

Translation from Bulgarian language

MINISTRY OF HEALTH
NATIONAL CENTRE
OF INFECTIOUS AND PARASITIC
DISEASES

COORDINATING COMPETENT BODY OF THE
EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE CONTROL

BULGARIA, 1504 Sofia, 26 Yanko Sakazov Blvd.
DIRECTOR: +359 2 944 28 75; director@ncipd.org
TELEPHONE EXCHANGE: +359 2 944 69 99
FAX: +359 2 943 30 75

[Logo of the National Centre of Infectious and Parasitic Diseases, Founded 1881]
www.ncipd.org

PROTOCOL

from test No. 29/03.10.2022

LABORATORY FOR DISINFECTION, STERILISATION AND BIO INDICATORS

1. Test ordered by:

ZHIVAS OOD
14 Asen Yordanov Blvd.
the city of Sofia

2. Product tested: *Oxisept*

Manufacturer: ZHIVAS OOD

Sample received on: 01.09.2022

Storage conditions: In the transport packaging provided by the manufacturer under room temperature conditions

Product appearance: soft white granules (powdered material)

Active ingredients (based on data provided by the manufacturer):

Sodium percarbonate – 30-50%;

TAED – 15-25%

3. Test condition:

Test method: *BDS (БДС) EN 13624:2022 Chemical disinfectants and antiseptics. Quantitative test of suspension for estimating fungicidal and yeasticidal effects for medicinal purposes. Test methods and requirements (stage 2, step 1).*

Test period: 28.09.2022 – 30.09.2022

Test temperature: 20°C

Test product concentration: The product was tested as water-based solutions with concentration ratios of 0.1%, 0.25%, and 0.5% (v/v)

Solvent used for preparing solutions: Hard water

Contact time (exposure): 30 minutes

Neutralisation method: Dilution – neutralisation

Appearance of suspension during test: No visible precipitation or subsidence

Neutraliser used: Standard sterile buffer solution consisting of sodium thiosulfate, polysorbate 80 and lecithin

Additional load: Low organic load – 0.3 g/l bovine albumin (*clean conditions*)

Tested strain:

Candida albicans ATCC 10231

Density of the tested suspension: 1.5×10^7 CFU/ml to 5×10^7 CFU/ml

Incubation temperature: 30°C – 48 hours

Counting procedure: Distribution method: 2x (1ml/Petri dish)

4. Assessment of effectiveness and result verification:

The disinfectant was tested as water-based solutions with concentration ratios of 0.1%, 0.25%, and 0.5% (v/v) with 30-minute exposure time.

The effectiveness of the disinfectant was assessed based on the requirements provided in BDS EN 13624:2022, namely:

Yeasticidal/fungicidal action is considered effective when there is reduction in the number of viable cells greater than 4 lg ($\lg R \geq 4$).

Results are verified when the following criteria have been met:

- all controls and validations have been performed and meet the requirements;
- at least one of the tested product concentrations demonstrates greater than 4lg reduction;
- there is no visible precipitation during the test procedure.

5. Test results*:

Test micro organisms	Initial density of tested suspensions		Number of viable cells/ml at the beginning of exposure $N_0 = N/10$	Number of viable cells/ml at the end of exposure (lg Na)	Reduction (lg R) in the number of viable cells: $\lg R = \lg N_0 - \lg Na$	Test conditions
	CFU/ml	lg N				
<i>C. albicans</i>	1.93×10^7	7.29	6.29	2.65	3.64	0.1% 30 minutes clean conditions
				<2.15	>4.14	0.25% 30 minutes; clean conditions
				<2.15	>4.14	0.5% 30 minutes; clean conditions

*Full description of the obtained results can be found in the attached Appendix to Protocol No. 29/03.10.2022

6. Conclusion:

With respect to the product being tested:

Oxisept

the yeasticidal concentration for disinfection of surfaces determined according to the requirements in BDS EN 13624:2022 with exposure time of 30 minutes at 20°C and clean conditions is as follows:

0.25% (v/v)

Test performed by: [sgd. Illegibly]

/chief assistant M. Nikolova PhD/
[sgd. Illegibly]
/Sv. Yordanova/

Head of Disinfection, Disinsection, and
Deratisation Department: [sgd. illegibly]
/Nadya Ivanova-Aleksandrova/

Appendix to **PROTOCOL No. 29/03.10.2022**
BDS EN 13624:2022

Test results

BDS EN 13624:2022 Chemical disinfectants and antiseptics. Quantitative test of suspension for estimating fungicidal and yeasticidal effects for medicinal purposes. Test methods and requirements (stage 2, step 1).

