ECO WIAN

HIGÉN+99

VIRUCIDAL EFFICACY TESTS

MSZ EN 14476 (PHASE 2, STEP 1)

TEST RESULTS

Ecowian Magyarország Kft.
1026 Budapest
Pávrány út 20. Fszt.
Adószám: 25756272-2-41

Virucidal efficacy tests

Reg. No.:
37769-1/2021/MRLAB

Testing laboratory:	National Public Health Center, Budapest, HUNGARY
	Division of Reference Laboratory for Microbiology
	Department for Virology
address:	Albert Flórián út 2-6, BUDAPEST1097
phone:	+36 1 476-1358

Name of the product:	HIGÉN+99
Batch number/expiry date:	ECO-KF50 / 02.12.2021.
Manufacturer:	C.S.G. Kft.
address:	Dózsa Gy. u. 37. Göd 2131 Hungary
phone:	-
e-mail:	-
Date of manufacture:	02.06.2021.
Date of delivery:	07.06.2021.
Storage conditions:	room temperature
Product diluent recommended by the manufacturer:	-
Active substance(s) and concentration(s):	Hypochlorous acid 500 ppm CAS:7790-92-3
Appearance of the product:	colorless liquid

Date of tests (period of analysis):	07.06.2021.
Diluent used for for product test solution:	-
Test method and validation:	Standard MSZ EN 14476:2013+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)
Test viruses:	- non-enveloped RNA virus: *Poliovirus type 1 (strain LSc-2ab) [NIBSC 01/528]* - non-enveloped RNA virus: *Murine norovirus (strain S99 Berlin) [FLI RVB-0651]* - non-enveloped DNA virus: *Adenovirus (type 5) [ATCC VR-5]*
Requirements:	The test product when tested in accordance with the test methodology described under simulated clean and/or dirty conditions shall demonstrate at least a 4 $\log_{10}$ reduction in contact time according to the manufacturer's recommendation. Additional contact times may be selected.
Product test concentration(s):	100%
Contact times:	1 min, 3 min
Test temperature:	20°C
Interfering substance(s):	Dirty conditions: 3,0g/l bovine albumin solution + 3,0 ml/l erythrocytes
Inhibition method:	The cytotoxic effect to the cells was avoided by filtration by Sephadex L20

Ecowian Magyarország Kft.
1026 Budapest
Pávrány út 20. Fszt.
Adószám: 25756272-2-41

Cell lines:	L20B *[NIBSC 13/96]*, RAW 264.7 *[ATCC TIB-71]*, A549 *[ATCC CCL-185]*

SUMMARY OF TETS METHOD

1. Virus control

The concentration of the test virus suspension is enable the ≥4-log reduction.

Test virus	Concentration	Interfernig substance	Contact Time (min)	Dilutions (-lg) 2	3	4	5	6	7	8	(*) Log TCID50
Poliovirus	n.a.	dirty conditions	0	444444	444444	444444	444444	444444	404044	000000	7,17
		hard water	0	444444	444444	444444	444444	444444	444400	000000	7,17
			3*	444444	444444	444444	444444	444444	004044	000000	7,00
Norovirus	n.a.	dirty conditions	0	444444	444444	444444	000000	000000	000000	000000	4,50
		hard water	0	444444	444444	444444	000000	000000	000000	000000	4,50
			3*	444444	444444	444444	000000	000000	000000	000000	4,50
Adenovirus	n.a.	dirty conditions	0	444444	444444	444444	444444	444444	302022	000000	7,17
		hard water	0	444444	444444	444444	444444	444444	333000	000000	7,00
			3*	444444	444444	444444	444444	444444	304100	000000	7,00

2. Cytotoxicity control

No toxic reaction was observed by the test product.

