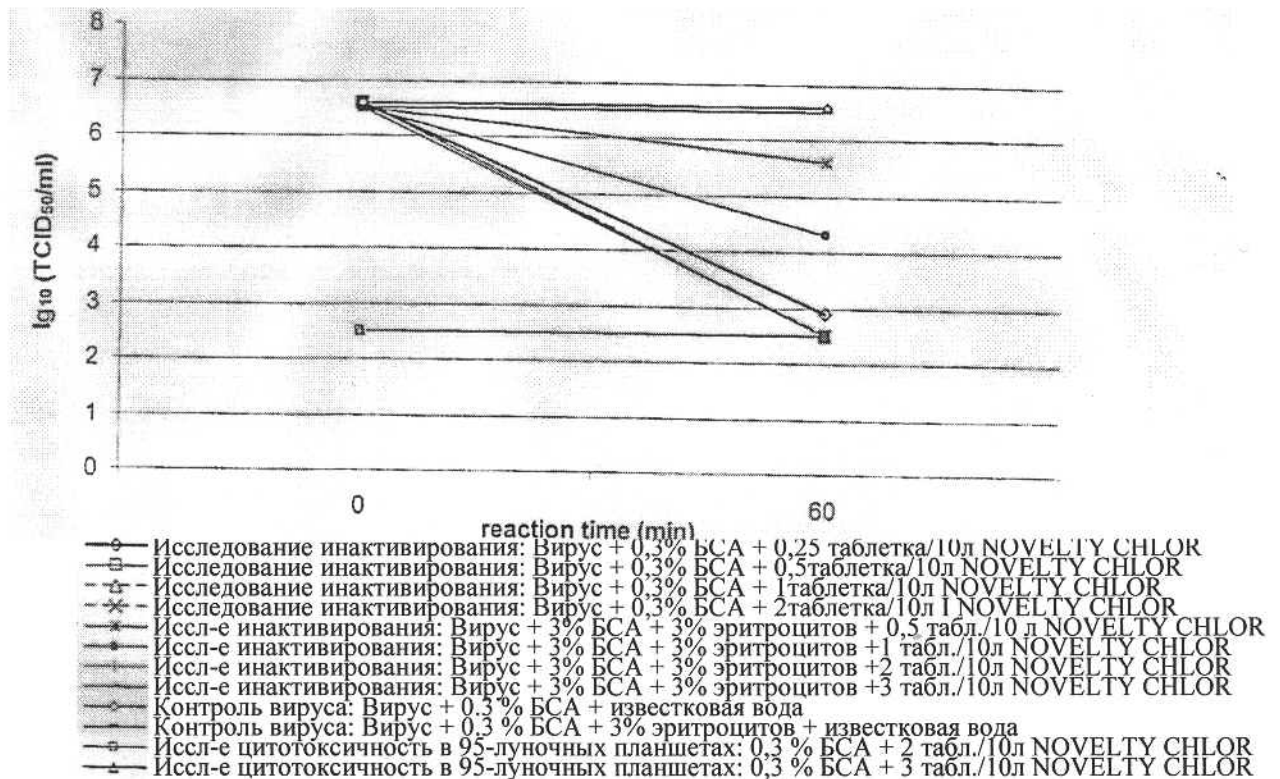


- Исследование инактивирования: Вирус + 0,3% БСА + 0,25 таблетка/10л NOVELTY CHLOR
- Исследование инактивирования: Вирус + 0,3% БСА + 0,5 таблетка/10л NOVELTY CHLOR
- △ Исследование инактивирования: Вирус + 0,3% БСА + 1 таблетка/10л NOVELTY CHLOR
- × Исследование инактивирования: Вирус + 0,3% БСА + 2 таблетка/10л NOVELTY CHLOR
- ★ Иссл-е инактивирования: Вирус + 3% БСА + 3% эритроцитов + 0,5 табл./10 л NOVELTY CHLOR
- Иссл-е инактивирования: Вирус + 3% БСА + 3% эритроцитов + 1 табл./10л NOVELTY CHLOR
- Иссл-е инактивирования: Вирус + 3% БСА + 3% эритроцитов + 2 табл./10л NOVELTY CHLOR
- Иссл-е инактивирования: Вирус + 3% БСА + 3% эритроцитов + 3 табл./10л NOVELTY CHLOR
- Контроль вируса: Вирус + 0,3 % БСА + известковая вода
- Контроль вируса: Вирус + 0,3 % БСА + 3% эритроцитов + известковая вода
- Иссл-е цитотоксичность в 95-луночных планшетах: 0,3 % БСА + 2 табл./10л NOVELTY CHLOR
- Иссл-е цитотоксичность в 95-луночных планшетах: 0,3 % БСА + 3 табл./10л NOVELTY CHLOR

Где «reaction time» - время реакции,

«TCID₅₀/ml» - инфекционная доза для тканевой культуры в 1 мл

Рисунок 2: Графическая презентация результатов из Таблицы 1, 2 (второй тест)



4) **Особые указания относительно результатов:** Не осаждать во время

проведения испытания (исследуемая смесь была гомогенизирована).

f) Заключение: Для средства NOVELTY CHLOR противовирусная концентрация относительно исследуемого вируса свиного гриппа А (A/swine/Schwarzenbek/1/81, H1N1) определялась в соответствии с EN 14476 (Химические дезинфектанты и антисептики – Вирулицидное количественное суспензионное определение для химических дезинфектантов и антисептиков, используемых для применения у человека – Метод испытания и требования к нему (фаза 2, шаг 1). Дата – февраль 2007г.) при обязательных условиях (температура исследования: 20 ± 1 С°; время воздействия – 60 мин.) и в грязных условиях составляет:

2 таблетки на 10 литров воды

Исследование в чистых условиях показало, что дезинфекция при $20 \pm 1 \text{ C}^\circ$ может быть достигнута уже через 60 мин. взаимодействия с NOVELTY CHLOR в концентрации 0,5 таблетки на 10 л.

12/07/2009

Ветеринарный врач Айхан Йилмаз *Подпись*