Name of the product tested: *Oxisept*

Test concentration: The product was tested as water-based solutions with concentration ratios of 0.1%, 0.25%, and 0.5% (v/v).

Solvent used for preparation of the solutions: Hard water

Contact time (exposure): 30 minutes

Method: Dilution – neutralisation **Distribution method:** 2x(1ml/Petri)

Neutraliser: Sterile standard buffer solution consisting of sodium thiosulfate, polysorbate 80 and lecithin

Test temperature: 20°C

Additional load: Low organic load – 0.3 g/l bovine albumin (*clean conditions*)

Tested strain: *Candida albicans* ATCC 10231 **Incubation temperature:** 30°C

Validation and controls

Validating suspension (N _{v0})			Test conditions controls (A)			Neutraliser controls (B)			Method validation (C) <i>Concentration: 0.5%</i>		
Vc1	78	X = 85	Vc1	76	X = 78	Vc1	68	X = 72.5	Vc1	81	X =83
Vc2	92		Vc2	80		Vc2	77		Vc2	85	
30≤X N _{v0} ≤160? ☒ Yes ☐ No			X A≥0.5 x X N _{v0} ? ☒ Yes ☐ No			X B ≥ 0.5x X N _{v0} ? ☒ Yes ☐ No			X C ≥ 0.5 x X N _{v0} ? ☒ Yes ☐ No		

Validating suspension (N_{VB})	Vc1 = 83	Vc2 = 87	X = 85	$30 \leq X N_{VB}/1000 \leq 160$? <input checked="" type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> No
--	-----------------	-----------------	---------------	--

<u>Test suspension and test</u>	Test suspension (N and N_0)	N	Vc1	Vc2	$X_{wm} = 193 \times 10^5$; $IgN = 7.29$ $N_0 = N/10$; $IgN_0 = 6.29$ $6.17 \leq IgN_0 \leq 6.70$? <input checked="" type="checkbox"/> Yes <input type="checkbox"/> No
		10^{-5}	208	174	
		10^{-6}	19	24	

Concentration	Dilution step	Vc1	Vc2	$N_a = (X \text{ or } X_{wm} \times 10)$	IgN_a	IgR ($IgN_0 = 6.29$)	Contact time
0.1%	10^0	51	38	445	2.65	3.64	30 minutes
0.25%	10^0	<14	<14	<140	<2.15	> 4.14	30 minutes
0.5%	10^0	<14	<14	<140	<2.15	> 4.14	30 minutes

Test performed by: [sgd. illegibly]
 /Chief assist. M. Nikolova PhD/
 /Sv. Yordanova/ [sgd. illegibly]

Test date: 28.09.2022

The undersigned Petar Petrov Galabov do certify that my Bulgarian to English translation of the document (s) herewith, namely "Protocol from Test No. 29/03.10.2022 and Appendix", said translation consisting of 4 (four) page(s), is true and correct.

Translator: Petar Petrov Galabov



МИНИСТЕРСТВО НА ЗДРАВЕОПАЗВАНЕТО
**НАЦИОНАЛЕН ЦЕНТЪР
ПО ЗАРАЗНИ И ПАРАЗИТНИ
БОЛЕСТИ**

КООРДИНИРАЩА КОМПЕТЕНТНА ИНСТИТУЦИЯ
НА ЕВРОПЕЙСКИ ЦЕНТЪР ПО КОНТРОЛ НА БОЛЕСТИТЕ

София 1504, Бул. Янко Сакъзов 26
ДИРЕКТОР: 02/ 944 28 75; director@ncipd.org
ЦЕНТРАЛА: 02/ 944 69 99
ФАКС: 02/ 943 30 75



Основан 1881 Founded

www.ncipd.org

MINISTRY OF HEALTH
**NATIONAL CENTRE
OF INFECTIOUS AND PARASITIC
DISEASES**

COORDINATING COMPETENT BODY OF ECDC

BULGARIA, 1504 Sofia, 26 Yanko Sakazov Blvd.
DIRECTOR: +359 2 944 28 75; director@ncipd.org
TELEPHONE EXCHANGE: +359 2 944 69 99
FAX: +359 2 943 30 75

ПРОТОКОЛ

От изпитване № 29/03.10.2022 г.