Product	Cell line	Concentration	Interfernig substance	Dilutions (-lg) 2	3	4	5	6	7	8	Log TCID50
Higén+99	L20B	100%	dirty conditions	000000	000000	000000	000000	000000	000000	000000	0
	RAW			000000	000000	000000	000000	000000	000000	000000	0
	A549			000000	000000	000000	000000	000000	000000	000000	0

Ecowlan Magyarország Kft.
1026 Budapest
Pávrány út 20. Fszt.
Adószám: 25756272-2-41

3. Suppression control

Product	Concentration	Interfernig substance	Test virus	Dilutions (-lg)							(*) Log TCID50
				2	3	4	5	6	7	8	
Higén+99	100%	dirty conditions	Poliovirus	444444	444444	444444	444444	444444	004000	000000	6,67
			Norovirus	444444	444444	400440	000000	000000	000000	000000	4,00
			Adenovirus	444444	444444	444444	444444	444444	000030	000000	6,67

4. Interference control

The susceptibility of infection in cells is not influenced negatively by the test.

Product	Cell line	Concentration	Contact Time (min)	Test virus	Dilutions (-lg)							Log TCID50
					2	3	4	5	6	7	8	
PBS	L20B	n.a.	60	Poliovirus	444444	444444	444444	444444	444444	400400	000000	6,83
	RAW			Norovirus	444444	444444	444424	000000	000000	000000	000000	4,50
	A549			Adenovirus	444444	444444	444444	444444	444444	043300	000000	7,00
Higén+99	L20B	100%	60	Poliovirus	444444	444444	444444	444444	444044	000000	000000	6,33
	RAW			Norovirus	444444	444444	444000	000000	000000	000000	000000	4,00
	A549			Adenovirus	444444	444444	444444	444444	444244	000000	000000	6,50

Ecowian Magyarország
1026 Budapest
Pálfrány út 20. F...
Adószám: 2575627...

5. Reference control (reference test for virus inactivation)

Product	Concentration	Interfernig substance	Contact Time (min)	Test virus/ Cell line	Dilutions (-lg)							Log TCID50
					2	3	4	5	6	7	8	
formaldehyde	0,7% (w/v)	PBS	60	Poliovirus	444444	444444	404400	000000	000000	000000	000000	4,00
				Norovirus	044444	000000	000000	000000	000000	000000	000000	2,33
				Adenovirus	444444	444000	000000	000000	000000	000000	000000	3,00
formaldehyde cytotoxicity	0,7% (w/v)	PBS	n.a.	L20B	444444	000000	000000	000000	000000	000000	000000	2,50
				RAW	444444	000000	000000	000000	000000	000000	000000	2,50
				A549	444444	000000	000000	000000	000000	000000	000000	2,50

*= maximum contact time tested

(*)= $LogTCID_{50}$ calculated titer by the Spearman-Kärber method from the data (degree of cytopathic effect/cytotoxicity) of the serial tenfold dilution from 10^{-2} to 10^{-8} in six parallel cell culture unit

n.a = not applicable

n.d.= not done

RF= reduction factor

Ecowian Magyarország Kft.
1026 Budapest
Páfrány út 20. Fszt.
Adószám: 25756272-2-41

Ecowian Magyarország Kft.
1026 Budapest
Pálfrány út 20. Fszt.
Adószám: 25756272-2-41

6. Results

Log_{10} counts/reductions achieved in 1 and 3 minutes at 20°C (tests were carried out in six parallels – figures expressed are the mean of the six test results).

Product	Concentration	Contact Time (min)	Interfernig substance	Test virus		Dilutions (-lg) 2	3	4	5	6	7	8	Log TCID50	titer reduction (log RF)
Higén+99	100%	1	dirty conditions	Poliovirus	titer pre treatment	444444	444444	444444	444444	444444	404044	000000	7,17	4,84
					titer post treatment	444404	000000	000000	000000	000000	000000	000000	2,33	
				Norovirus	titer pre treatment	444444	444444	444444	000000	000000	000000	000000	4,50	4,50
					titer post treatment	000000	000000	000000	000000	000000	000000	000000	0	
				Adenovirus	titer pre treatment	444444	444444	444444	444444	444444	302022	000000	7,17	7,17
					titer post treatment	000000	000000	000000	000000	000000	000000	000000	0	
		3		Poliovirus	titer pre treatment	444444	444444	444444	444444	444444	404044	000000	7,17	7,17
					titer post treatment	000000	000000	000000	000000	000000	000000	000000	0	
				Norovirus	titer pre treatment	444444	444444	444444	000000	000000	000000	000000	4,50	4,50
					titer post treatment	000000	000000	000000	000000	000000	000000	000000	0	
				Adenovirus	titer pre treatment	444444	444444	444444	444444	444444	302022	000000	7,17	7,17
					titer post treatment	000000	000000	000000	000000	000000	000000	000000	0	

CONCLUSIONS

When tested in accordance with EN 14476 (2020), the disinfectant satisfies the requirements of the test ie possesses virucidal activity at 20°C when tested under dirty conditions (3% BSA and 3% sheep erythrocytes):

- >4 $\log_{10}$ reduction was achieved with poliovirus within the contact time of 1 min and 3 min
- >4 $\log_{10}$ reduction was achieved with norovirus within the contact time of 1 min and 3 min
- >4 $\log_{10}$ reduction was achieved with adenovirus within the contact time of 1 min and 3 min.

Test results issued by Department for Virology (National Public Health Center) does not imply approval of endorsement of this product.

Budapest, 16/062021

Agnes FARKAS
Biologist

Dr. Katalin SZOMOR
Head of Testing Laboratory

Ecowlan Magyarország Kft.
1026 Budapest
Pátrány út 20. Fszt.
Adószám: 25756272-2-41

„HIGÉN+99”

VIRUCID HATÉKONYSÁG VIZSGÁLAT

MSZ EN 14476 (2. FÁZIS, 1. LÉPÉS)

Vizsgálati eredmények

Ecowian Magyarország Kft.
1026 Budapest
Páfrány út 20. Fszt.
Adószám: 25756272-2-41

Virucid hatékonyság vizsgálat

A NAH által akkreditált vizsgálat (M7-01)

Iktatószám:
37769-1/2021/MRLAB

Vizsgáló laboratórium:	Nemzeti Népegészségügyi Központ
	Virológiai Laboratóriumi Osztály
cím:	1097 BUDAPEST, Albert Flórián út 2-6.
telefon:	476-1358
FAX:	476-1368

Termék neve:	HIGÉN+99
Gyártási szám/lejárati idő:	ECO-KF50 / 2021.12.02.
Gyártó/Forgalmazó:	C.S.G. Kft.
cím:	2131 Göd, Dózsa Gy. u. 37.
telefon:	-
FAX:	-
Gyártás időpontja:	2021.06.02.
Beérkezés időpontja:	2021.06.07.
Tárolási körülmények:	Normál
Összetétel/Hatóanyag:	Hipoklórossavból felszabaduló aktív klór, 500 ppm CAS:7790-92-3
Termék állaga:	Színtelen folyadék

Vizsgálat időpontja:	2021.06.07.
A termékhez felhasznált hígítószer:	-
Vizsgálati módszer és validálás:	MSZ EN 14476:2013+A2 szabvány. Kémiai fertőtlenítőszerek és antiszeptikumok. Kvantitatív szuszpenziós vizsgálat a virucid aktivitás értékelésére orvosi területen.
Tesztvírusok:	- Burok nélküli RNS vírus, *Picornaviridae* család – poliovírus 1 (LSc-2ab törzs) *[NIBSC 01/528]* - Burok nélküli RNS vírus, *Caliciviridae* család – egér norovírus (S99 Berlin törzs) *[FLI RVB-0651]* - Burok nélküli DNS vírus, *Adenoviridae* család – adenovírus 5 *[ATCC VR-5]*
Követelmények:	A szabványban előírt módszertan alkalmazásával, a terméknek a vizsgálat során legalább 4 $\log_{10}$ vírustiter csökkenést kell mutatnia a kötelező behatási idő elteltével.
A termék vizsgálati koncentrációja:	Tömény (100%)
Behatási idő(k):	1 perc, 3 perc
Vizsgálati hőmérséklet:	20°C
Interferáló közeg:	Piszkos körülmény: 3,0 g/l BSA + 3,0 ml birka vörösvértest
Citotoxikus hatás kivédésére szolgáló módszer:	Szűrés Sephadex LH20 gélen keresztül
A vizsgálat során felhasznált sejtvonalak és azok eredete:	L20B *[NIBSC 13/96]*, RAW 264.7 *[ATCC TIB-71]*, A549 *[ATCC CCL-185]*

Ecowlan Magyarország Kft.
1026 Budapest
Pálfrány út 20. Fszt.
Adószám: 25756272-2-41

Virucid hatékonyság vizsgálat

A NAH által akkreditált vizsgálat (M7-01)

Iktatószám:
37769-1/2021/MRLAB

EREDMÉNYEK

1. Víruskontroll

A teszt vírusok titere a lgTCID50 ≥ 4,0 értéknek megfelelő.