ЛАБОРАТОРИЯ ПО ДЕЗИНФЕКЦИЯ, СТЕРИЛИЗАЦИЯ И БИОИНДИКАТОРИ

1. Заявител на изпитването:

“ЖИВАС” ООД

бул. “Асен Йорданов” № 14

гр. София

2. Продукт за изпитване: “Оксисепт”

Производител: “ЖИВАС” ООД

Дата на получаване на пробата: 01.09.2022 г.

Условия на съхранение: В транспортна опаковка на производителя при стайна температура

Външен вид на продукта: Бели, малки гранули (прахообразен)

Активни вещества (по данни на заявителя):

Sodium percarbonate – 30-50 %;

TAED - 15-25 %

3. Условия на изпитване:

Метод на изпитване: БДС EN 13624:2022 Химични дезинфектанти и антисептици. Количествено изпитване на суспензия за оценяване на фунгицидното или дрождецидното действие в областта на медицината. Метод за изпитване и изисквания (фаза 2, стъпка 1).

Период на изпитване: 28.09.2022 г. – 30.09.2022 г.

Температура на изпитване: 20°C

Продуктова тест-концентрация: Продуктът е изпитан под формата на водни работни разтвори в концентрация 0.1%; 0.25% и 0.5% (v/v)

Разредител за изготвяне на работните разтвори: Твърда вода

Контактно време (експозиция): 30 минути

Метод на неутрализация: Разреждане – неутрализация

Външен вид на суспензията по време на изпитването: Не се наблюдава преципитация и утаяване.

Използван неутрализатор: Стерилен, стандартизиран буфериран разтвор, съдържащ натриев тиосулфат, полисорбат 80 и лецитин

Допълнително натоварване: Ниско органично натоварване - 0.3 g/l говежди албумин (чисти условия)

Изпитан тест-щам:

Candida albicans ATCC 10231

Гъстота на тест-суспенсията: 1.5×10^7 кое/ml до 5×10^7 кое/ml

Температура на инкубиране: 30° C – 48 часа

Процедура на броене: Метод на разливане 2 x (1ml/петри)

4. Оценяване на ефективността и верифициране на резултатите:

Дезинфектантът е изпитан под формата на водни работни разтвори в концентрация 0.1%; 0.25% и 0.5% (v/v), при време на въздействие 30 минути.

Ефективността на дезинфектанта е оценена според изискванията на БДС EN 13624:2022, съгласно които:

За постигната дрождецидна/фунгицидна активност се приема редукция в броя на жизнеспособните клетки не по-малка от 4 lg ($\lg R \geq 4$).

За верифициране на резултата се приема изпълнението на следните критерии:

- всички контроли и валидирания са изпълнени и отговарят на изискванията;
- най-малко една от изпитаните концентрации на продукта показва по-малко от 4 lg редукция;
- не се наблюдава преципитация по време на тест-процедурата.

5. Резултати от изпитването*:

Тест-микроорганизми	Начална гъстота на тест-суспенсията		Брой жизнеспособни клетки/ml в началото на експозицията $N_0 = N/10$	Брой жизнеспособни клетки/ml в края на експозицията ($\lg N_a$)	Редукция ($\lg R$) в броя на жизнеспособните клетки: $\lg R = \lg N_0 - \lg N_a$	Условия на изпитването
	кое/ml	$\lg N$				
<i>C. albicans</i>	1.93×10^7	7.29	6.29	2.65	3.64	0.1% 30 минути; чисти условия
				< 2.15	> 4.14	0.25% 30 минути; чисти условия
				< 2.15	> 4.14	0.5% 30 минути; чисти условия

* Пълно описание на получените резултати са представени в Приложение към Протокол № 29/03.10.2022 г.