Vizsgált anyag	Koncentráció	Interferáló közeg	Behatási idő (perc)	Higítási fok (-lg) 2	3	4	5	6	7	8	(*) Log TCID50
Poliovirus	n.a.	piszkos körülmény	0	444444	444444	444444	444444	444444	404044	000000	7,17
		kemény víz	0	444444	444444	444444	444444	444444	444400	000000	7,17
			3*	444444	444444	444444	444444	444444	004044	000000	7,00
Norovirus	n.a.	piszkos körülmény	0	444444	444444	444444	000000	000000	000000	000000	4,50
		kemény víz	0	444444	444444	444444	000000	000000	000000	000000	4,50
			3*	444444	444444	444444	000000	000000	000000	000000	4,50
Adenovirus	n.a.	piszkos körülmény	0	444444	444444	444444	444444	444444	302022	000000	7,17
		kemény víz	0	444444	444444	444444	444444	444444	333000	000000	7,00
			3*	444444	444444	444444	444444	444444	304100	000000	7,00

2. Citotoxicitás kontroll

A sejteken nem volt megfigyelhető a vizsgált termék által okozott sejtkárosító hatás.

Vizsgált anyag	Sejtvonal	Koncentráció	Interferáló közeg	Higítási fok (-lg) 2	3	4	5	6	7	8	Log TCID50
Higén+99	L20B	100%	piszkos körülmény	000000	000000	000000	000000	000000	000000	000000	0
	RAW			000000	000000	000000	000000	000000	000000	000000	0
	A549			000000	000000	000000	000000	000000	000000	000000	0

3. Szupressziós kontroll

Vizsgált anyag	Koncentráció	Interferáló közeg	Tesztvírus	Higítási fok (-lg) 2	3	4	5	6	7	8	Log TCID50
Higén+99	100%	piszkos körülmény	Poliovirus	444444	444444	444444	444444	444444	004000	000000	6,67
			Norovirus	444444	444444	400440	000000	000000	000000	000000	4,00
			Adenovirus	444444	444444	444444	444444	444444	000030	000000	6,67

Ecowian Magyarország Kft.
1026 Budapest
Pálfrány út 20. Fszt.
Adószám: 25756272-2-4

4. Interferencia kontroll (Sejtérzékenység vizsgálata)

Vizsgált anyag	Sejtvonal	Koncentráció	Behatási idő (perc)	Tesztvírus	Hígítási fok (-lg)							Log TCID50
					2	3	4	5	6	7	8	
PBS	L20B	n.a.	60	Poliovirus	444444	444444	444444	444444	444444	400400	000000	6,83
	RAW			Norovirus	444444	444444	444424	000000	000000	000000	000000	4,50
	A549			Adenovirus	444444	444444	444444	444444	444444	043300	000000	7,00
Higén+99	L20B	100%	60	Poliovirus	444444	444444	444444	444444	444044	000000	000000	6,33
	RAW			Norovirus	444444	444444	444000	000000	000000	000000	000000	4,00
	A549			Adenovirus	444444	444444	444444	444444	444244	000000	000000	6,50

5. Referencia kontroll (Vírus inaktiválási teszt)

Vizsgált anyag	Koncentráció	Interferáló közeg	Behatási idő (perc)	Tesztvírus/ Sejtvonal	Hígítási fok (-lg)							Log TCID50
					2	3	4	5	6	7	8	
formaldehid	0,7% (w/v)	PBS	60	Poliovirus	444444	444444	404400	000000	000000	000000	000000	4,00
				Norovirus	044444	000000	000000	000000	000000	000000	000000	2,33
				Adenovirus	444444	444000	000000	000000	000000	000000	000000	3,00
formaldehid citotoxicitás	0,7% (w/v)	PBS	n.a.	L20B	444444	000000	000000	000000	000000	000000	000000	2,50
				RAW	444444	000000	000000	000000	000000	000000	000000	2,50
				A549	444444	000000	000000	000000	000000	000000	000000	2,50

*= maximum behatási idő

(*)= $LogTCID_{50}$ az adatokból (citopátiás hatás/citotoxicitás mértéke) számolt titer érték a Spearman-Kräber módszer alapján, hígítási sorból (10^{-2}-10^{-8}) hat párhuzamos beállításban.

n.a.= nem alkalmazott/nem értelmezhető

n.d.= nem végzett

PBS= foszfát puffer

RF= redukciós faktor

Ecowian Magyarország Kft.
1026 Budapest
Pávrány út 20. Fszt.
Adószám: 25756272-2-41

Ecowian Magyarország Kft.
1026 Budapest
Pálfány út 20. Fszt.
Adószám: 25756272-2-41

6. A termékkel végzett virucid hatékonyság vizsgálat eredményei

A táblázat a vírus titer log_{10} érték/csökkenést 1 és 3 perc elteltével, 20°C-on mutatja. A vizsgálatok hat párhuzamos beállításával történtek, a táblázat az átlagértékeket tartalmazza.

Vizsgált anyag	Koncentráció	Behatási idő (perc)	Interferáló közeg	Tesztvírus		Hígítási fok (-lg) 2	3	4	5	6	7	8	Log TCID50	csökkenés mértéke (log RF)
Higén+99	100%	1	piszkos körülmény	Poliovírus	vírustiter kezelés előtt	444444	444444	444444	444444	444444	404044	000000	7,17	4,84
					vírustiter kezelés után	444404	000000	000000	000000	000000	000000	000000	2,33	
				Norovírus	vírustiter kezelés előtt	444444	444444	444444	000000	000000	000000	000000	4,50	4,50
					vírustiter kezelés után	000000	000000	000000	000000	000000	000000	000000	0	
				Adenovírus	vírustiter kezelés előtt	444444	444444	444444	444444	444444	302022	000000	7,17	7,17
					vírustiter kezelés után	000000	000000	000000	000000	000000	000000	000000	0	
		3		Poliovírus	vírustiter kezelés előtt	444444	444444	444444	444444	444444	404044	000000	7,17	7,17
					vírustiter kezelés után	000000	000000	000000	000000	000000	000000	000000	0	
				Norovírus	vírustiter kezelés előtt	444444	444444	444444	000000	000000	000000	000000	4,50	4,50
					vírustiter kezelés után	000000	000000	000000	000000	000000	000000	000000	0	
				Adenovírus	vírustiter kezelés előtt	444444	444444	444444	444444	444444	302022	000000	7,17	7,17
					vírustiter kezelés után	000000	000000	000000	000000	000000	000000	000000	0	

KÖVETKEZTETÉSEK:

Az MSZ EN 14476:2013+A2 vizsgálat alapján a(z) ***„HIGÉN+99"*** virucid hatása 20°C-on, 1 perc elteltével,

- Poliovírus-1 LSc-2ab törzzsel szemben >4 log_{10} titer csökkenést mutatott,
- Norovírus törzzsel szemben >4 log_{10} titer csökkenést mutatott,
- Adenovírus-5-tel szemben >4 log_{10} titer csökkenést mutatott,

3 perc elteltével,

- Poliovírus-1 LSc-2ab törzzsel szemben >4 log_{10} titer csökkenést mutatott,
- Norovírus törzzsel szemben >4 log_{10} titer csökkenést mutatott,
- Adenovírus-5-tel szemben >4 log_{10} titer csökkenést mutatott.

Az NNK MRL Virológiai Laboratóriumi Osztály által kiadott vizsgálati eredmény nem tartalmaz a termék engedélyezésével vagy elutasításával kapcsolatos szakvéleményt. Az MSZ EN 14476 szabvány szerinti megfelelőségi nyilatkozatot a hatóság állítja ki.

Budapest, 2021.06.16.

Farkas Ágnes
biológus

Nemzeti Népegészségügyi Központ Budapest 39.

Dr. Szomor Katalin
munkacsoport szakmai irányító

Ecowian Magyarország Kft.
1026 Budapest
Páfrány út 20. Fszt.
Adószám: 25756272-2-41