6. Заключение:

За изпитаният продукт:

“Оксисепт”

дрождецидната концентрация за дезинфекция на повърхности, определена съгласно изискванията на БДС EN 13624:2022 при време на въздействие 30 минути, 20°C и чисти условия е:

0.25 % (v/v)

Извършил изпитването

/гл. ас. М. Ни

/Св. Йо

Зав. секция "ДДД"

/Надя Иванова-Александрова/

Резултати от изпитването

БДС EN 13624:2022 Химични дезинфектанти и антисептици. Количествено изпитване на суспензия за оценяване на фунгицидното или дроздецидното действие в областта на медицината. Метод за изпитване и изисквания (фаза 2, стъпка 1).

Наименование на продукта за изпитване: „Оксисепт“

Изпитана тест-концентрация: Продуктът е изпитан под формата на водни работни разтвори в концентрация 0.1%; 0.25% и 0.5% (v/v)

Разредител за изготвяне на работните разтвори: Твърда вода

Контактно време (експозиция): 30 минути

Метод: Разреждане – неутрализация

Метод на разливане: 2 x (1ml/петри)

Неутрализатор: Стерилен, стандартизиран буфериран разтвор, съдържащ натриев тиосулфат, полисорбат 80 и лецитин

Температура на изпитване: 20° C

Допълнително натоварване: Ниско органично натоварване - 0.3 g/l говежди албумин (чисти условия)

Тест-щам: *Candida albicans* ATCC 10231

Температура на инкубиране: 30°C

Валидиране и контроли

Валидираща суспензия (Nv0)			Контрола на експерименталните условия (A)			Контрола на неутрализатора (B)			Валидиране на метода (C) Концентрация:0.5 %		
Vc1	78	$\bar{X} = 85$	Vc1	76	$\bar{X} = 78$	Vc1	68	$\bar{X} = 72.5$	Vc1	81	$\bar{X} = 83$
Vc2	92		Vc2	80		Vc2	77		Vc2	85	
$30 \leq \bar{X} N_{v0} \leq 160?$ <input checked="" type="checkbox"/> да <input type="checkbox"/> не			$\bar{X} A \geq 0,5 \times \bar{X} N_{v0}?$ <input checked="" type="checkbox"/> да <input type="checkbox"/> не			$\bar{X} B \geq 0,5 \times \bar{X} N_{v0}?$ <input checked="" type="checkbox"/> да <input type="checkbox"/> не			$\bar{X} C \geq 0,5 \times \bar{X} N_{v0}?$ <input checked="" type="checkbox"/> да <input type="checkbox"/> не		
Валидираща суспензия (NvB)			Vc1 = 83		Vc2 = 87	$\bar{X} = 85$		$30 \leq \bar{X} N_{vB} / 1000 \leq 160?$ <input checked="" type="checkbox"/> да <input type="checkbox"/> не			

Тест суспензия и тест

Тест суспензия (N и N0):	N	Vc1	Vc2	$\bar{X} \text{ wm} = 193 \times 10^5; \lg N = 7.29$ $N_0 = N/10; \lg N_0 = 6.29$ $6.17 \leq \lg N_0 \leq 6.70?$ <input checked="" type="checkbox"/> да <input type="checkbox"/> не
	10 ⁻⁵	208	174	
	10 ⁻⁶	19	24	

Концентрация	Стъпка на разреждане	Vc1	Vc2	Na = (\bar{X} или $\bar{X} \text{ wm} \times 10$)	lgNa	lgR (lgN0=6.29)	Контактно време
0.1 %	10 ⁰	51	38	445	2.65	3.64	30 минути
0.25 %	10 ⁰	< 14	< 14	< 140	< 2.15	> 4.14	30 минути
0.5 %	10 ⁰	< 14	< 14	< 140	< 2.15	> 4.14	30 минути

Извършили изпитване

/гл. ас. М. Николова

/Св. Йорданов

Дата на изпитването: 28.09.2022 г.